

Endostatina é um Potencial Biomarcador para a Insuficiência Cardíaca com Fração de Ejeção Preservada

Endostatin a Potential Biomarker for Heart Failure with Preserved Ejection Fraction

Michael Coll Barroso,^{1*} Philip Boehme,^{2*} Frank Kramer,² Thomas Mondritzki,³ Till Koehler,⁴ Jan-Erik Gülker,⁵ Martin Karoff,¹ Wilfried Dinh²

Klinik Königsfeld der Deutschen Rentenversicherung Westfalen in Ennepetal (NRW) – University Hospital;¹ Bayer AG - Drug Discovery – Experimental Medicine;² Bayer AG – Drug Discovery – Therapeutic Research Groups Cardiovascular III;³ Department of Cardiology – HELIOS Clinic Wuppertal – University Hospital/Herdecke;⁴ Department of Cardiology – HELIOS Clinic Krefeld⁵

* Contribuíram igualmente para o estudo

Resumo

Fundamentos: A Endostatina é um inibidor circulante endógeno da angiogênese que previne a neovascularização. Estudos anteriores demonstraram o valor prognóstico da Endostatina em pacientes com insuficiência cardíaca com fração de ejeção reduzida (ICFER). No entanto, o papel da Endostatina entre os pacientes com insuficiência cardíaca com fração de ejeção preservada (ICFEP) permanece incerto.

Objetivo: Investigar a associação entre os níveis séricos de Endostatina, níveis de peptídeos natriuréticos e a gravidade de disfunção ventricular esquerda e diastólica e o diagnóstico de ICFEP.

Métodos: Mediu-se a concentração sérica de Endostatina em 301 pacientes, compreendendo 77 pacientes com ICFEP, 169 pacientes com disfunção ventricular esquerda assintomática diastólica (DVEAD) e 55 controles com a função cardíaca normal. Resultados: Os níveis de Endostatina no soro foram significativamente elevados em pacientes com ICFEP (mediana / intervalo interquartil 179,0 [159-220]) e DVEAD (163,8 [145,4-191,3]) em comparação com os controles (149,1 [130,6-176,9]), $p < 0,001$ e $p = 0,004$, respectivamente) e correlação significativa com o terminal do pro-peptídeo natriurético tipo B (NT-proBNP).

Conclusões: Este estudo piloto gerador de hipótese fornece a primeira evidência de que a Endostatina se correlaciona com a gravidade da disfunção diastólica e pode tornar-se um novo biomarcador para ICFEP. Nossa hipótese é de que um aumento nos níveis de Endostatina pode refletir inibição da angiogênese adaptativa e remodelação cardíaca adversa. (Arq Bras Cardiol. 2017; 109(5):448-456)

Palavras-chave: Insuficiência Cardíaca; Endostatinas; Peptídeos Natriuréticos; Biomarcadores; Volume Sistólico.

Abstract

Background: Endostatin is a circulating endogenous angiogenesis inhibitor preventing neovascularization. Previous studies demonstrated the prognostic value of Endostatin among patients with heart failure with reduced ejection fraction (HFrEF). However, the role of Endostatin among patients with heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF) remains unclear.

Objective: This study aimed to investigate the association between serum Endostatin levels, natriuretic peptide levels and the severity of left ventricular diastolic dysfunction and the diagnosis of HFpEF.

Methods: Endostatin serum concentrations were measured in 301 patients comprising 77 HFpEF patients, 169 patients with asymptomatic left ventricular diastolic dysfunction (ALVDD), and 55 controls with normal cardiac function.

Results: Endostatin serum levels were significantly elevated in patients with HFpEF (median/interquartile range 179.0 [159-220]) and ALVDD (163.8 [145.4-191.3]) compared to controls (149.1 [130.6-176.9]), $p < 0.001$ and $p = 0.004$, respectively) and significant correlated with N-terminal pro B-type natriuretic peptide (NT-proBNP).

Conclusions: This hypothesis-generating pilot study gives first evidence that Endostatin correlates with the severity of diastolic dysfunction and may become a novel biomarker for HFpEF. We hypothesize a rise in Endostatin levels may reflect inhibition of adaptive angiogenesis and adverse cardiac remodeling. (Arq Bras Cardiol. 2017; 109(5):448-456)

Keywords: Heart Failure; Endostatins; Natriuretic Peptides; Biomarkers; Stroke Volume.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Wilfried Dinh •

Aprather Weg 18^a, 42113, Wuppertal

E-mail: wilfried.dinh@bayer.com, wilfried.dinh@gmail.com

Artigo recebido em 06/04/2017, revisado em 04/07/2017, aceito em 24/07/2017

DOI: 10.5935/abc.20170144

Introdução

A população de pacientes afetados por insuficiência cardíaca (IC) está crescendo de forma constante. Isto é por causa de um envelhecimento da sociedade, estilo de vida ocidental e melhora nos cuidados clínicos agudos (por exemplo, após infarto do miocárdio).¹ Apesar de que o tratamento de condições crônicas melhorou ao longo das últimas décadas, as taxas de mortalidade e morbidade nesta população de pacientes estão entre os mais altos no sistema de saúde ocidental.² Nos Estados Unidos (EUA) a IC é a principal causa de hospitalização para pacientes de > 65 anos de idade.³ Em 2030 os custos diretos pela insuficiência cardíaca vão chegar a US \$ 70 bilhões só nos EUA.⁴ A metade dos pacientes estão afetados por IC com disfunção diastólica e fração de ejeção preservada (ICFEP) e esta proporção está aumentando.⁵ Os dados clínicos mostram que os pacientes que sofrem de fração de ejeção reduzida (ICFER) apresentam melhores resultados em comparação com pacientes com ICFEP.⁶⁻⁸ Uma razão pode ser que nenhuma terapia demonstrou melhorar os resultados na ICFEP.⁹ Opções terapêuticas atuais para aliviar os sintomas dos pacientes incluem gerenciamento de fluidos, controle da pressão arterial e exercícios físicos. Uma grande desvantagem no que diz respeito ao desenvolvimento de novas terapias para o ICFEP é a ausência de critérios diagnósticos claros.¹⁰ Isso dificulta a definição de populações de pacientes para estudos clínicos. Atualmente, o diagnóstico é exclusivamente baseado em ecocardiografia. A separação entre ICFEP e ICER é ainda mais desafiadora e enganosa em pacientes com IC recentemente diagnosticado.¹¹ Portanto, novas estratégias para a fenotipagem da doença em IC são necessárias urgentemente. Novos biomarcadores podem atingir uma melhor fenotipagem da doença.¹² Apesar de muitos relatórios sobre biomarcadores de IC terem sido publicados nas últimas décadas, o impacto na tomada de decisão clínica ainda é limitado.¹³ BNP/NTproBNP demonstrou alta utilidade clínica para identificar pacientes com alto risco de hospitalização por insuficiência cardíaca e de morte. No entanto, neste contexto, esses marcadores para estudos clínicos só são aplicáveis em pacientes relativamente estáveis e não em pacientes com IC terminal. Além disso, o uso de BNP/NTproBNP é adequado na prática clínica para otimizar a terapia com drogas que sejam conhecidas por melhorar o resultado do paciente.¹⁴ No entanto, o BNP/NTproBNP não é aceito como desfecho substituto e só pode ser usado exploratoriamente como desfecho em ensaios clínicos. A avaliação da utilidade clínica do BNP/NTproBNP se manifesta nas diretrizes atuais para o manejo da insuficiência cardíaca.¹⁵ Uma série de publicações propõem a Endostatina, um potente inibidor da angiogênese, conhecido principalmente na oncologia, como potencial novo candidato ao biomarcador de insuficiência cardíaca.¹⁶⁻¹⁸ Mais importante ainda, Gouya et al.,¹⁹ relataram em um estudo prospectivo de coorte observacional em 151 pacientes com insuficiência cardíaca, uma correlação entre os níveis elevados de Endostatina circulante e a mortalidade. Além disso, este estudo mostrou uma clara associação entre os níveis de Endostatina e a disfunção diastólica progressiva, a principal característica da ICFEP.¹⁹ É por isso que levantamos a hipótese de que a Endostatina poderia potencialmente ser um biomarcador adequado para diagnosticar o fenótipo da doença em pacientes ICFEP. No presente estudo, buscamos investigar unicamente o papel da Endostatina como biomarcador para ICFEP e a disfunção diastólica.

Métodos

O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Privada de Witten/Herdecke, na Alemanha (projeto nº 91/08) e conduzido de acordo com a Declaração de Helsinque. O consentimento informado por escrito e firmado foi obtido de todos os pacientes.

População de estudo

Os participantes do estudo prospectivo de coorte observacional foram pacientes que contataram o HELIOS Klinikum Wuppertal Heart Center (Wuppertal, Alemanha) para angiografia coronária eletiva ou diagnóstico de insuficiência cardíaca. Pacientes com doença arterial coronariana (DAC) estável ou suspeita e / ou diagnóstico de ICC foram incluídos no estudo. Os critérios de exclusão foram: fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) < 50%, DAC conhecida com dor torácica progressiva no último mês, angioplastia coronária ou infarto do miocárdio dentro de 6 semanas, cardiomiopatia hipertrófica, doença cardíaca valvular moderada a grave, hipertensão não controlada, fibrilação atrial ou outras arritmias graves, soro-creatinina > 2,0 mg/dl. Os pacientes selecionados para o grupo controle não tiveram antecedentes ou sintomas de ICC, fração de ejeção normal > 55%, relação da velocidade diastólica transmitral precoce (E) e da velocidade diastólica precoce ao Doppler tisular (E') de < 8, e valores NTproBNP normais. Um total de 301 pacientes foram recrutados e atribuídos a três grupos com base em critérios diagnósticos ecocardiográficos, conforme recomendado pela Sociedade Europeia de Cardiologia.²⁰ O grupo controle consistiu de 55 pacientes (29 do sexo masculino) com função diastólica normal (FDN). O grupo com disfunção diastólica ventricular esquerda assintomática (DVEAD) tinha 169 pacientes (95 do sexo masculino) com E média < 8 cm/s, E/E' relação média 8-15 e NT-proBNP < 220 pg/ml. O grupo com ICFEP compreendeu 77 pacientes (46 fêmeas, 31 do sexo masculino) apresentando DVEAD Grad II-III com relação E/E' > 15, NT-proBNP > 220 pg/mL e sinais ou sintomas atuais ou prévios de insuficiência cardíaca.

Ecocardiografia

A ecocardiografia foi realizada utilizando um sistema de ultrassom padrão (Vivid 7, General Electric, Milwaukee, Wisconsin). Um estudo transtorácico completo foi realizado, incluindo técnicas de Doppler 2D, Modo-M, espectrais e coloridas, seguindo as recomendações e diretrizes atuais.^{21,22} O índice de volume do átrio esquerdo (IVAE) foi calculado usando o método do comprimento da área do biplano. A FEVE do ventrículo esquerdo foi medida por meio do método do biplano modificado de Simpson.²³ O índice de massa do ventrículo esquerdo (iMVE) foi calculado com a fórmula de Devereux indexada à superfície do corpo.²² A ICFEP foi definido de acordo com a recomendação EAE/ASE, baseada na avaliação da função diastólica do ventrículo esquerdo.²⁴ As medidas primárias incluíram pico de velocidade do fluxo transmitral precoce (Onda-E) e velocidades de enchimento diastólico tardias (Onda-A), assim como velocidades mitrales anulares sistólicas (S) e diastólicas precoces (E'). Em cada caso, foram medidos e calculada a média de três batidas consecutivas.

O fluxo transmitral convencional foi medido com o Doppler pulsado-ondulado (DPO). A imagem de Doppler tissular PO (DTI) foi realizada na junção do anel mitral septal e lateral na visão apical de 4 câmaras. Com base nas medidas primárias, as relações E/A e E/E' foram calculadas.

Análise laboratorial

Foram tomadas amostras de sangue venoso periférico total após 5 minutos de repouso para rotina de testes laboratoriais (TTOG, colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, triglicerídeos, creatina, leucócitos, hemoglobina, creatina quinase, TSH, PCR-as, TGO e TGP). O sangue foi colocado em tubos livres de pirógenos, sem qualquer aditivo, centrifugado à temperatura ambiente, dividido e armazenado a -80°C . Todas as análises laboratoriais foram terceirizadas para Roche Diagnostics (Penzberg, Alemanha) e foram realizados em amostras cegas. Para a análise de NT-proBNP no plasma se usou o teste Elecsys 2010 NT-proBNP (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha). Foi utilizado para a medição de Endostatina o teste ELISA de R&D Systems (Minneapolis, MN, EUA). Todos os testes foram realizados de acordo com as recomendações do fabricante.

Análise estatística

Todas as análises foram realizadas utilizando software estatístico SPSS (SPSS 19.0, Chicago, IL, EUA). Os dados são apresentados como média com percentis 25/75 (variação interquartil) para variáveis contínuas ou números absolutos e percentagens para as variáveis categóricas correspondentes, a menos que especificado de outra forma. Os valores transformados em log foram utilizados para análise conforme apropriado. Um valor de significância de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para testar a distribuição normal. O teste de Mann-Whitney foi usado para analisar as diferenças entre as medianas dos dois grupos e o teste de Kruskal-Wallis para testar a igualdade das medianas entre mais do que dois grupos diferentes. O teste de Fisher foi utilizado para comparação de dois conjuntos de variáveis binárias e o teste χ^2 para avaliar diferenças de proporções em mais de dois conjuntos de variáveis categóricas. Os níveis de Endostatina e NT-proBNP foram comparados entre indivíduos com função normal diastólica, DVEAD leve e ICFEp pelo teste de Mann-Whitney U e o teste de Jonckheere-Terpstra. A correlação de postos de Spearman foi utilizada para identificar as variáveis associadas com a Endostatina. Um modelo multivariável foi incluído para prever a presença de ICFEp e incluiu as seguintes covariáveis: Endostatina, idade, sexo, diabetes, hipertensão, doença cardíaca coronariana e índice de massa corporal. Devido à natureza exploratória deste estudo, não existe um tamanho de amostra mínimo exigido.

Resultados

Características da população estudada

A Tabela 1 proporciona uma visão geral das características clínicas dos 301 pacientes incluídos no nosso estudo. Os três grupos mostraram pressões arteriais diastólicas comparáveis,

frequência cardíaca em repouso e história de infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral. Pacientes com DVEAD leve ou ICFEp eram mais velhos, mais obesos, tinham em média maior pressão arterial sistólica, e mostraram uma maior prevalência de comorbidades, incluindo DAC e by-pass de artéria coronária, e risco de doença cardiovascular. Os tratamentos também variaram entre os grupos.

Endostatina e função diastólica

A Tabela 2 ecocardiográfica estratificada por grupos de estudo ICFEp vs DVEAD versus controles. Os níveis de Endostatina foram 179,0 [159-220] ng/mL em ICFEp, 163,8 [145,4-191,3] ng/mL em DVEAD e 149 [130,6-176,9] ng/ml no grupo de controle, respectivamente (Figura 1A). Os níveis de Endostatina sérica foram significativamente mais elevados em pacientes com ICFEp ($p < 0,001$) e DVEAD leve ($p = 0,001$, Tabela 2) em comparação com indivíduos de controle. Além disso, a Endostatina sérica estava elevada em pacientes com DVEAD leve em comparação com os controles assintomáticos com função diastólica e sistólica resume os dados laboratoriais e a função do parâmetro normal ($p = 0,004$). Houve também uma associação significativa entre o aumento dos quartis de Endostatina e níveis mais elevados de NT-proBNP. Não foram observadas diferenças clinicamente relevantes na rotina clínica nos resultados laboratoriais. A análise multivariada incluiu as covariáveis: Endostatina, idade, sexo, diabetes, hipertensão, DAC e índice de massa corporal, idade ($p < 0,001$) e Endostatina ($p = 0,008$) as que estavam independentemente associadas com ICFEp.

Níveis de associação de Endostatina com a estrutura e função cardíaca

Quartis crescentes de Endostatina estavam significativamente associados com mudanças estruturais do coração como o grau de hipertrofia ventricular esquerda e alargamento do átrio esquerdo, refletindo um remodelamento cardíaco adverso. Além disso, quartis crescentes de Endostatina estavam significativamente associados com o agravamento da função diastólica medida por Doppler tissular (E', E/E') (Tabela 3). Assim, os pacientes dentro dos quartis mais altos dos níveis séricos de Endostatina apresentaram remodelação cardíaca mais avançada (hipertrofia do VE e aumento do átrio esquerdo), bem como anormalidades da função diastólica mais severas que refletem o aumento das pressões de enchimento do ventrículo esquerdo (Figura 1B). De forma consistente, houve uma correlação moderada positiva significativa entre os níveis de Endostatina e NT-proBNP ($r = 0,32$, $p < 0,001$; Figura 1C).

Discussão

Nossa hipótese é que os níveis circulantes de Endostatina estão alterados em pacientes com DVEAD e ICFEp. Além disso, níveis elevados estão associados à presença e à gravidade das anomalias da função diastólica. Para verificar a hipótese realizamos um estudo clínico observacional que incluiu 301 pacientes, os quais foram assignados em três grupos diferentes levando em conta as suas características ecocardiográficas. No nosso entendimento, este é o primeiro relatório publicado conectando o aumento dos níveis circulantes de Endostatina

Tabela 1 – Características basais da população estudada. Os valores são medianas (Intervalo interquartil 22-75) ou números absolutos e porcentagem (%)

Variáveis clínicas (mediana /intervalo interquartil ou %)	Grupos de pacientes estudados			Valor de p
	Controle (n = 55)	DVEAD Leve (n = 169)	ICFEp (n = 77)	
Idade (anos)	54 (48-61)	66 (58-71)	73 (68-77)	< 0,001*
IMC (kg/m ²)	25,5 (24,1-29,1)	27,8 (25,6-32,3)	27,5 (25,7-32,0)	0,001*
Circunferência torácica (cm)	98 (86-107)	102 (94-114)	102 (98-111)	0,002*
Circunferência do quadril (cm)	98 (94-103)	103 (96-111)	105 (98-114)	0,003*
PA Sistólica (mmHg)	125 (110-136)	134 (127-140)	136 (130-140)	0,001*
PA Diastólica (mmHg)	80 (70-80)	80 (76-84)	80 (72-84)	0,12
Frequência em repouso (b/min)	70 (68-76)	72 (69-76)	70 (65-76)	0,51
DAC, n (%)	21 (38,2)	99 (58,6)	49 (63,6)	0,009*
Ponte Safena, n (%)	1 (2,0)	5 (3,0)	9 (11,7)	0,007*
ICP, n (%)	15 (27,3)	75 (44,4)	33 (42,9)	0,074
História de IM, n (%)	8 (14,5)	36 (21,3)	17 (22,1)	0,501
História de AVC, n (%)	1 (2,0)	5 (3,0)	3 (3,9)	0,824
Fatores de risco cardiovascular				
Hipertensão tratada, n (%)	38 (69,1)	148 (88,1)	73 (96,1)	< 0,001*
Diabetes mellitus, n (%)	4 (7,3)	45 (26,6)	22 (28,6)	< 0,001*
Medicação				
Inibidor ECA, n (%)	26 (47,3)	110 (65,1)	42 (54,5)	0,042*
Bloqueador de receptores AT1, n (%)	6 (10,9)	17 (10,1)	23 (29,9)	< 0,001*
Diuréticos, n (%)	8 (14,5)	45 (26,6)	36 (49,8)	< 0,001*
Bloqueador Ca ²⁺ , n (%)	6 (10,9)	23 (13,6)	21 (27,3)	0,013*
B- Bloqueador, n (%)	28 (50,9)	103 (60,9)	57 (74,0)	0,021*

*estatisticamente significante ($p < 0,05$). IMC: índice massa corpórea; PA: pressão arterial; FC: frequência cardíaca; DAC: doença arterial coronariana; ICP: intervenção coronária percutânea; IM: infarto do miocárdio; FD: função diastólica; DVEAD: disfunção ventricular esquerda diastólica; ICFEp: insuficiência cardíaca com fração de ejeção preservada. NS: não significante. O teste U de Mann-Whitney foi usado para analisar as diferenças entre as medianas de dois grupos e o teste de Kruskal-Wallis para testar a igualdade das medianas entre mais de dois grupos distintos.

à presença e à gravidade das anomalias da função diastólica e ICFEp em uma coorte bem fenotipada de pacientes com função sistólica normal. No presente estudo, a Endostatina mostrou um aumento gradual dos controles de DVEAD a ICFEp. Além disso, os níveis mais altos de Endostatina se associaram significativamente com marcadores estabelecidos de anomalias cardíacas estruturais, incluindo e o iVAE aumento da massa do VE, assim como anomalias funcionais como a relação E/E'. Particularmente, um iVAE aumentado sem doença valvar mitral concomitante reflete um processo de remodelação crônica típico da ICFEp.²⁵ Consistentemente, descobrimos que os níveis elevados de endostatina estavam associados a níveis elevados de NT-proBNP, um marcador prognóstico bem reconhecido e indicador de pressões elevadas de enchimento ventricular, independente da FEVE.²⁶ Demonstrou-se que a Endostatina, um fragmento proteolítico de 20 kDa do domínio C-terminal do colágeno XVIII, tem um efeito inibidor sobre o crescimento tumoral funcionando como fator de crescimento antiangiogênico.²⁷ A endostatina desempenha um papel no equilíbrio local da angiogênese e mostra uma potente atividade anti-angiogênica pela inibição da proliferação e

migração de células endoteliais além de induzir a apoptose das células endoteliais.²⁷ A endostatina é produzida pela clivagem proteolítica do domínio C-terminal do colágeno XVIII, um componente da matriz extracelular. O mecanismo preciso de conversão do colágeno XVIII para Endostatina ainda não foi completamente elucidado.^{28,29} Estudos recentes de pacientes com DAC demonstram que os níveis de proteína Endostatina se correlacionam significativamente com angiogênese reduzida e vasculatura colateral cardíaca mal desenvolvida.^{18,30}

Os resultados de nosso estudo se encaixam bem no modelo fisiopatológico usado para explicar o desenvolvimento de ICFEp. Em geral, ICFEp é uma doença complexa que implica uma interação de vários fatores. Existe a hipótese de que a falha da administração de oxigênio aos cardiomiócitos desencadeia uma resposta pro-angiogênica em pacientes que sofrem de insuficiência cardíaca.³¹⁻³³ Porém, os fatores de crescimento angiogênicos e antiangiogênicos frequentemente coexistem em tecidos com angiogênese.³⁴ Assim, o estado das células endoteliais e da função endotelial é determinado por um equilíbrio entre esses fatores positivos e negativos na angiogênese, e o equilíbrio pode não ser inadequado para fatores antiangiogênicos em pacientes

Tabela 2 – Dados laboratoriais e parâmetros ecocardiográficos. (Intervalo interquartil 25-75) ou números absolutos e porcentagem (%). O teste χ^2 foi utilizado quando for apropriado

Variáveis clínicas	Grupos de pacientes estudados			Valor de p
	Controle (n = 55)	DVEAD Leve (n = 169)	ICFep (n = 77)	
Biomarcador				
Endostatina (ng/ml)	149,1 (130,6-176,9)	163,8 (145,4-191,3)	179,0 (159-220)	< 0,001*
NT-pro-BNP (pg/ml)	90,1 (45,8-129,2)	86,7 (43,7-170,7)	343,6 (151,7-703,4)	< 0,001*
Parâmetros de rotina				
Colesterol total (mg/dl)	189 (163-228)	193 (171-221)	191 (170-210)	NS
Colesterol LDL (mg/dl)	107 (89-135)	109 (89-135)	109 (86-129)	NS
Colesterol HDL (mg/dl)	53 (46-64)	50 (38-62)	48 (41-61)	NS
Triglicerídeos (mg/dl)	119 (83-185)	142 (100-206)	131 (104-189)	NS
Lp (a) (mg/dl)	8 (5-27)	18 (6-39)	15 (6-52)	NS
TSH (mU/l)	1,20 (0,94-2,09)	1,42 (0,824-2,08)	1,315 (0,80-1,90)	NS
Creatinina (mg/dl)	0,8 (0,7-0,9)	0,9 (0,7-0,9)	0,9 (0,75-1,10)	NS
PCR-as	0,1 (0,1-0,3)	0,3 (0,1-0,6)	0,3 (0,2-0,69)	0,005*
Glucose	89 (84-97)	100 (91-111)	97 (89-103)	0,020*
Hb (mg/dl)	14,3 (13,3-15,1)	14,1 (13,2-15,0)	13,6 (12,5-14,5)	0,004*
CK (U/l)	76 (58-105)	78 (60-114)	72 (55-104)	NS
AST (U/l)	25 (21-31)	25 (21-31)	26 (21-32)	NS
Geometria VE				
SIV (mm)	10 (9-11)	12 (10-13)	12 (11-14)	< 0,001*
PPL (mm)	10 (9-11)	12 (10-13)	12 (11-14)	< 0,001*
DDVE (mm)	44 (42-47)	44 (39-48)	45 (41-50)	NS
DSVE (mm)	30 (28-34)	29 (25-34)	31 (27-36)	NS
LVMi (g/m ²)	72 (62-84)	81 (67-102)	91 (77-119)	< 0,001*
Função Sistólica				
FE (%)	68 (62-72)	67 (61-71)	67 (63-73)	NS
S _{max} (cm/s)	7,2 (6,3-8,0)	6,3 (5,7-7,5)	6,1 (5,4-6,7)	< 0,001*
Função diastólica				
Índice LA - (ml/m ²)	25,4 (21,8-28,7)	29,8 (25,7-33,3)	39,3 (36,7-49,1)	< 0,001*
E (cm/s)	60 (60-80)	60 (50-70)	80 (70-90)	< 0,001*
A (cm/s)	60 (50-70)	80 (70-90)	80 (70-90)	< 0,001*
Relação E/A	1,14 (0,68-1,25)	0,75 (0,67-0,86)	1,11 (0,85-1,25)	< 0,001*
E' septal (cm/s)	8,4 (7,3-9,4)	5,9 (5,2-6,8)	5,4 (4,6-6,3)	< 0,001*
E' lateral (cm/s)	10,7 (9,5-13,0)	8,2 (6,9-9,5)	6,9 (5,6-8,4)	< 0,001*
Média E' (cm/s)	9,8 (8,6-11,0)	7,2 (6,1-8,1)	6,2 (5,2-7,2)	< 0,001*
Relação septal E/E'	8,0 (6,9-9,0)	10,2 (8,3-11,9)	15,1 (12,5-17,1)	< 0,001*
Relação média E/E'	7,0 (6,0-7,7)	8,4 (6,8-10,1)	13,3 (11,1-14,8)	< 0,001*

*estatisticamente significativa ($p < 0,05$); NT-proBNP: N-fragmento terminal do prohormônio B-tipo natriurético peptídeo; LDL: low density lipoprotein; HDL: high density lipoprotein; Lp (a): lipoproteína (a); TSH: hormônio estimulador da tireoide; PCR-as: proteína C reativa alta sensibilidade; Hb: hemoglobina; CK: creatinaquinase; AST: aspartato aminotransferase; SIV: septo interventricular; PPL: parede posterior lateral; DDVE: diâmetro diastólico ventrículo esquerdo; DSVE: diâmetro sistólico ventrículo esquerdo; FE: fração de ejeção; AE: átrio esquerdo; E: velocidade diastólica transmitral precoce; A: velocidade diastólica transmitral tardia; E': velocidade diastólica precoce Doppler tisular; FD: função diastólica; DVED: disfunção ventrículo esquerdo diastólica; ICFep: insuficiência cardíaca com fração de ejeção preservada; NS: não significativa. O teste U de Mann-Whitney foi usado para analisar as diferenças entre as medianas de dois grupos e o teste de Kruskal-Wallis para testar a igualdade das medianas entre mais de dois grupos distintos

Tabela 3 – Parâmetros ecocardiográficos estratificados de acordo com os quartis da endostatina no soro. Os valores são médios (intervalo intercuartil) ou n (%). O teste χ^2 foi utilizado conforme apropriado

Parâmetro	Endostatina 1º quartil	Endostatina 2º quartil	Endostatina 3º quartil	Endostatina 4º quartil	Valor de p
Geometria VE					
SIV (mm)	11 (9-12)	12 (11-13)	12 (11-13)	12 (10-14)	0,032*
PPL (mm)	11 (10-13)	11 (10-13)	12 (10-13)	12 (10-14)	NS
DDVE (mm)	44 (41-47)	43 (40-47)	47 (40-49)	45 (40-48)	NS
LEVSD (mm)	30 (27-34)	29 (26-32)	31 (27-35)	29 (24-37)	NS
LVMi (g/m ²)	76,4 (61,6-100,4)	74,2 (66,2-97,8)	87,8 (72,9-100,3)	94,5 (70,8-117,1)	0,024*
Função Sistólica					
Fração de ejeção (%)	65 (60-70)	68 (63-72)	67 (61-71)	69 (63-74)	0,029*
S _{max} (cm/s)	6,6 (5,8-7,7)	6,6 (5,8-7,7)	6,4 (5,6-7,2)	6,1 (5,3-7,0)	0,005*
Função diastólica					
Índice LA - (ml/m ²)	28,6 (23,8-35,3)	31,2 (25,7-35,2)	29,9 (25,7-36,9)	33,4 (27,9-38,8)	0,023*
E (cm/s)	60 (50-75)	60 (50-70)	70 (50-80)	70 (60-80)	NS
A (cm/s)	70 (60-80)	70 (60-80)	80 (70-90)	80 (70-95)	< 0,001*
Relação E/A	0,9 (0,7-1,2)	0,9 (0,7-1,1)	0,8 (0,7-1,0)	0,8 (0,7-1,1)	NS
E' septal (cm/s)	6,9 (5,6-8,0)	6,0 (5,3-7,3)	6,3 (5,3-7,3)	5,6 (4,9-6,2)	< 0,001*
E' lateral (cm/s)	9,1 (7,1-10,7)	8,6 (7,0-10,2)	8,3 (7,0-10,2)	7,5 (6,3-8,9)	0,001*
Média E'	7,9 (6,8-9,3)	7,4 (6,3-8,5)	7,6 (6,2-8,3)	6,4 (5,5-7,5)	< 0,001*
Relação septal E/E'	8,8 (7,5-11,4)	10,3 (8,3-12,5)	10,8 (8,3-13,0)	12,1 (9,8-15,8)	< 0,001*
Relação média E/E'	7,5 (6,5-9,8)	8,5 (7,1-10,5)	8,9 (7,1-11,5)	10,5 (8,4-13,1)	< 0,001*
Laboratório					
NT-pro-BNP (pg/ml)	81,40 (45,1-137,3)	93,25 (43,70-211,6)	104,6 (52,8-179,7)	218,2 (100,35-516,15)	< 0,001*

*estatisticamente significativa ($p < 0,05$). SIV: septo interventricular; PPL: parede posterior lateral; DDVE: diâmetro diastólico ventrículo esquerdo; DSVE: diâmetro sistólico ventrículo esquerdo; FE: fração de ejeção; AE: átrio esquerdo; E: velocidade diastólica transmitral precoce; A: velocidade diastólica transmitral tardia; E': velocidade diastólica precoce Doppler tisular; NT-proBNP: N-fragmento terminal do prohormônio B-tipo natriurético peptídeo; FD: função diastólica; DVED: disfunção ventrículo esquerdo diastólica; NS: não significante; ICFEp: insuficiência cardíaca com fração de ejeção preservada. O teste U de Mann-Whitney foi usado para analisar as diferenças entre as medianas de dois grupos e o teste de Kruskal-Wallis para testar a igualdade das medianas entre mais de dois grupos distintos.

com IC. Demonstrou-se que o papel da disfunção microvascular e da inflamação microvascular é especial para pacientes com diagnóstico de ICFEp.^{5,35,36} Um novo modelo fisiopatológico apresentado por Redfield et al.,⁸ assinala desde condições coexistentes proinflamatórias à inflamação endotelial sistêmica e o fornecimento de oxigênio piorado.⁸ O desempenho ventricular global depende em grande parte do fornecimento de oxigênio e, portanto, da perfusão do miocárdio, e um componente essencial da perfusão do miocárdio durante a hipertrofia ventricular é o equilíbrio miócito-microvascular e a relação de miócitos/capilares. Em espécimes de autópsia cardíaca, recentemente foi demonstrado que a rarefação microvascular é um fenômeno a jusante em ICFEp.³⁷ Além disso, Kitzman et al.,³⁸ têm demonstrado que os pacientes com ICFEp apresentam anormalidades significativas no músculo esquelético, assim como uma relação anormal de capilaridade a fibra, provavelmente constituindo a base para uma intolerância severa ao exercício em pacientes com ICFEp.³⁸ Além disso, Gouya et al.,¹⁹ mostraram em uma população de ICFEr relativamente pequena que altos níveis de Endocortina sérica estavam associados à mortalidade por todas as causas e concluíram que o efeito do aumento da angiogênese é que a IC pode ser atenuada por um excesso de fatores

anti-angiogênicos, como a Endostatina.¹⁹ Assim, colocamos a hipótese de que conceitos fisiopatológicos similares podem estar envolvidos em pacientes com ICFEp, uma vez que a alta proporção de pacientes tem uma coincidência da doença coronária e diabetes, danificando ambos a estrutura endotelial.³⁹ Também foi verdadeiro para nossa população de pacientes como mostramos na Tabela 1. A Endostatina poderia ser moderadora dos efeitos microvasculares observados nestes pacientes.⁴⁰

Devem-se reconhecer várias limitações deste estudo. A natureza observacional deste estudo proíbe a determinação definitiva de relação de causa e efeito. Em segundo lugar, o presente estudo foi uma experiência de um único centro, com um relativamente pequeno número de indivíduos. Terceiro, os dados de seguimento longitudinal não estavam disponíveis para testar a associação entre os níveis séricos de Endostatina e os resultados clínicos. Além disso, inscrevemos pacientes consecutivos que foram submetidos a angiografia coronária eletiva e ecocardiografia, o que pode não representar uma coorte de população geral sem evidência ou suspeita de doença cardiovascular.

Outros estudos devem incluir mais pacientes de uma população mais ampla e capturar dados longitudinais incluindo informações sobre hospitalização e mortalidade.

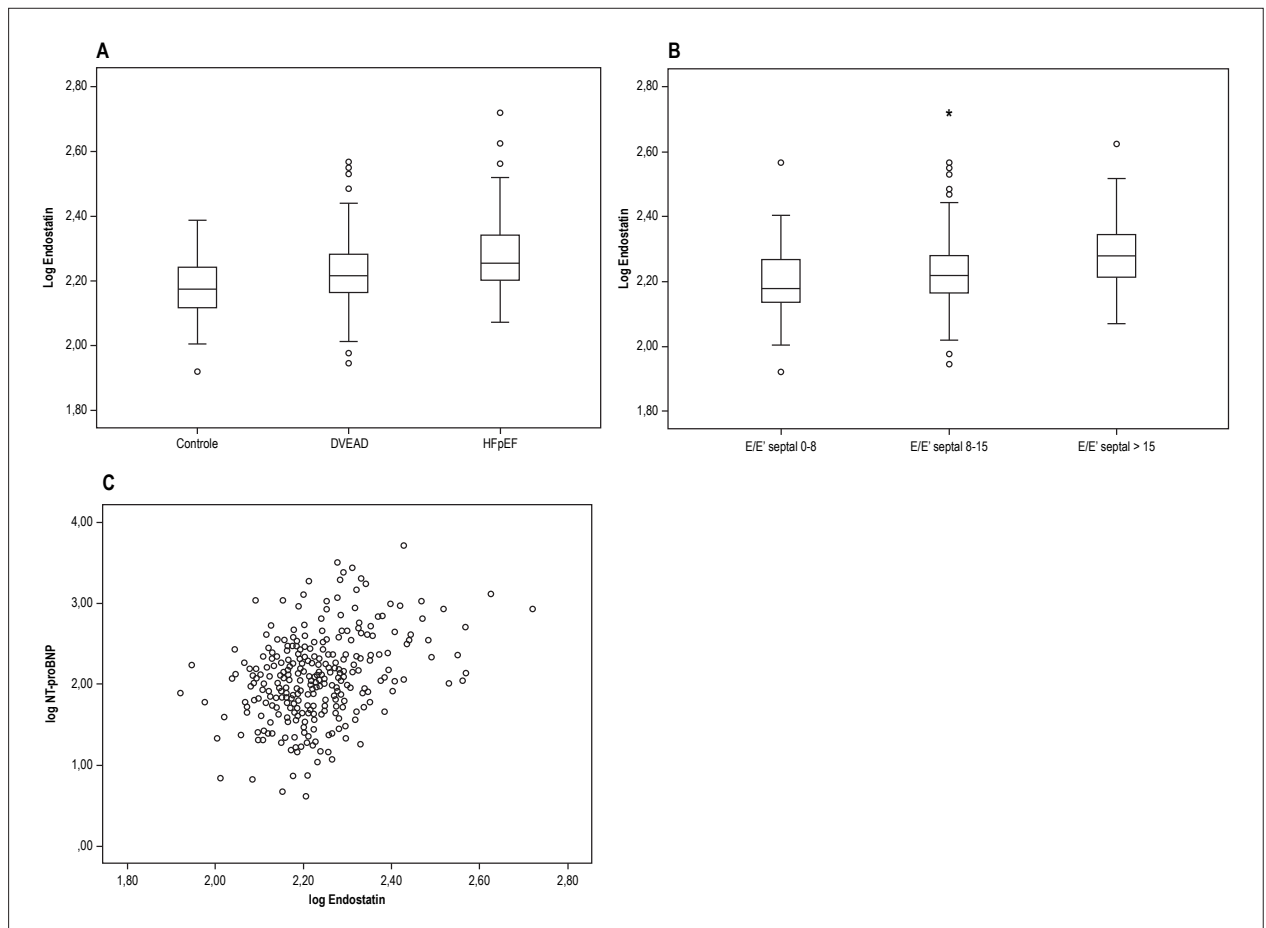


Figura 1 – A) Os gráficos boxplot mostram níveis séricos de endostatina para os pacientes com DVEAD, ICfEp e o grupo controle. B) A correlação entre os níveis de Endostatina e a relação E / E' como substituto para o aumento das pressões de enchimento do ventrículo esquerdo. C) O Dot Blot logarítmico exibe a correlação dos níveis séricos de Endostatina com NT-proBNP.

Conclusão

Neste estudo exploratório gerador de hipótese, fornecemos a primeira evidência de que a Endostatina se correlaciona com a presença e severidade da disfunção diastólica e ICfEp e pode se tornar um novo biomarcador para o diagnóstico e estratificação da ICfEp. O aumento dos níveis de endostatina pode refletir função diastólica prejudicada causada pela remodelação adversa. São necessários mais estudos prospectivos para determinar a relação de causalidade, bem como o valor diagnóstico e prognóstico da endostatina na ICfEp e seu papel potencial como alvo terapêutico.

Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Barroso MC, Dinh W; Obtenção de dados: Barroso MC, Gülker JE, Dinh W; Análise e interpretação dos dados: Barroso MC, Boehme P, Kramer F,

Mondritzki T, Koehler T, Gülker JE, Karoff M, Dinh W; Análise estatística: Dinh W; Redação do manuscrito: Barroso MC, Boehme P, Dinh W; Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Boehme P, Kramer F, Mondritzki T, Koehler T, Gülker JE, Karoff M, Dinh W.

Potencial conflito de interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

Vinculação acadêmica

Não há vinculação deste estudo a programas de pós-graduação.

Referências

1. Writing Group M, Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, et al. Heart disease and stroke statistics-2016 Update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2016;133(4):e38-360. doi: 10.1161/CIR.0000000000000350
2. Ambrosy AP, Fonarow GC, Butler J, Chioncel O, Greene SJ, Vaduganathan M, et al. The global health and economic burden of hospitalizations for heart failure: lessons learned from hospitalized heart failure registries. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63(12):1123-33. doi: 10.1016/j.jacc.2013.11.053
3. Desai AS, Stevenson LW. Rehospitalization for heart failure: predict or prevent? *Circulation*. 2012;126(4):501-6. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.125435
4. Heidenreich PA, Albert NM, Allen LA, Bluemke DA, Butler J, Fonarow GC, et al. Forecasting the impact of heart failure in the United States: a policy statement from the American Heart Association. *Circulation Heart failure*. 2013;6(3):606-19. doi: 10.1161/HHF.0b013e318291329a
5. Gladden JD, Linke WA, Redfield MM. Heart failure with preserved ejection fraction. *Pflugers Archiv: Eur J Physiol*. 2014;466(6):1037-53. doi: 10.1007/s00424-014-1480-8.
6. Chan MM, Lam CS. How do patients with heart failure with preserved ejection fraction die? *Eur J Heart Fail*. 2013;15(6):604-13. doi: 10.1093/eurjhf/hft062
7. Lee DS, Gona P, Albano J, Larson MG, Benjamin EJ, Levy D, et al. A systematic assessment of causes of death after heart failure onset in the community: impact of age at death, time period, and left ventricular systolic dysfunction. *Circ Heart Fail*. 2011;4(1):36-43. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.110.957480
8. Redfield MM. Heart failure with preserved ejection fraction. *N Engl J Med*. 2016;375(19):1868-77. doi: 10.1056/NEJMc1511175
9. Redfield MM. Heart failure with preserved ejection fraction. *N Engl J Med*. 2017; 376(9):897. doi: 10.1056/NEJMc1615918
10. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JG, Coats AJ, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J*. 2016;37(27):2129-200. doi: 10.1093/eurheartj/ehw128
11. Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE Jr., Drazner MH, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: executive summary: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on practice guidelines. *Circulation*. 2013; 128(16):1810-52. doi: 10.1161/CIR.0b013e31829e8807
12. Garg A, Virmani D, Agrawal S, Agarwal C, Sharma A, Stefanini G, et al. Clinical application of biomarkers in heart failure with a preserved ejection fraction: a review. *Cardiology*. 2017;136(3):192-203. doi: 10.1159/000450573
13. Januzzi JL Jr, Felker GM. Surfing the biomarker tsunami. *JACC Heart Fail*. 2013;1(3):213-5. doi: 10.1016/j.jchf.2013.03.007
14. Balion C, McKelvie R, Don-Wauchope AC, Santaguida PL, Oremus M, Keshavarz H, et al. B-type natriuretic peptide-guided therapy: a systematic review. *Heart Fail Rev*. 2014;19(4):553-64. doi: 10.1016/j.jchf.2013.03.007
15. 2016 ACC/AHA/HFSA Focused Update on New Pharmacological Therapy for Heart Failure: An Update of the 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of Heart Failure: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Failure Society of America. *J Card Fail*. 2016;22(9):659-69. doi: 10.1016/j.cardfail.2016.07.001
16. Ueland T, Aukrust P, Nymo SH, Kjekshus J, McMurray JJ, Wikstrand J, et al. Predictive value of endostatin in chronic heart failure patients with poor kidney function. *Cardiology*. 2015;130(1):17-22. doi: 10.1159/000368220
17. Motiwala SR, Szymoniifka J, Belcher A, Weiner RB, Baggish AL, Gaggin HK, et al. Measurement of novel biomarkers to predict chronic heart failure outcomes and left ventricular remodeling. *J Cardiovasc Translat Res*. 2014;7(2):250-61. doi: 10.1007/s12265-013-9522-8
18. Mitsuma W, Kodama M, Hanawa H, Ito M, Ramadan MM, Hirono S, et al. Serum endostatin in the coronary circulation of patients with coronary heart disease and its relation to coronary collateral formation. *Am J Cardiol*. 2007;99(4):494-8. doi: 10.1016/j.amjcard.2006.09.095
19. Gouya G, Siller-Matula JM, Fritzer-Szekeres M, Neuhold S, Storka A, Neuhofer LM, et al. Association of endostatin with mortality in patients with chronic heart failure. *Eur J Clin Invest*. 2014;44(2):125-35. doi: 10.1111/eci12197
20. Paulus WJ, Tschope C, Sanderson JE, Rusconi C, Flachskampf FA, Rademakers FE, et al. How to diagnose diastolic heart failure: a consensus statement on the diagnosis of heart failure with normal left ventricular ejection fraction by the Heart Failure and Echocardiography Associations of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*. 2007;28(20):2539-50. doi: 10.1093/eurheartj/ehm037
21. Evangelista A, Flachskampf F, Lancellotti P, Badano L, Aguilar R, Monaghan M, et al. European Association of Echocardiography recommendations for standardization of performance, digital storage and reporting of echocardiographic studies. *Eur J Echocardiogr*. 2008;9(4):438-48. doi: 10.1093/ejehocardi/jen174
22. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, et al. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr*. 2005;18(12):1440-63. doi: 10.1016/j.echo.2005.10.005
23. Peterson LR, Waggoner AD, Schechtman KB, Meyer T, Gropler RJ, Barzilai B, et al. Alterations in left ventricular structure and function in young healthy obese women: assessment by echocardiography and tissue Doppler imaging. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43(8):1399-404. doi: 10.1016/j.jacc.2003.10.062
24. Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, Marino PN, Oh JK, Smiseth OA, et al. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *Eur J Echocardiogr*. 2009;10(2):165-93. doi: 10.1093/ejehocardi/jep007
25. Rossi A, Gheorghiadu M, Triposkiadis F, Solomon SD, Pieske B, Butler J. Left atrium in heart failure with preserved ejection fraction: structure, function, and significance. *Circ Heart Fail*. 2014;7(6):1042-9. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.114.001276
26. van Veldhuisen DJ, Linssen GC, Jaarsma T, van Gilst WH, Hoes AW, Tijssen JG, et al. B-type natriuretic peptide and prognosis in heart failure patients with preserved and reduced ejection fraction. *J Am Coll Cardiol*. 2013;61(14):1498-506. doi: 10.1016/j.jacc.2012.12.044
27. O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, Fukai N, Vasios G, Lane WS, et al. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell*. 1997;88(2):277-85. PMID: 9008168
28. Saarela J, Rehn M, Oikarinen A, Autio-Harmainen H, Pihlajaniemi T. The short and long forms of type XVIII collagen show clear tissue specificities in their expression and location in basement membrane zones in humans. *Am J Pathol*. 1998;153(2):611-26. doi: 10.1016/S0002-9440(10)65603-9
29. Saarela J, Ylikarppa R, Rehn M, Purmonen S, Pihlajaniemi T. Complete primary structure of two variant forms of human type XVIII collagen and tissue-specific differences in the expression of the corresponding transcripts. *Matrix Biol*. 1998;16(6):319-28. PMID: 9503365

30. Panchal VR, Rehman J, Nguyen AT, Brown JW, Turrentine MW, Mahomed Y, et al. Reduced pericardial levels of endostatin correlate with collateral development in patients with ischemic heart disease. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43(8):1383-7. doi: 10.1016/j.jacc.2003.10.063
31. Ohtsuka T, Inoue K, Hara Y, Morioka N, Ohshima K, Suzuki J, et al. Serum markers of angiogenesis and myocardial ultrasonic tissue characterization in patients with dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail*. 2005;7(4):689-95. doi: 10.1016/j.ejheart.2004.09.011
32. Patel JV, Abraheem A, Chackathayil J, Gunning M, Creamer J, Hughes EA, et al. Circulating biomarkers of angiogenesis as indicators of left ventricular systolic dysfunction amongst patients with coronary artery disease. *J Intern Med*. 2009;265(5):562-7. doi: 10.1111/j.1365-2796.2008.02057.x
33. Friehs I, Margossian RE, Moran AM, Cao-Danh H, Moses MA, del Nido PJ. Vascular endothelial growth factor delays onset of failure in pressure-overload hypertrophy through matrix metalloproteinase activation and angiogenesis. *Basic Res Cardiol*. 2006;101(3):204-13. doi: 10.1007/s00395-005-0581-0
34. Toyota E, Matsunaga T, Chilian WM. Myocardial angiogenesis. *Mol Cell Biochem*. 2004;264(1-2):35-44. : PMID: 15544033
35. Hoenig MR, Bianchi C, Rosenzweig A, Sellke FW. The cardiac microvasculature in hypertension, cardiac hypertrophy and diastolic heart failure. *Curr Vasc Pharmacol*. 2008;6(4):292-300. PMID: 18855717
36. Shiojima I, Sato K, Izumiya Y, Schiekofer S, Ito M, Liao R, et al. Disruption of coordinated cardiac hypertrophy and angiogenesis contributes to the transition to heart failure. *J Clin Invest*. 2005;115(8):2108-18. doi: 10.1172/JCI24682
37. Mohammed SF, Hussain S, Mirzoyev SA, Edwards WD, Maleszewski JJ, Redfield MM. Coronary microvascular rarefaction and myocardial fibrosis in heart failure with preserved ejection fraction. *Circulation*. 2015;131(6):550-9. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.009625
38. Kitzman DW, Nicklas B, Kraus WE, Lyles MF, Eggebeen J, Morgan TM, et al. Skeletal muscle abnormalities and exercise intolerance in older patients with heart failure and preserved ejection fraction. *American journal of physiology Heart Circ Physiol*. 2014;306(9):H1364-70. doi: 10.1152/ajpheart.00004.2014
39. Sharma K, Kass DA. Heart failure with preserved ejection fraction: mechanisms, clinical features, and therapies. *Circ Res*. 2014;115(1):79-96. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.302922.
40. Givvimani S, Tyagi N, Sen U, Mishra PK, Qipshidze N, Munjal C, et al. MMP-2/TIMP-2/TIMP-4 versus MMP-9/TIMP-3 in transition from compensatory hypertrophy and angiogenesis to decompensatory heart failure. *Arch Physiol Biochem*. 2010;116(2):63-72. doi: 10.3109/13813451003652997.