

TIPOS DE COLÁGENO NAS ÁREAS DE FIBROSE DA CARDIOPATIA CHAGÁSICA CRÔNICA COM LESÃO VORTICILAR ESQUERDA E INSUFICIÊNCIA CARDÍACA

Pedro Raso e Nivaldo Hartung Toppa

Foi feita a identificação dos tipos de colágeno em cortes histológicos de fragmentos de 15 corações de indivíduos portadores de doença de Chagas crônica com lesão vorticilar esquerda e ICC. As preparações coradas pelo Sirius Supra Red F3BA, preconizada por Junqueira e cols e examinadas em microscópio de polarização (Leitz) revelaram colágeno de tipo I e III nas zonas de fibrose. As primeiras preponderaram nos dois terços externos da região vorticilar, nas áreas de fibrose endomisial e perimisial do miocárdio sem ou com escasso infiltrado inflamatório e na região subendocárdica dos músculos papilares. O tipo III foi mais freqüente no terço interno da região vorticilar, no endocárdio da parede ventricular, em certas áreas do miocárdio onde a inflamação ainda estava em atividade e nas porções mais centrais dos músculos papilares. Os AA fazem um breve comentário sobre o possível mecanismo patogênico da fibrose na doença de Chagas.

Palavras chaves: Doença de Chagas. Doença de Chagas com lesão vorticilar. Tipos de colágeno. Picro-sírius polarização.

Na cardiopatia chagásica crônica com insuficiência cardíaca congestiva (ICC) são constantes o infiltrado inflamatório, a fibrose, os fenômenos degenerativos das células musculares cardíacas, as lesões dos gânglios do SNA e do sistema de condução. É freqüente, também (45%^{1,2} e 65%^{1,3} dos casos), na ponta, uma lesão peculiar — lesão vorticilar^{1,2,3,2} — que na expressão de Mignone (1958)^{1,2} sela o diagnóstico de cardiopatia chagásica crônica.

A fibrose inexistente na fase aguda e modesta nos casos de morte súbita e nos pacientes aparentemente assintomáticos, adquire características peculiares nas formas crônicas com ICC. Trata-se de áreas de neoformação conjuntiva, irregulares, de extensão variável, pouco capilarizadas e que mais raramente adquire as características do tecido de granulação³. Desenvolve-se no endo e no miocárdio, ao nível de endo e perimísio. A que se processa no endomísio, em parte como fibrose cicatricial inflamatória, é constituída por um conjuntivo esclerótico, resistente, que interrompe células e

fascículos musculares. Pode atingir o perimísio e se unir à fibrose de fascículos adjacentes interrompendo, deste modo, o sincício eletrofisiológico e fixando uns fascículos aos outros. Como consequência, contribui para a ICC, pois impede os movimentos de determinado número de fibras durante a revolução cardíaca, reduz o comprimento de fibras e fascículos e forma novos pontos de apoio para as fibras musculares. Além disso, pela sua inelasticidade e extensão, é um elemento a mais a ser tracionado durante a revolução cardíaca.

Geralmente, no mesmo coração, existem fibroses em vários estágios evolutivos.

A finalidade desta pesquisa é identificar os tipos de colágeno que se formam na região do vórtex e em outras áreas do ventrículo esquerdo do coração de pacientes portadores de doença de Chagas crônica com ICC. Em seguida, faremos um breve comentário sobre o possível mecanismo patogênico da fibrose na doença de Chagas.

MATERIAL E MÉTODOS

O material consta de 15 corações de chagásicos crônicos com ICC autopsiados no Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da UFMG, todos portadores de lesão vorticilar esquerda. Dos fragmentos da região vorticilar e do terço caudal do ventrículo esquerdo, incluídos em parafina, obtiveram-se

Trabalho dos Departamentos de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Universidade Federal de Minas Gerais e de Biologia (ICEB) da Universidade Federal de Ouro Preto, executado com recursos do CNPq e FINEP.

Endereço para correspondência: Pedro Raso — Faculdade de Medicina da UFMG. Av. Alfredo Balena 190. 30.000. Belo Horizonte-MG.

Recebido para publicação em 4/7/1983.

cortes de 4 micrômetros que foram corados pelas seguintes técnicas: hematoxilina-eosina, tricrômico de Gomori para colágeno, Unna-Taenzer-Livine para o elástico e pelo Sirius Supra Red F3BA (distribuídos por Verona Dyestuffs, PO Box 385, Springfield Road, Union New Jersey) para identificação do tipo de colágeno, conforme técnica preconizada por Junqueira e cols.⁹. Estes últimos foram examinados ao microscópio de polarização (Leitz).

RESULTADOS

O estudo histológico dos 15 casos mostrou, nos vários cortes efetuados, o quadro clássico da cardite chagásica crônica com ICC. Em todos eles era constante o infiltrado inflamatório de intensidade variável, acentuado em alguns e mais discreto em outros, em focos múltiplos. Em geral predominavam linfócitos; outras vezes existiam também macrófagos, granulócitos neutrófilos e eosinófilos em proporções variadas. Este exsudato era mais pronunciado nos cortes do terço caudal do ventrículo esquerdo e mais discreto na região da lesão vorticilar.

A outra lesão, também constante, era representada pela fibrose em vários estágios evolutivos e de intensidade variável de caso para caso e nos diferentes campos microscópicos. Em certas áreas da fibrose interpunha-se entre grupos de células musculares, em substituição às células destruídas pela inflamação, interrompendo o sincício eletrofisiológico. Nas colorações pela hematoxilina-eosina e pelo tricrômico de Gomori, apresentava-se sob a forma de um colágeno denso, inelástico, endo e perimisial, de limites imprecisos, pouco vascularizado. Nos cortes efetuados na região da lesão vorticilar, com afastamento dos dois cornos^{1 3 2}, a fibrose era intensa, mais difusa, especialmente na região endocárdica. Neste tipo de lesão, onde as fibras musculares eram praticamente inexistentes^{1 3 2}, predominava também um tecido denso, pouco vascularizado.

Os cortes corados pelo Sirius Supra Red examinados à luz polarizada revelaram aspectos diferentes nas várias áreas do coração.

Ao nível da lesão vorticilar com afastamento dos feixes bulbo e sino-espinais superficiais, na zona mais delgada da parede, desprovida de miocárdio, notamos duas zonas distintas. Uma mais delgada, no terço interno, formada por fibras mais

ou menos paralelas entre si, constituída por fibras do tipo III. Os dois terços externos estavam constituídos predominantemente por fibras mais espessas, mais longas, de cor amarelo-avermelhada, levemente sinuosas, dispostas paralelamente uma às outras (tipo I). Na zona mais próxima do epicárdio, as fibras de tipo I se dispunham de modo mais irregular e eram curtas e fragmentadas, exibindo,

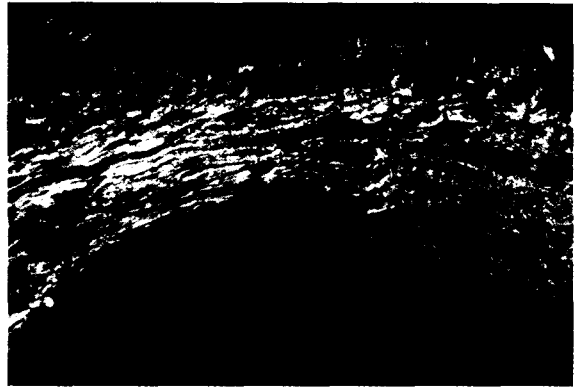


Figura 1 – Lesão vorticilar com afastamento dos feixes bulbo e sino-espinais superficiais. As fibras vermelho-alaranjadas de localização subepicárdica são do tipo I, e as esverdeadas situadas no terço interno são do tipo III (ver texto). Picrosirius-polarização. x48

em algumas áreas, uma periodicidade com alternância das cores amarela e vermelha (Fig. 1).

Ao nível da lesão vorticilar sem afastamento dos feixes bulbo e sino-espinais superficiais, havia uma mescla de fibras de tipo I e III, com preponderância do primeiro, em arranjos desordenados, envolvendo células musculares isoladas ou grupos de células parcialmente destruídas.

No ventrículo esquerdo, fora da lesão vorticilar, nos focos de inflamação havia uma mistura de fibras de tipo I e III, em proporções variadas, mas sempre com certa predominância das primeiras, especialmente nas zonas mais antigas de fibrose.

Nas áreas de fibrose endomisial, onde as fibras musculares mantinham a distribuição sincicial, as fibras colágenas se interpunham entre as células musculares, formando feixes mais ou menos paralelos, de espessura variável e com nítida preponderância das fibras de tipo I (Fig. 2).

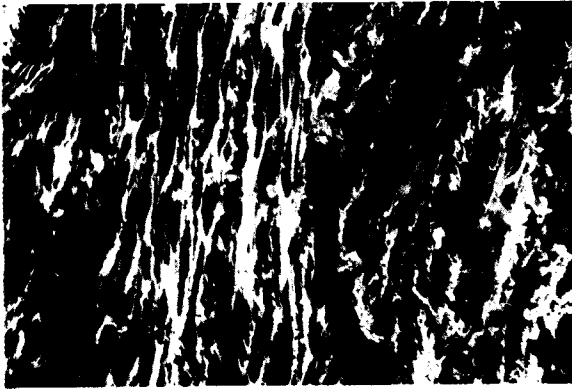


Figura 2 – Miocárdio do terço caudal do ventrículo esquerdo. Fibrose endomisial com alternância de cores amarelo-alaranjadas (tipo I) e esverdeadas (tipo III), com predomínio das primeiras. Os espaços escuros representam as fibras musculares. Picrosirius-polarização x 120.

Onde a destruição do miocárdio foi mais intensa, as fibras de tipo I formavam feixes de espessuras variadas, longos ou curtos, fragmentados ou não, dispostos em várias direções que se entremeciam com os feixes de tipo III, sempre mais delgados e emaranhados.

No endocárdio ventricular onde além da fibrose existiam também focos de exsudato inflamatório, preponderavam as fibras de tipo III.

Ao nível dos músculos papilares, profundamente alterados pela inflamação e pela fibrose resultante, as células musculares remanescentes, isoladas ou em pequenos grupos, estavam imersas

em um conjuntivo constituído por fibras de tipo I e III em proporções variadas. Na zona subendocárdica preponderavam as primeiras. Estas tendiam a formar longos feixes compactos, fortemente refringentes, paralelos e levemente sinuosos, amarelados. Nas regiões mais centrais as fibras de tipo I eram mais finas e irregulares e freqüentemente estavam entremecidas por fibras de tipo III, sempre mais delgadas e emaranhadas, que, por vezes, predominavam sobre as primeiras.

DISCUSSÃO

No miocárdio, como no músculo esquelético do homem e do boi, foram identificados os tipos I e III do colágeno¹⁰. O colágeno endo e perimisial do músculo cardíaco, determinado por imunofluorescência e o colágeno das válvulas por análises bioquímicas também são dos tipos I e III^{11 6 7}.

De acordo com nossos resultados, na cardiopatia chagásica crônica com lesão vorticilar e ICC, nas zonas de fibrose identificaram-se fibras conjuntivas do tipo I e do tipo III, na maioria das vezes com predominância das primeiras. Estas preponderam nos dois terços externos da região da lesão vorticilar com afastamento de feixes bulbo e sino-espinais¹³, nas áreas de fibrose miocárdica sem ou com escasso infiltrado inflamatório e na região subendocárdica dos músculos papilares. Houve predominância do tipo III na região subendocárdica da lesão vorticilar, no endocárdio da parede do ventrículo esquerdo e em algumas áreas de fibrose na porção mais central dos músculos papilares e do miocárdio ventricular onde a inflamação ainda estava em atividade. Estes resultados preliminares, identificados pelo uso do método picrosirius-polarização devem ser completados por estudos imunocitoquímicos. Mostram, entretanto, que o colágeno de substituição, denso e pouco vascularizado, que se interpõem entre as células musculares e o encontrado nos focos onde a inflamação ainda está em atividade, são do mesmo tipo encontrado no coração normal^{11 10 6 7}. Isto significa, portanto, que na doença de Chagas não há desvios e nem estímulos para formação de outros tipos de conjuntivo. Pode-se portanto, com certa segurança, afirmar que as células estimuladas a secretar colágeno para substituir os espaços deixados pela destruição das células musculares provocada pela tripanosomíase são as mesmas dos tecidos pré-existentes. Admitimos que, provavelmente, ocorra o mesmo em outras cardiopatias onde existe fibrose (enfarte do miocárdio, outras miocardites, etc).

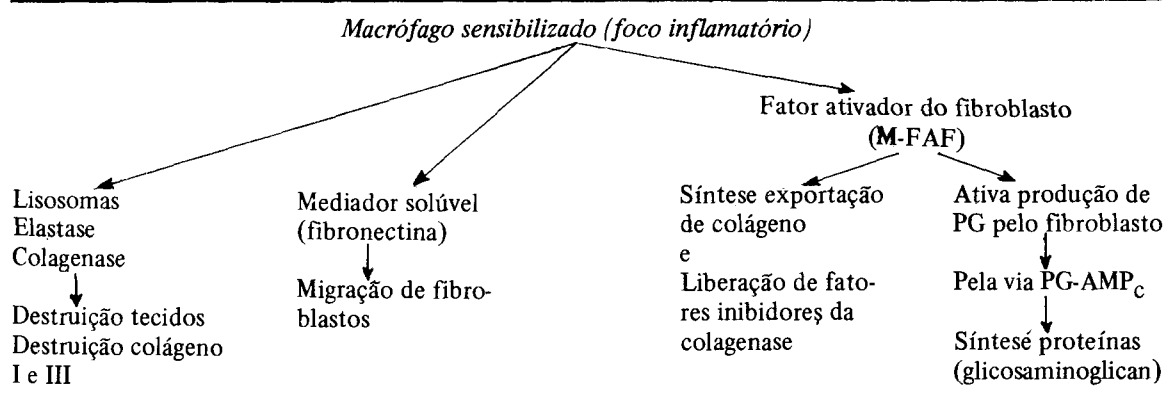
Os tecidos lesados na vigência das inflamações crônicas são freqüentemente substituídos pela fibrose. Pouco se sabe sobre a origem, destino, vida média, e sobre os fatores que atraem e regulam as funções dos fibroblastos na sede da inflamação. Nas inflamações crônicas, os macrófagos sensibilizados e ativados, além de destruir componentes do interstício através de enzimas líticas (lisosomas, collagenase, elastase), estimulam o influxo de fibroblastos pela liberação de mediador solúvel¹⁴ cuja atividade maior se deve a uma glicoproteína-fibronectina¹⁴ – principal produto dos macrófagos diferenciados¹⁵. Os fibroblastos migrados, por sua vez, proliferam-se, sintetizam e exportam colágeno. A síntese é regulada pelo fator ativador do fibroblasto derivado do macrófago sensibilizado (M-FAF)^{15 16}. A produção do M-FAF independe das prostaglandinas (PG); porém, o M-FAF modula a produção de PG pelo fibroblasto. Este, pela via PG-AMP mobiliza energia para a síntese protéi-

ca. A adição de PGE_2 e/ou $cAMP$ à cultura de fibroblastos estimula a atividade metabólica, indicada pela síntese de glicosaminoglican^{4 5}; fibroblastos expostos ao M-FAF aumentam a síntese de proteínas colágenas e não colágenas^{1 6}. A proliferação de fibroblastos e a síntese de colágeno na sede da inflamação pode ser controlada pelo macrófago, indiretamente, pela ativação de componentes do soro ou pela neutralização de substâncias inibidoras presentes no soro pobre em plaque-

tas. A collagenase do polimorfonuclear humano e do coelho digere principalmente o colágeno tipo I, enquanto que a collagenase dos fibroblastos e dos macrófagos atua igualmente sobre o I e o III⁸.

É provável, como admite Tafuri (WL Tafuri: dados não publicados) que o *T. cruzi*, ao produzir a flogose, ative o macrófago por mecanismo semelhante. Em resumo, a fibrose resultante, na doença de Chagas, seguiria as etapas sintetizadas no Quadro I.

Quadro I – Patogênese da fibrose na doença de Chagas crônica



SUMMARY

Histologic typing of collagen fibers from 15 hearts of patients with chronic Chagas' disease was made by using the Sirius Supra Red F3BA stain according to Junqueira's method. All patients had congestive heart failure and left vorticilar lesion. The preparations were stained with Sirius Supra Red F3BA and were examined under polarized light (Leitz photomicroscope) which revealed collagen fibers types I and III in the fibrotic areas. Type I was predominant in the vorticilar area, but it was also present in other areas of the myocardium, such as endomysium and perimysium of the left ventricle and in subendocardial areas of the papillary muscles. Type III was more often encountered in inner third of the vorticilar lesions, endocardium of left ventricular wall and in the areas of the myocardium where the inflammation was still present.

Key words: Chagas' disease. Chagas' disease with vorticilar lesion. Collagen fiber types.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Prof. Luiz Carlos Uchoa Junqueira pela gentileza de ter fornecido o corante Sirius Red usado nesta pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alitalo K, Vaheri A, Krieg T, Timpl R. Biosynthesis of two subunits of type IV procollagen and of the basement membrane protein by a human tumor cell line. *European Journal of Biochemistry* 109:247-255, 1980.
2. Almeida HO. A lesão vorticilar da cardiopatia chagásica crônica. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1976.
3. Bogliolo L. Miocardite chagásica. In: Bogliolo L (ed) *Patologia* 3ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 359-370, 1981.
4. Castor CW. Connective tissue activation. VI The effect of cyclic nucleotides on human synovia in vitro. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 83: 47-55, 1974.
5. Castor CW. Connective tissue activation. VII. Evidence supporting a role for prostaglandins and cyclic nucleotides. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 85: 392-404, 1975.
6. Collins D, Lindberg K, Mc Lees B, Pinnell RS. The collagen of heart valve. *Biochimica Biophysica Acta* 495: 129-139, 1977.

7. Gay S, Vijanto J, Raekallio J, Pattinen R. Collagen types in early phase of wound healing in children. *Acta Chirurgica Scandinavica* 144: 205-211, 1978.
8. Houwitz AL, Hane AJ, Cystal RG. Granulocyte collagenase: selective digestion of type I relative to type III collagen. *Proceedings of National Academy of Sciences USA* 74: 897-901, 1977.
9. Junqueira LCV, Bignolas G, Brentani RR. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochemical Journal* 11: 447-454, 1979.
10. Mc Clain PE. Characterization of cardiac muscle collagen. Molecular heterogeneity. *Journal of Biological Chemistry* 249: 2303-2311, 1974.
11. Morris SC, Mc Clain PE. Heterogeneity in the cyanogen bromide peptides from striated muscle and heart valve collagen. *Biochimica Biophysica Research Communication* 47: 27-34, 1972.
12. Mignone C. Alguns aspectos da anatomia patológica da cardite chagásica crônica. Tese Professor Catedrático, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1958.
13. Raso, P. Contribuição ao estudo da lesão vorticular (especialmente do vórtex esquerdo) na cardite chagásica crônica. Tese de Livre Docência, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1964.
14. Taukamoto Y, Hessel WE, Wahl SM. Macrophage production of fibronectin, a chemoattractant for fibroblast. *Journal of Immunology* 127:673-678, 1981.
15. Wahl, SM, Wahl LM, Mc Carthy JG, Chedid L, Margenhagen SE. Macrophage activation by mycobacterial water soluble compounds and synthetic muramyl dipeptide. *Journal of Immunology* 122: 2226-2231, 1979.
16. Wahl SM, Wahl LM, Margenhagen SE In: *Biochemical Characterization of lymphokines*. AL de Weck (ed), 1st ed, Academic Press, New York, p. 267, 1980.