

## Expertos Invitados

### ESTUDIO PROSPECTIVO Y ALEATORIZADO SOBRE EL EFECTO EN EL REMODELADO AURICULAR LUEGO DE LA COMBINACION DE UN ANTAGONISTA DEL RECEPTOR DE LA ANGIOTENSINA II CON AMIODARONA Y LA EFECTIVIDAD DE LA CARDIOVERSION ELECTRICA EN LA PREVENCION DE RECURRENCIAS



Columnista Experto de SIIC  
Dr. Carlos Escobar Cervantes

Licenciado en Medicina y Cirugía

#### Introducción

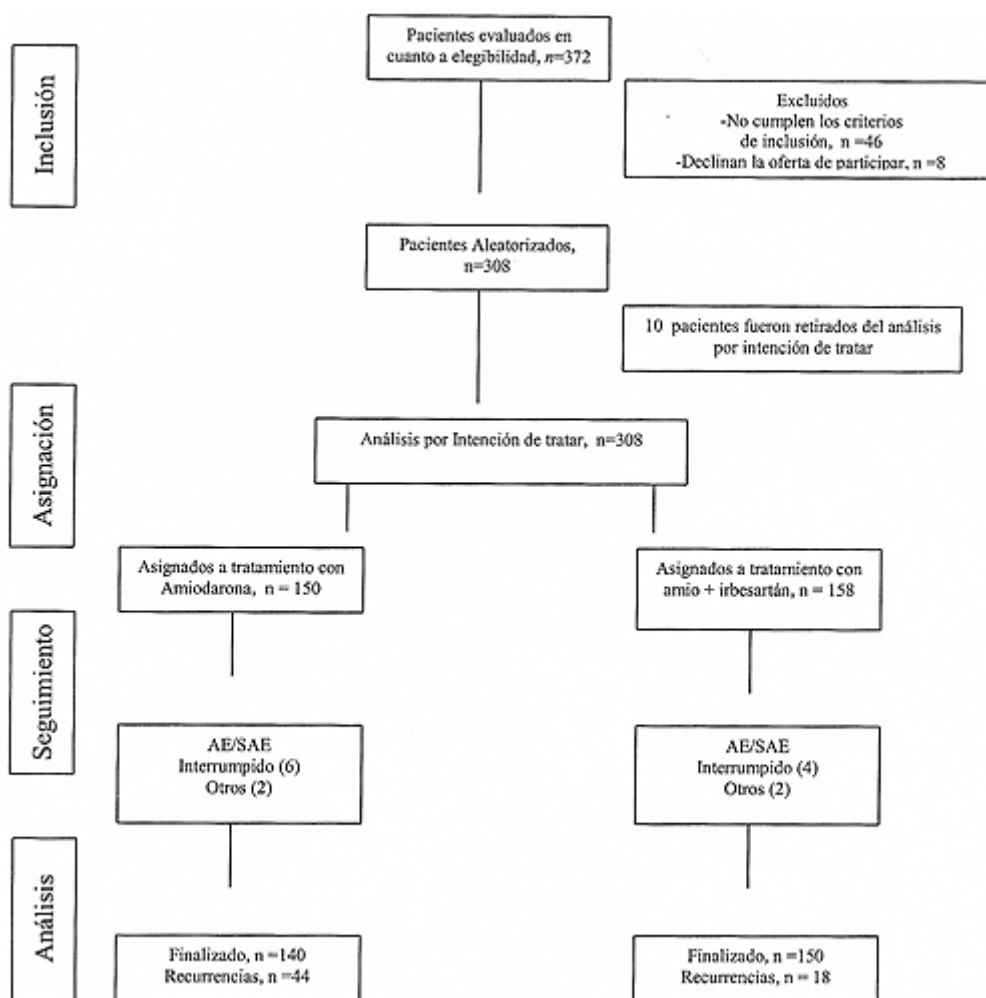
La fibrilación auricular es la arritmia más frecuente en la práctica clínica.<sup>1-3</sup> Se están desarrollando nuevas técnicas para su tratamiento;<sup>4-5</sup> sin embargo, la mayoría de los pacientes son candidatos a recibir los tratamientos tradicionales: fármacos antiarrítmicos, cardioversión o ambos. La cardioversión con corriente continua de la fibrilación auricular persistente es el tratamiento más efectivo para restablecer el ritmo sinusal, aunque dicho tratamiento puede verse complicado por el elevado porcentaje de recurrencias. Muchas de las recurrencias son probablemente la consecuencia clínica del remodelado eléctrico<sup>6,7</sup> secundario a cambios en el período refractario del músculo auricular o de la aparición de actividad anormal en el interior de las venas pulmonares. Este hecho podría explicar la resistencia al tratamiento farmacológico que se aprecia en la fibrilación auricular de larga evolución.

La aparición de un tratamiento dirigido contra el remodelado (o la confirmación de que algunos fármacos comercializados pueden evitar este remodelado) podría constituir un gran avance en el tratamiento de estos pacientes.<sup>8-12</sup> Estudios recientes llevados a cabo en animales demostraron el posible papel que desempeñan los inhibidores de la angiotensina II en la prevención del remodelado eléctrico auricular.<sup>13</sup> No obstante, no se dispone de datos controlados sobre el valor de los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) o de los bloqueadores de los receptores tipo 1 de la angiotensina II (como el irbesartán) tras la cardioversión de la fibrilación auricular persistente.

El objetivo del presente ensayo prospectivo y aleatorizado fue probar la hipótesis de que la incidencia de recurrencia de la fibrilación auricular tras la cardioversión con corriente continua podría verse influida por el tratamiento previo con irbesartán más amiodarona.

#### Métodos

Se incluyeron prospectivamente pacientes con fibrilación auricular persistente remitidos a nuestra Unidad de Arritmias para cardioversión eléctrica. Todos eran pacientes ambulatorios con un estado cardiológico estable. Los pacientes habían presentado fibrilación auricular de modo continuado durante más de 7 días. Se llevó a cabo un estudio exhaustivo con el fin de detectar la presencia de cardiopatía estructural. El comité local de ética médica aprobó el protocolo del estudio. Todos los pacientes proporcionaron el consentimiento informado por escrito antes de incorporarse al estudio (figura 1).



#### Criterios de inclusión y de exclusión

Los pacientes tenían que haber presentado un episodio de fibrilación auricular persistente con una duración de más de 7 días. Se requirió la confirmación electrocardiográfica de fibrilación auricular persistente en al menos tres ocasiones. No se incluyó ningún paciente con episodios de fibrilación auricular paroxística y autolimitada. Todos los pacientes tenían edades superiores a 18 años. Los criterios de exclusión fueron los siguientes: tamaño de la aurícula izquierda > 6 cm; infarto agudo de miocardio durante los 6 meses anteriores; angina inestable; insuficiencia cardíaca clase IV de la NYHA; necesidad de proseguir el tratamiento con digital; cirugía cardíaca durante los 3 meses previos; enfermedad aguda reversible; enfermedad tiroidea, pulmonar o hepática significativa o contraindicaciones de tratamiento con amiodarona; alteración significativa de la función renal; embarazo o mujer en la edad fértil; QT  $\geq$  480 ms en ausencia de bloqueo de una rama del haz de His; bradicardia < 50 latidos por minuto con el paciente en estado de vigilia; alteraciones significativas de la conducción auriculoventricular; síndrome del seno enfermo o cualquier otra patología médica que, en opinión de los investigadores, pudiera hacer que el paciente no fuera apto para el estudio.

#### Aleatorización y seguimiento

Se estandarizaron todos los componentes de las fases precordioversión y poscardioversión. En la primera visita a la Unidad de Arritmias, los pacientes fueron asignados aleatoriamente a recibir tratamiento con amiodarona o con amiodarona más irbesartán. Se instauró el tratamiento con irbesartán al poco tiempo de la aleatorización. Los pacientes que no habían recibido tratamiento anticoagulante previo empezaron a recibir acenocumarol en dosis necesaria para obtener un índice normalizado internacional (INR) > 2 durante un período mínimo de 3 semanas antes de iniciar la administración de amiodarona. Se programó la cardioversión eléctrica tras 3 semanas de tratamiento con amiodarona. Los fármacos fueron administrados en condiciones abiertas. Para controlar la presión arterial se administró irbesartán en dosis de 150 mg/día, pudiéndose incrementar hasta 300 mg/día en pacientes hipertensos. Se administró amiodarona en dosis de 400 mg/día. Se llevó a cabo cardioversión eléctrica (cardioversión sincronizada con corriente continua) por la mañana con el paciente en ayunas. Tras la administración de propofol, por vía

intravenosa en dosis de 1.5 mg/kg, los pacientes fueron sometidos a *shock* con descargas monofásicas sincronizadas de onda R (Physiocontrol Lifepak 9B), iniciándose a 200 J y oscilando hasta un máximo de 360 J (enfoque anterolateral). En caso de no obtenerse resultados satisfactorios, se aplicaron 2 *shocks* de 200 y 360 J en dirección anteroposterior, seguidos de 2 *shocks* bifásicos anteroposteriores (200 a 360 J) (Medtronic Physio-control Lifepak 12). Se consideró que había finalizado el seguimiento en aquellos pacientes en los que no se logró la reversión a ritmo sinusal después de la cardioversión eléctrica. Se definió la cardioversión con éxito como la recuperación del ritmo sinusal durante al menos un minuto después del *shock*. Tras la cardioversión eléctrica, se continuó con el tratamiento a la misma dosis. Durante la vigilancia, cuyo objetivo era detectar la recurrencia de la fibrilación auricular, dos cardiólogos de la Unidad de Arritmias examinaron a los pacientes a intervalos semanales durante el primer mes y, posteriormente, a intervalos de 2, 3, 6 y 12 meses, así como en cualquier otro momento en que el paciente refiriera palpitaciones o algún otro síntoma. El cardiólogo que valoró el pronóstico desconocía el grupo al que había sido asignado el paciente. Se llevó a cabo un registro Holter de 24 horas al mes y a los 6 y 12 meses, así como en cualquier momento en que el paciente presentara algún síntoma como palpitaciones, mareo o síncope. En la visita efectuada a los 2 meses, se pautó la dosis de mantenimiento diaria de 200 mg de amiodarona a todos los pacientes, manteniéndose el tratamiento con irbesartán a la misma dosis que antes en los pacientes asignados aleatoriamente a recibir irbesartán, o incrementándose en caso de que el paciente presentara hipertensión arterial.

#### *Variables de valoración del estudio*

En el presente estudio se comparó el tratamiento con amiodarona al tratamiento con amiodarona más irbesartán con el objetivo de evaluar la eficacia del irbesartán en cuanto al número acumulativo de pacientes que presentaban recurrencia de la fibrilación auricular o *flutter* tras la cardioversión a ritmo sinusal. La variable de valoración primaria fue el período de tiempo transcurrido hasta la primera recurrencia de fibrilación auricular, documentada electrocardiográficamente, o *flutter* con una duración de más de 10 minutos. Las variables de valoración secundarias fueron el número de *shocks* o la energía requerida para la cardioversión eléctrica. Se consideró que el inicio del seguimiento a tal efecto era el día de la cardioversión eléctrica programada (exactamente después de efectuar la cardioversión eléctrica o de la cardioversión farmacológica documentada). Se fijó el tiempo de fracaso en 0 días en los pacientes que no lograron la cardioversión ese día.

#### *Análisis estadístico*

Los cálculos del tamaño de la muestra se basan en la eficacia estimada a los 2 meses del 70% para la amiodarona y del 90% para el tratamiento combinado con amiodarona más irbesartán. Los datos se expresan como media  $\pm$  DE para las variables continuas, midiéndose las frecuencias de las variables categóricas. Se analizaron las características basales con el fin de determinar la significación estadística de las variables continuas mediante la prueba t de Student o la prueba U de Mann-Whitney. Se empleó la prueba exacta de Fisher para las variables categóricas. Se evaluaron las variables de valoración sobre la base de intención de tratar. Asimismo, se analizó el tiempo transcurrido hasta la primera recurrencia de fibrilación auricular mediante el método de Kaplan-Meier, comparándose con la prueba log-rank. El índice de riesgo y sus intervalos de confianza se determinaron empleando el modelo de regresión de Cox. Se analizó también la recurrencia de la fibrilación auricular mediante la regresión de riesgos proporcionales de Cox para tomar en consideración posibles factores de confusión. Se seleccionaron los factores en función de un cambio en el riesgo relativo igual o superior al 20%. Se consideró significativo un valor de probabilidad  $< 0.05$ . El paquete estadístico utilizado fue el SPS S 10. 0 para Windows.

## **Resultados**

### *Características basales*

A partir de un total de 372 pacientes consecutivos remitidos a la Unidad de Arritmias de un hospital universitario para cardioversión eléctrica debido a fibrilación auricular persistente, 318 pacientes fueron aleatorizados finalmente a participar en el presente estudio. Estos pacientes habían sido remitidos por 40 cardiólogos en nuestros hospitales, los cuales cuentan con una población total de 500 000 habitantes. Se excluyeron 46 pacientes de este protocolo debido a que no cumplían los criterios de inclusión. Cuatro pacientes declinaron la oferta de participar. Tras la aleatorización, 10 pacientes fueron excluidos del análisis debido a que retiraron su consentimiento para la cardioversión. Finalmente, se analizaron 308 pacientes. En la tabla 1 se presentan las características demográficas y clínicas basales de cada grupo. La duración media de la fibrilación

auricular antes de la asignación aleatoria fue de 6 meses (rango: 1 a 72 meses), sin que se apreciaran diferencias entre los distintos grupos. Los dos grupos de tratamiento eran similares en cuanto a todas las características previas al tratamiento (como se muestra en la tabla I), salvo en el porcentaje de pacientes con bloqueo a nivel de una rama del haz de His, en la mayoría de casos incompleto (QRS comprendido entre 100 y 120 ms).

**TABLA 1**  
**Datos clínicos de las características basales de los pacientes**

	Amiodarona (n = 150)	Ami + Irbe (n = 158)	P
<b>Historia clínica</b>			
Edad (años)	66±8	66±10	0.90
Sexo (hombres/mujeres)	30/45	33/46	0.80
Peso (Kg)	77.3±12.25	77.13±14.75	0.90
Ausencia de enfermedad cardiovascular o de factores de riesgo, fibrilación auricular única (%)	21	22	0.30
Enfermedad coronaria (%)	6	10	0.40
Valvulopatía mitral (%)	5	3	0.40
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (%)	9	6	0.40
Hipertensión (%)	38	46	0.70
Cardiopatía hipertensiva (%)	10	15	0.30
Miocardiopatía dilatada (%)	4	5	0.60
Alcohol (%)	8	6	0.50
Diabetes (%)	13	6	0.08
Tabaquismo (%)	18	18	0.80
Clase de la NYHA, n	136	144	0.90
I-II	122	130	0.40
III	14	14	0.90
IV	0	0	--
Presión arterial sistólica, mmHg	142±21	143±20	0.37
Presión arterial diastólica, mmHg	83±12	85±12	0.09
<b>Ecocardiografía</b>			
Dimensión diastólica final del VI (cm)	5.11±0.6	4.9±0.6	0.08
Dimensión sistólica final del VI (cm)	3.3±0.8	3.14±0.8	0.19
Fracción de acortamiento (%)	35±5	37±7	0.14
Fracción de eyección* (%)	62.88±8.51	64.09±10.99	0.51
Dimensión inferosuperior de la AI (cm)	4.56±0.59	4.47±0.63	0.21
Pared posterior (cm)	1.04±0.19	1±0.18	0.23
Grosor del tabique (cm)	0.99±0.15	1±0.17	0.41
<b>Arritmia y electrocardiograma</b>			
Primer episodio de FA persistente (meses)	17.90±25.32	20±40	0.62
Duración de este episodio de FA (meses)	9.11±10.27	9.35±13.24	0.88
Número de cardioversiones eléctricas previas*	0.19±0.72	0.10±0.45	0.368
Número de episodios previos de FA sintomática	1.4±0.9	1.44±1.41	0.461
Frecuencia cardíaca	93±22	97±23	0.14
Bloqueo de rama del haz de His (n)	7	24	0.001
QT en condiciones basales* (ms)	391.05±44.39	402.24±51.86	0.194

FA: fibrilación auricular.

Los valores se expresan como media±DE, porcentaje o número de pacientes.

\*Variables sin distribución normal, prueba U de Mann-Whitney.

### Tratamiento

Ciento cincuenta pacientes fueron asignados a recibir tratamiento con amiodarona y 158 pacientes a tratamiento con amiodarona más irbesartán. En la tabla 2 se presentan los porcentajes de pacientes que estaban recibiendo terapia concomitante en condiciones basales. Los valores finales de la presión arterial no fueron significativamente distintos entre los pacientes tratados con irbesartán y los pacientes no tratados con este fármaco (grupo I: presión sistólica 141 ± 15 y presión diastólica 82 ± 6 mm Hg; grupo II: presión sistólica 142 ± 18 y presión diastólica 82 ± 8 mm Hg; p = 0.3 y 0.3, respectivamente).

**TABLA 2**  
Uso de tratamiento farmacológico concomitante  
en condiciones basales en el momento de la cardioversión

	AMIOD	AMIO + IRBE	P
Digoxina (%)	0	0	1
β-bloqueantes (%)	7	15	0.086
Bloqueadores de los canales de calcio (%)			
Verapamilo o diltiazem	5	9	0.308
Amlodipino o nifedipino	7	7	0.741
Diuréticos (%)	5	4	0.656
Inhibidores de la enzima convertora de angiotensina (%)	22	16	0.191
Fármacos anticoagulantes	100	100	1

#### Conversión farmacológica tras la aleatorización

En el momento de la cardioversión eléctrica programada se documentó cardioversión farmacológica en 124 pacientes, de los cuales 58 (38%) pertenecían al grupo tratado con amiodarona y 66 (42%) correspondían al grupo tratado con amiodarona más irbesartán. Estos pacientes recuperaron el ritmo sinusal al cabo de una media de  $28 \pm 6$  días de la aleatorización, antes de la cardioversión eléctrica (tabla 3). Los pacientes que no recuperaron el ritmo sinusal antes de la cardioversión habían presentado una duración significativamente más prolongada de fibrilación auricular antes de la aleatorización (mediana 10 frente a 5 meses,  $p = 0.009$ ).

**TABLA 3**  
Resultados: análisis por intención de tratar

	AMIOD	AMIO + IRBE	P
Pacientes aleatorizados (n)	150	158	--
Conversión farmacológica tras la aleatorización (n)	58	66	0.693
Conversión eléctrica con éxito (n)	79	87	0.27
Conversión eléctrica ineficaz (n)	12	6	0.27
Joules (media±DE)	267±79	258±77	0.28
Número de choques	1.7±1.5	1.4±1.6	0.31
Ritmo sinusal a los 2 meses	84	134	0.084
Ritmo sinusal al final del periodo de seguimiento (n)	78	132	0.007
Días hasta la recurrencia (mediana±DE)	28±81	29.6±46	0.48
Reacciones adversas al final del seguimiento (n)	12	10	--
Muertes al final del seguimiento	0	2	--

#### Cardioversión eléctrica

Se llevó a cabo la conversión con corriente continua en 184 pacientes, se obtuvieron resultados positivos en 166 (90%) pacientes. Según el análisis por intención de tratar, la cardioversión eléctrica no tuvo éxito en 12 pacientes tratados con amiodarona ni en 6 pacientes tratados con amiodarona más irbesartán. La cardioversión eléctrica fue ineficaz en 10 pacientes debido a un fracaso total del *shock* (4 en el grupo I y 6 en el grupo II), así como en 8 pacientes debido a recurrencia inmediata de la fibrilación auricular después de sólo unos cuantos latidos de ritmo sinusal (todos ellos en el grupo I).

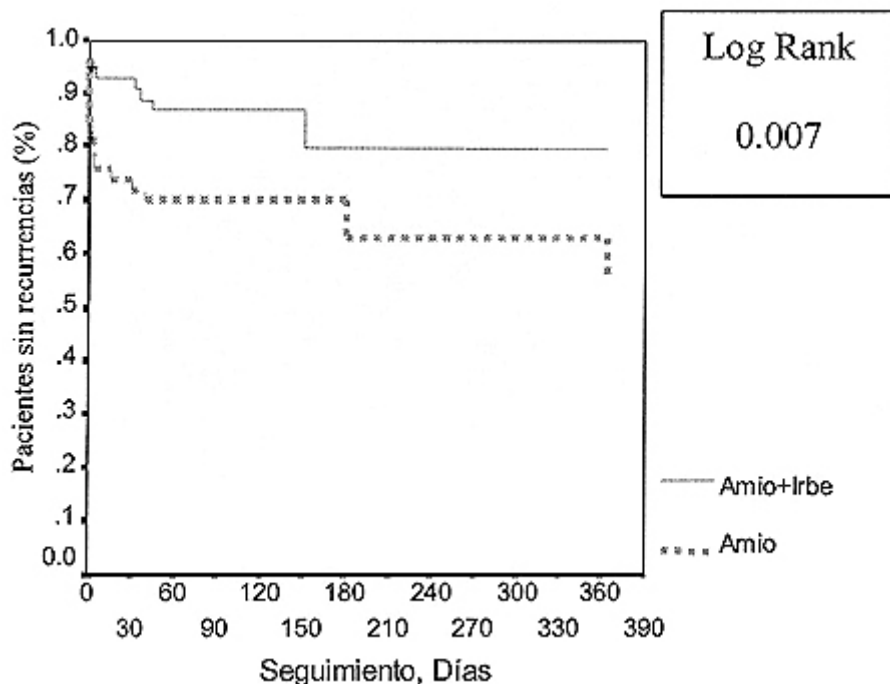
Los pacientes en el grupo tratado con amiodarona tenían un peso corporal medio de  $77 \pm 12$  kg y una altura media de  $163 \pm 7$  cm, se requirieron  $1.7 \pm 1.5$  *shocks* y un umbral eléctrico para la cardioversión efectiva de  $267 \pm 79$  J. Los pacientes incluidos en el grupo tratado con amiodarona más irbesartán mostraron pesos y alturas similares ( $77 \pm 14$  kg y  $164 \pm 8.8$  cm,  $p = 0.47$  y  $0.35$ , respectivamente), si bien se observó una tendencia a un menor número de *shocks* y un umbral eléctrico más bajo ( $1.4 \pm 1.6$  *shocks* y  $258 \pm 77$  J), estas variables no alcanzaron significación estadística ( $p = 0.31$  y  $0.28$ , respectivamente).

#### Recurrencia de la fibrilación auricular

En la visita de seguimiento realizada a los 2 meses, 52 pacientes mostraron recurrencia de la fibrilación auricular, con una incidencia máxima durante la primera semana tras la cardioversión eléctrica. Según el análisis por intención de tratar, a los 2 meses la tasa de recurrencia era más baja en el grupo II (14 pacientes) que en el grupo I (38 pacientes). El análisis de Kaplan-Meier mostró una probabilidad a los dos meses del 84% para mantener el ritmo sinusal en pacientes que recibieron irbesartán, en comparación con el 63% en pacientes no tratados con este fármaco ( $p = 0.008$ ).

El análisis multivariado reveló que la administración del antagonista del receptor de la angiotensina II era la única variable significativa relacionada con el mantenimiento del ritmo sinusal tras la cardioversión. El índice de riesgo de recurrencia en pacientes tratados con irbesartán fue 0.35, lo que refleja una reducción del 65% en el riesgo de recurrencia de fibrilación auricular (riesgo

relativo, 0.35; IC del 95%, 0.12 a 0.46;  $p = 0.018$ ). Tras utilizar el modelo proporcional de Cox, efectuando una corrección de aquellas variables que podrían influir en el resultado (por ejemplo, presencia de diabetes, bloqueo de una rama del haz de His o duración de la fibrilación auricular), el índice de riesgo fue 0.19, lo que refleja un descenso del 81% (riesgo relativo, 0.19; IC del 95%, 0.04 a 0.86;  $p = 0.031$ ). Cuando el análisis excluyó los pacientes en los cuales la cardioversión eléctrica era ineficaz, la probabilidad de permanecer en ritmo sinusal todavía se mostró significativamente más elevada en los pacientes del grupo tratado con amiodarona más irbesartán. Al final del seguimiento, 44 pacientes tratados con amiodarona presentaron recurrencia de la fibrilación auricular, al igual que 18 pacientes que recibieron tratamiento con amiodarona más irbesartán ( $p = 0.007$ ). La figura 2 muestra la probabilidad de permanecer en ritmo sinusal en ambos grupos de tratamiento al final del seguimiento (55% para el grupo I y 79% para el grupo II). El factor más importante para predecir la recurrencia fue la duración de la fibrilación auricular antes de la aleatorización.



Se observó tendencia a que el tratamiento con irbesartán más amiodarona fuese superior ante la administración de amiodarona sola en los pacientes con hipertensión (RR, 0.49; IC del 95% 0.11 a 2.06), cardiopatía estructural (RR, 0.37; IC del 95%, 0.09 a 1.5) o fibrilación auricular de más de 12 meses de evolución (RR, 0.20; IC del 95%, 0.024 a 1.76), si bien no alcanzó significación estadística.

#### *Reacciones adversas durante el seguimiento en cada grupo de intervención*

Un paciente sufrió muerte súbita durante el transcurso del estudio. Era un hombre de 51 años que recibía tratamiento con amiodarona más irbesartán. El paciente no presentaba cardiopatía orgánica ni tampoco otros factores de riesgo, pertenecía a la clase funcional I de la NYHA, y falleció a los 21 días de realizársele cardioversión eléctrica con éxito a ritmo sinusal. Veintidós pacientes fueron tratados por complicaciones clínicas importantes no mortales: 12 en el grupo tratado con amiodarona y 10 en el grupo tratado con amiodarona más irbesartán. En total, se produjeron reacciones adversas que obligaron a suspender el tratamiento con amiodarona en 6 pacientes en el grupo I y en 4 pacientes en el grupo II. Se apreció sospecha de toxicidad pulmonar en una mujer. Al cabo de 2 meses de instaurar el tratamiento con amiodarona, la paciente presentó tos persistente y disnea progresiva. Tras obtener una radiografía de tórax sugestiva se suspendió la administración de amiodarona y remitieron los síntomas. Un paciente presentó sospecha de tromboembolismo pulmonar al cabo de una semana de la cardioversión. Un paciente presentó insuficiencia cardíaca congestiva y bradicardia, se interrumpió el tratamiento con amiodarona (esta decisión se tomó atendiendo las preferencias del paciente). Seis pacientes presentaron *flutter* auricular típico y fueron sometidos a ablación con catéter de radiofrecuencia. Cuatro pacientes precisaron la implantación de un marcapasos debido al síndrome del seno enfermo. En 4 pacientes se llevó a cabo cirugía no cardíaca (próstata y cataratas). Un paciente mostró incremento significativo de los niveles de hormona estimulante del tiroides (TSH) y signos de hipotiroidismo clínico, lo que llevó a interrumpir la administración de amiodarona. Un paciente presentó un

episodio gastrointestinal (diarrea persistente), probablemente secundario al tratamiento con amiodarona. Los microdepósitos comeales comportaron síntomas en un paciente. Dieciocho pacientes mostraron episodios dermatológicos leves (fotosensibilidad significativa).

## Discusión

### *Hallazgos principales*

Los resultados de este estudio prospectivo y aleatorizado demuestran que el hecho de añadir irbesartán, un bloqueante de los receptores de angiotensina II (antagonista de acción prolongada de los receptores tipo 1 de la angiotensina II con afinidad elevada por el receptor tipo 1 de la angiotensina II) a la amiodarona resulta más efectivo para mantener el ritmo sinusal en pacientes con fibrilación auricular persistente en los que se instauró cardioversión a ritmo sinusal. Varios ensayos llevados a cabo con anterioridad evaluaron la seguridad de la amiodarona en dosis bajas, demostrando que la amiodarona puede ser empleada de forma segura con la monitorización apropiada.<sup>14,15</sup>

### *Remodelado y cambios de la aurícula izquierda en la fibrilación auricular persistente*

El término remodelado electrofisiológico auricular fue empleado por primera vez para describir los cambios inducidos por la fibrilación auricular de larga evolución que favorecen el mantenimiento o las recurrencias.<sup>7</sup> Este fenómeno puede desempeñar un papel en la transición de fibrilación auricular paroxística a fibrilación auricular crónica, así como en la pérdida de eficacia de los fármacos antiarrítmicos o del *shock* eléctrico a la hora de tratar pacientes con fibrilación auricular de mayor tiempo de evolución. En cuanto a la electrofisiología, podrían estar implicados dos mecanismos: el primero consiste en el papel de la actividad anormal que se produce en el interior de las venas pulmonares y el segundo se refiere al acortamiento del período refractario del músculo auricular. La administración de irbesartán podría modificar ambos mecanismos, si bien ninguno de ellos ha sido evaluado mediante métodos electrofisiológicos en este estudio, por lo que podrían constituir el objeto de investigaciones futuras. El bloqueo de los canales del calcio podría resultar también beneficioso en el remodelado eléctrico agudo, habiéndose propuesto el uso de verapamilo con otros fármacos antiarrítmicos o sin ellos antes de la cardioversión con el fin de reducir el riesgo de recurrencia.<sup>16,17</sup>

### *Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y arritmias*

Pedersen y col.<sup>12</sup> investigaron el efecto del trandolapril sobre la incidencia de fibrilación auricular en pacientes con función ventricular izquierda disminuida. La administración de trandolapril redujo el riesgo de desarrollar fibrilación auricular en un 55%. Los IECA podrían ser eficaces sobre la base de sus efectos favorables sobre la fibrosis cardiovascular y la apoptosis.<sup>18</sup>

El estudio llevado a cabo por Nakashima y col.<sup>13</sup> puso de manifiesto por primera vez que la angiotensina II contribuye al remodelado eléctrico auricular. En ese estudio, el acortamiento del período refractario auricular durante la frecuencia rápida se impidió mediante tratamiento con candesartán o captopril, pero aumentó con la angiotensina II.

Otros estudios recientes demostraron la capacidad del losartán para hacer remitir la fibrosis en sujetos hipertensos con fibrosis miocárdica documentada por biopsia, independientemente de su eficacia antihipertensiva, lo que sugiere que el bloqueo del receptor tipo 1 de la angiotensina II se asocia con inhibición de la síntesis del colágeno tipo 1 y con regresión de la fibrosis miocárdica.<sup>19</sup>

Recientemente, un nuevo estudio prospectivo incluyó 180 pacientes consecutivos con fibrilación auricular persistente.<sup>20</sup> En ese estudio los pacientes fueron asignados a amiodarona o a amiodarona más enalapril antes de la realización de cardioversión eléctrica externa programada. Los autores hallaron menor recurrencia de fibrilación auricular en los pacientes que se encontraban en tratamiento con amiodarona más enalapril con respecto a los pacientes que tan sólo estaban tomando amiodarona, y concluyeron que la adición de enalapril a la amiodarona disminuye la tasa de recurrencias agudas y subagudas, lo cual facilita el mantenimiento a largo plazo del ritmo sinusal tras la cardioversión de pacientes con fibrilación auricular persistente.

En el editorial dedicado a ese último artículo Heidbüchel<sup>21</sup> concluye que los resultados de los diferentes trabajos confirman que el bloqueo del sistema renina-angiotensina-aldosterona – mediante los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina o bien por medio de los antagonistas de los receptores tipo 1 de la angiotensina II– produce un efecto beneficioso al conseguir una menor recurrencia en pacientes con fibrilación auricular.

### *Posibles mecanismos de eficacia de irbesartán en este estudio*

La mayor parte del beneficio proporcionado por el irbesartán tuvo lugar durante los dos primeros meses tras la conversión. Después de ese período, las dos curvas parecen ser paralelas. Este resultado es similar a los obtenidos en algunos estudios recientes y pone de manifiesto la

importancia del remodelado inmediatamente después de la cardioversión.<sup>22</sup> Además, tras clasificar los fracasos de la cardioversión eléctrica y las recurrencias, se demostró que el irbesartán redujo la recurrencia inmediata de fibrilación auricular (ningún paciente presentó recurrencia durante un intervalo de tiempo de 1 hora después de la cardioversión) y las llamadas recurrencias subagudas durante las primeras semanas.<sup>23</sup>

Aunque la disminución de la presión arterial podría ser un factor importante del mecanismo del beneficio, no se apreció ninguna diferencia estadísticamente significativa en este estudio en la presión arterial entre los dos grupos después del seguimiento. La administración de irbesartán permitió prevenir o modificar el remodelado auricular a través de otros mecanismos, entre los que se incluyen: disminución de la tracción auricular, descenso de la presión diastólica final del ventrículo izquierdo y, posteriormente, de la presión auricular izquierda, prevención de la fibrosis auricular, modificación del tono simpático o modulación de las corrientes de iones o de la refractariedad.

En cuanto al porcentaje de pacientes en el grupo II tratado con betabloqueantes o con bloqueantes de los canales de calcio con efectos a nivel cardíaco, no es posible desestimar que estos fármacos puedan haber desempeñado un papel en el beneficio debido a las interacciones medicamentosas. Sin embargo, debería tenerse en cuenta también que un porcentaje elevado de pacientes en el grupo I recibieron tratamiento con IECA, lo que puede haber comportado beneficios adicionales en este grupo.

#### *Limitaciones del estudio*

No podemos descartar de manera concluyente el hecho de que, entre las visitas de seguimiento programadas, algunos de los pacientes presentaran recurrencias asintomáticas de fibrilación auricular que experimentaron una conversión espontánea. Sin embargo, en el presente estudio no se incluyeron pacientes con fibrilación auricular paroxística y autolimitada. Aunque el estudio no incluyó registradores de episodios, consideramos que la vigilancia encaminada a detectar recurrencias de la fibrilación auricular fue suficiente para el objetivo de este estudio, es decir, detectar la aparición de fibrilación auricular persistente recurrente. Existen muchos fármacos antihipertensivos que pueden estimular la secreción de angiotensina. Mientras que los diuréticos provocan de modo invariable un aumento en la actividad de la renina plasmática, los betabloqueantes disminuyen la actividad de la renina. No obstante, el porcentaje de pacientes que utilizaban diuréticos fue bajo y similar en ambos grupos. Asimismo, algunos vasodilatadores como la hidralazina o la prazosina pueden estimular el sistema renina-angiotensina. Sin embargo, estos fármacos no fueron administrados en este estudio. Aunque el tratamiento combinado fue superior a la administración de amiodarona sola, no se probó la monoterapia con irbesartán. El éxito del irbesartán puede diferir según el grado de remodelación auricular antes de la cardioversión.

#### **Conclusiones**

Los pacientes tratados con amiodarona e irbesartán presentaron a los dos meses una tasa más baja de recurrencia de fibrilación auricular y un período de tiempo más prolongado hasta la primera recurrencia de la arritmia. El costo adicional del tratamiento con amiodarona más irbesartán muestra un equilibrio adecuado con la reducción en la recurrencia de las arritmias. Los autores no manifiestan conflictos.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

1. Kannel WB, Abbott RD, Savage DD, et al. Epidemiologic features of atrial fibrillation: the Framingham study. *N Eng1 J Med.* 1982; 3 06: 1018-1022.
2. Krahn AD, Manfreda J, Tate RB, et al. The natural history of atrial fibrillation: incidence, risk factors, and prognosis in the Manitoba follow-up study. *Am JMed.* 1995;98:476-484.
3. Wellens HJJ. Atrial fibrillation: the last big hurdle in treating supraventricular tachycardia. *N Eng1 JMed.* 1994; 331: 944-945.
4. Scheirunan MM, Morady F. Nonpharmacological approaches to atrial fibrillation. *Circulation.* 2001; 103: 2120-2125.
5. Haïssaguerre M, Jaïs P, Shah DC, et al. Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins. *N Eng1 JMed.* 1998; 339: 659-666.
6. Allessie MA. Atrial electrophysiological remodeling: another vicious circle? *J Cardiovasc Electrophysiol* 1998; 9: 1378-1393.
7. Wijffels MCEF, Kirchhof CJHJ, Dorland R, et al. AF begets AF: a study in awake chronically instrumented goats. *Circulation.* 1995; 92: 1954-1968.
8. Van Noord T, Van Gelder 1, Toleman R, et al. The verapamil versus digoxin cardioversion trial. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 200 1; 12: 766-769.
9. Villani G, Piepoli M, Terracciano C, et al. Effects of diltiazem pretreatment on direct-current cardioversion in patients with



- persistent atrial fibrillation: a single blind, randomized, controlled study. *Am Heart J* 2000; 140: 437-443.
10. Capucci A, Villani GQ, Aschieri D, et al. Oral amiodarone increases the efficacy of direct-current cardioversion in restoration of sinus rhythm in patients with chronic atrial fibrillation. *Eur Heart J* 2000; 21: 66-73.
  11. Members of the Sicilian Gambit. New approaches to antiarrhythmic therapy: emerging therapeutic applications of the cell biology of cardiac arrhythmias. *Eur Heart J*; 2001; 22: 2148-2163.
  12. Pedersen OD, Bagger H, Kober L, et al. Trandolapril reduces the incidence of atrial fibrillation after acute myocardial infarction in patients with left ventricular dysfunction. *Circulation*. 1999; 100: 376-380.
  13. Nakashima H, Kumagai K, Urata H, et al. Angiotensin II antagonist prevents electrical remodeling in atrial fibrillation. *Circulation*. 2000; 101: 2612-2617.
  14. Roy D, Talajic M, Dorian P, et al. Amiodarone to prevent recurrence of atrial fibrillation. Canadian Trial of Atrial Fibrillation Investigators. *N Engl J Med*. 2000; 342:913-920.
  15. Kochiadakis GE, Igoumenidis N-E, Marketou ME, et al. Low-dose amiodarone versus sotalol for suppression of recurrent symptomatic atrial fibrillation. *Am J Cardiol*. 1998; 81: 995-998.
  16. Tieleman RG, De Langen C, VanGelder IC, et al. Verapamil reduces tachycardia-induced electrical remodeling of the atria. *Circulation*. 1997; 95: 1945-1953.
  17. Simone A, Stabile G, Vitale DF, et al. Pretreatment with verapamil in patients with persistent or chronic atrial fibrillation who underwent electrical cardioversion. *J Am Coll Cardiol*. 1999; 34: 810-814.
  18. Fortuño MA, Ravassa S, Etayo JC, et al. Overexpression of Bax protein and enhanced apoptosis in the left ventricle of spontaneously hypertensive rats: effects of ATI blockade with losartan. *Hypertension*. 1998; 32: 280-286.
  19. López B, Querejeta R, Varo N, et al. Usefulness of serum carboxy-tenascin propeptide of procollagen type I in assessment of the cardioreparative ability of antihypertensive treatment in hypertensive patients. *Circulation*. 2001; 104: 286-291.
  20. Kwo-Chang Ueng, Tsung-Po Tsai, Wen-Chung Yu, et al. Use of enalapril to facilitate sinus rhythm maintenance after external cardioversion of long-standing persistent atrial fibrillation. *Eur Heart J* 2003; 24: 2090-2098.
  21. Heidbüchel H. A paradigm shift in treatment for atrial fibrillation: from electrical to structural therapy? *Eur Heart J* 2003; 24:2077-2078.
  22. Kühikarn V, Schirdewan A, Stangl K, et al. Use of metoprolol CR/XL, to maintain sinus rhythm after conversion from persistent atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol*. 2000;36:139-146.
  23. Crijns HJGM, Van Noord T, Van Gelder IC. Recurrence of atrial fibrillation and the need for new definitions. *Eur Heart J* 2001; 22: 1769-1771.

---

## LESÃO ERITROCITÁRIA E ATIVAÇÃO LEUCOCITÁRIA COMO POTENCIAIS MARCADORES DE RISCO DE EVENTOS CARDIOVASCULARES



Columnista Experto de SIIC  
**Dra. Alice Santos-Silva**

Professora Auxiliar Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto e Investigadora do Instituto de Biologia Molecular e Celular da Universidade do Porto. Campo de especialização Hematologia/Bioquímica

### Aterogénese

Vários estudos epidemiológicos e laboratoriais têm evidenciado diferentes factores de risco de eventos cardiovasculares, nomeadamente um perfil lipídico alterado (hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, concentrações elevadas de colesterol das lipoproteínas de baixa densidade, de apolipoproteína B e de lipoproteína (a); baixas concentrações de colesterol das lipoproteínas de alta densidade e da apolipoproteína A), hábitos tabágicos, sedentarismo, hipertensão arterial, hiperfibrinogenemia, hiper-homocisteinemia, obesidade. Estes factores de risco podem ocorrer isoladamente ou em associação sinérgica, todavia, permitem prever apenas alguns dos eventos cardiovasculares. Considerando a importância das DCV, pela sua prevalência e complicações associadas (a primeira causa de mortalidade e de morbilidade em Portugal)<sup>1</sup> e que os factores de risco tradicionais prevêm apenas alguns dos eventos, torna-se importante o estudo de novos marcadores de risco.<sup>2,3</sup> A importância dos lípidos e das lipoproteínas na aterogénese é inquestionável. Estão também envolvidas diversas células e processos metabólicos no processo aterogénico, o qual pode ter início ou não numa lesão do endotélio vascular. O processo aterogénico pode iniciar-se pela adesão de monócitos/macrófagos à célula endotelial morfológicamente íntegra, na sequência da infiltração de LDL no espaço subendotelial. Neste espaço, a LDL é modificada oxidativamente, sendo esta modificação determinada por metabolitos de oxigénio que podem ter origem nos monócitos/macrófagos, nas células musculares lisas ou nas células do endotélio vascular. A LDL oxidada constitui um factor quimiotáctico para os monócitos circulantes, tem capacidade para inibir a motilidade dos macrófagos, sendo fagocitada por estes mais avidamente do que a LDL nativa. Ou seja, da modificação oxidativa das LDL no espaço subendotelial resulta a mobilização de monócitos da circulação sanguínea, a acumulação de

macrófagos e a formação de células "foam". Este processo adquire uma progressão "auto-catalítica" em que interactuam células activadas do espaço extra-vascular (macrófagos, linfócitos, células musculares lisas), da parede vascular e do espaço intra-vascular (plaquetas, monócitos, neutrófilos, linfócitos). No centro desta interacção celular está o macrófago que, para além de constituir uma fonte importante de metabolitos de oxigénio e proteases, é capaz de secretar citoquinas que induzem activação e proliferação de células musculares lisas, fibroblastos e células endoteliais, também elas capazes de produzir e secretar mediadores inflamatórios como o interferon, o TNF, a PAF.<sup>4</sup> Algumas das citoquinas secretadas pelas células inflamatórias têm capacidade para activar células da circulação sanguínea, nomeadamente o monócito, o linfócito, o neutrófilo e as plaquetas.

É razoável que a activação celular decorrente do processo aterosclerótico, acompanhada por libertação de mediadores de activação leucocitária, de proteases e de metabolitos de oxigénio capazes de difusão através das membranas celulares, contribua para o desenvolvimento de um ambiente de stress oxidativo e proteolítico.

A localização típica das placas ateroscleróticas na rede vascular,<sup>5</sup> em zonas de turbulência e estase, é sugestiva da importância de uma interacção próxima das células no processo aterosclerótico, por favorecer a interacção celular e dos seus produtos de activação e, ainda, por favorecer a lesão do endotélio vascular. A viscosidade sanguínea é também um factor importante, favorecendo a turbulência, estase e interacção celular.<sup>6</sup> Esta, é determinada por condições físicas como a temperatura, por forças de atrito entre as células capazes de romper a agregação eritrocitária e induzir a deformação celular, e, ainda, pela composição sanguínea (hematócrito, capacidade de deformabilidade dos eritrócitos, número de leucócitos, concentração de lípidos plasmáticos, de fibrinogénio) e pela tensão arterial.<sup>6,7</sup>

### **Importância dos neutrófilos**

Os doentes cardiovasculares apresentam frequentemente uma leucocitose do tipo neutrofilico, sugestiva do envolvimento do neutrófilo na fisiopatologia da aterogénese.<sup>8,9</sup> Foi atribuída capacidade para activar o neutrófilo a algumas citoquinas secretadas pelo macrófago e por outras células inflamatórias, como a IL-1, IL-8 e TNF.

O neutrófilo é uma célula de recursos sofisticados e complexos, em comunicação contínua com o meio circundante. Possui no seu citoplasma quatro tipos de granulações,<sup>10</sup> as granulações primárias ou azurófilas, as secundárias ou neutrofilas, as granulações terciárias e as vesículas secretórias, sendo estas duas últimas apenas visíveis à microscopia electrónica.

As granulações neutrofilas, específicas do neutrófilo, são ricas em fosfatase alcalina, lisozima, aminopeptidase e lactoferrina. As granulações azurófilas, também presentes no monócito, são ricas em mieloperoxidase, fosfatase ácida,  $\beta$ -lactosidase,  $\beta$ -glucuronidase, proteínas catiónicas, colagenase e elastase.

Em condições fisiológicas, os neutrófilos estabelecem ligações fracas com o endotélio vascular através de moléculas de adesão (selectinas), rolando ao longo da rede vascular. A adesão firme do neutrófilo ao endotélio vascular é mediada por outro tipo de moléculas de adesão, as integrinas, que permitem a transmigração do neutrófilo para o espaço extra-vascular, seguindo gradientes de factores quimiotácticos como os metabolitos de oxigénio, factores do complemento, substâncias hidrossolúveis de origem bacteriana, metabolitos do ácido araquidónico, produtos de activação plaquetária, citoquinas e interleuquinas produzidas pelas diversas células mediadoras da inflamação. A activação do neutrófilo é acompanhada de desgranulação e de activação metabólica, com produção de metabolitos de oxigénio, como o anião superóxido, peróxido de hidrogénio, radical hidroxilo e oxigénio singleto.

A produção de metabolitos de oxigénio e a libertação de proteases pelas células inflamatórias no espaço vascular ou próximo deste, como acontece nas placas ateroscleróticas, pode determinar modificações oxidativas e/ou proteolíticas nas células endoteliais ou do espaço subendotelial, nas células sanguíneas, nomeadamente nos eritrócitos e em diferentes constituintes plasmáticos, favorecendo a aterogénese e o risco de eventos cardiovasculares.

### **Importância dos eritrócitos**

O eritrócito é uma célula particularmente sensível a agressões oxidativas e proteolíticas por ter uma capacidade sintética muito limitada, que o impede de substituir ou reparar as modificações ocorridas nas suas proteínas. Ao longo da sua vida o eritrócito sofre e acumula lesões físicas e químicas decorrentes de um processo de senescência normal ou de agressões físicas e químicas.<sup>11-</sup>

Considerando que a síntese de novo é limitada no eritrócito e que a remoção de eritrócitos senescentes ou lesados é mediada pelos macrófagos, o sinal tradutor de lesão ou envelhecimento deve resultar da modificação de um dos constituintes normais do eritrócito maduro e localizar-se na superfície exofacial da membrana, permitindo aos macrófagos identificar modificações bioquímicas intra-eritrocitárias traduzidas para a membrana. Vários estudos evidenciaram a presença de um neoantígeno de senescência na superfície da membrana de eritrócitos senescentes ou lesados, que se liga a auto-anticorpos específicos do tipo IgG. Estes, são anticorpos naturais específicos para a proteína banda 3 da membrana do eritrócito e em conjunto com o complemento medeiam o reconhecimento e remoção de eritrócitos senescentes ou lesados pelos macrófagos.<sup>15-19</sup>

A proteína banda 3 de 90-100 Kd, é uma proteína transmembranar com diferentes funções na célula.<sup>20</sup> O domínio citoplasmático é portador dos locais de fixação de proteínas do citosqueleto (4.2, 4.1 e anquirina) e de ligação de alta afinidade para várias enzimas da glicólise (G3PD, PK, aldolase) e para a hemoglobina oxidada. O domínio transmembranar e extracelular é responsável pelo transporte de aniões. Esta proteína distribui-se uniformemente pela membrana e liga-se aos auto-anticorpos naturais anti-banda 3 através de ligações não covalentes. Em caso de proteólise, de agregação ou de exposição anormal dos epítomos de banda 3, esta ligação aos anticorpos anti-banda 3 torna-se forte, indissociável, promovendo a activação do complemento e, finalmente, a remoção do GV velho ou lesado pelos macrófagos.

Sendo oxidada, a hemoglobina poderá ser regenerada ao seu estado reduzido funcional, pelos sistemas NADPH/meta-hemoglobina redútase principal e NADH/meta-hemoglobina redútase acessória. No caso de falência destes sistemas, a hemoglobina oxidada liga-se preferencialmente ao domínio citoplasmático da proteína banda 3, promovendo a sua agregação.<sup>21</sup>

A desnaturação da hemoglobina e, por consequência, a agregação da banda 3, pode resultar do desenvolvimento de stress oxidativo na célula, por falência dos mecanismos de defesa antioxidante, decorrente de um processo de envelhecimento eritrocitário normal ou imposto por uma situação de stress oxidativo.<sup>13,22</sup>

A activação leucocitária, com produção de metabolitos de oxigénio e proteases, pode determinar modificações nas proteínas da membrana do GV alterando a sua antigenicidade, determinar a oxidação de lípidos da membrana e a oxidação da hemoglobina e, finalmente, a remoção prematura dos eritrócitos lesados.<sup>23-28</sup>

### Potenciais marcadores de risco

Os estados inflamatórios de origem fisiológica ou patológica têm em comum o facto de poderem evoluir de uma forma súbita e muitas vezes imprevisível para um evento grave ou mesmo fatal. Estes processos inflamatórios de origem fisiológica, como o exercício físico e a gravidez, ou de origem patológica, como as doenças cardiovasculares, cursam habitualmente com uma leucocitose do tipo neutrofílico e frequentemente com uma redução no número de eritrócitos. Esta associação sugere que a exposição de eritrócitos a metabolitos de oxigénio e a proteases, ambos produzidos por neutrófilos activados, pode determinar lesões oxidativas e/ou proteolíticas nos eritrócitos, cuja acumulação, pode ser determinante de uma remoção acelerada e prematura de eritrócitos. Ou seja, é provável que o GV sob stress oxidativo ou proteolítico seja marcado precocemente para a morte, por modificações na proteína banda 3.

Na procura de novos marcadores de risco temos avaliado em diferentes processos inflamatórios fisiológicos e patológicos, o eritrócito como um marcador cumulativo de stress oxidativo e proteolítico e os neutrófilos como uma fonte de metabolitos de oxigénio e de proteases. Num primeiro estudo feito em doentes em risco de eventos cardiovasculares (hipertensos; sobreviventes de enfarte de miocárdio com mais de 3 meses; sobreviventes de enfarte de miocárdio com menos de 48 horas) e num grupo controlo,<sup>29</sup> verificámos que o valor de hemoglobina ligada à membrana (HbLM) era superior nos doentes e que o perfil da proteína banda 3 da membrana eritrocitária (% de monómero, agregados e fragmentos) era diferente, apresentando os doentes valores mais elevados de agregados de banda 3 e mais baixos de monómero e de fragmentos proteolíticos; os valores de agregação da banda 3 eram acompanhados de uma maior ligação de IgG à membrana. Observou-se ainda uma correlação negativa da concentração de neutrófilos, quer com a concentração de GV quer com a actividade da glucose-6-fosfato desidrogenase eritrocitária (um reconhecido índice de idade eritrocitária). A fim de clarificar a aparente relação entre lesão e envelhecimento eritrocitário com a acção de produtos de activação do neutrófilo, observada no estudo anterior, procedemos a um estudo *in vitro*,<sup>30</sup> no qual avaliamos o valor de HbLM e o perfil da banda 3 em GV de idades diferentes

(separados por centrifugação em gradiente de densidade), em GV incubados com neutrófilos activados, em concentrações crescentes, e em GV incubados com elastase do neutrófilo, também em concentrações crescentes. A relação usada, entre o número de neutrófilos e o número de GV, era igual ou superior à observada nos doentes que haviam sofrido um enfarte de miocárdio recente. Reforçando a hipótese do envolvimento de neutrófilos activados na lesão e envelhecimento eritrocitário, verificámos que as modificações impostas por concentrações crescentes de neutrófilos activados e de elastase sobre o perfil da banda 3 se correlacionavam positivamente. Verificou-se ainda que estas modificações eram semelhantes às observadas em GV mais densos e mais velhos.

É aceite que o exercício físico moderado constitui um protector cardiovascular,<sup>31,32</sup> embora o mecanismo subjacente não esteja bem definido.<sup>33</sup> Quanto ao exercício físico intenso, como o de alta competição, alguma controvérsia ainda existe quanto ao seu efeito protector.<sup>34</sup>

O exercício físico é acompanhado de um aumento no metabolismo celular, no ritmo cardíaco e respiratório e na temperatura fisiológica. Observa-se ainda uma perda de líquidos e uma leucocitose neutrofilica. A perda de líquidos determina uma redução no volume plasmático com hemoconcentração e hiperviscosidade plasmática. Estas modificações, em conjunto com o número elevado de leucócitos, de capacidade de deformabilidade reduzida, podem contribuir para alterações hemorreológicas importantes. Durante o exercício físico, os GV devem transportar oxigénio aos tecidos sob um fluxo mais elevado e num meio mais viscoso. O aumento do metabolismo celular e do "turnover" da hemoglobina (oxigenação/desoxigenação) favorecem a produção de metabolitos de oxigénio no plasma e nos eritrócitos, a activação leucocitária e o desenvolvimento de stress oxidativo.<sup>35-36</sup>

Considerando as modificações associadas ao exercício físico, é razoável questionar o benefício do exercício físico de alta competição, já que é provável o desenvolvimento de um stress oxidativo e proteolítico elevado e contínuo. Com o objectivo de estudar este efeito, avaliámos e comparámos o perfil lipídico e os valores de activação leucocitária, de lesão eritrocitária e de stress oxidativo em dois grupos de adolescentes de perfil lipídico normal.<sup>37</sup> Um dos grupos incluiu nadadores de alta competição e o outro adolescentes que praticavam exercício físico nas aulas de educação física das respectivas escolas. Verificámos que os adolescentes nadadores de alta competição apresentavam valores mais elevados de produtos de activação leucocitária (elastase e lactoferrina), valores mais elevados de HbLM e um perfil de banda 3 perfeitamente distinto do grupo controlo, com aumento dos agregados e redução dos fragmentos proteolíticos, à semelhança do que havíamos observado nos estudos anteriores sugestivos do envolvimento da activação leucocitária na lesão e envelhecimento de eritrócitos.

No perfil lipídico observámos modificações protectoras e modificações de risco. Observámos valores mais elevados de colesterol total, de colesterol das lipoproteínas de baixa densidade (LDLc) e de lipoproteína (a) (Lp(a)), valores mais baixos de apolipoproteína AI (Apo AI), como modificações de risco. Como modificações protectoras, observámos valores mais baixos de apolipoproteína B (Apo B) e de triglicéridos (TG), valores mais elevados de colesterol das lipoproteínas de alta densidade (HDLc). A associação de valores mais elevados de LDLc e de stress oxidativo observada nos nadadores, pode constituir um risco aterogénico acrescido, se considerarmos a regularidade e a intensidade do exercício físico praticada por estes adolescentes. A adaptação ao exercício físico intenso parece associar-se a níveis elevados de produtos de activação leucocitária e a envelhecimento e remoção acelerada e prematura. É provável que o exercício físico de alta competição impondo níveis mais elevados de metabolitos de oxigénio e proteases, de colesterol e de LDL, possa favorecer a lesão de células endoteliais e o desenvolvimento prematuro de lesões ateroscleróticas. Além disso, no decorrer da prática de exercício físico intenso todas as modificações se acentuam devido à hemoconcentração por perda de líquidos, o que favorecerá a lesão endotelial e a infiltração lipídica, sobretudo em zonas de maior turbulência e estase na rede vascular.

Num trabalho mais recente,<sup>38</sup> o estudo destes potenciais marcadores de risco foi avaliado em doentes diagnosticados com acidente cerebrovascular isquémico por imagem tomográfica computadorizada. Para além da concentração plasmática de elastase e de lactoferrina, como marcadores de activação leucocitária, do perfil da banda 3 e do valor de HbLM, como marcadores de lesão eritrocitária, avaliou-se o perfil lipídico (colesterol, LDLc, HDLc, TG, Apo AI, Apo B, Lp(a)) e o hemograma (nº GV, concentração de hemoglobina, hematócrito, índices hematimétricos, nº leucócitos e respectiva contagem diferencial).

Verificou-se que os doentes apresentavam valores significativamente mais elevados de leucócitos, em particular de granulócitos, cujo valor quase duplicou relativamente ao grupo controlo. A

concentração de elastase e de lactoferrina aumentou também de forma significativa nos doentes, para valores superiores ao dobro do valor apresentado pelo controlo. O estudo eritrocitário revelou um franco aumento no valor de HbLM (quatro vezes superior ao valor do controlo) e um perfil de banda 3 distinto nos doentes. Estes apresentavam um aumento significativo de agregados de banda 3 e uma redução dos seus fragmentos proteolíticos. Os resultados observados nestes doentes de acidente cerebrovascular isquémico, sugerem que esta patologia está associada a um aumento no número de neutrófilos e dos seus produtos de activação, os quais parecem estar relacionados com as lesões eritrocitárias observadas, nomeadamente com um aumento de HbLM e de agregação da banda 3.

### Considerações finais

A aterogénese com um desenvolvimento progressivo, inicia-se na primeira ou na segunda década de vida, manifestando-se clinicamente algumas décadas mais tarde.

Os estudos epidemiológicos têm evidenciado que para além dos factores de risco tradicionais (lípidos e lipoproteínas), existem outros factores que também traduzem risco cardiovascular. É o caso da viscosidade sanguínea,<sup>6,7</sup> cujo valor é definido por condições físicas (temperatura, fluxo sanguíneo e forças de atrito) e pela composição sanguínea (concentração e capacidade de deformabilidade e de agregabilidade dos GV, número de leucócitos, concentração de lípidos).

A localização típica das lesões ateroscleróticas em zonas de turbulência e também de maior estase sanguínea, é sugestiva da importância de uma interacção próxima das células e dos seus produtos de activação no processo aterogénico.<sup>39</sup> A progressão da lesão aterosclerótica, com estreitamento do lúmen vascular acentuará a turbulência e estase nestas zonas, bem como a interacção de células e dos seus produtos de activação.

Sendo os neutrófilos células de reduzida capacidade de deformabilidade, um aumento do número de neutrófilos circulantes contribuirá para aumentar a turbulência e estase sanguínea a nível das lesões ateroscleróticas, sobretudo em caso de redução do lúmen vascular. A presença de eritrócitos senescentes ou lesados, com uma maior rigidez de membrana e menor capacidade de deformabilidade, terão um impacto hemorreológico semelhante. Acresce que ao processo de senescência eritrocitária é também atribuído uma redução do ácido siálico e a exposição de fosfolípidos ácidos no folheto lipídico exterior da membrana do GV,<sup>40</sup> que determinam uma maior adesividade da célula ao endotélio vascular e maior agregabilidade dos eritrócitos.

Em conclusão, o neutrófilo e seus produtos de activação, com um papel activo e reconhecido no processo aterogénico, parece constituir um agente de lesão eritrocitária, determinando modificações cumulativas a nível da membrana do GV, que marcam prematuramente a célula para a morte, e que se traduzem numa redução da capacidade de deformabilidade da célula. As modificações hemodinâmicas decorrentes de um aumento de leucócitos e de GV menos deformáveis, de maior adesividade e mais agregáveis, devem favorecer o processo aterogénico por facilitar a interacção dos diversos intervenientes neste processo.

Propõe-se o estudo do eritrócito como um potencial marcador cumulativo de risco, nomeadamente a avaliação do valor de hemoglobina ligada à membrana e o perfil da proteína banda 3. Propomos ainda como potenciais marcadores de risco o valor de neutrófilos circulantes e dos seus produtos de activação – elastase e lactoferrina.

Los autores no manifiestan conflictos.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Sá P, Dias JÁ, Pereira Miguel JM. Ischaemic heart disease (IHD) and cerebrovascular disease (CVD) mortality evolution in Portugal, 1980-1989. *Acta Méd Port*, 1994, 7 : 71-81.
2. Marmot M. In *Atherosclerosis XII*, Ed Stemme S Olsson AG, Elsevier Science. Epidemiology and mechanisms of atherosclerosis: bringing the perspectives together. 2000, 125-37.
3. Hansson GK. In *Atherosclerosis XII*, Ed Stemme S Olsson AG, Elsevier Science. Inflammation, injury and atherosclerosis – the Russel Ross memorial lecture. 2000, 53-66.
4. Lucas AD, Greaves DR. Atherosclerosis: role of chemokines and macrophages. *Exp Rev Mol Med*, 2001, 5 : 1-18.
5. Davies PF, Barbee KA, Lal R, Robotewskyj A, Griem ML. Hemodynamics and atherogenesis. Endothelial surface dynamics in flow signal transduction. In *Atherosclerosis III Recent Research Advances in Atherosclerosis*. Numano F, Wissler RW Eds. *Ann NY Acad Sci*, 1995; 748:86-103.
6. Lowe GDO. Blood viscosity cardiovascular risk. *Curr Opin Lipidol*, 1993; 4 : 283-287.
7. Cicco G, Pirelli A. Red blood cell (RBC) deformability, RBC aggregability and tissue oxygenation in hypertension. *Clin Hemorheol Circ* 1999, 21 : 169-177.
8. Schleimer RP, Rutledge BK. Cultured human vascular endothelial cells acquire adhesiveness for neutrophils after stimulation with interleukin 1, endotoxin and tumor-promoting phobol esters. *J Immunol* 1986, 136 : 649.

9. Hoffman M, Blum A, Baruch R, Kaplan E, Benjamin M. Leukocytes and coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 2004; 172 : 1-6.
10. Borregaard N, Lollike K, Kjeldsen L, Sengelov H, Bastholm L, Nielsen MH, Bainton DF. Human neutrophil granules and secretory vesicles. *Eur J Haematol*, 1993, 51 : 187-198.
11. Lutz HU. Erythrocyte clearance blood cell biochemistry. In: Harris JR, editor, *Erythroid cells*. New York : Plenum, 1990, 81-120.
12. Brovelli A, Castellana MA, Minetti G, Piccinini G, Seppi C, Renzis MR, Balduini C. Conformational changes and oxidation of membrane proteins in senescent human erythrocytes. In: Magnani M, De Flora A, editors. *Red blood cell aging*. New York: plenum, 1991, 59-73.
13. Kay MMB, Marchalonis JJ, Schluter SF, Bosman G. Human erythrocyte aging: cellular and molecular biology. *Transf Med Rev*, 1991, 3:173-95.
14. Bosch FH, Were JM, Scipper L, Roerdinkholder-Stoelwinder B, Huls T, Willekens FLA, Wichers G, Halie MR. Determinants of red blood cell deformability in relation to cell age. *Eur J Haematol* 1994, 52 : 35-41.
15. Kay MMB. Role of physiologic autoantibody in the removal of senescent human red cells. *J Supramol Struct* 1978, 9:555-67.
16. Kay MMB, Goodman SR, Sorensen K, Whitfield CF, Wong P, Zaki L, Rudloff V. Senescent cell antigen is immunologically related to band 3. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983, 80:1631-5.
17. Kay MMB. Localization of senescent cell antigen on band 3. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, 81:5753-7.
18. Kay MMB, Flowers N, Goodman SR, Bosman G. Alterations in membrane protein band 3 associated with accelerated erythrocyte aging. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86:5834-7.
19. Lutz A. Naturally occurring anti-band 3 antibodies. *Transf Med Rev*, 1992, 3:201-211.
20. Bruce LJ, Tanner MJA. Erythroid band 3 variants and disease. *Ballière's Clin Haematol*, 1999, 12(4):637-654.
21. Low PS. Role of hemoglobin denaturation and band 3 clustering in initiating red cell removal. In: Magnani M, De Flora A, editors. *Red blood cell aging*. New York: Plenum, 1991, 173-183.
22. Lutz HU, Bussolino F, Flepp R, Fasler S, Stammer P, Kazatchkine MD, Arese P. Naturally occurring anti-band 3 antibodies and complement activation together mediate phagocytosis of oxidatively stressed human erythrocytes. *Proc Natl Acad Sci*, 1987, 84 : 7368-7372.
23. Weiss SJ. Neutrophil-mediated methemoglobin formation in the erythrocyte. *J Biol Chem*, 1982, 257:2947-53.
24. Claster S, Chiu D, Quintanilha A, Lubin B. Neutrophils mediate lipid peroxidation in human red cells. *Blood*, 1984, 64:1079-84.
25. Vercellotti GM, van Asbeck BS, Jacob HS. Oxygen radical-induced erythrocyte hemolysis by neutrophils. Critical role of iron and lactoferrin. *J Clin Invest*, 1985, 76 : 956-962.
26. Claster S, Quintanilha A, Schott MA, Chiu D, Lubin B. Human neutrophil elastase mediate red cells membrane damage. *Blood*, 1986, 68:92a-100a.
27. Uyesaka N, Hasegawa S, Ishioka N, Shio H, Schechter NA. Effects of superoxide anions on red cell deformability and membrane proteins. *Biorheol*, 1992, 29:217-29.
28. Weiss DJ, Aird B, Murtaugh MP. Neutrophil-mediated immunoglobulin binding to erythrocytes involves proteolytic and oxidative injury. *J Leukocyte Biol*, 1992, 29 : 217-229.
29. Santos-Silva A, Castro EMB, Teixeira NA, Guerra FC, Quintanilha A. Altered erythrocyte band 3 profile as a marker in patients at risk for cardiovascular disease. *Atherosclerosis*, 1995, 116:199-209.
30. Santos-Silva A, Castro EMB, Teixeira NA, Guerra FC, Quintanilha A. Erythrocyte membrane band 3 profile imposed by cellular aging by activated neutrophils and by neutrophilic elastase. *Clin Chim Acta*, 1998, 275:185-196.
31. Thompson PD, Buchner D, Pina IL, Balady GJ, Williams MA, Marcus BH, Berra K, Blair SN, Costa F, Franklin B, Fletcher F, Gordon NF, Pate RR, Rodriguez BL, Yancey AK, Wenger NK. Exercise and physical activity in the prevention and treatment of arteriosclerotic disease. *Circulation*, 2003, 107 : 3109-3116.
32. Stefanick ML, Mackey S, Sheehan M, Ellsworth N, Haskell WL, Wood PD. Effects of diet and exercise in men and postmenopausal women with low levels of HDL cholesterol and high levels of LDL cholesterol. *N Engl J Med*, 1998, 339 : 12-20.
33. Powers SK, Lennon SL, Quindry J, Mehta JL. Exercise and cardioprotection. *Curr Opin Cardiol*, 2002, 17(5) : 495-502.
34. Sánchez-Quesada JL, Homs-Serradesanferm R, Serat-Serrat J, Serra-Grima JR, González-Sastre F, Ordoñez-Llanos J et al.. Increase of LDL susceptibility to oxidation occurring after intense, long duration aerobic exercise. *Atherosclerosis*, 1995, 118 : 297- .
35. Cooper Ce, Vollaard NB, Choueiri T, Wilson MT. Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem Soc Trans*, 2002, 30(2) : 280-285.
36. Banerjee AK, Mandal A, Chanda D, Chakraborti S. Oxidant, antioxidant and physical exercise. *Mol Cell Biochem*, 2003, 253(1-2) : 307-312.
37. Santos-Silva A, Rebelo I, Castro EMB, Belo L, Guerra A, Rego C, Quintanilha A. Leukocyte activation, erythrocyte damage, lipid profile and oxidative stress imposed by high competition physical exercise in adolescents. *Clin Chim Acta*, 2001, 306:119-126.
38. Santos-Silva A, Rebelo I, Castro EMB, Belo L, Catarino C, Monteiro I, Almeida MD, Quintanilha A. Erythrocyte damage and leukocyte activation in ischemic stroke. *Clin Chim Acta*, 2002, 320:29-35.
39. Levenson J, Del-Pino M, Simon A. Blood and arterial wall rheology and cardiovascular risk factors. *J Mal Vasc*, 2000, 25(4):237-240.
40. Connor J, Pak CC, Schroit AJ. Exposure of phosphatidylserine in the outer leaflet of human red blood cells. Relationship to cell density, cell age, and clearance by mononuclear cells. *J Biol Chem*, 1994, 269(4):2399-2404.