

O Papel do Acúmulo de Colágeno no Interstício Miocárdico na Sobrevida dos Pacientes com Cardiomiopatia Dilatada Idiopática e Chagásica

The Role of Storage of Interstitial Myocardial Collagen on the Overlife Rate of Patients with Idiopathic and Chagasic Dilated Cardiomyopathy

Vera Lopes Nunes, Felix José Alvarez Ramires, Wallace de Souza Pimentel, Fábio Fernandes, Barbara Maria Ianni, Charles Mady

Instituto do Coração do Hospital das Clínicas – FMUSP, São Paulo, SP

Objetivo: Avaliar a correlação entre um marcador estrutural do miocárdio e a sobrevida dos pacientes com cardiomiopatia dilatada.

Métodos: Mediante realização da biópsia endomiocárdica e exame ecocardiográfico foram estudados 9 indivíduos sem doença estrutural miocárdica (controle) e 45 pacientes com cardiomiopatia dilatada grave de etiologia idiopática (MCDI) e chagásica (MCDC). Foi analisada a correlação entre a quantidade de colágeno miocárdico intersticial (FVCI) e a sobrevida desses pacientes, se a FVCI diferia entre as etiologias, e se a fibrose interferia na função e geometria do miocárdio.

Resultados: Foi observado que a FVCI foi 15 vezes maior nos cardiomiopatas em relação ao grupo-controle, mas não diferiu em relação às MCDI e MCDC (* $p < 0,001$). Não houve correlação da FVCI com a sobrevida dos pacientes com cardiomiopatias (MCDI $p = 0,249$ e na MCDC $p = 0,587$) e apenas na MCDI a fração de ejeção do ventrículo esquerdo teve correlação com a FVCI. O diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo não se correlacionou com a FVCI nas duas etiologias.

Conclusão: A fibrose miocárdica não diferiu entre as duas etiologias, não se correlacionou com o prognóstico das MCDC e MCDI e apenas na MCDI ela se correlacionou com a FEVE.

Palavras-chave: Colágeno, miocárdio, prognóstico, cardiomiopatia dilatada.

Objective: To find out whether there is a correlation between a myocardial structural marker and the overlife rate of patients with dilated cardiomyopathy.

Methods: Using endomyocardial biopsy and 2D-echocardiogram, we studied nine patients with no changes in myocardial structure (control) and 45 patients with severe dilated cardiomyopathy of idiopathic etiology (IDCM) and of Chagasic etiology (CDCM). We analyzed the correlation between the quantity of interstitial myocardial collagen (ICVF) and the overlife rates of these patients. We also evaluated the difference in ICVF between these groups and whether fibrosis interfered on the geometry and function of the myocardium.

Results: We observed that ICVF was 15 times higher in cardiomyopathy patients than in the control group, but there was no difference in ICVF between CDCM and IDCM (* $p < 0.001$) patients. There was no correlation between ICVF and the overlife rate in cardiomyopathy patients (IDCM $p = 0.249$, and CDCM $p = 0.587$). We observed a significant correlation between ICVF and left ventricular ejection fraction (LVEF) only for IDCM. There was no correlation between ICVF and left ventricular diastolic diameter in either etiology.

Conclusion: There was no difference in myocardial fibrosis between patients with CDCM or IDCM, and there was no correlation between fibrosis and the prognosis either for IDCM or CDCM. There was a correlation between myocardial fibrosis and LVEF only for IDCM.

Key words: Collagen, myocardium, prognosis, dilated cardiomyopathy.

Correspondência: Felix José Alvarez Ramires •

Rua Manoel da Nóbrega, 518/112 - 04001-002 – São Paulo, SP

E-mail: felixjose@cardiol.br

Artigo recebido em 23/05/05; revisado recebido em 23/06/05; aceito em 01/07/05.

A cardiomiopatia dilatada representa 87% das cardiomiopatias. A cardiomiopatia dilatada idiopática (MCDI) é aquela de origem indeterminada, excluindo-se causas secundárias. Nos Estados Unidos, sua incidência é de 5 a 8/100.000 habitantes na população geral, representando um quarto das cardiomiopatias dilatadas, com prevalência ajustada à idade de 36/100.000 na população geral, sobrevivida em cinco anos de 25% a 65%, dependendo do estágio evolutivo, e mortalidade anual de dez mil casos¹⁻⁴. A cardiomiopatia dilatada chagásica (MCDI) é considerada uma doença inflamatória secundária à infecção de um parasita, o *Trypanosoma cruzi*. Dados da Organização Mundial de Saúde revelam que cerca de 90 milhões de pessoas estão expostas ao risco de infecção pelo *Trypanosoma cruzi*, sendo a incidência em 1995 de 120 mil novos casos de infecção pelo parasita⁵.

Independentemente da etiologia, o acúmulo de colágeno no interstício e no espaço perivascular do miocárdio se faz presente. O colágeno miocárdico sabidamente desempenha importantes funções que afetam diretamente a morfologia, geometria e desempenho funcional do coração. Shirey e cols.⁶, estudando pacientes cardiomiopatas, demonstraram pela primeira vez que o aumento da fibrose miocárdica era encontrado em pacientes com maior mortalidade. Schwarz e cols.⁷ e Figulla e cols.⁸, por sua vez, considerando pacientes com cardiomiopatia dilatada, não demonstraram relação dos dados morfológicos, como hipertrofia dos cardiomiócitos e aumento da quantidade de colágeno intersticial, com informações prognósticas.

Marcadores clínicos, funcionais e bioquímicos do prognóstico das cardiomiopatias dilatadas e insuficiência cardíaca (IC) são bem definidos. Entretanto, um marcador histológico ainda não foi estabelecido. Faz-se, então, importante avaliar o papel do colágeno miocárdico intersticial como marcador prognóstico estrutural nas cardiomiopatias dilatadas. Dessa forma, nossa hipótese é de que a quantidade de colágeno miocárdico intersticial teria papel relevante, dependente ou não da função ventricular, na sobrevivida dos pacientes com cardiomiopatia dilatada idiopática e de origem chagásica.

Nossos objetivos foram avaliar se há correlação entre a quantidade de colágeno miocárdico intersticial e a sobrevivida dos pacientes com cardiomiopatia dilatada grave idiopática e chagásica; verificar se a quantidade de colágeno intersticial do miocárdio difere quanto à etiologia chagásica e idiopática; correlacionar a quantidade de colágeno miocárdico intersticial com a fração de ejeção (FEVE) e diâmetro diastólico (DDVE) do ventrículo esquerdo.

Métodos

Após a aprovação do Comitê de Ética da instituição (Resolução do Conselho Nacional de Saúde 196/96 de 10 de setembro de 1996), foram revistos, pelo registro de biópsia endomiocárdica e levantamento de prontuário hospitalar, os diagnósticos de pacientes que realizaram biópsia endomiocárdica no período de 1981 a 1998. Excluídos aqueles de seguimento de transplante cardíaco, foram totalizados 1.406 casos. Desses, foram selecionados aqueles com diagnóstico de cardiomiopatia dilatada de etiologia

idiopática (n = 116) e chagásica (n = 126). Aplicados os critérios de inclusão e de exclusão, foram incluídos no estudo 19 pacientes com cardiomiopatia dilatada idiopática e 26 com cardiomiopatia chagásica.

Para o diagnóstico das cardiomiopatias foram seguidos os critérios da OMS/SIFC⁹. As cardiomiopatias dilatadas idiopáticas são aquelas de causa desconhecida, sendo excluídas as causas secundárias, como hipertensão arterial, doenças coronarianas, valvares, congênitas, miocardite, hipertensão pulmonar e dilatação de ventrículo direito isolado. A cardiomiopatia dilatada chagásica é definida como doença inflamatória do miocárdio associada à disfunção miocárdica, secundária à infecção pelo *Trypanosoma cruzi* diagnosticada por meio da sorologia positiva (imunofluorescência e reação de fixação do complemento). Informações sobre as mortes foram obtidas dos registros hospitalares, atestados de óbito, contato telefônico com familiares e pelo prontuário hospitalar.

Os critérios de inclusão foram: uso de fármacos inibidores da enzima de conversão da angiotensina, no mínimo quatro meses antes da realização da biópsia endomiocárdica e durante todo o seu seguimento; cinecoronariografia normal no grupo idiopático e naqueles com mais de dois fatores de risco para doença coronariana no grupo chagásico; sorologia para doença de Chagas (imunofluorescência e reação de fixação do complemento) positiva, ou negativa no grupo idiopático; laudo do ecocardiograma com até dois meses da realização da biópsia endomiocárdica, com FEVE menor ou igual a 0,40 pelo método Teichholz.

Os critérios de exclusão foram: cardiomiopatia isquêmica, afastada pela cinecoronariografia, hipertensão arterial sistêmica e outras doenças cardíacas que não as estudadas^{10,11}; insuficiência renal, definida como nível de creatinina sérica > 2,0 mg/dl; pacientes submetidos a transplante cardíaco e/ou a cardiomioplastia; e pacientes que perderam seguimento ambulatorial.

O estudo teve início no momento da realização da biópsia endomiocárdica do paciente e término com o evento morte ou o seguimento do paciente até julho de 2003.

Para comparação dos resultados da quantidade de colágeno intersticial no miocárdio e dos dados ecocardiográficos de DDVE e FEVE foi constituído um grupo-controle de nove pacientes que tinham indicação cirúrgica de revascularização miocárdica em oito, e exérese de mixoma de átrio esquerdo em um paciente. Foram considerados critérios de exclusão: infarto do miocárdio prévio, disfunção ventricular, valvopatia primária e medida da pressão arterial maior ou igual a 140/90 mmHg aferida em mais de duas ocasiões.

Ecocardiograma - O exame de ecocardiograma com a utilização dos modos M (unidimensional), bidimensional e da técnica de Doppler foi realizado em todos os pacientes com até dois meses do procedimento da biópsia endomiocárdica. Esses exames foram realizados conforme as recomendações da Sociedade Americana de Ecocardiografia; a medida do DDVE (em milímetros) foi obtida no final da diástole e o cálculo de função ventricular foi avaliado pela FEVE, sendo obtido pelo método Teichholz.

Biópsia endomiocárdica - Os pacientes foram submetidos a biópsia endomiocárdica do ventrículo direito, segundo

as técnicas descritas por Mason¹². Os fragmentos do grupo-controle foram obtidos durante a cirurgia cardíaca, aproximadamente nas mesmas regiões do septo interventricular em que a biópsia é obtida por via percutânea.

Morfometria do colágeno - A partir dos blocos de parafina, novos cortes de 5 μ m foram montados em lâminas e coradas pelo *picosirius-red* para detecção e quantificação do colágeno intersticial.

As frações dos volumes de colágeno intersticial (FVCI) foram quantificadas por videomorfometria, utilizando-se um sistema de análise de imagens (*Quantimet 520 Image Analysis System-Cambridge Instruments, Cambridge, UK*). A morfometria foi realizada por dois observadores que não tinham conhecimento do quadro clínico dos pacientes. Cada parâmetro representa o valor médio de todas as medidas obtidas de cada tecido da biópsia.

Análise estatística - A análise de sobrevida foi realizada pelo método de Kaplan-Meier e para comparação das curvas foi empregada o teste de *log-rank*. Foi calculado o coeficiente de correlação de Pearson (*r*), a análise de variância (ANOVA) e o teste Kruskal-Wallis (quando as variâncias não eram homogêneas) para comparações. O teste de Tukey-HSD foi empregado para as múltiplas comparações. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$, e os valores foram expressos como média e desvio padrão.

Resultados

Aspectos demográficos - Foram estudados 19 pacientes com cardiomiopatia dilatada idiopática, 26 pacientes com cardiomiopatia dilatada chagásica e 9 pacientes constituíram o grupo-controle (tab.1). Observou-se predomínio de pacientes do sexo masculino nos 3 grupos. O grupo-controle foi constituído por indivíduos mais velhos, mas os pacientes cardiomiopatas tinham a média de idade semelhante. Não foi analisada a sobrevida dos pacientes do grupo controle, pois estes apresentavam doenças diferentes. A sobrevida dos pacientes cardiomiopatas foi maior no grupo idiopático, variando entre 5 e 2.281 dias (761 ± 165), e nos chagásicos entre 6 e 2.166 dias (422 ± 109), porém sem significado estatístico ($p = 0,145$) (tab. 1).

Aspectos ecocardiográficos - Foram analisados os parâmetros de DDVE e da FEVE. Os valores das médias do DDVE encontrados nos grupos dos pacientes cardiomiopatas foram maiores do que aqueles do grupo-controle ($p < 0,001$), sendo maior nos pacientes com MCDI que o grupo com MCDC ($p = 0,005$) (tab. 2). Em relação aos valores da FEVE, estes foram menores nos grupos com cardiomiopatia do que

o grupo-controle ($p < 0,001$) como mostra a tabela 2.

Análise de sobrevida - Em relação à etiologia das cardiomiopatias, não houve diferença estatisticamente significativa entre as taxas de sobrevida global em cinco anos nos pacientes com cardiomiopatia chagásica (3,8%) e os com cardiomiopatia idiopática (10,5%) ($p = 0,131$) (fig.1).

O DDVE foi avaliado através da sua mediana (73 mm). Não houve diferença estatisticamente significativa entre as taxas de sobrevida global em 5 anos nos pacientes portadores de MCDC com DDVE ≤ 73 (5,3%) ou > 73 (0,0%) ($p = 0,246$), o mesmo em relação aos pacientes com MCDI com DDVE ≤ 73 (0,0%) ou > 73 (16,7%) ($p = 0,269$).

Em relação à FEVE, não houve diferença estatisticamente significativa entre as taxas de sobrevida global em cinco anos nos pacientes com MCDC com FEVE $\leq 0,30$ (0,0%) ou $> 0,30$ (7,7%) ($p = 0,391$). Entretanto, no grupo com MCDI essa relação pôde ser observada com menor sobrevida nos pacientes com FEVE menor (FEVE $\leq 0,30$; 0,0%) ou $> 0,30$ (20,0%) ($p = 0,031$) (fig.2).

Morfometria do colágeno - Observou-se aumento da quantidade de colágeno miocárdio intersticial nos grupos constituídos por cardiomiopatas em relação ao grupo controle ($p < 0,001$), mas essa diferença não foi significativa entre as duas etiologias ($p = 0,724$) (figs.3 e 4).

Correlações com a FVCI - Avaliando a relação entre a FVCI e a taxa de sobrevida global em cinco anos dos pacientes com MCDI e MCDC, não houve diferença estatisticamente significativa. Analisamos essa dissociação em relação à mediana da FVCI $\leq 5,53$ (8,7%) ou $> 5,53$ (4,5%) ($p = 0,749$) (fig. 5). Quando separamos os pacientes com cardiomiopatia segundo as etiologias e correlacionamos a FVCI com a sobrevida, também não encontramos diferença estatisticamente significativa entre as taxas de sobrevida global em cinco anos nos pacientes com FVCI $\leq 5,53$ (0,0%) ou $> 5,53$ (7,7%) ($p = 0,587$) tanto no grupo chagásico (fig. 6) quanto no grupo idiopático com FVCI $\leq 5,53$ (20,0%) ou $> 5,53$ (0,0%) ($p = 0,249$) (fig. 7).

Quando analisamos a FVCI com a FEVE não observamos correlação no grupo MCDC ($r = 0,10$; $p = 0,61$), mas houve correlação linear positiva nos pacientes com MCDI ($r = 0,50$; $p = 0,02$) (fig. 8). Não houve correlação entre a FVCI e o DDVE nas duas etiologias.

Discussão

Atualmente, as cardiomiopatias dilatadas não são consideradas apenas uma desordem da contratilidade miocárdica, mas sim uma seqüência complexa de eventos e mediadores que altera os componentes celulares e moleculares

	MCDI (n=19)	MCDC (n= 26)	Controle (n= 9)	p
Sexo masculino	16 (84%)	23 (89%)	6 (67%)	0,73
Idade (anos)	43 \pm 3	42 \pm 2	64 \pm 3*	0,001
Tempo de sobrevida (dias)	761 \pm 165	422 \pm 109	-	0,145

Tabela 1 - Características demográficas das cardiomiopatias idiopática, chagásica e do grupo-controle e tempo de sobrevida

do miocárdio. Essas repostas, do ponto de vista histológico, são limitadas e caracterizadas por hipertrofia, degeneração, atrofia e necrose dos cardiomiócitos, perda das miofibrilas, infiltrado intersticial inflamatório e fibrose perivascular e intersticial. Na hipertrofia ventricular esquerda, não-fisiológica, há aumento

progressivo, ilimitado e não-proporcional da quantidade de colágeno, mudando, assim, o rearranjo entre as células miocárdicas. Essa nova arquitetura miocárdica prejudica a produção da força de contração, levando à disfunção sistólica e ao aparecimento dos sintomas de IC¹³⁻¹⁹.

Apesar de os nossos resultados não definirem que a quantidade de colágeno miocárdico intersticial tem relação com a sobrevida dos pacientes estudados com cardiomiopatia dilatada ($p = 0,749$), mesmo após separarmos pelas etiologias

Variável	Etiologia		
	Chagásica	Idiopática	Controles
DDVE	70,5 ± 6,6	*=78,3 ± 7,2	52,9 ± 12,5
FEVE	0,31 ± 0,01	0,30 ± 0,01	0,69 ± 0,01*

* Chagas ≠ Controle ($p < 0,001$); Idiopático ≠ Controle ($p < 0,001$); = Chagas = Idiopático ($p = 0,005$).

Tabela 2 - Médias e respectivos desvios-padrão de DDVE segundo a etiologia das cardiomiopatias e grupo-controle

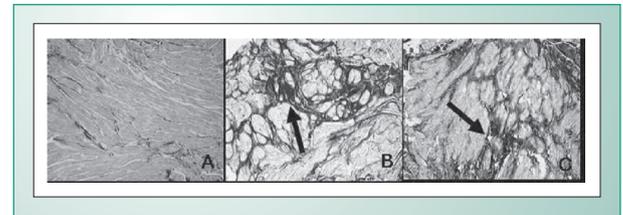


Fig. 3 - Fotomicrografia do miocárdio de paciente do grupo controle (A), grupo com cardiomiopatia chagásica (B) e do grupo com cardiomiopatia dilatada idiopática (C). Coloração com picrosirius red - a seta indica o acúmulo de colágeno.

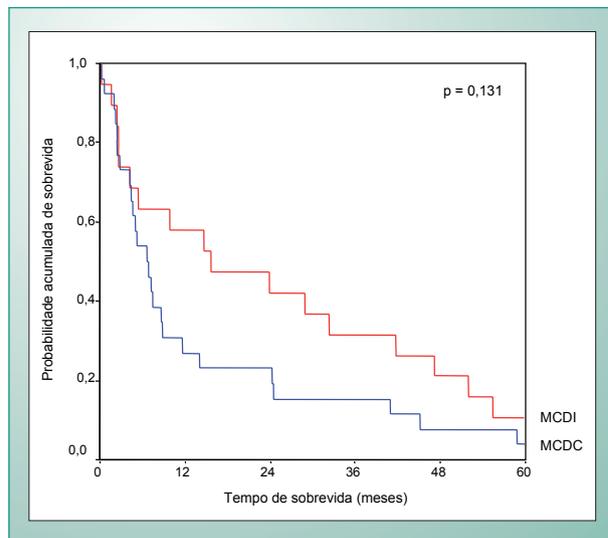


Fig. 1 - Curvas de sobrevida segundo as etiologias das cardiomiopatias.

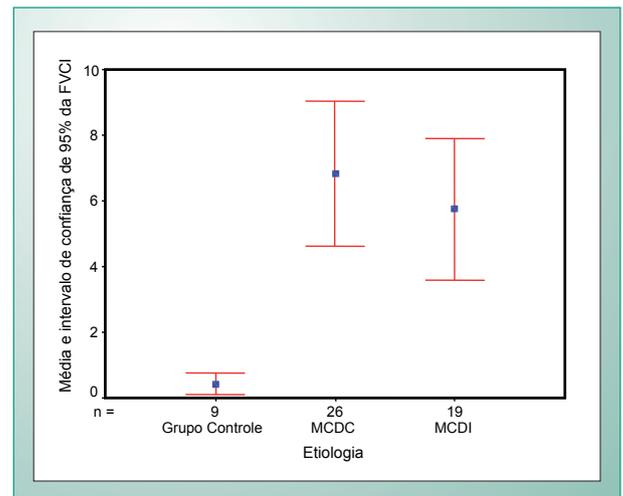


Fig. 4 - Médias e respectivos intervalos de confiança de 95% da FVCI segundo as etiologias das cardiomiopatias.

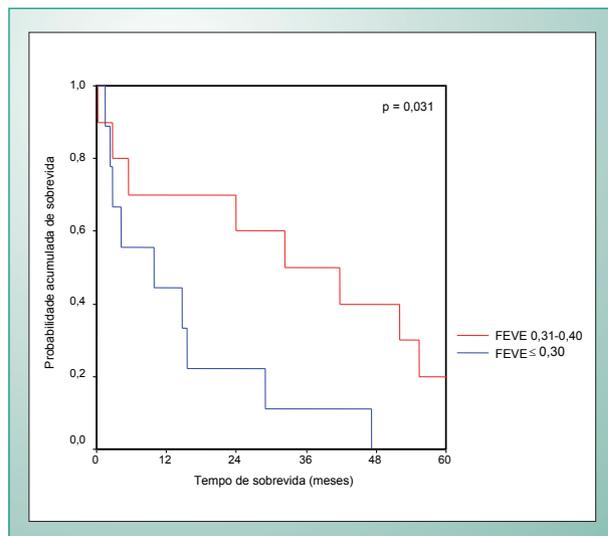


Fig. 2 - Curvas de sobrevida segundo a FEVE nos pacientes com cardiomiopatia dilatada idiopática.

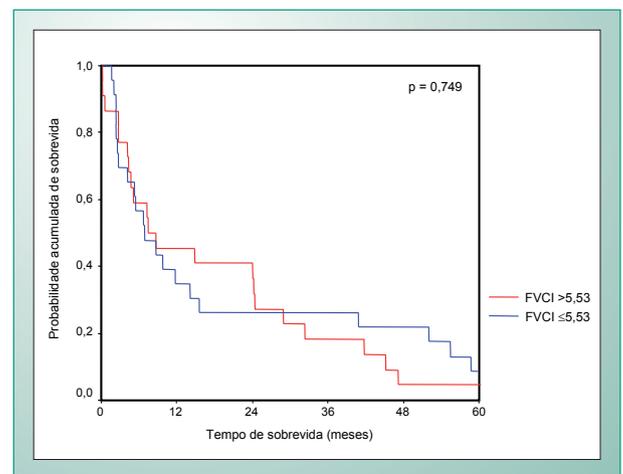


Fig. 5 - Curvas de sobrevida segundo a mediana da FVCI.

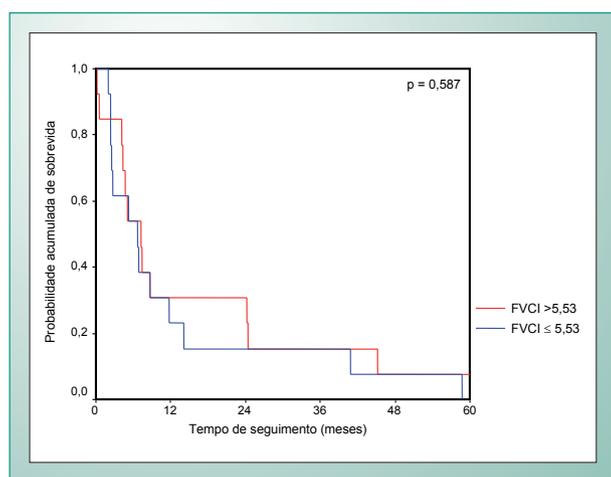


Fig. 6 - Curvas de sobrevida em relação à mediana da FVCI em pacientes com cardiomiopatia dilatada chagásica.

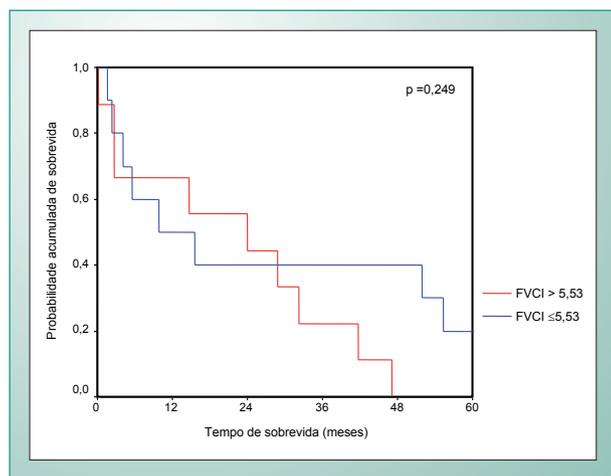


Fig. 7 - Curvas de sobrevida em relação à mediana da FVCI em pacientes com cardiomiopatia dilatada idiopática.

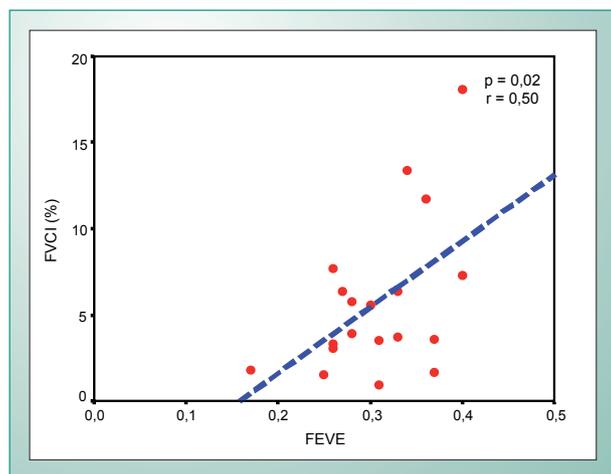


Fig. 8 - Diagrama de dispersão da FVCI e da FEVE na MCDI.

chagásica ($p = 0,587$) e idiopática ($p = 0,249$), podemos observar que aqueles pacientes com cardiomiopatia dilatada

com quantidade de colágeno miocárdio intersticial menor tinham sobrevida global em cinco anos de 8,7%, contra 4,5% encontrada naqueles com quantidade de colágeno miocárdio intersticial maior. Esses resultados corroboram os dados apresentados por Unverferth e cols.²⁰ em pacientes com cardiomiopatia dilatada não-iskêmica, nos quais evidenciaram que a fibrose foi maior nos que não sobreviveram, mas sem importância prognóstica ($p = 0,26$). Quando comparamos as duas etiologias em relação à sobrevida, também não encontramos resultados significativos, mas observamos que a etiologia chagásica apresentou 3,8% de sobrevida em 5 anos e a etiologia idiopática, 10,5%. Talvez a persistência da atividade da miocardite, pela participação direta do parasita ou por mecanismos imunológicos, e também a distribuição difusa das lesões histológicas tenham alguma contribuição para a evolução mais desfavorável da etiologia chagásica.

A medida quantitativa do colágeno miocárdio intersticial, isoladamente, não expressa toda a complexidade do remodelamento miocárdico. Talvez, para conseguirmos demonstrar a relação do remodelamento com a sobrevida, devêssemos incluir na análise outras alterações que participam da arquitetura miocárdica, como o tipo de distribuição (difusa ou localizada) das fibras de colágeno pelo miocárdio, a sua relação com os cardiomiócitos e no alinhamento destes, a formação de agrupamentos de colágeno no miocárdio, funcionando como verdadeiros obstáculos na transmissão da força de contração gerada para toda a câmara cardíaca, a perda da integridade, propiciando uma contração dessincronizada do miocárdio, levando à diminuição da função sistólica^{16,21-23}. Além desses fatores, o remodelamento miocárdico também representa mudanças celulares e moleculares, ocasionando hipertrofia e talvez hiperplasia, necrose e apoptose dos cardiomiócitos.

Em nosso estudo, os resultados da morfometria na quantificação do colágeno intersticial do miocárdio de pacientes com cardiomiopatia dilatada chagásica, não diferiram dos resultados obtidos no grupo idiopático, mas foram em média 15 vezes maiores que aqueles encontrados nos pacientes do grupo-controle.

A verificação se existe relação entre o aumento da quantidade de colágeno miocárdio intersticial e as alterações na função miocárdica é relevante. Mady e cols.²⁴, em pacientes com cardiomiopatia dilatada chagásica, Weber e cols.^{15,16} e Jalil e cols.²², em modelos animais de hipertrofia do ventrículo esquerdo, relacionaram o aumento da quantidade de colágeno do miocárdio, geralmente superior a 20% do seu valor normal, com diminuição da eficácia em gerar forças pelo miocárdio. Por sua vez, Nakayama e cols.²⁵ observaram que a fibrose miocárdica intersticial e a hipertrofia dos cardiomiócitos correlacionavam-se e estavam associados à deterioração da contratilidade miocárdica em pacientes com cardiomiopatia dilatada. Em nossa análise, quando avaliamos a quantidade de colágeno miocárdio intersticial com a FEVE de pacientes com a MCDI, não observamos correlação. Entretanto, quando analisamos essas duas variáveis em relação aos pacientes com MCDI, observamos uma significativa correlação. Esse fato pode estar relacionado com fatores próprios da fisiopatologia da função miocárdica, podendo apresentar maior importância na participação dos mediadores inflamatórios na MCDI,

não sendo o acúmulo de colágeno a principal causa dessa disfunção. A FEVE não apresentou relação com a sobrevida global nos pacientes com cardiomiopatia dilatada chagásica, mas sim com a dos pacientes com etiologia idiopática. Isso talvez tenha ocorrido pelo envolvimento de outros mecanismos fisiopatológicos na cardiomiopatia chagásica, como maior liberação de mediadores inflamatórios, persistência do parasita ampliando a resposta inflamatória local e ativação auto-imune, intensificando a piora da função miocárdica, além daquela ocasionada pelo acúmulo de colágeno. Unverferth e cols.²⁰ observaram que, além da FEVE, o DDVE também é um fator importante no prognóstico das cardiomiopatias. Entretanto, o DDVE, que foi uma medida com valores significativamente diferentes entre os três grupos de pacientes estudados, quando avaliados com a quantidade de colágeno miocárdico intersticial,

não apresentou correlação nas duas etiologias.

Assim, o remodelamento cardíaco é um mecanismo complexo que participa, isoladamente ou não, da progressão das cardiomiopatias dilatadas e da insuficiência cardíaca. A avaliação isolada da quantidade de colágeno miocárdico intersticial é uma parte desse conjunto, devendo outras variáveis ser avaliadas posteriormente. De modo isolado, o acúmulo de colágeno no interstício miocárdico dos pacientes com cardiomiopatia dilatada idiopática e chagásica não sugere correlação com a sobrevida desse grupo.

Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflitos de interesses pertinentes.

Referências

- Manolio TA, Baughman KL, Rodeheffer R, et al. Prevalence and etiology of idiopathic dilated cardiomyopathy (summary of a national heart, lung, and blood institute workshop). *Am J Cardiol* 1992; 69: 1458-66.
- Juillière Y, Barbier G, Feldmann L, Grentzinger A, Danchin N, Cherrier F. Additional predictive value of both left and right ventricular ejection fractions on long-term survival in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J* 1997; 18: 276-80.
- Michels VV, Moll PP, Miller FA, et al. The frequency of familial dilated cardiomyopathy in a series of patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1992; 326: 77-82.
- Prazak P, Pfisterer M, Osswald S, Buser P, Burkart F. Differences of disease progression in congestive heart failure due alcoholic as compared to idiopathic dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J* 1996; 17: 251-7.
- Cunha-Neto E, Gruber A, Zingales B, Kalil J. Estudo da doença de Chagas: abordagem molecular. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo* 1995; 2: 217-29.
- Shirey EK, Proudfit WL, Hawk WA. Primary myocardial disease. Correlation with clinical finding, angiographic and biopsy diagnosis. *Am Heart J* 1980; 99: 198-207.
- Schwarz F, Mall G, Zebe H, et al. Determinants of survival in patients with congestive cardiomyopathy: quantitative morphologic findings and left ventricular hemodynamics. *Circulation* 1984; 70: 923-8.
- Figulla HR, Rahlf G, Nieger M, Luig H, Kreuser H. Spontaneous hemodynamic improvement or stabilization and associated biopsy findings in patients with congestive cardiomyopathy. *Circulation* 1985; 71(6): 1095-104.
- Richardson P, McKenna W, Bristow M, et al. Report of 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of Cardiomyopathies. *Circulation* 1996; 93: 841-2.
- Fabrizio L, Regan TJ. Alcoholic cardiomyopathy. *Cardiovasc Drugs Ther* 1994; 8: 89-94.
- Aretz HT. Myocarditis: the Dallas criteria. *Hum Pathol* 1987; 18: 619-24.
- Mason JW. Techniques for right and left ventricular endomyocardial biopsy. *Am J Cardiol* 1978; 41: 887-92.
- Tan LB, Brilla CG, Weber KT. Prevention of structural changes in the heart in hypertension by angiotensin converting enzyme inhibition. *J Hypertens* 1992; 10(suppl 1): S31-4.
- Schwarz F, Mall G, Zebe H, Blickele J, Derks H, Manthey J. Quantitative morphologic findings of the myocardium in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1983; 51: 501-6.
- Weber KT, Jalil JE, Janicki JS, Pick R. Myocardial collagen remodeling in pressure overload hypertrophy. *Am J Hypertens* 1989; 2: 931-40.
- Weber KT, Brilla CG. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. *Circulation* 1991; 83: 849-65.
- Jalil JE, Janicki JS, Pick R, Abrahams C, Weber KT. Fibrosis-induced reduction of endomyocardium in the rat after isoproterenol treatment. *Circ Res* 1989; 65: 258-64.
- Weber KT, Brilla CG, Campbell SE. Regulatory mechanisms of myocardial hypertrophy and fibrosis: results of in vivo studies. *Cardiology* 1992; 81: 266-73.
- Brilla CG, Janicki JS, Weber KT. Impaired diastolic function and coronary reserve in genetic hypertension. *Circ Res* 1991; 69: 107-15.
- Unverferth DV, Magorien RD, Moeschberger ML, Baker PB, Fetters JK, Leier CV. Factor influencing the one-year mortality of dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1984; 54: 147-52.
- Coker ML, Spinale FG. Myocardial extracellular matrix remodeling with the development of pacing induced congestive heart failure: contributory mechanisms. *Cardiovasc Pathol* 1998; 7: 161-8.
- Jalil JE, Doering CW, Janicki JS, Pick R, Shroff SC, Weber KT. Fibrillar collagen and myocardial stiffness in the intact hypertrophied rat left ventricle. *Circ Res* 1989; 64: 1041-50.
- Hess OM, Schneider J, Koch R, Bamert C, Grimm J, Krayenbuehl PH. Diastolic function and myocardial structure in patients with myocardial hypertrophy. *Circulation* 1981; 63: 360-71.
- Mady C, Ianni BM, Arteaga E, et al. Relation between interstitial myocardial collagen and the degree of clinical impairment in Chagas' Disease. *Am J Cardiol* 1999; 84: 354-6.
- Nakayama Y, Shimizu G, Hirota Y, et al. Functional and histopathologic correlation in patients with dilated cardiomyopathy: an integrated evaluation by multivariate analysis. *J Am Coll Cardiol* 1987; 10: 186-92.