

Biopsia endomiocárdica: marcadores de sobrevida en la miocardiopatía dilatada no coronaria

LILIANA E. FAVALORO; MIRTA DIEZ[†], DIEGO SÁNCHEZ LUCEROS, CLAUDIA CORTÉS, PATRICIA CABEZA MECKERT, CARLOS A. VIGLIANO, SERGIO V. PERRONE, RUBÉN P. LAGUENS

RESUMEN

Objetivo

Determinar si los datos morfométricos de la biopsia endomiocárdica de pacientes con miocardiopatía dilatada no coronaria se correlacionan con sobrevida libre de trasplante urgente o de emergencia y con parámetros funcionales, hemodinámicos y ecocardiográficos.

Material y métodos

Se analizaron retrospectivamente las biopsias endomiocárdicas de 110 pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva secundaria a miocardiopatía dilatada no coronaria definida por una fracción de eyección del ventrículo izquierdo menor del 40% y ausencia de lesiones coronarias significativas. Se evaluaron el diámetro miocítico, el porcentaje de fibrosis intersticial y los parámetros de replicación celular (del núcleo de miocitos y de células intersticiales). Se definió como punto final a la combinación de mortalidad y trasplante urgente o de emergencia.

Resultados

La edad fue de $44,62 \pm 14$ años, 66% hombres, 67% en clase funcional III-IV, fracción de eyección del ventrículo izquierdo $22,4 \pm 7,9\%$ y el diámetro diastólico ventricular izquierdo de $70,8 \pm 10,7$ mm. El seguimiento fue de $2,72 \pm 2$ años. El punto final combinado fue del 33%. El análisis de sobrevida actuarial mostró que un diámetro miocítico $> 17,68 \mu\text{m}$ (*log rank test* 11,29; $p < 0,001$) presentó una fuerte asociación con el punto final. En el análisis multivariado, el diámetro miocítico con un riesgo relativo de 1,22 (IC 95%, 1,027-1,449) fue predictor independiente de mortalidad y trasplante de urgencia. El diámetro miocítico mostró una asociación positiva débil con los diámetros ventriculares y las presiones pulmonares. El porcentaje de fibrosis y los parámetros de replicación celular no se correlacionan con el punto final.

Conclusiones

El grado de hipertrofia miocítica es un predictor independiente de mortalidad y necesidad de trasplante de urgencia. La fibrosis y los parámetros de replicación celular no se correlacionan con el punto final combinado.

REV ARGENT CARDIOL 2004;72:116-123.

Recibido: 10/2003

Aceptado: 3/2004

Dirección para separatas:
Dra. Mirta Diez - ICYCC,
Fundación Favaloro, Av. Belgrano
1746, Buenos Aires -
e-mail: mdiez@favaloro.org -
Tel. 4378-1200

Palabras clave

> Miocardiopatía dilatada no coronaria - Biopsia endomiocárdica - Hipertrofia miocítica - Fibrosis intersticial - Replicación celular

INTRODUCCIÓN

La insuficiencia cardíaca es responsable de una morbimortalidad cardiovascular importante y reconoce como una de sus principales causas a la disfunción sistólica del ventrículo izquierdo (VI). Los mecanismos fisiopatológicos que llevan al deterioro creciente de la función ventricular continúan siendo motivo de debate. El remodelado parece ser la característica fenotípica del síndrome de insuficiencia cardíaca. (1,

2) Ya sea que exista hipertrofia ventricular izquierda con defectos del llenado ventricular o dilatación ventricular esférica con disminución de la función sistólica, pareciera que los cambios estructurales son la base fundamental de la progresión de la enfermedad. (3)

Una de las formas de insuficiencia cardíaca, la miocardiopatía dilatada no coronaria (MCDNC) con deterioro severo de la función ventricular y baja capacidad funcional, tiene mal pronóstico en el corto

plazo. (4) La posibilidad de identificar poblaciones de riesgo ha progresado considerablemente. Una estratificación pronóstica más exacta permite definir la estrategia terapéutica y la necesidad de trasplante cardíaco. (5) Con el fin de definir los cambios estructurales vinculados con la insuficiencia cardíaca, decidimos estudiar biopsias endomiocárdicas (BEM) del ventrículo derecho de pacientes portadores de MCDNC con deterioro severo de la función ventricular que recibían tratamiento médico convencional para insuficiencia cardíaca. Se analizó la correlación entre el grado de hipertrofia de los miocitos, la fibrosis miocárdica y la replicación del material nuclear de los miocitos y de las células intersticiales con parámetros funcionales, ecocardiográficos, hemodinámicos y la supervivencia libre de trasplante urgente o de emergencia (TxUE).

MATERIAL Y MÉTODOS

Población

La población analizada es un subgrupo de 110 pacientes con diagnóstico de insuficiencia cardíaca crónica que reunían criterios diagnósticos de MCDNC y que fueron derivados a nuestro servicio entre 1992 y 2000 para su evaluación como posibles candidatos a trasplante cardíaco. Se definió MCDNC a una fracción de eyección (Fey) del VI menor del 40% y ausencia de enfermedad coronaria que justifique el deterioro de la función ventricular evaluada por cinecoronariografía. Se excluyeron los pacientes con lesiones valvulares significativas e indicación de tratamiento quirúrgico y los que reunieron criterios histológicos de miocarditis.

El protocolo de evaluación incluyó características clínicas, electrocardiograma de 12 derivaciones, análisis de laboratorio, radiografía de tórax, ecocardiograma bidimensional y en modo M guiado por bidimensional, Doppler continuo, pulsado y color, ventriculograma radioisotópico, Holter de 24 horas, prueba de consumo máximo de oxígeno, cateterismo derecho-izquierdo con angiografía coronaria y las BEM.

Estudios inmunohistoquímicos y morfométricos

Se obtuvieron muestras para BEM del septum del ventrículo derecho por medio de un biótomo Schultz-Caves. El número de fragmentos resecados varió entre 5 y 8. Los cortes histológicos de 3 micrómetros de espesor se colorearon con hematoxilina y eosina, tricrómico y rojo sirio. En otros cortes se investigó la presencia de antígeno Ki67 por medio de un anticuerpo monoclonal (Biogenex, San Ramón, California) y posteriormente se trataron con un *kit* de inmunohistoquímica de biotina-avidina-peroxidasa (Biogenex).

La determinación de fibrosis se realizó por medio de un analizador de imágenes (Image Pro Plus 4.5, Mediacy Sylber Spring MD). En todos los casos se examinó el área completa de la BEM y los resultados se expresan como porcentaje de las áreas rojo sirio positivas. La investigación de antígeno Ki 67, marcador de replicación nuclear, se realizó en la totalidad de los fragmentos de cada biopsia y se determinó la presencia de núcleos Ki 67+ en el intersticio y en los miocitos. Las observaciones se realizaron bajo óptica Nomarski, que resalta la membrana plasmática y los sarcómeros. Las muestras fueron examinadas por dos observadores independientes. Dado que la presencia de núcleos Ki 67 positivos era focal, los resultados se dicotomizaron en positivos (uno o más núcleos positivos) o negativos. El diámetro de los miocitos (DM) se determinó en células cortadas transversalmente a la altura del núcleo con el analizador de imágenes ya citado.

ABREVIATURAS

AP	Arteria pulmonar
BEM	Biopsia endomiocárdica
CF	Clase funcional
DAI	Diámetro auricular izquierdo
DD	Diámetro diastólico
DM	Diámetro miocítico
DS	Diámetro sistólico
Fey	Fracción de eyección
IC	Intervalo de confianza
Max VO ₂	Consumo máximo de oxígeno
MCDNC	Miocardopatía dilatada no coronaria
RR	Riesgo relativo
TxUE	Trasplante urgente o de emergencia
VI	Ventrículo izquierdo

En todos los casos el estudio se realizó a ciegas y los resultados se volcaron a la base de datos de los pacientes una vez analizada la totalidad de las BEM.

Seguimiento

Para el análisis de supervivencia libre de TxUE se consideraron el evento muerte y el TxUE. En los trasplantes electivos se consideró su seguimiento hasta la fecha de la cirugía. La muerte se clasificó en muerte súbita, muerte por insuficiencia cardíaca y muerte no cardiovascular. (6) El trasplante de urgencia se definió como la necesidad de soporte inotrópico intravenoso y el de emergencia como el requerimiento de apoyo hemodinámico con métodos de asistencia circulatoria o bajo asistencia respiratoria mecánica (INCUCAI Resolución 159/98).

Análisis estadístico

Las variables continuas se expresan como media \pm desvío estándar. Las variables continuas con distribución normal se analizaron con la prueba de la *t* de Student para datos no apareados; la prueba *U* de Mann-Whitney se utilizó para las variables con distribución no gaussiana. La asociación entre variables continuas se determinó de acuerdo con su tipo de distribución mediante los coeficientes de correlación de Pearson y de Spearman. Las variables categóricas se compararon mediante las pruebas exacta de Fisher y de *chi* cuadrado. Se utilizó el análisis univariado para examinar las variables basales entre los grupos de pacientes con eventos cardíacos (muerte o TxUE) y sin ellos en el seguimiento. Las curvas actuariales de supervivencia y eventos se calcularon de acuerdo con el método de Kaplan-Meier. La comparación de los grupos en relación con eventos cardíacos se efectuó mediante el método de *log rank* (logaritmo del rango). El modelo de riesgo proporcional de Cox se utilizó para examinar la relación entre las variables clínicas, hemodinámicas, ecocardiográficas, morfométricas y la evolución en el largo plazo. Se consideraron estadísticamente significativos valores de $p < 0,05$. Para todos los cálculos se utilizó el paquete estadístico SPSS 3.1®.

RESULTADOS

Las características basales de la población en estudio se muestran en la Tabla 1. La etiología se definió de acuerdo con los antecedentes clínicos personales: miocardopatía dilatada idiopática ($n = 35$; 31,8%), alcohólica/tóxica ($n = 11$; 10,0%), chagásica ($n = 5$; 4,6%), diabética ($n = 6$; 5,4%), hipertensiva ($n = 29$;

Tabla 1
Características basales de la población

Variable	Población total (n = 110)	Con eventos cardíacos (n = 36)	Sin eventos cardíacos (n = 74)	p
<i>Características clínicas</i>				
Edad*	44,62 ± 14,9	41,6 ± 16,9	46,1 ± 13,7	0,141
Sexo masculino [n (%)]	73 (66,4%)	27 (75%)	46 (62,2%)	0,181
Frecuencia cardíaca (lpm)*	85,49 ± 16,7	88,2 ± 20,4	84,2 ± 14,5	0,324
Tensión arterial sistólica (mm Hg)*	107,4 ± 19,42	101,1 ± 15,4	110,7 ± 20,5	0,015
Tensión arterial diastólica (mm Hg)*	65,43 ± 12,04	64,2 ± 10,2	66,1 ± 12,9	0,442
Antecedentes de HTA [n (%)]	41 (37,3%)	9 (25%)	32 (43,2%)	0,063
Antecedentes de DBT [n (%)]	16 (14,5%)	6 (16,7%)	10 (13,5%)	0,660
Antecedentes de IRC [n (%)]	5 (4,5%)	2 (5,6%)	3 (4,1%)	0,662
CF NYHA III-IV [n (%)]	68 (68,7%)	28 (90,3%)	40 (58,8%)	0,002
Insuficiencia mitral moderada-severa [n (%)]	53 (49,1%)	25 (69,4%)	28 (38,9%)	0,003
<i>Características electrocardiográficas</i>				
Ritmo sinusal [n (%)]	97 (88,2%)	30 (83,3%)	67 (90,5%)	0,272
Fibrilación auricular [n (%)]	7 (6,4%)	3 (8,3%)	4 (5,4%)	0,681
BCRI [n (%)]	62 (56,4%)	18 (50%)	44 (59,5%)	0,348
<i>Características funcionales</i>				
Fracción de eyección VI (%)*	22,43 ± 7,92	20,8 ± 7,4	23,2 ± 8,1	0,157
Fracción de eyección VD (%)*	32,69 ± 9,52	29,9 ± 9,5	34,1 ± 9,3	0,060
Max VO ₂ (ml/kg/min)*	17,25 ± 5,43	14,1 ± 3,8	18,5 ± 5,5	0,001
<i>Características hemodinámicas</i>				
Presión sistólica de AP (mm Hg)*	36,61 ± 15,18	43,8 ± 17,0	33,0 ± 12,9	0,001
Presión diastólica de AP (mm Hg)*	17,03 ± 8,84	22,9 ± 9,1	14,1 ± 7,1	< 0,001
Presión media de AP (mm Hg)*	23,28 ± 10,03	29,4 ± 10,9	20,3 ± 8,1	< 0,001
Presión wedge de AP (mm Hg)*	15,93 ± 8,07	20,8 ± 7,8	13,5 ± 7,0	0,018
Índice cardíaco (L/min/m ²)*	2,55 ± 0,81	2,33 ± 0,7	2,66 ± 0,8	0,060
<i>Características ecocardiográficas</i>				
Diámetro diastólico VI (mm)*	70,79 ± 10,75	74,6 ± 12,4	68,9 ± 9,4	
Diámetro sistólico VI (mm)*	59,86 ± 11,95	66,3 ± 11,4	56,7 ± 11,0	< 0,001
Diámetro sistólico AI (mm)*	47,39 ± 10,28	53,1 ± 9,5	44,6 ± 9,5	< 0,001
<i>Características morfológicas BEM</i>				
DM (micrones)*	17,69 ± 2,65	18,9 ± 2,9	17,1 ± 2,3	0,001
Fibrosis (%) [†]	13,88 ± 7,91	14,1 ± 8,1	13,8 ± 7,9	0,852
Ki67 + nuclear [n (%)]	34 (33,0%)	12 (36,4%)	22 (31,4%)	0,619
Ki67 + intersticial [n (%)]	50 (49,0%)	15 (46,9%)	35 (50%)	0,770
<i>Tratamiento médico</i>				
IECA	89 (80,9%)	31 (86,1%)	58 (78,4%)	0,333
AT II	10 (9,1%)	1 (2,8%)	9 (12,2%)	0,161
Betabloqueantes	28 (25,5%)	4 (11,1%)	24 (32,4%)	0,019
Espironolactona	58 (52,7%)	20 (55,6%)	38 (51,4%)	0,678
Digital	90 (81,8%)	33 (91,7%)	57 (77,0%)	0,070
Furosemina	89 (80,9%)	32 (88,9%)	57 (77,0%)	0,196
Amiodarona	46 (41,8%)	15 (41,7%)	31 (41,9%)	0,982

* media ± DS, † mediana ±

HTA: Hipertensión arterial. DBT: Diabetes mellitus. IRC: Insuficiencia renal crónica. CF NYHA: Clase funcional de la New York Heart Association. BCRI: Bloqueo completo de rama izquierda. VI: Ventrículo izquierdo. VD: Ventrículo derecho. Max VO₂: Consumo máximo de oxígeno. AP: Arteria pulmonar. AI: Aurícula izquierda. BEM: Biopsia endomiocárdica. DM: Diámetro miocítico. IECA: Inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina. AT II: antagonistas del receptor de angiotensina II.

26,4%), antecedentes de miocarditis (n = 12; 10,9%), periparto (n = 8; 7,3%) y otras (n = 4; 3,6%). Los pacientes recibieron tratamiento médico convencional para la insuficiencia cardíaca, según el nivel de evidencia disponible durante cada período de seguimiento (Tabla 1).

El tiempo promedio de seguimiento de la población fue de 2,72 ± 2 años. Durante ese lapso 28 pa-

cientes murieron y 8 fueron sometidos a TxUE. De las muertes, 17 fueron por insuficiencia cardíaca, 8 súbitas y 3 por causas no cardiovasculares.

Las variables que mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes que alcanzaron el punto final de muerte o TxUE y los pacientes libres de eventos fueron la clase funcional (CF) III-IV de la New York Heart Association, la tensión arterial

sistólica, las presiones de la arteria pulmonar (AP), el consumo máximo de oxígeno (Max VO_2), los diámetros del VI, el diámetro auricular izquierdo (DAI), la presencia de insuficiencia mitral moderada-severa y el DM (Tabla 1).

Datos morfométricos de la biopsia endomiocárdica

Los resultados obtenidos en el análisis morfométrico de las BEM mostraron un DM medio de $17,68 \pm 2,6 \mu\text{m}$ con una distribución gaussiana (Figura 1). El promedio de fibrosis fue de $13,12 \pm 8,31\%$. La actividad Ki67+ se observó en un número variable de núcleos de células miocíticas (promedio 1,34; mediana 0; rango 0 a 22) y de los núcleos de células intersticiales (promedio 4,39; mediana 1; rango 0 a 60).

Asociación entre el DM y los parámetros ecocardiográficos

El DM presentó una correlación positiva débil con los parámetros ecocardiográficos: diámetro diastólico (DD) del VI ($r = 0,287$; $p = ,002$), diámetro sistólico (DS) del VI ($r = 0,290$; $p = ,002$) y DAI ($r = 0,314$; $p = 0,001$), mientras que no se encontró asociación con los espesores del septum interventricular y de la pared posterior del VI.

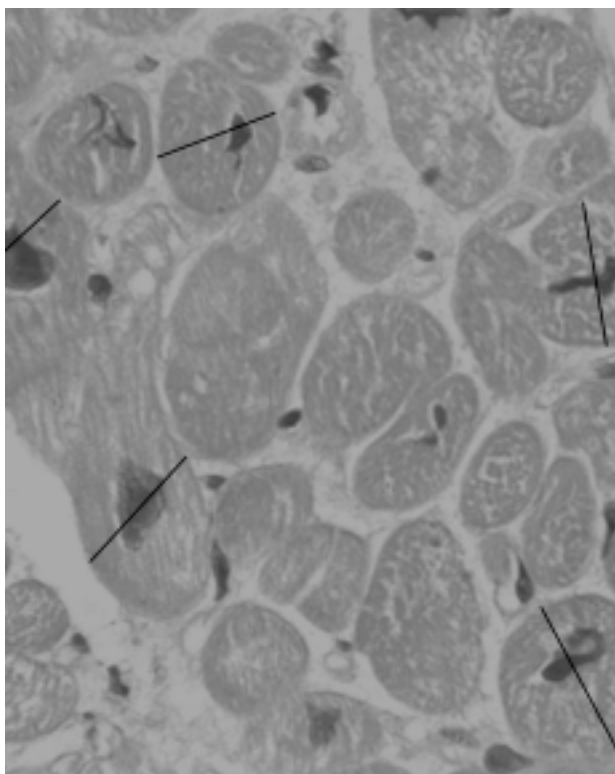


Fig. 1. Sección de biopsia endomiocárdica de ventrículo derecho teñido con hematoxilina y eosina. El diámetro miocítico fue determinado a nivel del núcleo en secciones transversales de células miocíticas, con técnica de análisis digital y sistema óptico Nomarski.

Asociación entre DM y función ventricular

El DM mostró una correlación inversa débil con los valores de la FEVI ($r = -0,307$; $p = 0,002$) y de la Fey del ventrículo derecho (VD) ($r = -0,313$; $p = 0,004$). Asimismo se vio una correlación negativa con el Max VO_2 ($r = -0,407$; $p < 0,001$).

Asociación entre el diámetro miocítico y las presiones pulmonares

El DM presentó una correlación positiva débil con las presiones de la AP: sistólica ($r = 0,380$; $p < 0,001$); media ($r = 0,407$; $p < 0,001$), diastólica ($r = 0,358$; $p < 0,001$) y presión *wedge* ($r = 0,275$; $p = 0,005$).

No se halló asociación con los valores de la tensión arterial sistémica.

Asociación entre fibrosis y función ventricular

Los valores de fibrosis sólo mostraron una asociación débil con la presión *wedge* ($r = 0,203$; $p < 0,05$), sin correlacionarse con otras variables.

Asociación entre parámetros de replicación celular y función ventricular

La determinación de parámetros de replicación celular (Ki67+ del núcleo miocítico) presentó asociación con los espesores parietales determinados por ecocardiograma: septum interventricular ($p = 0,007$) y pared posterior del VI ($p = 0,002$) y con la FEVD ($p = 0,009$). Los datos de Ki67+ de células intersticiales presentaron una asociación débil con los datos ecocardiográficos: septum interventricular ($p = 0,022$) y pared posterior VI ($p = 0,043$).

Análisis de supervivencia

El análisis de supervivencia con la curva Kaplan-Meier se realizó luego de dicotomizar las variables por la media. En la Tabla 2 se muestra la asociación con muerte o TxUE de las variables analizadas. El análisis de supervivencia actuarial mostró que los casos con un DM = $17,68 \mu\text{m}$ presentaron una fuerte asociación con muerte o TxUE en el seguimiento alejado ($p < 0,001$). Diez de los 57 pacientes (17,5%) con diámetros $< 17,68 \mu\text{m}$ y 26 de los 53 pacientes (49%) con diámetro $\geq 17,68 \mu\text{m}$ murieron o fueron trasplantados (Figura 2).

El porcentaje de fibrosis y el Ki67 no se correlacionaron con la supervivencia.

Análisis multivariado

En el modelo de regresión de Cox, el DM con un riesgo relativo (RR) de 1,220 (IC 95% 1,027-1,449) presenta valor predictivo independiente de mortalidad o TxUE (Tabla 3).

DISCUSIÓN

El primer intento de correlacionar la anatomía cuantitativa del corazón con la insuficiencia cardíaca fue realizado por Linzbach hace casi medio siglo. (7) En

Tabla 2
Análisis univariado

	Análisis univariado log rank	p
<i>Características clínicas</i>		
Edad > 44,6 años	0,22	0,641
Clase funcional III-IV (NYHA) al ingreso	9,31	0,002
Tensión arterial sistólica > 107,5 mm Hg	10,85	0,001
Tensión arterial diastólica > 65,4 mm Hg	5,26	0,022
Tensión arterial media > 79,0 mm Hg	6,48	0,011
<i>Características hemodinámicas</i>		
Fracción de eyección del ventrículo izquierdo < 22,4%	1,05	0,305
Fracción de eyección del ventrículo derecho < 32,7%	2,71	0,099
Presión sistólica de arteria pulmonar > 36,6 mm Hg	4,84	0,028
Presión diastólica de arteria pulmonar > 17,0 mm Hg	17,55	< 0,0001
Presión media de arteria pulmonar > 23,3 mm Hg	9,89	0,002
Presión <i>wedge</i> de arteria pulmonar > 15,9 mm Hg	12,15	< 0,001
Índice cardíaco < 2,6 L/min-1.m ²	6,79	0,009
Consumo máximo de O ₂ < 17,2 ml/kg	8,42	0,004
<i>Características ecocardiográficas</i>		
Diámetro diastólico del ventrículo izquierdo > 70,8 mm	6,10	0,014
Diámetro sistólico del ventrículo izquierdo > 59,9 mm	9,78	0,002
Diámetro sistólico de la aurícula izquierda > 47,4 mm	6,07	0,014
Insuficiencia mitral (moderada - severa)	12,96	< 0,001
<i>Características morfométricas (BEM)</i>		
DM > 17,7 micrones	11,29	0,001
Fibrosis intersticial > 13,9%	0,41	0,523
<i>Características de replicación celular (BEM)</i>		
Ki67 nuclear positivo	0,54	0,462
Ki67 intersticial positivo	0,09	0,768

NYHA: New York Heart Association. BEM: Biopsia endomiocárdica. O₂: Oxígeno. DM: Diámetro miocítico.

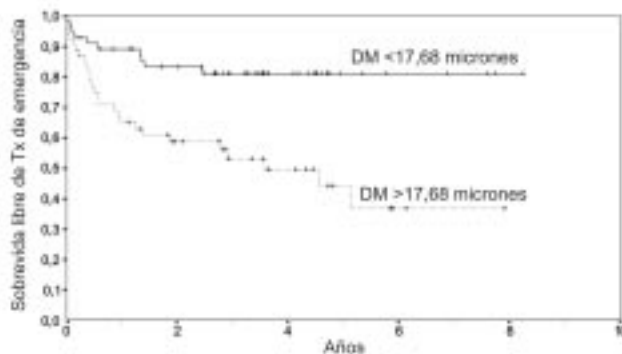


Fig. 2. Análisis de Kaplan-Meier que muestra el porcentaje acumulado de pacientes libres de eventos cardíacos (muerte y trasplante cardíaco de urgencia) en los grupos con un diámetro miocítico > 17,68 micrones y menor de 17,68 micrones en la biopsia endomiocárdica.

ese trabajo se establecieron las bases morfométricas del tamaño miocítico en las hipertrofias concéntricas y excéntricas y se interpretó que la dilatación estructural era el sustrato morfológico de la insuficiencia cardíaca, postulándose que el diámetro de las fibras contráctiles sería demasiado pequeño para el volumen

aumentado del ventrículo y que la producción de energía liberada por unidad de peso ventricular no sería adecuada para mantener la FEVI. Si bien esta interpretación se modificó a lo largo del tiempo, fue la primera evidencia de que el DM se correlaciona con la función cardíaca.

Los trabajos publicados hasta ahora que correlacionan el DM con el grado de disfunción ventricular son pocos o bien incluyen poblaciones demasiado pequeñas. (8-11) En el presente estudio, el DM presentó una correlación negativa con los parámetros de función ventricular estudiados (FEVI y FEVD) y con el MaxVO₂, lo cual sugiere peor función a mayor DM. Se observó una correlación positiva entre el DM con los diámetros ventriculares y de la aurícula izquierda, así como con las presiones de la AP y la presión *wedge*.

A pesar de que, habitualmente, la hipertrofia cardiomiocítica es un proceso adaptativo que le permite al corazón responder a las demandas funcionales, su presencia suele asociarse con el desarrollo de insuficiencia cardíaca. Los mecanismos por los cuales progresa hacia la insuficiencia contráctil se conocen poco. El remodelado parece ser la característica fenotípica del síndrome de insuficiencia cardíaca. Gerdes postuló que el pasaje de la hipertrofia a la in-

Tabla 3
Análisis multivariado

	Análisis multivariado		
	Wald	RR (IC 95%)	p
Presión media de la arteria pulmonar	6,38	1,047 (1,011-1,084)	0,011
Diámetro diastólico del ventrículo izquierdo	4,09	1,043 (1,001-1,088)	0,045
DM	4,92	1,220 (1,027-1,449)	0,023

DM: Diámetro miocítico.

suficiencia cardíaca es la consecuencia de un exceso de la longitud de los miocitos por aposición longitudinal de nuevos sarcómeros en serie, sin un cambio posterior en el diámetro. Ese proceso sería el responsable de la dilatación ventricular y del deterioro de la función. (12) Sin embargo, en nuestro estudio el DM correlacionó en forma inversa con la función ventricular, indicando que en las MCDNC, después de cierto límite, ese parámetro sería suficiente para justificar un déficit funcional. Debe considerarse que el estudio citado se realizó en modelos postinfarto; la presente serie está constituida por pacientes con MCDNC. Esta discordancia sugiere que se puede llegar a la insuficiencia cardíaca por distintos mecanismos patogénicos e indica la necesidad de definir el tipo de cardiopatía en estudio.

Independientemente de todos los mecanismos neurohumorales que están en juego, se estima que la fibrosis y la pérdida de miocitos representan la base estructural de la disfunción sistólica. (13, 14). Una vez llegado a un límite de hipertrofia, los miocitos pierden su capacidad adaptativa y una proporción significativa de ellos muere. (15) Se ha señalado a la apoptosis como el mecanismo responsable de la pérdida de miocitos y del desarrollo de insuficiencia cardíaca. (16, 17) Pese a que recientemente se ha demostrado la ausencia de apoptosis en el corazón, (14, 18-20) no habría que descartar otros mecanismos de muerte celular (necrosis y autofagia) que podrían estar involucradas en la pérdida de miocitos. (21)

Uno de ellos sería una falta de reposición por un defecto en la proliferación reparativa. (22) Esta posibilidad llevó a explorar en este estudio la expresión del antígeno Ki67 en los miocitos. Esta proteína nuclear se expresa exclusivamente durante el ciclo celular e indica que las células están replicando su material genético. No se encontró una correlación entre la presencia de miocitos Ki67 positivos y la función ventricular, pero resultó llamativo que la presencia de miocitos y células intersticiales con núcleo Ki67 positivos se correlacionaba con el mayor espesor del septum interventricular y la pared posterior del VI. Ello sugiere que la replicación miocítica e intersticial está relacionada con la hipertrofia de las paredes ventriculares. Dada esta correlación, parece lógico suponer que la entrada en el ciclo de estas dos variedades celulares es sincrónica y responde a los mismos estímulos.

Si bien la fibrosis es uno de los mayores componentes del remodelado, en la presente serie no se correlacionó con ninguna variable ventricular. (23) La falta de correlación podría deberse a que la mayoría de los pacientes recibían inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y espirolactona, que actúan sobre la remodelación cardíaca y disminuyen la fibrosis. (24-27)

Uno de los resultados más importantes de este estudio es que el aumento del DM fue un predictor importante de mortalidad y de TxUE: del análisis multivariado se deduce que incrementó un 22% la posibilidad de alcanzar el punto final combinado. Con este hallazgo se demostraría por primera vez la vinculación entre una variable morfológica y la sobrevida libre de TxUE en pacientes con insuficiencia cardíaca.

Sin embargo, esto no justificaría el uso de las BEM como un procedimiento de rutina para buscar predictores de mortalidad en pacientes con insuficiencia cardíaca. El pronóstico de evolución de estos pacientes puede realizarse con métodos no invasivos. (29, 30) En el ICYCC - Fundación Favaloro, las BEM se realizan en forma sistemática con fines de investigación y diagnóstico en los pacientes con miocardiopatías no isquémicas que se evalúan para trasplante cardíaco.

Es importante destacar que la hipertrofia transversal de los miocitos desempeña un papel importante en la evolución de la insuficiencia cardíaca. Los presentes hallazgos permiten la comprensión de mecanismos patogénicos actualmente poco conocidos de la evolución de la insuficiencia cardíaca en pacientes no isquémicos. Parece lógico postular que en ellos la prevención de la hipertrofia miocítica o la adopción de medidas que tiendan a su disminución (remodelación reversa), podría reducir su mortalidad. (31) En la estenosis o insuficiencia valvular aórtica se observó que la normalización de la carga sistólica disminuye un 35% la hipertrofia y la masa ventricular pocas semanas después del reemplazo valvular. (32) Esta observación indica la importancia de normalizar el exceso de carga sistólica, además de modular las señales neurohormonales y de factores de crecimiento en la hipertrofia miocítica. (33)

Limitaciones del estudio: el presente trabajo es retrospectivo y el período de inclusión de los pacientes es amplio, con variaciones en el tratamiento médico que recibieron. Desconocemos si el tiempo de evo-

lución de la miocardiopatía dilatada puede influir en los resultados anatomopatológicos.

CONCLUSIONES

El presente estudio muestra que el grado de hipertrofia miocítica es un predictor independiente de mortalidad y TxUE en la miocardiopatía dilatada no coronaria. Por el contrario, el porcentaje de fibrosis y los parámetros de replicación celular no tienen correlación con la sobrevida libre de TxUE.

SUMMARY

Endomyocardial biopsy: survival markers in dilated non-coronary cardiomyopathy

Study objective

To establish whether the endomyocardial biopsy morphometric analysis data of patients with non-ischemic dilated cardiomyopathy correlate with urgent or emergent-transplant-free survival rate and with functional, haemodynamic and echocardiographic parameters.

Research design and methods

Endomyocardial biopsies from 110 patients with congestive heart failure secondary to non-ischemic dilated cardiomyopathy defined as < 40% left ventricular ejection fraction and no significant coronary lesions were retrospectively analysed. Cardiomyocyte diameter, interstitial fibrosis and cell replication markers (Ki 67 in myocyte nuclei and Ki 67 in interstitial cells) were assessed. Endpoint was defined as the combination of mortality and urgent or emergent transplant.

Results

Mean age was 44.62± 14 years; 66% were male; 67% were New York Heart Association class III-IV; mean left ventricular ejection fraction was 22.4± 7.9% and mean left ventricular end-diastolic diameter was 70.8 ± 10.7mm. Mean follow-up was 2.72± 2 years. The combined endpoint was 33%. The survival analysis showed that a cardiomyocyte diameter of 17.68 µm (log rank test 11.29, $p < .001$) had a strong correlation with the endpoint. On multivariate analysis, cardiomyocyte diameter with a relative risk of 1.22 (95% confidence interval, 1.027-1.449) was an independent predictor of mortality and urgent transplant. There was a weak positive association between cardiomyocyte diameter and ventricular diameters and pulmonary artery pressure. Fibrosis and Ki 67 did not correlate with the endpoint.

Conclusion

The degree of myocyte hypertrophy is an independent predictor of mortality and urgent transplant. Fibrosis and Ki 67 did not correlate with the endpoint.

Keywords: Dilated cardiomyopathy - Endomyocardial biopsy - Myocytes - Cardiac fibrosis - KI 67 Antigen

BIBLIOGRAFÍA

1. Schwarz F, Mall G, Zebe H, Blicke J, Derks H, Manthey J, et al. Quantitative morphologic findings of the myocardium in idiopathic

dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1983;51:501-6.

2. Pelliccia F, d'Amati G, Cianfrocca C, Bernucci P, Nigri A, Marino B, et al. Histomorphometric features predict 1-year outcome of patients with idiopathic dilated cardiomyopathy considered to be at low priority for cardiac transplantation. *Am Heart J* 1994;128:316-25.

3. Francis GS. Cellular and subcellular basis for remodeling: summation. *J Card Fail* 2002;8:S450-1.

4. Mancini DM, Eisen H, Kussmaul W, Mull R, Edmunds LH Jr, Wilson JR. Value of peak exercise oxygen consumption for optimal timing of cardiac transplantation in ambulatory patients with heart failure. *Circulation* 1991;83:778-86.

5. Cohn JN, Johnson GR, Shabetai R, Loeb H, Tristani F, Rector T, et al. Ejection fraction, peak exercise oxygen consumption, cardiothoracic ratio, ventricular arrhythmias, and plasma norepinephrine as determinants of prognosis in heart failure. The V-HeFT VA Cooperative Studies Group. *Circulation* 1993;87:VI5-16.

6. Cummins RO, Chamberlain D, Hazinski MF, Nadkarni V, Kloeck W, Kramer E, et al. Recommended guidelines for reviewing, reporting, and conducting research on in-hospital resuscitation: the in-hospital 'Utstein style'. American Heart Association. *Circulation* 1997;95:2213-39.

7. Linzbach AJ. Heart failure from the point of view of quantitative anatomy. *Am J Cardiol* 1960;5:370-82.

8. Unverferth DV, Baker PB, Swift SE, Chaffee R, Fetters JK, Uretsky BF, et al. Extent of myocardial fibrosis and cellular hypertrophy in dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1986;57:816-20.

9. Zimmer G, Zimmermann R, Hess OM, Schneider J, Kubler W, Krayenbuehl HP, et al. Decreased concentration of myofibrils and myofiber hypertrophy are structural determinants of impaired left ventricular function in patients with chronic heart diseases: a multiple logistic regression analysis. *J Am Coll Cardiol* 1992;20:1135-42.

10. Tanganelli P, Di Lenarda A, Bianciardi G, Salvi A, Silvestri F, Mestroni L, et al. Correlation between histomorphometric findings on endomyocardial biopsy and clinical findings in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1989;64:504-6.

11. Nakayama Y, Shimizu G, Hirota Y, Saito T, Kino M, Kitaura Y, et al. Functional and histopathologic correlation in patients with dilated cardiomyopathy: an integrated evaluation by multivariate analysis. *J Am Coll Cardiol* 1987;10:186-92.

12. Gerdes AM. Cardiac myocyte remodeling in hypertrophy and progression to failure. *J Card Fail* 2002;8:S264-8.

13. Jessup M, Brozena S. Heart failure. *N Engl J Med* 2003;348:2007-18.

14. Hein S, Arnon E, Kostin S, Schonburg M, Elsasser A, Polyakova V, et al. Progression from compensated hypertrophy to failure in the pressure-overloaded human heart: structural deterioration and compensatory mechanisms. *Circulation* 2003;107:984-91.

15. Swynghedauw B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. *Physiol Rev* 1999;79:215-62.

16. Anversa P. Myocyte death in the pathological heart. *Circ Res* 2000;86:121-4.

17. Poole-Wilson PA. Death or repair of the myocyte in chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:1104-5.

18. Haider N, Narula N, Narula J. Apoptosis in heart failure represents programmed cell survival, not death, of cardiomyocytes and likelihood of reverse remodeling. *J Card Fail* 2002;8:S512-7.

19. Knaapen MW, Davies MJ, De Bie M, Haven AJ, Martinet W, Kockx MM. Apoptotic versus autophagic cell death in heart failure. *Cardiovasc Res* 2001;51:304-12.

20. Bartunek J, Vanderheyden M, Knaapen MW, Tack W, Kockx MM, Goethals M. Deoxyribonucleic acid damage/repair proteins are elevated in the failing human myocardium due to idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:1097-103.

21. Kostin S, Pool L, Elsasser A, Hein S, Drexler HC, Arnon E, et al. Myocytes die by multiple mechanisms in failing human hearts. *Circ Res* 2003;92:715-24.

22. Leri A, Kajstura J, Anversa P. Myocyte proliferation and ventricular remodeling. *J Card Fail* 2002;8:S518-25.

23. La Vecchia L, Bedogni F, Castellani A, Martini M, Paccanaro M, Sartori M, et al. Assessment of right ventricular function and interstitial fibrosis in idiopathic dilated cardiomyopathy: hemodynamic correlates and prognostic value. *G Ital Cardiol* 1998;28:513-23.
24. Weber KT. Targeting pathological remodeling: concepts of cardioprotection and reparation. *Circulation* 2000;102:1342-5.
25. Higaki J, Aoki M, Morishita R, Kida I, Taniyama Y, Tomita N, et al. In vivo evidence of the importance of cardiac angiotensin-converting enzyme in the pathogenesis of cardiac hypertrophy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:428-34.
26. Brilla CG, Matsubara LS, Weber KT. Antifibrotic effects of spironolactone in preventing myocardial fibrosis in systemic arterial hypertension. *Am J Cardiol* 1993;71:12A-16A.
27. Suzuki G, Morita H, Mishima T, Sharov VG, Todor A, Tanhehco EJ, et al. Effects of long-term monotherapy with eplerenone, a novel aldosterone blocker, on progression of left ventricular dysfunction and remodeling in dogs with heart failure. *Circulation* 2002;106:2967-72.
28. Schwarz F, Mall G, Zebe H, Schmitzer E, Manthey J, Scheurlen H, et al. Determinants of survival in patients with congestive cardiomyopathy: quantitative morphologic findings and left ventricular hemodynamics. *Circulation* 1984;70:923-8.
29. Vrtovec B, Delgado R, Zewail A, Thomas CD, Richartz BM, Radovancevic B. Prolonged QTc interval and high B-type natriuretic peptide levels together predict mortality in patients with advanced heart failure. *Circulation* 2003;107:1764-9.
30. Horwich TB, Patel J, MacLellan WR, Fonarow GC. Cardiac troponin I is associated with impaired hemodynamics, progressive left ventricular dysfunction, and increased mortality rates in advanced heart failure. *Circulation* 2003;108:833-8.
31. Lorell BH, Carabello BA. Left ventricular hypertrophy: pathogenesis, detection, and prognosis. *Circulation*. 2000;102:470-9.
32. Villari B, Hess OM, Kaufmann P, Krogmann ON, Grimm J, Krayenbuehl HP. Effect of aortic valve stenosis (pressure overload) and regurgitation (volume overload) on left ventricular systolic and diastolic function. *Am J Cardiol* 1992;69:927-34.
33. Takemoto M, Node K, Nakagami H, Liao Y, Grimm M, Takemoto Y, et al. Statins as antioxidant therapy for preventing cardiac myocyte hypertrophy. *J Clin Invest* 2001;108:1429-37.