

Valor Pronóstico de la Fracción de Volumen de Colágeno en la Cardiomiopatía Hipertrófica

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

Resumen

Fundamento: En la cardiomiopatía hipertrófica (CMH), la fibrosis miocárdica intersticial es una importante alteración histológica, que ha sido asociada con muerte súbita y evolución hacia dilatación.

Objetivo: Evaluar, prospectivamente, el valor pronóstico de la fracción de colágeno en la CMH.

Métodos: Se realizó, con éxito, biopsia endomiocárdica del ventrículo derecho en 21 pacientes sintomáticos con CMH. La fracción de volumen de colágeno (FVC) miocárdico se determinó por medio de histología. Se determinó la FVC también en fragmentos de nueve corazones normales de individuos fallecidos por causas no cardíacas. Respecto a la FVC, se dividieron a los pacientes en grupos supra e inframedianos (FVC elevada y FVC baja, respectivamente), y se compararon las características clínicas y ecocardiográficas y las curvas de supervivencia.

Resultados: Entre los pacientes, la FVC tuvo variación del 1,86% al 29,9%, con mediana en el 6,19%. Ya en los corazones normales, del 0,13% al 1,46%, mediana en el 0,36% ($p < 0,0001$ entre CMH y control). No se verificaron correlaciones significativas entre FVC y medidas ecocardiográficas basales. Se compararon a pacientes con $FVC \leq 6,19\%$ y $FVC > 6,19\%$, sin que se observara diferencias basales. Sin embargo, tras un período de seguimiento promedio de 110 meses, cuatro muertes ocurrieron (dos súbitas, y otras dos por insuficiencia cardíaca) en el grupo con FVC mayor, mientras que los pacientes del grupo con FVC menor estaban vivos al final del período ($p = 0,02$).

Conclusión: Por primera vez, se asoció prospectivamente la fibrosis miocárdica a un peor diagnóstico en pacientes con CMH. Se deben encaminar esfuerzos hacia la cuantificación de la fibrosis en la CMH, al aceptar que la asociación con el pronóstico puede auxiliar tanto en la estratificación de riesgo para implante de desfibrilador, como en la prescripción de fármacos potencialmente reparadores miocárdicos. (Arq Bras Cardiol 2009;92(3): 216-220)

Palabras clave: Cardiomiopatía hipertrófica, biopsia, colágeno.

Introducción

En la cardiomiopatía hipertrófica (CMH), la fibrosis miocárdica intersticial se muestra una importante alteración histológica¹⁻³. Estudios previos han demostrado el rol de la fibrosis miocárdica en la disfunción diastólica del ventrículo izquierdo (VI)⁴ así como su potencial asociación tanto con la evolución hacia la forma dilatada como con la muerte súbita⁵. Sin embargo, no hay estudio disponible que haya evaluado esa potencial asociación de forma prospectiva.

La biopsia endomiocárdica ventricular derecha es un método de bajo riesgo por medio del cual se puede obtener muestras del septo interventricular adecuadas para un estudio histológico^{6,7}. Se codujo el presente estudio con el objetivo de evaluar si la extensión de la fibrosis miocárdica puede configurarse un predictor de muerte en pacientes con CMH.

Métodos

Población

Se reclutaron a los pacientes en el ambulatorio de la Unidad Clínica de Miocardiopatías del Instituto do Coração – Hospital de Clínicas – Facultad de Medicina de la Universidad de São Paulo. Se estableció previamente el diagnóstico de CMH con base en el cuadro clínico y en la demostración ecocardiográfica de hipertrofia del VI (espesor de cualquier segmento ≥ 15 mm) sin dilatación de la cavidad, y en ausencia de cualquier otra condición cardíaca o sistémica que pudiera ser factor causador de la hipertrofia⁸. Los pacientes incluidos deberían tener menos de 60 años de edad. Los criterios de exclusión fueron los siguientes: cirugía (miectomía septal) previa, marcapaso, enfermedad coronaria comprobada o con razonable sospecha, así como comorbidades (diabetes, enfermedad pulmonar crónica, insuficiencia renal crónica). Con el propósito de formarse un grupo control, se recolectaron muestras de corazones macroscópicamente normales de nueve individuos que fallecieron por causas no cardíacas. Se obtuvieron dichas muestras a través de incisión en la cara ventricular derecha del septo interventricular.

Se sometió el protocolo del estudio a las comisiones

Correspondencia: Edmundo Arteaga Fernández •

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

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

Artículo recibido el 19/06/08; revisado recibido el 22/07/08;

aceptado el 04/08/08.

científica y de ética de la Institución. Todos los pacientes incluidos firmaron el formulario de consentimiento libre.

Histología

Cirujanos con acumulada experiencia en el método realizaron las biopsias, conducidas según la técnica descrita por Mason⁷. Resumidamente, se introdujo un biótomo de Caves-Schultz a través de punción de la vena yugular interna derecha, lo que permitió la obtención de cuatro muestras endomiocárdicas en puntos distintos de la cara derecha del septo interventricular. Tras la fijación en formaldehído al 10%, se prepararon las muestras de los pacientes y del grupo control en parafina, seccionadas en cortes con espesor de 5 μm , y coloreadas con el colorante colágeno específico *Sirius red* F3BA (*picrosirius red*). El médico responsable del análisis de las láminas nada sabía acerca de los pacientes ni del objetivo de la investigación. Se eligió la fracción de volumen de colágeno (FVC) como el indicador para cuantificación del colágeno intersticial⁸. En resumen, a través de la microscopía óptica, se verificó la FVC con el auxilio de la herramienta Quantimet 520 Image Analyses (Leica, Inc. Deerfield, IL, EUA). Al excluir el colágeno endocárdico y perivascular, se calculó la FVC intersticial como el área ocupada por el tejido coloreado en rojo, dividida por el área total del miocardio visible. Así, cuanto mayor la FVC, más intenso se puede considerar el grado de fibrosis intersticial. Para cada paciente y cada control, se examinaron 15 campos microscópicos, para entonces computarse la FVC promedio con la finalidad de atender a los objetivos del estudio. Se accionó un observador independiente para evaluar algunas muestras aleatorias, y se obtuvo una concordancia interobservador al rededor del 90%.

Características clínicas y ecocardiográficas

Se registraron a la época de realización de las biopsias las siguientes características: datos demográficos, historia familiar, síntomas, examen físico, electrocardiograma y medicación en uso. Al ecocardiograma, se verificaron las siguientes variables unidimensionales: diámetro atrial izquierdo, diámetro diastólico interno del VI, espesor del septo y de la pared posterior del VI y la fracción de acortamiento sistólico del VI. Se midió el gradiente sistólico máximo con la utilización del Doppler continuo a lo largo del tracto de salida.

Seguimiento

Los eventos mayores, monitoreados durante el período del estudio, fueron: muerte por cualquier causa, muerte por causa cardiaca, accidente vascular cerebral fatal y no fatal y paro cardiaco recuperado. Se recolectaron las informaciones, a lo largo del período, por medio de los prontuarios del InCor, por contacto directo con los pacientes y familiares, o, aún, por contacto con el médico que asistió al paciente.

Análisis estadístico

Variables expresadas como promedio o medianas, de acuerdo con el tipo de distribución (prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov). Se compararon los grupos a través de la prueba *t* o la prueba de Mann-Whitney. Se verificaron correlaciones con la utilización del coeficiente de Spearman.

Ya las curvas de sobrevida libre de mayores eventos en los grupos con FVC supra e inframediana se compararon por vía del método Kaplan-Meyer. Se acató como nivel de significancia estadística, caso $p < 0,05$.

Resultados

Entre abril de 1995 y marzo de 1996, 24 pacientes con CMH que atendieron los criterios de inclusión y que estaban de acuerdo con participar del estudio se sometieron a biopsia endomiocárdica. Todos los procedimientos ocurrieron sin complicaciones. Se excluyeron a tres pacientes porque no se consideraron adecuadas las muestras para análisis histológico. La tabla 1 registra las características de los pacientes estudiados, así como sus respectivas FVC. La edad promedio fue de 37,7 años (16 a 59), con una predominancia del 67% del sexo femenino.

FVC

En los pacientes con CMH, la FVC se distribuyó de forma asimétrica (mediana 6,19%, mínimo 1,86%, máximo 29,9%), mientras que la distribución se mostró normal en el grupo control (mediana 0,36, mínimo 0,13%, máximo 1,46%); $p < 0,0001$ (fig.1). Es importante observar que el valor máximo de la FVC verificado en el grupo control resultó menor que el valor mínimo de la FVC encontrado en los pacientes. La fig.2 ejemplifica imágenes histológicas de un corazón normal, así como de pacientes con FVC baja y elevada.

Análisis univariado

Entre los pacientes, no hubo correlación de la FVC con la edad, así como no se establecieron correlaciones significantes de las variables ecocardiográficas (se detectó una débil correlación con el diámetro atrial izquierdo: $r = 0,31$, $p = 0,08$).

Comparaciones

Se compararon dos grupos de pacientes: 11 pacientes con $FVC \leq 6,19\%$ (inframediano) y 10 pacientes con $FVC > 6,19\%$ (supramediano). Entre esos grupos no existieron diferencias

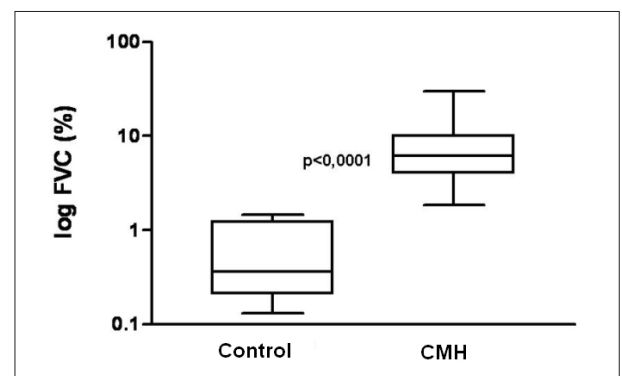


Figura 1 - Distribución de la FVC en los corazones control y en los pacientes con CMH. Los gráficos muestran las medianas (barras horizontales), los percentiles 25 y 75 (límites inferiores y superiores de las cajas) y, también los valores absolutos inferiores y superiores (barras de error).

Tabla 1 – Características demográficas, variables ecocardiográficas y FVC de los pacientes

Paciente	Edad	Sexo	Seguimiento (meses)	AE (mm)	DDVI (mm)	SIV (mm)	FI VI (%)	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 acuerdo con la entrada en el estudio. AI - diámetro del atrio izquierdo; DDVI - diámetro diastólico interno del VI; SIV - espesor diastólico del septo interventricular; FAVI - fracción de acortamiento sistólico del VI; FVC - fracción de volumen de colágeno; † - muerte por insuficiencia cardíaca; †† - muerte súbita.

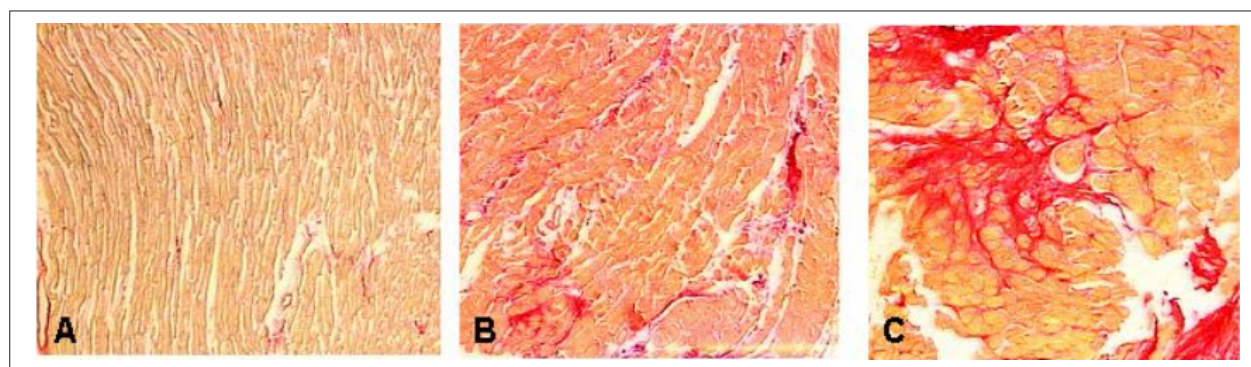


Figura 2 - Microfotografía (10x) de fragmentos miocárdicos. El colágeno está pintado en rojo; A - muestra control; B - paciente con FVC baja; C - paciente con gran cantidad de colágeno intersticial.

promedios basales en edad, clase funcional, diámetro atrial izquierdo, diámetro y acortamiento sistólico del VI, tampoco en el espesor parietal y en el gradiente obstructivo (tab.2).

Seguimiento

Un período promedio de 111,6 meses ha transcurrido desde la realización de las biopsias hasta diciembre de 2006, donde tuvo lugar la última verificación del estado vital de todos los 21 participantes. Se registraron cuatro muertes, dos súbitas y otras dos por insuficiencia cardíaca.

Los cuatro óbitos ocurrieron a los 16, 28, 45 e 69 meses tras la realización de las biopsias. Los pacientes que fallecieron súbitamente eran relativamente jóvenes, no presentaban hipertrofia maciza, no relataban síncoas y tampoco tenían taquicardia ventricular documentada. Uno de ellos tenía historia familiar de muerte súbita. Se contactaron a los 17 supervivientes personalmente, al final del período ya referido y no hubo relatos de eventos graves, incluso aquí el accidente cerebrovascular. En la fig.3 están detalladas las curvas de supervivencia de los dos grupos.

Tabla 2 – Comparaciones entre los pacientes con FVC infra y supramediana

	FVC ≤ 6,19% n=11	FVC > 6,19% n=10	P
Edad (promedio, variación)	36,9 (16 a 58)	38,6 (17 a 59)	NS
Sexo masculino (%)	52%	40%	NS
AI (mm)	46,8±8	49,1±7	NS
DDVI (mm)	43,1±3	44,8±5	NS
SIV (mm)	19,9±4	20,3±4	NS
FEVI (%)	39,2±3	37,1±5	NS
Gradiente (mmHg)	54±41	49±36	NS

AI - diámetro atrial izquierdo; DDVI - diámetro diastólico del VI; SIV - espesor del septo interventricular; FEVI - fracción de acortamiento sistólico do VI; NS - no significante.

Discusión

En el presente estudio, se asoció la cantidad de colágeno miocárdico a un peor pronóstico en pacientes seleccionados con CMH. Además de ello, se demostró una diferencia evidente entre la FVC de corazones normales y la de corazones con CMH, lo que refuerza la validez del método histológico utilizado. Resulta también relevante enfatizar que los datos clínicos y ecocardiográficos basales no se mostraron capaces de predecir la cantidad de colágeno miocárdico intersticial. Al final del período estudiado, todos los pacientes con FVC baja (aquí definidos como valores inframedianos) estaban vivos y libres de eventos potencialmente letales, mientras que el 40% de los pacientes con FVC elevada (supramediana) murieron por causas cardíacas.

Algunos estudios han asociado fibrosis miocárdica con severidad patológica en la CMH^{9,10}. Con el incremento de la fibrosis, la función diastólica del VI empeora, y la insuficiencia cardíaca tiende a avanzar hacia el estadio dilatado con disfunción sistólica, lo que resulta particularmente grave en la CMH. Además de ello, el riesgo de muerte súbita puede aumentar una vez que las cicatrices fibróticas se revelan potencialmente arritmogénicas. No se sabe qué factores

contribuyen decisivamente para acelerar la acumulación de colágeno entre las fibras miocárdicas hipertrofiadas de pacientes con CMH^{11,12}. Las diferentes mutaciones causales deben ejercer un rol importante, así como otros polimorfismos genéticos y factores ambientales¹³.

El presente estudio es el primero a prospectar una conexión entre la cantidad de colágeno miocárdico y el pronóstico en la CMH. La muestra poblacional no permitió un análisis multivariado con poder suficiente para establecer formalmente la pretendida conexión, aunque el largo período de seguimiento se haya convertido en un factor de refuerzo para los hallazgos aquí relatados. Como la biopsia endomiocárdica no es actualmente recomendada para pacientes con CMH¹⁴, creemos que nuestros hallazgos no tengan fuerza suficiente para provocar una revisión de esa directriz internacional. Por otra parte, una nueva fase de evaluación está en franco desarrollo por medio de la resonancia magnética nuclear, que ha permitido la identificación y la semicuantificación de la fibrosis miocárdica en la CMH^{15,16}. Algunas publicaciones recientes ya han demostrado que la fibrosis detectada por realce tardío con gadolinio ha sido asociada a las arritmias y la severidad de dicha enfermedad^{17,18}. Se deben conducirse estudios retrospectivos y prospectivos, no sólo para dar soporte y monitoreo a terapéuticas reparadoras miocárdicas, sino también para determinar imágenes y estándares que puedan identificar pacientes portadores de CMH con riesgo aumentado de muerte súbita o congestiva, lo que mejoraría la selección para implante de desfibriladores^{19,20}.

Potencial Conflicto de Intereses

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

Fuentes de Financiación

El presente estudio no tuvo fuentes de financiación externas.

Vinculación Académica

Este artículo forma parte de tesis de Doctorado de Mauricio Bernstein por la Facultad de Medicina de la Universidad de São Paulo.

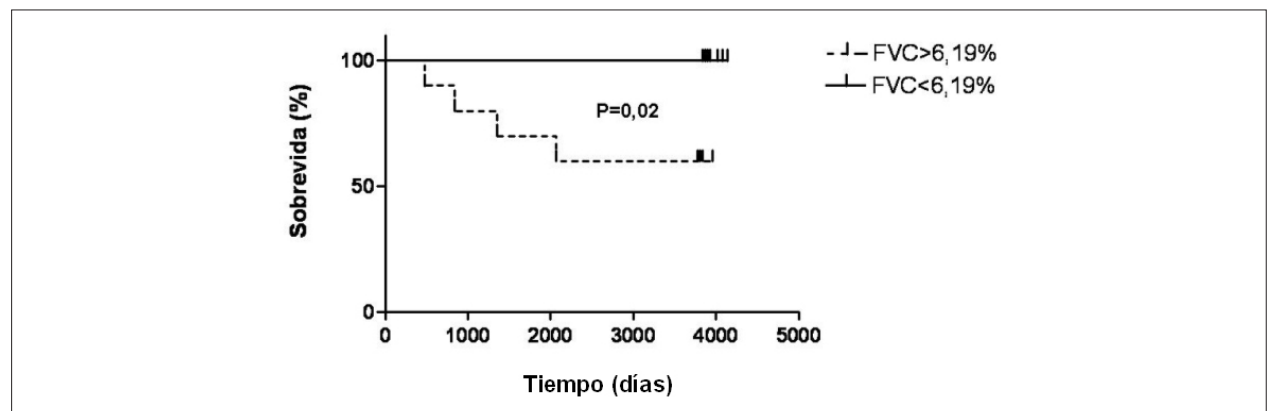


Figura 3 - Curvas de sobrevida de los pacientes con CMH, separados por FVC abajo y arriba del valor mediano del 6,19%.

Referencias

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.