

Valor Prognóstico da Fração de Volume de Colágeno na Cardiomiopatia Hipertrófica

Prognostic Value of the Collagen Volume Fraction in Hypertrophic Cardiomyopathy

Edmundo Arteaga, Aloir Queiroz de Araújo, Mauricio Bernstein, Felix J. A. Ramires, Barbara Maria Ianni, Fabio Fernandes, Charles Mady

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

Resumo

Fundamento: Na cardiomiopatia hipertrófica (CMH), a fibrose miocárdica intersticial é uma importante alteração histológica que tem sido associada com morte súbita e evolução para dilatação.

Objetivo: Avaliar, prospectivamente, o valor prognóstico da fração de colágeno na CMH.

Métodos: Biópsia endomiocárdica do ventrículo direito foi realizada com sucesso em 21 pacientes sintomáticos com CMH. A fração de volume de colágeno (FVC) miocárdico foi determinada por histologia. A FVC também foi determinada em fragmentos de nove corações normais de indivíduos falecidos por causas não-cardíacas. Os pacientes foram divididos em grupos supra e infra-medianos em relação à FVC, sendo comparadas as características clínico-ecocardiográficas e as curvas de sobrevida.

Resultados: Entre os pacientes, a FVC variou de 1,86% a 29,9%, mediana 6,19%; nos corações normais, de 0,13% a 1,46%, mediana 0,36% ($p < 0,0001$ entre CMH e controle). Não foram observadas correlações significativas entre FVC e medidas ecocardiográficas basais. Pacientes com $FVC \leq 6,19\%$ e $FVC > 6,19\%$ foram comparados e não foram observadas diferenças basais. Entretanto, após um período de seguimento médio de 110 meses, quatro mortes ocorreram (duas súbitas, duas por insuficiência cardíaca) no grupo com FVC maior, enquanto os pacientes do grupo com FVC menor estavam vivos ao final do período ($p = 0,02$).

Conclusão: Pela primeira vez, a fibrose miocárdica foi prospectivamente associada a um pior prognóstico em pacientes com CMH. Esforços devem ser direcionados para quantificação da fibrose miocárdica na CMH, assumindo que a associação com o prognóstico pode auxiliar na estratificação de risco para implante de desfibrilador e na prescrição de fármacos potencialmente reparadores miocárdicos. (Arq Bras Cardiol 2009;92(3): 222-226)

Palavras-chave: Cardiomiopatia hipertrófica, biópsia, colágeno.

Summary

Background: In hypertrophic cardiomyopathy (HCM), interstitial myocardial fibrosis is an important histological modification that has been associated with sudden death and evolution toward myocardial dilation.

Objective: To prospectively evaluate the prognostic value of the collagen volume fraction in HCM.

Methods: An endomyocardial biopsy of the right ventricle was successfully performed in 21 symptomatic patients with HCM. The myocardial collagen volume fraction (CVF) was determined by histology. The CVF was also determined in fragments of nine normal hearts from subjects deceased from non-cardiac causes. The patients were divided into above-median CVF and below-median CVF groups, and their clinical and echocardiographic characteristics and survival curves were compared.

Results: Among the patients, the CVF ranged from 1.86% to 29.9%, median 6.19%; in normal hearts, from 0.13% to 1.46%, median 0.61% ($p < 0.0001$ between HCM and control). There were no significant correlations between CVF and baseline echocardiographic measures. Patients with $CVF \leq 6.19\%$ and $CVF > 6.19\%$ were compared and no baseline differences were observed. However, after an average follow-up period of 110 months, four deaths occurred (two sudden, two due to heart failure) in the group with increased CVF, whereas the patients of the group with lower CVF were all alive at the end of the period ($p = 0.02$).

Conclusion: For the first time, myocardial fibrosis was prospectively associated with a worse prognosis in patients with HCM. Efforts should be directed to the quantification of myocardial fibrosis in HCM, on the premise that its association with the prognosis can aid in the stratification of risk for defibrillator implantation, and in the prescription of drugs that potentially promote myocardial repair. (Arq Bras Cardiol 2009;92(3): 210-214)

Key words: Cardiomyopathy, hypertrophic, biopsy, collagen.

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

Correspondência: Edmundo Arteaga Fernández •

Rua Arruda Alvim 49/111, Pinheiros - 05410-020 - São Paulo, SP - Brasil

E-mail: edmundo.artea@incor.usp.br, earteaga@cardiol.br

Artigo recebido em 19/06/08; revisado recebido em 22/07/08; aceito em 04/08/08.

Introdução

Na cardiomiopatia hipertrófica (CMH), a fibrose intersticial é uma importante alteração histológica¹⁻³. Estudos prévios têm demonstrado o papel da fibrose miocárdica na disfunção diastólica do ventrículo esquerdo (VE)⁴, assim como sua potencial associação com a evolução para a forma dilatada e com a morte súbita⁵. Entretanto, não há estudo disponível que tenha avaliado essa potencial associação de forma prospectiva.

A biópsia endomiocárdica ventricular direita é um método de baixo risco por meio do qual podem ser obtidas amostras do septo interventricular adequadas para estudo histológico^{6,7}. O presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar se a extensão da fibrose miocárdica pode ser preditiva de morte em pacientes com CMH.

Métodos

População

Os pacientes foram recrutados no ambulatório da Unidade Clínica de Miocardiopatias do Instituto do Coração (InCor) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. O diagnóstico de CMH foi previamente estabelecido com base no quadro clínico e na demonstração ecocardiográfica de hipertrofia do VE (espessura de qualquer segmento ≥ 15 mm) sem dilatação da cavidade e na ausência de qualquer outra condição cardíaca ou sistêmica que pudesse ser causadora da hipertrofia⁵. Os pacientes incluídos deveriam ter menos de 60 anos de idade. Critérios de exclusão: cirurgia (miectomia septal) prévia, marcapasso, doença coronariana comprovada ou com razoável suspeita, e co-morbidades (diabete, doença pulmonar crônica, insuficiência renal crônica). Com o propósito de formar um grupo controle, foram obtidas amostras, por incisão na face ventricular direita do septo interventricular, de corações macroscopicamente normais, de nove pessoas que faleceram por causas não-cardíacas.

O protocolo do estudo foi submetido às comissões científica e de ética da Instituição, e todos os pacientes incluídos assinaram o termo de consentimento esclarecido.

Histologia

As biópsias foram realizadas por cirurgões com acumulada experiência no método, e foram conduzidas de acordo com a técnica descrita por Mason⁷. Resumidamente, um biótomo de Caves-Schultz foi introduzido através de punção da veia jugular interna direita, permitindo a obtenção de quatro amostras endomiocárdicas em pontos distintos da face direita do septo interventricular. Após fixação em formaldeído a 10%, as amostras dos pacientes e do grupo controle foram preparadas em parafina, seccionadas em cortes com espessura de 5 μ m, e coradas com o corante colágeno-específico *Sirius red* F3BA (*picrosirius red*). O médico responsável pela análise das lâminas não foi informado sobre os pacientes e o objetivo da pesquisa. O índice escolhido para quantificação do colágeno intersticial foi a fração de volume de colágeno (FVC)⁸. Resumidamente, através da microscopia óptica, a FVC foi verificada com o auxílio da ferramenta *Quantimet*

520 Image Analyses (Leica, Inc. Deerfield, IL, EUA). Excluindo colágeno endocárdico e perivascular, a FVC intersticial foi calculada como a área ocupada pelo tecido corado em vermelho, dividida pela área total do miocárdio sob visão. Assim, quanto maior a FVC, mais intenso pode ser considerado o grau de fibrose intersticial. Para cada paciente e controle, 15 campos microscópicos foram examinados, e a FVC média foi então computada para atender aos objetivos do estudo. Um observador independente foi acionado para avaliar algumas amostras randômicas, obtendo-se uma concordância inter-observador ao redor de 90%.

Características clínicas e ecocardiográficas

Dados demográficos, história familiar, sintomas, exame físico, eletrocardiograma e medicação em uso foram registrados à época da realização das biópsias. Ao ecocardiograma, obtiveram-se as seguintes variáveis unidimensionais: diâmetro atrial esquerdo, diâmetro diastólico interno do VE, espessura do septo e da parede posterior do VE e a fração de encurtamento sistólico do VE. O gradiente sistólico máximo foi medido com a utilização do Doppler contínuo ao longo da via de saída.

Seguimento

Os eventos maiores monitorados durante o período do estudo foram: morte por qualquer causa, morte por causa cardíaca, acidente vascular cerebral fatal e não-fatal e parada cardíaca recuperada. As informações foram recebidas, ao longo do período, por meio dos prontuários do InCor, por contato direto com os pacientes e familiares, ou por contato com o médico que referenciou o paciente.

Análise estatística

Variáveis expressas como médias ou medianas, de acordo com o tipo de distribuição (teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov). Os grupos foram comparados pelo teste *t* ou pelo teste de Mann-Whitney. Correlações foram verificadas usando-se o coeficiente de Spearman. As curvas de sobrevida livre de maiores eventos dos grupos com FVC supra e infra-mediana foram comparadas pelo método Kaplan-Meyer. A significância estatística foi assumida se $p < 0,05$.

Resultados

Entre abril de 1995 e março de 1996, 24 pacientes com CMH que preencheram os critérios de inclusão, e que concordaram em participar do estudo, foram submetidos a biópsia endomiocárdica, e todos os procedimentos ocorreram sem complicações. Três pacientes foram excluídos porque as amostras não foram consideradas adequadas para análise histológica. As características dos pacientes estudados, assim como as suas respectivas FVC são mostradas na tabela 1. A idade média foi de 37,7 anos (16 a 59), com uma predominância de 67% do sexo feminino.

FVC

Nos pacientes com CMH, a FVC esteve distribuída de

Tabela 1 – Características demográficas, variáveis ecocardiográficas e FVC dos pacientes

Paciente	Idade	Sexo	Seguimento (meses)	AE (mm)	DDVE (mm)	SIV (mm)	FEVE (%)	Gradiente (mmHg)	FVC (%)
1	56	F	134	34	40	19	37	103	4,19
2	47	M	128	50	47	17	38	16	3,88
3	31	M	16 †	52	60	15	25	5	24,70
4	31	F	131	63	42	26	40	20	6,19
5	40	F	126	42	41	19	38	41	11,75
6	50	M	128	44	45	28	40	81	6,35
7	45	F	127	43	46	19	38	5	6,66
8	24	F	129	47	50	19	42	114	5,58
9	42	M	129	43	43	27	40	27	3,05
10	32	F	127	52	38	27	42	68	19,18
11	25	F	136	47	41	23	36	55	1,86
12	43	M	129	55	45	24	40	92	5,70
13	30	F	69 ††	66	55	17	35	5	11,57
14	59	F	128	48	41	20	36	67	6,54
15	38	F	45 ††	56	43	19	41	56	29,97
16	44	F	28 †	45	40	17	34	91	6,90
17	16	M	130	50	42	20	43	103	4,52
18	17	M	132	43	39	22	35	50	8,63
19	41	M	130	44	44	13	41	49	3,10
20	23	F	138	36	40	16	36	9	5,34
21	58	M	130	46	40	15	38	10	2,95

Pacientes enumerados de acordo com a entrada no estudo; AE - diâmetro do átrio esquerdo; DDVE - diâmetro diastólico interno do VE; SIV - espessura diastólica do septo interventricular; FEVE - fração de encurtamento sistólico do VE; FVC - fração de volume de colágeno; † - morte por insuficiência cardíaca; †† - morte súbita.

forma assimétrica (valor mediano 6,19%, mínimo 1,86%, máximo 29,9%), enquanto a distribuição foi normal no grupo controle (mediana 0,36%, mínimo 0,13%, máximo 1,46%); $p < 0,0001$ (fig.1). Importante observar que o valor máximo da FVC encontrado no grupo controle foi menor que o valor mínimo da FVC encontrado nos pacientes. Na fig.2 estão exemplificadas imagens histológicas de um coração normal, e de pacientes com FVC baixa e elevada.

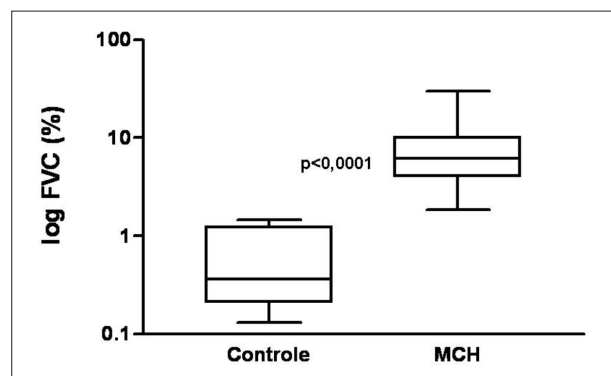


Fig. 1 - Distribuição da FVC nos corações-controle e nos pacientes com CMH. Os gráficos mostram as medianas (barras horizontais), os percentis 25 e 75 (limites inferiores e superiores das caixas), e os valores absolutos inferiores e superiores (barras de erro).

Análise univariada

Entre os pacientes, não houve correlação da FVC com a idade, assim como não foram estabelecidas correlações significantes das variáveis ecocardiográficas (uma fraca correlação foi detectada com o diâmetro atrial esquerdo: $r = 0,31$, $p = 0,08$).

Comparações

Dois grupos de pacientes foram comparados: 11 pacientes com $FVC \leq 6,19\%$ (infra-mediano) e 10 pacientes com $FVC > 6,19\%$ (supra-mediano). Entre esses grupos não existiram diferenças médias basais em idade, classe funcional, diâmetro atrial esquerdo, diâmetro e encurtamento sistólico do VE, assim como na espessura parietal e no gradiente obstrutivo (tab.2).

Seguimento

Um período médio de 111,6 meses decorreu entre as biópsias e dezembro de 2006, por ocasião da última verificação do estado vital de todos os 21 participantes. Quatro mortes foram registradas, duas súbitas e duas por insuficiência cardíaca. Os quatro óbitos ocorreram aos 16, 28, 45 e 69 meses após a realização das biópsias. Os pacientes que faleceram subitamente eram relativamente jovens, não apresentavam hipertrofia maciça, não relatavam

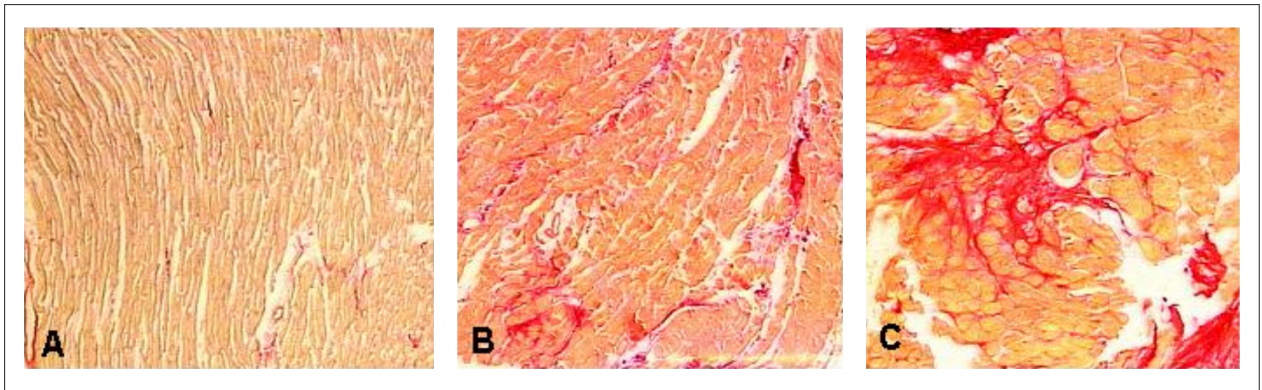


Fig. 2 - Microfotografia (10x) de fragmentos miocárdicos; O colágeno é corado em vermelho; A - amostra controle; B - paciente com FVC baixa; C - paciente com grande quantidade de colágeno intersticial.

Tabela 2 – Comparações entre os pacientes com FVC infra-mediana e supra-mediana

	FVC ≤ 6,19% n=11	FVC > 6,19% n=10	p
Idade (média, variação)	36,9 (16 a 58)	38,6 (17 a 59)	NS
Sexo masculino (%)	52%	40%	NS
AE (mm)	46,8±8	49,1±7	NS
DDVE (mm)	43,1±3	44,8±5	NS
SIV (mm)	19,9±4	20,3±4	NS
FEVE (%)	39,2±3	37,1±5	NS
Gradiente (mmHg)	54±41	49±36	NS

AE - diâmetro atrial esquerdo; DDVE - diâmetro diastólico do VE; SIV - espessura do septo interventricular; FEVE - fração de encurtamento sistólico do VE; NS - não-significante.

síncope e não tinham taquicardia ventricular documentada; em um deles, havia história familiar de morte súbita. Os 17 sobreviventes foram pessoalmente contatados no final do período acima referido e não relataram eventos graves, incluindo acidente vascular cerebral. Na fig.3 estão as curvas de sobrevida dos dois grupos.

Discussão

No presente estudo, a quantidade de colágeno miocárdico esteve associada a um pior prognóstico em pacientes selecionados com CMH. Além disso, uma diferença evidente foi demonstrada entre a FVC de corações normais e de corações com CMH, reforçando a validade do método histológico utilizado. É também relevante enfatizar que os dados clínicos e ecocardiográficos basais não foram capazes de prever a quantidade de colágeno miocárdico intersticial. Todos os pacientes com uma FVC baixa (aqui definidos como valores infra-medianos) estavam vivos ao final do período estudado, livres de eventos potencialmente letais, enquanto 40% dos pacientes com uma FVC elevada (supra-mediana) morreram por causas cardíacas.

Alguns estudos têm associado fibrose miocárdica com severidade patológica na CMH^{9,10}. Com o aumento da fibrose, a função diastólica do VE piora e a insuficiência cardíaca tende a avançar para o estágio dilatado com disfunção sistólica, o que é particularmente grave na CMH. Além disso, o risco de morte súbita pode aumentar porque as cicatrizes fibróticas são potencialmente arritmogênicas. Não se sabe que fatores contribuem decisivamente acelerando o depósito de colágeno entre as fibras miocárdicas hipertrofiadas de pacientes com CMH^{11,12}. As diferentes mutações causais devem exercer um

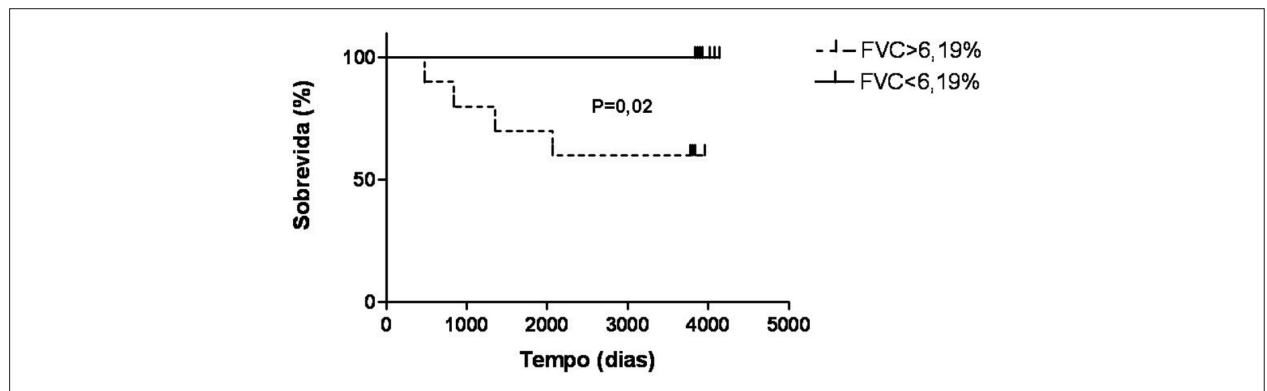


Fig. 3 - Curvas de sobrevida dos pacientes com CMH, separados por FVC abaixo e acima do valor mediano de 6,19%.

papel importante, assim como outros polimorfismos genéticos e fatores ambientais¹³.

O presente estudo é o primeiro a prospectar uma conexão entre a quantidade de colágeno miocárdico e o prognóstico na CMH. A amostra populacional não permitiu uma análise multivariada com poder suficiente para estabelecer formalmente a pretendida conexão, embora o longo período de seguimento tenha sido um fator de reforço para os achados aqui reportados. Como a biópsia endomiocárdica atualmente não é recomendada para pacientes com CMH¹⁴, acreditamos que os nossos achados não tenham força suficiente para levar a uma revisão dessa diretriz internacional. Em compensação, uma nova fase de avaliação está em franco desenvolvimento por meio da ressonância nuclear magnética, a qual tem permitido a identificação e a semi-quantificação da fibrose miocárdica na CMH^{15,16}. Algumas publicações recentes já estão demonstrando que a fibrose detectada pelo realce tardio com gadolínio tem sido associada com arritmias e severidade da doença^{17,18}. Estudos retrospectivos e prospectivos devem ser conduzidos com o intuito de determinar imagens e

padrões de distribuição de fibrose que possam identificar os pacientes portadores de CMH que tenham um risco aumentado de morte, súbita ou congestiva, o que melhoraria a seleção para implante de desfibriladores, assim como para dar suporte e monitoramento para terapêuticas reparadoras miocárdicas^{19,20}.

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

Este artigo é parte de tese de Doutorado de Mauricio Bernstein pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Referências

1. Factor SM, Butany J, Sole MJ, Wigle ED, Williams WC, Rojkind M. Pathologic fibrosis and matrix connective tissue in the subaortic myocardium of patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 1991; 17: 1343-51.
2. Tanaka M, Fujiwara H, Onodera T, Wu NJ, Hamashima Y, Kawai C. Quantitative analysis of myocardial fibrosis in normal, hypertensive hearts, and hypertrophic cardiomyopathy. *Br Heart J.* 1986; 55: 578-81.
3. Varnava AM, Elliot PM, Sharma S, McKenna WJ, Davies MJ. Hypertrophic cardiomyopathy: the interrelation of disarray, fibrosis, and small vessel disease. *Heart.* 2000; 84: 476-82.
4. Maron BJ. Hypertrophic cardiomyopathy: a systematic review. *JAMA.* 2002; 287: 1308-20.
5. Shirani J, Pick R, Roberts WC, Maron BJ. Morphology and significance of the left ventricular collagen network in young patients with hypertrophic cardiomyopathy and sudden death. *J Am Coll Cardiol.* 2000; 35: 36-44.
6. Pereira-Barretto AC, Costa R, Higuchi ML, Moreira LFP, Mady C, Stolf N, et al. Endomyocardial biopsy of the right ventricle - 9 years (1978-1987). *Arq Bras Cardiol.* 1987; 49: 147-9.
7. Mason JW. Techniques for right and left ventricular endomyocardial biopsy. *Am J Cardiol.* 1978; 41: 887-92.
8. Pickering JG, Boughnerr DR. Cardiac allograft ischemic time: assessment using polarized and digital analysis. *Circulation.* 1990; 82: 949-58.
9. Unverferth DV, Baker PB, Pearce LI, Lautman J, Roberts WC. Regional myocyte hypertrophy and increased interstitial myocardial fibrosis in hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol.* 1987; 59: 932-6.
10. Varnava AM, Elliot PM, Baboonian C, Davison F, Davies MJ, McKenna WJ. Hypertrophic cardiomyopathy: histopathological features of sudden death in cardiac troponin T disease. *Circulation.* 2001; 104: 1380-4.
11. Lombardi R, Betocchi S, Losi MA, Tocchetti CG, Aversa M, Miranda M, et al. Myocardial collagen turnover in hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation.* 2003; 108: 1455-60.
12. Kitamura M, Shimizu M, Ino H, Okeie K, Yamaguchi M, Funjno N, et al. Collagen remodeling and cardiac dysfunction in patients with hypertrophic cardiomyopathy: the significance of type III and VI collagens. *Clin Cardiol.* 2001; 24: 325-9.
13. Marian AJ. Pathogenesis of diverse clinical and pathological phenotypes in hypertrophic cardiomyopathy. *Lancet.* 2000; 355: 58-60.
14. Cooper LT, Baughman KL, Feldman AM, Frustaci A, Jessup M, Kuhl U, et al. American Heart Association; American College of Cardiology; European Society of Cardiology; Heart Failure Society of America; Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. The role of endomyocardial biopsy in the management of cardiovascular disease: a scientific statement. *J Am Coll Cardiol.* 2007; 50: 1914-31.
15. Moon JC, Reed E, Sheppard MN, Elkington AG, Ho SY, Burke M, et al. The histologic basis of late gadolinium enhancement cardiovascular magnetic resonance in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2004; 43: 2260-4.
16. Shiozaki AA, Kim RJ, Parga JR, Tassi EM, Arteaga E, Rochitte CE. Cardiovascular magnetic resonance in hypertrophic cardiomyopathy. *Arq Bras Cardiol.* 2007; 88: 243-8.
17. Payá E, Marín F, González J, Gimeno JR, Feliu E, Romero A, et al. Variables associated with contrast-enhanced cardiovascular magnetic resonance in hypertrophic cardiomyopathy: clinical implications. *J Card Fail.* 2008; 14: 414-9.
18. Adabag AS, Maron BJ, Appelbaum E, Harrigan CJ, Buros JL, Gibson CM, et al. Occurrence and frequency of arrhythmias in hypertrophic cardiomyopathy in relation to delayed enhancement on cardiovascular magnetic resonance. *J Am Coll Cardiol.* 2008; 51: 1369-74.
19. Lim DS, Lutucuta S, Bachireddy P, Youker K, Evans A, Entman M, et al. Angiotensin II blockade reverses myocardial fibrosis in a transgenic mouse model of human hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation.* 2001; 103: 789-91.
20. Araujo AQ, Arteaga E, Ianni BM, Buck PC, Rabello R, Mady C. Effect of Losartan on left ventricular diastolic function in patients with nonobstructive hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol.* 2005; 96: 1563-7.