

## Ecocardiografía con Doppler Tisular en el Diagnóstico de Rechazo Después de Transplante Cardíaco

Marcos Valério Coimbra Resende, Marcelo Luiz Campos Vieira, Fernando Bacal, José Lázaro Andrade, Noedir A. Stolf, Edmar Alcides Bocchi

Instituto do Coração (InCor), Universidade de São Paulo, São Paulo, SP - Brasil

### Resumen

**Fundamento:** La biopsia endomiocárdica (BEM) es el método gold standard para el diagnóstico de rechazo celular (RC) después de transplante cardíaco (TC).

**Objetivo:** Testear la hipótesis de que el examen de imagen con Doppler tisular (IDT) puede detectar  $RC \geq 3A$  y agregar información diagnóstica, comparado al Doppler convencional.

**Métodos:** Cincuenta y cuatro pacientes con TC fueron sometidos a BEM y estudio ecocardiográfico a través de IDT en hasta 24 horas. Comparamos los pacientes con TC y  $RC \geq 3A$  con pacientes con TC y  $RC < 3A$ , con un grupo control normal (13 pacientes). Fueron medidas a través de la IDT, las velocidades sistólica (S), diastólica precoz (e<sup>-</sup>), diastólica tardía (a') relación de las velocidades e'/a' en el anillo ventricular izquierdo, en los segmentos basal y medio de las paredes septal (SEP), lateral (LAT), inferior (INF) y en el anillo ventricular derecho.

**Resultados:** Los pacientes con TC mostraron  $RC \geq 3A$  en 39/129 (30,2%) de las BEM. El mejor predictor aislado para el diagnóstico de RC fue la a'<sup>-</sup>LAT, con sensibilidad de 76,3%, especificidad de 73,8% ( $p = 0,001$ ). En el análisis multivariado, la a'<sup>-</sup>LAT ( $p = 0,001$ ), a'<sup>-</sup>SEP ( $p = 0,002$ ), relación e'/a'<sup>-</sup> LAT ( $p = 0,006$ ), relación e'<sup>-</sup>Mitral/e'<sup>-</sup>LAT ( $p = 0,014$ ), SINF ( $p = 0,009$ ) fueron predictores de  $RC \geq 3A$ . Obtuvimos un score con sensibilidad de 88,2%, precisión de 79,6%, y valor predictivo negativo de 92,9% para diagnosticar  $RC \geq 3A$ . El Doppler convencional (flujo mitral y pulmonar venoso) no fue relevante para predecir la  $RC > 3A$ .

**Conclusión:** El estudio de IDT agregó información diagnóstica para predecir  $RC \geq 3A$  cuando fue comparado al Doppler convencional. El modelo basado en IDT puede volverse un método en potencial para detectar  $RC \geq 3A$  después de TC. (Arq Bras Cardiol 2011; 97(1):8-16)

**Palabras clave:** Ecocardiografía Doppler, diagnóstico, rechazo de injerto, transplante de corazón.

### Introducción

A despecho de los avances en la terapia inmunosupresora en la última década, el rechazo celular (RC) agudo del corazón transplantado permanece como un importante factor asociado a la morbilidad y mortalidad a largo plazo<sup>1,2</sup>. Muchas técnicas no invasivas para diagnóstico del rechazo han sido investigadas, pero ninguna mostró ser lo suficientemente confiable para substituir la biopsia endomiocárdica (BEM) en la práctica clínica<sup>3</sup>.

Entre tanto, la biopsia de rutina es un gran inconveniente para los pacientes y también acarrea riesgos y costos. La estrategia de realizar biopsias después del primer año post transplante ha sido cuestionada y tentativas de reducir su frecuencia también han sido relatadas. Con todo, la

identificación del rechazo está extensamente basada en la biopsia realizada a intervalos predefinidos<sup>4</sup>.

El examen de Imagen por Doppler tisular (IDT) es una técnica ecocardiográfica que permite la medición de las velocidades sistólica y diastólica dentro del miocardio. La IDT puede aumentar la precisión de la ecocardiografía por Doppler convencional, pues integra la información de la función regional para estimar la función cardíaca global y parece no ser afectada de forma significativa por variaciones en las condiciones de precarga<sup>5</sup>. Como la disfunción diastólica del ventrículo izquierdo (VI) es un evento precoz durante el rechazo del aloinjerto, esa técnica puede ser útil para detectar el rechazo de forma no invasiva<sup>6</sup>.

Entre tanto, el papel de la IDT en la evaluación de los individuos después del TC y para el diagnóstico de RC aun precisa ser aclarado<sup>7-9</sup>. Así, el propósito de ese estudio fue investigar anomalías en la IDT en velocidad miocárdicas de relajación y contracción en pacientes sometidos a TC y también analizar la información diagnóstica adicional de la IDT, cuando es comparada al Doppler convencional, en relación a la RC significativa.

**Correspondencia:** Marcelo Luiz Campos Vieira •

Rua Cardoso de Melo, 463/21 - Vila Olímpia - 04548-002 - São Paulo, SP - Brasil

E-mail: mlvieira@cardiol.br, ml Luiz766@terra.com.br

Artículo recibido el 24/10/10; revisado recibido el 03/01/11; aceptado el 07/01/11.

## Métodos

### Población del estudio

Entre diciembre de 2001 y abril de 2004, 59 pacientes consecutivos sometidos a TC, con edad  $\geq 4$  años fueron encaminados para realización de BEM en el Instituto del Corazón (InCor) de la Facultad de Medicina de la Universidad de São Paulo, en São Paulo, Brasil por lo menos siete días después de la cirugía. Los pacientes habían sido sometidos a TC ortotópico debido a insuficiencia cardíaca de cualquier etiología. Los criterios de exclusión incluyeron pacientes con imágenes ecocardiográficas inadecuadas, anomalías de movimiento de pared del VI, presencia o sospecha de rechazo humoral, enfermedad vascular del injerto, BEM con evidencia de reactivación de enfermedad de Chagas, BEM con diagnóstico inconclusivo y fibrilación atrial.

La población final del estudio consistió en 54 pacientes ( $34,9 \pm 20,7$ , variando de 4 a 70 años), 39 individuos del sexo masculino (72,2%), con una media de 354 (variando de 7 a 3.570) días post trasplante en la época de la BEM. Las etiologías para el TC eran cardiomiopatía idiopática dilatada - 19/54 (35,2%), enfermedad de Chagas - 16/54 (29,6%), cardiomiopatía isquémica - 6/54 (11,1%). Una técnica quirúrgica bicaval fue realizada en 42 pacientes (77,8%). El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación Científica del Hospital y todos los participantes firmaron el término de consentimiento informado.

### Diseño del estudio

El presente fue un estudio transversal, seguido por una fase prospectiva envolviendo pacientes sometidos a TC que realizaron BEM, comparados a un grupo de voluntarios normales. Todos los pacientes fueron sometidos a BEM y estudio ecocardiográfico a través de IDT, realizado hasta 24 horas después de BEM. Los investigadores envueltos en los dos procedimientos eran ciegos para los resultados de la otra técnica. El rechazo celular fue considerado de acuerdo con los criterios de la *International Society for Heart and Lung Transplantation* (ISHLT)<sup>10,11</sup>: grado 0 = sin rechazo; grado IA = infiltrado focal (perivascular o intersticial) sin daño a los miocitos; grado IB = infiltrado difuso, pero escaso sin daño a los miocitos; grado II = un foco apenas con infiltrados agresivos y/o daño a los miocitos; grado IIIA = infiltrados multifocales agresivos y/o daño a los miocitos; grado IIIB = proceso inflamatorio difuso con necrosis de miocitos; grado IV = infiltrado polimorfo agresivo difuso con hemorragia y necrosis de miocitos. Los hallazgos del estudio ecocardiográfico fueron correlacionados con los resultados de la BEM, teniéndose en consideración la presencia o ausencia de RC significativo ( $RC \geq 3A$ )<sup>10,11</sup>.

En pacientes que realizaron más de una BEM, las variaciones en el estudio por IDT miocárdico fueron analizadas a fin de compararlo a diferentes exámenes histopatológicos. El grupo control consistía en 13 voluntarios sanos pareados por edad y sexo, sin síntomas y sin historia previa de enfermedades cardíacas. El examen clínico, electrocardiograma (ECG) de reposo y el ecocardiograma fueron considerados normales.

### Biopsia endomiocárdica

La biopsia endomiocárdica (BEM) fue realizada de acuerdo con el protocolo adoptado en la institución, como es descrito a continuación: semanalmente durante el primero mes post TC y después, a intervalos mayores de acuerdo con la sospecha clínica de RC. Los análisis fueron realizados de acuerdo con los criterios de la *International Society for Heart and Lung Transplantation* (ISHLT), utilizando el sistema de graduación estandarizado para biopsia cardíaca<sup>11</sup>.

### Estudio ecocardiográfico

Los exámenes fueron registrados a través de un equipamiento de ecocardiografía disponible comercialmente (Philips HDI 5000, Bothell, Washington, EUA) equipado con un *software* de imagen para Doppler tisular. Todos los estudios fueron realizados con los pacientes en decúbito lateral izquierdo a fin de obtener las imágenes en los cortes paraesternal y apical. Todas las medidas ecocardiográficas fueron realizadas de acuerdo con las directrices de la *American Society of Echocardiography*<sup>12</sup> y cada valor es representado como una media de tres latidos.

### Doppler pulsátil convencional

Las medidas de las velocidades de pico y parámetros del perfil diastólico del flujo mitral y señales de flujo venoso pulmonar fueron realizadas como descritas anteriormente<sup>13</sup>.

### Ecocardiografía con Doppler tisular

Las adquisiciones de IDT fueron realizadas colocando el volumen de muestra en la región central del miocardio, paralelo a la dirección del movimiento de la región de interés. La curva espectral de velocidad fue obtenida con un volumen de muestra de 5 mm; el aumento fue minimizado para optimizar la señal del tejido y para permitir un mínimo de ruido de fondo. El límite Nyquist fue ajustado para una variación de velocidad de 16 a 20 cm/s.

Para el estudio de las velocidades miocárdicas, empleamos un modelo con el análisis de diferentes regiones de los ventrículos, en las cuales los movimientos acontecían en dirección radial (corte paraesternal) y longitudinal (corte apical 4 cámaras y 2 cámaras). En todas las áreas, medimos las velocidades sistólicas de pico (S), diastólica precoz (e') y tardía. En la pared posterior del VI y en las regiones del anillo del VI y del ventrículo derecho (VD), la relación e'/a' también fue obtenida.

En los cortes apicales, los segmentos de los anillos, basal y medio fueron evaluados en las siguientes paredes: septal, lateral, inferior y anterior del VI y anillo tricúspide del VD. Además de eso, las velocidades en las fibras circunferenciales del eje corto fueron medidas en el segmento medio-posterior. El movimiento de las fibras circunferenciales del eje corto, determinado por la IDT pulsátil ha sido empleado para estudiar algunos tipos de distribución hipertrófica que algunas veces ocurren después de TC<sup>14</sup>. El índice sugerido por Nagueh et al<sup>15</sup> fue utilizado, el cual evalúa la relación entre la onda diastólica precoz del flujo mitral (E mitral) y la onda diastólica

precoz de la pared lateral medida por IDT (e'LAT). Todas las medidas fueron realizadas en apnea espiratoria.

### Análisis estadístico

Todos los datos fueron relatados como media  $\pm$  DE (intervalos de confianza de 95%). El test *t* de Student no pareado fue utilizado para comparar variables continuas y el test *t* pareado para comparar el seguimiento de los pacientes. Análisis de regresión multivariado lineal y *stepwise* fueron utilizados para verificar relaciones entre variables continuas o análisis univariados. Curvas ROC (*receiver operator characteristic*) fueron empleadas para evaluar la capacidad clínica y epidemiológica de medidas seleccionadas y un valor de  $p < 0,05$  fue considerado significativo.

## Resultados

### Estudio transversal

#### Biopsia endomiocárdica

Ciento veintinueve BEM fueron realizadas y 35/54 (64,8%) pacientes fueron sometidos a más de un procedimiento, variando de uno a ocho, con una media de 2,4 biopsias por paciente. Veintidós de 54 pacientes estudiados (40,7%) presentaron un RC  $\geq 3A$ . Fueron observados hallazgos de RC  $\geq 3A$  en 39/129 BEM (30,2%). Las características basales de los grupos control y TC son mostradas en la Tabla 1.

#### Ecocardiografía convencional

Las medidas de la ecocardiografía bidimensional y por Doppler pulsátil ( $p < 0,05$ ) en los grupos control y TC con o

sin RC  $\geq 3A$  son mostradas en la Tabla 1. El análisis univariado de los parámetros de Doppler pulsátil, considerando el área de la curva ROC para el diagnóstico de RC  $\geq 3A$ , describió la velocidad de onda mitral A como el mejor parámetro ( $p = 0,013$ ). Considerando un punto de corte de 35,2 cm/s, obtuvimos una precisión de 59,8%, sensibilidad de 59,5%, especificidad de 60%, valor predictivo positivo de 40,7% y valor predictivo negativo de 75%. Los parámetros del flujo de la vena pulmonar superior derecha no agregaron información diagnóstica para RC  $\geq 3A$ . Además de eso, las velocidades de flujo mitral no demostraron relevancia estadística en el análisis multivariado para predecir RC  $\geq 3A$ .

### Imagen con Doppler tisular

El estudio por IDT fue realizado con suceso en todos los pacientes y regiones estudiadas. Las velocidades de la onda e', onda a' y onda S, relación e'/a' en la IDT y (REL e'Mitral/REL e'LAT) en el grupo control, RC  $\geq 3A$  y sin RC  $\geq 3A$  en el anillo del VI y anillo lateral tricúspide están listadas en las Tablas 2, 3 y 4.

### Doppler tisular y rechazo cardíaco celular $\geq 3A$

Ningún parámetro del anillo lateral del VD a la IDT presentó diferencia significativa entre los grupos con y sin RC  $\geq 3A$ . En la pared posterior del VI, una diferencia significativa fue encontrada apenas en la velocidad tardía (a' medio-posterior) entre los grupos con y sin RC  $\geq 3A$ . En las paredes del VI analizadas en el corte apical, las velocidades de las ondas a' eran significativamente menores en todas las regiones, con excepción del segmento medio del septo interventricular.

Las velocidades de las ondas e' eran menores en pacientes con RC  $\geq 3A$  solamente en el anillo septal. Las velocidades de las ondas S eran significativamente menores en pacientes con RC  $\geq 3A$  en el anillo y en la región basal del septo y pared lateral del VI. En los otros segmentos, no había diferencias significativas en las velocidades sistólicas.

En el análisis univariado por la curva ROC, la mejor área fue obtenida con las velocidades diastólicas tardías del anillo lateral del VI (a'LAT) (Figura 1). Con un punto de corte de 5,6 cm/s, fueron observados precisión de 74,6%, sensibilidad de 76,3%, especificidad de 73,8%, valor predictivo positivo de 58% y valor predictivo negativo de 86,8% para el diagnóstico de RC  $\geq 3A$ .

### Análisis multivariado

Usando regresión logística, un modelo con seis parámetros predictivos fue obtenido para predecir RC  $\geq 3A$ : la velocidad tardía del anillo lateral (ALATan) y septal del VI (a' SEP), la velocidad sistólica del anillo inferior (SINF), la velocidad diastólica precoz del segmento medio-lateral (e'LATmed), la relación e'/a' LAT y la relación e'mitral/e'LAT cuando todas las variables fueron analizadas conjuntamente (Tabla 5). El siguiente score predictivo fue adoptado:

Score = 16,923 - (1,068 x a'SEP - 1,118 x a'LAT - 1,508 x Relación e'/a'LAT - 0,488 x Relación e' Mitral/e'LAT + 0,570 x SINF - 0,264 x e' LAT med).

El punto de corte obtenido por el análisis de la curva ROC fue igual a 0,619039.

Tabla 1 - Características clínicas y ecocardiográficas al Doppler convencional en el grupo control y en el grupo TC, con y sin RC  $\geq 3A$

Variable	Control	Sin RC $\geq 3A$	Con RC $\geq 3A$
Edad (años)	35,6 $\pm$ 4,3 (27,3- 44)	36,6 $\pm$ 2,0 (32,7- 40,4)	43,4 $\pm$ 2,9 (37,7- 49,1)
FC (lpm)	70,2 $\pm$ 10,5 †‡ (64,5- 75,9)	92,1 $\pm$ 1,6 * (89- 95,2)	85,6 $\pm$ 1,8 (82- 89)
Tiempo post TC (días)	-	341,0 $\pm$ 79,4 (185,4- 496,7)	385,4 $\pm$ 144,3 (102,5- 668,2)
IMVI (g/m <sup>2</sup> )	80,2 $\pm$ 3,4 †‡ (73,6- 86,8)	91,7 $\pm$ 2,2 (87,5- 95,9)	95,8 $\pm$ 3,3 (89,3-102,3)
DDVI (mm)	47,6 $\pm$ 1,3 † (45- 50,3)	44,4 $\pm$ 0,5 (43,4- 45,5)	45,8 $\pm$ 1,0 (44,5- 47,1)
FEVI Simpson (%)	63,9 $\pm$ 1,4 (61,2- 66,6)	63,1 $\pm$ 0,8 (61,5-; 64,6)	62,1 $\pm$ 1,0 (60,1- 64,1)
FEVD Simpson (%)	65,8 $\pm$ 1,5 †‡ (62,9- 68,6)	54,8 $\pm$ 0,9 (53- 56,6)	53,1 $\pm$ 1,6 (50-56,3)
AMitral (cm/s)	52,5 $\pm$ 3,9 †‡ (44,9- 60,2)	40,5 $\pm$ 1,5 * (37,5; 43,5)	35,2 $\pm$ 1,8 (31,8- 38,6)

FC - frecuencia cardíaca; TC - trasplante cardíaco. AMitral - velocidad diastólica tardía del flujo mitral; RC - rechazo cardíaco celular; IMVI - índice de masa del ventrículo izquierdo; DDVI - diámetro diastólico del ventrículo izquierdo; FEVI - fracción de eyección del ventrículo izquierdo; FEVD - fracción de eyección del ventrículo derecho.  $p < 0,05$ ; \*, con rechazo versus sin rechazo; † control versus sin rechazo; ‡ control versus con rechazo.

**Tabla 2 -** Parámetros de las IDT en la pared posterior del VI y anillo tricúspide en el grupo control y en pacientes del grupo TC con y sin RC  $\geq$  3A

Parámetro	Control	Sin RC $\geq$ 3A	Con RC $\geq$ 3A
e' medio-posterior	11,3 $\pm$ 0,7 (10 - 12,6)	12,3 $\pm$ 0,4 (11,6 - 13)	12,3 $\pm$ 0,3 (11,3 - 13,4)
a' medio-posterior	5,1 $\pm$ 0,6 (4,1 - 6,2) ‡	4,8 $\pm$ 0,2 (4,4 - 5,3) *	4,0 $\pm$ 0,2 (3,6 - 4,5)
Relación e'/a' medio-posterior	2,5 $\pm$ 0,2 (2 - 2,9)	2,9 $\pm$ 0,2 (2,6 - 3,2)	3,1 $\pm$ 0,2 (2,7 - 3,7)
S medio-posterior	6,5 $\pm$ 0,2 (5,9 - 7,1) † ‡	8,3 $\pm$ 0,2 (7,9 - 8,7)	8,1 $\pm$ 0,3 (7,5 - 8,7)
e' anillo tricúspide	14,3 $\pm$ 0,8 (12,8 - 15,7) † ‡	8,2 $\pm$ 0,3 (7,6 - 8,9)	7,4 $\pm$ 0,4 (6,6 - 8,3)
a' anillo tricúspide	11,9 $\pm$ 1,0 (9,9 - 13,9) † ‡	8,3 $\pm$ 0,4 (7,6 - 9,0)	7,7 $\pm$ 0,5 (6,6 - 8,7)
Relación e'/a' anillo tricúspide	1,3 $\pm$ 0,2 (1,0 - 1,6) †	1,0 $\pm$ 0,1 (0,9 - 1,2)	1,1 $\pm$ 0,1 (0,9 - 1,4)
S anillo tricúspide	12,9 $\pm$ 0,4 (12,1 - 13,8) † ‡	8,2 $\pm$ 0,2 (7,8 - 8,8)	8,0 $\pm$ 0,4 (7,2 - 8,7)

Velocidades son expresadas como media en cm/s  $\pm$  ES (IC95%); a' - velocidad diastólica tardía; e' - velocidad diastólica precoz; S - velocidad sistólica de pico; RC - rechazo cardíaco celular; TC - trasplante cardíaco; p < 0,05: \*, con rechazo versus sin rechazo; † control versus sin rechazo; ‡ control versus con rechazo.

**Tabla 3 -** Parámetros de la IDT en el anillo septal y lateral y segmentos de las paredes del VI en el grupo control y en los pacientes sometidos a TC con y sin RC  $\geq$  3A

Parámetro	Control	Sin RC $\geq$ 3A	Con RC $\geq$ 3A
e' anillo septal	10,6 $\pm$ 0,6 (9,5 - 11,6) † ‡	9,1 $\pm$ 0,2 (8,6 - 9,6)	7,9 $\pm$ 0,3 (7,3 - 8,5) *
a' anillo septal	9,2 $\pm$ 0,7 (7,8 - 10,6) † ‡	7,1 $\pm$ 0,2 (6,6 - 7,5)	5,2 $\pm$ 0,2 (4,8 - 5,7) *
Relación e'/a' anillo septal	1,2 $\pm$ 0,1 (1 - 1,5)	1,3 $\pm$ 0,1 (1,2 - 1,4)	1,6 $\pm$ 0,1 (1,4 - 1,7) *
A septal basal	7,4 $\pm$ 0,6 (6,3 - 8,6) † ‡	5,4 $\pm$ 0,1 (5,0 - 5,8)	4,4 $\pm$ 0,2 (3,9 - 4,9) *
S septal basal	7,2 $\pm$ 0,2 (6,8 - 7,6) † ‡	6,2 $\pm$ 0,1 (6,0 - 6,5)	5,7 $\pm$ 0,2 (5,3 - 6,1) *
e' medio-septal	9,5 $\pm$ 0,6 (8,4 - 10,6) † ‡	7,4 $\pm$ 0,2 (6,9 - 7,9)	7,4 $\pm$ 0,3 (6,7 - 8,2)
a' medio-septal	6,2 $\pm$ 0,5 (5,2 - 7,2) † ‡	4,4 $\pm$ 0,1 (4,0 - 4,7)	3,9 $\pm$ 0,1 (3,6 - 4,3)
S anillo medio-septal	6,1 $\pm$ 0,3 (5,5; 6,8) † ‡	5,3 $\pm$ 0,1 (5,0; 5,6)	5,0 $\pm$ 0,2 (4,5; 5,5)
e' anillo lateral	14,6 $\pm$ 1,0 (12,6 - 16,6)	12,9 $\pm$ 0,4 (12 - 13,6)	12,4 $\pm$ 0,3 (11,3 - 13,7)
a' anillo lateral	7,9 $\pm$ 0,7 (6,6 - 9,2) † ‡	6,5 $\pm$ 0,2 (6,2 - 6,9)	4,9 $\pm$ 0,2 (4,6 - 5,3) *
Relación e'/a' anillo lateral	1,8 $\pm$ 0,2 (1,4 - 2,1) ‡	2,1 $\pm$ 0,1 (1,9 - 2,3)	2,6 $\pm$ 0,2 (2,3 - 3) *
e' mitral/e' anillo lateral	5,5 $\pm$ 0,4 (4,8 - 6,1)	6,2 $\pm$ 0,3 (5,8 - 6,8)	6,2 $\pm$ 0,4 (5,4 - 7)
S anillo lateral	9,3 $\pm$ 0,6 (8,2 - 10,4)	9,2 $\pm$ 0,2 (8,8 - 9,7)	8,3 $\pm$ 0,3 (7,9 - 8,9) *
e' lateral basal	12,2 $\pm$ 0,9 (5,4 - 7,3)	13,4 $\pm$ 0,5 (12,5 - 14,3)	12,8 $\pm$ 0,7 (11,4 - 14,3)
a' lateral basal	6,4 $\pm$ 0,5 (7,1 - 8,3) † ‡	5,0 $\pm$ 0,2 (4,7 - 5,3)	4,3 $\pm$ 0,2 (4 - 4,7) *
S lateral basal	7,7 $\pm$ 0,3 (7,1 - 8,3)	8,5 $\pm$ 0,2 (8 - 8,9)	7,7 $\pm$ 0,3 (7 - 8,4) *
e' medio-lateral	9,8 $\pm$ 0,8 (8,4 - 11,4)	11,6 $\pm$ 0,4 (10,8 - 12,5)	10,5 $\pm$ 0,5 (9,6 - 11,5)
a' medio-lateral	5,6 $\pm$ 0,4 (4,8 - 6,4) ‡	4,6 $\pm$ 0,2 (4,3 - 5)	3,8 $\pm$ 0,2 (3,5 - 4,2) *
S medio-lateral	7,1 $\pm$ 0,3 (6,4 - 7,8)	7,7 $\pm$ 0,2 (7,4 - 8,2)	7,0 $\pm$ 0,3 (6,5 - 7,5) *

Velocidades son expresadas como medias en cm/s  $\pm$  ES (IC95%); a' - velocidad diastólica tardía; e' - velocidad diastólica precoz; S - velocidad sistólica de pico; med - segmento medio; RC - rechazo cardíaco celular; TC - trasplante cardíaco; p < 0,05: \*, con rechazo versus sin rechazo; † control versus sin rechazo; ‡ control versus con rechazo.

La distribución de las variables en el análisis multivariado mostró una sensibilidad de 88,2%, especificidad de 75,4%, precisión de 79,6%, valor predictivo positivo de 63,8% y valor predictivo negativo de 92,9% para el diagnóstico de RC  $\geq$  3A.

### Fase prospectiva del estudio

Considerando los pacientes sometidos a más de una BEM, establecimos los dos grupos: 1) grupo de 29 pacientes,

inicialmente no presentando RC  $\geq$  3A a la primera BEM; 2) grupo de 25 pacientes, que presentaban RC  $\geq$  3A en la época de la primera BEM. Observamos el comportamiento de (a'LAT) en esos grupos y encontramos variaciones significativas en la evolución de la variable de acuerdo con las alteraciones histológicas (Tabla 6), (Figura 2).

Llevando en consideración todos los pacientes sin RC  $\geq$  3A en la época de la primera BEM, establecimos, con la curva ROC, que una caída de 7% en el valor inicial de la a'LAT

Tabla 4 - Parámetros de IDT en el anillo inferior y anterior y segmentos de las paredes del VI en el grupo control y en pacientes sometidos a TC con y sin RC  $\geq 3A$

Parámetro	Control	Sin RC $\geq 3A$	Con RC $\geq 3A$
e' anillo inferior	12,0 $\pm$ 0,7 (10,6 - 13,2)	11,3 $\pm$ 0,3 (10,7 - 11,9)	10,5 $\pm$ 0,4 (9,7 - 11,4)
a' anillo inferior	9,5 $\pm$ 0,6 (8,4 - 10,6) † ‡	7,6 $\pm$ 0,2 (7,2 - 8,1)	5,9 $\pm$ 0,2 (5,4 - 6,3) *
Relación e'/a' anillo inferior	1,3 $\pm$ 0,1 (1,0 - 1,6)	1,5 $\pm$ 0,1 (1,4 - 1,7)	1,9 $\pm$ 0,1 (1,6 - 2,1) *
S anillo inferior	8,5 $\pm$ 0,3 (8,0 - 9,0)	8,6 $\pm$ 0,2 (8,2 - 9,0)	8,2 $\pm$ 0,3 (7,7 - 8,7)
S inferior basal	7,5 $\pm$ 0,2 (7,2 - 7,9)	7,8 $\pm$ 0,2 (7,4 - 8,2)	7,3 $\pm$ 0,3 (6,8 - 7,7)
e' medio-inferior	9,3 $\pm$ 0,6 (8,0 - 10,5)	9,1 $\pm$ 0,4 (8,4 - 9,8)	9,1 $\pm$ 0,5 (8,1 - 10,0)
a' medio-inferior	6,0 $\pm$ 0,4 (5,1 - 6,8) ‡	5,4 $\pm$ 0,2 (5,1 - 5,8)	4,7 $\pm$ 0,2 (4,2 - 5,1) *
S medio-inferior	6,4 $\pm$ 0,3 (5,9 - 6,8)	6,3 $\pm$ 0,2 (6 - 6,6)	6,2 $\pm$ 0,3 (5,7 - 6,7)
e' anillo anterior	12,1 $\pm$ 0,7 (10,7 - 13,7) † ‡	9,9 $\pm$ 0,3 (9,4 - 10,4)	9,4 $\pm$ 0,5 (9,4 - 10,4)
a' anillo anterior	8,3 $\pm$ 0,6 (7,0 - 9,7) † ‡	6,3 $\pm$ 0,2 (6 - 6,7)	5,2 $\pm$ 0,2 (4,8 - 5,7) *
Relación e'/A anillo anterior	1,6 $\pm$ 0,2 (1,2 - 1,9)	1,6 $\pm$ 0,1 (1,5 - 1,7)	1,9 $\pm$ 0,1 (1,6 - 2,2) *
S anillo anterior	8,2 $\pm$ 0,4 (7,4 - 9,0)	7,9 $\pm$ 0,2 (7,6 - 8,3)	7,5 $\pm$ 0,3 (6,9 - 8,0)
S anterior basal	6,9 $\pm$ 0,1 (6,4 - 7,5)	6,9 $\pm$ 0,2 (6,5 - 7,3)	6,4 $\pm$ 0,2 (6 - 6,8)
e' medio-anterior	8,1 $\pm$ 0,6 (6,9 - 9,4)	8,4 $\pm$ 0,3 (7,9 - 8,9)	8,0 $\pm$ 0,4 (7,2 - 8,7)
a' medio-anterior	5,1 $\pm$ 0,3 (4,4 - 5,8) † ‡	3,8 $\pm$ 0,1 (3,6 - 4,1)	3,4 $\pm$ 0,1 (3,2 - 3,7) *
S medio-anterior	6,0 $\pm$ 0,3 (5,4 - 6,6)	6,4 $\pm$ 0,2 (6 - 6,8)	5,8 $\pm$ 0,2 (5,4 - 6,2)

IDT - imágenes por Doppler tisular; Velocidades son expresadas como medias en cm/s  $\pm$  ES (IC95%); a' - velocidad diastólica tardía; e' - velocidad diastólica precoz; S - velocidad sistólica de pico; med - segmento medio; RC - rechazo cardíaco celular; TC - trasplante cardíaco; p < 0,05: \*, con rechazo versus sin rechazo; † control versus sin rechazo; ‡ control versus con rechazo.

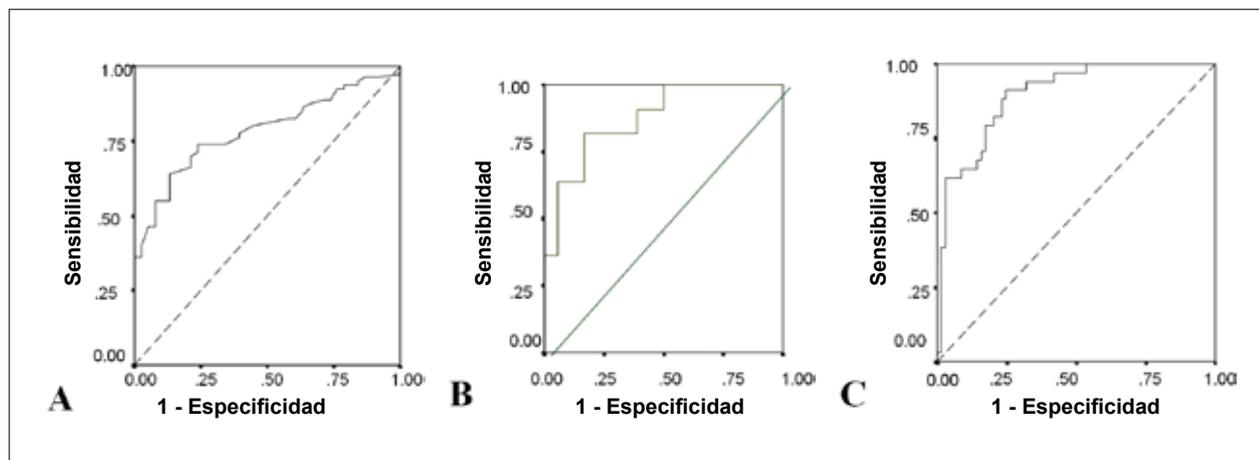


Fig. 1 - Análisis de las curvas ROC (receiver operating characteristic) para separación de la presencia o ausencia de rechazo celular (RC) agudo en pacientes sometidos a trasplante de corazón. A) Curva ROC para diagnóstico de velocidad diastólica tardía del anillo lateral del VI (aLAT), B) curva ROC para aLAT y caída de 70% en pacientes inicialmente sin RC y C) curva ROC para el modelo multivariado.

presentaba una precisión de 79%, sensibilidad de 81,8%, especificidad de 77,8%, valor predictivo positivo de 69,2% y valor predictivo negativo de 87,5% para el diagnóstico de RC  $\geq 3A$  (Figura 1).

## Discusión

Nuestros resultados mostraron la viabilidad del estudio a través de IDT para el diagnóstico precoz de rechazo celular

significativo y que la IDT agregó informaciones diagnósticas en relación al ecocardiograma convencional para esa cuestión. Observamos variaciones regionales en el VI en pacientes con RC  $\geq 3A$ , lo que puede sugerir deficiencia del proceso infeccioso en el injerto. Además de eso, el análisis seriado del estudio por IDT mostró buena precisión diagnóstica en la detección de RC  $\geq 3A$ , demostrando diferentes comportamientos de las velocidades aLAT de acuerdo con las alteraciones histológicas.

**Tabla 5 - Parámetros de imágenes por Doppler tisular (IDT) en el análisis multivariado**

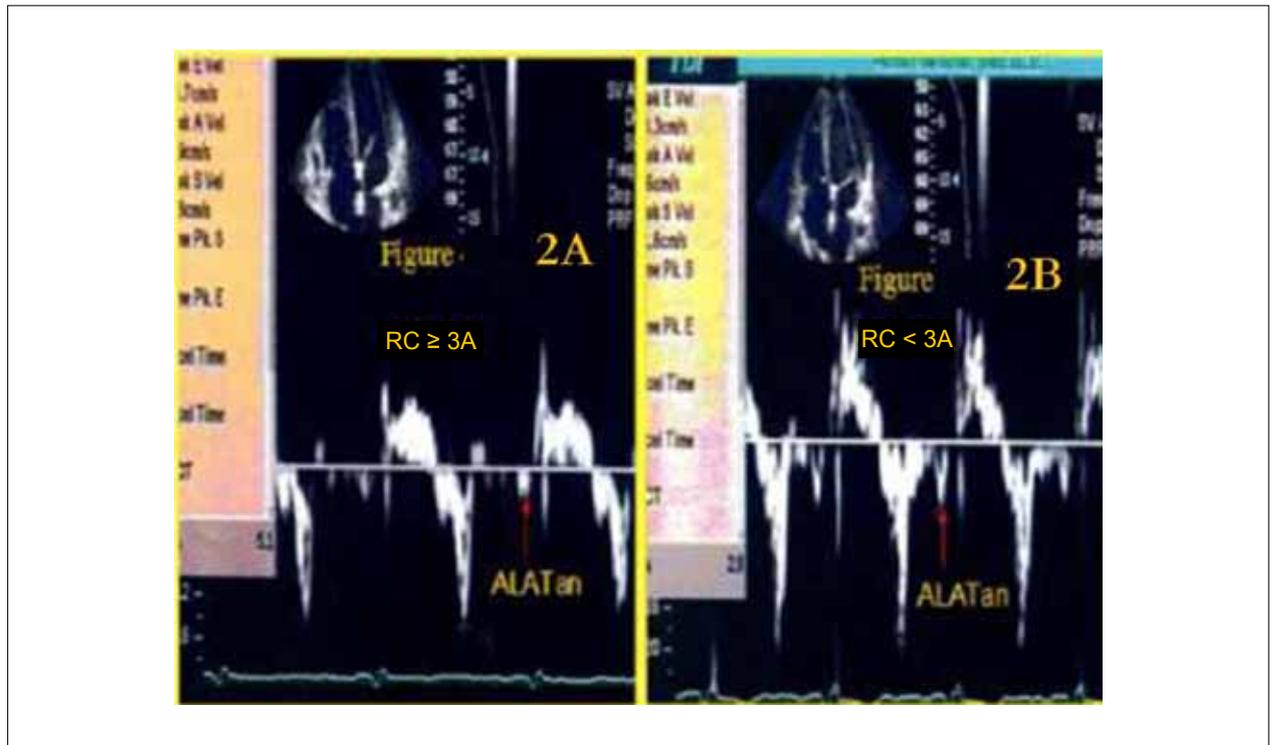
Parámetro	Coficiente	Error estándar	p	Odds ratio
Constante	16,923	4,194	<0,001	-
a' anillo septal	-1,068	0,3113	0,001	0,344
a' anillo lateral	-1,118	0,37	0,002	0,327
Relación e'/a' anillo lateral	-1,508	0,549	0,006	0,221
Relación E-mitral/ e'LAT anillo	-0,488	0,199	0,014	0,614
S anillo inferior	0,57	0,218	0,009	1,768
E pared medio-lateral	-0,264	0,13	0,042	0,768

IDT - Imagen por Doppler tisular; a' - velocidad diastólica tardía; e' - velocidad diastólica precoz; E-mitral - velocidad diastólica precoz en el flujo mitral; S - velocidad sistólica de pico; LAT - pared lateral del VI.

**Tabla 6 - Fase prospectiva del estudio. Variación de la velocidad diastólica tardía del anillo lateral (ALATan) de acuerdo con la evolución de la BEM. Grupos 1 y 2, pacientes inicialmente sin RC  $\geq$  3A. Grupos 3 y 4, pacientes inicialmente con RC  $\geq$  3A**

Grupo	Pacientes (n)	1º Eco ALATan (cm/s)	2º Eco ALATan (cm/s)	p
1. Sin RC $\geq$ 3A	18	6,26 $\pm$ 0,4	6,76 $\pm$ 0,37	0,2
2. Desarrollo de RC $\geq$ 3A	11	6,83 $\pm$ 0,38	5,23 $\pm$ 0,39	0,001
3. RC $\geq$ 3A con regresión después del tratamiento	19	4,94 $\pm$ 0,26	6,59 $\pm$ 0,27	<0,001
4. Persistencia de la RC $\geq$ 3A	6	5 $\pm$ 0,5	4,97 $\pm$ 0,31	0,95

RC - rechazo celular cardíaco; ALATan - velocidad diastólica tardía del anillo lateral del VI.



**Fig. 2 - Estudios con IDT consecutivos en paciente con RC agudo (RC  $\geq$  3A). Izquierda (2A)- Baja velocidad diastólica tardía del anillo lateral (a'LAT) (flecha) durante la fase aguda de la RC  $\geq$  3A. Derecha (2B)- Significativo aumento en la a'LAT (flecha), después de la resolución de la RC  $\geq$  3A.**

### Grupo trasplante cardíaco versus grupo normal en el Doppler tisular

Por lo que sabemos, este es el primero relato de estudio a través de IDT que caracterizó cuantitativamente varios segmentos del injerto pareado con un grupo normal. En relación a la función sistólica del VD, nuestros datos sugieren la presencia de alteración contráctil, lo que está en desacuerdo con un relato anterior<sup>16</sup>. El aumento en el volumen y espesor del VD del injerto, enseguida después del TC, es un mecanismo de adaptación a la hipertensión

pulmonar, generalmente presente en el receptor. La regresión de tales alteraciones con el tiempo ya es conocida. Entre tanto, la función sistólica del VD parece estar preservada en pacientes estables sin RC. La evidencia de insuficiencia tricúspide, común en pacientes sometidos a TC, puede sobrestimar los parámetros funcionales en la ecocardiografía convencional<sup>17,18</sup>. El estudio con IDT no parece ser afectado por esa influencia, como puede ser observado en nuestra serie, con velocidades sistólicas muy bajas del anillo tricúspide en pacientes transplantados.

Teniendo en consideración la función diastólica del VD, observamos que la reducción de las velocidades de las ondas  $e'$  y  $a'$  en el anillo tricúspide puede sugerir un grado más avanzado de deficiencia de la función diastólica del VD del grupo con TC. Concordando con nuestro estudio, Valentine et al<sup>19</sup> mostraron alteraciones en la función diastólica del VD en pacientes post TC en el Doppler convencional, con reducción en las velocidades de onda  $a'$  del flujo tricúspide en pacientes transplantados.

En el estudio de la función sistólica del VI, nuestros resultados indicaron acentuadas alteraciones regionales en el septo interventricular relativas al grupo control, lo que no fue observado en datos ecocardiográficos convencionales reportados anteriormente<sup>20</sup>. La disfunción diastólica ventricular izquierda fue confirmada por la reducción en las velocidades de onda  $e'$  y  $a'$  en relación al grupo control, especialmente en las regiones septal y anterior. Esas velocidades son inversamente proporcionales al grado de disfunción diastólica<sup>21</sup>.

Es sabido que las alteraciones en la función diastólica ocurren en pacientes post TC y nuestros hallazgos están de acuerdo con aquellos demostrados anteriormente, en los cuales fue observada la ocurrencia precoz de estándar fisiológico restrictivo, en las primeras semanas después del implante del injerto, con regresión parcial en el período de control<sup>22</sup>.

### Doppler pulsátil y diagnóstico de rechazo celular $\geq 3A$

La falta de relevancia estadística de los parámetros ecocardiográficos convencionales estudiados en el análisis multivariado para predecir  $RC \geq 3A$  puede ser entendida teniendo en consideración la influencia hemodinámica en tales cuestiones. Esos hallazgos están en acuerdo con estudios anteriores<sup>22,23</sup>.

Creemos que la falta de utilidad del uso del Doppler pulsátil para predecir la  $RC \geq 3A$  puede estar relacionada a algunas razones, como anteriormente citado por Stengel et al<sup>9</sup>: primero, el Doppler pulsátil podría sufrir ciertas influencias importantes tales como edad, frecuencia cardíaca y condiciones de carga; segundo, la denervación de pacientes transplantados podría llevar a algún estándar restrictivo de llenado, lo que podría estar relacionado a la disfunción diastólica sin evidencia de rechazo cardíaco.

### Doppler tisular y diagnóstico de rechazo celular $\geq 3A$

Este es el primer estudio, que sea de nuestro conocimiento, que evaluó el diagnóstico de  $RC \geq 3A$  usando un modelo multirregional de IDT, incluyendo los segmentos medio y basal de las paredes del VI. La importancia de la IDT para predecir  $RC \geq 3A$  es enfatizada por la súbita reducción de la velocidad de onda  $a'$  en 12 regiones, así como por la disminución de la velocidad de la onda S en 5 regiones, de la velocidad de la onda  $e'$  en 1 región y por la definición de 6 predictores independientes en el modelo multivariado.

En el VI, cerca de 75% de los pacientes en el grupo con  $RC \geq 3A$  presentaban velocidades  $a'SEP$  y  $a'LAT$  abajo del nivel del límite superior del primer cuartil en el grupo de pacientes con RC. Nuestros resultados están de acuerdo con un estudio publicado más recientemente<sup>9</sup>, que fue el primero en demostrar el beneficio de la velocidad de onda diastólica tardía ( $a'$ ) en el

diagnóstico de  $RC \geq 3A$ . En otro estudio, las velocidades de onda  $a'$  en el anillo mitral fueron significativamente menores en el grupo de pacientes con RC, en concordancia con nuestro estudio<sup>23</sup>. Así, creemos que la disfunción atrial en el injerto puede ser observada al estudiar las velocidades de onda  $a'$  en la IDT y también que la disfunción atrial en el injerto puede ser considerada una de las principales consecuencias funcionales de agresión al miocardio en RC significativa.

A despecho de relatos anteriores, observamos una menor importancia de la velocidad de onda diastólica precoz ( $e'$ ) para el diagnóstico de  $RC \geq 3A$ , lo que puede ser explicado por el énfasis en el movimiento radial del corazón o técnica unidimensional de la IDT utilizada en tales estudios<sup>24,25</sup>.

En relación a la función sistólica durante la  $RC \geq 3A$ , diferencias regionales encontradas en nuestro estudio pueden sugerir una forma heterogénea de deficiencia muscular en ese tipo de lesión cardíaca. Ningún estudio publicado hasta hoy mostró una mayor importancia de las variables sistólicas, comparadas a los parámetros diastólicos, para predecir la RC. Nuestro modelo multirregional llegó a un score que comprende características sistólicas y diastólicas, lo que podría llevar a un mejor entendimiento de una situación compleja como la RC.

### Fase evolutiva del estudio

Ese es el primer estudio, que sea de nuestro conocimiento, que envuelve IDT y el uso de la onda ( $a'$ ) para el diagnóstico de  $RC \geq 3A$ , que secuencialmente evaluó pacientes transplantados de acuerdo con la evolución histológica. En relación a nuestro estudio, podríamos suponer que la variable  $a'LAT$  sería útil para establecer la ocurrencia de  $RC \geq 3A$ , y ese parámetro no parece estar bajo la influencia de alteraciones anteriores en la función diastólica. Otros estudios observacionales no analizaron las ondas  $a'$  y encontraron variaciones significativas en las ondas S y  $e'$ <sup>8,26</sup>. Los parámetros de Doppler Tisular (relaciones  $e'/e'$  mitral y tricúspide) han sido reportados como medidas no invasivas para eliminar el rechazo en pacientes pediátricos recipientes de trasplante cardíacos<sup>26</sup>. Eventualmente, el análisis ecocardiográfico similar puede ser útil para excluir el rechazo del trasplante en la población adulta.

Estudios anteriores que utilizaron ecocardiografía analizaron el rechazo agudo de aloinjerto<sup>27</sup>. Entre tanto, puede haber algún tipo de sesgo en relación a tales datos. Por ejemplo, algunos estudios tienen pequeños tamaños de muestra, otros definen de forma deficiente las informaciones demográficas o técnicas quirúrgicas o demuestran comparaciones no ciegas<sup>28</sup>. Otro punto importante es la presentación de datos técnicos ecocardiográficos de forma clínica amplia. En nuestro estudio, en relación a estudios de Doppler tisular repetitivos, una reducción de 7% en el valor inicial de la  $a'LAT$  mostró alta sensibilidad (81,8%), así como alto valor predictivo negativo (87,5%) para el diagnóstico de  $RC \geq 3A$ .

El score del ecocardiograma derivado de ese estudio, que comprende informaciones de diferentes segmentos del VI combinando parámetros diastólicos y sistólicos, puede ser una herramienta útil para el diagnóstico de  $RC \geq 3A$ . Su uso demostró altos valores en relación a la sensibilidad (88,2%) y valor predictivo negativo (92,9%) para excluir el rechazo

cardíaco grave. Además de eso, el uso de tal escore agregó información diagnóstica (valores más altos de sensibilidad, especificidad, precisión, valor predictivo negativo, valor predictivo positivo) cuando fue comparado al mejor parámetro univariado derivado de la IDT (a'LAT) para detectar RC  $\geq$  3A. Estamos absolutamente conscientes de la complejidad del formato de tal escore, pero tal vez él apenas refleje el proceso complejo del rechazo cardíaco en el TC.

### Limitaciones

Hay limitaciones específicas de la técnica de IDT, tales como las resultantes del ángulo de inclinación del estudio Doppler y los movimientos complejos del corazón, lo que puede interferir con el registro de la velocidad miocárdica.

Entre tanto, movimientos longitudinales, como los estudiados en nuestra serie, pueden resultar en menor interferencia. Otra limitación de esa investigación puede estar relacionada a la presencia de anomalías de movimiento de pared regional en pacientes transplantados, lo que llevó a la exclusión de ese tipo de paciente de nuestro estudio.

Una nueva técnica ecocardiográfica que podría ser utilizada para superar algunas de las limitaciones de la IDT, tales como la dependencia del ángulo, podría ser el empleo del *strain* y del *strain rate*, lo que ciertamente añadiría alguna información al diagnóstico de rechazo cardíaco.

### Referencias

1. Taylor DO, Edwards LB, Boucek MM, Trulock EP, Keck BM, Hertz MI. The registry of International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-first. Official adult heart transplant report-2004. *J Heart Lung Transplant.* 2004;23(7):796-803.
2. Boucek MM, Edwards LB, Keck BM, Trulock EP, Taylor DO, Hertz MI. Registry for the International Society for Heart and Lung Transplantation: seventh official pediatric report-2004. *J Heart Lung Transplant.* 2004;23(8):933-47.
3. Bocchi EA, Mocelin AV, Moraes AV, Menegheti C, Higuchi ML, Bacal F. Comparison between two strategies for rejection detection after heart transplantation: routine endomyocardial biopsy versus Gallium-67 cardiac imaging. *Transplant Proc.* 1997;29(1-2):586-8.
4. Mehra MR, Uber PA, Uber WE, Park MH, Scott RL. Anything but a biopsy: noninvasive monitoring for cardiac allograft rejection. *Curr Opin Cardiol.* 2002;17(2):131-6.
5. Yu CM, Lin H, Yang H, Kong SL, Zhang Q, Lee SW. Progression of systolic abnormalities in patients with "isolated" diastolic heart failure and diastolic dysfunction. *Circulation.* 2002;105(10):1195-201.
6. St Goar FG, Gibbons R, Schnittger I, Valentine HA, Popp RL. Left ventricular diastolic function. Doppler echocardiographic changes soon after cardiac transplantation. *Circulation.* 1990;82(3):872-8.
7. Fabregas RI, Crespo-Ieiro MC, Muniz J, Regueiro M, Rodrigues JA, Alvarez N, et al. Usefulness of pulsed Doppler tissue imaging for noninvasive detection of cardiac rejection after heart transplantation. *Transplant Proc.* 1999;31(6):2545-7.
8. Puleo JA, Aranda JM, Weston MW, Cintron C, French M, Clark L. Noninvasive detection of allograft rejection in heart transplant recipients by use of Doppler tissue imaging. *J Heart Lung Transplant.* 1998;17(2):176-84.
9. Stengel SM, Alleman Y, Zimmerli M, Lipp E, Kutcher N, Mohacs P, et al. Doppler tissue imaging for assessing left ventricular diastolic dysfunction in heart transplant rejection. *Heart.* 2001;86(4):432-7.

### Conclusión

Ese estudio basado en IDT multirregional probó ser clínicamente viable y adicionó informaciones diagnósticas para predecir RC  $\geq$  3A, cuando fue comparado al Doppler convencional. El modelo multivariado presenta mejor precisión que los parámetros aislados de IDT para el diagnóstico de RC  $\geq$  3A. El uso del escore de IDT multirregional puede ser una nueva opción diagnóstica no invasiva para la identificación de RC  $\geq$  3A, lo que puede llevar a la disminución en los costos y riesgos relacionados a los procedimientos de la biopsia endomiocárdica.

### Potencial Conflicto de Intereses

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

### Fuentes de Financiación

El presente estudio no tuvo fuentes de financiación externas.

### Vinculación Académica

Este artículo forma parte de tesis de Doctorado de Marcos Valério Coimbra Resende, por Instituto do Coração - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

10. Miller WM, Schlant RC, Kobashigawa J, Kubo S, Renlund DG. 24th Bethesda conference: Cardiac transplantation. Task Force 5: Complications. *J Am Coll Cardiol.* 1993;22(1):41-54.
11. Billingham ME, Cary NR, Hammond ME, Kemnitz J, Marboe C, McCallister HA, et al. A working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart and lung rejection: Heart rejection study Group. The International Society for Heart Transplantation. *J Heart Transplant.* 1990;9(6):587-93.
12. Schiller NB, Shah PM, Crawford M, De Maria A, Devereux R, Feigenbaum H, et al. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on quantitation of two-dimensional echocardiograms. *J Am Soc Echocardiogr.* 1989;2(5):358-67.
13. Apleton CP, Jensen JL, Hatle LK, Oh JK. Doppler evaluation of left and right ventricular diastolic function; a technical guide for obtaining optimal flow velocity recordings. *J Am Soc Echocardiogr.* 1997;10(3):271-97.
14. Tabata T, Oki T, Yamada H, Abe M, Onose Y, Thomas JD. Subendocardial motion in hypertrophic cardiomyopathy: assessment from long- and short-axis views by pulsed tissue Doppler imaging. *J Am Soc Echocardiogr.* 2000;13(2):108-15.
15. Nagueh SF, Middleton KJ, Kopelen HA, Zoghbi WA, Quinones MA. Doppler tissue imaging: a technique for evaluation of left ventricular relaxation and estimation of filling pressures. *J Am Coll Cardiol.* 1997;30(6):1527-33.
16. Gorcsan J 3rd, Snow FR, Paulsen W, Arrowood JA, Thompson JA, Nixon JV. Echocardiographic profile of the transplanted human heart in clinically well recipients. *J Heart Lung Transplant.* 1992;11(1 Pt 1):80-9.
17. Borow KM, Neumann A, Arensman FW, Yacoub MH. Left ventricular contractility and contractible reserve in humans after cardiac transplantation. *Circulation.* 1985;71(5):866-72.
18. Bhatia SJ, Kirshenbaum JM, Shemin RJ, Cohn LH, Collins JJ, Di Sesa VJ, et al. Time course of resolution of pulmonary hypertension and right ventricular remodeling after orthotopic cardiac transplantation. *Circulation.* 1987;76(4):819-26.

## Artículo Original

19. Valantine HA, Appleton CP, Hatle LK, Hunt SA, Billingham ME, Shumway NE, et al. A hemodynamic and Doppler echocardiographic study of ventricular function in long-term cardiac allograft recipients: etiology and prognosis of restrictive-constrictive physiology. *Circulation*. 1989;79(1):66-75.
20. Tischler MD, Lee RT, Plappert T, Mudge GH, St John Sutton M, Parker JD. Serial assesment of the left ventricular function and mass after orthotopic heart transplantation: a 4-year longitudinal study. *J Am Coll Cardiol*. 1992;19(1):60-6.
21. Garcia MJ, Thomas JD, Klein AL. New Doppler echocardiographic aplications for the study of diastolic function. *J Am Coll Cardiol*. 1998;32(4):865-75.
22. Ciliberto GR, Mascarello M, Gronda E, Bonacina E, Anjos MC, Danzi G, et al. Acute rejection after heart transplantation: noninvasive echocardiographic evaluation. *J Am Coll Cardiol*. 1994;23(5):1156-61.
23. Sun JP, Abdalla IA, Asher CR, Greenberg NL, Popovic ZB, Taylor DO, et al. Non-invasive evaluation of orthotopic heart transplant rejection by echocardiography. *J Heart Lung Transplant*. 2005;24(2):160-5.
24. Mankad S, Murali S, Kormos RL, Mandarino WA, Gorcsan J 3rd. Evaluation of the potential role of color-coded tissue Doppler echocardiography in the detection of allograft rejection in heart transplant recipients. *Am Heart J*. 1999;138(4 Pt 1):721-30.
25. Derumeaux G, Douillet R, Redonnet M, Mouton-Schleifer D, Soyer R, Cribier A, et al. Détection du rejet aigu myocardique après transplantation cardiaque par Doppler couleur tissulaire. *Arch Mal Coeur Vaiss*. 1998;91(10):1255-62.
26. Dandel M, Hummel M, Muller J, Wellnhofer E, Meyer R, Solowjowa N, et al. Reliability of tissue Doppler wall motion monitoring after heart transplantation for replacement of invasive routine screenings by optimally timed cardiac biopsies and catheterizations. *Circulation*. 2001;104 (Suppl I):I184-91.
27. Behera SK, Trang J, Feeley BT, Levi DS, Alejos JC, Drant S. The use of Doppler tissue imaging to predict cellular and antibody-mediated rejection in pediatric heart transplant recipients. *Pediatr Transplant*. 2008;12(2):207-14.
28. Mena C, Wencker D, Krumholz HM, McNamara RL. Detection of heart transplant rejection in adults by echocardiographic diastolic indices: a systematic review of the literature. *J Am Soc Echocardiogr*. 2006;19(10):1295-300.