

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós Graduação em Ciências Cardiovasculares: Cardiologia

Dissertação de Mestrado

Associação de variáveis histopatológicas de biópsias endomiocárdicas pré e pós
cirúrgicas com os resultados clínicos de pacientes
com disfunção ventricular esquerda grave submetidos
à revascularização do miocárdio

Aluno: ***Paulo Lavaniere de Azevedo Moreno***

Orientadores: Orlando C. B. Wender
Nadine Clausell

Porto Alegre, dezembro 2001

Dedicatória

Dedico a memória de Thales de Azevedo, médico, antropólogo e meu avô baiano, que apaixonou-se por uma gaúcha do Alegrete e passou a estudar, admirar e escrever muitas obras sobre o povo do Rio Grande.

AGRADECIMENTOS

À minha família, pois sem ela nada teria sentido.

A todos os 24 pacientes, que num gesto de amor ao próximo e a ciência, permitiram a realização desse trabalho.

À minha orientadora, Prof^a. Nadine Clausell por seu amor a medicina, ao paciente, ao ensino e a especial atenção que me dedicou.

Ao meu orientador, Prof. Orlando Wender pela imensa oportunidade de trabalho e aprendizado que me proporcionou.

À Dr^a. Marinez Barra, que teve papel fundamental para a análise e conclusão deste trabalho.

Ao Dr. Ivo Nesralla, por sempre transmitir o seu entusiasmo pela cardiologia, pela cirurgia cardíaca e pela pesquisa.

Ao Dr. Renato A. K. Kalil, pelo exemplo de homem, de colega, de cirurgião, de pesquisador e pelos pacientes referenciados para este trabalho.

À Dr^a. Lucia Campos Pellanda e ao Dr. Luis Eduardo Rohde, por importantes contribuições na análise estatística.

À equipe da medicina nuclear, Dr. Roberto Ludwig, Dr. Paulo Carvalho e Dr. Cesar Graeff Santos, por estarem sempre a disposição para ajudar.

À equipe de anestesistas do SANE, que tiveram muito trabalho com os nossos pacientes graves e em especial a Dr^a. Lísia Gallant Fraçois que contribuiu na descrição da técnica anestésica.

À equipe de anestesistas da cirurgia cardíaca do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, que também tiveram muito trabalho devido a gravidade dos pacientes.

À equipe de enfermagem e perfusionistas, sempre colaborativos e dedicados.

Aos colegas Dr^a. Rosiê Rigatti (patologista) e Tiago Leiria (doutorando), por importantes contribuições.

Ao Dr. Rogério Sarmiento Leite, primo, amigo, companheiro e incentivador.

À equipe da pesquisa do Instituto de Cardiologia, Fundação Universitária de Cardiologia, em especial ao Ângelo de Souza.

ÍNDICE

Lista de Figuras	ii
Lista de Tabelas.....	iii
Revisão da Literatura	1
Hipótese	14
Objetivos	14
<i>Artigo em Português</i>	15
Introdução	18
Métodos	20
Resultados	24
Discussão	34
Conclusões	50
<i>Artigo em Inglês</i>	51
Introduction	54
Methods	56
Results	60
.....	60
<i>Discussion</i>	70
Anexos	85
Termo de consentimento	86
Variáveis histológicas individuais dos pacientes estudados	88

LISTA DE FIGURAS
(versão em português)

- Figura 1** – Dados individuais referentes à mudança na classe funcional de insuficiência cardíaca pela NYHA dos pacientes estudados, comparando pré e pós cirurgia de revascularização miocárdica.27
- Figura 2** – Dados individuais e média \pm DP referentes à fração de ejeção em todos os pacientes estudados, comparando pré e pós cirurgia de revascularização miocárdica.28
- Figura 3** – Gráfico representativo da variação da fração de ejeção entre pré e pós revascularização miocárdica em 16 pacientes estudados conforme escore combinado das 3 variáveis histopatológicas obtidas em biópsias endomiocárdicas no pré operatório.30
- Figura 4** - Fotomicrografia ilustrativa da presença de hipertrofia de miócito em biópsia endomiocárdica. Coloração hematoxilina e eosina, magnificação 100 X.31
- Figura 5** - Fotomicrografia ilustrativa da presença de miocitólise em biópsia endomiocárdica. Coloração hematoxilina e eosina, magnificação 100 X.31
- Figura 6** - Fotomicrografia ilustrativa de ausência de fibrose em biópsia endomiocárdica. Coloração Masson, magnificação 400 X.32
- Figura 7** – Fotomicrografia ilustrativa da presença de fibrose moderada em biópsia endomiocárdica. Coloração Masson, magnificação 400 X.32
- Figura 8** – Fotomicrografia ilustrativa da presença de fibrose severa em biópsia endomiocárdica. Coloração Masson, magnificação 400 X.33

LISTA DE TABELAS
(versão em português)

Tabela 1 – Características basais da população estudada	25
Tabela 2 - Perfil demográfico da população estudada	26
Tabela 3 - Variáveis histológicas no pré e pós-operatório de acordo com diminuição ou aumento na fração de ejeção após cirurgia de revascularização miocárdica.	29

REVISÃO DA LITERATURA

A cardiopatia isquêmica é caracterizada como uma síndrome em que ocorre um desbalanço entre a demanda e o consumo de oxigênio do miocárdio (1,2). A isquemia é caracterizada não somente pela insuficiência de oxigênio, mas também pela redução no fornecimento de nutrientes e inadequada remoção de metabólitos. A insuficiência cardíaca é uma síndrome e, como tal, pode ocorrer em consequência de anormalidades estruturais que afetam as artérias coronárias, o pericárdio, o miocárdio ou válvulas cardíacas. A cardiopatia isquêmica é uma das causas mais frequentes de insuficiência cardíaca. Concomitantemente, existem fatores que precipitam a descompensação da insuficiência cardíaca, entre eles arritmias, infecções sistêmicas, doenças associadas, embolia pulmonar ou simplesmente a má aderência ao tratamento proposto (3).

Considerada a doença dos países e regiões industrializadas, a doença isquêmica do coração é a maior causa de óbitos e hospitalizações em todo o mundo, isoladamente. No Brasil, de Julho a Dezembro de 1999, houve quase 20 mil internações (19.536) por infarto agudo do miocárdio no Sistema Único de Saúde (Sistema de Informações Hospitalares do SUS – SIH/SUS 2000). Como atinge, em sua maioria, uma população economicamente ativa, o seu impacto social se torna ainda mais importante.

A cardiopatia isquêmica é causada pela arteriosclerose, que significa literalmente o envelhecimento das artérias. Geneticamente, este termo é utilizado para denominar três modelos de doença vascular que tem em comum o espessamento e a perda da elasticidade da parede arterial. A doença coronariana é a verdadeira arteriosclerose, doença das pequenas artérias e arteríolas. Duas variantes anatômicas, a hialina e a hiperplásica,

causam o espessamento da parede vascular com estreitamento da luz, levando a isquemia. Este modelo é freqüentemente associado com doença hipertensiva arterial e diabete melito. As principais causas para o desencadeamento dessas alterações vasculares são: hereditariedade, dislipidemia, diabete melito, hipertensão arterial sistêmica e tabagismo, associados a outros fatores como elevados níveis séricos de homocisteína, fatores que alteram a hemostasia e trombooses, sedentarismo, personalidade competitiva e estressada (personalidade "tipo A") e ganho de peso descontrolado (4).

Os primeiros registros sobre o efeito da oclusão coronariana na função cardíaca foram relatados por Chirac (5) em 1698. Em 1912, Herrick (6) relatou que uma oclusão permanente de uma artéria coronária levando ao infarto agudo do miocárdio. A moderna era da pesquisa fisiológica sobre as conseqüências da isquemia miocárdica, iniciou em 1935 com Tennant e Wiggers (7).

Posteriormente, evidenciou-se que após breves períodos de isquemia não letal, a estrutura, o metabolismo e as propriedades funcionais de injúria miocárdica eram reversíveis, contudo persistiam por vários dias antes de recuperar todas as propriedades. Assim, breves períodos de isquemia podem abalar a função do coração porém, não levando a um dano irreversível como a necrose (8,9).

Após quinze minutos de oclusão coronariana, em um cão, a concentração de ATP na zona central da isquemia diminui para 50% do normal e continua com uma redução de 22% após três dias de reperfusão, assim como a função cardíaca, esses valores retornam a normalidade em uma semana (10). Com o mesmo tempo de isquemia, a célula miocárdica apresentava alargamento das bandas I, sugerindo um relaxamento miocárdico ou um estiramento, devido à contração de células adjacentes, mostrando também a depleção de

grânulos de glicogênio, agrupamento e marginalização da cromatina nuclear e moderado edema intermiofibrilar e mitocondrial (11,12).

As alterações morfológicas do infarto agudo do miocárdio até 30 minutos iniciais, só são vistas ao microscópio eletrônico: relaxamento miofibrilar, depleção de glicogênio e edema mitocondrial. Entre 30 minutos e 4 horas, ainda sob visão do microscópio eletrônico, ocorre ruptura do sarcolema e uma apresentação mitocondrial de densidade amorfa. Entre 4 e 12 horas, inicia a necrose de coagulação, edema e hemorragia. A partir da 12^a hora de infarto se estabelece a necrose de coagulação, picnose nuclear, hipereosinofilia miocitária, contração e necrose da banda marginal e inicia o infiltrado neutrocitário. Após 24 horas, até o 3^o dia, a necrose de coagulação apresenta-se com perda do núcleo “striations” e infiltrado intersticial de neutrófilos (1). A partir desse momento, até o 7^o dia, inicia a desintegração das miofibrilas mortas por macrófagos, nas bordas do infarto. Neste período, entre o 1^o e 4^o dia, ocorre a maior incidência de complicações mecânicas do infarto agudo do miocárdio (13). Entre o sétimo e o décimo dia, é avançado o estado de fagocitose de células mortas e inicia a formação de tecido de granulação fibrovascular perilesional. Até o décimo quarto dia, estabelece-se o tecido de granulação, com neoformação vascular e depósito de colágeno. O depósito de colágeno vai aumentando até a oitava semana, com diminuição da celularidade. A partir do segundo mês, encontramos densa cicatriz de colágeno (1).

A insuficiência cardíaca grave é consequente da dilatação das cavidades e alterações microestruturais no miocárdio. Trabalhos experimentais, em modelos animais, com miocardiopatia dilatada associada à cardiopatia isquêmica, têm mostrado alterações na matriz extracelular, principalmente com degradação do colágeno, num processo similar

a inflamação, cicatrização, reparo tecidual e remodelamento . Esse processo predisporia a um desarranjo nas fibras miocitárias (14,15,16).

Em relação ao termo remodelamento, “remodeling”, em inglês, não aparece em nenhum dicionário Webster’s ou Roget’s Thesaurus. Contudo, Buckberg encontrou o antônimo de modelo que é insalubre e imperfeito. Em um dicionário, “remodel” é definido como refazer, trazer para o normal (17). Em português, remodelar é: tornar a modelar, refazer com modificações profundas, segundo o dicionário Aurélio (18).

A hipertrofia e a necrose miocárdica são alterações estruturais observadas em pacientes com insuficiência cardíaca e estão intimamente relacionadas à patogênese da mesma. A hipertrofia ventricular constitui um dos principais mecanismos para compensação de sobrecargas volumétricas e pressóricas. O miócito hipertrofia-se, ocorre um aumento de massa miofibrilar e da síntese de fatores de crescimento, bem como um aumento do colágeno, determinando fibrose intersticial e das artérias coronarianas. Após um período de melhora da função contrátil, ocorre lise das miofibrilas, aumentando o número de lisosomas, distorção dos sarcoplasmas e fibrose. Além disso, a densidade de capilares e reserva coronariana diminuem, provocando isquemia subendocárdica, o que contribui ainda mais para a deterioração da função cardíaca, tanto sistólica como diastólica. Finalmente, a função do miócito se deteriora e a insuficiência cardíaca se instala (15-19).

A necrose dos miócitos é outro componente na patogênese da insuficiência cardíaca. Esta pode ser localizada, como ocorre no infarto do miocárdio, ou difusa, como consequência de miocardiopatia isquêmica. Independente da causa, ocorre uma sobrecarga dos miócitos remanescentes, com hipertrofia e deterioração de sua função, levando a um

ciclo vicioso. Concomitantemente, a substituição do tecido necrótico por tecido fibroso, com conseqüente remodelamento ventricular (14, 15, 16, 19). Além disto, ocorre um desarranjo da matriz extracelular do miocárdio, e conseqüentemente aumentando o prejuízo da função ventricular sistólica e diastólica. As fibras de colágeno, que mantêm a estrutura miocárdica, organizando e harmonizando as linhas de força e tensão geradas pela contração cardíaca, sofrem um processo de desorganização, com degradação aumentada, edema dos espaços intermusculares e maior acúmulo de colágeno tipo I em relação ao colágeno tipo III, o que provoca a deterioração da contratilidade e diminuição da complacência cardíaca (14, 20, 21). A presença de uma enzima reguladora do colágeno, a colagenase, foi demonstrada no perimísio e endomísio cardíaco, porém o padrão de sua expressão no coração dilatado ou hipertrófico não foi determinado (16). Não existe correlação entre o estado funcional, e mudanças no padrão histopatológico dos elementos da matriz extracelular, que possam desempenhar um papel no remodelamento alterado do ventrículo, especialmente, após cirurgia de revascularização miocárdica.

Em 1977, Stinson & Billingham realizaram um estudo correlacionando a histologia do ventrículo esquerdo com a função contrátil. Com biópsias transmuralis ântero-laterais próximas ao ápice, com uma agulha de 1,5 mm de diâmetro em 110 pacientes com sintoma predominante de angina pectoris refratária ao tratamento medicamentoso sendo que 7,2% com clínica de insuficiência cardíaca, referenciados para cirurgia de revascularização do miocárdio. Criaram uma graduação de fibrose, sendo: grau I: ausência de fibrose (histologia miocárdica normal); grau II: fibrose miocárdica leve a moderada com preservação da arquitetura morfológica do miocárdio ou leves alterações como ruptura de fascículos; grau III: fibrose moderada a severa com ruptura da

arquitetura e perda de massa muscular; grau IV: total reposição por tecido fibroso. De maneira geral, foi encontrado uma relação entre a contratilidade regional e o grau de fibrose ($r=0,66$, $p=0,005$). Não obstante, um número substancial (15% do grupo) de discordâncias entre o achado patológico e a motilidade ventricular foi evidenciada em pacientes sem infarto. A maior parte desses achados ocorreu nos casos de motilidade comprometida e histologicamente normais, porém com isquemia no segmento ST (22).

Schuster e Bulkley, estudando 14 corações de necrópsias, de etiologia isquêmica e excluindo: história de hipertensão, etilismo, doença valvar primária, cardiopatia congênita, aneurisma ventricular ou outras doenças como sarcoidose, amiloidose ou cardiomiopatia hipertrófica, verificaram que todas as peças apresentavam dilatação biventricular sem formação aneurismática, porém a quantidade de músculo infartado, em média, foi de apenas 25% (8 a 46%). Todos os pacientes apresentavam clínica de insuficiência cardíaca e evidências patológicas de infarto, com tecido de cicatrização (fibrose) em todas as peças. O miocárdio não infartado apresentava hipertrofia celular focal, focos de fibrose perivascular e nenhuma outra anormalidade histológica. Este estudo revelou que havia apenas uma perda moderada de miocárdio (23). Flameng, em 1981 (24), relacionando a motilidade segmentar do ventrículo esquerdo com alterações histológicas, realizou biópsias, com agulha Tru-Cut de 1,5mm de diâmetro, na região irrigada pela artéria descendente anterior, durante o transoperatório, no início da circulação extracorpórea. Em vista do microscópio óptico era determinado o grau de fibrose em uma grade especial, técnica já utilizada pelo autor em outro estudo (25). Foi encontrado $19,8 \pm 1,5\%$ de fibrose em miocárdio de motilidade normocinética, quando apresentava hipocinesia, sem sinais de infarto ao eletrocardiograma, a porcentagem de fibrose não foi muito maior $20,2 \pm 1,8\%$.

No entanto, quando apresentava hipocinesia e infarto ao eletrocardiograma a porcentagem de fibrose foi de $40,3 \pm 4,4\%$ ($p > 0,001$). Foi encontrado um valor médio de 20% de fibrose (5 a 36%) em segmentos com contratilidade normal. Este autor relacionou a perda da motilidade com a perda de material contrátil e desde já, acreditava ser reversível com a revascularização. Este mesmo autor, em 1984 (26), realizou biópsias em pacientes isquêmicos com técnica similar, porém utilizou a classificação de Stinson e Billingham (22) para fibrose e alterações ultra estruturais, correlacionando com motilidade segmentar do ventrículo esquerdo e mudanças eletrocardiográficas. Ao microscópio óptico, muitas biópsias mostraram miocárdio normal, porém outras mostraram sinais típicos de degeneração celular. A redução do material contrátil é uma característica típica de vacuolização. Esta lise miofibrilar se localiza normalmente em volta do núcleo, resultando num halo perinuclear. Em nível estrutural, o mais proeminente achado foi o perda dos sarcomeros e miofibrilas, acompanhado pela formação de material anormal da banda Z que sempre se estende para a periferia celular. A área em volta do núcleo fica completamente vazia de material contrátil e é preenchida por uma grande quantidade de aglomerado de filamentos do citoesqueleto, mitocôndrias e glicogênio. O retículo sarcoplasmático é praticamente ausente neste grau de degeneração celular, restando apenas uma ou duas fileiras de sarcomero ao longo da membrana plasmática. Fibrose foi um achado freqüente e, na maioria das vezes, associado a alterações degenerativas. No entanto, degeneração celular não estava invariavelmente associada com fibrose. A porcentagem de miócitos normais foi significativamente inferior no subendocárdio em relação ao subepicárdio. Diferença também encontrada no grau de fibrose que, no subendocárdio, foi altamente correlacionado com a fração de ejeção e alterações no

eletrocardiograma, ao contrário do subepicárdio que não se correlacionou. Vanovershelde (27), em 1993, também realizando biópsias transmuralis no transoperatório de revascularização, evidenciou as alterações estruturais de miócitos, em área de disfunção contrátil do ventrículo esquerdo dependente de circulação colateral, tais como: perda do conteúdo miofibrilar, acúmulo de glicogênio, edema celular, redução do retículo sarcoplasmático, núcleo com formato irregular e surgimento de numerosas pequenas mitocôndrias. Alguns estudos sugerem que as alterações estruturais que ocorrem no miocárdio hibernante eram em consequência de diferentes processos e, na realidade, o cardiomiócito hibernante apresenta algumas características semelhantes ao cardiomiócito neonatal, tais como: depleção de filamentos de contratibilidade, presença de retículo sarcoplasmático rugoso, acúmulo de glicogênio, núcleo com formato irregular e distribuição peculiar da cromatina, perda de retículo sarcoplasmático organizado, falta de túbulos T e vesiculação de sarcolema (28). Depré e colaboradores estudaram 24 pacientes, não diabéticos, com disfunção isquêmica da parede anterior do ventrículo esquerdo e correlacionaram a amplitude e a extensão da recuperação mecânica da contratilidade, seis meses após uma revascularização de sucesso, com os resultados de uma análise morfológica detalhada do miocárdio biopsiado durante o transoperatório. Eles observaram que o miocárdio que obteve maior incremento na fração de ejeção, após a cirurgia, apresentava, em nível transmural e subendocárdio, significativamente menos fibrose e mais cardiomiócitos metabolicamente ativos em comparação aos que persistiram com disfunção (29).

Outros estudos morfológicos do miocárdio hibernante humano tem demonstrado que o processo de hibernação envolve mais que uma simples adaptação do coração a

estenose coronariana crônica e resulta em complexas alterações estruturais tanto a nível de miócito como de matrix extracelular. Dessa forma também, a recuperação da função contrátil após a revascularização é variável, compatível com a natureza heterogênea da doença, a falta de uniformidade na seleção dos pacientes, a extensão e qualidade da revascularização e o momento da reavaliação. No momento, nenhum dos estudos conseguiu identificar quais os mecanismos envolvidos na restauração da contratilidade após a revascularização (30). Sendo assim, ainda é desafiador documentar o ponto em que qualquer injúria miocárdica se torna irreversível, nem tão pouco correlacionar uma disfunção global ou regional, mostrada pela cintilografia ou ecocardiografia, com o seu substrato morfológico (31).

Portanto, neste estudo, analisamos pacientes com disfunção ventricular grave, submetidos a cirurgia de revascularização do miocárdio, com biópsias pré e pós operatórias, procurando associar as variáveis histopatológicas com os desfechos funcionais, avaliados pela classe funcional de insuficiência cardíaca e a fração de ejeção do ventrículo esquerdo, ocorrendo 6 meses após a cirurgia.

Referências Bibliográficas

1. Schoen FS. The Heart. In: Cotran RS, Kumar V, Collins T. *Robbins Pathologic Basis of Disease*. 6th ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 1999:543.
2. Gottschall CAM. Circulação coronariana. In: Gottschall CAM. *Função Cardíaca da Normalidade à Insuficiência*. São Paulo: Fundo Editorial BYK, 1995:88-100.
3. Braunwald E, Colucci WS, Grossman W. Clinical aspects of heart failure: high output heart failure; pulmonary edema. In: Braunwald E, ed. *Heart Disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 5th edition. Philadelphia: W.B. Saunders Co, 1997:445-70.
4. Schoen FJ, Cotran RS. Blood vessels. In: Cotran RS, Kumar V, Collins T. *Robbins Pathologic Basis of Disease*. 6th ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 1999:493-541.
5. Chirac P. De Motu Cordis. *Adversaria Analytica* 1698:121.
6. Herrick JB. Clinical features of sudden obstruction of the coronary arteries. *JAMA* 1912;59:2015.
7. Tennant T, Wiggers CJ. Effect of coronary occlusion on myocardial contraction. *Am J Physiol* 1935;112:351.
8. Blumgart HL, Gilligan DR, Schlesinger MJ. Experimental studies on the effects temporary occlusion of the coronary arteries in the production of myocardial infarction. *Am Heart J* 1941;21:374.

9. Braunwald E, Klonen RA. The stunned myocardium, prolonged, post ischemic ventricular dysfunction. *Circulation* 1982;66(6):1146-49.
10. De Boer FWV, Ingwall JS, Kloner RA, Braunwald E. Prolonged derangements of canine myocardial purine metabolism after a brief coronary artery occlusion not associated with anatomic evidence of necrosis. *Proc Nat Acad Sci* 1980;77:5471.
11. Jennings RB. Early phase of myocardial ischemic injury and infarction. *Am J Cardiol* 1969;24:753.
12. Jennings RB, Murry CE, Steenbergen C Jr, Reimer KA. Development of cell injury in sustained acute ischemia. *Circulation* 1990;82(3suppl):II2-12.
13. Antman B, Braunwald E. Acute myocardial infarction In: Braunwald E. *Heart Disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 5th edition. Philadelphia: WB Saunders Co, 1997:1284-88.
14. Weber KT. Cardiac interstitium in health and disease: the fibrillar collagen network. *J Am Coll Cardiol* 1989;13:1637-52.
15. Weber KT, Pick R, Silver MA, et al. Fibrillar collagen and remodeling of dilated canine left ventricle. *Circulation* 1990; 82:1387-401.
16. Colucci WS, Braunwald E. Pathophysiology of heart failure. In: Braunwald E. *Heart Disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 5th edition. Philadelphia: WB Saunders Co., 1997:394-420.

17. Buckberg GD. Co-mortality of ischemic and dilated cardiomyopathy: Laplace and Ventricular Restoration. *J Card Surg* 1999; 14:53-59.
18. Ferreira ABH. *Novo Dicionário Aurélio da Língua Portuguesa*. 2ªed. Rio de Janeiro: Nova Fiorentina AS, 1986:143.
19. Weber KT, Anversa P, Armstrong PWL. Remodeling and reparation of the cardiovascular system. *J Am Coll Cardiol* 1992;20:3-16.
20. Klappacher G, Franzen P, Heab D, et al. Measuring extracellular matrix turnover in the serum of patients with idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy and impress on diagnosis and prognosis. *Am J Cardiol* 1995;75:913-18.
21. Marijianowsky MM, Teeling P, Manh J, Becker AE. Dilated cardiomyopathy is associated with an increase in type I/type III collagen ratio: a quantitative assessment. *J Am Coll Cardiol* 1995; 25:1263-72.
22. Stinson ES, Billingham ME. Correlative study of regional left ventricular histology and contractile function. *Am J Cardiol* 1977;39(3):378-83.
23. Schuster EH, Bulkley BH. Ischemic cardiomyopathy: a clinico-pathologic study of fourteen patients. *Am Heart J* 1980;100:506.
24. Flameng W, Suy R, Schwarz F, Borges M, Piessens J, et al. Ultrastructural correlates of left ventricular contraction abnormalities in patients with chronic ischemic heart disease: determinants of reversible segmental asynergy post revascularization surgery. *Am Heart J* 1981;102:846.

25. Schwarz F, Flameng W, Thiedemann KU, Schlepper M. Effect of coronary stenosis on myocardial function, ultrastructural and aortocoronary bypass graft hemodynamics. *Am J Cardiol* 1978;42:193.
26. Flameng W, Wouters L, Segean LP, Lewi P, Borges M, et al. Multivariate analysis of angiographic, histologic, and electrocardiographic data in patients with coronary heart disease. *Circulation* 1984;70(1):7-17.
27. Vanovershelde SLJ, Wijna W, Essamri B, et al. Mechanisms of chronic regional postischemic dysfunction in humans; new insights from the study of noninfarcted collateral – Dependent myocardium. *Circulation* 1993;87:1513-23.
28. Borges M, Thomé F, Wouters L, Ausma J, Shivalkar B. Structural correlations of regional myocardial dysfunction in patients with critical coronary artery stenosis: chronic hibernation ? *Cardiovasc Pathol* 1993;2:237-45.
29. Depré C, Vanoverhelde JLJ, Melin JA, Borges M, Bor A, et al. Structural and metabolic correlates of the reversibility of chronic left ventricular ischemic dysfunction in humans. *Am J Physiol* 1995;268:H1265-H1275.
30. Vanovershelde JLJ, Wijns W, Borges M, Heyndrickx G, Depré C, et al. Chronic myocardial hibernation in humans, from bedside to bench. *Circulation* 1997;95:1961-71.
31. Baroldi G. Myocardial Cell Death, Including Ischemic Heart Disease and Its Complications. Silver MD, Gotheb A I, Schoen FJ. *Cardiovascular Pathology*. 3^o ed. Philadelphia: Churchill Livingstone 2001: 198-255.

HIPÓTESE

Em pacientes com disfunção ventricular grave secundária à cardiopatia isquêmica, a recuperação da função ventricular esquerda no pós-operatório está associada a um padrão histológico compatível com menor grau de remodelamento ventricular observado em biópsia endomiocárdica pré-operatória.

OBJETIVOS

1) Descrever o padrão histopatológico pré e pós operatório através de biópsia endomiocárdica em pacientes com disfunção ventricular grave, submetidos à cirurgia de revascularização do miocárdio.

2) Determinar a associação entre mudanças na fração de ejeção e alterações no padrão histopatológico miocárdico no pré e pós-operatório.

Associação de variáveis histopatológicas de biópsias endomiocárdicas pré e pós cirúrgicas com os resultados clínicos de pacientes com disfunção ventricular esquerda grave submetidos à revascularização do miocárdio

Paulo L. Moreno, Orlando B. Wender, Marinez Barra, Lucia Pellanda,

Luis E. Rohde, Nadine Clausell

Divisão de Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Departamento de Patologia, Fundação Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre - Fundação Universitária de Cardiologia do Rio Grande do Sul.

Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

Endereço para correspondência:

Dr. Nadine Clausell

Divisão de Cardiologia

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos, 2350- sala 2060

Porto Alegre- RS- 90035-003

Fone: 555133168344: FAX 555133424834

e-mail:clausell@portoweb.com.br

RESUMO

Introdução: A cirurgia de revascularização do miocárdio em pacientes com disfunção ventricular esquerda grave, criteriosamente selecionados, pode levar a um incremento na fração de ejeção e/ou melhora da classe funcional da New York Heart Association (NYHA) de insuficiência cardíaca. Neste estudo, buscamos variáveis histopatológicas que pudessem estar associadas com a melhora da fração de ejeção ventricular esquerda e/ou melhora na classe funcional de insuficiência cardíaca seis meses após a cirurgia.

Métodos: Vinte e quatro pacientes com indicação de cirurgia de revascularização do miocárdio, fração de ejeção ventricular esquerda $< 35\%$, classe funcional de insuficiência cardíaca variando de NYHA II a IV e idade média de 59 ± 9 anos, foram selecionados. Foram realizadas biópsias endomiocárdicas no transoperatório e repetidas seis meses depois através de punção venosa. Extensão de fibrose (% da área do miocárdio do espécime avaliado), miocitólise (número de células encontradas com miocitólise por campo) e hipertrofia da fibra miocárdica (medida através do menor diâmetro celular) foram quantificados utilizando um sistema analizador de imagem (Leica - Image Analysis System). As medidas de fração de ejeção, por ventriculografia radioisotópica, e avaliação da classe funcional de insuficiência cardíaca (NYHA), também foram repetidas após seis meses.

Resultados: Dos 24 pacientes inicialmente selecionados, sete foram a óbito antes dos seis meses e um recusou-se a repetir a segunda biópsia. Houve uma melhora significativa na classe funcional NYHA de insuficiência cardíaca nos sobreviventes seis meses após a cirurgia ($2,8 \pm 0,7$ vs. $1,7 \pm 0,6$; $p < 0,001$), enquanto que a fração de ejeção ventricular esquerda não se alterou ($25 \pm 6\%$ vs. $26 \pm 10\%$; $p = \text{NS}$). O grau de hipertrofia da fibra

muscular permaneceu estável entre o pré e o pós operatório (21 ± 4 vs. $22 \pm 4\mu\text{m}$), porém a extensão de fibrose (8 ± 8 vs. $21 \pm 15\%$ de área) e a quantidade de células apresentando miocitólise (9 ± 11 vs. $21 \pm 15\%$ /células) aumentaram. significativamente. Uma composição de escore histológico, combinando as três variáveis histopatológicas, indicando um menor grau de remodelamento no pré operatório, identificou um subgrupo de pacientes que apresentaram um incremento na fração de ejeção ventricular esquerda após a cirurgia de revascularização do miocárdio.

Conclusão: Em pacientes portadores de cardiopatia isquêmica e grave disfunção ventricular esquerda, a cirurgia de revascularização do miocárdio foi associada com um incremento na função ventricular em um subgrupo de pacientes que apresentavam, no pré operatório, um menor grau de remodelamento ventricular adverso, estimado pela composição de um escore histológico. Apesar da melhora na classe funcional de insuficiência cardíaca na maioria dos pacientes, e incremento na fração de ejeção ventricular esquerda em um subgrupo, alterações histológicas favoráveis, indicativos de reversão do remodelamento ventricular esquerdo, não devem ser esperados após a revascularização, ao menos num período de seis meses após a cirurgia.

INTRODUÇÃO

A doença arterial coronariana é a maior causa de insuficiência cardíaca congestiva. Após a fase aguda do infarto do miocárdio, um processo patológico, conhecido como remodelamento ventricular esquerdo, se inicia, dando início à progressão e instalação da síndrome de insuficiência cardíaca (1). Uma série de fatores estão associados com o desenvolvimento do remodelamento ventricular esquerdo, incluindo mediadores neurohormonais, como a ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), e o aumento do tônus simpático. Estes hormônios causam uma dilatação ventricular esquerda e conseqüentemente alterações na sua forma, levando à disfunção mecânica no processo de contração e relaxamento (2).

Em nível histopatológico, as alterações estruturais miocárdicas observadas incluem o aumento da fibrose, hipertrofia e distorção do miócito, miocitólise, mudança na relação do tipo de colágeno I/III e algum grau de atividade inflamatória associada com o aumento da degradação da matrix extra-celular, secundário à ação de enzimas chamadas metaloproteinases (3-5). Acredita-se que este processo é contínuo e auto-perpetuado, devido ao progressivo estresse mecânico na parede ventricular, sinalizando positivamente para a ativação do SRAA e do tônus simpático (2).

Apesar do progresso na terapia medicamentosa para pacientes portadores de insuficiência cardíaca congestiva, através do uso dos inibidores da enzima de conversão da angiotensina e de beta bloqueadores, os quais seriam moduladores favoráveis do remodelamento ventricular, o prognóstico para os portadores de miocardiopatia isquêmica avançada continua reservado (6, 7). Nos últimos anos, atenção especial tem sido dada aos resultados da revascularização do miocárdio nestas circunstâncias devido ao incremento

da função ventricular esquerda e melhora da sobrevida observados nestes pacientes (8-10). Contudo a identificação dos pacientes que realmente podem se beneficiar da cirurgia continua um desafio. Além disso, é desconhecido se mudanças histopatológicas indicativas de reversão no processo de remodelamento ventricular possam estar associadas a uma potencial melhora clínica e funcional, observadas no pós operatório.

Neste estudo, nós testamos a hipótese de que melhora clínica e/ou incremento na fração de ejeção ventricular esquerda em pacientes com cardiomiopatia isquêmica grave, submetidos a revascularização do miocárdio, estaria associada a perfis de variáveis do padrão histopatológico, observados em espécimes de biópsias endomiocárdicas pré e pós operatórias.

MÉTODOS

População estudada

Pacientes com disfunção ventricular esquerda grave e fração de ejeção < 35%, secundária à doença arterial coronariana, e em classe funcional II-IV de insuficiência cardíaca pela New York Heart Association (NYHA) foram convidados a participar do estudo, desde que a anatomia coronariana fosse adequada para revascularização cirúrgica. Os critérios de exclusão foram: presença de aneurisma do ventrículo esquerdo, defeito do septo interventricular secundário a infarto agudo do miocárdio, importante doença valvular, aneurisma da aorta ascendente, outras cardiomiopatias como amiloidose, sarcoidose ou miocardiopatia hipertrófica. O estudo foi realizado em duas instituições acadêmicas - Hospital de Clínicas de Porto Alegre e Fundação Universitária de Cardiologia do Rio Grande do Sul, pois os pacientes foram oriundos dos ambulatórios de insuficiência cardíaca de ambas instituições. O protocolo de estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa nas duas instituições e todos os pacientes selecionados assinaram termo de consentimento informado.

Desenho do estudo

A avaliação da anatomia coronariana foi realizada pela técnica de Judkins (11). Todos os pacientes tiveram a avaliação da função ventricular esquerda através da ventriculografia radioisotópica. A fração de ejeção foi documentada antes da cirurgia e repetida seis meses após. As biópsias endomiocárdicas foram realizadas no transoperatório e repetidas após seis meses, através de punção venosa. A determinação da classe funcional de insuficiência cardíaca foi documentada no pré operatório e novamente após seis meses.

Avaliação da fração de ejeção ventricular esquerda

A fração de ejeção ventricular esquerda foi avaliada através da ventriculografia radioisotópica no pré operatório e seis meses depois. O procedimento foi realizado marcando as hemáceas do próprio paciente com tecnécio-99^m pertecnetato. As imagens foram adquiridas em três ângulos planares (anterior oblíqua esquerda, anterior e lateral) utilizando uma gama câmera equipada com colimador. A fração de ejeção foi determinada de forma automatizada usando programa de computação específico (12).

Cirurgia de revascularização do miocárdio

Todos os pacientes foram submetidos à revascularização do miocárdio conforme técnicas padronizadas (13, 14). Com o paciente em circulação extracorpórea total e hipotermia moderada, a proteção do miocárdio foi conduzida através da infusão anterógrada de solução cardioplégica cristalóide (St. Thomas II) entre 4 e 10°C, repetida a cada vinte minutos, e solução salina gelada tópica. Após o término de todas as anastomoses, foi iniciado o reaquecimento. Após um tempo mínimo de 10 minutos de reperfusão e o paciente atingir uma temperatura de 37°C, a circulação extracorpórea foi progressivamente descontinuada. Todos os pacientes foram operados pelos mesmos cirurgiões (O. B. W. e P. L. M.).

Biópsia endomiocárdica

As biópsias endomiocárdicas foram realizadas conforme técnica padrão (15). A primeira biópsia foi realizada no transoperatório, com uma incisão no átrio direito e através da válvula tricúspide se acessava a porção média do sépto interventricular direito, onde eram adquiridos de 4 a 5 espécimes, antes de iniciar a revascularização. A segunda

biópsia foi realizada com seis meses de pós operatório, através de punção da veia jugular interna, utilizado uma bainha 9 French e um biótomo tipo Stanford, sob fluoroscopia sendo coletados 4 a 5 espécimes no mesmo local do septo previamente biopsiado. Após este segundo procedimento, os pacientes permaneciam em observação por duas horas, antes de terem alta para casa. Os espécimes foram colocados imediatamente em formalina a 10%, para subsequente análise histológica. Todas as biópsias foram realizadas pelo mesmo cirurgião (P. L. M.).

Análise histopatológica das biópsias endomiocárdicas

Os espécimes conservados em formalina a 10%, imediatamente após serem adquiridos, foram embebidos em parafina e foram realizados cortes histológicos entre 5 e 7 μm . Para definir a presença de hipertrofia e miocitólise, as lâminas foram coradas em solução de hematoxilina-eosina. A avaliação de fibrose foi realizada através da coloração Tricrômico de Masson. Todas as análises histopatológicas foram realizadas por um investigador (M. B.) “cego”, para os dados clínicos, funcionais e operatórios, utilizando um microscópio Olympus Bx 40 acoplado ao sistema analizador digital de imagens (Leica Q 500MC, Image Analysis System).

Para determinar o grau de hipertrofia, foi medido o diâmetro de células miocárdicas que apresentavam núcleo central, tomando-se como referência o seu menor eixo. Utilizando o microscópio óptico e aumento de 100X, um mínimo de quatro e um máximo de 24 campos foram analisados. Para determinar o grau de miocitólise, foi contado o número de células normais e o número de células apresentando miocitólise por campo. Entre três e 18 campos foram examinados utilizando um aumento de 400X. O grau

de fibrose, identificado pela coloração azul do Tricrômico de Masson, foi delimitado e mensurado em 10 campos de $10.500\mu^2$, com aumento de 400X.

Análise estatística

Os resultados estão expressos como a média \pm desvio padrão (DP) ou erro padrão da média (EPM) para variáveis contínuas e como proporções para variáveis categóricas. O teste *t* de Student foi utilizado para comparação envolvendo variáveis contínuas e o teste exato de Fischer para variáveis categóricas. Foi construído um escore agregando achados histológicos para estudar as associações com a fração de ejeção entre o pré e o pós operatório. O escore de fibrose foi 0 (zero) ponto para $\leq 1\%$ de área, 1 ponto entre 1 e 5% de área, 2 pontos entre 5 e 20% de área e 3 pontos se $> 20\%$ de área. O escore de miocitólise foi de 0 (zero) ponto para ≤ 5 células por campo, 1 ponto entre 5 e 10 células por campo, 2 pontos entre 10 e 20 células por campo e 3 pontos se >20 células por campo. Para o escore de hipertrofia, foi estabelecido um ponto de corte que definiu como 0 (zero) ponto se $\leq 18\mu\text{m}$ no diâmetro da fibra e como 1 ponto se $>18\mu\text{m}$. Os pacientes foram divididos de acordo com o valor do escore se ≤ 2 ou > 2 . Diferenças foram consideradas significantes se $p < 0.05$.

RESULTADOS

População estudada

De janeiro de 1997 a agosto de 1998, 24 pacientes foram arrolados para o estudo de forma não consecutiva. A média da fração de ejeção foi de $24 \pm 6\%$ (variando de 9 a 34%). Foram 22 homens e 2 mulheres, com idade média de 59.5 ± 9.8 anos (variando de 39 a 75 anos). A classe funcional de insuficiência cardíaca foi de NYHA II em cinco pacientes, III em onze pacientes e IV em oito pacientes. Detalhes das características clínicas são mostrados nas Tabelas 1 e 2.

Variáveis intraoperatórias

Todos os pacientes, exceto um, foram revascularizados com veia safena invertida. Esta única exceção, além de veia safena, também recebeu a artéria torácica interna esquerda (mamária) para a artéria descendente anterior esquerda. A maioria dos pacientes (96%) recebeu enxerto para a artéria descendente anterior. A média de enxertos foi de $2,9 \pm 0,8$ (variando de 1 a 4). A média de tempo de circulação extracorpórea foi de 86 ± 19 min. (variando de 42 a 132 min.) e o tempo de isquemia médio foi de 42 ± 10 min. (variando de 21 a 65 min.). Drogas inotrópicas foram utilizadas em todos os casos: dopamina em 100%, dobutamina em 73% e epinefrina em 21% dos casos. Vasodilatadores também foram utilizados: nitroglicerina em 43% e nitroprussiato de sódio em 33% dos pacientes. Cinco pacientes necessitaram de balão intra-aórtico na saída de circulação extracorpórea, em um dos casos o balão foi necessário no pré operatório. Para estes

pacientes, o tempo médio de permanência com o balão intra- aórtico foi de $2,8 \pm 0,8$ dias

(variando de 2 a 4 dias).

Tabela 1 – Características basais da população estudada

Caso #	Idade (anos)	Sexo	FE pre-op (%)	NYHA Pre-op
1.	39	Masculino	22	2
2.	57	Masculino	33	3
3.	72	Masculino	31	4
4.	71	Masculino	31	4
5.	67	Masculino	19	3
6.	55	Masculino	30	3
7.	45	Masculino	20	3
8.	51	Masculino	19	4
9.	75	Masculino	17	3
10.	47	Masculino	24	2
11.	58	Masculino	23	3
12.	71	Feminino	20	4
13.	59	Masculino	30	2
14.	69	Masculino	17	3
15.	61	Masculino	9	4
16.	47	Masculino	29	3
17.	49	Feminino	26	3
18.	50	Masculino	24	2
19.	61	Masculino	34	3
20.	66	Masculino	33	2
21.	62	Masculino	25	3
22.	68	Masculino	24	4
23.	65	Masculino	18	4
24.	64	Masculino	19	4
Média	$59,5 \pm 9,8$		25 ± 6	$2,8 \pm 0,7$

FE – fração de ejeção;

NYHA – Classe de insuficiência cardíaca pela New York Heart Association;

Pre-op – pre-operatório.

Tabela 2 – Perfil demográfico da população estudada

Diabete Melito	7 (29%)
Hipertensão arterial	14 (58%)
Tabagismo atual	18 (75%)
Dislipidemia	8 (33%)
Insuficiência renal	1 (4%)
Infarto prévio	23 (95%)
NYHA ICC status IV	8 (33%)
III	11 (45%)
II	5 (20%)

NYHA ICC – Classe funcional da insuficiência cardíaca pela New York Heart Association

Resultados cirúrgicos

A mortalidade operatória foi de dois pacientes, considerando um período de 30 dias. Um dos pacientes foi a óbito na sala de cirurgia logo após a saída de circulação extracorpórea e o outro por falência respiratória, no pós operatório precoce, antes de 30 dias. Houve dois casos de acidente vascular cerebral durante a cirurgia: um associado com infarto agudo do miocárdio, recuperando-se parcialmente do *déficit* neurológico, e o outro falecendo no 71º dia após a cirurgia. Outras complicações incluíram: uma re-intervenção por sangramento, uma deiscência de esterno resolvida com rotação do grande peitoral, e um caso de embolia arterial para membro superior direito, sendo realizada embolectomia.

Seguimento tardio

Houve outros cinco óbitos antes dos seis meses de seguimento. Um caso por acidente vascular cerebral, e os demais por morte súbita presumida, sem confirmação por necrópsia. Os 17 pacientes sobreviventes apresentaram uma melhora significativa na classe funcional NYHA de insuficiência cardíaca passando de $2,8 \pm 0,7$ para $1,7 \pm 0,9$, $p < 0,0001$ (Figura 1). Enquanto a fração de ejeção ventricular esquerda não apresentou melhora significativa (25 ± 6 para $26 \pm 10\%$) no grupo como um todo, em oito pacientes houve um importante incremento na função ventricular passando de 24 ± 6 para $33 \pm 2\%$, $p < 0,002$. (Figura 2).

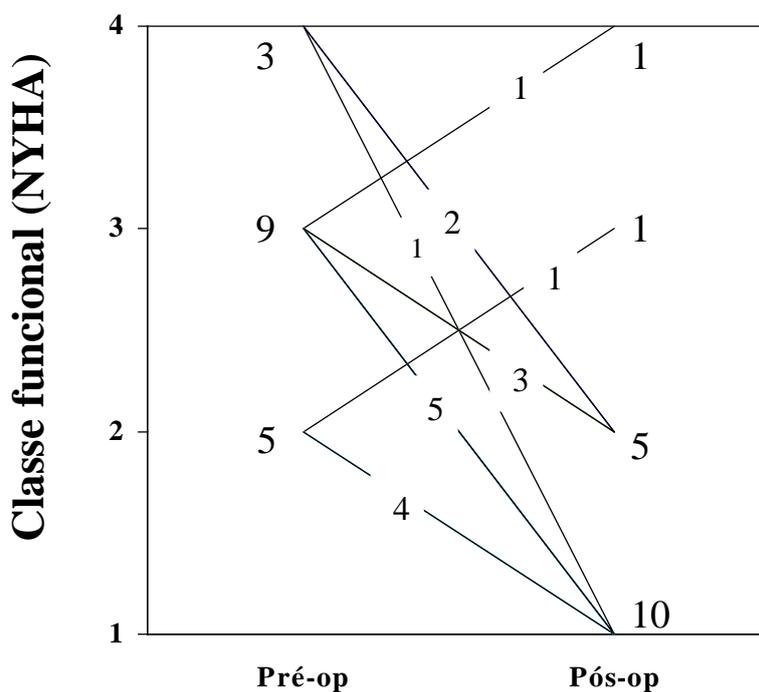


Figura 1 – Dados individuais referentes à mudança na classe funcional de insuficiência cardíaca pela NYHA nos pacientes

estudados, comparando pré e pós cirurgia de revascularização miocárdica.

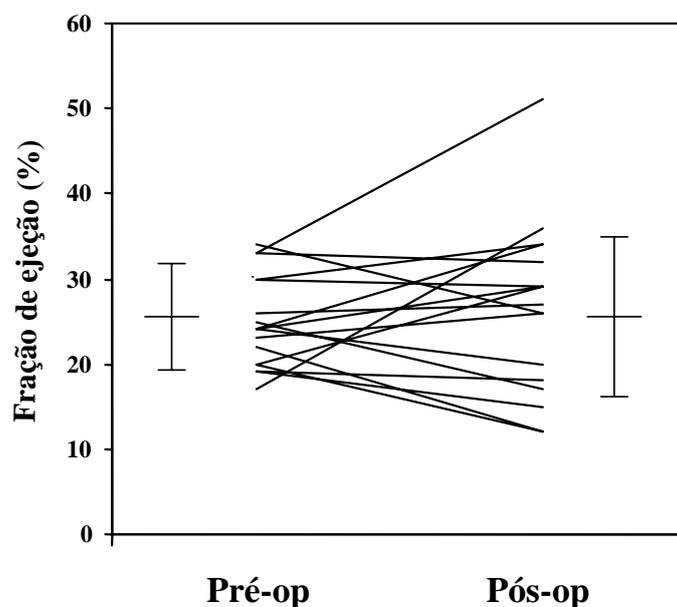


Figura 2 – Dados individuais e média \pm DP referentes à fração de ejeção em todos os pacientes estudados, comparando pré e pós cirurgia de revascularização miocárdica.

Análise histopatológica das biópsias endomiocárdicas

Dos 17 pacientes que sobreviveram aos seis meses após a cirurgia, um recusou-se a ser submetido à segunda biópsia. Desta forma, dados de 16 pacientes foram disponíveis para comparação pré e pós cirurgia. Enquanto que o grau de hipertrofia nos espécimes adquiridos, comparando-se o pré e o pós operatório, não se alterou (21 ± 4 vs. $22 \pm 4 \mu\text{m}$), houve aumento significativo, tanto no número de células com miocitólise (9 ± 11 vs.

21±15% de células, $p < 0,001$) como na extensão de fibrose (8±8 vs. 21±15%/área, $p < 0,001$). Estratificando-se os pacientes em um subgrupo dos que melhoraram a fração de ejeção ventricular esquerda (n=8) e em outro subgrupo dos que pioraram (n=8), individualmente, nenhuma das variáveis histopatológicas, analisadas entre o pré e o pós operatório foi diferente entre os dois grupos (Tabela 3). Contudo, quando utilizado um escore composto das três variáveis histológicas para analisar as alterações na fração de ejeção após a cirurgia, observou-se que baixos escores no pré operatório, estavam associados com um incremento na função ventricular esquerda na avaliação tardia (Figura 3). Fotomicrografias ilustrativas das diferentes características histopatológicas são apresentadas nas Figuras 4 a 9.

Tabela 3. Variáveis histológicas no pré e pós-operatório de acordo com diminuição ou aumento na fração de ejeção após cirurgia de revascularização miocárdica.

	<i>Pré-operatório</i>			<i>Pós-operatório</i>		
	<i>Redução na FE</i>	<i>Aumento na FE</i>	<i>p</i>	<i>Redução na FE</i>	<i>Aumento na FE</i>	<i>p</i>
	<i>n=8</i>	<i>n=8</i>		<i>n=8</i>	<i>n=8</i>	
Fibrose(% area)	11,4 ±3,5	6±2,6	0,31	21,8,9	19,8±3,8	0,7
Miocitólise (células/campo)	14,5±4	9±2,8	0,41	21±3,9	19,8±3,8	0,8
Diâmetro da fibra (µm)	22,7±1,6	20,5±2,1	0,27	21,9±2	21,3±1,9	0,8

* Valores são média ± EPM; FE significa fração de ejeção.

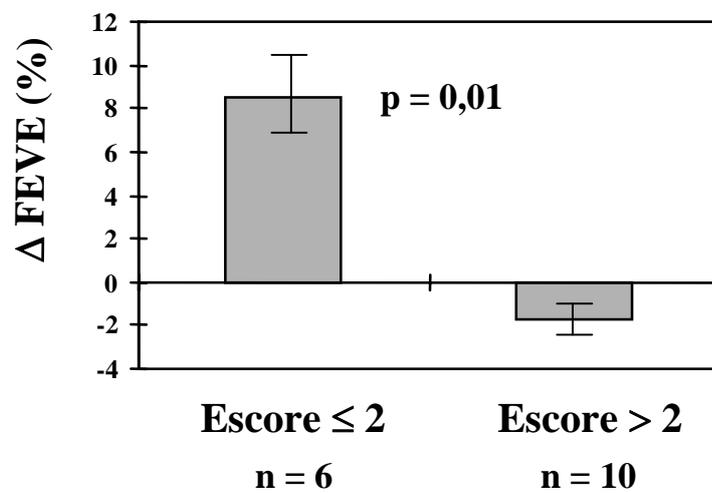


Figura 3 – Gráfico representativo da variação da fração de ejeção entre pré e pós revascularização miocárdica em 16 pacientes estudados conforme escore combinado das 3 variáveis histopatológicas, obtidas em biópsias endomiocárdicas no pré-operatório.

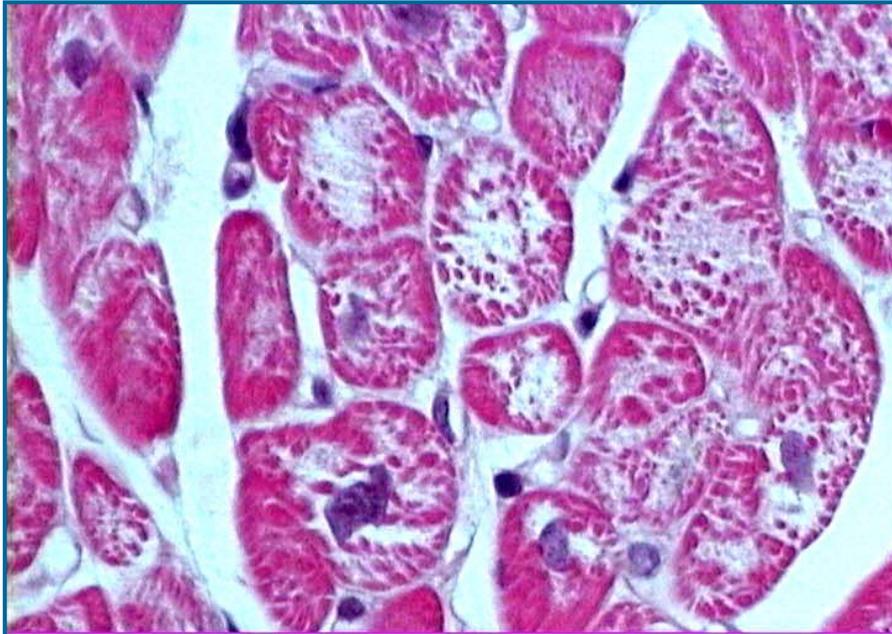


Figura 4 - Fotomicrografia ilustrativa da presença de hipertrofia de miócito em biópsia endomiocárdica. Coloração hematoxilina e eosina, magnificação 100 X.

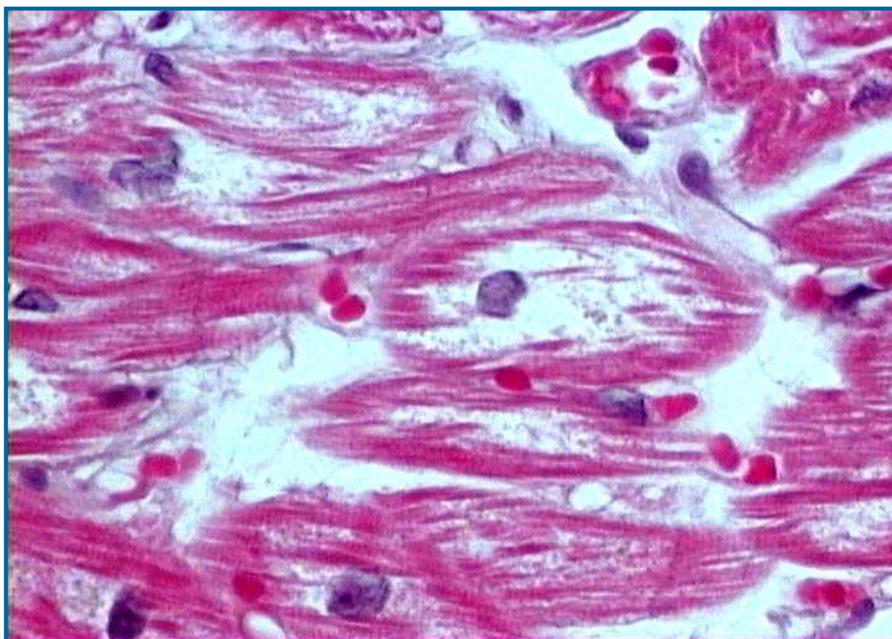


Figura 5 - Fotomicrografia ilustrativa da presença de miocitólise em biópsia endomiocárdica. Coloração hematoxilina e eosina, magnificação 100 X.

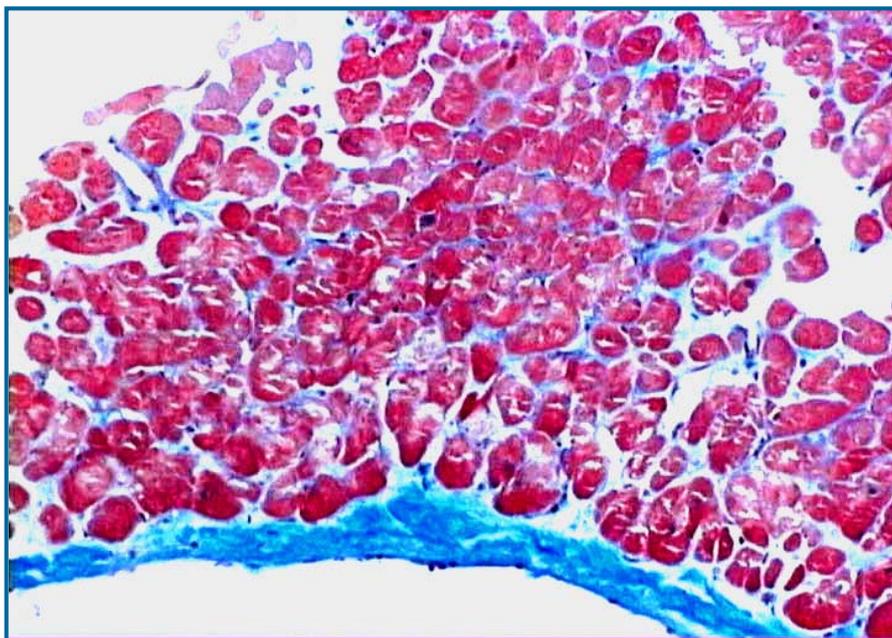


Figura 6 - Fotomicrografia ilustrativa de ausência de fibrose em biópsia endomiocárdica. Coloração Masson, magnificação 400 X.

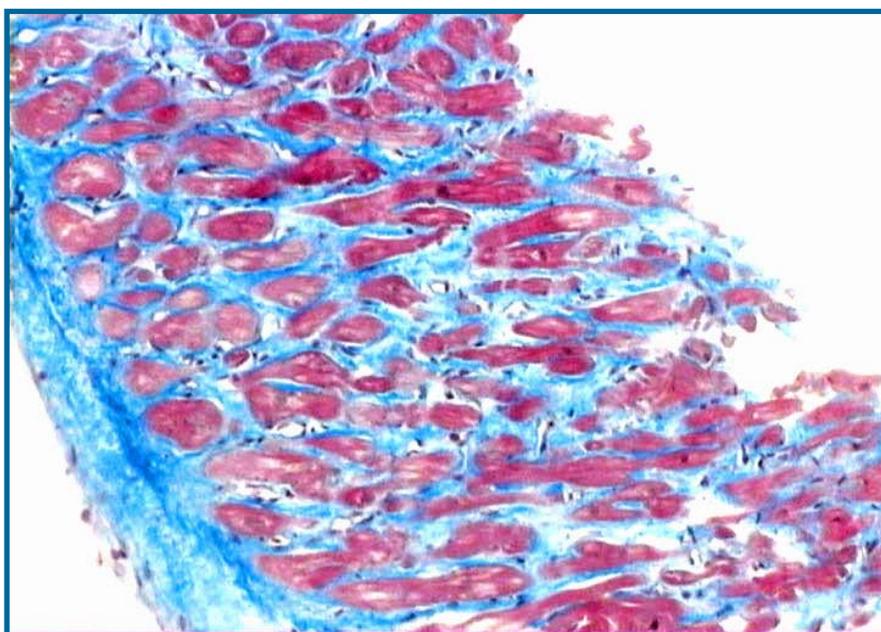


Figura 7 – Fotomicrografia ilustrativa da presença de fibrose moderada em biópsia endomiocárdica. Coloração Masson, magnificação 400 X.

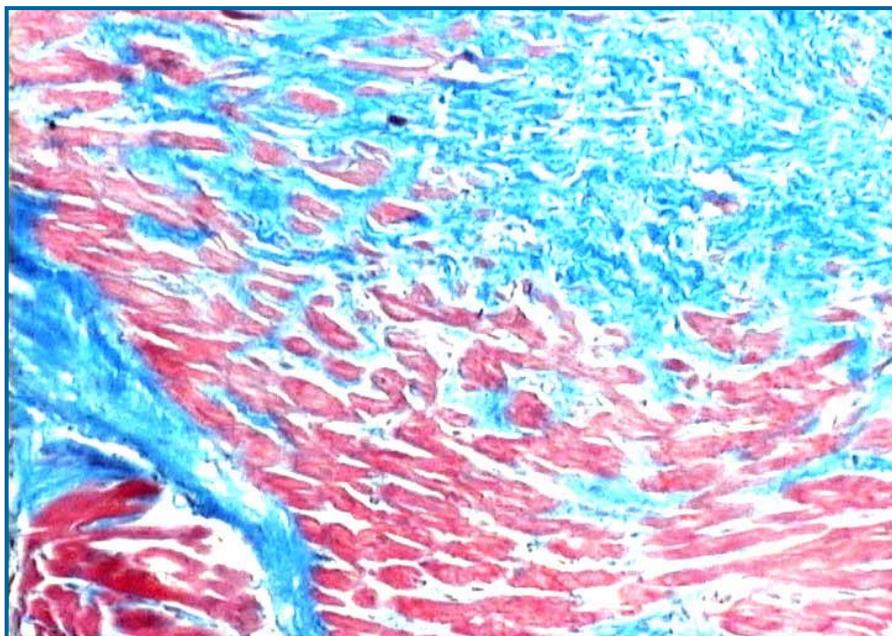


Figura 8 – Fotomicrografia ilustrativa da presença de fibrose severa em biópsia endomiocárdica. Coloração Masson, magnificação 400 X.

DISCUSSÃO

Pacientes portadores de doença arterial coronariana e disfunção ventricular esquerda grave podem se beneficiar da cirurgia de revascularização do miocárdio. Muito tem se debatido quanto à apropriada seleção dos pacientes que devem ser submetidos ao procedimento. Com a restauração do fluxo sanguíneo coronariano, nos territórios com miocárdio viável, se espera, em nível fisiopatológico, uma reversão do remodelamento cardíaco e conseqüentemente um incremento na função ventricular esquerda, melhora na classe funcional de insuficiência cardíaca e de sobrevivência. Nosso estudo mostrou que, a análise individual de três variáveis histopatológicas, adquiridas por biópsias endomiocárdicas no transoperatório e no pós operatório tardio de revascularização do miocárdio, em pacientes com disfunção ventricular grave, foi insuficiente para prever quem se beneficiaria com incremento na fração de ejeção ventricular esquerda após o procedimento. Contudo, a combinação de alterações histológicas, indicando menor grau de remodelamento, identificou pacientes que apresentaram uma melhora na função ventricular. Nós também demonstramos que o benefício observado na classe funcional de insuficiência cardíaca não se associou com mudanças histopatológicas favoráveis, no período pós operatório.

Características clínicas e resultados cirúrgicos

Nossa população de estudo é uma típica coorte de pacientes com cardiomiopatia avançada, caracterizada por disfunção ventricular esquerda grave e importante limitação funcional por insuficiência cardíaca congestiva. Para estes pacientes, apesar do desenvolvimento da terapia medicamentosa, o prognóstico continua sombrio (6, 7). Neste contexto, a cirurgia de revascularização tem ganho destaque como uma importante opção

terapêutica, devido ao progresso de técnicas operatórias e de proteção miocárdica (16, 17). De fato, Luciani e colaboradores estudaram 143 pacientes com fração de ejeção menor do que 30% e compararam os resultados de acordo com o tratamento alocado: revascularização do miocárdio, transplante cardíaco ou tratamento medicamentoso. Apesar de uma mortalidade operatória relativamente alta (20%), o prognóstico foi significativamente melhor nos pacientes submetidos à revascularização e transplante cardíaco, comparativamente ao tratamento medicamentoso (18). O presente estudo não foi desenhado para comparar diferentes formas de tratamento, porém os nossos resultados cirúrgicos são compatíveis com de outros investigadores, para este tipo de pacientes. A mortalidade perioperatória, até 30 dias da cirurgia, foi de 8.3% (dois pacientes), o que é similar à revisão de Milano e colaboradores (19). Além disto, a ocorrência de complicações, em nossa amostra, foi similar a outros estudos com pacientes igualmente graves (20).

O número de enxertos utilizado em nossos pacientes está dentro da expectativa quando na presença de disfunção ventricular esquerda grave. Em um relato de Samady e colaboradores, envolvendo pacientes com fração de ejeção média de 24%, o número médio de enxertos utilizado foi de 2,8 (21), quase idêntica à nossa experiência (2,9 enxertos/paciente). Contudo, a maior diferença no presente estudo foi a utilização quase que exclusiva de enxertos venosos. Isto é em parte explicado pelo conceito que o uso de conduto arterial poderia levar a um maior tempo de isquemia, o que poderia ser deletério, especialmente nestes pacientes com grave comprometimento da função ventricular.

Classe funcional de insuficiência cardíaca após a cirurgia de revascularização

A maioria dos estudos sobre revascularização do miocárdio em cardiomiopatia isquêmica avançada apresentam uma consistente melhora na classe funcional de insuficiência cardíaca. Em uma revisão sistemática da classe funcional da NYHA pré e pós operatória nestes pacientes, uma marcante melhora, de aproximadamente 40% (variando de 27 a 69%) foi evidente (22). Em nosso estudo, observamos um resultado similar com uma melhora significativa da classe funcional da NYHA de 2,8 para 1,7 (60% de melhora) no grupo como um todo. O grau de melhora da classe funcional foi claramente mais pronunciado do que o observado para a função ventricular. Diversos fatores podem influenciar a capacidade funcional (23, 24), independentemente do recrutamento de miocárdio hibernante após a restauração do fluxo sanguíneo, que seria o principal responsável pela melhora na função ventricular (25, 26). Recentemente, Samady e colaboradores demonstraram que, pacientes com insuficiência cardíaca avançada e grave comprometimento da função ventricular, mesmo quando não apresentam uma recuperação precoce da contratilidade após a cirurgia, se beneficiam com a melhora dos sintomas e de sobrevida, semelhantemente aos que apresentam um incremento precoce na fração de ejeção (21).

Cirurgia de revascularização e fração de ejeção ventricular esquerda em pacientes com cardiomiopatia isquêmica grave

Após a fase compensatória da hipertrofia que se apresenta com a progressiva dilatação do ventrículo esquerdo, ocorre comprometimento da performance miocárdica e então a insuficiência cardíaca se instala. O maior determinante de mortalidade, em pacientes com insuficiência cardíaca, é a disfunção ventricular esquerda (27). Enquanto

uma grande quantidade de medicamentos é utilizada para manejar estes pacientes, melhorando a fração de ejeção e a sobrevivência (28-30), estes não interferem no substrato patológico da doença; para os pacientes com miocardiopatia isquêmica, a revascularização do miocárdio se apresenta como uma verdadeira oportunidade de reverter a injúria isquêmica, com a restauração do fluxo sanguíneo (31, 32). Contudo, o incremento da fração de ejeção após a revascularização miocárdica, nem sempre é uniforme ou imediato (33, 34). Isto sugere que a recuperação da função cardíaca possa ser dependente da quantidade de miocárdio viável no pré-operatório. Desta forma, alguns autores consideram que para obtenção de melhora na função ventricular e classe funcional de insuficiência cardíaca, após a revascularização, deve ser evidenciado no pré-operatório, no mínimo, 18 a 20% de miocárdio viável (35-38). Por outro lado, outros autores sugerem que o benefício da revascularização do miocárdio, em pacientes com grave cardiomiopatia isquêmica, pode ser independente do incremento na fração de ejeção (21, 39). Assim, a presença de viabilidade pode não ser o único indicativo de que os pacientes portadores de doença arterial coronariana e disfunção ventricular grave possam se beneficiar da cirurgia de revascularização.

Em nosso estudo, não demonstramos um incremento na fração de ejeção, de maneira global, nos 17 pacientes que retornaram para reavaliação após a cirurgia. De fato, em cinco pacientes houve uma piora da fração de ejeção maior do que 1%. Porém em oito dos 17 pacientes, houve um significativo incremento na fração de ejeção. Isto poderia ser explicado pelo curto espaço de tempo para recuperação da contratilidade (6 meses), já que segundo alguns autores, entre dois a seis meses, apenas 35% do total da recuperação da função ventricular esperada é notada (40). Por outro lado, independente do sucesso da

revascularização, o comprometimento da contratilidade pode continuar, levando à dilatação progressiva global, já que a base fisiopatológica levando a ventrículos gravemente dilatados pode não somente ser dependente de isquemia: o estresse na parede ventricular dilatada perpetua o remodelamento (41). Finalmente, é possível que existissem quantidades variáveis de miocárdio viável entre os pacientes, talvez com áreas de fibrose e músculo mesclados, o que poderia justificar diferenças em graus de melhora da fração de ejeção (10, 42).

Cirurgia de revascularização e remodelamento ventricular esquerdo

Após uma lesão cardíaca, por exemplo, infarto agudo do miocárdio, uma série de eventos ocorre em nível de genômico, molecular, celular e intersticial, levando a alterações no tamanho, forma e função do coração. Em nível histopatológico, ocorre hipertrofia do miócito, necrose, apoptose, aumento de fibrose, proliferação fibrilar de colágeno e de fibroblastos(43, 44). A progressão do processo de remodelamento em vários níveis, parece ser mediada por ativação neurohormonal (45-47). Por outro lado, a persistência da dilatação leva ao aumento da tensão e do estresse global, os quais levam à ativação de vários mecanismos deletérios, em um ciclo vicioso, perpetuando o remodelamento (48, 49). Este processo é a base para a compreensão de que um defeito regional de contratilidade, após um infarto agudo do miocárdio, pode mais tarde levar ao desenvolvimento de uma disfunção cardíaca global.

Em nosso estudo, três importantes características histológicas foram analisadas: porcentagem de tecido com fibrose, grau de hipertrofia do miócito e porcentagem de células apresentando miocitólise. Estes três achados histopatológicos são alterações que caracterizam o remodelamento. Todas as três características eram claramente anormais

nos espécimes adquiridos no pré operatório, já que uma média de 8% de fibrose foi observada, assim como a presença de células apresentando vacuolização do citoplasma (miocitólise) e hipertrofia foi detectada. Estas constatações são comparáveis àquelas observadas por outros investigadores que avaliaram função contrátil regional e achados histológicos, em pacientes com cardiomiopatia isquêmica (35, 50). É importante notar que, estes dois estudos que correlacionaram características histopatológicas e reversibilidade funcional pós operatória, tiveram um grande cuidado de realizar as biópsias no segmento de miocárdio com alteração da motilidade regional, previamente detectada por técnicas de imagens. Assim, a despeito do fato de que no presente estudo realizamos biópsias apenas no ventrículo direito, nossos achados sugerem que independentemente da área lesada inicialmente, o processo de remodelamento global pode levar a alterações distantes da área miocárdica. Nossas observações podem sugerir uma abordagem diferente e mais segura, para o estudo das alterações histológicas, em pacientes com miocardiopatia avançada.

Se por um lado, as alterações histopatológicas, observadas no pré operatório do presente estudo, caracterizam remodelamento cardíaco, por outro lado, os achados histológicos após a revascularização do miocárdio são, no mínimo, intrigantes. Importante notar que, este é o primeiro estudo, de nosso conhecimento, que procurou realizar comparações histopatológicas, em pacientes com disfunção ventricular esquerda grave de etiologia isquêmica, pré e pós cirurgia de revascularização do miocárdio. Apesar da noção de que a restauração do fluxo sanguíneo leva necessariamente a um benefício, nós não demonstramos achados histológicos que indicassem reversão do remodelamento, após a revascularização. De fato, duas das três características histopatológicas pioraram após a

cirurgia: mais células apresentaram miocitólise e mais fibrose foi observada. A hipertrofia não se alterou, comparando-se espécimes adquiridos no pré e no pós operatório. Partindo destas observações, algumas hipóteses especulativas podem ser levantadas: 1- O tempo decorrido após a cirurgia para análise histológica não foi suficiente para mostrar a reversão do remodelamento em nível tecidual; 2- A restauração do fluxo sanguíneo foi insuficiente para promover os efeitos benéficos em nível tecidual e 3- Uma vez que, nenhuma publicação prévia tenha direcionado o seu estudo para o remodelamento ventricular, pré e pós cirurgia de revascularização, nossas observações podem simplesmente refletir a história natural progressiva do remodelamento, independentemente da reversão da injúria isquêmica.

Associação entre histologia e fração de ejeção ventricular após a revascularização

Já que evidências de melhoras em nível histológico não foram observadas após a cirurgia, nós procuramos estudar as características morfológicas que poderiam predizer quais os pacientes que se beneficiariam do procedimento. Outros autores identificaram melhora na função miocárdica após revascularização, quando em espécimes de biópsias trans operatórias apenas pequena quantidade de fibrose era observada (35, 50). No presente estudo, o grau de fibrose, isoladamente, não foi suficiente para predizer uma recuperação funcional do miocárdio. Ao passo que, outros autores não estudaram sistematicamente outras características histopatológicas como miocitólise e hipertrofia, nós não demonstramos associação entre estas variáveis e mudanças funcionais no pós operatório. Entretanto, como o remodelamento é um processo dinâmico e multifatorial, nós desenvolvemos um escore com a combinação das diferentes características

histológicas. Desta forma, observamos que menor grau de fibrose, miocitólise e hipertrofia no pré operatório estiveram associados com um significativo incremento na fração de ejeção ventricular esquerda, após a cirurgia. Com isto, é possível que uma análise simultânea de três características histopatológicas, todas indicando o remodelamento adverso, possa se constituir em uma ferramenta melhor e mais confiável para qualificar o grau de alterações estruturais e conseqüentemente ser mais representativa da quantidade de miocárdio potencialmente recuperável.

Limitações do estudo

Nossos dados devem ser interpretados considerando limitações específicas do estudo. Primeiramente, os espécimes foram coletados no septo interventricular direito. Isto pode ser responsável, ao menos parcialmente, pela falta de correlação entre as variáveis histológicas e os resultados clínicos funcionais. Por outro lado, como planejamos uma segunda biópsia no pós operatório, esta abordagem foi considerada éticamente mais apropriada do que biopsiar o ventrículo esquerdo em pacientes ambulatoriais. Também, o local das biópsias poderia não representar o segmento de motilidade anormal específico, embora presuma-se que o remodelamento ventricular esquerdo seja um processo global e difuso, especialmente considerando a gravidade dos casos estudados.

Conclusões

Nosso estudo demonstrou que, primeiro: em pacientes com grave disfunção ventricular esquerda de etiologia isquêmica, submetidos à revascularização do miocárdio, a melhora na classe funcional da insuficiência cardíaca foi evidente, porém sem haver um incremento na fração de ejeção ventricular esquerda. Segundo, nenhuma melhora nas

características histopatológicas foi observada; pelo contrário, o grau de fibrose e hipertrofia pioraram. Terceiro, a análise individual das características histológicas, no pré-operatório, não foi capaz de prever quais os pacientes que, possivelmente, apresentariam uma melhora na fração de ejeção no pós-operatório. Contudo, a composição de um escore histológico indicou que menor um grau de remodelamento estava presente nas biópsias dos pacientes que apresentaram um incremento na fração de ejeção após a cirurgia. Assim, nossos dados sugerem que, apesar de melhora da classe funcional da insuficiência cardíaca em todo o grupo e da fração de ejeção ventricular esquerda em um sub-grupo de pacientes, evidências de melhora histológica, ao menos em um relativo curto espaço de tempo (6 meses), após a cirurgia de revascularização, em pacientes com avançada disfunção ventricular esquerda de etiologia isquêmica não deve ser esperada. Finalmente, embora evidências de anormalidades histológicas moderadas possam indicar um potencial para melhora da função ventricular, as características do remodelamento talvez necessitem de maior tempo para evidenciar sinais de reversão.

BIBLIOGRAFIA

1. Pfeffer JM, Pfeffer MA, Fletcher PJ, et al. Progressive ventricular remodeling in rats with myocardial infarction. *Am J Physiol* 1991;29 (suppl H):1406-14.
2. Weber KT, Brilla CG. Pathological hypertrophy and the cardiac interstitium: fibrosis and the renin-angiotensin-aldosterone system. *Circulation* 1991;83:1849-65.
3. Weber KT, Anversa P, Armstrong PWL. Remodeling and reparation of the cardiovascular system. *J Am Coll Cardiol* 1992;20:3-16.
4. Klappacher G, Franzen P, Heab D, et al. Measuring extracellular matrix turnover in the serum of patients with idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy and impact on diagnosis and prognosis. *Am J Cardiol* 1995; 75:913-18.
5. Marijianowsky MM, Teeling P, Manh J, Becker AE. Dilated cardiomyopathy is associated with an increase in type I/typeIII collagen ratio: quantitative assessment. *J Am Coll Cardiol* 1995; 25: 1263-72.
6. SOLVD Investigators. Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fraction and congestive heart failure. *N Engl J Med* 1991; 325:293-302.
7. MERIT-HF Study Group. Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: Metoprolol CR/XL Randomized Intervention Trial in Congestive Heart Failure (MERIT-HF). *Lancet* 1999; 353:2001-07.
8. Elefteriades J, Tolis Jr G, Levi E, et al. Coronary artery grafting in severe left ventricular dysfunction: excellent survival, improved ejection fraction and functional state. *J Am Coll Cardiol* 1993;22:1411-17.

9. Lee KS, Marwick TH, Cook SA, Go RT, Fix JS, James KB, Sapp SKL, MacIntyre WJ. Prognostic of patients with left ventricular dysfunction with and without viable myocardium after myocardial infarction: relative efficacy of medical therapy and revascularization. *Circulation* 1994;90:2687-94.
10. Udelson JE, Coleman PS, Metherallj, et al. Predicting recovery of severe regional ventricular dysfunction: comparison of rest scintigraphy with 201-thallium and 99mTc-sestamibi. *Circulation* 1994;89:2552-61.
11. Judkins MP, Judkins EJ. The Judkins technique. In: King SB III, Douglas JS Jr, eds. *Coronary Arteriography*. McGraw-Hill, New York. 1984:182-217.
12. Bisi G, Sciagra R, Bull U, et al. Assessment of ventricular function with first-pass radionuclide angiography using technetium 99m hexakis-2-methoxyisobutylisonitrile: A European multicenter study. *Eur J Nucl Med* 1991;18(3):178-83.
13. Stolf NAG, Jatene AD. *Tratamento Cirúrgico da Insuficiência Coronária. Técnica Operatória na revascularização Cirúrgica do Miocárdio*. Atheneu, São Paulo. 1998:97-111.
14. Loop FD. Coronary artery bypass surgery. In: Topol EJ. *Textbook of Cardiovascular Medicine*. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia. 1998: 2011-31.
15. Mason JW. Techniques for right and left ventricular biopsy. *Am J Cardiol* 1978;41:887-92.
16. Buxton BF, Fuller JA, Tataulis J, et al. Evolution of complete arterial grafting for coronary artery disease. *Texas Heart Institute Journal* 1998;25:17-23.

17. Buckberg GD. Update on current techniques of myocardial protection. *Ann Thorac Surg* 1995; 60: 805-14.
18. Luciani GB, Faggian G, Razzolini R, Livi U, Bortolotti U, Mazzucco A. Severe ischemic left ventricular failure: coronary operation or heart transplantation? *Ann Thorac Surg* 1993;7:482-88.
19. Milano CA, White WD, Smith LR, et al. Coronary artery bypass in patients with severely depressed ventricular function. *Ann Thorac Surg* 1993;56:487-93.
20. Lytle B. Results in Artery Bypass Surgery. In: Buxton B, Frazier OH, Westaby S. *Ischemic Heart Disease Surgical Management*. Mosby International Ltd, Philadelphia. 1999:63-72.
21. Samady H, Elefteriades JA, Abboutt BG et. al. Failure to improve left ventricular function after coronary revascularization for ischemic cardiomyopathy is not associated with worse outcome. *Circulation* 1999;100: 1298-1304.
22. Blitz A, Scholl F, Laks H. Surgery for Chronic Heart Failure. In: Poole-Wilson PA, Colucci WS, Massie BM, et al. *Heart Failure Scientific Principles and Clinical Practice*. Churchill Livingstone Inc, New York. 1997:775-805.
23. Salati M, Lemma M, Di Mattia DG, et al. Myocardial revascularization in patients with ischemic cardiomyopathy: functional observations. *Ann Thorac Surg* 1997;64:1728-34.
24. Vanoverschelde JLJ, Wijns W, Borges M, et al. Chronic myocardial hibernation in humans, from bedside to bench. *Circulation* 1997;95:1961-71.

25. Dreyfus GD, Duboc D, Blasco A, et al. Myocardial viability assessment in ischemic cardiomyopathy: benefits of coronary revascularization. *Ann Thorac Surg* 1994;57:1402-08.
26. Bisi G, Sciagra R, Santoro GM, et al. Rest. Technetium 99m sestamibi tomography combination with short term administration of nitrates: feasibility and reliability for prediction of post revascularization outcome of assynergic territories. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:1282-9.
27. Chon JN, Johnson GR, Shabetai R, et al. Ejection fraction, peak exercise oxygen consumption ratio, ventricular arrhythmias and plasma norepinephrine as determinants of prognosis in heart failure. *Circulation* 1993;87 suppl VI:V15-VI16.
28. Ader R, Chatterjee K, Ports T, Brundage B, et al. Immediate and sustained hemodynamic and clinical improvement in chronic heart failure by an oral angiotensin-converting enzyme inhibitor. *Circulation* 1980; 61:931-7
29. CIBIS investigations and committees. A randomized trial of β -blockade in heart failure: The cardiac insufficiency bisoprolol study (CIBIS). *Circulation* 1994;90:1765-73.
30. Konstam MA, Rousseau MF, Kronenberg MW, et al. Effects of the angiotensin converting enzyme inhibitor enalapril on the long term progression of left ventricular dysfunction in patients with heart failure. *Circulation* 1992;86:431-8.
31. Elasser A, Schlepper M, Wolf-Peter K, et al. Hibernating myocardium, an incomplete adaptation to ischemia. *Circulation* 1997;96:2920-31.

32. Shikilvar B, Maes A, Borgers M, et al. Only hibernating myocardium invariably shows early recovery after coronary revascularization. *Circulation* 1996;94:308-15.
33. Mintz LJ, Ingels WB, Dougherty GT, et al. Segmental studies of left ventricular function and wall motion after coronary arterial bypass surgery. *Am J Cardiol* 1980;45:210.
34. Alfieri O, La Canna G, Giubbini R, et al. Recovery of myocardial function: the ultimate target of coronary revascularization. *Eur J Cardio Thorac Surg* 1993;7:325-30.
35. Depré C, Vanovershelde JLJ, Melin JA, et al. Structural and metabolic correlates of the reversibility of chronic left ventricular ischemic dysfunction in humans. *Am J Physiol* 1995;268:H1265-H1275.
36. Di Carli MF, Asgazzadie F, Schelbert HR, et al. Quantitative relation between myocardial viability and improvement in heart failure symptoms after revascularization in patients with ischemic cardiomyopathy. *Circulation* 1995;92:3436-44.
37. Ragosta M, Beller GA, Watson DD, et al. Quantitative planar rest-redistribution TI imaging in detection of myocardial viability and prediction of improvement in left ventricular function after coronary artery bypass surgery in patients with severely depressed left ventricular function. *Circulation* 1993;87:1630-41.
38. Tillish J, Brunken R, Marshall R, et al. Reversibility of cardiac wall motion abnormalities predicted by positron tomography. *N Engl J Med* 1986; 314:884-88.

39. Yamani MH, Mc Carthy PM, Starrling RC. Surgical Treatment of Chronic Heart Failure. In: Hosenpud JD, Greenberg BH. *Congestive Heart Failure- Pathophysiology, Diagnosis and Comprehensive Approach to Management*. 2^oed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. 2000;767-84.
40. Vanoverschelde JL, Melin JA, Depré C, et al. Time-course of functional recovery of hibernating myocardium after coronary revascularization (Abstract). *Circulation* 1994;90, Pt. 2: I-378.
41. Hochberg MS, Parsonnet V, Gielchinsky I, et al. Coronary artery bypass grafting in patients with ejection fractions below forty percent. *J Thorac Cardiovas Surg* 1983;86:519-27.
42. Perrone-Filardi P, Pace L, Prastaro M, et al. Assessment of myocardial viability in patients with chronic coronary artery disease: Rest-4-Hour-24-Hour sup 201Thallium tomography vs Dobutamine Echocardiography. *Circulation* 1996;94:2712-19.
43. Konstam MA, Kronenberg MW, Roussesu MF, et al. Effects of the angiotensin converting enzyme inhibitor enalapril on the long-term progression of left ventricular dilatation in patients with asymptomatic systolic dysfunction. *Circulation* 1993;88:2277-83.
44. Narula J, Haider N, Virmani R, et al. Apoptosis in myocytes in end-stage heart failure. *N Engl J Med* 1996; 335: 1182-89.
45. Reiss K, Capasso JM, Huang HE, et al. ANG II receptors, c-myc and c-jun in myocytes after myocardial infarction and ventricular failure. *Am J Physiol* 1993;264:H760-9.

46. Sadoshima J, Izumo S. Molecular characterization of angiotensin II induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblasts. Critical role of the AT1 receptor subtype. *Circ Res* 1993;73:413-23.
47. Everett AD, Tufro-McReddie A, Fisher A, et al. Angiotensin receptor regulates cardiac hypertrophy and transforming growth factor-beta 1 expression. *Hypertension* 1994;23:587-92.
48. Mitchell GF, Lamas GA, Vaughan DE, et al. Left ventricular remodeling in the year after first anterior myocardial infarction: a quantitative analysis of contractile segment lengths and ventricular shape. *J Am Coll Cardiol* 1992;19:1136-44.
49. Grossman W, Jones D, McLaurin LD. Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. *J Clin Invest* 1975; 56:56-64.
50. Stinson ES, Billingham ME. Correlative study of regional left ventricular histology and contractile function. *Am J Cardiol* 1977;39(3):378-83.

CONCLUSÕES

- 1) Em pacientes com disfunção ventricular grave secundária à cardiopatia isquêmica, não foi observada melhora no padrão histológico miocárdico no pós-operatório de cirurgia de revascularização miocárdica comparativamente ao padrão pré-operatório.
- 2) A melhora na fração de ejeção observada no pós-operatório em um subgrupo de pacientes, se associou a um padrão de escore histológico no pré-operatório compatível com menor grau de remodelamento ventricular.

Association between pre and post-surgery endomyocardial histopathological variables and outcome in patients with severe left ventricular dysfunction submitted to coronary artery bypass grafting

Paulo L. Moreno, Orlando B. Wender, Marinez Barra, Lucia Pellanda,
Luis E. Rohde, Nadine Clausell

Divisions of Cardiology and Cardiovascular Surgery, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Federal University of Rio Grande do Sul; Department of Pathology, Fundação Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre; Fundação Universitária de Cardiologia do Rio Grande do Sul.

Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

Address for correspondence:

Dr. Nadine Clausell

Division of Cardiology

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos, 2350 – room 2060

Porto Alegre – RS – 90035-003

Phone- 555133168344; FAX 555133424834

e-mail: clausell@portoweb.com.br

ABSTRACT

Background: Coronary artery by-pass grafting (CABG) in patients with left ventricular dysfunction may lead to improved ejection fraction and/or NYHA functional class in carefully selected patients. In this study we sought for myocardial histopathological variables that could be associated with improvement in left ventricular ejection fraction (LVEF) and/or in NYHA heart failure status 6 months post-surgery.

Methods: Twenty-four CABG eligible patients with LVEF < 35 % and in NYHA class II-IV, 59 ± 9 years were studied. Endomyocardial biopsy (EMB) was performed trans-operatively and repeated transvenously 6 months later. Extent of fibrosis (% area of myocardial tissue available), myocytolysis (number of cells featuring myocytolysis/field) and fiber hypertrophy (fiber diameter at the thinner axis) were recorded quantitatively using an imaging system analyzer (Leica – Image Analysis System). Assessment of LVEF by radionuclide ventriculography and of NYHA functional class were also repeated at 6 months.

Results: From the 24 patients initially enrolled, 7 died prior to the 6 months follow-up and one refused to have EMB repeated. NYHA heart failure status improved significantly in patients who survived 6 months post-surgery (2.8 ± 0.7 to 1.7 ± 0.6 ; $p < 0.001$), while LVEF was unchanged (25 ± 6 % vs. 26 ± 10 %; $p = \text{NS}$). Degree of fiber hypertrophy was similar in pre and post-CABG EMB specimens (21 ± 4 vs. 22 ± 4 μm), whereas extent of fibrosis (8 ± 8 vs. 21 ± 15 % area) and cells showing myocytolysis increased significantly post-CABG (9 ± 11 vs. 21 ± 15 % cells). A composite histological score combining the three variables, indicating lesser degree of remodeling preoperatively, identified a subgroup of patients who improved LVEF post-CABG.

Conclusions: In patients with severely depressed LVEF, CABG was associated with improvement in ventricular function in a subgroup of patients who had lesser degree of adverse remodeling as assessed by a composite histological score. Despite improvement in NYHA heart failure status in the entire group and in LVEF in a subgroup of patients, favorable histological changes indicating reverse remodeling should not be expected following CABG, at least within 6 months of surgery.

INTRODUCTION

Coronary artery disease (CAD) is a major cause of congestive heart failure. Following acute myocardial infarction, a pathologic process known as ventricular remodeling takes place contributing to the progression of the heart failure syndrome (1). A number of factors are associated with the development of left ventricular remodeling, including neurohormonal mediators such as activated renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) and increased sympathetic tone. These hormones cause the ventricle to dilate and induce changes in ventricular shape, leading to mechanical dysfunction of the contraction/relaxation process (2).

At the histopathological level, characteristic features are observed, including increased fibrosis, myocyte hypertrophy and distortion, myocytolysis, change in the collagen type I/III ratio and some degree of inflammatory activity associated with increased extra-cellular matrix degradation secondary to the actions of enzymes called metalloproteinases (3-5). This process is believed to be continuous and self-perpetuating, owing to progressive mechanical stress forces and positive signaling by the activated RAA and sympathetic systems (2).

Despite improvement in medical therapy of congestive heart failure patients by the use of angiotensin converting enzyme inhibitors and beta blockers which may favorably modulate remodeling, prognosis of patients with advanced ischemic cardiomyopathy remains poor (6, 7). In late years there has been increasing attention to surgical revascularization to improve left ventricular function and prognosis of these patients (8-10). However, identification of patients who might benefit the most from the surgery remains challenging. In addition, it is unknown whether changes in the histopathological

process indicating reverse ventricular remodeling are associated with potential clinical and functional improvement observed post-operatively.

In this study, we tested the hypothesis whether clinical and/or improvement in ejection fraction in patients with severe left ventricular dysfunction secondary to CAD submitted to coronary artery by-pass grafting (CABG), were associated with a specific profile of histopathological variables observed in endomyocardial biopsies pre and post-surgery.

METHODS

Study population

Patients with severe left ventricular dysfunction with ejection fraction < 35% secondary to CAD and in heart failure functional class of the New York Heart Association (NYHA) II-IV were eligible to participate in the study, providing they had suitable coronary artery anatomy to undergo CABG. Exclusion criteria were: presence of left ventricular aneurysm, interventricular septum defect secondary to acute myocardial infarction, significant valvular disease, ascending aortic disease, other cardiomyopathies such as amyloidosis, sarcoidosis or hypertrophic cardiomyopathy. The study was conducted in two Brazilian academic institutions - Hospital de Clínicas de Porto Alegre and Fundação Universitária de Cardiologia do Rio Grande do Sul, since patients were selected from the respective Heart Failure Clinics from both sites. The study protocol was approved by the Ethics and Research Committees from both institutions, and prior to enrolment patients gave their written informed consent.

Study design

Coronary anatomy was studied by standard Judkins technique (11). Selected patients had documentation of left ventricular function accomplished by radioisotopic ventriculography. Ejection fraction was determined prior to surgery and repeated 6 months following the surgery. Endomyocardial biopsy was performed during surgery and repeated transvenously at 6 months. Assessment of heart failure functional class was performed prior to surgery and also repeated in 6 months.

Left ventricular ejection fraction assessment

Left ventricular ejection fraction was assessed by radionuclide ventriculography preoperatively and in 6 months post-surgery. Radionuclide ventriculography was performed by *in vivo* labeling of patient's own red blood cells with technetium-99^m pertechnetate. Images were acquired in 3 planar views (left anterior oblique, anterior, and lateral views) using a gamma camera equipped with a general, all purpose, parallel hole collimator interfaced with a dedicated computer. Ejection fraction was determined using a validated automated software package (12).

Coronary artery bypass grafting

All patients underwent CABG using standard operative techniques (13, 14). Under total cardiopulmonary bypass and moderate hypothermia, myocardial preservation was performed by means of infusion of antegrade cold (from 4 to 10° C) crystalloid cardioplegia (St. Thomas II) administered in the ascending aorta repeatedly every 20 minutes. After finishing all distal anastomosis, rewarming was initiated and proximal anastomosis were done using a partial clamp. After a minimum reperfusion time of ten minutes and having the patient's temperature reached 37° C, progressively wean from the cardio-pulmonary bypass pump was carried out. All patients were operated by the same two surgeons (O. B. W and P.L.M.).

Endomyocardial biopsy

Endomyocardial biopsy was carried out according to standard technique (15). The first biopsy performed during the surgical procedure was done by opening the right atrium, crossing the tricuspid valve and collecting 4-5 samples at the mid-portion of the

right ventricular septum, prior to the revascularization procedure itself. The second biopsy performed at 6 months post-operatively, was done via jugular vein using a 9 French sheath and a Stanford biptome, under fluoroscopy, to collect 4-5 samples at a similar location of the first procedure. For this second procedure, patients remained for approximately two hours in observation following the biopsy and then discharged home. Endomyocardial fragments were immediately placed in 10% formalin for subsequent histological analysis. All biopsies were performed by the same surgeon (P.L.M.).

Histopathological analysis of the endomyocardial biopsy specimens

Specimens fixed in 10% formalin immediately after removal were paraffin-embedded and 5-7 μm sections cut to study specific features. To examine for evidence of hypertrophy and myocytolysis sections were stained with hematoxylin-eosin and Masson trichrome was used to assess presence of fibrosis. All histopathological analyses were performed by an investigator (M.B.), blind to clinical, functional and operative data, using an Olympus Bx40 microscope connected to an imaging analysis system (Leica Q500MC, Image Analysis System).

To determine the degree of hypertrophy, diameter of fibers showing central nucleus was measured at their shorter axis. Analysis was carried out using standard light microscope with a 100 X magnification, and a minimum of four and maximum of 24 fields were examined. To determine the degree of myocytolysis, the number of normal-looking cells and cells showing myocytolysis were count per field. Three to 18 fields were examined using 400 X magnification. To determine the degree of fibrosis, the area

stained in blue by the Masson trichrome was marked in 10 fields of 10.500 sq μ using a 400 X magnification.

Statistical analysis

Results are expressed as mean \pm SD or SEM for continuous variables and as proportions for categorical variables. Student's *t* test was used for comparisons involving continuous variables and Fischer's exact test for those involving categorical variables. A composite histological score was constructed to study associations with differences in ejection fraction pre and post revascularization. Fibrosis was scored as 0 point for $\leq 1\%$ area, 1 point for 1 to 5% area, 2 points for 5 to 20% area and 3 points for $> 20\%$ area. Myocytolysis was scored 0 point for ≤ 5 cells/field, 1 point for 5 to 10 cells/field, 2 points for 10 to 20 cells/field and 3 points for > 20 cells/field. For hypertrophy a cut-off point of $\leq 18 \mu\text{m}$ of fiber diameter scored 0 point and $> 18 \mu\text{m}$ scored 1 point. Patients were divided according to a final composite score cut-off point of ≤ 2 or > 2 . Differences were considered significant if $p < 0.05$.

RESULTS

Study population

From January 1997 to August 1998, 24 patients were included in the study. Inclusion of patients was not consecutive. Mean ejection fraction at baseline was $24 \pm 6\%$ (range 9 to 34). There were 22 males and 2 females with a mean age of 59.5 ± 9.8 years (range 39 to 75). Functional class according to the NYHA classification for heart failure was II in 5 patients, III in 11 patients and IV in 8 patients. Detailed baseline clinical characteristics of patients are shown in Table 1 and 2.

Intraoperative variables

All but one patient received exclusively saphenous vein grafts. This only exception received a left internal mammary graft to the left anterior descending coronary artery (LAD). The majority of cases had grafts to the LAD (96%). The mean number of grafts was 2.9 ± 0.8 (range 1 to 4). Mean pump time was 86 ± 19 minutes (range 42 to 132) and mean cross clamp time was 42 ± 10 minutes (range 21 to 65). Use of inotropes was almost universal ranging from dopamine in 100 % of the cases to dobutamine in 73% and epinephrine in 21% of the patients. Vasodilators were also used: nitroglycerine in 42% and sodium nitroprussiate in 33% of the patients. Intra-aortic balloon pumps were placed in 5 patients to get off pump and in only one case this device was placed in prior to surgery. For those patients on the balloon pump, the mean time of use was 2.8 ± 0.8 days (range 2 to 4).

Table 1 – Baseline characteristics of the study population

Case #	Age (years)	Gender	EF pre-op (%)	NYHA Pre-op
25.	39	Male	22	2
26.	57	Male	33	3
27.	72	Male	31	4
28.	71	Male	31	4
29.	67	Male	19	3
30.	55	Male	30	3
31.	45	Male	20	3
32.	51	Male	19	4
33.	75	Male	17	3
34.	47	Male	24	2
35.	58	Male	23	3
36.	71	Female	20	4
37.	59	Male	30	2
38.	69	Male	17	3
39.	61	Male	9	4
40.	47	Male	29	3
41.	49	Female	26	3
42.	50	Male	24	2
43.	61	Male	34	3
44.	66	Male	33	2
45.	62	Male	25	3
46.	68	Male	24	4
47.	65	Male	18	4
48.	64	Male	19	4
Mean	59.5±9.8		25±6	2.8± 0.7

Legend: EF – ejection fraction;
 NYHA – New York Heart Association;
 Pre-op – pre-operatively.

Table 2 – Clinical demographics of the study population

<i>Diabetes Mellitus</i>	7 (29%)
Systemic Hypertension	14 (58%)
Present smoking	18 (75%)
Dyslipidemia	8 (33%)
Renal failure	1 (4%)
Previous MI	23 (95%)
NYHA HF status IV	8 (33%)
III	11 (45%)
II	5 (20%)

Legend: MI – myocardial infarction; NYHA – New York Heart Association; HF – heart failure.

Surgical outcomes

A total of two deaths occurred in the early post-operative period (30 days). One patient died in the operating room, right off coming off pump and one patient had respiratory failure in the early post-operative period. There were two cases of stroke during surgery: one associated with an acute myocardial infarction who presented partial neurological recovery later and one who died on the 71st day post-surgery. Other complications included excessive bleeding requiring re-intervention (one case), sternum dehiscence managed with rotation of the major *pectoralis* muscle (one case) and arterial embolism to the right superior arm managed with embolectomy (one case).

Late follow-up

There were five additional deaths within the 6 months of follow-up. One due to stroke and the remaining cases presumably to sudden death, without autopsy confirmation. In the remaining 17 survivor patients, heart failure NYHA status showed a marked improvement from 2.8 ± 0.7 to 1.7 ± 0.9 , $p < 0.0001$. (Figure 1). While left ventricular ejection fraction did not change significantly (25 ± 6 to $26 \pm 10\%$) within this time-frame in the group as whole, in eight of these patients there was a marked improvement in ejection fraction from 24 ± 6 to $33 \pm 2\%$, $p < 0.002$. (Figure 2).

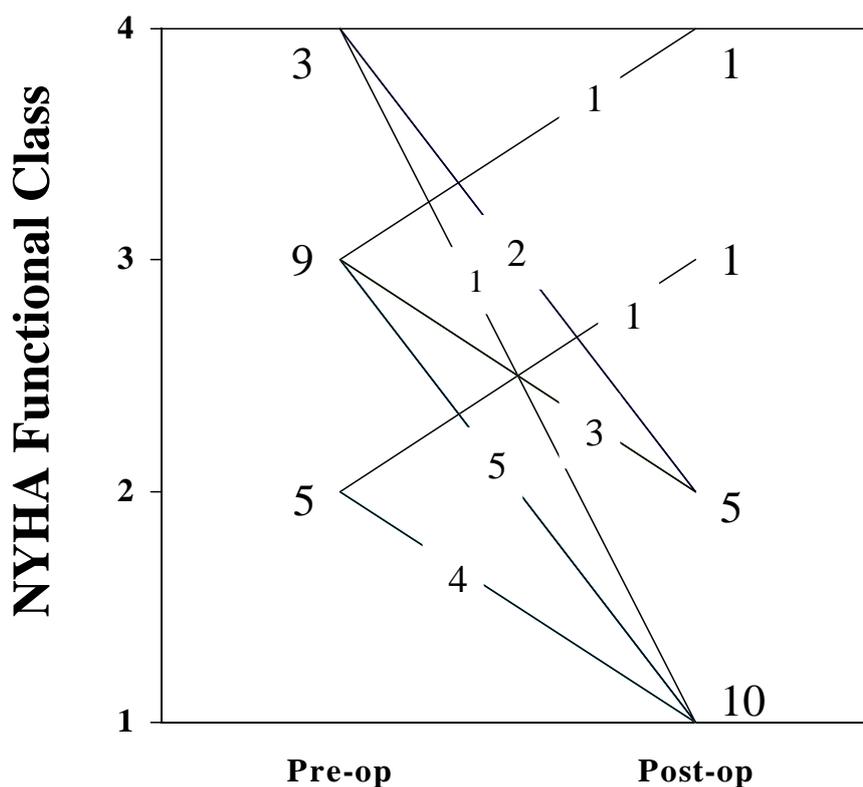


Figure 1 – Individual data regarding changes in NYHA heart failure status in studied patients, comparing pre and post coronary artery bypass grafting.

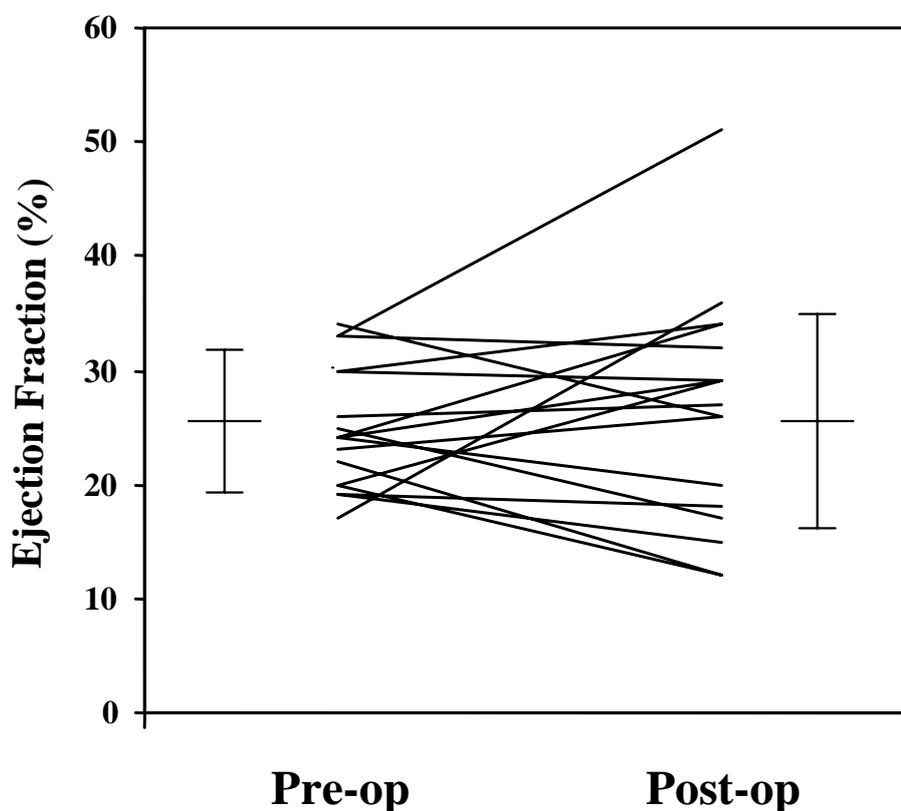


Figure 2 – Individual data \pm SD regarding left ventricular ejection in all studied patients, comparing pre and post coronary artery bypass grafting.

Histopathological analysis of the endomyocardial biopsy specimens

From the 17 patients who survived the 6 months follow-up, one refused to have the second biopsy performed. Therefore, data of 16 patients were available for histological comparison pre and post-surgery. While degree of hypertrophy was unchanged comparing pre and post-surgery biopsy specimens (21 ± 4 vs. 22 ± 4 μm), there were significant increases in both the number of cells showing myocytolysis (9 ± 11 vs. 21 ± 15 %/cells; $p < 0.001$) and in the extension of fibrosis in the post-surgery specimens comparing to pre-surgery specimens (8 ± 8 vs. 21 ± 15 %/area; $p < 0.001$). Stratifying patients according to

improved (n = 8) or worsened left ventricular ejection fraction post-surgery, (n=8), none of the preoperative histological features individually showed differences among the two subgroups. (Table 3). However, when a composite score of the three histological variables was used to analyze changes in ejection fraction following surgery, lower preoperative scores were associated with improved left ventricular function following revascularization. (Figure 3). Illustrative photomicrographs of the different histopathological features are presented in Figures 4 to 9.

Table 3. Histological variables pre and post revascularization, according to increase or decrease in left ventricular ejection fraction following surgery.

	<i>Pre-operative</i>		<i>p</i>	<i>Post-operative</i>		<i>p</i>
	Reduction in EF <i>n=8</i>	Increase in EF <i>n=8</i>		Reduction in EF <i>n=8</i>	Increase in EF <i>n=8</i>	
Fibrosis (% area)	11.4± 3.5	6±2.6	0.31	21.8±3.9	19.8± 3.8	0.7
Myocytolysis (cells/field)	14.5± 4	9± 2.8	0.41	21±3.9	19.8± 3.8	0.8
Fiber diameter (µm)	22.7± 1.6	20.5± 2.1	0.27	21.9± 2	21.3± 1.9	0.8

* Values are mean ± SEM; EF means ejection fraction.

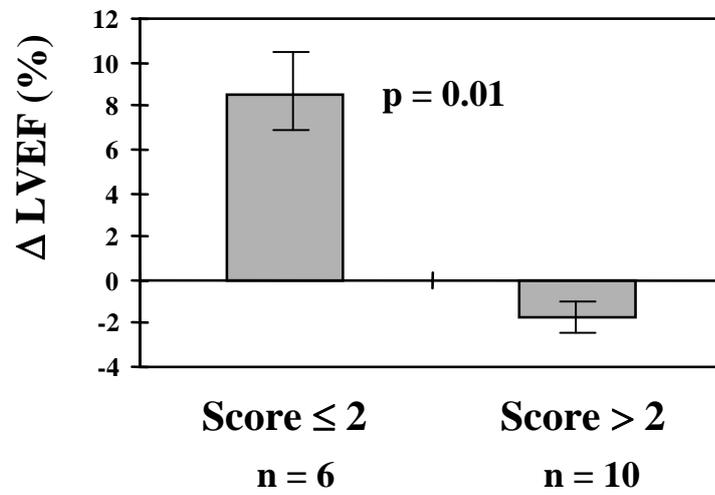


Figure 3 – Bar graph illustrating changes in left ventricular ejection fraction comparing pre and post coronary artery bypass grafting in 16 studied patients according to a combined histological score including the 3 variables of interest obtained in the pre operative period.

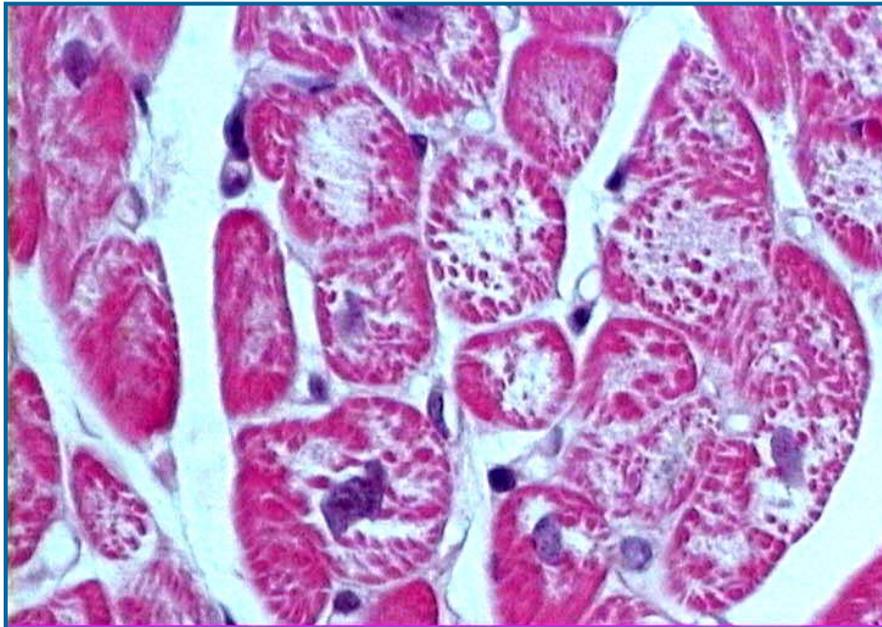


Figure 4 – Illustrative photomicrograph for the presence of myocyte hypertrophy in a endomyocardial biopsy specimen. Hematoxylin and eosin stain, 100 X magnification.

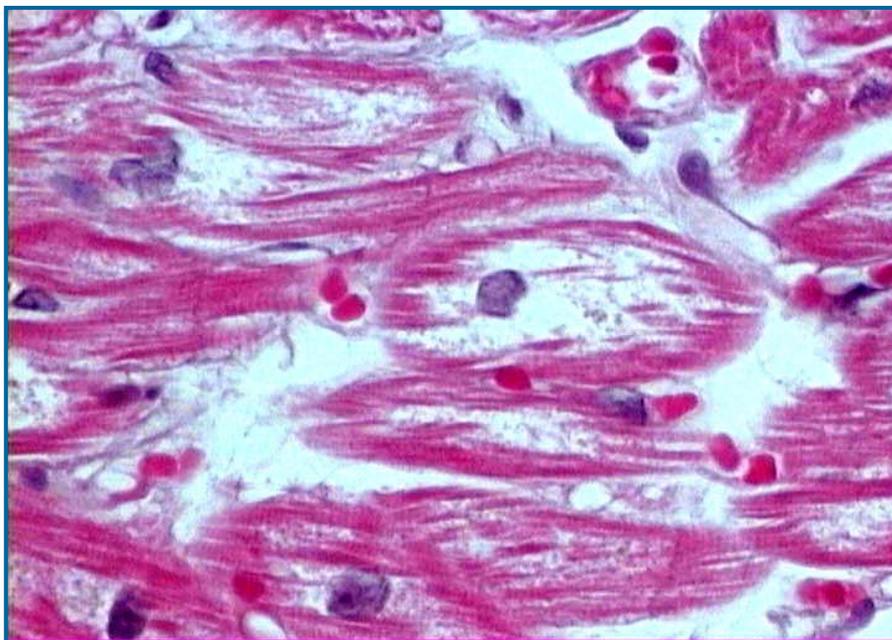


Figure 5 – Illustrative photomicrograph for the presence of myocytolysis in a endomyocardial biopsy specimen. Hematoxylin and eosin stain, 100 X magnification.

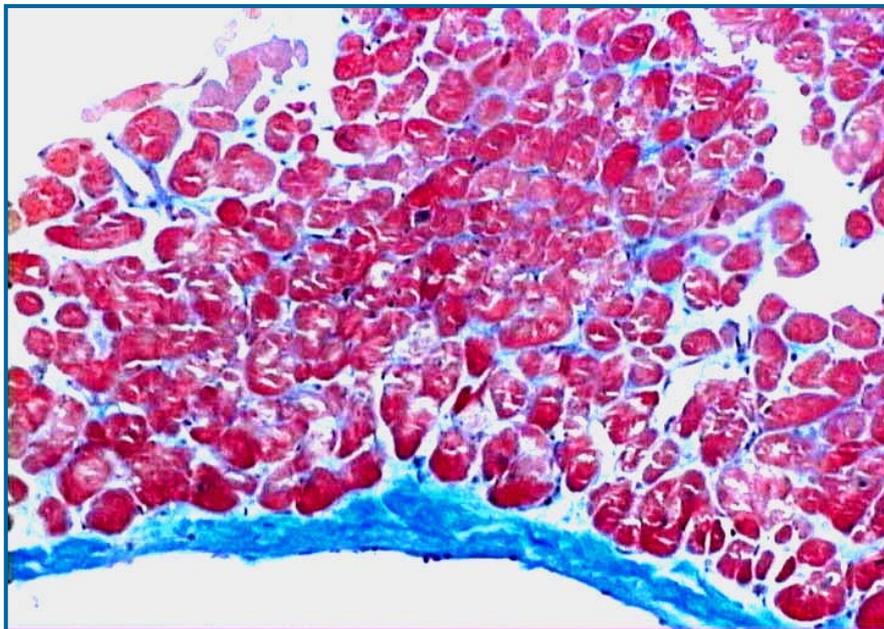


Figure 6 - Photomicrograph illustrating absence of fibrosis in an endomyocardial biopsy specimen. Masson trichrome stain, 400 X magnification.

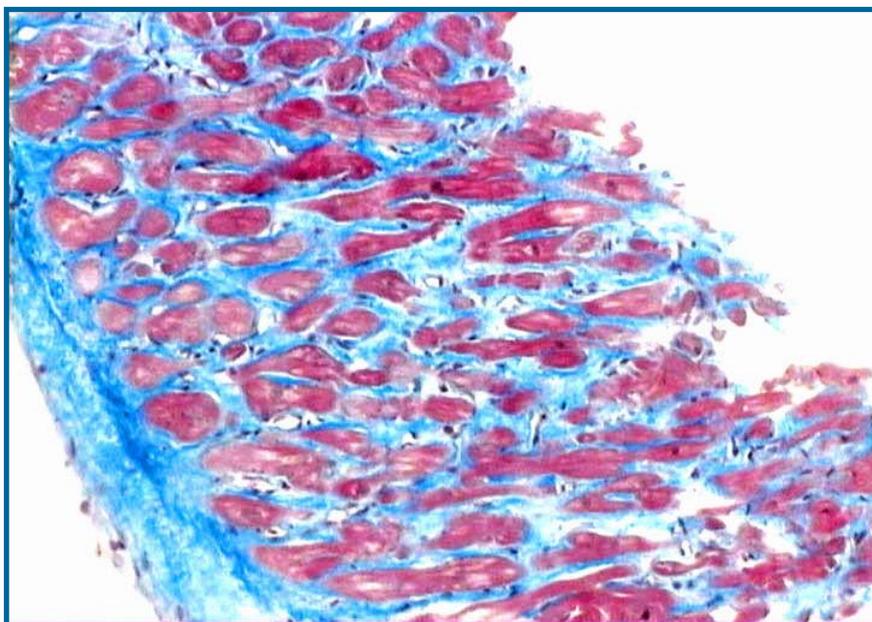


Figure 7 - Photomicrograph illustrating moderate fibrosis in an endomyocardial biopsy specimen. Masson trichrome stain, 400 X magnification

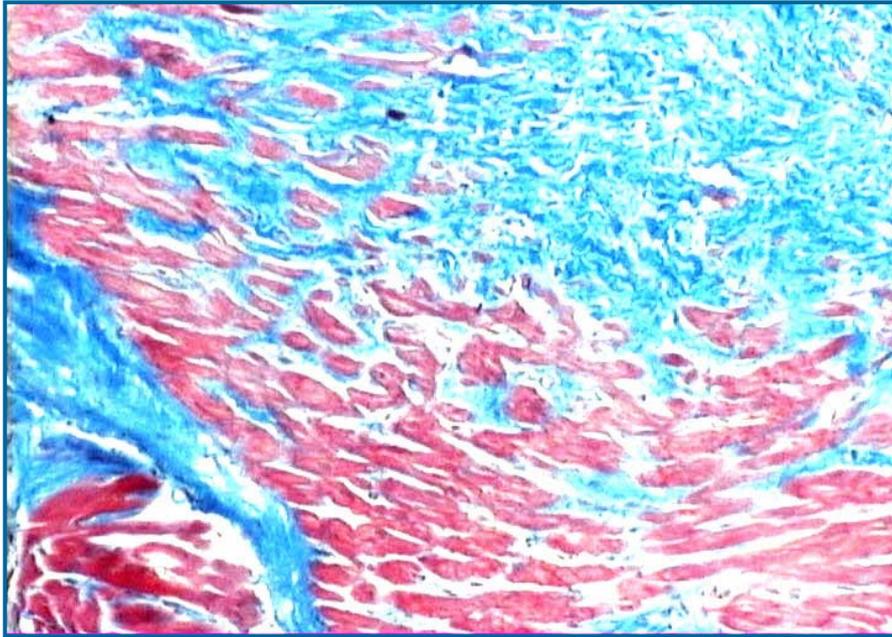


Figure 8 - Photomicrograph illustrating severe fibrosis in a endomyocardial biopsy specimen. Masson trichrome stain, 400 X magnification.

DISCUSSION

Patients with severe left ventricular dysfunction due to CAD may benefit from surgical revascularization. Much has been debated on the proper selection of patients to be submitted to this procedure. At the pathophysiological level, it is thought that reversal of cardiac remodeling following restoration of blood flow to viable myocardial areas, promotes improved left ventricular function and hence, heart failure status and survival. Our study shows that three histopathological variables examined from endomyocardial biopsies from patients with severe left ventricular dysfunction submitted to surgical revascularization failed to, individually, predict who may experience improvement in left ventricular ejection fraction post-revascularization. However, a combination of histological changes indicating lesser degree of remodeling, identified patients who showed improvement in ventricular function. We also demonstrated that the benefit in functional class observed was not associated with favorable histopathological changes in the post-operative period.

Clinical characteristics and surgical outcomes

Our study population is a typical cohort of patients with advanced ischemic cardiomyopathy characterized by severe left ventricular dysfunction and high heart failure scores. For these patients, despite improvement in medical therapy, prognosis remains poor (6, 7). In this context, surgical revascularization has gained increased attention as a therapeutic option mainly due to improvement in operative techniques and myocardial protection (16, 17). In fact, Luciani and colleagues studied 143 patients with ejection fraction lesser than 30% and compared outcomes according to treatment allocation:

CABG, cardiac transplantation or medical therapy. Although surgical mortality was relatively high (20%), prognosis was significantly better for patients allocated to CABG and heart transplant compared to medical therapy (18). Our study was not designed to compare different treatments, but our surgical results appear to be comparable to studies involving this subset of patients. In the present study there were two early deaths (within 30 days of surgery), accounting for a 8.3% mortality rate, which is similar to that reviewed by Milano and co-workers (19). In addition, the occurrence of other complications in our hands was also similar to other studies dealing with similarly ill patients (20).

The number of grafts used in our patients was within the range expected when significant left ventricular dysfunction is present. In a report by Samady and co-workers involving patients with mean ejection fraction of 24%, the mean number of grafts used was 2.8 (21), almost identical to our experience (2.9 grafts/patient). However a main difference in the present study was the almost universal use of saphenous grafts, which in part was due to the concept that grafting of arterial conduits could cause increased ischemic time, which could be especially deleterious in patients with severe compromise of the left ventricular function.

Heart failure functional status following revascularization

Most studies on surgical revascularization for advanced ischemic cardiomyopathy show a consistent improvement in heart failure functional class. In a systematic review of preoperative and postoperative NYHA status of these patients, a marked improvement of approximately 40% (range 27 to 69%) is evident (22). Similarly, in our study we observed a significant change from NYHA 2.8 to 1.7 class in the whole group (60% improvement). Clearly the degree of improvement in functional class was more pronounced than that

observed in ventricular function. It is known that several factors may influence functional capacity (23, 24), in addition to restoration blood flow and recruitment of hibernating myocardium, which are mainly responsible for recovery of ventricular function (25, 26). In fact, Samady and colleagues have recently demonstrated that even in the absence of early recovery of ventricular function following CABG, patients with advanced heart failure status and compromised ventricular function had improvement in symptoms and survival, similar to those who showed early recovery of function (21).

Left ventricular ejection fraction and surgical revascularization in patients with severe ischemic cardiomyopathy

In the progression of heart failure, progressive left ventricular dilatation occurs leading to impairment of myocardial performance. Left ventricular dysfunction is a major determinant of mortality in heart failure patients (27). While several medical therapies are now available to manage such patients, improving ejection fraction and survival (28-30), they do not interfere with the causal pathological substrate itself; for patients with ischemic cardiomyopathy, surgical revascularization provides the opportunity to truly reverse the ischemic burden by restoring blood flow (31, 32). However, improvement in ejection fraction is not uniform post CABG and appears to not be immediate either (33, 34). It is suggested that recovery of myocardial function depend on the amount of viable myocardium preoperatively. In fact, some investigators have indicated that a minimum of 18 to 20% of viable myocardium should be present in order to significant improvement in ejection fraction be noted following surgical revascularization (35-38). On the contrary, others have suggested that beneficial effects of surgical revascularization in patients with severe ischemic cardiomyopathy can be independent of improvement in ejection fraction

itself (21, 39). Thus, the presence of viability cannot be the sole indicator of possible benefits of CABG in patients with severe left ventricular dysfunction.

In our study, we could not demonstrate improvement in ejection fraction 6 months following revascularization in the total of 17 patients who survived. In fact, in five cases ejection fraction worsened by more than 1%. In eight of these 17 patients, however, there was a significant improvement in ejection fraction. It is possible that the elapsed time may have been too short for complete recovery to be apparent, as some investigators have proposed that within 2 to 6 months following surgery, only 35% of the total functional improvement is apparent (40). On the other hand, despite successful revascularization, contractile compromise may continue, accounting for progressive deterioration of global function, as the pathophysiology of severely dysfunctional and dilated ventricles may no longer be solely dependent on ischemia: the presence of dilatation of the ventricular cavity causes increased left ventricular wall stress, thus perpetuating remodeling (41). In addition, it is possible that a not uniform amount of viable myocardium existed among patients, perhaps with mixed fibrotic areas, which could explain differences in ejection fraction recovery (10, 42).

Left ventricular remodeling and surgical revascularization

Following cardiac injury, for example acute myocardial infarction, a series of events at the genomic, molecular, cellular and interstitial levels occurs, leading to changes in size, shape and function of the heart. At the histopathological level, there is myocyte hypertrophy, necrosis, apoptosis, increased fibrosis and fibrillar collagen and fibroblast proliferation (43, 44). Neurohormonal activation in heart failure is known to mediate the progression of the remodeling process at these various levels (45-47). On the other hand,

persistence of cardiac dilatation leads to increased global wall tension and stress which will in turn, activate a number of deleterious mechanisms, further perpetuating remodeling (48, 49). This process is the basis to the understanding that a regional abnormal contractility defect post-acute myocardial infarction accounts for the later development of a globally dysfunctional heart.

In our study three main endomyocardial histological features were analyzed: percent of tissue fibrosis, degree of myocyte hypertrophy and of myocytolysis. These features are instrumental to characterize remodeling. All three characteristics were clearly abnormal in the preoperative specimens, as an average of 8% of fibrotic area was observed, as well as cells showing cytoplasmic vacuolization (myocytolysis) and hypertrophy were present. These observations are similar to those made by other investigators studying regional functional abnormalities in ischemic cardiomyopathy and histology (35, 50). Of note, these two seminal studies of histopathological features associated with regional contractile function and reversibility correlates, have taken great care to perform biopsies at the very site of altered motion detected previously by imaging techniques. Thus, despite the fact that in the present study only right ventricular biopsies were performed, our findings suggest that irrespective of the initial area of insult, global remodeling process may induce changes distant from the original myocardial injury event. Our observations may support a different, safer approach to study histological changes in advanced ischemic cardiomyopathy.

If in one hand preoperative histopathological features of the present study characterize cardiac remodeling, the findings following revascularization are intriguing. Of note, ours is the first study to our knowledge, to attempt histopathological comparisons

pre and post surgical revascularization in patients with advanced left ventricular dysfunction due to ischemic cardiomyopathy. Despite the notion that restoration of blood flow would necessarily be beneficial, we did not observe reverse remodeling towards a more physiological myocardial appearance after revascularization. In fact, two out three of the histopathological features worsened following surgery; namely, more cells displayed myocytolysis and more fibrosis was observed. Hypertrophy remained equally abnormal comparing pre and post biopsy specimens. From these observations several speculative assumptions can be made: 1) within the time-frame following surgery not enough time has elapsed to allow reversal of remodeling at the myocardial tissue level, 2) restoration of blood flow was insufficient to promote beneficial effects at the tissue level and 3) since no previous study has addressed the issue of remodeling pre and post CABG, these observations can simply reflect natural history of progressive remodeling irrespective of reversal in ischemic burden.

Association between histology and left ventricular ejection fraction following revascularization

Since no evidence of improvement at the histological level was observed following surgery, we studied preoperative features that could predict outcome. Others have shown that improvement in myocardial function occurred when less amount of fibrosis was observed in selected biopsied areas showing regional contractile abnormality (35, 50). In our study, degree of fibrosis alone was not able to predict functional recovery of the myocardium. While others have not systematically studied other features such as myocytolysis and hypertrophy in this regard, we could not demonstrate that such variables were associated with postoperative changes either. However, since remodeling is a

dynamic, multi-factorial process, we constructed a histological score to combine the different features of interest. We then showed that the combination of lesser degree of fibrosis, myocytolysis and hypertrophy preoperatively was associated with significant improvement in left ventricular ejection fraction following surgery. It is possible that simultaneous analysis of three different features, all indicating adverse remodeling, constituted a stronger tool to better qualify degree of structural damage, and therefore to be more representative of the amount of potentially salvageable myocardium.

Study limitations

Our data must be interpreted considering specific study limitations. Firstly, biopsy specimens were collected in the right interventricular septum. This may account, at least partially, for the lack of correlation between individual histological variables and clinical functional outcomes. On the other hand, since we planned a second, postoperative biopsy, this approach felt ethically more appropriate than a left ventricular biopsy performed in an outpatient basis condition. Also, the location of biopsy may have missed specific regional motility abnormalities, although we assumed left ventricular remodeling as a global and diffuse process considering the severity of cases we studied.

Conclusions

Our study demonstrated that first, in patients with severe left ventricular dysfunction submitted to CABG, improvement in NYHA heart failure status was evident, but not in left ventricular ejection fraction. Secondly, no improvement in three histological features was observed; on the contrary, fibrosis and hypertrophy worsened. Thirdly, individual histological features preoperatively could not predict patients who would have improved ejection fraction. However, a composite histological score indicating lesser degree of remodeling was present in biopsy fragments of patients who showed improvement in ejection fraction following surgery. Thus, our data suggest that despite improvement in NYHA heart failure status and in left ventricular ejection in selected patients, no evidence of histological improvement should be expected at least within relatively short period of time (6 months) following surgical revascularization in patients with advanced left ventricular dysfunction secondary to CAD. Finally, although evidence of milder histological abnormalities indicated potential for functional recovery, remodeling features may take longer to recuperate.

REFERENCES

1. Pfeffer JM, Pfeffer MA, Fletcher PJ, et al. Progressive ventricular remodeling in rat with myocardial infarction. *Am J Physiol* 1991;29 (suppl H):1406-14.
2. Weber KT, Brilla CG. Pathological hypertrophy and the cardiac interstitium: fibrosis and the renin-angiotensin-aldosterone system. *Circulation* 1991;83:1849-65.
3. Weber KT, Anversa P, Armstrong PWL. Remodeling and reparation of the cardiovascular system. *J Am Coll Cardiol* 1992;20:3-16.
4. Klappacher G, Franzen P, Heab D, et al. Measuring extracellular matrix turnover in the serum of patients with idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy and impact on diagnosis and prognosis. *Am J Cardiol* 1995; 75:913-18.
5. Marijianowsky MM, Teeling P, Manh J, Becker AE. Dilated cardiomyopathy is associated with an increase in type I/typeIII collagen ratio: quantitative assessment. *J Am Coll Cardiol* 1995; 25: 1263-72.
6. SOLVD Investigators. Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fraction and congestive heart failure. *N Engl J Med* 1991; 325:293-302.
7. MERIT-HF Study Group. Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: Metoprolol CR/XL Randomized Intervention Trial in Congestive Heart Failure (MERIT-HF). *Lancet* 1999; 353:2001-07.
8. Elefteriades J, Tolis Jr G, Levi E, et al. Coronary artery grafting in severe left ventricular dysfunction: excellent survival, improved ejection fraction and functional state. *J Am Coll Cardiol* 1993;22:1411-17.

9. Lee KS, Marwick TH, Cook SA, Go RT, Fix JS, James KB, Sapp SKL, MacIntyre WJ. Prognostic of patients with left ventricular dysfunction with and without viable myocardium after myocardial infarction: relative efficacy of medical therapy and revascularization. *Circulation* 1994;90:2687-94.
10. Udelson JE, Coleman PS, Metherall J, et al. Predicting recovery of severe regional ventricular dysfunction: comparison of rest scintigraphy with 201-thallium and 99mTc-sestamibi. *Circulation* 1994;89:2552-61.
11. Judkins MP, Judkins EJ. The Judkins technique. In: King SB III, Douglas JS Jr, eds. *Coronary Arteriography*. McGraw-Hill, New York. 1984:182-217.
12. Bisi G, Sciagra R, Bull U, et al. Assessment of ventricular function with first-pass radionuclide angiography using technetium 99m hexakis-2-methoxyisobutylisonitrile: A European multicenter study. *Eur J Nucl Med* 1991;18(3):178-83.
13. Stolf NAG, Jatene AD. *Tratamento Cirúrgico da Insuficiência Coronária. Técnica Operatória na revascularização Cirúrgica do Miocárdio*. Atheneu, São Paulo. 1998:97-111.
14. Loop FD. Coronary artery bypass surgery. In: Topol EJ. *Textbook of Cardiovascular Medicine*. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia. 1998: 2011-31.
15. Mason JW. Techniques for right and left ventricular biopsy. *Am J Cardiol* 1978;41:887-92.
16. Buxton BF, Fuller JA, Tatalis J, et al. Evolution of complete arterial grafting for coronary artery disease. *Texas Heart Institute Journal* 1998;25:17-23.

17. Buckberg GD. Update on current techniques of myocardial protection. *Ann Thorac Surg* 1995; 60: 805-14.
18. Luciani GB, Faggian G, Razzolini R, Livi U, Bortolotti U, Mazzucco A. Severe ischemic left ventricular failure: coronary operation or heart transplantation? *Ann Thorac Surg* 1993;7:482-88.
19. Milano CA, White WD, Smith LR, et al. Coronary artery bypass in patients with severely depressed ventricular function. *Ann Thorac Surg* 1993;56:487-93.
20. Lytle B. Results in Artery Bypass Surgery. In: Buxton B, Frazier OH, Westaby S. *Ischemic Heart Disease Surgical Management*. Mosby International Ltd, Philadelphia. 1999:63-72.
21. Samady H, Elefteriades JA, Abboutt BG et. al. Failure to improve left ventricular function after coronary revascularization for ischemic cardiomyopathy is not associated with worse outcome. *Circulation* 1999;100: 1298-1304.
22. Blitz A, Scholl F, Laks H. Surgery for Chronic Heart Failure. In: Poole-Wilson PA, Colucci WS, Massie BM, et al. *Heart Failure Scientific Principles and Clinical Practice*. Churchill Livingstone Inc, New York. 1997:775-805.
23. Salati M, Lemma M, Di Mattia DG, et al. Myocardial revascularization in patients with ischemic cardiomyopathy: functional observations. *Ann Thorac Surg* 1997;64:1728-34.
24. Vanoverschelde JLJ, Wijns W, Borges M, et al. Chronic myocardial hibernation in humans, from bedside to bench. *Circulation* 1997;95:1961-71.

25. Dreyfus GD, Duboc D, Blasco A, et al. Myocardial viability assessment in ischemic cardiomyopathy: benefits of coronary revascularization. *Ann Thorac Surg* 1994;57:1402-08.
26. Bisi G, Sciagra R, Santoro GM, et al. Rest. Technetium 99m sestamibi tomography combination with short term administration of nitrates: feasibility and reliability for prediction of post revascularization outcome of assynergic territories. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:1282-9.
27. Chon JN, Johnson GR, Shabetai R, et al. Ejection fraction, peak exercise oxygen consumption ratio, ventricular arrhythmia and plasma norepinephrine as determinants of prognosis in heart failure. *Circulation* 1993;87 suppl VI:V15-VI16.
28. Ader R, Chatterjee K, Ports T, Brundage B, et al. Immediate and sustained hemodynamic and clinical improvement in chronic heart failure by an oral angiotensin-converting enzyme inhibitor. *Circulation* 1980; 61:931-7
29. CIBIS investigations and committees. A randomized trial of β -blockade in heart failure: The cardiac insufficiency bisoprolol study (CIBIS). *Circulation* 1994;90:1765-73.
30. Konstam MA, Rousseau MF, Kronenberg MW, et al. Effects of the angiotensin converting enzyme inhibitor enalapril on the long term progression of left ventricular dysfunction in patients with heart failure. *Circulation* 1992;86:431-8.
31. Elasser A, Schlepper M, Wolf-Peter K, et al. Hibernating myocardium, an incomplete adaptation to ischemia. *Circulation* 1997;96:2920-31.

32. Shikilvar B, Maes A, Borgers M, et al. Only hibernating myocardium invariably shows early recovery after coronary revascularization. *Circulation* 1996;94:308-15.
33. Mintz LJ, Ingels WB, Dougherty GT, et al. Segmental studies of left ventricular function and wall motion after coronary arterial bypass surgery. *Am J Cardiol* 1980;45:210.
34. Alfieri O, La Canna G, Giubbini R, et al. Recovery of myocardial function: the ultimate target of coronary revascularization. *Eur J Cardio Thorac Surg* 1993;7:325-30.
35. Depré C, Vanovershelde JLJ, Melin JA, et al. Structural and metabolic correlates of the reversibility of chronic left ventricular ischemic dysfunction in humans. *Am J Physiol* 1995;268:H1265-H1275.
36. Di Carli MF, Asgazzadie F, Schelbert HR, et al. Quantitative relation between myocardial viability and improvement in heart failure symptoms after revascularization in patients with ischemic cardiomyopathy. *Circulation* 1995;92:3436-44.
37. Ragosta M, Beller GA, Watson DD, et al. Quantitative planar rest-redistribution TI imaging in detection of myocardial viability and prediction of improvement in left ventricular function after coronary artery bypass surgery in patients with severely depressed left ventricular function. *Circulation* 1993;87:1630-41.
38. Tillish J, Brunken R, Marshall R, et al. Reversibility of cardiac wall motion abnormalities predicted by positron tomography. *N Engl J Med* 1986; 314:884-88.

39. Yamani MH, Mc Carthy PM, Starrling RC. Surgical Treatment of Chronic Heart Failure. In: Hosenpud JD, Greenberg BH. *Congestive Heart Failure-Pathophysiology, Diagnosis and Comprehensive Approach to Management*. 2^oed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. 2000;767-84.
40. Vanoverschelde JL, Melin JA, Depré C, et al. Time-course of functional recovery of hibernating myocardium after coronary revascularization (Abstract). *Circulation* 1994;90, Pt. 2: I-378.
41. Hochberg MS, Parsonnet V, Gielchinsky I, et al. Coronary artery bypass grafting in patients with ejection fractions below forty percent. *J Thorac Cardiovas Surg* 1983;86:519-27.
42. Perrone-Filardi P, Pace L, Prastaro M, et al. Assessment of myocardial viability in patients with chronic coronary artery disease: Rest-4-Hour-24-Hour sup 201Thallium tomography vs Dobutamine Echocardiography. *Circulation* 1996;94:2712-19.
43. Konstam MA, Kronenberg MW, Roussesu MF, et al. Effects of the angiotensin converting enzyme inhibitor enalapril on the long-term progression of left ventricular dilatation in patients with asymptomatic systolic dysfunction. *Circulation* 1993;88:2277-83.
44. Narula J, Haider N, Virmani R, et al. Apoptosis in myocytes in end-stage heart failure. *N Engl J Med* 1996; 335: 1182-89.
45. Reiss K, Capasso JM, Huang HE, et al. ANG II receptors, c-myc and c-jun in myocytes after myocardial infarction and ventricular failure. *Am J Physiol* 1993;264:H760-9.

46. Sadoshima J, Izumo S. Molecular characterization of angiotensin II induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblasts. Critical role of the AT1 receptor subtype. *Circ Res* 1993;73:413-23.
47. Everett AD, Tufro-McReddie A, Fisher A, et al. Angiotensin receptor regulates cardiac hypertrophy and transforming growth factor-beta 1 expression. *Hypertension* 1994;23:587-92.
48. Mitchell GF, Lamas GA, Vaughan DE, et al. Left ventricular remodeling in the year after first anterior myocardial infarction: a quantitative analysis of contractile segment lengths and ventricular shape. *J Am Coll Cardiol* 1992;19:1136-44.
49. Grossman W, Jones D, McLaurin LD. Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. *J Clin Invest* 1975; 56:56-64.
50. Stinson ES, Billingham ME. Correlative study of regional left ventricular histology and contractile function. *Am J Cardiol* 1977;39(3):378-83.

ANEXOS

Projeto de Pesquisa

Associação de variáveis histopatológicas de biópsias endomiocárdicas pré e pós cirúrgicas com os resultados clínicos de pacientes com disfunção ventricular esquerda grave submetidos revascularização do miocárdio

Nome do Paciente (preencher em letra de forma)

O abaixo assinado e identificado, sob a responsabilidade do médico que assina este documento, declara ter recebido uma explicação clara e completa sobre a pesquisa acima mencionada a que submete-se de livre e espontânea vontade, reconhecendo que:

1º - Foram explicadas as justificativas e os objetivos da pesquisa.

2º - Foram explicados os procedimentos que serão utilizados, incluindo os que ainda são experimentais.

Entendi que se eu participar deste estudo serão feitos testes e exames: cirurgia de revascularização do miocárdio, biópsia, cintilografia miocárdica, cineangiocoronariografia, junto a outros procedimentos ou testes que se fizerem necessário.

3º - Foram descritos os desconfortos e riscos esperados.

Os procedimentos a serem executados poderão apresentar os seguintes efeitos colaterais: *dor torácica no período pós-operatório; não correção da área isquêmica; acidente vascular cerebral; piora da função cardíaca e risco de vida.*

Entendo a possibilidade de que eu venha a experimentar danos relacionados ao estudo.

4º - Foram descritos os benefícios que poderão ser obtidos.

Os benefícios esperados desta terapia são:

- Melhora da função ventricular
- Melhora da classe funcional

5º - Foi dada garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa e o meu tratamento.

Caso tiver novas perguntas sobre este estudo, sobre os meus direitos como participante do mesmo ou se penso que fui prejudicado pela minha participação, posso chamar o Dr. Paulo Moreno (investigador).

6º - Foi dada a liberdade de retirar meu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem que isso traga prejuízo à continuação do meu cuidado e tratamento.

7º - Foi dada a garantia de não ter identificado e de ser mantido o caráter confidencial de informação em relação à minha privacidade.

8º - Foi assumido o compromisso de proporcionar-me informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta afetar minha vontade em continuar participando.

9º - A participação no estudo não prolongará minha permanência no hospital além do tempo que meus médicos julgarem apropriado para o meu tratamento.

10º - Estou ciente de que não existe maior segurança quanto a menor incidência de efeitos colaterais previsíveis ou imprevisíveis.

11º - Assino o presente documento, em duas vias de igual teor, ficando uma em minha posse.

A minha assinatura neste *Consentimento Livre e Esclarecido* dará autorização aos autores do estudo e ao comitê de ética do hospital de utilizarem os dados obtidos quando se fizer necessário, incluindo a divulgação dos mesmos, sempre preservando minha privacidade.

Porto Alegre, ____ (dia) _____ (mês), ____ (ano).

Assinatura do paciente: _____

Assinatura do médico responsável: _____

Nome do médico responsável: _____

CREMERS N.º.: _____

Declaro que este formulário foi lido para _____
(nome do paciente) em ____/____/____, pelo _____(nome
do pesquisador) enquanto estava presente.

Características histológicas individuais dos pacientes estudados

Caso #	Fibrose Pré (%)	Fibrose Pós (%)	Diâmetro fibra pré op	Diâmetro fibra pós op	Miocitólise pré (%)	Miocitólise pós (%)
2	36	6	21,98	21,83	54	6
5	15	7	24,31	24,53	8	7
6	20	3	20,69	18,29	26	3
7	0,2	15	20,85	17,76	10	15
8	2	39	23,94	23,76	14	39
9	0,3	14	26,70	21,05	3	14
10	4	1	18,54	16,99	5	1
11	4	4	21,60	27,85	5	4
12	8	40	24,38	15,31	14	40
13	22	33	25,42	23,37	3	33
17	6	22	24,13	25,40	13	22
18	5	41	21,36	22,79	12	41
19	0,2	27	24,84	21,96	7	27
20	12	43	10,27	20,89	3	43
21	4	22	18,79	27,67	11	22
22	1	17	18,79	16,97	0	17
Média	8,35±8,94	20,87±14,8*	21,45 ± 4	21,65 ± 3,8	9,2 ± 11,2	20,8 ±14.8*

(*) p < 0,001.