

## Evaluación del Péptido Natriurético Tipo B en el Diagnóstico de Rechazo tras Transplante Cardíaco Pediátrico

Cristina de Sylos, Estela Azeka, Luis Kajita, Luis Benvenuto, Célia Cassaro Strunz, Klébia Castello Branco, Arlindo Almeida Riso, Carla Tanamati, Marcelo Jatene, Miguel Barbero-Marcial

Instituto do Coração (InCor) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina Universidade de São Paulo (HCFMUSP), São Paulo, SP - Brasil

### Resumen

**Fundamento:** El rechazo constituye una de las principales causas de mortalidad tras el transplante cardíaco pediátrico. El péptido natriurético tipo B (BNP) ha sido estudiado como método en el diagnóstico de rechazo agudo, sobre todo en pacientes adultos sometidos a transplante cardíaco.

**Objetivo:** Correlacionar el nivel sérico de BNP al rechazo agudo diagnosticado por biopsia endomiocárdica en pacientes del grupo de transplante cardíaco pediátrico.

**Métodos:** Se recolectaron 50 muestras de BNP de 33 niños en postoperatorio de transplante cardíaco, y se analizaron datos como edad, sexo, color, grupo sanguíneo, cuadro inmunológico, tiempo de evolución tras el transplante, clase funcional, inmunosupresión utilizada y número de rechazos.

**Resultados:** Se seleccionaron a 33 niños con edad promedio de 10,13 años, predominio del sexo femenino (54%) y de color blanca (78%). Al momento de la dosificación de BNP, el tiempo promedio de transplante fue de 4,25 años. La biopsia endomiocárdica diagnosticó nueve rechazos en ocho pacientes (27%), de ellos tres presentaron grado 3A, cinco grado 2 y uno rechazo humoral. Ya al momento de la biopsia, la mayoría de los pacientes se encontraba asintomática. El nivel sérico de BNP tuvo como promedio, 77,18 pg/ml; 144,22 pg/ml en el grupo con rechazo y 62,46 pg/ml en el grupo sin rechazo, con  $p = 0,02$ .

**Conclusión:** Niños asintomáticos pueden presentar rechazo agudo en el postoperatorio de transplante cardíaco. El nivel sérico de BNP presentó diferencia estadísticamente significativa en el grupo con rechazo, lo que lo convierte en posible método adicional en el diagnóstico de rechazo cardíaco. (Arq Bras Cardiol 2009;92(3): 221-226)

**Palabras clave:** Transplante de corazón, rechazo del injerto, péptido natriurético tipo B, biopsia, niños.

### Introducción

A pesar de los recientes avances descritos en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca congestiva en niños, el transplante cardíaco ha sido todavía una opción terapéutica en un gran número de niños portadores de cardiopatías congénitas complejas y cardiomiopatías refractarias, a la terapéutica convencional<sup>1,2</sup>.

El décimo registro de la Sociedad Internacional de Transplante Cardíaco Pediátrico (2007)<sup>3</sup> relata que el rechazo aún se muestra una importante causa de mortalidad postransplante cardíaco pediátrico, pese a los nuevos agentes inmunosupresores y al desarrollo de nuevas estrategias para su tratamiento.

El diagnóstico precoz es esencial. Métodos no invasivos<sup>4-6</sup> han sido investigados en niños, ya que la biopsia endomiocárdica, aunque se la considere como método de elección, presenta limitaciones en virtud de las dificultades técnicas, costos y

complicaciones cuando realizada en niños<sup>7-9</sup>.

El nivel sérico del péptido natriurético tipo B (BNP) –neurohormona producida por el miocardio en respuesta a la distensión del ventrículo o incremento de la tensión de la pared<sup>10-12</sup>– ha sido utilizado en el transplante cardíaco, en pacientes adultos, no sólo como método de diagnóstico de rechazo agudo<sup>13</sup>, sino también como predictor de coronariopatía<sup>14-16</sup>. Pocos son los relatos acerca de la población pediátrica, con pequeño número de pacientes y resultados controvertidos, lo que nos motivó a la realización de este estudio<sup>17,18</sup>.

La investigación consiste en evaluar el nivel sérico de BNP en comparación a los hallazgos histopatológicos de la biopsia endomiocárdica, con la finalidad de diagnosticar el rechazo agudo en niños sometidos al transplante cardíaco ortotópico.

### Métodos

Se realizó un estudio transversal en 33 pacientes en el grupo de edad pediátrico, en seguimiento tras transplante cardíaco en el Instituto do Coração (InCor) – Hospital de Clínicas – Facultad de Medicina de la Universidad de São

**Correspondencia:** Cristina de Sylos •

Rua Fernando Pessoa, 53 (Vila Giglio) - 12946-240 - Atibaia, SP - Brasil

E-mail: cristinasylos@hotmail.com

Artículo recibido el 11/04/08; revisado recibido el 04/07/08;

aceptado el 31/07/08.

Paulo, durante el período comprendido entre junio de 2005 y octubre de 2006, en un total de 50 biopsias.

Los criterios de inclusión utilizados para la realización del estudio son los siguientes: pacientes con más de seis meses de evolución tras el trasplante cardiaco, cuyos responsables estaban de acuerdo con la realización del cateterismo cardiaco y del protocolo del estudio, al firmar un formulario de consentimiento.

Se excluyeron a los pacientes que no realizaron cateterismo cardiaco en el período del estudio, así como casos en que ocurrió falla en la recolección o almacenamiento del material.

Se evaluaron los siguientes parámetros clínicos: alteración de humor (irritabilidad, apatía, agitación, somnolencia) o presencia de anorexia, fiebre, arritmia o señales de insuficiencia cardiaca congestiva.

Se recolecionaron datos evolutivos como tiempo de evolución tras trasplante, número total de episodios de rechazo, edad al momento del trasplante e inmunosupresión utilizada. Además de estos datos, se analizó no sólo la necesidad de agentes vasoactivos y/o medicación anticongestiva sino también la presencia de coronariopatía, insuficiencia renal o diabetes mellitus.

#### Recolección del BNP

Se recolecionó el BNP al momento de la biopsia endomiocárdica de los niños sometidos a trasplante cardiaco. El método de dosificación de BNP utilizado fue la prueba Triage<sup>®</sup> (Biosite Diagnostics): prueba de inmunofluorescencia para determinación cuantitativa del BNP en sangre o plasma conservados con EDTA como anticoagulante. Tras poner la muestra de sangre en el dispositivo, se separa el plasma por medio de un filtro. Se pone una cantidad predeterminada de plasma en reacción con anticuerpos fluorescentes. Tras un período de incubación, se envía la muestra para un análisis que detecta los complejos formados con los anticuerpos fluorescentes.

En este estudio se utilizó material con período máximo de seis meses de recolección, congelado a 20<sup>o</sup> Celsius negativos.

#### Biopsia endomiocárdica

Indicadas para los casos con sospecha de rechazo agudo, las biopsias se realizaron de forma consecutiva, durante la realización del cateterismo anual.

Para el análisis de los datos, se dividieron a los pacientes en dos grupos: con y sin rechazo. Se evaluaron los niveles de BNP en ambos grupos. Se consideró rechazo agudo celular cuando la biopsia endomiocárdica evidenció hallazgos compatibles con rechazo celular de grado igual o mayor que 2 ó la presencia de rechazo humoral, de acuerdo con los criterios de la Sociedad Internacional de Trasplante Cardiaco y Pulmonar (ISHLT)<sup>19</sup>.

#### Ecocardiograma

Se realizó el ecocardiograma según las recomendaciones de la Sociedad Americana de Ecocardiografía<sup>20</sup> con el objetivo

de analizar los siguientes parámetros: diámetro de septo y pared en la diástole, diámetro sistólico y diastólico del ventrículo izquierdo, grado de insuficiencia valvular, presencia de derrame pericárdico y señales de disfunción diastólica (con observación del flujo transmitral y análisis del Doppler tisular en la región del anillo mitral). Se calculó la fracción de eyección por medio del método de Teichholz.

Se evaluó la función diastólica por medio del flujo transvalvular mitral, lo cual se obtuvo a través de Doppler pulsado en el plano apical de cuatro cámaras, para observación del estándar de velocidades de las ondas mitrales E (fase de llenado rápido) y A (contracción atrial). Se consideró normal una razón E/A mayor o igual a 1,0, mientras que se tomó como alteración de relajación ventricular una razón E/A menor que 1,0; por último, se tomó como estándar restrictivo una razón E/A mayor que 1,5.

Se evaluó el Doppler tisular –técnica que indica la velocidad de movimiento del miocardio– en la región del anillo mitral lateral en el plano apical de cuatro cámaras. Se consideró anormal la inversión del estándar normal de las ondas E' (onda diastólica precoz) y A' (onda diastólica tardía), o sea, con E' < A' o reducción de la velocidad de la onda E'. Cuando se observó alguna alteración en la morfología o en la amplitud de ondas, se realizó un estudio en las demás paredes de los ventrículos izquierdo y derecho.

#### Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo de los 33 pacientes, respecto a informaciones referentes a los datos demográficos, clínicos, de exámenes pre y postransplante.

Se resumieron las variables cuantitativas en las medidas de tendencia central y de dispersión (valores mínimo, máximo, mediana, promedio y desviación estándar). Se analizaron los datos cualitativos a través de tablas de frecuencias absolutas y relativas. Por fin, se elaboraron gráficos con la finalidad de ilustrar estos datos.

Para evaluarse las diferencias entre las concentraciones de BNP en los grupos con o sin rechazo se utilizó la prueba Mann-Whitney (no paramétrica). Además de ello, se calcularon la sensibilidad y especificidad por medio de la curva ROC para establecer como valor de corte (cut-off) el de mayor sensibilidad en la detección de los pacientes con rechazo agudo. Se adoptó como estándar de referencia el resultado de la biopsia.

Para evaluarse comparativamente el ecocardiograma y la dosificación de BNP (exámenes no invasivos) con el estándar de referencia en el diagnóstico de rechazo agudo –la biopsia endomiocárdica–, se calcularon los índices de sensibilidad y especificidad, y los valores predictivos positivo y negativo.

Se interpretaron los resultados por medio del nivel de significancia ( $\alpha$ ) de un 5%<sup>21,22</sup>.

#### Procedimientos éticos para realización de la investigación

Se realizó el trabajo de acuerdo con los criterios de seguimiento para los pacientes transplantados en el InCor del Hospital de Clínicas de FMUSP, sin acarrear ningún riesgo adicional a los pacientes involucrados en el estudio. El examen del BNP, como método de diagnóstico y experimentación, no

## Artículo Original

presentó contraindicaciones o efectos colaterales, y tampoco necesitó preparación especial del paciente. Las medidas de recolección del material y de protección a los pacientes fueron las mismas ya practicadas por la institución para pacientes inmunosuprimidos, de acuerdo con las normas de la comisión de control de infección hospitalaria.

### Resultados

Se seleccionaron a 33 niños con edad promedio de 11 años (4 a 19 años), con mediana de 10,13 años y desviación estándar de 4,55 años; predominio del sexo femenino (54,5%) y de raza blanca (84,8%). Datos antropométricos: peso de 12 a 78 kg, con mediana de 29,0 kg; estatura de 90 a 170 cm con mediana de 136,0 cm e índice de masa corporal (IMC) con mediana de 16,35 y desviación estándar de 3,78.

La indicación de trasplante cardiaco se debió al diagnóstico de cardiomiopatía dilatada en 22 (67%) pacientes y cardiomiopatía restrictiva en dos (6%); cardiopatía congénita en ocho (24%) y cardiopatía reumática en un paciente (3%).

Respecto a la distribución de los pacientes según el grupo sanguíneo, 15 (45,0%) pertenecían al Grupo O y 12 (36,0%) al Grupo A; tres (9,0%), al Grupo B y otros tres (9,0%) al Grupo AB.

El tiempo de evolución tras el trasplante en el momento de la dosificación de BNP presentó mediana de 4,25 años (seis meses a 13,6 años). La edad promedio en el momento del trasplante fue de 4,90 años (4 meses a 15 años).

Con relación a la inmunosupresión, los agentes que más se utilizaron fueron el inhibidor de calcineurina y el micofenolato mofetil (el 78,7% y el 66,6%, respectivamente), con menor proporción de pacientes en uso crónico de inhibidor de calcineurina, azatioprina y corticoide. El número de rechazos tuvo un promedio de 3, lo que significa un valor alrededor de 1,4 rechazos por paciente.

La biopsia endomiocárdica diagnosticó rechazo en nueve pacientes (27%): tres con grado 3A, cinco con grado 2 y un con

rechazo humoral sin señales de rechazo celular (Gráfico 1).

En cuanto a la sintomatología, la mayoría de los pacientes se mostraba asintomática en el momento del examen, con realización del cateterismo durante el procedimiento rutinario en 36 muestras (72%). La sospecha clínica de rechazo (alteración de humor, presencia de arritmia o alteración en el ecocardiograma) ocurrió en 10 pacientes (20%), mientras que se recolectaron cuatro muestras (8%) como grupo control tras el tratamiento de rechazo.

El nivel sérico de BNP, por su parte, mostró un promedio de 79,9 pg/ml: 144,2 pg/ml en el grupo con rechazo y 65,80 en el grupo sin rechazo, con  $p = 0,02$  (Gráfico 2). El análisis por curva ROC encontró 38 pg/ml como el valor de sensibilidad del 100% y especificidad del 56% para diagnóstico de rechazo cardiaco, con área de 0,74 y  $p 0,01$  sobre la curva (Gráfico 3).

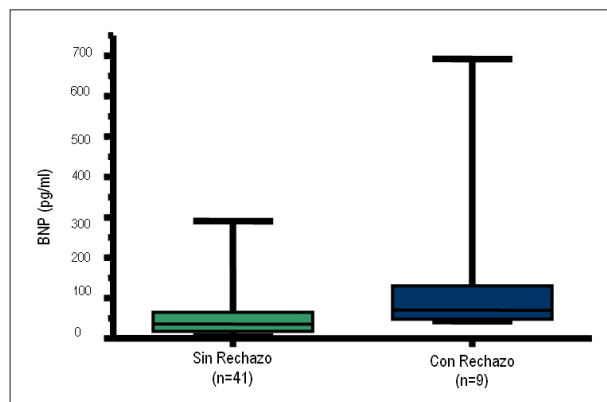


Gráfico 2 - Nivel sérico de BNP y presencia de rechazo.

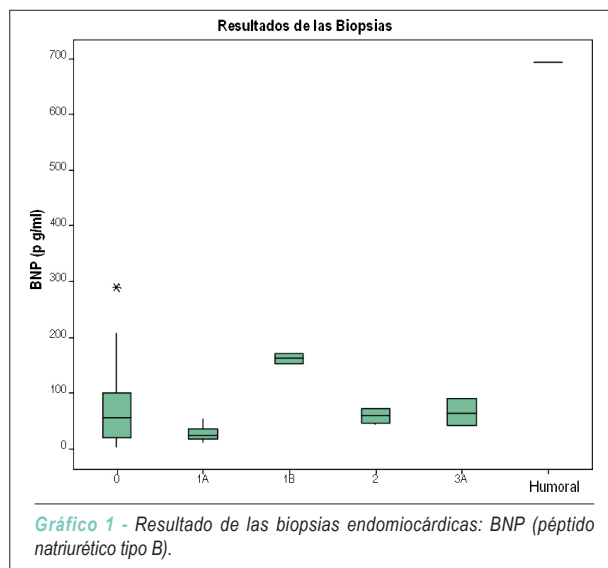


Gráfico 1 - Resultado de las biopsias endomiocárdicas: BNP (péptido natriurético tipo B).

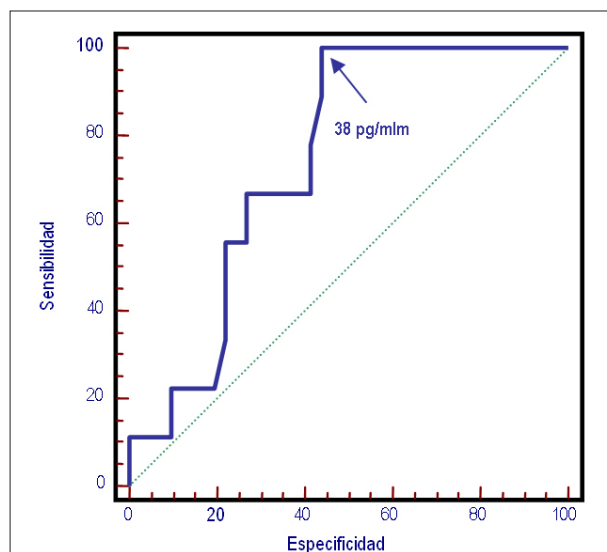


Gráfico 3 - Curva ROC - niveles de BNP para el diagnóstico de rechazo; Curva ROC para evaluar el nivel de BNP comparado a la biopsia endomiocárdica con rechazo mayor o igual que 2, según la Sociedad Internacional de Trasplante Pediátrico; Se destaca el valor ideal de corte.

### Ecocardiograma

El análisis ecocardiográfico (tab.1) encontró alteraciones en cuatro de las nueve muestras con rechazo (44%) y en cuatro de las 41 biopsias sin rechazo (10%), con valor predictivo positivo del 50% y valor predictivo negativo del 88%. La sensibilidad del método fue del 44%, mientras que la especificidad resultó el 90% (p 0,02).

Se verificaron las siguientes alteraciones en los pacientes con rechazo: disfunción sistólica moderada biventricular en paciente con rechazo humoral, disfunción sistólica discreta de ventrículo izquierdo en paciente con rechazo grado 2; y en dos pacientes con grado 3A se evidenciaron insuficiencia mitral moderada y alteraciones de función diastólica de tipo alteración de relajación, con inversión del estándar de las ondas E' y A' al Doppler tisular.

### Hemodinámica

Comparados los grupos con y sin rechazo (tab.2), no se observó diferencia con relación a la presión sistólica pulmonar, presión capilar pulmonar, gasto cardiaco, resistencia vascular pulmonar o sistémica.

En lo que toca a la presencia o ausencia de coronariopatía y alteraciones del BNP, se verificaron niveles mayores que 100 pg/ml en tres de los cuatro pacientes con esta enfermedad (p=0,01).

### BNP e insuficiencia renal

Se observó una elevación de los niveles de BNP no relacionado al rechazo en dos pacientes con alteración de la función renal, BNP= 208 pg/ml y 291 pg/ml, (p=0,02).

### Discusión

Ante a cuadros de rechazo importante en pacientes asintomáticos con posibilidad de muerte súbita, la búsqueda

por métodos no invasivos –con alta sensibilidad y especificidad, y que puedan también repetirse de forma rápida en corto período de tiempo– ha ocupado gran parte de la literatura mundial acerca del trasplante cardiaco.

Estudios demuestran que el BNP y el NT- proBNP se revelan marcadores fidedignos en trasplante e insuficiencia cardiaca, en la medida que orientan terapéutica y colaboran tanto con el diagnóstico como con el pronóstico<sup>23,24</sup>.

Una evaluación de la expresión génica de pacientes postrasplante en fase crónica –sin alteraciones hemodinámicas y libres de rechazo– correlaciona el incremento sérico de BNP con genes presentes en procesos inflamatorios iniciales, remodelación cardiaca, activación inmune y alteraciones vasculares<sup>25</sup>, lo que posibilita predecir de forma precoz el desarrollo de coronariopatía o rechazo.

Lan et al.<sup>26</sup>, al estudiar niños en postoperatorio de trasplante cardiaco, señalaron niveles elevados de BNP en el primer mes tras el trasplante, con descenso gradual tras ese período, y normalización de los valores (< 100 pg/ml) en 14 semanas.

El rechazo, como demuestra nuestro estudio, puede ocurrir en niños de forma asintomática en el postoperatorio de trasplante cardiaco. De sea manera, la evaluación de los niveles séricos de BNP puede ser un indicador precoz de ese rechazo, especialmente en sus formas más graves como el rechazo humoral<sup>27-31</sup>.

La practicidad de realización del examen –ya que se puede hacerlo en el consultorio con resultado inmediato– posibilita la repetición, ya sea en casos con sospecha clínica de rechazo, ya sea en las consultas ambulatorias de rutina. Se permite, así, postergarse la ejecución del cateterismo cardiaco, lo que reduce las tasas de morbilidad de esos niños.

El valor encontrado en este estudio como corte para diagnóstico de rechazo cardiaco agudo, evaluado por medio de curva ROC, con sensibilidad del 100%, fue de 38 pg/ml. Este dato puede ser un indicativo de que podemos tomar en cuenta valores menores y priorizar, de ese modo, la sensibilidad del método.

Tabla 1 – Análisis ecocardiográfico en el diagnóstico de rechazo

	Rechazo (n=9)	Sin rechazo (n=41)	p
DDVI (mm)	40,0 (4,0)	37 (5)	0,76
DSVI (mm)	25,0 (4,6)	23,0 (5,6)	0,20
Septo / pared (mm)	7,0/7,0	7,0/7,0	0,80
PSVD (insuficiencia tricúspide) (mmHg)	43 (7,2)	35 (7,6)	0,20
Derrame pericárdico	0	1	}
Insuficiencia valvular moderada / importante*	1	2	
E/A mitral <1	1	0	0,02
Alteración Doppler tisular	1	1	
Disfunción sistólica biventricular	1	0	

DDVI - diámetro diastólico de ventrículo izquierdo; DSVI - diámetro sistólico de ventrículo izquierdo; PSVD - presión sistólica del ventrículo derecho; \* Alteraciones con relación a examen anterior.

Tabla 2 – Evaluación hemodinámica

	Con rechazo (n=9)	Sin rechazo (n=41)	p
GC (l/min)	2,60 (0,35)	3,35 (0,98)	0,07
PSAP (mmHg)	22,0 (6,24)	22,0 (5,20)	0,87
PDAP (mmHg)	10,0 (4,42)	10,0 (4,42)	0,81
PCP (mmHg)	9,0 (1,83)	10,0 (3,41)	0,33
RVP (Woods)	1,30 (0,60)	1,40 (3,02)	0,94
RVS (Woods)	17,45 (6,29)	17,20 (5,05)	0,77
PAS (mmHg)	80,0 (12,04)	90,0 (19,15)	0,37
AD (mmHg)	6,0 (1,30)	7,0 (2,57)	0,85

GC - gasto cardiaco; PSAP - presión sistólica de la arteria pulmonar; PDAP - presión diastólica de la arteria pulmonar; PCP - presión capilar pulmonar; RVP - resistencia vascular pulmonar; RVS - resistencia vascular sistémica; PAS - presión arterial sistólica; AD - presión de atrio derecho.

A pesar de la baja sensibilidad para el diagnóstico de rechazo cardíaco, el ecocardiograma es un examen de fácil ejecución y a la vez de alta especificidad. Nuestros hallazgos se muestran consistentes, entonces, con los que relatan Akioka et al.<sup>32</sup>. Se debe utilizar dicho examen de forma comparativa, con acceso a todos los recursos actuales disponibles, incluso el análisis por medio del Doppler tisular. Más estudios se muestran necesarios, con la finalidad de aumentar la sensibilidad del método.

La evaluación de medidas hemodinámicas, excepto por la reducción del gasto cardíaco, no presentó en este estudio correlación con los resultados de biopsia, datos éstos concordantes con descripciones que se disponen en la literatura<sup>33-35</sup>. La correlación entre aumento de BNP y presencia de coronariopatía resultó significativa en esa muestra, hecho que evidencia la importancia del método también como triaje de enfermedad vascular del injerto.

### Limitaciones del estudio

El número limitado de pacientes y, consecuentemente, el pequeño grupo con rechazo, dificultó el análisis de subgrupos.

### Implicaciones clínicas

El BNP se reveló un examen auxiliar importante en el diagnóstico de rechazo cardíaco, especialmente en los casos más graves, como rechazo humoral.

Consiste en examen de fácil ejecución, poco invasivo y de resultado inmediato, que puede repetirse de forma seriada,

con el objetivo de postergar la realización de la biopsia endomiocárdica.

La correlación con coronariopatía también demuestra la importancia del método en el seguimiento de largo plazo de niños en postoperatorio tardío de transplante cardíaco, si se toma en cuenta que se trata de una importante causa de mortalidad tras cinco años de transplante, que muchas veces se manifiesta con muerte súbita en pacientes ambulatorios.

### Conclusión

El rechazo agudo puede ocurrir de forma asintomática en niños en el postoperatorio tardío de transplante cardíaco y la dosificación del nivel sérico de BNP, realizada de forma seriada, puede auxiliar en el diagnóstico de dicho rechazo.

### Potencial Conflicto de Intereses

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

### Fuentes de Financiación

El presente estudio fue parcialmente financiado por FAPESP.

### Vinculación Académica

Este artículo forma parte de tesis de Doctorado de Cristina de Sylos, por la Facultad de Medicina de la Universidad de São Paulo.

## Referencias

1. Azeka E, Barbero-Marcial M, Jatene M, Auler JO, Ramires JA. Eight years experience of pediatric heart transplantation: clinical outcome using non-invasive methods for the evaluation of acute rejection. *Pediatr Transplant*. 2002; 6 (3): 208-13.
2. Azeka E, Ramires JA, Valler C, Bocchi E. Delisting of infants and children from the heart transplantation waiting list after carvedilol treatment. *J Am Coll Cardiol*. 2002; 40 (11): 2034-8.
3. Boucek MM, Aurora P, Edwards LB, Taylor DO, Trulock EP, Christie J, et al. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: tenth official pediatric heart transplantation report – 2007. *J Heart Lung Transplant*. 2007; 26 (8): 796-807.
4. Azeka E, Barbero Marcial M, Soares J, Camargo PR, Jatene M, Auler JO, et al. The importance of noninvasive methods on the evaluation of acute rejection in pediatric transplantation: Gallium 67 scintigraphy as an option. In: 2nd World Congress Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery, Honolulu, 1998. Proceedings. Honolulu; 1998. p. 133-6.
5. Azeka E. Transplante cardíaco em crianças – análise clínica evolutiva. [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 1998.
6. Zales VR, Crawford S, Backer CL, Pahl E, Webb CL, Lynch P, et al. Role of endomyocardial biopsy in rejection surveillance after heart transplantation in neonates and children. *J Am Coll Cardiol*. 1999; 23 (3): 766-71.
7. Wagner K, Oliver MC, Boyle GJ, Miller SA, Law YM, Pigula F, et al. Endomyocardial biopsy in pediatric heart transplant recipients; a useful exercise? (Analysis of 1169 biopsies). *Pediatr Transplant*. 2000; 4 (3): 186-92.
8. Siaplaouras J, Thul J, Kramer U, Bauer J, Schranz D. Cardiac troponin I: a marker of acute heart rejection in infant and child heart recipients. *Pediatr Transplant*. 2003; 7 (1): 43-5.
9. Arnau-Vives MA, Almenar L, Hervas I, Osa A, Martinez-Dolz L, Rueda J, et al. Predictive value of brain natriuretic peptide in the diagnosis of heart transplant rejection. *J Heart Lung Transplant*. 2004; 23 (7): 850-6.
10. Park MH, Uber PA, Scott RL, Mehra MR. B-type natriuretic peptide in heart transplantation: an important marker of allograft performance. *Heart Fail Rev*. 2003; 8 (4): 359-63.
11. Abramson LP, Pahl E, Huang L, Stellmach V, Rodgers S, Mavroudis C, et al. Serum vascular endothelial growth factor as a surveillance marker for cellular rejection in pediatric cardiac transplantation. *Transplantation*. 2002; 73 (1): 153-6.
12. Troughton RW, Prior DL, Pereira JJ, Martin M, Fogarty A, Morehead A, et al. Plasma brain natriuretic peptide levels in systolic heart failure: importance of left ventricular diastolic function and right ventricular systolic function. *J Am Coll Cardiol*. 2004; 43 (3): 416-22.
13. Bibbins-Domingo K, Ansari M, Schiller NB, Massie B, Whooley MA. B-natriuretic peptide and ischemia in patients with stable coronary disease. *Circulation*. 2003; 108 (24): 2987-92.
14. Mayer SA, De Lemos JA, Murphy SA, Brooks S, Robert BJ, Grayburn PA. Comparison of B-natriuretic peptide levels in patients with heart failure versus

- without mitral regurgitation. *Am J Cardiol.* 2004; 15 (8): 1002-6.
15. Kruger S, Graf J, Kumz D, Stickel T, Hanrath P, Jansens U. Brain natriuretic peptide levels predict functional capacity in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2002; 21 (4): 718-22.
  16. Tang WH, Girod JP, Lee MJ, Starling RC, Ypung JB, Van Lente F, et al. Plasma brain natriuretic peptide levels in ambulatory patients with established chronic symptomatic systolic heart failure. *Circulation.* 2003; 208 (24): 2964-6.
  17. Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin E, Leip EP, Omland T, et al. Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death. *N Engl J Med.* 2004; 350 (7): 655-63.
  18. Groenning B, Raymond I, Hildebrandt PR, Nilsson JC, Baumann M, Pedersen F. Diagnostic and prognostic evaluation of left ventricular systolic heart failure by Plasma N terminal pro-Brain natriuretic peptide concentration in a large sample of general population. *Heart.* 2004; 90 (3): 297-303.
  19. 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: 587-93.
  20. Schiller NB, Shaw PK, Crawford M, De Maria A, Devereux R, Feigenbaum H. 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: 358-67.
  21. Bickel PJ, Doksum KA. *Mathematical statistics: basic ideas and select topics.* San Francisco: Holden Day; 1997. p. 153-91.
  22. Costa Neto PLO. *Estatística.* São Paulo: Ed Edgard Blucher; 1977. p. 78.
  23. Shou M, Gustafsson F, Nielsem PH, Madsen LH, Kjaer A, Hildebrandt R. Unexplained week-to-week variation in BNP and NT-proBNP is low in chronic heart failure during steady state. *Eur J Heart Fail.* 2007; 9: 68-74.
  24. Shaw S, Williams SG. Is brain natriuretic peptide clinically useful after cardiac transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2005; 12: 1396-401.
  25. Mehra MR, Uber WE, Walther D, Vesely M, Wohlgemuth JG, Prentice J, et al. Gene expression profiles and B-type natriuretic peptide elevation in heart transplantation: more than a hemodynamic marker. *Circulation.* 2006; 4: 21-6.
  26. Lan YT, Chang RK, Alejos JC, Burch C, Wetzel GT. B-type natriuretic peptide in children after cardiac transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2004; 23 (5): 558-63.
  27. Hervas I, Almenar L, Perez-Pastor JL, Chirivella M, Osa A, Martinez-Doltz P, et al. Radioimmunoassay of B-type natriuretic peptide (BNP) in heart transplantation: correlation between BNP determination and biopsy grading of rejection. *Nucl Med Commun.* 2003; 24 (8): 925-31.
  28. Ationu A, Sorensen K, Whitehead B, Singer D, Burch M, Carter ND. Ventricular expression of brain natriuretic peptide gene following orthotopic cardiac transplantation in children – a three year follow up. *Cardiovasc Res.* 1993; 27 (12): 2135-9.
  29. Ilene Claudius MD, Yueh-Tze Lan MD, Chang RK, Wetzel GT, Alejos J. Usefulness of B-type natriuretic peptide as a noninvasive screening tool for cardiac allograft pathology in pediatric heart transplant recipients. *Am J Cardiol.* 2003; 92 (11): 1368-70.
  30. O'Neill JO, Mcrae AT, Troughton RW, Kenneth NG, Taylor DO, Yamani MH, et al. Brain natriuretic peptide levels do not correlate with acute cellular rejection in de novo orthotopic heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant.* 2005; 24 (4): 416-20.
  31. Hammerer-Lercher A, Mair J, Antretter H, Ruttman E, Poeltzl G, Laufer G, et al. B-type natriuretic peptide as a marker of allograft rejection after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2005; 24 (9): 1444-7.
  32. Akioka K, Takeuchi K, Yanagi S, Hirota K, Sakamoto K, Yoshimura T, et al. Prognostic value of Doppler transmitral flow patterns and cardiac natriuretic peptides in patients with chronic congestive heart failure admitted for episodes of acute decompensation. *Heart Vessels.* 2000; 15 (2): 53-60.
  33. Mehra MR, Uber WE, Park MH, Scott RL. Anything but a biopsy: monitoring for cardiac allograft rejection. *Curr Opin Cardiol.* 2002; 17: 131-6.
  34. Wagner K, Oliver MC, Boyle GJ, Miller SA, Law YM, Pigula F, et al. Endomyocardial biopsy in pediatric heart transplantation: a useful exercise (analysis of 1169 biopsies). *Pediatric Transplant.* 2000; 4: 186-92.
  35. Stehlik J, Starling RC, Movsesian MA, Fang JC, Brown RN, Hess MI, et al. Utility of long term surveillance endomyocardial biopsy: a multi-institutional analysis. *J Heart Lung Transplant.* 2006; 25: 1402-9.