

**VERA DEMARCHI AIELLO**

Remodelamento miocárdico nas cardiopatias congênitas

Texto sistematizado apresentado à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Professor Livre-Docente junto ao Departamento de Patologia (Disciplina de Patologia do Sistema Cardiovascular)

São Paulo

2008

*Dedicatória*

---

*Dedico este trabalho*

*Aos meus pais, Alcides e  
Apparecida, pelo exemplo de  
vida e pelo apoio incondicional.*

*Para Domingos, verdadeiro  
companheiro de todos os  
momentos.*

*Para Clarice, minha filha  
querida e luz da minha vida, por  
tanto me ter ensinado sobre  
amar.*

*Agradecimientos*

---

*Os trabalhos de investigação que culminaram com a redação deste texto resultaram do esforço de inúmeras pessoas, sempre prontas a ajudar com profissionalismo, como técnicos, biólogos, escriturários, enfermeiros, médicos, aos quais eu sinceramente agradeço. Gostaria, porém, de citar algumas delas nominalmente.*

*Aos colegas Patologistas do Laboratório de Anatomia Patológica do Instituto do Coração HCFMUSP, Paulo Sampaio Gutierrez, Lea Maria Macruz Demarchi, Luiz Alberto Benvenuti, Jussara Bianchi Castelli e Mauro Canzian, pelas valiosas sugestões e críticas em diversas ocasiões e sobre diferentes aspectos do meu trabalho, e pelo constante apoio às minhas atividades profissionais.*

*À Profa. Maria de Lourdes Higuchi, Diretora do Laboratório, pelo incentivo à minha carreira e pelas discussões científicas.*

*As amigas, minhas ex-alunas de Doutorado, Maria Angélica Binotto, Maria Cristina Donadio Abduch e Maria Cecília Knoll Farah, por terem acreditado que os estudos propostos e que hoje constam deste texto eram factíveis, e por tê-los executado com extremado rigor científico.*

*Aos meus outros alunos de Pós-Graduação, Suelly Aparecida Palomino, Andressa Mussi Soares e Rubens Fraga Alves Pinto, por terem me ajudado a crescer como Orientadora.*

*Ao Prof. Antonio Augusto Barbosa Lopes, amigo e conselheiro científico em diferentes aspectos da minha vida profissional.*

*Ao Prof. Miguel Barbero-Marcial, por acreditar na minha capacidade profissional e pelas oportunidades que me foram proporcionadas de evolução na carreira.*

*Ao Prof. Munir Ebaid, pelo apoio irrestrito e incentivo recebidos durante todo o período que trabalhamos em conjunto.*

*Ao Prof. Robert H. Anderson, a quem admiro como verdadeiro mestre, por ter me acolhido para o estágio em seu Laboratório que marcou definitivamente a minha carreira, e pela contínua troca de idéias que enriquece o meu conhecimento sobre as Cardiopatias Congênitas.*

*Ao Dr. Edgard Augusto Lopes, por ter me mostrado que trabalhar e pesquisar em Patologia cardiovascular realmente valia a pena.*

*Aos colegas dos Serviços de Ecocardiografia e de Cardiologia Pediátrica, Vitor Coimbra Guerra, Edmar Atik, Nana Miura Ikari, Tâmara Cortez, Ângela Albuquerque, Luiz Fernando Cavalini, Deipara Abellan e Solange Gimenez, por terem me ensinado tanto dessa especialidade tão fascinante que é a Cardiologia Pediátrica.*

*Aos colegas da Cirurgia Cardíaca Pediátrica, Arlindo de Almeida Riso, Carla Tanamati e Marcelo Biscegli Jatene, pelos ensinamentos sobre aspectos operatórios e pela ajuda irrestrita nos protocolos de investigação.*

*Ao Renato Samy Assad, cirurgião cardíaco pediátrico e grande entusiasta da pesquisa experimental, pelo apoio e oportunidade de me incluir em uma linha de pesquisa tão profícua.*

*In memoriam, às Dras Rachel Snitckovisky e Raimunda Violante Campos de Assis, pela grande amizade que tive a felicidade de compartilhar.*

*Às biólogas do Laboratório de Anatomia Patológica, Nádia Vieira Sambiasi e Márcia Martins Reis, pela ajuda essencial que forneceram à realização das minhas pesquisas.*

*Aos técnicos de histopatologia, Adriana Psota, Antonio José Guedes, Mary Penha Pereira e Solange Aparecida Consorti, sempre prontos a ajudar com grande profissionalismo.*

*Aos técnicos de necrópsia do Laboratório de Anatomia Patológica, Cândido Gonçalves, Severino Sebastião de Souza, Márcio Martins, Antonio Cláudio Reis e Edmilson Bezerra de Lima, pela atenção e cuidado no manuseio dos espécimes anatômicos.*

*À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelos auxílios financeiros fornecidos, sem os quais não teria sido possível a execução dos trabalhos.*

*Aos “Amigos do Piano”, Profa. Eliana Maria Manga Sene, Mariam Ajame, Sílvia Del Gallo, Maria e Durval Silvério, Mara Gândara e Sérgio Garbi, pelos momentos de Música e descontração que tanto me equilibram.*

*À minha Família, que sempre me apoiou em relação à minha carreira, entendendo minhas ausências e mesmo assim me incentivando sempre.*

## Sumário

		Pág.
<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
1.1.	Terminologia e nomenclatura	4
1.2.	A era pós-correção cirúrgica	7
<b>2.</b>	<b>REMODELAMENTO MIOCÁRDICO</b>	<b>10</b>
2.1.	Alterações miocárdicas nas sobrecargas de pressão	11
2.2.	Alterações miocárdicas nas sobrecargas de volume	15
<b>3.</b>	<b>O DESENVOLVIMENTO PÓS-NATAL DO MIOCÁRDIO</b>	<b>17</b>
<b>4.</b>	<b>O MIOCÁRDIO NAS CARDIOPATIAS CONGÊNITAS: DESCRIÇÕES E ESTUDOS DA LITERATURA</b>	<b>19</b>
<b>5.</b>	<b>CONTRIBUIÇÕES PESSOAIS AO ESTUDO DO REMODELAMENTO</b>	<b>24</b>
5.1.	O remodelamento como forma de preparo ventricular	24
5.1.1.	Aspectos da fisiologia da circulação fetal e neonatal	25
5.1.2.	Circulação pós-natal na transposição das grandes artérias	26
5.1.3.	A correção da transposição das grandes artérias pela técnica de Jatene e os problemas do preparo do ventrículo esquerdo	28
5.1.4.	Protocolo experimental resumido e resultados comentados	32
5.2.	O remodelamento em cardiopatias congênitas	44
5.2.1.	Corações com conexão atrioventricular univentricular	44
5.2.1.1.	O miocárdio na atresia tricúspide clássica	53

5.2.2	Corações com dupla via de entrada ventricular	61
5.2.3.	Corações com tetralogia de Fallot	63
5.2.3.1.	História natural e evolução pós-operatória	66
5.2.3.2.	Protocolo de pesquisa resumido e resultados comentados	68
5.2.3.2.1.	Estudo piloto	69
5.2.3.2.2.	Estudo prospectivo	72
5.2.3.2.3.	Níveis de Troponina T sérica	74
5.2.4.	Avaliação ecocardiográfica da função ventricular	76
5.2.4.1.	Diâmetros dos cardiomiócitos	76
5.2.4.2.	Fração de área de colágeno intersticial	81
5.2.4.3.	Fração de área de capilares miocárdicos	84
<b>6.</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>86</b>
<b>7.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>89</b>
<b>8.</b>	<b>ANEXOS</b>	<b>102</b>



## Lista de Abreviaturas, Símbolos e Siglas

---

AD	átrio direito
AE	átrio esquerdo
Ao	aorta
AT	atresia tricúspide
AVI	aceleração miocárdica durante a contração sistólica isovolumétrica
C	grupo controle
cm	centímetros
cm/s	centímetros por segundo
cm/s <sup>2</sup>	centímetros por segundo ao quadrado
DNA	ácido desoxirribonucléico
DP	desvio-padrão
DVE	dupla via de entrada ventricular
E'	velocidade miocárdica diastólica precoce
EC	grupo de estimulação contínua
EI	grupo de estimulação intermitente
g	gramas
HC FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
mmHg	milímetros de mercúrio
ms	milissegundos
ng/ml	nanogramas por mililitro
PCNA	antígeno nuclear de proliferação celular
S'	velocidade miocárdica sistólica
TP	tronco pulmonar
μm	micrômetros
VD	ventrículo direito
VE	ventrículo esquerdo
Vv	fração de volume

---

## Lista de Tabelas

---

	Pág.
Tabela 1. Medidas macroscópicas obtidas nas vias de entrada e saída do ventrículo esquerdo (cm), comparando espécimes com atresia tricúspide e controles (média $\pm$ desvio padrão, mediana).....	55
Tabela 2. Diâmetros dos cardiomiócitos (micrômetros) de pacientes com tetralogia de Fallot, em relação ao local da amostra..	79
Tabela 3. Fração de área de colágeno intersticial no miocárdio (%) de pacientes com tetralogia de Fallot, em relação ao local da amostra.....	82
Tabela 4. Fração de área de colágeno intersticial no ventrículo direito (VD), de acordo com a duração do QRS. DP-desvio-padrão; ms - milissegundos.....	84

## Lista de Figuras

---

	Pág.
Figura 1. Coração com transposição das grandes artérias. Em a) observam-se as câmaras cardíacas da direita e aorta emergindo deste ventrículo e em b) câmaras cardíacas da esquerda, mostrando valva pulmonar em continuidade fibrosa com a valva mitral. O septo ventricular é íntegro e existe comunicação interatrial na fossa oval (*). AD-átrio direito; VD-ventrículo direito; AE-átrio esquerdo; VE-ventrículo esquerdo; Ao-aorta; TP-tronco pulmonar.	27
Figura 2. Cortes transversais dos ventrículos em dois corações com transposição completa das grandes artérias, mostrando: a) septo ventricular retificado e ventrículo esquerdo com espessura preservada; b) septo deslocado para a esquerda, ventrículo esquerdo com redução da espessura da parede livre e perfil em fenda da cavidade.	29
Figura 3. Painel superior: Gradiente pressórico ventrículo direito/tronco pulmonar (mmHg) do grupo submetido a 12 horas de sobrecarga sistólica do ventrículo direito alternadas com 12 horas de descanso. Painel inferior: mesmo gradiente (mmHg) no grupo submetido a sobrecarga sistólica contínua ventricular direita.	34
Figura 4. Massa estimada do ventrículo direito (VD) em gramas (g), em relação aos dias de treinamento. EC= grupo de estimulação contínua; EI= grupo de estimulação intermitente.	35
Figura 5. Média e erro-padrão do diâmetro transversal dos cardiomiócitos (micrômetros), segundo grupo e segmento do coração.	36
Figura 6. Média e erro-padrão do índice de cardiomiócitos marcados com Ki-67 (número de células positivas/ 2000 cardiomiócitos, expresso em porcentagem).	38
Figura 7. Fotomicrografia de miocárdio submetido à reação de imuno-histoquímica para marcação com Ki-67. As setas mostram núcleos positivos de cardiomiócitos. Aumento da objetiva- 40X; contra-coloração pela hematoxilina de Harris.	39
Figura 8. Fotomicrografia de miocárdio submetido à reação de imuno-histoquímica para marcação com Ki-67, onde se observam numerosos núcleos positivos pertencentes a células do interstício e vasos. Aumento da objetiva- 40X; contra-coloração pela hematoxilina de Harris.	41

Figura 9.	Média e erro-padrão do índice de células do intersticial marcadas com Ki-67 (número de células positivas/ 2000 células, expresso em porcentagem).	42
Figura 10.	Cortes em coração com dupla via de entrada ventricular, mostrando: a) o ventrículo esquerdo principal recebendo as duas valvas atrioventriculares; b) o ventrículo rudimentar morfológicamente direito, de onde se origina a aorta (conexão ventrículo - arterial discordante).	45
Figura 11.	Espécimes anatômicos com atresia tricúspide clássica. Em a) observa-se visão anterior de corte do tipo “quatro câmaras” exibindo a ausência de conexão atrioventricular à direita e ventrículo principal esquerdo; em b) observa-se ventrículo esquerdo aberto pela via de saída, à qual está conectada a aorta. A seta mostra a comunicação interventricular.	46
Figura 12.	Coração com dupla via de entrada através de valva atrioventricular comum abrindo-se em ventrículo único de morfologia indeterminada.	47
Figura 13.	Coração seccionado em corte tipo “quatro câmaras”, evidenciando conexão atrioventricular biventricular (cada átrio conectado a um ventrículo) e ventrículo esquerdo hipoplásico (*) em virtude da existência de atresia valvar aórtica (não mostrada). O ventrículo direito (VD) é hipertrófico.	49
Figura 14.	Média e desvio padrão da variável “fração de volume de capilares miocárdicos” (Vv) em corações com atresia tricúspide e em controles.	56
Figura 15.	Fotomicrografia de miocárdio do ventrículo esquerdo de coração com atresia tricúspide clássica demonstrando grande número de capilares marcados por meio de reação de imuno-histoquímica contra o fator de von Willebrand. Aumento da objetiva-40X.	57
Figura 16.	Média e desvio-padrão da variável “fração de área de fibrose intersticial” em corações com atresia tricúspide e em controles.	58
Figura 17.	Gráfico da probabilidade estimada de ocorrência de fibrose miocárdica em relação à idade, em pacientes com atresia tricúspide.	60
Figura 18.	Distribuição da variável “fração de volume de fibrose intersticial” em corações com dupla via de entrada ventricular (DVE), atresia tricúspide (AT) e controles.	62

- Figura 19. Corte da via de saída do ventrículo direito exibindo o defeito básico da tetralogia de Fallot, representado pelo desvio anterior do septo infundibular (seta), que provoca estenose subpulmonar, a comunicação interventricular e o cavalgamento da aorta (Ao). TP- tronco pulmonar. 64
- Figura 20. Fotomicrografias do miocárdio de pacientes portadores de tetralogia de Fallot. Em a) nota-se padrão endomisial de deposição de colágeno e em b) padrão perimisial e endomisial. Coloração pela técnica do picrossirius, aumento da objetiva= 40X. 71
- Figura 21. Níveis médios ( $\pm$  desvio padrão) de troponina T sérica (ng/ml) em relação ao período operatório. 75
- Figura 22. Valores médios evolutivos ( $\pm$  desvio-padrão) das velocidades miocárdicas sistólica (S'), diastólica (E') (em cm/s) e da aceleração miocárdica durante a contração sistólica isovolumétrica (AVI) (em  $\text{cm/s}^2$ ), obtidas no ventrículo direito de pacientes com tetralogia de Fallot por meio da ecocardiografia com Doppler tecidual. 77
- Figura 23. Valores individuais do diâmetro médio dos cardiomiócitos (em micrômetros) nas amostras da via de entrada e do infundíbulo do ventrículo direito plotados em gráfico com os valores normais para ventrículo direito e idade (normal  $\pm 1\text{DP}$ ) de acordo com Nishikawa e colaboradores (1990). 78
- Figura 24. Valores individuais do diâmetro médio dos cardiomiócitos (em micrômetros) nas amostras do ventrículo esquerdo, plotados em gráfico com os valores normais para o ventrículo e idade (normal  $\pm 1\text{DP}$ ) de acordo com Nishikawa e colaboradores (1990). 79
- Figura 25. Gráfico da correlação entre valores da aceleração miocárdica durante a contração sistólica isovolumétrica (AVI) do ventrículo direito (VD) e diâmetros médios dos cardiomiócitos do mesmo ventrículo (micrômetros). 80
- Figura 26. Distribuição da variável "fração de área de colágeno" no ventrículo direito, de acordo com o grau de redução da velocidade miocárdica diastólica (E') do ventrículo direito no pós-operatório a médio prazo. 83

## Resumo

---

Os primeiros estudos sobre as cardiopatias congênitas tinham como desafios o entendimento da morfologia e a abordagem diagnóstica. Nos dias de hoje, depois de séculos de investigação morfológica, praticamente todas as anomalias cardíacas têm sua anatomia bem esclarecida. A era da cirurgia cardíaca trouxe a possibilidade de corrigir os defeitos e permitiu que os pacientes viessem a alcançar a adolescência e a vida adulta. O manuseio clínico também apresentou enormes avanços, ocorridos paralelamente ao desenvolvimento dos métodos de diagnóstico. O próximo passo na investigação será o conhecimento dos mecanismos de adaptação miocárdica na presença de uma arquitetura cardíaca anômala e de alterações hemodinâmicas variadas, com a finalidade de parar ou prevenir o processo de remodelamento miocárdico. Embora o termo “remodelamento miocárdico” tenha sido por vezes utilizado como sinônimo de dilatação cardíaca, seu conceito inclui uma série de alterações na forma, tamanho e função do coração que correspondem histologicamente à hipertrofia ou perda (por apoptose ou necrose) de cardiomiócitos e a modificações na matriz extracelular (principalmente fibrose) e no leito vascular. Particularmente em crianças pequenas, a hiperplasia celular pode também ter seu papel no processo. A adaptação miocárdica em cardiopatias congênitas ocorre paralelamente ao crescimento do coração, e não tem sido extensamente estudada. O presente texto faz uma revisão de alguns modelos experimentais de remodelamento cardíaco e de descrições da literatura relacionadas ao miocárdio nas cardiopatias congênitas, incluindo as contribuições da autora para o assunto. A hipertrofia dos cardiomiócitos é uma resposta inespecífica às sobrecargas de pressão ou volume impostas às câmaras cardíacas. Indução de hipertrofia pode ser útil no preparo ventricular para a cirurgia de correção da transposição das grandes artérias pela técnica de Jatene. Discute-se a respeito dos efeitos adversos desse preparo a longo prazo e sobre a possibilidade de os cardiomiócitos se dividirem. Um estudo experimental recente mostrou que tanto a hipertrofia como a hiperplasia celular tomam parte no processo, sob dois regimes diferentes de bandagem do tronco pulmonar para indução de ganho de massa ventricular. As células intersticiais também proliferaram, mostrando a adaptação da matriz extracelular e do leito vascular. Aumento de colágeno intersticial foi demonstrado em atresia tricúspide e na tetralogia de Fallot. Acredita-se que a fibrose resulte em rigidez do miocárdio, prejudicando as funções sistólica e diastólica. Estudos quantitativos demonstraram variação transmural na atresia tricúspide, com maior concentração de fibrose no subendocárdio. A patogênese da deposição anormal de colágeno não está plenamente esclarecida, mas se acredita que a hipóxia crônica e a desproporção do suprimento vascular possam ter importante papel no seu estabelecimento. Um estudo prospectivo clínico e histomorfométrico de amostras

endomiocárdicas de pacientes com tetralogia de Fallot operados mostrou que o remodelamento miocárdico presente antes da cirurgia, representado pela hipertrofia celular e pela fibrose, influenciou a médio prazo a evolução das funções sistólica e diastólica do ventrículo direito. Este texto discute ainda as perspectivas futuras de pesquisa para correlação anatomoclínica em cardiopatias congênitas.

Descritores: Cardiopatias congênitas, Miocárdio, Patologia, Tetralogia de Fallot, Transposição dos grandes vasos, Atresia tricúspide.

## Summary

---

The early studies of congenital heart defects had, as first challenges, the understanding of the morphological aspects and the approach to diagnosis. Morphology has now been studied for centuries, and nowadays virtually all the anomalies have their anatomy well clarified. The surgical era brought the possibility to correct or palliate the defects and changed the natural history of these diseases, allowing most patients to survive up to adolescence and adulthood. Clinical management also experienced an enormous development during the last decades, following the improvement of the methods of diagnosis. Efforts have recently concentrated in the understanding of the mechanisms of myocardial adaptation in the presence of distorted heart architecture and of diverse hemodynamic alterations, in order to stop or prevent the process of myocardial remodeling. Although the term "cardiac remodeling" has been sometimes taken as a synonym to dilation, its concept implies a series of changes in size, shape and function of the heart that correspond histologically to cardiomyocyte hypertrophy or loss (due to necrosis or apoptosis), changes in the amount of extracellular matrix (mainly fibrosis), and in the microvasculature. Particularly in small children, cardiomyocyte hyperplasia may also take a role in the process. In congenital heart defects, myocardial adaptation occurs in parallel with the normal growth, and has not been extensively studied. This text reviews some experimental models of cardiac remodelling and the descriptions from the literature regarding the myocardium status in different congenital cardiac defects, including the author's contributions to the subject. Cardiomyocyte hypertrophy is a non-specific response to volume or pressure overload of the ventricles. Induction of cardiac hypertrophy by means of pressure-overload may be useful in cases of transposition of the great arteries, which is achieved by pulmonary artery banding, before surgical correction (Jatene operation, or the so-called two-stage arterial switch operation). There is some debate about the potential adverse effects of such induced hypertrophy, and about the possibility of cardiomyocytes to re-enter the cell cycle. A recent experimental study showed that both cardiomyocyte hypertrophy and hyperplasia take part in the process, under two different regimens of pulmonary trunk banding to induce ventricular mass acquisition. Interstitial cells were also shown to proliferate, demonstrating the adaptation of the extracellular matrix and of the capillary bed. Increased interstitial myocardial collagen was documented in tricuspid atresia and tetralogy of Fallot. Fibrosis



is thought to result in increased myocardial stiffness, which can impair ventricular diastolic and systolic functions. Quantitative studies demonstrated transmural variation in tricuspid atresia, the subendocardium being the region with the highest percentage of fibrosis. The pathogenesis of such increased matrix deposition is not fully understood, but the presence of chronic hypoxia and inadequacy of coronary/capillary supply, especially in the subendocardial region, are believed to play an important role. A prospective clinical and histomorphometric evaluation of endomyocardial samples from patients with repaired tetralogy of Fallot showed that the myocardial remodeling preoperatively present, such as cell hypertrophy and fibrosis, influenced the medium term postoperative systolic and diastolic right ventricular function. This text also discusses the future perspectives of research for clinicopathological correlation in congenital heart disease.

**Keywords:** Congenital heart defects, Myocardium, Pathology, Tetralogy of Fallot, Transposition of the great vessels, Tricuspid atresia

## 1. INTRODUÇÃO

A época precisa em que se deu o reconhecimento morfológico dos defeitos congênitos do sistema cardiovascular não é conhecida, porém se sabe que Galeno, vivendo entre 129 e 201 da era Cristã, já tentava explicar o funcionamento do forame oval e do canal arterial e que Leonardo da Vinci (1452-1519) desenhou e descreveu um caso de comunicação interatrial. (Savona-Ventura e Grech, 1999)

Inicialmente tidas como curiosidade, as cardiopatias congênitas não eram categorizadas ou classificadas, e tanto o conhecimento da fisiopatologia bem como a correlação com a sintomatologia clínica eram pobres quando as descrições morfológicas começaram a aparecer nos séculos XVIII e XIX.

Foram marcos no estudo dessas anomalias os estudos do francês Ethienne-Louis Arthur Fallot, que reconheceu os defeitos básicos da doença que descreveu como “la maladie bleu”, e que posteriormente vieram a receber o seu nome, como um dos epônimos mais utilizados na Cardiologia Pediátrica ainda nos dias atuais.

No final do século XIX e início do XX, destacou-se no estudo da morfologia e fisiopatologia desses defeitos a canadense Maude E. Abbott, pioneira não só como morfologista mas também como mulher na Medicina.

A ela foi dada a tarefa de categorizar os espécimes anatômicos de um museu de Patologia e sua contribuição foi absolutamente fundamental na evolução do conhecimento das anomalias congênitas do sistema cardiovascular. Além de ter organizado o referido museu, ela desenvolveu um método de ensino da morfologia cardíaca por meio da correlação anatomoclínica nesta disciplina, vindo a elucidar muitos dos aspectos fisiopatológicos das cardiopatias congênitas.

Ainda assim, durante toda a primeira metade do século XX, o principal desafio em relação às cardiopatias congênitas era a descrição de sua morfologia além de esforços no conhecimento da embriogênese dos defeitos, por meio da embriologia comparada. Foi com o advento da cirurgia cardíaca que ficou clara a importância da elucidação anatômica minuciosa dos defeitos. Em 1944 os americanos Helen Taussig (cardiologista pediátrica) e Alfred Blalock (cirurgião, auxiliado por seu assistente Vivien Thomas) modificaram a história natural de pacientes com tetralogia de Fallot, propondo e realizando uma comunicação sistêmico-pulmonar por meio da anastomose término-lateral entre uma artéria subclávia e um ramo central da artéria pulmonar. Essa operação, utilizada com modificações até nos dias atuais, é apenas um recurso paliativo, não modificando a anatomia cardíaca mas apenas o padrão hemodinâmico. Com o desenvolvimento da circulação extracorpórea nos anos 50 do século passado, foram então abordados os defeitos intracavitários, e algumas cirurgias cardíacas passaram a ser realmente corretivas das anomalias congênitas. Enquanto as primeiras correções operatórias eram realizadas em defeitos relativamente simples,

como comunicações intercavitárias e canais fetais persistentes, outras técnicas foram sendo desenvolvidas para corrigir anomalias cada vez mais complexas. O desafio do momento era, portanto, aperfeiçoar a técnica cirúrgica e o tratamento pós-operatório. Foi neste contexto que, em nosso país, em 1975, o cirurgião Adib Domingos Jatene obteve êxito pela primeira vez no mundo, realizando a técnica de troca arterial para correção da transposição das grandes artérias.

A rápida evolução das técnicas operatórias não teria sido possível sem o desenvolvimento paralelo dos métodos diagnósticos, dentre eles a cineangiografia e a ecocardiografia bidimensional com Doppler. A correlação entre métodos de imagem e a morfologia cardíaca estudada nos espécimes anatômicos mostrou-se, nessa época, essencial à consolidação dos primeiros como ferramenta diagnóstica. Grande contribuição neste processo foi oferecida por numerosos Patologistas, mas não poderíamos deixar de citar os nomes de Maurice Lev, do casal Stella e Richard Van Praagh e dos europeus Robert H. Anderson e Anton E. Becker.

Nos dias atuais, o estudo da Embriologia cardíaca volta como ferramenta para o esclarecimento dos mecanismos genéticos e moleculares envolvidos na morfogênese (Guittenberger-de Groot et al., 2005), auxiliando ainda no aconselhamento genético das famílias. Além disso, defeitos complexos que no passado eram apenas curiosidades, hoje encontram explicação em modelos experimentais (Aiello et al., 1987; Aiello e Xavier-Neto, 2006).

### 1.1. Terminologia e nomenclatura

Muitas são as formas de classificar as anomalias congênitas do sistema cardiovascular. Nas primeiras descrições mais detalhadas de alguns defeitos, datadas do século XIX e da primeira metade do século XX, os anatomistas costumavam descrever o que viam nos espécimes anatômicos sem sistematização pré-definida e então algumas malformações acabaram por receber o nome de quem as descreveu. São exemplos clássicos a Tetralogia de Fallot, a doença de Ebstein, a anomalia de Taussig-Bing. Essas descrições apresentavam extraordinária acurácia, como podemos testemunhar nos dias atuais, depois de muitos anos da descrição inicial. (Aiello e Decourt, 1994) Seguiu-se um período no qual o conhecimento da embriologia e de seus princípios era de fundamental importância para o diagnóstico, pois além de reconhecer a morfologia, era necessário conhecer o mecanismo de formação do defeito. São exemplos termos como “canal atrioventricular” e “defeitos da septação do tronco-cone”. Mas os mecanismos conhecidos naquela ocasião eram derivados de observações em embriões de aves e de outros animais, não de humanos. (De la Cruz et al., 1971; 1983) Eram trabalhos pioneiros para a época e trouxeram grande contribuição à morfologia. Todavia, o principal problema eram as tentativas de utilizar nomes de etapas do desenvolvimento embrionário cardíaco para denominar defeitos do coração já maduro, pois algumas das estruturas já não estavam mais presentes, como os coxins do canal atrioventricular e do tronco-cone por exemplo.

A partir da década de 80 do século XX começaram a aparecer grandes controvérsias na classificação das cardiopatias congênitas. Alguns autores levavam em conta conceitos embriológicos, outros apenas características anatômicas. Foi neste cenário que apareceu a *análise segmentar seqüencial*, introduzida por Van Praagh (Van Praagh, 1972) para descrever o alinhamento dos segmentos cardíacos. O sistema foi modificado por Anderson e colaboradores (Anderson et al., 1984), para permitir a descrição de conexões de câmaras e artérias entre si e não apenas seu alinhamento espacial. O método consiste na *descrição seqüencial e sistematizada de características anatômicas do coração*, identificando-se a forma como os segmentos cardíacos conectam-se entre si, sem necessidade de conhecimento de classificações existentes ou do mecanismo de formação do defeito. Essa abordagem desmistificou o diagnóstico morfológico das cardiopatias congênitas, permitindo que qualquer indivíduo, com conhecimento básico da anatomia cardíaca, possa descrever anomalias complexas. A partir de informações sobre características anatômicas normais, um observador (ecocardiografista, anatomista, cirurgião), descreverá, seqüencialmente: a) o “situs” ou arranjo atrial, baseando-se na morfologia dos apêndices atriais ou na posição de aorta descendente e veia cava inferior; b) o local de conexão das veias sistêmicas e pulmonares; c) a forma como os átrios se conectam aos ventrículos; d) a forma como os ventrículos se conectam às grandes artérias da base; e) os defeitos associados: septais, valvares, os vasos anômalos; f) as lesões obstrutivas.

Mesmo assim, atualmente ainda persistem algumas preferências na denominação de determinados defeitos advindas do uso contínuo, além de alguns epônimos, como anteriormente citado. A demanda de uniformizar as diferentes formas de nomear os defeitos congênitos do coração vem de encontro à necessidade de comparar resultados das diversas formas de abordagem terapêutica e cirúrgica disponíveis nos dias de hoje. (Aiello, 2002; Beland et al., 2004) (Anexo 1) Para este propósito, é fundamental a criação e manutenção de bancos de dados com diagnósticos clínicos, morfológicos, tipos de abordagem terapêutica, mortalidade e complicações pós-operatórias imediatas e tardias (Jacobs et al., 2005) (Anexo 2). Avanços na Informática ao longo das últimas décadas do século passado permitiram a implementação de alguns bancos de dados. Pelo menos dois deles (Society for Thoracic Surgeons e European Association for Cardio-Thoracic Surgery) já arquivam dados de pacientes com cardiopatias congênitas provenientes de numerosos centros cardiológicos (Jacobs e Maruszewski, 2005). Para as referidas comparações de resultados foram desenvolvidos alguns escores de risco, compreendendo não apenas a gravidade do defeito anatômico mas também fatores adversos associados, como infecções, desnutrição, etc. (Al-Radi et al., 2007)

A primeira grande barreira encontrada no arquivamento de casos foi a nomenclatura, que não é uniforme nos diferentes centros. As mesmas instituições mantenedoras dos bancos de dados tinham construído, concomitantemente, suas próprias listas de diagnósticos. Um esforço internacional foi então direcionado para mapear essas duas listas, e nasceu

o *International Pediatric Cardiac Code*, resultado do mapeamento das listas por um grupo de trabalho constituído por especialistas de diversas áreas. (Franklin et al., 2008)

Não se pode deixar ainda de reconhecer que, embora a descrição morfológica adequada seja fundamental, do ponto de vista clínico alguns aspectos das cardiopatias são importantes a ponto de merecerem uma classificação funcional. Neste contexto, citam-se as cardiopatias congênitas *cianogênicas* e as *não cianogênicas*, conforme cursem ou não com cianose, aquelas com *hiper ou hipofluxo pulmonar*, aquelas com *fisiologia univentricular ou biventricular*, etc. Todas essas características de apresentação clínica devem ser levadas em consideração e seu reconhecimento é fundamental para uma conduta adequada. Além disso, os distúrbios hemodinâmicos variados e também a existência de baixa concentração de oxigênio na circulação coronariana podem ter grande impacto no remodelamento miocárdico frente a cada defeito.

## **1.2. A era pós-correção cirúrgica**

Os desafios de diagnosticar e tratar cirurgicamente as cardiopatias congênitas foram paulatinamente sendo vencidos e, a partir de então, uma nova população de indivíduos vem atingindo a idade adulta: aqueles cujos defeitos foram corrigidos ou paliados na infância. Esses pacientes mostram particularidades inerentes à morfologia dos defeitos primitivos, às técnicas



cirúrgicas a que foram submetidos e a possíveis lesões residuais, representando um novo desafio à Cardiologia. Neste contexto, tanto o tipo de cirurgia como a época da vida do paciente em que ela foi realizada têm papel fundamental na adaptação cardiovascular a longo prazo.

O contingente de pacientes adultos portadores de defeitos cardiovasculares congênitos cresce a cada dia e ainda não existe homogeneidade quanto ao tipo de evolução, pois não há, até o momento, consenso sobre a melhor conduta em alguns tipos de anomalia. Uma estimativa de cerca de sete anos atrás dá conta da existência de aproximadamente 1.000.000 de indivíduos adultos com cardiopatias congênitas nos Estados Unidos da América do Norte (Brickner et al., 2000). Problemas diversos como a hipertensão pulmonar secundária (síndrome de Eisenmenger), a adaptação frente a situações fisiológicas como a gravidez e também a existência de lesões residuais precisam ser individualmente avaliados e manipulados. A sobreposição de doenças adquiridas pela idade, como a cardiopatia isquêmica, também merecerão particular cuidado nesses indivíduos.

Grande preocupação atual é a ocorrência de insuficiência cardíaca congestiva em adultos com cardiopatias congênitas. Sabe-se, por exemplo, que redução na fração de ejeção ventricular é encontrada em 16% dos pacientes submetidos a cirurgias no plano atrial (Mustard ou Senning) para tratamento da transposição das grandes artérias, apenas após 10 anos do procedimento. Outro grupo particularmente sob risco de desenvolver falência cardíaca é o de pacientes com fisiologia univentricular e submetidos à

cirurgia de Fontan (Bolger e Gatzoulis, 2004). Não se conhece ainda se o tratamento dessa falência miocárdica deve ou não obedecer aos mesmos princípios da terapêutica clássica da insuficiência cardíaca de causas bem estabelecidas como a isquêmica ou as cardiomiopatias e para tal, o interesse volta-se agora à elucidação de aspectos intrínsecos do miocárdio e ao seu remodelamento.

## 2. REMODELAMENTO MIOCÁRDICO

Existe certa confusão sobre o conceito de “remodelamento miocárdico”. Usado rotineiramente como sinônimo de “dilatação cardíaca”, implica na verdade em uma série de alterações na massa cardíaca, na sua composição e no seu volume, em consequência de injúria de diferentes etiologias, e influenciadas por sobrecarga hemodinâmica e fatores neuro-hormonais e de expressão gênica. Essas alterações incluem adaptações das células miocárdicas, principalmente do cardiomiócito, como hipertrofia, hiperplasia e perda celular por necrose ou apoptose. Também a matriz extracelular está envolvida, com aumento do conteúdo de colágeno intersticial e proliferação das células produtoras da própria matriz. O leito vascular periférico constituído pelos capilares miocárdicos também se encontra implicado no processo, acompanhando proporcionalmente ou não o crescimento da massa cardíaca. As diversas etiologias do processo adaptativo têm em comum algumas vias bioquímicas, moleculares e mecânicas de resposta (Cohn et al., 2000). Também a resposta fisiológica do miocárdio ao exercício que ocorre em atletas tem sido chamada de remodelamento.

Mais recentemente foi introduzido o termo remodelamento reverso para designar a reversibilidade parcial da alteração na massa cardíaca após uma medida terapêutica específica (Sutton e Keane, 2007), mas esse processo necessita melhor entendimento.

O remodelamento tem sido extensamente estudado em diversas

situações de sobrecarga pressórica e/ou volumétrica como na hipertensão arterial sistêmica (Rossi, 1998a), nas valvopatias e nas cardiomiopatias crônicas de diversas etiologias. Modelos experimentais de sobrecarga pressórica (Rossi e Peres, 1992; Regan et al., 1996; Wang et al., 2004) e de isquemia miocárdica (Hochman e Bulkley, 1982; Korup et al., 1997) são abundantes na literatura, mostrando detalhadamente a evolução da hipertrofia, da deformação geométrica das cavidades e da expansão da matriz extracelular, além dos mecanismos subcelulares e moleculares envolvidos.

Considera-se ainda que a resposta do miocárdio a uma determinada injúria pode ocorrer de maneira adaptada ou desadaptada, de acordo com a sua capacidade de atender adequadamente, ou não, às necessidades agudas de ajuste de função miocárdica (Sabbah e Goldstein, 1993). Na sua progressão, todavia, o remodelamento pode ser considerado sempre como deletério para o pacientes, e não existe marcador para determinar o ponto de transição entre o processo adaptado e o desadaptado (Cohn et al., 2000).

## **2.1. Alterações miocárdicas nas sobrecargas de pressão**

Com a finalidade de manter o volume ventricular sistólico nas diferentes situações que induzem à sobrecarga pressórica, ocorre inicialmente um aumento do diâmetro transversal dos cardiomiócitos, por adição de sarcômeros em paralelo, o que finalmente resulta em aumento da

---

espessura da parede ventricular sem dilatação da cavidade, em um processo que recebe classicamente a denominação de hipertrofia concêntrica. Este mecanismo permite manter inalterado o estresse sistólico da parede.

Do ponto de vista molecular, a sobrecarga pressórica induz uma rápida mudança na expressão das isoformas de miosina sarcomérica, de  $\alpha$  para  $\beta$  e reaparecimento da  $\alpha$ -actina de músculo esquelético, e o miocárdio adulto reassume características dos cardiomiócitos do feto (Izumo et al., 1988). Além disso, tanto a ativação do sistema renina-angiotensina como a resposta dos cardiomiócitos ao estiramento levam à ativação de proto-oncogenes (c-fos, c-jun, c-myc) e à expressão de fatores natriuréticos no miocárdio ventricular submetido a sobrecarga de pressão. Estes últimos são também classicamente descritos em células ventriculares de pacientes com falência miocárdica e dilatação cardíaca. O padrão “fetal” de expressão do fator natriurético atrial aparece nas células atriais e no subendocárdio dos ventrículos, mas muda após o nascimento, persistindo no átrio mas não nos ventrículos, onde é encontrado apenas em raras células do tecido de condução do estímulo elétrico (Tsuchimochi et al., 1988).

Uma forma de resposta miocárdica à sobrecarga de pressão que tem sido motivo de extensa discussão é a possibilidade de ocorrência da hiperplasia de células contráteis no miocárdio adulto. Acreditava-se inicialmente que o coração dos mamíferos fosse um órgão pós-mitótico, ou seja, após o nascimento os cardiomiócitos não mais seriam capazes de se multiplicar e que o único mecanismo adaptativo disponível seria a hipertrofia.

Alguns estudos porém, demonstram que algumas semanas após o nascimento e em determinadas circunstâncias mesmo no adulto, os cardiomiócitos re-entram no ciclo proliferativo, aumentando em número. Em modelo de constrição de aorta abdominal, alguns autores demonstraram que incorporação de timidina pelos núcleos de cardiomiócitos foi 8,1 vezes maior do que nos controles (Dowell e McManus, 1978), sugerindo proliferação de células musculares. Mais recentemente, todavia, emergiu o conceito de células residentes multi-potenciais, ou seja “stem cells” presentes no miocárdio e que seriam responsáveis pela regeneração de cardiomiócitos e dos outros componentes celulares do miocárdio ao longo da vida (Anversa et al., 2005; Ellison et al., 2007). Esse novo paradigma modificou a interpretação dos fenômenos de regeneração miocárdica e abriu possibilidades terapêuticas para o miocárdio lesado.

Demonstrou-se, ainda, que nos processos em que a acontece hiperplasia, também a morte celular programada está presente. Desta forma, o resultado final dependerá do equilíbrio entre proliferação e apoptose, sendo que esta última prevaleceria em miocárdio submetido a intenso estresse (James, 1998; Sarkar et al., 2004).

A expansão da matriz extracelular também contribui para o aumento da massa cardíaca na sobrecarga pressórica (Weber e Brilla, 1991), principalmente pela deposição de colágeno intersticial e perivascular, o que termina por conferir rigidez ao tecido, reduzindo a complacência e interferindo tanto na função diastólica como na sistólica dos ventrículos acometidos. A fibrose intersticial acima referida é também conhecida como

“reativa”, e se contrapõe à forma “reparativa”, a qual está presente na substituição de cardiomiócitos que sofreram necrose e, em geral, ocupa grandes e contínuos espaços visíveis macroscopicamente, ou, quando microscópica, aparece sob a forma de fibrose estrelada.

Foi demonstrado que a fibrose reativa pode se apresentar enclausurando cardiomiócitos individuais no seu endomísio, alterando a estrutura tridimensional do arcabouço da matriz, o que explica seu papel na disfunção contrátil e também no surgimento de arritmias, pois interfere nas propriedades elétricas de condução miocárdica (Rossi, 1998b). Esse processo de expansão da matriz extracelular é dinâmico, como ocorre em outros processos patológicos em diferentes órgãos e tecidos. Desta forma, a deposição de proteínas da matriz, principalmente colágenos I e III, ocorre paralelamente à sua destruição pelas metaloproteinases também produzidas pelos fibroblastos. O controle da ativação dessas enzimas e da função dos próprios fibroblastos é realizado por uma série de fatores humorais atuando de forma autócrina e parácrina, dentre os quais a angiotensina II é um dos mais importantes, mas que compreende também fatores de crescimento como o fator de crescimento de fibroblastos (bFGF), o TGF $\beta$  e o fator de crescimento semelhante à insulina (Manabe et al., 2002). Tal como acontece em reações de outros tecidos, os fibroblastos mudam seu fenótipo a partir de causas externas e se transformam em miofibroblastos, os quais têm atividade secretora e expressam alguns marcadores de células musculares lisas como a  $\alpha$  actina, a  $\alpha 22$  e a tropomiosina (Frangogiannis , 2000).

Devemos citar ainda a adaptação do compartimento vascular do

miocárdio submetido ao estímulo hipertrófico. Em que pese o fato de que aparentemente o tipo e a duração do estímulo são fatores significantes na modulação do tipo de resposta, tem-se demonstrado, em diversos modelos de hipertrofia miocárdica, que a densidade numérica de capilares está reduzida, exceto nos modelos de hipertensão arterial espontânea. Já a área de secção transversa dos capilares está aumentada, o que teoricamente compensa a sua redução numérica. Esse mecanismo compensatório não é encontrado na hipertrofia associada ao infarto do miocárdio (Anversa et al, 1986a).

## **2.2. Alterações miocárdicas nas sobrecargas de volume**

A chamada hipertrofia excêntrica é a situação onde há dilatação da cavidade ventricular sem aumento relativo da espessura da parede. A massa cardíaca está aumentada, e, neste contexto, justifica-se o termo hipertrofia. Do ponto de vista subcelular, o cardiomiócito alonga-se por adição de sarcômeros em série e seu volume total aumenta (Gerdes et al., 1995). O miocárdio se afila por deslizamento das fibras e o substrato morfológico para tal fenômeno é a ruptura das conexões de colágeno que normalmente mantêm o alinhamento entre elas (Weber et al., 1990). Admite-se que um aumento da ativação de metaloproteinases da matriz extracelular esteja relacionado a essa alteração na malha de colágeno e neste contexto o remodelamento da sobrecarga volumétrica difere substancialmente daquele



presente na sobrecarga de pressão. Estudos experimentais e em humanos com falência miocárdica terminal sugerem ainda uma regulação negativa dos fatores inibidores de metaloproteinases (tissue inhibitors of metalloproteinases- TIMPs) (Li et al., 1998). Em modelo experimental de sobrecarga de volume por criação de fistula aorto-cava, observou-se redução do conteúdo de colágeno do miocárdio ventricular em comparação aos controles e o uso de drogas inibidoras da enzima conversora da angiotensina e bloqueadoras de receptores da angiotensina II inibiu a redução relativa do colágeno (Ruzicka et al., 1994).

Em outro modelo de sobrecarga de volume, a insuficiência mitral, Urabe e colaboradores (1992) não observaram alterações significativas no componente intersticial.

Por outro lado, na cardiomiopatia dilatada idiopática e também na doença de Chagas, o conteúdo de fibrose intersticial e reparativa está aumentado no miocárdio, em virtude do processo reparativo da perda celular por inflamação ou apoptose (Beltrami et al., 1994, Higuchi et al., 1999).

Com relação ao componente vascular, não foram observadas anormalidades na perfusão regional do ventrículo esquerdo em modelo de sobrecarga de volume (Carabello et al., 1991). Já em uma outra situação experimental simulando sobrecarga de volume por imposição de exercício extenuante em ratos, evidenciou-se redução da fração de volume de capilares miocárdicos, o que sugere uma maior susceptibilidade do miocárdio à isquemia (Anversa et al., 1985).

### 3. O DESENVOLVIMENTO PÓS-NATAL DO MIOCÁRDIO

Existem diferenças estruturais e funcionais entre o miocárdio fetal e neonatal e o do adulto, em grande parte decorrentes das particularidades hemodinâmicas da circulação intra-uterina e das adaptações ocorridas logo após o nascimento, as quais serão detalhadas mais adiante.

No neonato, o miocárdio apresenta uma maior proporção relativa de colágeno do que no adulto, o que o torna menos complacente. Estudo morfométrico de Marijianowski e colaboradores (1994) mostrou que a concentração total de colágeno e proteínas totais do miocárdio diminui gradativamente desde o período neonatal até o quinto mês de vida. Além disso, observou-se que a proporção de colágeno tipo I é maior no coração do neonato do que no do adulto.

Para se adequar à crescente demanda do crescimento corporal e à mudança do padrão circulatório, o miocárdio do ventrículo esquerdo precisa aumentar de espessura e adquirir maior massa, o que ocorre obedecendo a um processo que é análogo à combinação de hipertrofia concêntrica e excêntrica: aumenta o volume sanguíneo (pré-carga) e também a resistência periférica (pós-carga). Já o ventrículo direito encontra uma redução progressiva da resistência vascular pulmonar nas primeiras semanas de vida, em combinação com aumento do fluxo, e consideramos então que se adapta por um processo de hipertrofia excêntrica (Anversa et al., 1980; 1992).

O aumento da massa miocárdica resulta principalmente do aumento

de volume dos cardiomiócitos, uma vez que a proliferação celular só é considerável durante um curto período pós-natal. Em ratos, demonstrou-se que cardiomiócitos apresentam capacidade de hiperplasia por volta das três semanas de vida, o que coincide com a época do desmame (Anversa et al., 1986b). Até essa época, portanto, o crescimento fisiológico do miocárdio se faz por hipertrofia e hiperplasia de suas células contráteis. Isso é corroborado em outro estudo experimental com cardiomiócitos isolados por digestão enzimática (Li et al., 1996), no qual os autores sugerem que os dois processos não ocorram concomitantemente, e que nos ratos a hiperplasia só se mantém por um período de três a quatro dias.

A vascularização do miocárdio também sofre adaptações fisiológicas. O crescimento normal do coração é acompanhado por um alongamento proporcional da rede capilar. A proliferação de capilares, medida por incremento na sua densidade numérica dentro do miocárdio, é maior dentro do primeiro mês de vida, expandindo-se até por volta do quinto mês quando a fração de volume capilar chega a valores comparáveis aos do miocárdio adulto. Embora haja uma grande variedade de formas para avaliar morfometricamente a vascularização miocárdica, algumas aplicáveis apenas em condições experimentais pela possibilidade de injeção do leito vascular por pressão controlada, admite-se que o crescimento de capilares exceda o de cardiomiócitos durante o primeiro mês de vida, pois a relação entre perfis desses dois tipos celulares (capilares/cardiomiócitos) aumenta nesse período (Anversa et al., 1989).

#### **4. O MIOCÁRDIO NAS CARDIOPATIAS CONGÊNITAS: DESCRIÇÕES E ESTUDOS DA LITERATURA**

Como relatado acima, a distorção da morfologia cardíaca nos defeitos congênitos leva a conseqüências hemodinâmicas que promovem adaptação miocárdica, levando eventualmente à insuficiência cardíaca congestiva (Bolger e Gatzoulis, 2004).

É importante notar que a maioria dessas condições particulares de sobrecarga volumétrica e pressórica estão presentes desde a morfogênese cardíaca e que portanto o processo de remodelamento do miocárdio ocorre paralelamente ao crescimento do coração, tanto na vida intra-uterina como após o nascimento (Aiello e Binotto, 2007). Este aspecto não encontra correspondente nos estudos experimentais de adaptação cardíaca às diversas formas de injúria e sobrecarga.

Some-se a isto o fato de a arquitetura tridimensional das fibras miocárdicas também estar distorcida pela própria presença de conexões anômalas de câmaras entre si ou dessas com artérias e veias.

Embora a maioria dos estudos de distribuição tridimensional de fibras miocárdicas tenha sido feita em corações normais, alguns têm procurado fazer comparações com corações malformados (Sanchez-Quintana et al., 1996; 1999). Em pacientes com atresia tricúspide clássica (ausência de conexão atrioventricular à direita) observou-se orientação anormal dos feixes da camada superficial (subepicárdica) do ventrículo esquerdo, além de maior espessura da camada muscular média. Enquanto

que em corações normais a espessura camada muscular média depende da idade mas não ultrapassa os 60% de toda a parede, nos corações com atresia tricúspide ela chega a ocupar perto de 80%. À microscopia eletrônica de varredura, mesmo o coração do paciente mais jovem com atresia tricúspide mostrou alterações no padrão dos feixes de colágeno perimisiais, provavelmente refletindo uma anormalidade intrínseca e não adaptativa. Todos esses achados sugerem implicações na função de bomba desse ventrículo, nessa anomalia que apresenta características de fisiologia univentricular, uma vez que o ventrículo direito é rudimentar e incompleto (Sanchez-Quintana et al., 1999).

Já em pacientes com tetralogia de Fallot, os mesmos autores demonstraram (Sanchez-Quintana, 1996) a presença de uma camada muscular no ventrículo direito que está ausente nos normais.

Do ponto de vista histológico, diversos autores investigaram o miocárdio em portadores de cardiopatias congênitas. O objeto principal de estudo dos primeiros trabalhos foi a tetralogia de Fallot, talvez por ter sido uma das primeiras anomalias a terem sua história natural modificada pela correção cirúrgica (Jones et al., 1975; Deanfield et al., 1983; Peters et al., 1999). Nesta anomalia existe sobrecarga pressórica e volumétrica do ventrículo direito, pela presença de estenose subpulmonar e cavalgamento da aorta. As descrições davam conta de uma maior quantidade de fibrose intersticial no miocárdio e também de desarranjo espacial dos cardiomiócitos da região infundibular, mais especificamente aquela porção de músculo que é ressecada na cirurgia para desobstrução da via de saída

do ventrículo direito. Também já se tentava fazer correlação entre achados histológicos e variáveis clínicas e hemodinâmicas. Jones e colaboradores (1975) demonstraram, embora sem quantificar, uma associação entre fibrose miocárdica e aumento da pressão diastólica final do ventrículo direito. Admitia-se ainda um papel chave dessa fibrose na ocorrência de arritmias e morte súbita em pacientes operados (Deanfield et al., 1983). A patogênese desta fibrose até hoje não está completamente esclarecida. Soma-se aos aspectos da sobrecarga ventricular direita a existência de hipoxemia arterial sistêmica, o que significa menor concentração de oxigênio no fluxo que perfunde a árvore coronariana. Experimentalmente, demonstrou-se que a hipóxia é considerada um estímulo potente e efetivo para a angiogênese (Heil et al., 2006), porém não se deve levar em consideração apenas a densidade de capilares, mas a sua distribuição espacial no tecido.

Alterações miocárdicas e vasculares de grande monta estão também presentes em outra anomalia que se constitui em um grande desafio no tratamento clínico e cirúrgico, a atresia pulmonar com septo íntegro (Oosthoek et al., 1995). Nesta anomalia o ventrículo direito mostra comunicações da sua luz com a rede vascular coronariana, em virtude do elevado nível pressórico no interior da cavidade. Acreditam alguns autores que se trate da persistência do miocárdio esponjoso presente na no período embrionário e que, pelo defeito ser de aparecimento muito precoce na formação do coração, esses canais vasculares também chamados, embora inapropriadamente, de “sinusóides”, sirvam desde a vida intra-uterina para o esvaziamento da cavidade na presença de uma valva tricúspide competente.

As alterações hemodinâmicas que se sucedem têm grande impacto no enchimento coronariano, uma vez que existe competição de fluxo entre o enchimento coronariano via circulação sistêmica a partir da aorta e o esvaziamento do conteúdo do ventrículo direito (Gittenberger-de-Groot et al., 1988). É fácil entender que as alterações isquêmicas nesta anomalia se estendem também ao ventrículo esquerdo, em virtude do comprometimento do fluxo coronariano como um todo (Akiba e Becker, 1994).

Na atresia valvar aórtica, embora haja uma situação hemodinâmica semelhante em mais de 60% dos casos, onde a valva mitral está patente (Aiello et al., 1990), a presença de comunicações coronário-cavitárias é bastante rara. Estudos histológicos do miocárdio nesta anomalia demonstraram uma redução da fração de área de colágeno em ambos os ventrículos em comparação com controles normais (Salih et al., 2004a), alertando sobre as possíveis implicações, a longo prazo, de se utilizar o ventrículo direito como sistêmico por meio da correção cirúrgica. Na mesma anomalia, os autores detectaram maior distância de difusão dos capilares miocárdicos (Salih et al., 2004b), o que, analisado em conjunto com o dado de menor porcentagem de fibrose intersticial parece paradoxal, uma vez que seria esperada uma isquemia relativa do miocárdio.

A anomalia de Ebstein também foi avaliada histologicamente, encontrando-se fibrose miocárdica aumentada e, em neonatos, menor diâmetro de cardiomiócitos do ventrículo direito (Celermajer et al., 1992).

Como se vê, os achados anatomopatológicos de remodelamento miocárdico em diferentes defeitos cardíacos congênitos mostram

particularidades que precisam ser entendidas no contexto da morfologia macroscópica, das alterações hemodinâmicas e da apresentação clínica. As descrições não têm sentido se não forem acompanhadas de correlação anatomoclínica.



## **5. CONTRIBUIÇÕES PESSOAIS AO ESTUDO DO REMODELAMENTO**

### **5.1. O remodelamento como forma de preparo ventricular (Anexo 2)**

**Dados do trabalho de Tese de Doutorado da aluna Maria Cristina Donadio Abduch (2006) – Financiamento FAPESP - 02/11721-6 - ABDUCH, M C D ; ASSAD, R S ; RODRIGUES, M A Q ; VALENTE, A S ; ANDRADE, J L ; DEMARCHI, L M ; MARCIAL, M B ; AIELLO, V. D. . Reversible pulmonary trunk banding III: assessment of myocardial adaptive mechanisms-contribution of cell proliferation. Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, 2007; 133: 1510-1516.**

**Trabalho apresentado em “39th Annual Meeting of the Association for European Paediatric Cardiology”, 2004, Munique, Alemanha. Cardiol Young 2004;14:63. Foi segundo colocado na categoria “melhor pôster” do mesmo Congresso.**

Indução de hipertrofia miocárdica por meio de sobrecarga pressórica tem sido rotineiramente utilizada na prática clínica para preparar o ventrículo esquerdo em crianças com transposição das grandes artérias e candidatas à cirurgia de troca arterial ou cirurgia de Jatene (Jonas et al., 1989; Boutin et al., 1994a). Para esclarecer a situação fisiopatológica desse preparo será necessária uma breve introdução sobre a fisiologia da circulação fetal e neonatal em indivíduos normais e na transposição das grandes artérias.

### **5.1.1. Aspectos da fisiologia da circulação fetal e neonatal**

Grande parte do conhecimento sobre fisiologia da circulação fetal normal foi obtida por meio de estudos realizados em ovelhas, sendo clássicos os estudos de Rudolph (1970; 1985).

No feto, as trocas gasosas são feitas pela placenta e o fluxo sanguíneo mais oxigenado, atravessando o ducto venoso hepático, atinge a veia cava inferior e então as câmaras cardíacas da direita. A partir da comunicação interatrial (o forame oval patente), grande parte desse fluxo chega até a aorta ascendente e a circulação sistêmica, passando pelas câmaras cardíacas da esquerda. O fluxo que atravessa o ventrículo direito e chega ao tronco pulmonar encontra um circuito de alta resistência representada pelos pulmões em desenvolvimento, mas também passa através de outra comunicação fetal, o canal arterial, para a aorta descendente. Dessa forma, consideramos que a circulação se faz em paralelo, pois ambos os ventrículos funcionam conjuntamente para manter o fluxo sistêmico do feto. Isto faz com que na vida fetal ambas as câmaras ventriculares apresentem paredes de espessuras semelhantes. Ao nascimento o padrão circulatório muda, e os ventrículos começam a trabalhar em série. O início dos movimentos respiratórios promove, pela própria expansão da caixa torácica, um recrutamento de arteríolas pulmonares periféricas que estavam fechadas na vida fetal, com conseqüente redução abrupta da resistência vascular pulmonar. Além disso, o aumento da saturação sangüínea de oxigênio pelas trocas gasosas com o

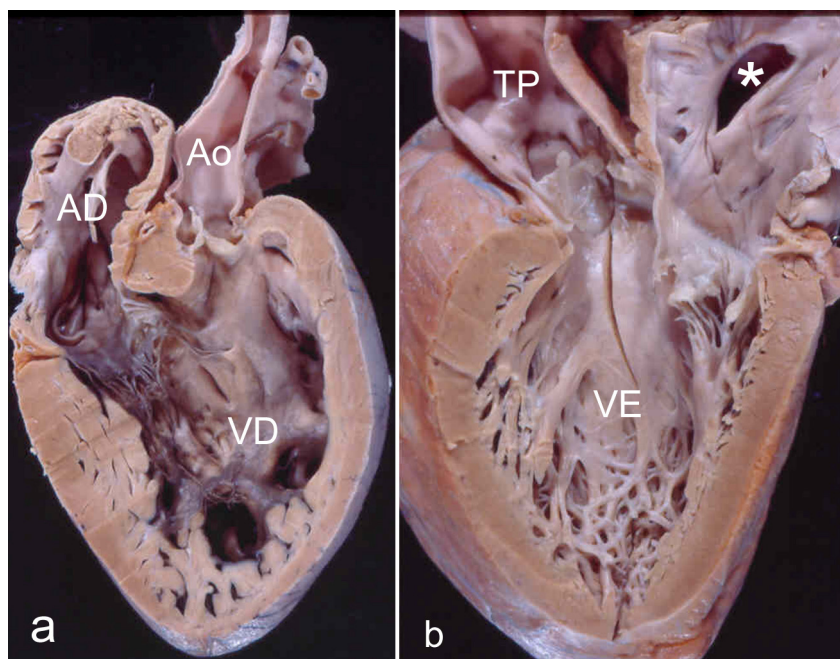
ar ambiente faz com que haja um relaxamento das artérias pulmonares maiores, muscularizadas. Isto promove uma redução ainda maior da resistência vascular, progressiva até cerca de oito semanas de vida. As comunicações fetais se fecham e o ventrículo direito então passa a trabalhar em sistema de baixa resistência, perdendo massa e afinando progressivamente a sua parede (Friedman e Fahey, 1993). Por outro lado, a massa ventricular esquerda aumenta, como anteriormente discutido, por incremento da pré e da pós-carga.

### **5.1.2. Circulação pós-natal na transposição das grandes artérias**

A transposição das grandes artérias é definida em corações que apresentam associação entre conexão atrioventricular concordante e conexão ventrículo-arterial discordante, ou seja, cada átrio conectado ao seu ventrículo correspondente, mas com aorta emergindo do ventrículo direito e tronco pulmonar do esquerdo. (Figura 1)

Essa condição resulta em duas circulações paralelas: a pulmonar e a sistêmica, pois o fluxo de retorno venoso das veias cavas acaba ganhando novamente a aorta e o retorno venoso pulmonar volta para os pulmões através do tronco pulmonar conectado ao ventrículo esquerdo. A manutenção da vida pós-natal só é possível na presença de defeitos septais associados ou canal arterial persistente, ou, na ausência destes, se for realizado um procedimento de septostomia atrial por cateter balão,

conhecido como “Rashkind”, em homenagem ao médico que o idealizou e o praticou pela primeira vez (Rashkind e Miller, 1966).



**Figura 1.** Coração com transposição das grandes artérias. Em a) observam-se as câmaras cardíacas da direita e aorta emergindo deste ventrículo e em b) câmaras cardíacas da esquerda, mostrando valva pulmonar em continuidade fibrosa com a valva mitral. O septo ventricular é íntegro e existe comunicação interatrial na fossa oval (\*). AD-átrio direito; VD-ventrículo direito; VE-ventrículo esquerdo; Ao-aorta; TP-tronco pulmonar.

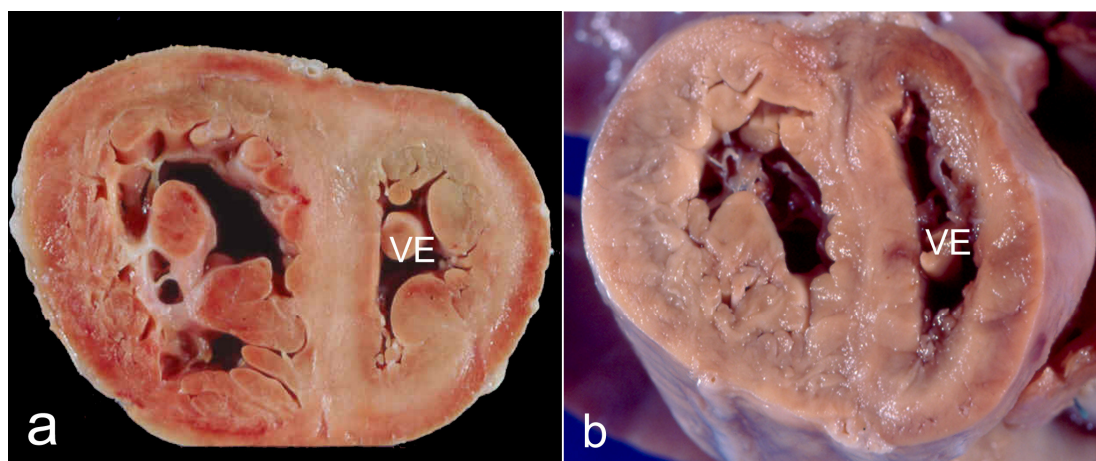
O ventrículo esquerdo então começa a perder massa pela sua conexão a um circuito de baixa resistência. Corações com transposição das grandes artérias e septo interventricular íntegro estudados por Huhta e colaboradores (1982) possuíam espessura das paredes bastante reduzidas já com 2 a 4 meses de vida. Na verdade, não se sabe ao certo em que momento esse ventrículo deixa de estar apto para suportar as pressões sistêmicas, uma vez que a espessura de suas paredes é apenas um dos determinantes desta capacidade (Ilbawi et al., 1987). Como será discutido mais abaixo, a geometria do septo ventricular também deve ser levada em

consideração.

### **5.1.3. A correção da transposição das grandes artérias pela técnica de Jatene e os problemas do preparo do ventrículo esquerdo**

Em 1975 o cirurgião Adib Domingos Jatene descreveu pela primeira vez um caso bem sucedido de correção da transposição, por meio da troca das grandes artérias e re-implante das coronárias. (Jatene et al, 1975; 1976) Essa cirurgia (também conhecida como “arterial switch operation”) foi um marco na Cardiologia Pediátrica mundial e tornou-se o procedimento de escolha para a correção dessa anomalia, quando não associada a lesões estenóticas da via de saída do ventrículo esquerdo. Após a operação, o ventrículo esquerdo passa a ser o ventrículo sistêmico e portanto tem que estar apto para suportar esse aumento de resistência. Os primeiros casos de sucesso apresentavam comunicação interventricular associada, o que permitia a equalização das pressões ventriculares e retardo na perda de massa do ventrículo esquerdo. Nos casos sem comunicação interventricular, entretanto, sabe-se que em poucas semanas ocorre perda da massa e alteração da geometria ventricular. Os aspectos utilizados para avaliar a possibilidade da correção cirúrgica primária são definidos a partir da ecocardiografia bidimensional e incluem o índice da massa ventricular esquerda por  $m^2$  de superfície corpórea e a orientação do septo ventricular (Sidi et al., 1987; Lacour-Gayet et al., 2001). Nas crianças com septo retificado ou abaulado para a direita à avaliação ecocardiográfica, a geometria é considerada favorável e o ventrículo esquerdo considerado apto

a suportar a circulação sistêmica. Porém, quando o septo desvia para a esquerda, o ventrículo esquerdo assume perfil em fenda no corte transversal (eixo curto do ecocardiograma bidimensional) e a geometria é considerada desfavorável para a correção cirúrgica pela técnica de Jatene. (Figura 2)



**Figura 2.** Cortes transversais dos ventrículos em dois corações com transposição completa das grandes artérias, mostrando: a) septo ventricular retificado e ventrículo esquerdo com espessura preservada da parede; b) septo deslocado para a esquerda, ventrículo esquerdo com redução da espessura da parede livre e perfil em fenda da cavidade. VE- ventrículo esquerdo

Após três semanas de vida, a maioria das crianças com transposição e septo ventricular íntegro já não apresentam condições para serem submetidas à correção pela técnica de Jatene. Portanto, idealmente a correção deve ser realizada no período neonatal mas, por problemas diversos como infecção perinatal, prematuridade e baixo peso, ou ainda encaminhamento tardio a centro cardiológico especializado, vários pacientes chegam já com o ventrículo esquerdo desadaptado. Em nosso país, pela grande extensão territorial e diversidade da qualidade de assistência médica, a última condição é particularmente freqüente.

Em 1977, Yacoub e colaboradores (1977) descreveram a cirurgia em dois estágios, o primeiro constituído pelo chamado “preparo” do ventrículo esquerdo por meio de bandagem do tronco pulmonar (imposição de sobrecarga pressórica) e criação de uma comunicação aorto-pulmonar central, mantidas por um período de tempo variando de um a 36 meses. Em 1989, Jonas e colaboradores (1989) introduziram o conceito de “preparo rápido” daquele ventrículo, verificando que os critérios ecocardiográficos de operabilidade eram obtidos em um período curto (mediana= 9 dias). Mais tarde ficou comprovado que 95% da massa ventricular era adquirida dentro dos sete primeiros dias após a bandagem (Boutin et al., 1994 a).

Alguns problemas relativos à bandagem foram relatados, principalmente naquela que permanecia por longos períodos, a saber: a) distorção da anatomia do tronco pulmonar, trazendo implicações na época da correção arterial; b) necessidade de ajustes do grau de bandagem ao longo do tempo, por gradiente não adequado ao treinamento ou então por comprometimento agudo da função ventricular. Nestas situações, uma nova toracotomia era necessária para adequar a bandagem pulmonar.

Além disso, uma preocupação mais recente é a evolução funcional do ventrículo treinado após anos de correção cirúrgica. Estudo ecocardiográfico de Boutin e colaboradores (1994 b) mostrou que, em comparação com a chamada cirurgia primária de troca arterial (sem preparo) os pacientes submetidos à bandagem pulmonar antes da cirurgia de Jatene exibiram sinais ecocardiográficos tardios de disfunção sistólica do ventrículo esquerdo por contratilidade abaixo dos limites normais. O questionamento

principal neste aspecto é o substrato morfológico dessa disfunção.

O mecanismo de ganho de massa ventricular ainda não está completamente esclarecido nessa faixa etária. Como anteriormente relatado, a hiperplasia de cardiomiócitos parece estar presente de forma substancial no crescimento dos mamíferos na fase inicial da vida. Todavia, não estava esclarecido se no preparo rápido por bandagem do tronco pulmonar a hiperplasia celular estava ou não associada à hipertrofia.

Com a finalidade de avaliar histologicamente a resposta do miocárdio ventricular submetido a situação semelhante à do preparo para cirurgia de Jatene, nos engajamos a um grupo cirúrgico do Instituto do Coração do HC FMUSP que já vinha estudando dispositivos de bandagem quanto à sua eficiência e possibilidade de controlar a magnitude da sobrecarga imposta (Assad et al., 2000; Caneo et al., 2001; Dias et al., 2002). Além disso, era intenção desses pesquisadores estudarem diferentes regimes de condicionamento ventricular, ou seja, com estímulo de sobrecarga constante e intermitente.

Dessa forma, foram estudados experimentalmente 21 cabritos jovens e hípidos (após o período de desmame), sendo 14 submetidos à bandagem ajustável do tronco pulmonar e sete controles.

Optou-se por estudar o ventrículo direito, comparável ao ventrículo esquerdo desadaptado na transposição das grandes artérias, pelo fato de ser subpulmonar e já com espessura da parede reduzida pela queda da resistência vascular pulmonar.

Eram conhecidas, no entanto, as limitações de tal escolha, uma vez



que a geometria desse ventrículo e o seu desempenho são diferentes em comparação ao ventrículo sistêmico normal, o morfológicamente esquerdo. Um exemplo bastante adequado dentro desse contexto são os pacientes com a chamada “transposição corrigida das grandes artérias”, nos quais o defeito anatômico corresponde à presença de conexões atrioventricular e ventrículo-arterial discordantes. Nessa situação, embora a aorta tenha origem do ventrículo morfológicamente direito, fisiologicamente a circulação comporta-se de maneira normal. Apesar disto, uma parcela desses doentes morrem entre a terceira e quinta décadas de vida devido à falência do ventrículo direito, que, apesar de apresentar-se hipertrofiado, não consegue se manter como ventrículo sistêmico (Kvasnicka e Vokrouhlicky, 1991). Entretanto, mesmo tendo ciência da relevância de tal fato, optou-se por realizar o experimento em animais hípidos, uma vez que a alteração cirúrgica da conexão ventrículo-arterial acarretaria alta porcentagem de mortalidade, inviabilizando a pesquisa.

#### **5.1.4. Protocolo experimental resumido e resultados comentados**

Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos: controle - C (n= 7), sem nenhum procedimento cirúrgico), estimulação contínua - EC (n= 7), e estimulação intermitente - EI (n= 7), - metodologia explicada abaixo.

A bandagem foi realizada cirurgicamente com colocação de um manguito hidráulico em forma de “U”, externamente revestido por silicone

rígido e internamente constituído por uma camada flexível de silicone, com capacidade de expandir-se e comprimir assim o lume do vaso de acordo com o volume injetado através do botão de insuflação. Este é conectado a um tubo extensor, também feito de silicone, e consiste de um reservatório circular feito de silicone auto-aderente, com base de metal, implantado no subcutâneo do animal, permitindo a insuflação ou o esvaziamento do anel ocluser por via percutânea (Braille Biomédica ®).

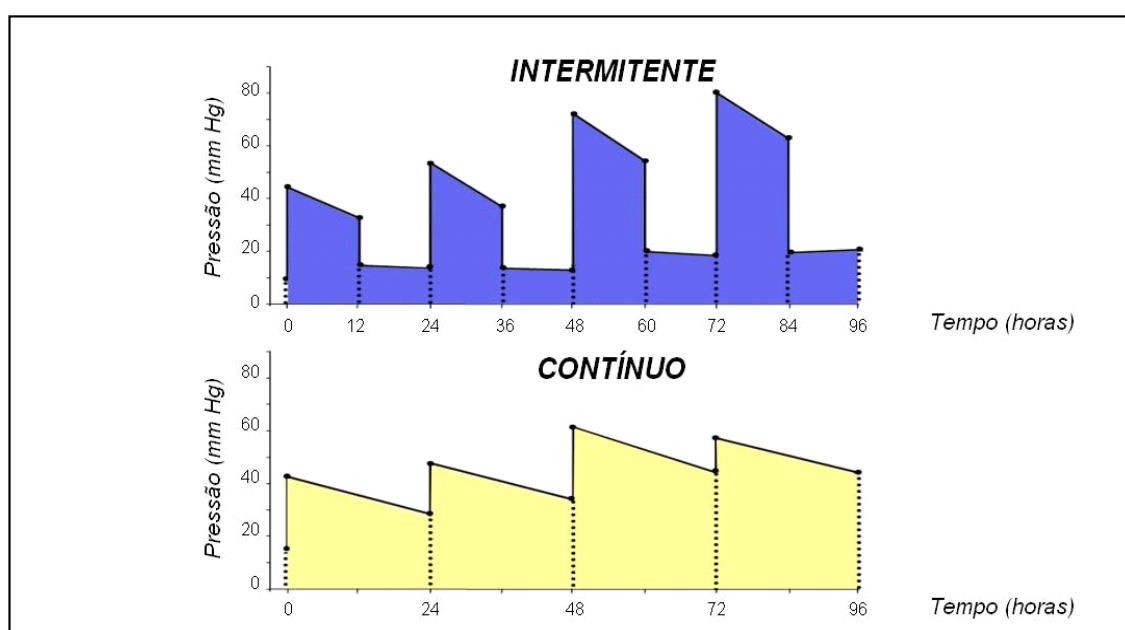
Os animais do grupo de estimulação contínua permaneceram em treinamento por um período de 96 horas, com insuflações progressivas a cada 24 horas, no limite máximo tolerado. No grupo de estimulação intermitente procedeu-se da mesma forma, porém deixando o dispositivo inflado apenas por 12 horas ao dia. Ao final deste tempo, o mesmo era esvaziado completamente e assim mantido por mais 12 horas, até a próxima insuflação, perfazendo um total de 48 horas de condicionamento. No grupo controle, os animais não foram operados.

Os cabritos submetidos à bandagem foram monitorados diariamente para medidas de pressões do ventrículo direito e respectivos gradientes entre o ventrículo e o tronco pulmonar, e também por ecocardiograma bidimensional para avaliação de espessuras das paredes cardíacas, orientação do septo ventricular e cálculo da massa ventricular direita.

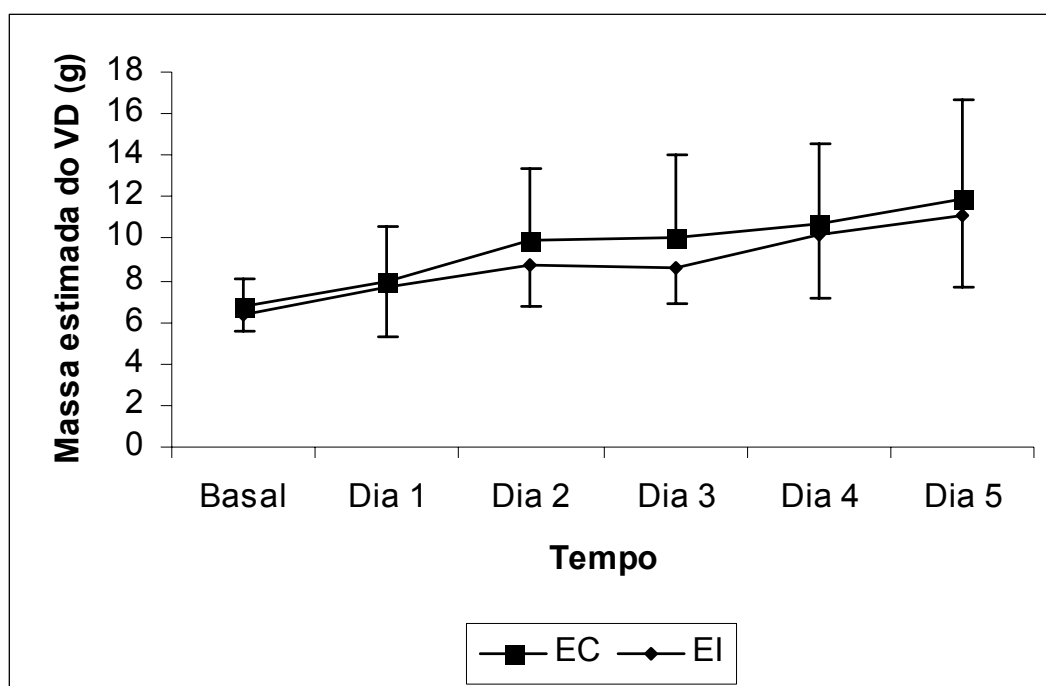
Ao término do treinamento os animais foram sacrificados e os corações estudados histologicamente para avaliação morfométrica dos diâmetros de cardiomiócitos e de seus núcleos, da fração de área de colágeno intersticial e do índice de proliferação celular por meio de

marcação imuno-histoquímica com anticorpo monoclonal anti-Ki67 - número de células marcadas a cada 2000 células contadas em cada parede estudada, sendo o septo ventricular avaliado em suas metades direita e esquerda separadamente.

As figuras 3 e 4 mostram respectivamente a evolução dos gradientes pressóricos entre ventrículo direito e tronco pulmonar e as curvas de ganho de massa ventricular estimada pela ecocardiograma bidimensional. Houve ganho significativo de massa muscular já a partir do segundo dia de experimento.



**Figura 3.** Painel superior: Gradiente entre ventrículo direito/tronco pulmonar (mm Hg) do grupo submetido a 12 horas de sobrecarga sistólica do ventrículo direito alternadas com 12 horas de descanso (Intermitente). Painel inferior: mesmo gradiente (mm Hg) no grupo submetido a sobrecarga sistólica contínua ventricular direita (Contínuo).

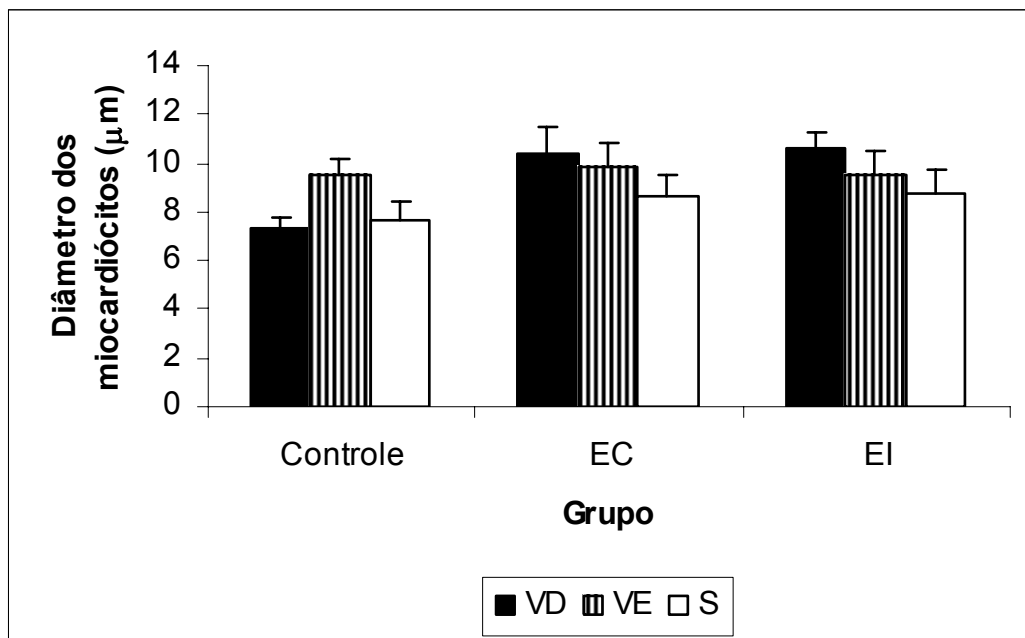


**Figura 4.** Massa estimada do ventrículo direito (VD) por ecocardiografia, em gramas (g), em relação aos dias de treinamento. EC= grupo de estimulação contínua; EI= grupo de estimulação intermitente.

A análise histológica revelou que ao final do experimento os diâmetros dos cardiomiócitos do ventrículo direito nos grupos estimulados por bandagem eram significativamente maiores do que nos animais controles, ultrapassando também os valores das outras paredes ventriculares (septo e ventrículo esquerdo) (Figura 5).

Esses resultados mostraram que efetivamente a hipertrofia celular é bastante precoce e não difere entre os grupos submetidos a regimes distintos de estimulação ventricular, nas condições descritas neste protocolo. Essa constatação tem importância quando se imagina a aplicação clínica do procedimento. Além da inovação do mecanismo de bandagem ajustável, também a possibilidade de um treinamento intermitente é interessante, sobretudo se o paciente desenvolver falência ventricular pela sobrecarga

contínua. Além disso, a julgar pelo princípio do preparo muscular em atletas, em que por treinamento intermitente os músculos esqueléticos desenvolvem a capacidade de suportar maior carga de trabalho por hipertrofia de suas fibras, coloca-se a hipótese de que talvez o ventrículo a ser preparado tenha melhor adaptação se for submetido a um preparo intermitente, uma vez que a oxigenação seria mais adequada no período em que o ventrículo não está submetido a aumento na pós-carga (Le Bret et al., 2005).



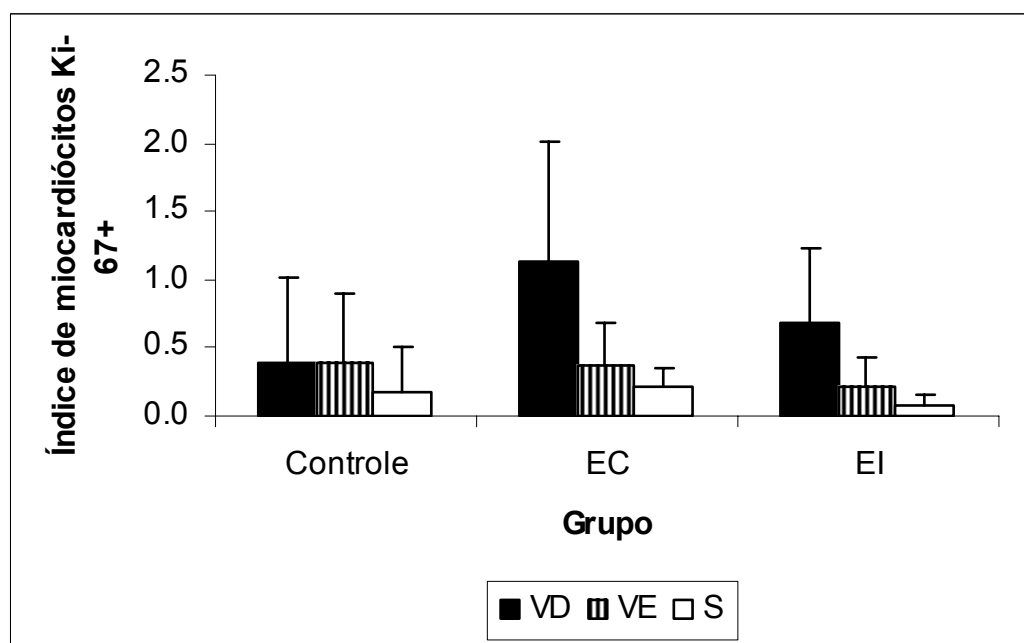
**Figura 5.** Média e erro-padrão do diâmetro transversal dos cardiomiócitos (micrômetros), segundo grupo e segmento do coração. VD-ventrículo direito; VE-ventrículo esquerdo; S-septo interventricular.

Quanto ao conteúdo de fibrose intersticial miocárdica, não se constataram diferenças significativas entre os grupos treinados e o controle. Sistemáticamente, o ventrículo direito apresentou maior fração de área de colágeno intersticial nos três grupos, o que é descrito como um achado

normal em diversas espécies de mamíferos (Caspari et al., 1975; Medugorac, 1980). Porém, o curto espaço de tempo do protocolo poderia não ter sido suficiente para demonstrar diferenças significativas entre o conteúdo de colágeno nos grupos treinados. Le Bret e colaboradores (2005), mantendo o estímulo pressórico ventricular por cinco semanas, detectaram maior fibrose intersticial miocárdica em animais submetidos aos regimes contínuo e progressivo, quando comparados aos treinados de forma intermitente. Uma proposta para futura investigação seria, após o treinamento em curto período, manter uma bandagem fixa para mimetizar a situação da resistência sistêmica adquirida após a cirurgia de troca arterial e então avaliar tardiamente o conteúdo de fibrose intersticial.

Interessantes foram também nossos achados em relação à marcação com Ki-67 para avaliar proliferação celular neste modelo.

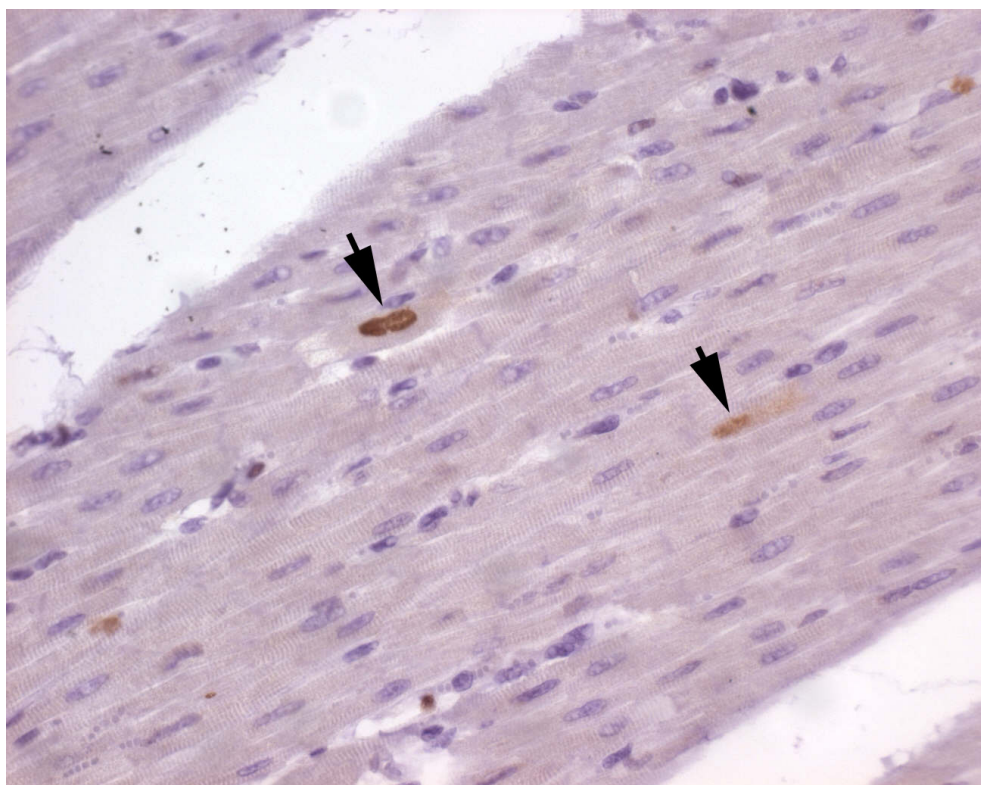
Encontramos maiores índices de células marcadas para Ki-67 (por imuno-histoquímica) no ventrículo direito dos animais submetidos à bandagem, em comparação às células do septo ventricular e do ventrículo esquerdo. Já nos controles, o ventrículo esquerdo mostrava índices maiores. Ventrículos direitos de animais submetidos a diferentes tipos de treinamento não mostraram diferenças significativas entre si quanto ao mesmo índice. (Figura 6)



**Figura 6.** Média e erro-padrão do índice de cardiomiócitos marcados com Ki-67 (número de células positivas/ 2000 cardiomiócitos, expresso em porcentagem). VD-ventrículo direito; VE-ventrículo esquerdo; S-septo interventricular.

Como anteriormente aqui discutido, existe muita controvérsia a respeito da capacidade de replicação dos cardiomiócitos após a morfogênese cardíaca. A dificuldade em se demonstrar figuras de mitose no miocárdio foi sempre motivo de grande ceticismo em relação à existência de proliferação. Outros marcadores teciduais têm sido utilizados (incorporação de timidina, bromodeoxiuridina e PCNA-antígeno nuclear de proliferação celular) e podem indicar síntese de DNA para citocinese, mas também para cariocinese e reparo celular (Alison, 1995; Soonpaa e Field, 1998).

A figura 7 demonstra a marcação imuno-histoquímica pelo Ki-67 em núcleos de cardiomiócitos.



**Figura 7.** Fotomicrografia de miocárdio submetido a reação de imunohistoquímica para marcação com Ki-67. As setas mostram núcleos positivos de cardiomiócitos. Aumento da objetiva- 40X; contra-coloração pela hematoxilina de Harris.

O Antígeno Ki-67 tem similaridade com a DNA topoisomerase II, enzima considerada como marcadora específica de replicação da célula. Este antígeno nuclear aparece principalmente no final da fase S do ciclo celular e como marcador de proliferação é preferível à timidina, bromodeoxiuridina e ao PCNA uma vez que não está envolvido com reparo celular nem com ploidia (Gerdes et al., 1984; Soonpaa e Field, 1998).

A detecção desse antígeno tem sido utilizada na área da Cardiologia e interpretada como marcador de proliferação. Leri e colaboradores (2001), estudando cães com insuficiência cardíaca congestiva induzida por marca-

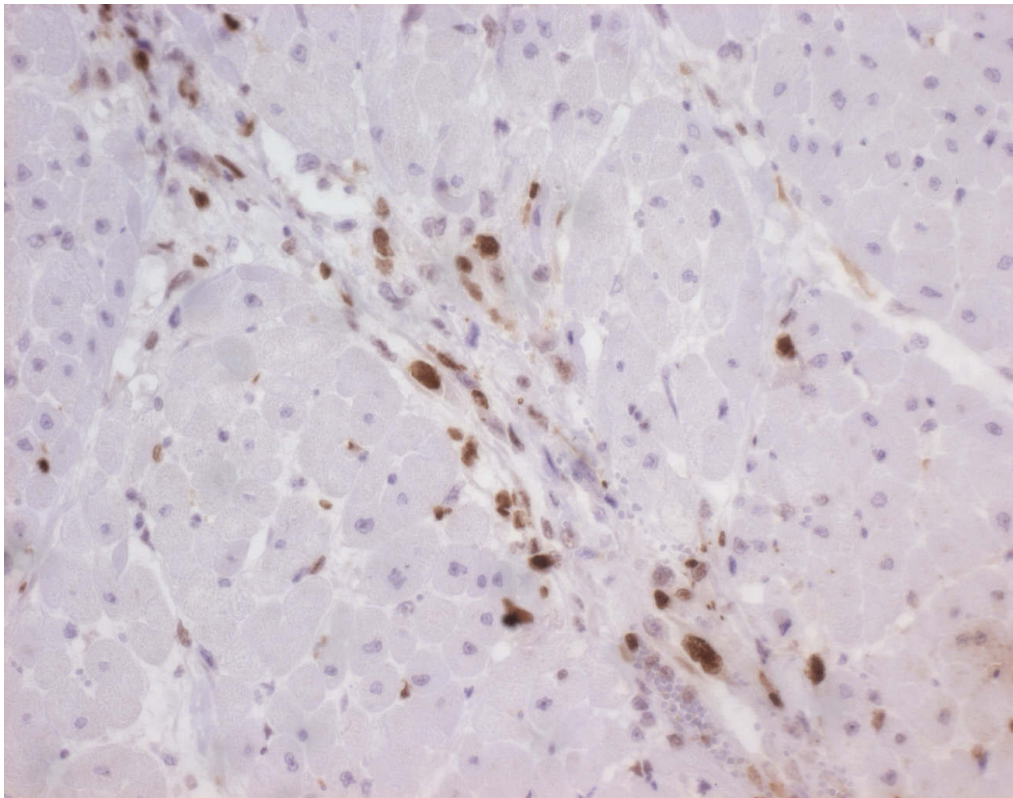


passo, observaram expressão simultânea do Ki-67 e da telomerase, a qual é uma enzima que garante a replicação do DNA uma vez que mantém intactos os telômeros durante a multiplicação celular. A respeito do questionamento sobre a possibilidade de as células marcadas estarem apenas aumentando a ploidia, são interessantes os achados de Olivetti e colaboradores (1996) que, estudando mais de 200 corações humanos normais e doentes (com hipertrofia ou doença coronariana), verificaram que a quantidade de cardiomiócitos mono, bi, tri e tetranucleados se mantém constante a despeito da alteração patológica de isquemia ou hipertrofia.

É também possível que a capacidade de proliferação de cardiomiócitos seja dependente da idade. O experimento aqui relatado foi feito em animais jovens, embora já fora do período neonatal. Está em curso no Instituto do Coração um estudo com o desenho semelhante de protocolo experimental, porém utilizando animais adultos da mesma espécie. A comparação dos resultados com os desse trabalho trará novas e interessantes informações a respeito dessa questão.

Falta ainda a avaliação do processo de apoptose celular neste modelo de aquisição de massa ventricular, uma vez que ela costuma aparecer paralelamente à proliferação celular em diferentes situações, particularmente no processo de organogênese no período embrionário. Investigação realizada em corações com cardiomiopatia dilatada verificou que a capacidade de replicação cardiomiócitos vem acompanhada de apoptose e que o balanço entre ambos os processos pode ser determinante da evolução da doença (Zorc et al., 2003).

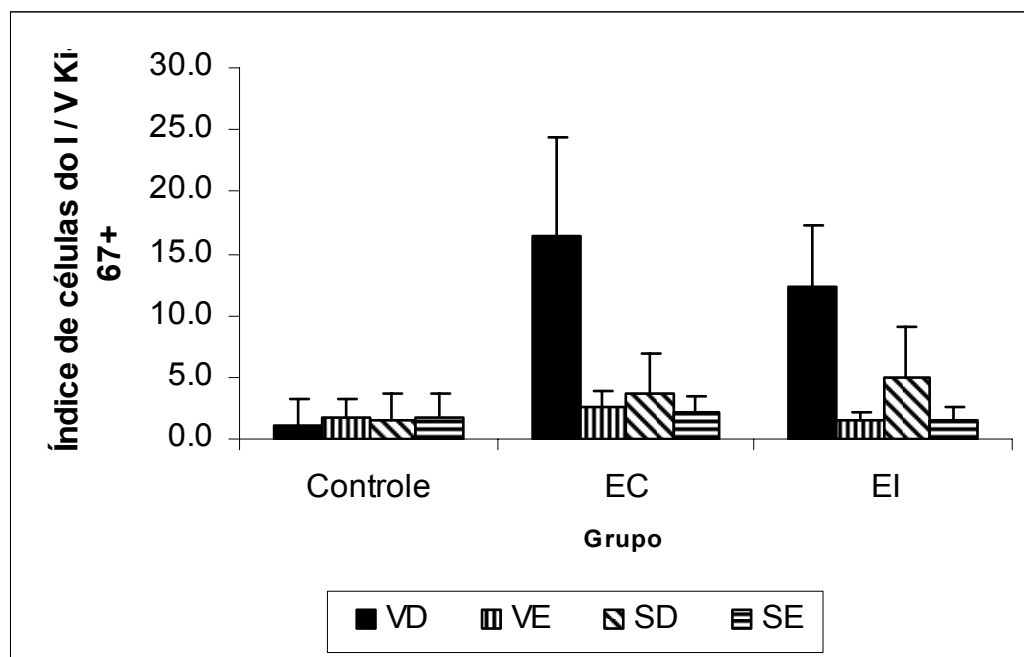
Em nosso experimento, a marcação de células não contráteis do miocárdio foi também observada, superando em número os cardiomiócitos marcados. Não sendo possível distinguir entre tipos celulares neste compartimento do tecido, tratamos essas células como pertencentes ao interstício e vasos. (Figura 8)



**Figura 8.** Fotomicrografia de miocárdio submetido a reação de imunohistoquímica para marcação com Ki-67, onde se observam numerosos núcleos positivos pertencentes a células do interstício e vasos. Aumento da objetiva- 40X; contra-coloração pela hematoxilina de Harris.

O mesmo índice foi calculado (número de células positivas a cada 2000 células contadas), mostrando em ambos os grupos submetidos à bandagem valores maiores em ventrículo direito do que nos outros segmentos avaliados. Interessante foi o achado, tanto nos animais sob

estimulação contínua quanto intermitente, que a metade direita do septo ventricular mostrava maior número de células marcadas em relação à metade esquerda e também em relação ao ventrículo esquerdo. (Figura 9)



**Figura 9.** Média e erro-padrão do índice de células do intersticial marcadas com Ki-67 (número de células positivas/ 2000 células, expresso em porcentagem). VD-ventrículo direito; VE-ventrículo esquerdo; SD-septo direito; SE-septo esquerdo; I/V-interstício e vasos.

Este achado demonstra que o septo ventricular se comporta de forma distinta em suas metades, corroborando alguns achados anatômicos e ecocardiográficos que procuram demonstrar essa diferença. Descrita há algum tempo, a linha brilhante visível no septo ventricular ao ecocardiograma bidimensional mostrou ser divisória de dois compartimentos que se comportam distintamente do ponto de vista funcional (Boettler et al., 2005). Nosso achado reforça também a descrição prévia de duas camadas de feixes musculares no septo, a partir de estudos de orientação das fibras (Mac Lean et al., 1989) ou ainda por dissecação romba, de acordo com

Torrent-Guasp e colaboradores (2001), que postulam ser o coração constituído por uma única banda muscular dobrada sobre si mesma de forma helicoidal. Estes últimos autores têm tido seu trabalho questionado pelo fato de criarem artificialmente um plano de clivagem no miocárdio.

Quanto à qualidade das células intersticiais marcadas, como discutido anteriormente, não foi possível com a metodologia utilizada distinguir se eram fibroblastos, miofibroblastos ou células endoteliais. A dupla marcação imuno-histoquímica permitiria avaliar se a proliferação foi maior entre as células da matriz ou entre as endoteliais. Essa distinção se revela de suma importância, uma vez que fibroblastos em excesso podem se diferenciar em fibrócitos e expandir a matriz extracelular às custas de fibrose, o que tardiamente acarretaria disfunção miocárdica. Por outro lado, a proliferação de células endoteliais indicaria aumento numérico de capilares, necessários para manter a nutrição da massa miocárdica em expansão. Não se sabe ao certo qual seria a taxa ideal de incremento tanto da matriz extracelular quanto dos vasos na situação do miocárdio treinado para suportar a resistência sistêmica. Tomanek e Torry (1994) observaram que o aumento de capilares miocárdicos na hipertrofia depende de diversos fatores, como idade, tipo de modelo experimental e duração da hipertrofia. Aparentemente, modelos de sobrecarga de volume são acompanhados por angiogênese maior e mais rápida.

Em nosso modelo, é possível que o estímulo de sobrecarga pressórica induza ainda a diferenciação de células miocárdicas progenitoras em cardiomiócitos. Neste contexto, um contingente das células intersticiais

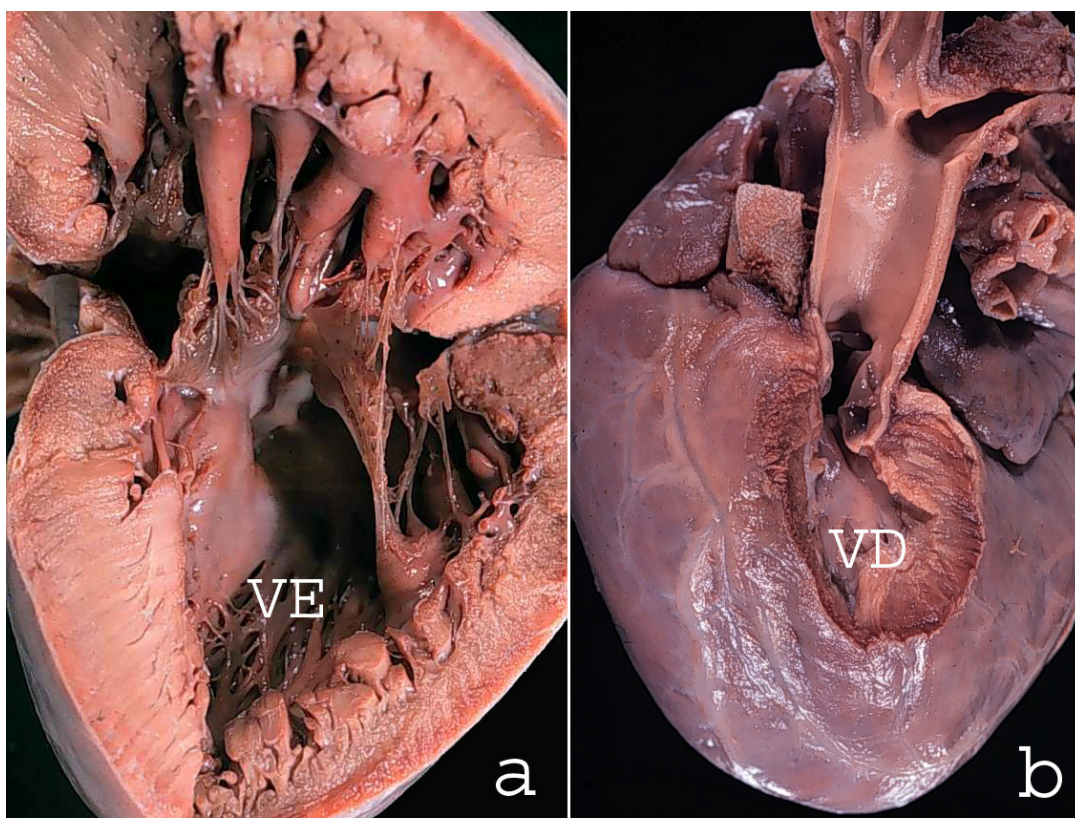
positivas para marcador de proliferação poderia corresponder a essa população de precursores. Esse aspecto merece investigação futura.

## **5.2. O remodelamento em cardiopatias congênitas**

### **5.2.1. Corações com conexão atrioventricular univentricular**

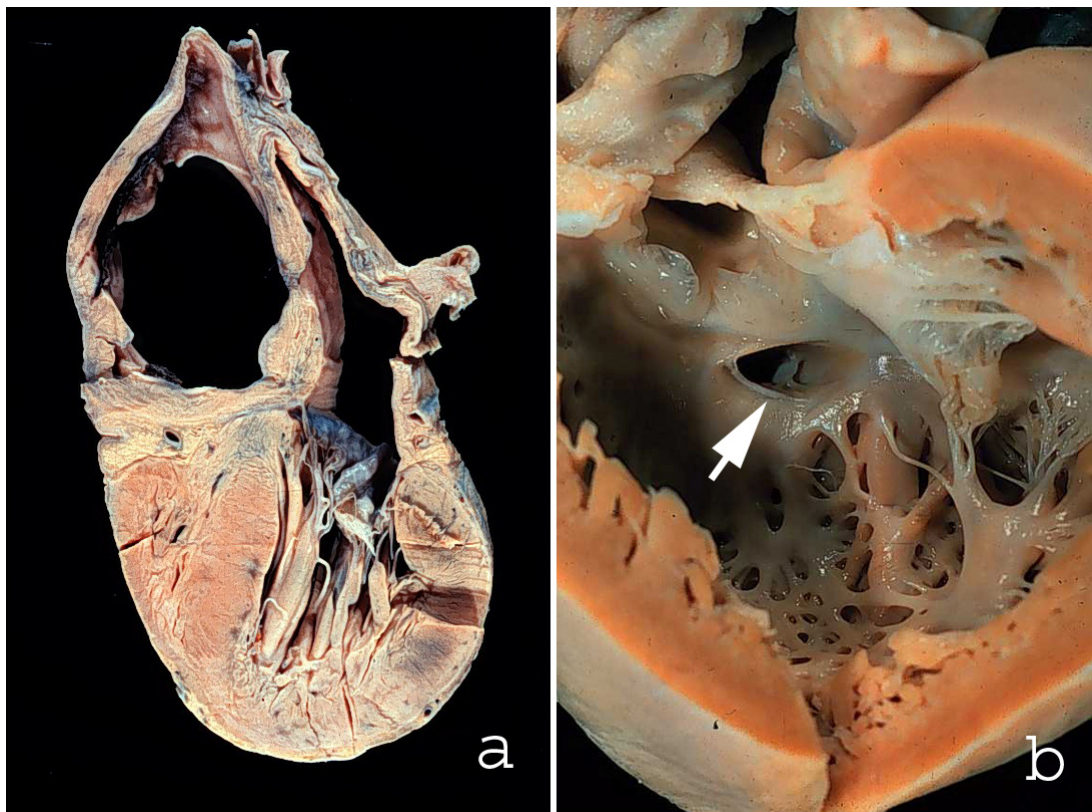
Dentre as cardiopatias congênitas este é um grupo de anomalias que tem merecido grande atenção, não só pela complexidade da sua anatomia, como também pelas controvérsias em relação à sua nomenclatura e, mais recentemente, pelos inúmeros problemas de abordagem clínica e operatória.

Chamamos de conexão atrioventricular univentricular a uma situação onde apenas um dos ventrículos estabelece conexão com os átrios, manipulando hemodinamicamente todo o fluxo sanguíneo advindo deles. Pode ocorrer quando ambos os átrios abrem-se diretamente neste ventrículo- dupla via de entrada ventricular- ou quando apenas um se abre ali, estando o outro totalmente desconectado da massa ventricular- ausência de conexão atrioventricular. (Figuras 10 e 11) Neste último caso, um átrio apresenta assoalho muscular completo e o seu fluxo de retorno venoso, quer seja sistêmico ou pulmonar, acaba atingindo o outro átrio através de uma comunicação interatrial.



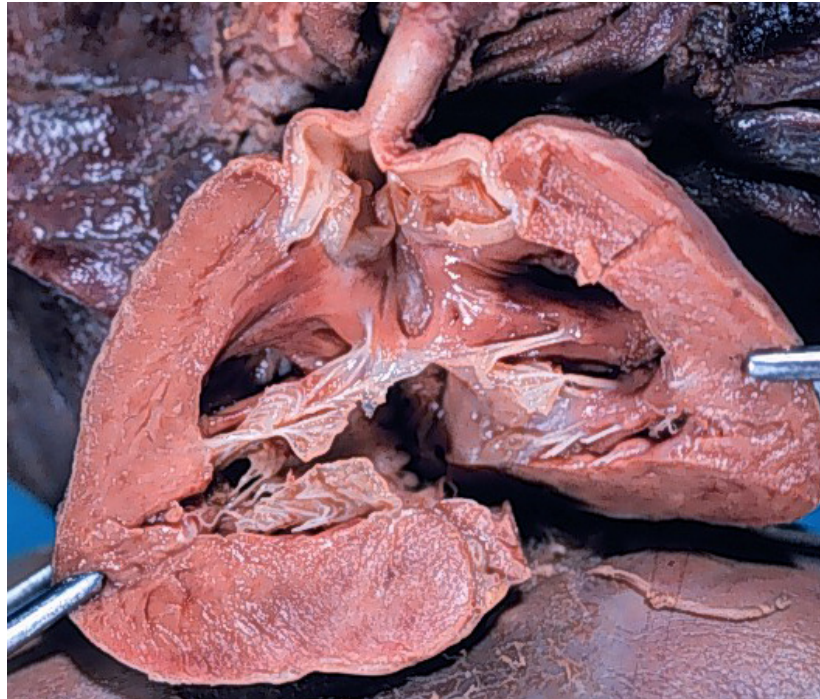
**Figura 10.** Cortes em coração com dupla via de entrada ventricular, mostrando em a) o ventrículo esquerdo principal recebendo as duas valvas atrioventriculares e em b) o ventrículo rudimentar morfologicamente direito, de onde se origina a aorta (conexão ventrículo-arterial discordante). VD-ventrículo direito; VE-ventrículo esquerdo.

Corações com este padrão de anatomia apresentam, na maioria das vezes, dois ventrículos, sendo um deles chamado de principal e o outro de rudimentar, por ser incompleto e não ter via de entrada. O ventrículo principal e o rudimentar mostram morfologia complementar, ou seja, quando o principal é morfologicamente esquerdo o rudimentar é morfologicamente direito e vice-versa (Aiello et al., 1991; Ebaid et al., 1994; Cavalini et al., 1999). Entre esses ventrículos existe uma comunicação, cujo tamanho e localização podem variar.



**Figura 11.** Espécimes anatómicos com atresia tricúspide clássica. Em a) observa-se visão anterior de corte do tipo “quatro câmaras” exibindo a ausência de conexão atrioventricular à direita e ventrículo principal esquerdo; em b) observa-se ventrículo esquerdo dilatado e aberto pela via de saída, à qual está conectada a aorta. A seta mostra a comunicação interventricular.

Considerável variação é ainda observada em relação à posição do ventrículo rudimentar, o que influencia a posição tanto do nó atrioventricular como a distribuição do feixe de condução do estímulo elétrico do coração. Mais raramente a massa ventricular é constituída por um ventrículo solitário de morfologia indeterminada que recebe então o nome de ventrículo único verdadeiro. (Figura 12)



**Figura 12.** Coração com dupla via de entrada através de valva atrioventricular comum abrindo-se em ventrículo único de morfologia indeterminada. Não há ventrículo rudimentar.

A todos os aspectos descritos acima, soma-se ainda variabilidade no tipo de conexão ventrículo-arterial. Esta é chamada de concordante quando a aorta emerge do ventrículo morfologicamente esquerdo e o tronco pulmonar do ventrículo morfologicamente direito, independentemente de cada um desses ventrículos ser o principal ou o rudimentar. A apresentação mais comum é a do ventrículo esquerdo principal, vindo a seguir o ventrículo direito e mais raramente o ventrículo de morfologia indeterminada.

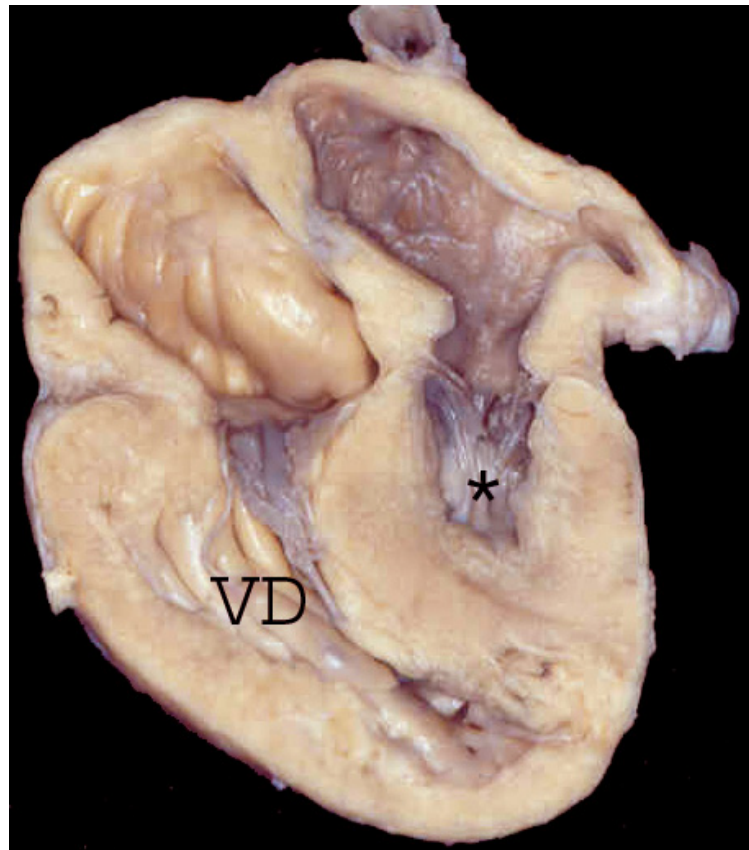
Várias lesões associadas têm sido descritas, dentre elas a estenose pulmonar infundibular e valvar, a estenose subaórtica, a estenose ou insuficiência de uma das valvas atrioventriculares, a coarctação do arco aórtico, etc.



Foi motivo de grande discussão no passado a maneira de denominar essas anomalias. Uma vez que o ventrículo principal manipula todo o fluxo de retorno venoso e é o responsável pelo débito cardíaco, qualquer coração pertencente a esse grupo de anomalias era chamado de “ventrículo único” ou de “coração univentricular”. Deanfield e seus colaboradores da escola Européia de Cardiologia (1982), todavia, questionaram este conceito, uma vez que existiam na grande maioria das vezes dois ventrículos, embora um fosse rudimentar. Discussões acaloradas se seguiram na literatura sobre qual característica morfológica permitiria sem questionamentos a distinção de uma câmara como sendo um “ventrículo” (Van Praagh et al., 1982; Anderson et al., 1983). Ao final, o entendimento geral foi de que morfológicamente se caracterizam dois ventrículos, mas que a conexão com os átrios é univentricular e assim têm sido designados os corações citados.

Além dessa anomalia, outras cursam com ventrículo único funcional, como por exemplo a atresia aórtica e a atresia pulmonar com septo íntegro. Esses corações têm em comum o fato de que, embora a conexão atrioventricular seja normal (biventricular), funcionalmente apenas um dos ventrículos é responsável pela manutenção do débito cardíaco. (Figura 13)

Alguns autores denominam essa situação clínica como “corações com fisiologia univentricular”, reconhecendo, todavia, as diferenças morfológicas entre as anomalias. Esse tipo de abordagem não pretende substituir a nomenclatura morfológica dos defeitos, cujo conhecimento detalhado é fundamental, mas proporcionar um tipo de tratamento paliativo comum a todos.



**Figura 13.** Coração seccionado em corte tipo “quatro câmaras”, evidenciando conexão atrioventricular biventricular (cada átrio conectado a um ventrículo) e ventrículo esquerdo hipoplásico (\*) em virtude da existência de atresia valvar aórtica (não mostrada). O ventrículo direito (VD) é hipertrófico.

A principal opção cirúrgica para o tratamento desses tipos de defeitos cardíacos é a técnica de Fontan ou uma de suas modificações. Descrita inicialmente em 1971 por Fontan e Baudet para correção da atresia tricúspide clássica ou ausência de conexão atrioventricular direita com ventrículo principal esquerdo, consiste na realização de uma derivação cavopulmonar total, de forma que as circulações pulmonar e sistêmica são colocadas em série e o ventrículo principal assume a circulação sistêmica, tendo papel vital na evolução dos pacientes a longo prazo.

A maioria das experiências relatadas na literatura sobre a evolução tardia de pacientes submetidos à cirurgia de Fontan clássica ou modificada demonstra a ocorrência contínua de eventos mórbidos e óbito, sendo suas causas multifatoriais (Gentles et al., 1997; De Leval, 1998). Dentre elas, destacam-se: disfunção sistólica e distólica do ventrículo principal; ocorrência de enteropatia perdedora de proteínas; congestão sistêmica por pressão pulmonar aumentada e fenômenos tromboembólicos (Freedom et al., 2000).

Como anteriormente relatado em corações com atresia tricúspide clássica (Sanchez-Quintana et al., 1999), a orientação espacial anormal das fibras miocárdicas nas diferentes camadas da parede poderia ser intrínseca da anomalia. Outras explicações incluem o papel das sobrecargas de pressão e de volume, bem como da hipoxemia crônica, no remodelamento miocárdico e conseqüente deterioração das propriedades contráteis e diastólicas do ventrículo principal.

A hipertrofia miocárdica excessiva detectada clínica e anatomopatologicamente tem sido indicada como fator de risco para evolução desfavorável após cirurgia de Fontan (Caspi et al., 1990; Freedom et al., 1993). Sua maior ocorrência se dá em corações com conexões ventrículo-arteriais discordantes e bandagem prévia do tronco pulmonar para proteger a circulação pulmonar do hiperfluxo. Relação volume/massa normal no período pré-operatório foi fator preditivo de evolução clínica favorável em pacientes após cirurgia de Fontan, quando comparados àqueles que apresentavam tal relação aumentada (Akagi et al., 1992).

A morfologia do ventrículo principal em corações com “fisiologia univentricular” tem sido cogitada para explicar evoluções clínicas desfavoráveis. Alguns autores observaram que a presença de ventrículo principal morfológicamente direito está mais relacionado com óbito por insuficiência cardíaca congestiva no pós-operatório da cirurgia de Fontan (Khairy et al., 2008). De fato, acredita-se que o ventrículo direito tenha pior desempenho quando é responsável pela circulação sistêmica por longos períodos de tempo, situação presente clinicamente nos casos de transposição corrigida das grandes artérias e também naqueles com transposição simples submetidos a cirurgias no plano atrial pelas técnicas de Mustard ou Senning (Duncan e Mee, 2005).

Após a anastomose atriopulmonar ou cavopulmonar, ocorre resolução abrupta da sobrecarga de volume mas a hipertrofia presente no pré-operatório não reduz concomitantemente, e a relação volume/massa aumenta, trazendo prejuízo para o enchimento ventricular na diástole. Alterações na função diastólica ventricular foram extensamente documentadas nesses pacientes (Akagi et al., 1992; Vitarelli et al., 2005). Alterações regionais na contração ventricular foram também relatadas por estudos de ecocardiografia com Doppler tecidual e ressonância nuclear magnética (Penny et al., 1991; Fogel et al., 1995; Vogel et al., 2000; Vitarelli et al., 2005).

Em um estudo histológico de corações com atresia tricúspide clássica, Ho e colaboradores (1996) detectaram expansão da matriz extracelular em comparação com controles normais.

Com o aumento das evidências clínicas de disfunção diastólica e de modificações regionais da contratilidade, resolvemos analisar o miocárdio em corações com a apresentação mais freqüente da conexão atrioventricular univentricular (a atresia tricúspide clássica), com ênfase na quantificação da matriz, vascularização e topografia das principais alterações.

#### **5.2.1.1. O miocárdio na atresia tricúspide clássica (Anexo 3)**

**Dados do trabalho de Tese de Doutorado da aluna Maria Angélica Binotto (2001)– Financiamento FAPESP – 98/07636-6 - Binotto MA, Higuchi ML, Aiello VD. Left ventricular remodeling in hearts with tricuspid atresia: morphologic observations and possible basis for ventricular dysfunction after surgery. J Thorac Cardiovasc Surg 2003;126:1026-32.**

##### **Trabalho apresentado em Congressos internacionais:**

- **III World Congress of Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery, 2001, Toronto - Canadá. Cardiol Young 2001;11:144-5.**
- **XXII Congress of the European Society of Cardiology, 2000, Amsterdam. Eur Heart J 2000;21:614.**

Foram estudadas 59 peças anatômicas, sendo 32 corações com atresia tricúspide clássica e 27 controles. Os grupos foram pareados quanto às idades (média= 9,57 e 9,58 meses e mediana= 2,5 e 3,0 meses respectivamente nos grupos com atresia tricúspide e controle).

Nos espécimes com defeitos congênitos, as conexões ventrículo-arteriais eram concordantes em 20 casos, discordantes em 10, tipo via de saída única através de tronco arterial comum em um, e do tipo dupla via de saída de ventrículo esquerdo no caso remanescente. Vinte pacientes haviam sido submetidos a cirurgia: anastomose sistêmico-pulmonar tipo Blalock-Taussig em nove casos; bandagem do tronco pulmonar em três; bandagem associada a istmoplastia aórtica em dois; cirurgia de Fontan em cinco casos

e cirurgia de Damus-Kaye-Stansel associada a cirurgia de Glenn bidirecional em um caso.

Após medidas macroscópicas do diâmetro da comunicação interventricular (nos corações malformados), de espessura das paredes ventriculares e dos comprimentos das vias de entrada e de saída nos dois grupos, o miocárdio foi amostrado para análise histológica. Foram colhidos fragmentos transmuralis da via de entrada, do ápice e da via de saída do ventrículo esquerdo em ambos os grupos. A comunicação interventricular foi considerada restritiva quando seu diâmetro era menor que o diâmetro da grande artéria conectada à câmara rudimentar.

A avaliação dos diâmetros de cardiomiócitos (medida direta) e da fração de área ocupada por fibrose e pelos núcleos dos cardiomiócitos (sistema teste de pontos), foi realizada em cortes histológicos corados respectivamente pela hematoxilina-eosina e pelo tricrômico de Masson. Áreas de fibrose estrelada e de fibrose ao redor de arteríolas maiores de 30 micrômetros de diâmetro foram excluídas da análise.

Já a quantificação de capilares foi possível pela marcação imuno-histoquímica das células endoteliais pelo anticorpo anti-fator de von Willebrand.

As amostras de miocárdio das três regiões estudadas foram divididas em metades subendocárdica e subepicárdica.

Os resultados das medidas macroscópicas mostraram comprimento da via de saída ventricular maior nos corações com atresia tricúspide quando comparados aos normais, denotando aumento da cavidade. Não

houve diferença estatisticamente significativa entre as espessuras das paredes ventriculares medidas nas vias de entrada e saída (Tabela 1). Estes achados são compatíveis com hipertrofia ventricular excêntrica, ou seja, aumento da cavidade sem aumento da espessura da parede.

**Tabela 1.** Medidas macroscópicas obtidas nas vias de entrada e saída do ventrículo esquerdo (cm), comparando espécimes com atresia tricúspide e controles (média  $\pm$  desvio padrão, mediana).

	MEDIDAS MACROSCÓPICAS (cm)		
	ATRESIA TRICÚSPIDE	CONTROLES	p (teste estatístico)
Espessura da parede na via de entrada	0,68 $\pm$ 0,17 0,70	0,69 $\pm$ 0,22 0,70	0,82 (teste t)
Espessura da parede na via de saída	0,70 $\pm$ 0,21 0,70	0,70 $\pm$ 0,22 0,60	0,94 (Mann-Whitney)
Comprimento da via de entrada	3,19 $\pm$ 0,76 3,10	2,97 $\pm$ 0,63 2,90	0,24 (teste t)
Comprimento da via de saída	3,69 $\pm$ 0,84 3,55	3,05 $\pm$ 0,63 2,95	0,005 (teste t)

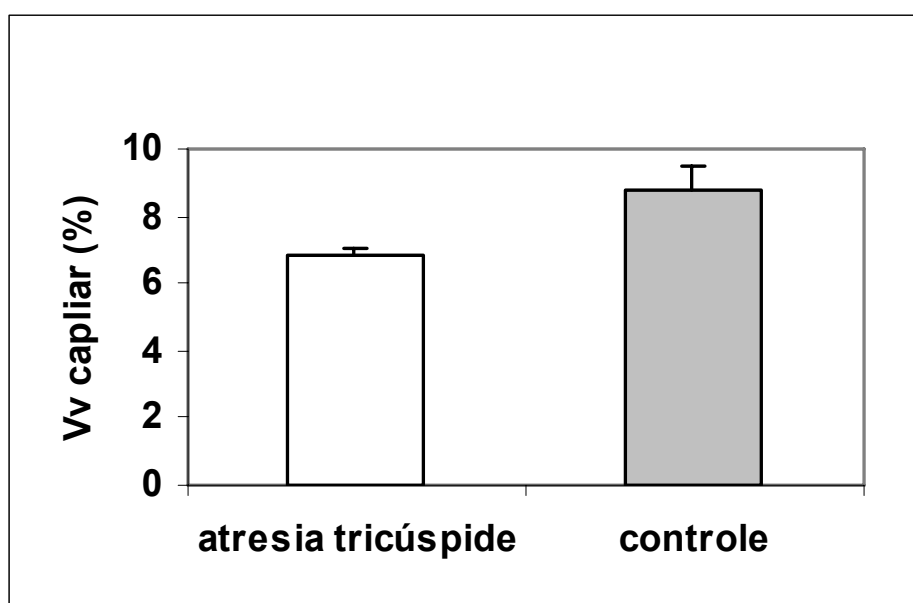
Comparações realizadas nos corações malformados separados de acordo com o tipo de conexão ventrículo-arterial (concordante versus discordante) não mostraram diferenças significativas quanto às medidas macroscópicas realizadas no ventrículo esquerdo.

Também não existiram diferenças nos diâmetros dos cardiomiócitos dos corações malformados em relação aos controles. Por outro lado, a fração de volume dos núcleos dos cardiomiócitos foi significativamente menor nos corações com atresia tricúspide quando comparados aos normais. Considerando-se que o ventrículo esquerdo dos corações



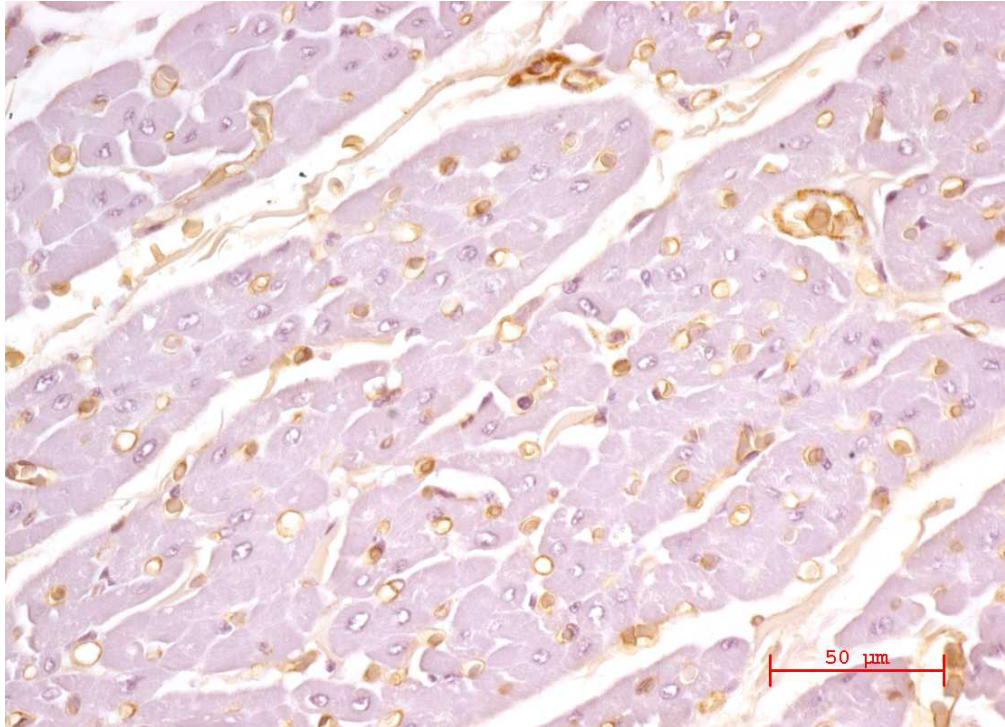
malformados é dilatado, é razoável supor que há aumento do cardiomiócito no eixo longitudinal, como o encontrado em outras situações de hipertrofia excêntrica secundárias à sobrecarga de volume. A menor densidade de volume dos núcleos em relação à de cardiomiócitos sugere que o estiramento longitudinal destes afastou os núcleos, corroborando a hipótese de se estar frente a um padrão de hipertrofia excêntrica.

O estudo da fração de volume dos capilares revelou menor densidade de vasos nos corações malformados em relação aos controles normais pareados para a idade (Figura 14).



**Figura 14.** Média e desvio padrão da variável “fração de volume de capilares miocárdicos” (Vv) em corações com atresia tricúspide e em controles.

A figura 15 mostra corte histológico de miocárdio submetido à reação de imuno-histoquímica para marcação de capilares.

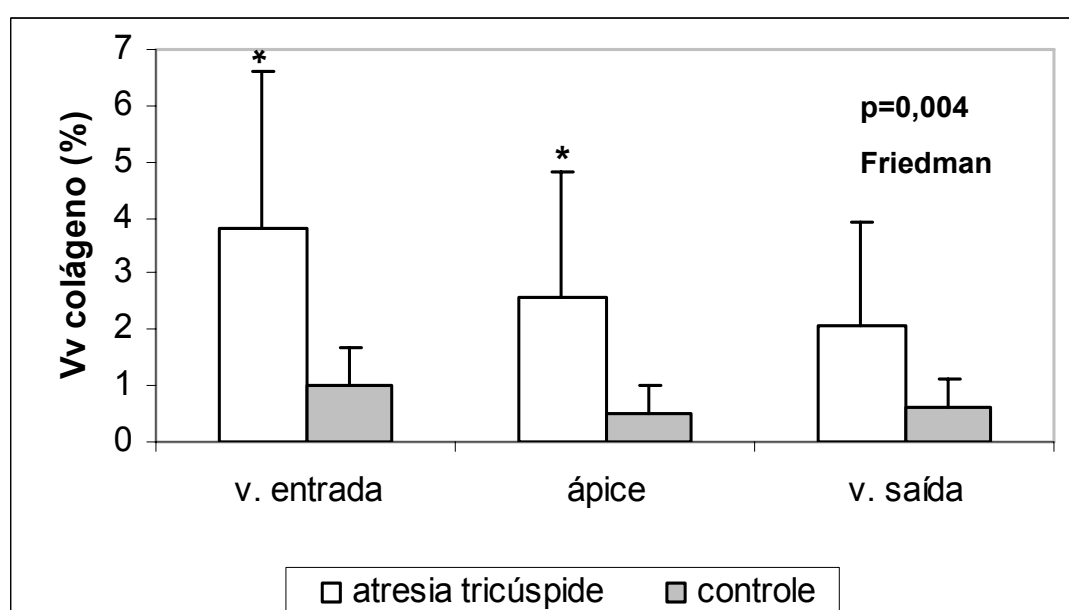


**Figura 15.** Fotomicrografia de miocárdio do ventrículo esquerdo de coração com atresia tricúspide clássica, demonstrando grande número de capilares marcados por meio de reação de imuno-histoquímica contra o fator de von Willebrand. Aumento da objetiva-40X.

Esse achado está em desacordo com o descrito em modelo experimental de sobrecarga volumétrica já citado anteriormente (Carabello et al., 1991), mas é compatível com o descrito nas sobrecargas de pressão (Rakusan et al., 1992). A deficiência numérica de capilares pode levar a isquemia relativa.

A quantificação da área ocupada por fibrose revelou interessantes aspectos que merecem discussão. Assim como no trabalho de Ho e

colaboradores (1996), evidenciamos maior fração de área de fibrose nos corações malformados. Todavia, nossos estudos indicaram haver diferenças significativas entre as três regiões estudadas nos corações malformados, obtendo-se valores maiores nas amostras da via de entrada e do ápice do que na via de saída ventricular. (Figura 16)



**Figura 16.** Média e desvio-padrão da variável “fração de área de fibrose intersticial” (%) em ventrículo esquerdo de corações com atresia tricúspide e em controles, de acordo com a região amostrada. v.entrada- via de entrada; v.saída- via de saída; Friedman- teste não paramétrico de análise de variância para medidas repetidas.

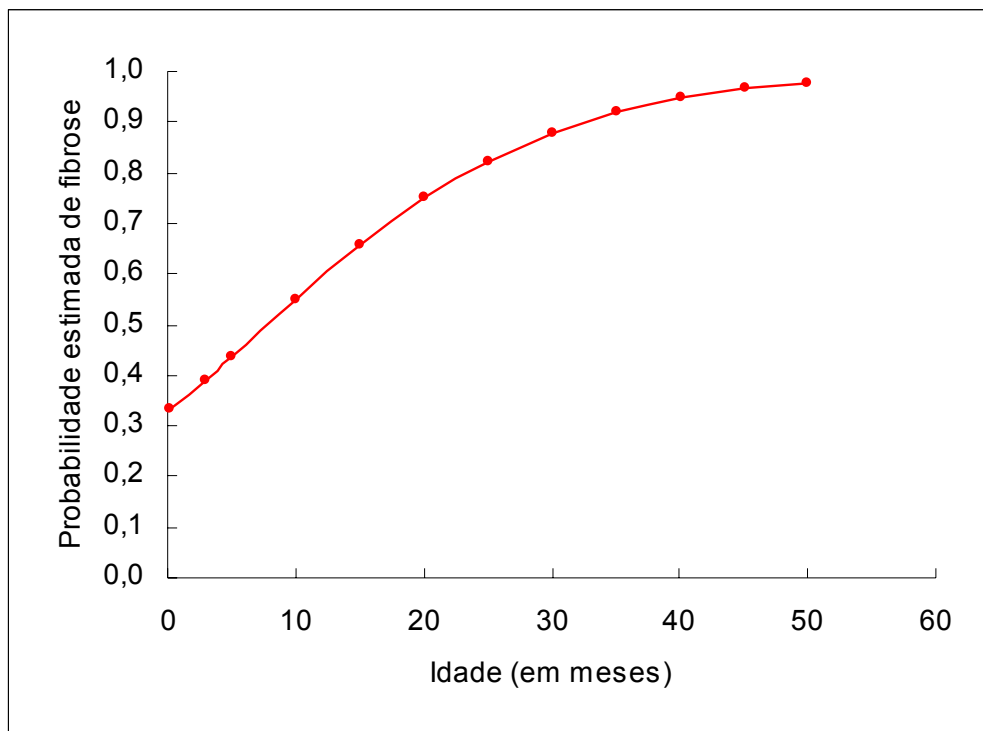
Mais uma vez, os achados de morfometria histológica estão em desacordo com os descritos na maioria dos modelos da hipertrofia concêntrica, onde não se descreve expansão da matriz extracelular. Todavia, a existência de diferenças regionais na concentração de fibrose pode explicar as alterações focais de contratilidade e relaxamento

demonstradas por métodos de imagem em corações com fisiologia univentricular (Penny et al., 1991; Fogel et al., 1995).

O modelo de regressão logística aplicado para testar associação com fibrose aumentada incluiu idade, tipo de conexão ventrículo-arterial, presença de comunicação interventricular restritiva, presença de coarctação de aorta, fisiologia de fluxo pulmonar reduzido (como indicador de hipóxia) e cirurgia prévia. O resultado desta análise sugeriu ser a idade a única variável associada com o aumento da probabilidade de ocorrência de fibrose intersticial, definida como valor de fração de área de colágeno intersticial maior que 3%. Através dos valores de sensibilidade e especificidade desse modelo foi possível determinar que crianças acima de 3 meses de idade têm chance 8,3 vezes maior de apresentar aumento da quantidade de fibrose em relação às menores.

Além disso, verificou-se que por volta dos 60 meses de idade a probabilidade do encontro de fibrose intersticial miocárdica se aproxima dos 100%. (Figura 17)

Nas amostras da metade subendocárdica do miocárdio, a fibrose ocupava maior espaço do que na metade subepicárdica. Este aspecto está de acordo com a maior susceptibilidade dessa região à isquemia, descrita em corações com miocardiopatia dilatada e em insuficiência cardíaca. Estudos experimentais sobre o crescimento fisiológico em ratos demonstraram que a região subendocárdica tem um menor volume luminal capilar, tornando-a mais susceptível à isquemia (Anversa e cols, 1989).



**Figura 17.** Gráfico da probabilidade estimada de ocorrência de fibrose miocárdica em relação à idade, em pacientes com atresia tricúspide.

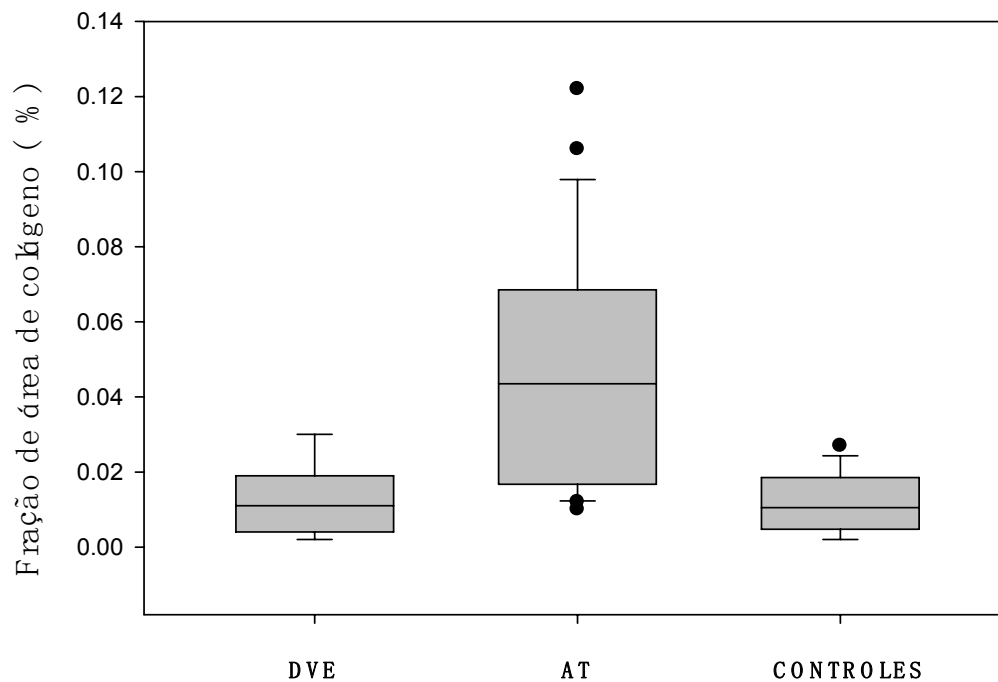
A espessura do endocárdio nos espécimes estudados comportou-se topograficamente de forma semelhante à da fibrose intersticial, ou seja, com valores maiores presentes nos cortes da via de entrada e do ápice ventricular esquerdo. Por outro lado, estudo prévio do nosso laboratório em corações de crianças com cardiomiopatia dilatada revelou que o espessamento endocárdico acentuava as diferenças presentes em corações normais, sendo mais intenso na via de saída (Aiello e Higuchi, 1994). Como vemos, apesar de as duas condições cursarem com aumento do volume da cavidade ventricular esquerda, a intensidade do espessamento endocárdico tem distribuição diferente; o motivo dessa diferença não é conhecido.

Em resumo, nossos achados em corações com atresia tricúspide não se sobrepõem aos típicos de uma sobrecarga de volume isolada, mas sim à sobrecarga de volume associada a isquemia. Não está esclarecido porque a rede capilar não se desenvolve adequadamente na presença de hipóxia crônica, um forte estímulo da angiogênese.

### **5.2.2. Corações com dupla via de entrada ventricular**

Estudamos ainda um grupo de corações com dupla via de entrada para ventrículo morfologicamente esquerdo, com intuito de comparar os achados de fibrose aos do grupo com atresia tricúspide clássica.

Foram analisados treze corações, provenientes de pacientes com média de idade igual a 22,5 meses e mediana de 5 meses. Apesar da diferença significativa na idade (maiores valores) em relação aos casos de atresia tricúspide, a avaliação quantitativa da fibrose utilizando a mesma metodologia revelou menor fração de área de fibrose, comparável à dos controles. (dados não publicados- Figura 18)



**Figura18.** Distribuição da variável “fração de volume de fibrose intersticial” em ventrículo esquerdo de corações com dupla via de entrada ventricular (DVE), atresia tricúspide (AT) e controles.

As razões para a diferença na intensidade da expansão da matriz extracelular entre esses dois grupos de corações com ventrículo esquerdo principal não estão esclarecidas, e este tópico continua merecendo nossa atenção quanto às demais características do remodelamento miocárdico neste grupo (hipertrofia e quantidade de capilares), as quais ainda não foram avaliadas.

### 5.2.3. Corações com tetralogia de Fallot

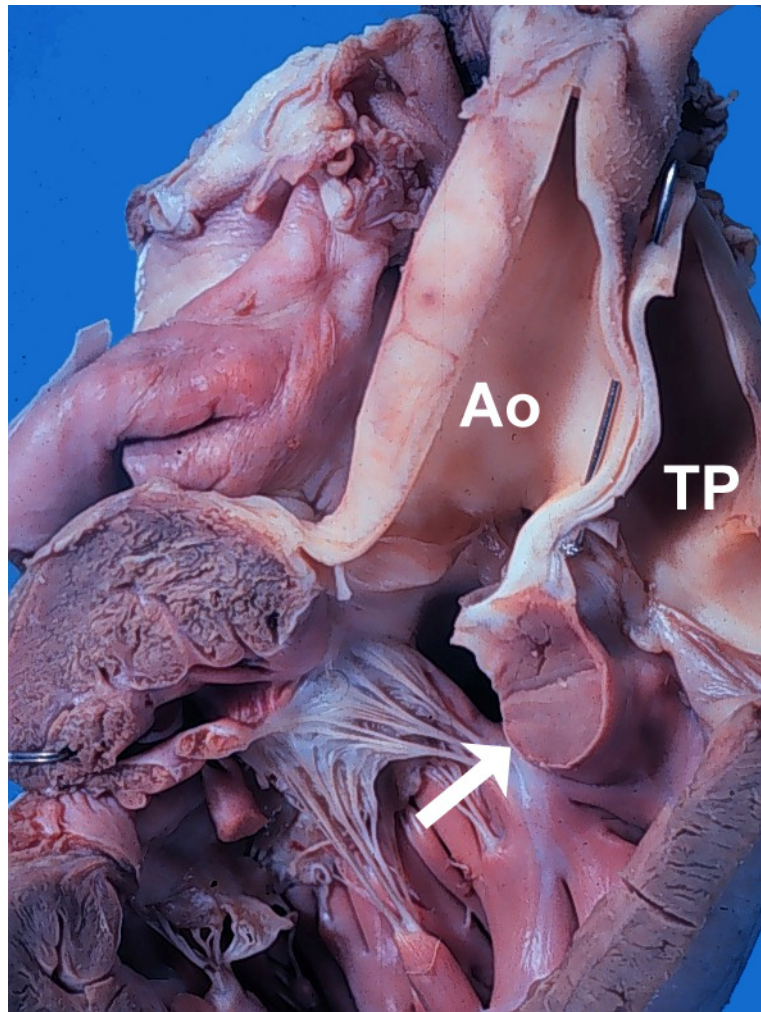
Desde a clássica descrição da anomalia no século XIX, muito pouco se acrescentou em termos de conhecimento morfológico macroscópico (Becker et al., 1975). Talvez algumas disputas tenham ocorrido a respeito da nomenclatura das estruturas envolvidas no defeito (Anderson et al., 1977), mas a observação contínua revela a acurácia da descrição inicial.

O defeito básico é um desvio anterior do septo infundibular, com conseqüente desalinhamento deste em relação ao septo muscular trabecular, e que a uma só vez provoca a comunicação interventricular, a estenose subpulmonar e o cavalgamento da aorta. A hipertrofia ventricular direita é conseqüência da sobrecarga imposta ao ventrículo direito pela presença da aorta na sua via de saída e também da barreira determinada pela estenose subpulmonar. (Figura 19)

As principais variáveis são o grau de cavalgamento da aorta, o grau de estenose pulmonar e de desenvolvimento das artérias pulmonares centrais, a borda póstero-inferior da comunicação interventricular que pode ser muscular em até 10% dos casos, e a presença de defeitos associados, como comunicações interatriais e defeitos do septo atrioventricular por exemplo.

A valva pulmonar em geral é estenótica, mas não necessariamente. Raramente ela pode estar ausente, e nestes casos a anomalia tem apresentação particular, com dilatação aneurismática do tronco pulmonar e ramos pulmonares centrais.





**Figura 19.** Corte da via de saída do ventrículo direito exibindo o defeito básico da tetralogia de Fallot, representado pelo desvio anterior do septo infundibular (seta), que provoca estenose subpulmonar, a comunicação interventricular e o cavalgamento da aorta (Ao). TP- tronco pulmonar.

O grau de cavalgamento da aorta determina o tipo de conexão ventrículo-arterial, visto que, quando esta grande artéria está conectada em mais de 50% de sua circunferência ao ventrículo direito, define-se uma dupla via de saída ventricular. Este conceito tem sido causa de discordância sobre nomenclatura e discutido amplamente, pois alguns consideram que a dupla

via de saída é um diagnóstico que exclui a concomitância com tetralogia de Fallot.

Talvez o aspecto morfológico que mais influencia no prognóstico seja a intensidade de estenose infundibular e o desenvolvimento das artérias pulmonares centrais. Artérias hipoplásicas ou desconectadas do tronco são uma grande limitação ao tratamento operatório adequado, requerendo a utilização de muitas suturas e ampliações com enxertos. Na forma extrema da anomalia quando existe atresia pulmonar, em geral ocorrem colaterais sistêmico-pulmonares múltiplas que suprem irregularmente os segmentos pulmonares. Um sistema de classificação desses vasos colaterais foi proposto em nosso meio por Barbero-Marcial e colaboradores (Barbero-Marcial, 2001; Croti et al., 2005).

Um outro aspecto da morfologia que traz dúvidas quanto à nomenclatura é a ausência do septo infundibular ou comunicação interventricular subarterial com concomitante estenose valvar e hipoplasia do tronco pulmonar, a chamada “estenose ânulo-valvar”. Do ponto de vista da fisiologia do defeito o comportamento é semelhante ao da tetralogia de Fallot, e como alguns casos foram descritos inicialmente na Ásia, a anomalia recebeu o nome de “Fallot do Oriente”. Em casuística da América do Sul, essa apresentação ocorreu em cerca de 6% dos pacientes operados, e em nosso meio também a temos encontrado (Neirotti et al., 1978; Aiello e Decourt, 1994). O que se discute é a denominação do defeito, visto que, se não existe septo infundibular e então a anomalia não deveria ser chamada de “Fallot”.

### **5.2.3.1. História natural e evolução pós-operatória**

Dentre os defeitos congênitos do coração que cursam com cianose, a tetralogia de Fallot é a que apresenta prognóstico mais favorável, porém mesmo assim a idade mediana de morte nos pacientes não tratados varia de 2,5 a 7 anos, com apenas 10% deles sobrevivendo mais de 20 anos (Hoffman, 2002).

Nos primórdios da cirurgia cardíaca o único procedimento disponível era a criação de uma anastomose sistêmico-pulmonar, ou “shunt” de Blalock-Taussig. Em nosso meio, tivemos o privilégio de conviver com uma colega portadora desta anomalia e sobrevivente desse procedimento realizado na infância, a Dra Rachel Snitkowsky. Essa Cardiologista Pediátrica viveu de forma bastante produtiva por 60 anos apenas com a cirurgia paliativa (Aiello e Atik, 1998).

Nos dias de hoje pode-se lançar mão do procedimento paliativo (anastomose de Blalock-Taussig) por vezes necessário precocemente no lactente com comprometimento acentuado da oxigenação do sangue, e da cirurgia corretiva, que consiste na ressecção da porção muscular do infundíbulo que provoca estenose subpulmonar e no fechamento da comunicação interventricular, direcionando a aorta para o ventrículo esquerdo. Não é infreqüente que seja necessária uma ampliação da via de saída do ventrículo direito e da raiz do tronco pulmonar por meio de enxertos de diversos tecidos, além de implantação de uma prótese valvar monocúspide no local da valva pulmonar.

A correção operatória atualmente permite uma alta taxa de sobrevida, que alcança mais de 90% após 30 anos do procedimento (Jimenez et al., 2002; Mesquita et al., 2003). Todavia, os indivíduos operados não podem esperar ter um coração absolutamente normal. Todos mostram cicatrizes ventriculares decorrentes do fechamento da comunicação interventricular, outros apresentam dilatação da via de saída do ventrículo direito onde foi posicionado um retalho, outros ainda têm diferentes graus de disfunção da valva pulmonar (insuficiência ou estenose residual).

Do ponto de vista clínico, a disfunção e a hipertrofia ventricular direita estão associadas com a presença de sintomas (Mesquita et al., 2003). Além disso, intolerância ao exercício é comum e arritmias foram relatadas em cerca de 15% dos pacientes operados (Gatzoulis et al., 2000a). Morte súbita foi relatada em 2% deles em um estudo multicêntrico (Gatzoulis et al., 2000b).

Tem-se dado particular atenção ao estudo da função sistólica e diastólica dos ventrículos no período pós-operatório da correção da tetralogia de Fallot. Disfunção diastólica do ventrículo direito, em particular, pode aparecer já no pós-operatório imediato, podendo regredir em alguns dias, porém sua ocorrência é fator preditivo de disfunção diastólica a longo prazo (Norgard et al., 1998). Essa disfunção resulta em dificuldades no enchimento ventricular e tem sido denominada de “fisiologia restritiva”. Todavia, acredita-se que no pós-operatório tardio esse tipo de fisiologia seja mais benéfico ao paciente, por evitar grandes dilatações do ventrículo direito

em decorrência de insuficiência pulmonar e proporcionar melhor desempenho ao exercício (Gatzoulis et al., 1995a).

Estudos do remodelamento miocárdico em pacientes com tetralogia de Fallot têm sido relatados já há algum tempo. Em grande parte deles foi estudado o tecido muscular retirado da região subpulmonar com intuito de aliviar a estenose (Chowdhury et al., 2006). Os principais achados mostram aumento do conteúdo de fibrose intersticial e hipertrofia celular (Deanfield et al., 1983).

Com a evolução dos métodos diagnósticos não invasivos de imagem, alguns parâmetros de avaliação morfológica e funcional necessitam de correlação morfológica e histológica (Babu-Narayan et al., 2006). Em particular, o ecocardiograma bidimensional com Doppler tecidual tem sido recentemente valorizado na determinação de prognóstico em doenças cardiovasculares (Yu et al., 2007).

Desta forma, idealizamos um protocolo experimental para verificar se o remodelamento miocárdico pré-existente à cirurgia é um fator determinante da ocorrência de disfunção ventricular no pós operatório. Para isto, pretendemos traçar um paralelo entre variáveis ecocardiográficas e remodelamento histológico.

#### **5.2.3.2. Protocolo de pesquisa resumido e resultados comentados**

**Dados do trabalho de Tese de Doutorado da aluna Maria Cecília Knoll Farah (2008) – Financiamento FAPESP – 05/01476-2; Protocolo**

**aprovado pela CAPPesq sob n.o 984/04 - Trabalho resultante do estudo piloto aceito para publicação nos Arquivos Brasileiros de Cardiologia, 2008 (no prelo). Farah MCK, Castro CRP, Moreira VM, Riso AA, Lopes AAB, Aiello VD. O miocárdio na Tetralogia de Fallot: estudo histológico e morfométrico.**

**Trabalho resultante do projeto prospectivo aceito para apresentação oral em “43rd Annual Meeting of the Association for European Paediatric Cardiology, May 21 - 24 2008”, Veneza- Farah MCK, Castro CRP, Moreira VM, Guerra VC, Binotto MA, Riso AA, Marcial MB, Lopes AA, Aiello VD. The impact of pre-existent myocardial remodelling on the ventricular function after Tetralogy of Fallot repair.**

O trabalho constou de duas fases: um plano piloto, desenvolvido em peças anatômicas da coleção do Laboratório de Anatomia Patológica do Instituto do Coração HC FMUSP, e de um estudo prospectivo de correlação anatomoclínica em pacientes submetidos à correção da tetralogia de Fallot.

#### **5.2.3.2.1. Estudo piloto**

O plano piloto teve como objetivos avaliar o remodelamento miocárdico na tetralogia de Fallot comparando as regiões subepicárdica e subendocárdica, principalmente por esta última ser facilmente abordável por meio de biópsias endomiocárdicas. Foram estudadas oito peças anatômicas de pacientes com tetralogia de Fallot, falecidos antes da cirurgia ou no pós-operatório recente. Foram analisados, em cortes transmuralis de miocárdio

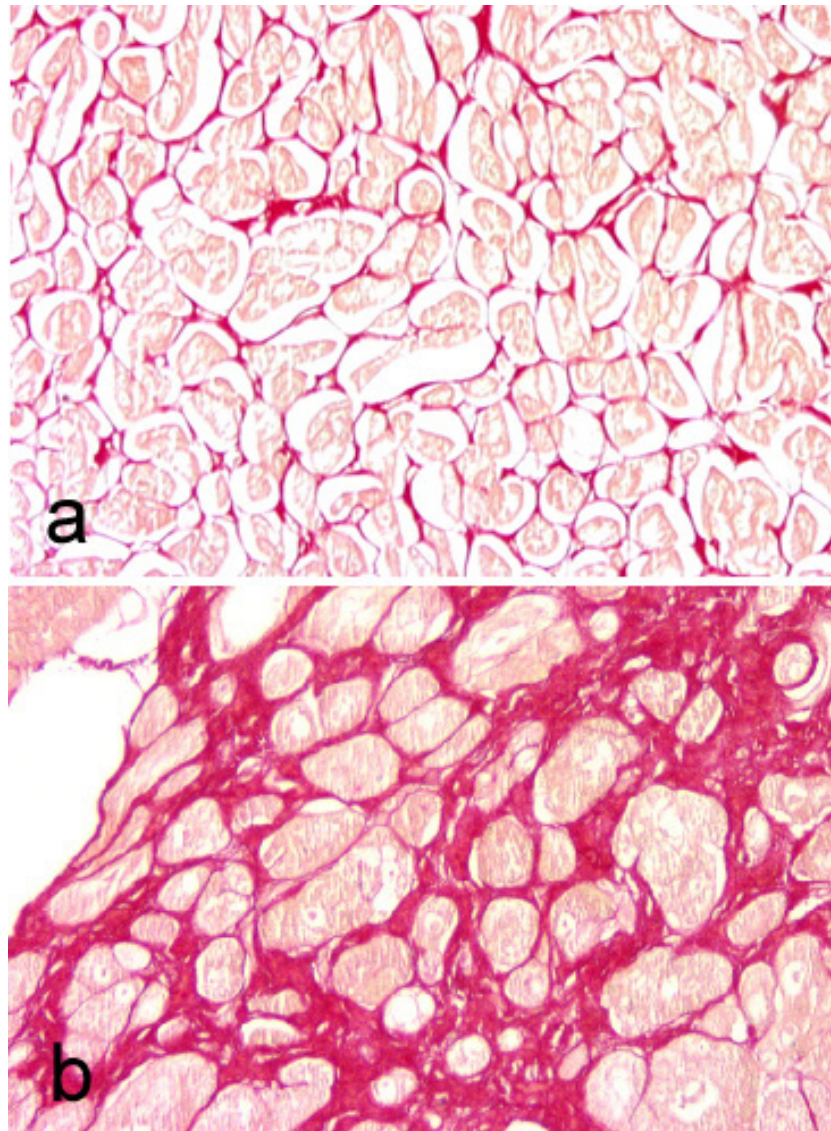
da via de entrada, parede anterior e infundíbulo do ventrículo direito e da parede livre do esquerdo, o grau de hipertrofia de cardiomiócitos e a fibrose intersticial. As medidas foram realizadas com auxílio de sistema de análise de imagem como previamente descrito nos protocolos anteriormente citados. Para marcação do colágeno, foi usada a coloração do picrossirius.

Nossos resultados mostraram que o diâmetro médio dos cardiomiócitos do subendocárdio foi semelhante ao daqueles do subepicárdio em todas as regiões, exceto no infundíbulo do ventrículo direito, onde os subendocárdicos se mostraram significativamente maiores em relação aos do subepicárdio ( $p=0.007$ ).

Plotando os valores médios dos diâmetros dos cardiomiócitos dos espécimes estudados no gráfico com os valores obtido em corações normais para a mesma faixa etária (Nishikawa et al.,1990), observamos que nos espécimes com tetralogia de Fallot os cardiomiócitos do ventrículo direito em geral são maiores que os valores normais para a mesma faixa etária, na maioria das vezes mais de um desvio padrão acima do normal. A mesma análise para os cardiomiócitos do ventrículo esquerdo mostrou que esta diferença não é evidente em todos os casos.

A quantidade de colágeno intersticial encontrou-se nos limites superiores do normal e foi similar na camada subendocárdica comparada à subpericárdica de cada região, sendo todavia maior na via de entrada e parede anterior do ventrículo direito do que no ventrículo esquerdo.

O padrão de deposição de colágeno variou de caso a caso, sendo misto, endomisial e perimisial, na maioria deles (Figura 20). Esses padrões foram descritos nas miocardiopatias dilatada e hipertrófica (Rossi, 1991).



**Figura 20.** Fotomicrografias do miocárdio de pacientes portadores de tetralogia de Fallot. Em a) nota-se padrão endomisial de deposição de colágeno e em b) padrão perimisial e endomisial. Coloração pela técnica do picrossirius, aumento da objetiva= 40X.



Concluimos, portanto, que as alterações do miocárdio pós-natal na tetralogia de Fallot estão distribuídas homoganeamente nas metades subepicárdica e subendocárdica das paredes ventriculares, com exceção do infundíbulo, que apresenta características peculiares de remodelamento.

Tendo como base esses resultados, iniciamos então a análise dos pacientes que fizeram parte do estudo prospectivo, de acordo com o protocolo a seguir.

#### **5.2.3.2.2. Estudo prospectivo**

Este foi realizado incluindo 23 pacientes consecutivos internados para correção total da tetralogia de Fallot. A idade vaiou de 12 a 186 meses, com média de 39,65 meses, desvio-padrão de 39,20 meses e mediana de 23 meses.

Para avaliar a existência de disfunção ventricular sistólica e/ou diastólica de ambos os ventrículos nos períodos pré e pós-operatório, foi realizado ecocardiograma bidimensional com Doppler convencional, Doppler com mapeamento de fluxo a cores e Doppler tecidual. Os exames foram realizados em três tempos: no período pré-operatório, nos três primeiros dias após o procedimento e em um período que variou de 30 a 90 dias após a operação.

Para o ventrículo esquerdo, a função sistólica foi avaliada de modo quantitativo por meio do cálculo de fração de encurtamento, pela medida da

aceleração miocárdica durante a contração sistólica isovolumétrica (AVI-cm/s<sup>2</sup>) e da velocidade miocárdica sistólica (S'-cm/s) na parede lateral pelo Doppler tecidual. A função diastólica foi avaliada de modo quantitativo pela medida da velocidade diastólica miocárdica precoce (E'-cm/s), registrada com a amostra do Doppler colocada na parede livre do ventrículo esquerdo próximo ao anel da valva mitral.

Para o ventrículo direito, a função sistólica foi também avaliada de modo quantitativo pela medida da aceleração miocárdica durante a contração sistólica isovolumétrica (AVI-cm/s<sup>2</sup>) da parede lateral pelo Doppler tecidual, e pela velocidade miocárdica sistólica da mesma parede (S'-m/s). A função diastólica foi avaliada pela medida da velocidade miocárdica diastólica precoce (E'-cm/s) na base do ventrículo direito próximo ao anel da valva tricúspide. A presença de disfunção diastólica desse ventrículo também foi identificada pela presença de fluxo pulmonar diastólico anterógrado com a amostra do Doppler colocado a meia distância entre a valva pulmonar e a bifurcação dos ramos pulmonares.

Foram também medidos os níveis séricos de Troponina T em três tempos (pré-operatório, 24 a 48h após e 48 a 72h após a operação) para avaliar o possível papel da lesão hipóxico-isquêmica na evolução pós-operatória.

Durante a cirurgia foram colhidas para análise histológica amostras endomiocárdicas da via de entrada do ventrículo direito e do ventrículo esquerdo, além das bandas musculares rotineiramente encaminhadas para análise e que resultam da técnica de ressecção muscular da via de saída.

As amostras foram processadas para exame histológico convencional, coradas pela hematoxilina-eosina e pelo picosirius, e para marcação de células endoteliais pelo anticorpo anti Fator de von Willebrand.

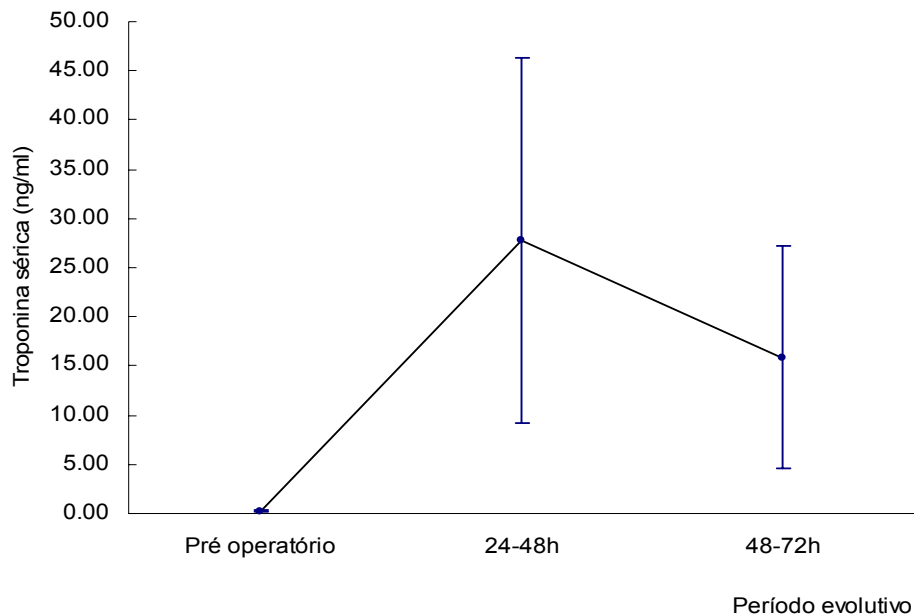
No exame morfométrico com auxílio de sistema de análise de imagens foram avaliados os diâmetros de cardiomiócitos e de seus núcleos por medida direta, e a fração de área ocupada pelo colágeno, utilizando-se a cor como parâmetro discriminatório.

Foram excluídas da análise áreas cicatriciais caracterizadas por fibrose estrelada com vasos neoformados, representando micro-infartos organizados e o colágeno ao redor de arteríolas com diâmetro superior a 30 micrômetros (fibrose perivascular).

Nos cortes marcados por imuno-histoquímica foi determinada a fração de área ocupada por capilares em relação à fração de área dos cardiomiócitos.

#### **5.2.3.2.3. Níveis de Troponina T sérica**

Os níveis séricos de troponina T coletados nos períodos de 24 a 48h e de 48 a 72h de pós-operatório apresentaram aumento significativo em relação aos níveis pré-operatórios ( $p < 0,001$  para os dois períodos). O pico se deu no período de 24 a 48h, conforme mostra a figura 21.



**Figura 21.** Níveis médios ( $\pm$  desvio padrão) de troponina T sérica (ng/ml) em relação ao período evolutivo.

Os níveis das amostras coletadas entre 48 e 72h de pós-operatório se correlacionaram positivamente com duas variáveis cirúrgicas: o tempo de circulação extracorpórea ( $r_s=0,48$ ,  $p=0,019$ ) e o tempo de anóxia ( $r_s=0,49$ ,  $p=0,018$ ). Houve correlação significativa também com o tempo de utilização de drogas vasoativas no pós-operatório ( $r=0,55$ ,  $p=0,006$ ). Esses achados estão de acordo com o descrito no pós-operatório de cirurgia cardíaca e indicam lesão por manipulação cirúrgica do coração e isquemia mas não se correlacionam com disfunção ventricular tardia (Bottio et al., 2006).

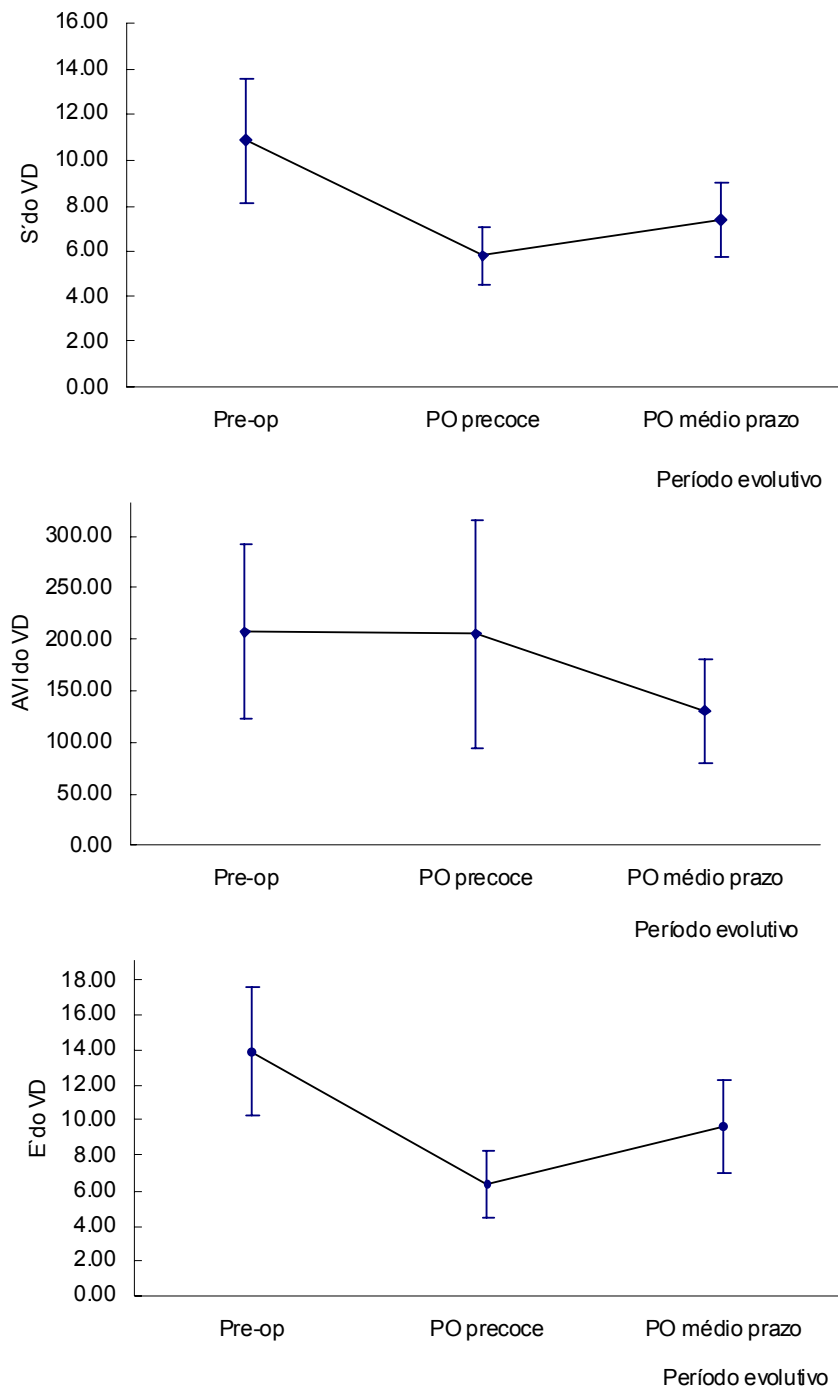
Para testar a hipótese de que a lesão miocárdica intra-operatória medida pelo nível de troponina T seria dependente do grau de hipertrofia histológica ou da quantidade anormal de capilares, testamos a correlação entre essas variáveis mas não encontramos significância estatística.

#### **5.2.4. Avaliação ecocardiográfica da função ventricular**

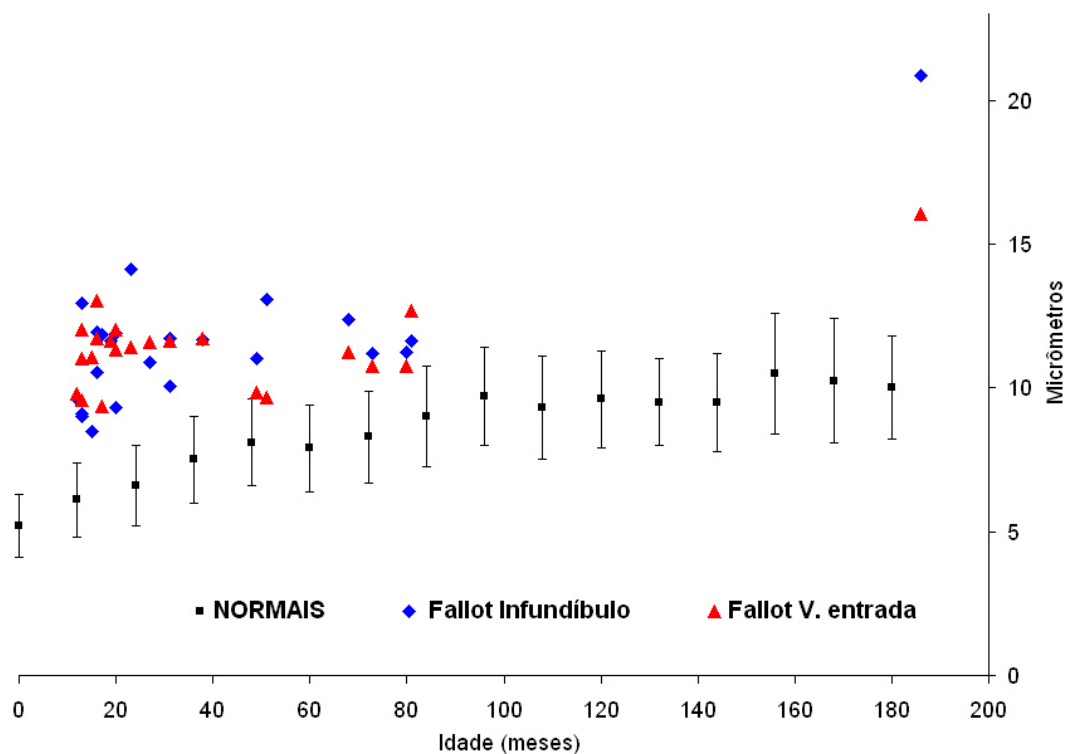
A figura 22 mostra a evolução temporal dos parâmetros ecocardiográficos que permitiram a avaliação das funções sistólica e diastólica do ventrículo direito.

##### **5.2.4.1 Diâmetros dos cardiomiócitos**

Os resultados mostraram aumento do diâmetro médio de cardiomiócitos nas amostras da via de entrada e do infundíbulo do ventrículo direito, estando os valores individuais em sua grande maioria acima da média mais um desvio padrão dos valores normais da literatura segundo Nishikawa e colaboradores (1990). (Figura 23)



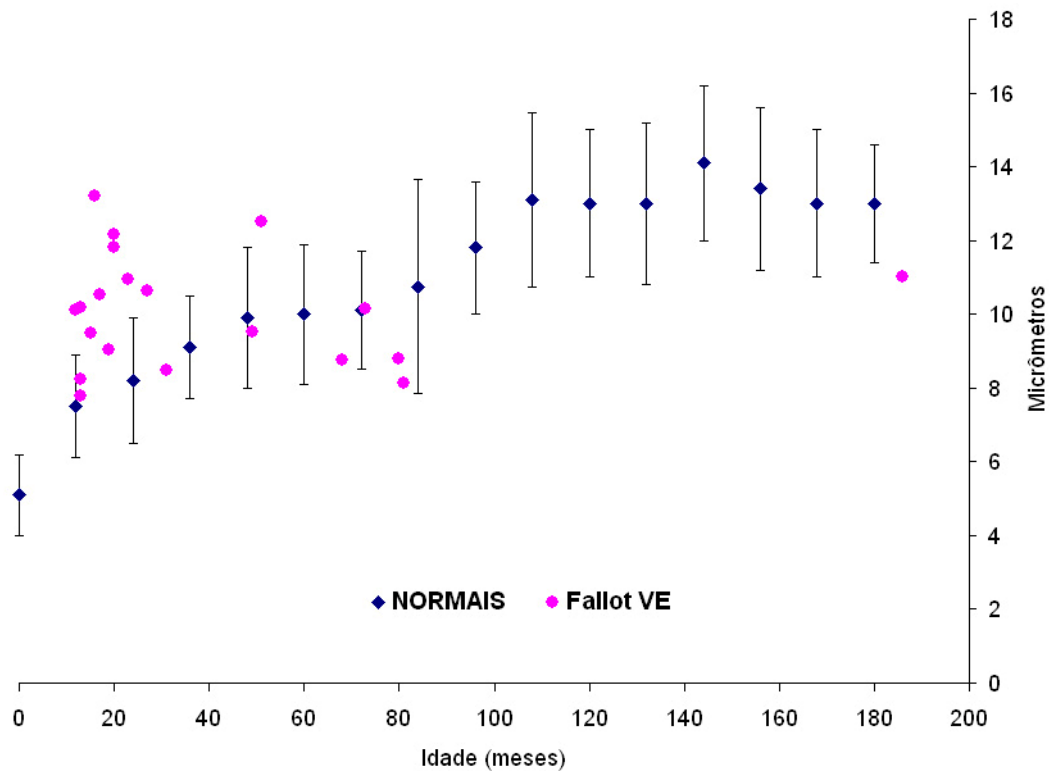
**Figura 22.** Valores médios evolutivos ( $\pm$  desvio-padrão) das velocidades miocárdicas sistólica (S') e diastólica (E') (cm/s) e da aceleração miocárdica durante a contração sistólica isovolumétrica (AVI) (em  $\text{cm/s}^2$ ), obtidas no ventrículo direito de pacientes com tetralogia de Fallot por meio da ecocardiografia com Doppler tecidual.



**Figura 23.** Valores individuais do diâmetro médio dos cardiomiócitos (micrômetros) nas amostras da via de entrada e do infundíbulo do ventrículo direito plotados em gráfico com os valores normais para ventrículo direito e idade (normal  $\pm 1DP$ ) de acordo com Nishikawa e colaboradores (1990). V.entrada- via de entrada.

Dentre os casos nos quais foi possível a biópsia ventricular esquerda, observamos que pouco mais da metade (55%) mostravam diâmetros de cardiomiócitos do ventrículo esquerdo dentro da normalidade (Figura 24).

Comparando os diâmetros dos cardiomiócitos das três regiões estudadas, verificamos que os do ventrículo esquerdo eram significativamente menores (Tabela 2).



**Figura 24.** Valores individuais do diâmetro médio dos cardiomiócitos (micrômetros) nas amostras do ventrículo esquerdo (VE), plotados em gráfico com os valores normais para o ventrículo e idade (normal  $\pm 1DP$ ) de acordo com Nishikawa (1990).

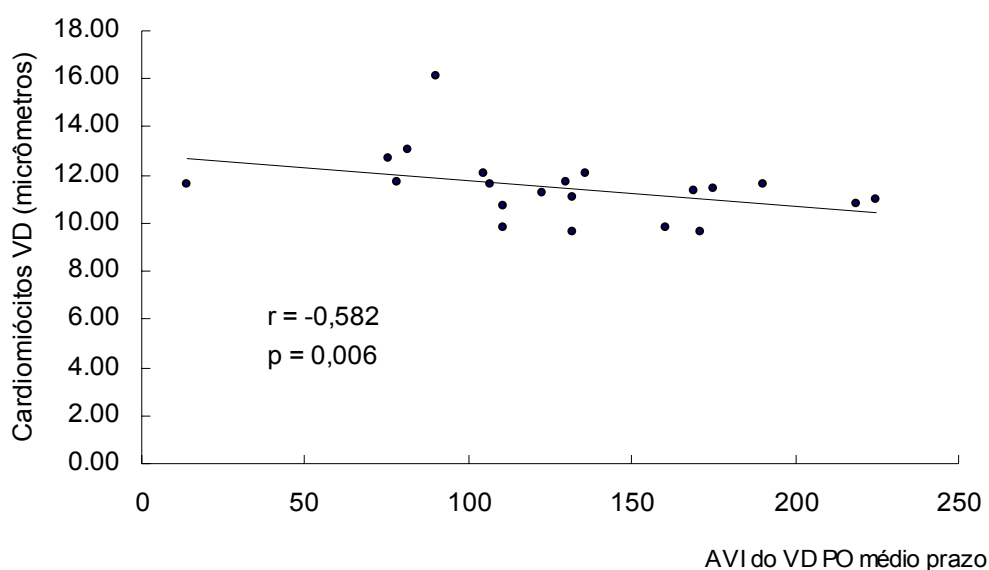
**Tabela 2.** Diâmetros dos cardiomiócitos (micrômetros) de pacientes com tetralogia de Fallot, em relação ao local da amostra.

Local	Média	Desvio padrão	Máximo	Mínimo	Mediana
Via de entrada - VD	11.36	1.45	16.07	9.35	11.39
Infundíbulo - VD	11.57	2.46	20.87	8.5	11.62
Ventrículo esquerdo	10.08	1.54	13.2	7.77	10.13



Este achado denota hipertrofia microscópica do ventrículo direito, sendo esperado para a situação da sobrecarga de pressão.

A velocidade de aceleração isovolumétrica do ventrículo direito (AVI) na terceira avaliação ecocardiográfica correlacionou-se negativamente com o diâmetro dos cardiomiócitos da via de entrada mesmo ventrículo ( $r = -0.59$ ;  $p = 0.006$ ) (Figura 25). Isso indica que a disfunção sistólica ventricular direita a médio prazo após a cirurgia tem como substrato anatômico o grau de hipertrofia histológica.



**Figura 25.** Gráfico da correlação entre valores da aceleração miocárdica durante a contração sistólica isovolumétrica (AVI- $\text{cm/s}^2$ ) do ventrículo direito (VD) e diâmetros médios dos cardiomiócitos do mesmo ventrículo (micrômetros). r-coeficiente de correlação de Pearson.

Sabemos que o uso de beta-bloqueadores (propranolol) em pacientes com cardiopatias congênitas e insuficiência cardíaca por “shunt” de esquerda para direita proporciona melhora na função diastólica e

hipertrofia ventricular menos pronunciada (Buchhorn et al., 2003). Como essa droga é utilizada em alguns pacientes com tetralogia de Fallot para prevenir crises de hipóxia, testamos a hipótese de que o seu uso influenciaria o remodelamento histológico. De fato, comparando os diâmetros dos cardiomiócitos dos pacientes que usaram e dos que não usaram propranolol no pré-operatório, observou-se que no grupo que não usou a droga o diâmetro dos cardiomiócitos do ventrículo direito era significativamente maior que no grupo que a usou ( $p=0,007$  e  $p=0,018$ , respectivamente para cardiomiócitos da via de entrada e do infundíbulo). Não houve diferença significativa do diâmetro dos cardiomiócitos do ventrículo esquerdo para a mesma comparação. Este resultado aponta para uma vantagem na utilização dessa droga para prevenir a hipertrofia miocárdica nesses doentes, reduzindo os riscos associados e essa alteração celular.

#### **5.2.4.2. Fração de área de colágeno intersticial**

A fração média de área de colágeno intersticial tinha valores acima do normal em todas as regiões estudadas, não se detectando diferença estatisticamente significante entre elas (Tabela 3).

Testando a possibilidade de que a idade estivesse relacionada à quantidade de fibrose intersticial, não observamos correlação significativa.

**Tabela 3.** Fração de área de colágeno intersticial no miocárdio (%) de pacientes com tetralogia de Fallot, em relação ao local da amostra.

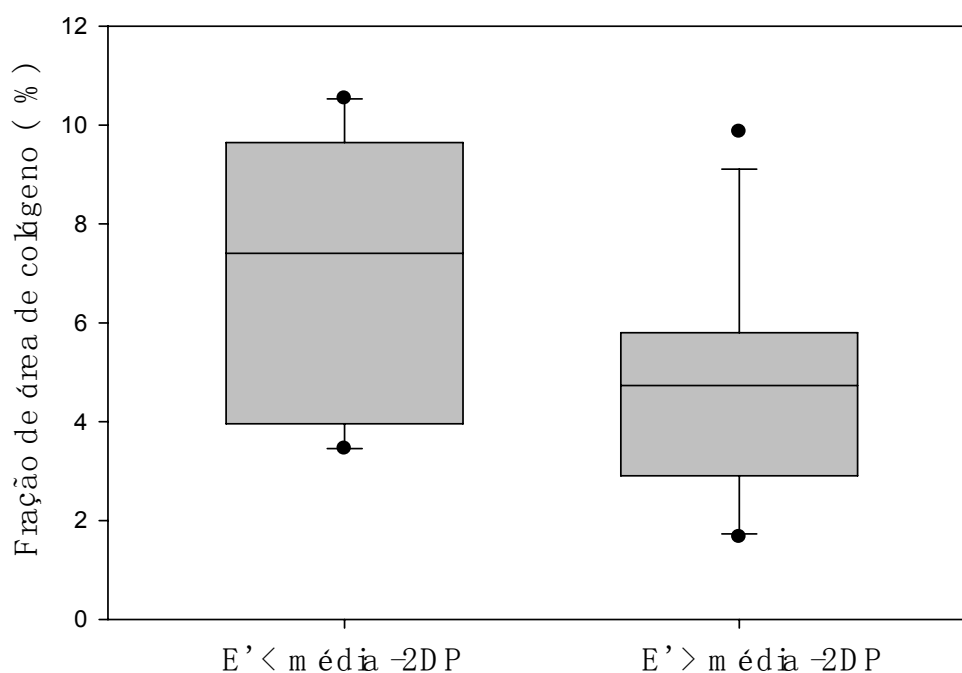
Local	Média	Desvio padrão	Máximo	Mínimo	Mediana
Via de entrada - VD	5.95	2.71	10.54	1.67	5.68
Infundíbulo - VD	6.05	1.89	8.94	2.57	6.04
Ventrículo esquerdo	5.93	3.37	12.81	2.06	4.87

Quanto aos dados funcionais do ecocardiograma, verificamos não haver correlação entre a fração de área de colágeno e as velocidades de contração isovolumétrica (AVI) e a velocidade miocárdica sistólica (S') do ventrículo direito, nos três momentos estudados. Isto indica que a fibrose não interferiu significativamente na função sistólica do ventrículo direito.

Por outro lado, em relação à função diastólica do ventrículo direito, verificamos haver correlação negativa fraca porém estatisticamente significativa entre velocidades da onda E' nos períodos pré-operatório e no pós-operatório a médio prazo e quantidade de fibrose intersticial. ( $r = -0,47$ ,  $p = 0,032$ ;  $p = -0,46$ ,  $p = 0,038$ , respectivamente para o pré-operatório e o pós-operatório a médio prazo).

Considerando que todos os pacientes apresentavam velocidades miocárdicas diastólicas (E' do ventrículo direito) menores que os valores normais para a idade nos dois momentos de avaliação pós-operatória, dividimos os casos em dois grupos conforme os valores destas velocidades fossem menores ou não que a média para a idade menos dois desvios-padrão. Observamos na evolução a médio prazo os que tinham as velocidades menores que a média menos dois desvios-padrão possuíam

valores significativamente maiores de fibrose intersticial ( $p=0,046$ ) (Figura 26). Este achado reforça que a fibrose miocárdica tem repercussão na função diastólica ventricular.



**Figura 26.** Distribuição da variável “fração de área de colágeno” no ventrículo direito, de acordo com o grau de redução da velocidade miocárdica diastólica ( $E'$ ) do ventrículo direito no pós-operatório a médio prazo. DP-desvio padrão.

A quantidade de fibrose intersticial parece ter interferido ainda na evolução eletrocardiográfica pós-operatória de curto prazo, uma vez que os pacientes com duração do complexo QRS maior que 40ms (Tabela 4) apresentavam maiores valores de fração de área de colágeno intersticial. Ainda que a interpretação desse achado mereça discussão mais detalhada, considerando também o período em que o eletrocardiograma foi registrado,

devemos lembrar que, conforme relataram alguns autores, a duração aumentada do complexo QRS (maior que 180ms, com 100% de sensibilidade) está associada à maior probabilidade de desenvolvimento de taquicardia ventricular sustentada e morte súbita no pós-operatório tardio de pacientes com tetralogia de Fallot (Gatzoulis et al., 1995b).

**Tabela 4.** Fração de área de colágeno intersticial no ventrículo direito (VD), de acordo com a duração do QRS. DP-desvio-padrão; ms-milissegundos.

	Fração de área de colágeno no VD (%)	
	↑QRS<40ms	↑QRS>40ms
<b>média</b>	4.83	7.30
<b>DP</b>	2.45	2.45
<b>mediana</b>	4.21	7.13
<b>mínimo</b>	1.67	2.91
<b>máximo</b>	9.87	10.54
<b>teste t</b>	<b>p=0.029</b>	

#### 5.2.4.3. Fração de área de capilares miocárdicos

A análise comparativa da fração de área de capilares/cardiomiócitos entre as regiões ventriculares estudadas não demonstrou diferenças significativas. Este dado deve ser interpretado dentro do contexto de um aumento dos cardiomiócitos ventriculares direitos e da expansão da matriz extracelular no mesmo ventrículo. Aparentemente, a resposta do compartimento capilar nos pacientes com tetralogia de Fallot é semelhante à que acontece na hipertensão arterial espontânea, com manutenção da densidade de capilares (Anversa et al., 1986a). A comparação, em nosso

estudo, se fez com um controle interno, representado pelo miocárdio ventricular esquerdo dos mesmos pacientes. Saliente-se a grande dificuldade de se estabelecer comparações com valores normais de literatura no quesito “capilarização miocárdica”, ligadas principalmente às diferentes metodologias aplicadas em modelos distintos, com valores imensamente discrepantes entre si (Rakusan, 2004).

Outro aspecto interessante deste estudo foi o encontro de fração de área de capilares significativamente maior no grupo de pacientes com menor saturação de oxigênio arterial no sangue periférico no pré-operatório, relacionada provavelmente à maior passagem de fluxo de direita para esquerda através da comunicação interventricular, em conseqüência de particularidades anatômicas de cada caso. O achado está em concordância com o forte estímulo angiogênico descrito em casos de hipóxia (Heil et al., 2006) e pode ter patogênese semelhante à das alterações glomerulares renais descritas em pacientes com doença cardíaca congênita cursando com cianose (Perloff et al., 2000).

Concluimos portanto que as características histomorfométricas do remodelamento miocárdio presentes à época da cirurgia interferiram em alguns aspectos da função ventricular detectadas no pós-operatório a médio prazo de pacientes submetidos à correção da tetralogia de Fallot.

O seguimento evolutivo desse grupo de pacientes deverá trazer novas e importantes contribuições no entendimento sobre a sua evolução a longo prazo.

## 6. Considerações finais

Se considerarmos uma incidência de 6 a 8 casos de cardiopatias congênitas em cada 1000 nascidos vivos (Hoffman, 2002) e um número anual de nascimentos no Brasil em torno de 3.000.000 (DATASUS, 2008), podemos calcular que nos últimos dez anos aproximadamente 210.000 novos pacientes com doenças congênitas do sistema cardiovascular nasceram em nosso país. Sabemos também que grande parte da população brasileira continua não assistida plenamente em relação à Saúde, mas mesmo assim um contingente muito grande de pacientes com defeitos cardíacos congênitos alcança nos dias de hoje a adolescência e a idade adulta devido aos enormes avanços da Cardiologia nas últimas décadas. Dados recentes mostram que anualmente 70.000 cirurgias cardíacas são realizadas no Brasil, sendo 13% delas para tratar defeitos congênitos (Stolf, 2007). Esses números revelam a dimensão do problema que representam os adolescentes e adultos com cardiopatias congênitas entre nós.

Enquanto nas Sociedades Médicas se discute qual o profissional mais capacitado para tratar desses indivíduos, se o cardiologista pediátrico ou o de adultos, cada vez mais fica patente a necessidade de contar com uma equipe multidisciplinar incluindo outros especialistas como obstetras, hematologistas, eletrofisiologistas, etc. (Report of the British Cardiac Society Working Party, 2002; Drenthen et al., 2007).

Paralelamente, cresce a demanda pelo conhecimento dos mecanismos de adaptação desses corações malformados às novas situações que permitiram o desenvolvimento desses indivíduos.

Neste contexto, o estudo histológico do miocárdio e de seus componentes tem papel fundamental. Os modelos clássicos de sobrecargas de pressão ou de volume não são comparáveis à situação do miocárdio que se adapta enquanto o coração cresce, acompanhando o crescimento do indivíduo; e além disso existem aspectos particulares como a própria arquitetura cardíaca anormal, as situações de hipoxemia, etc. Dadas as alterações hemodinâmicas existentes desde a vida fetal, podemos afirmar que essa adaptação começa a ocorrer intra-útero.

A cirurgia cardíaca modificou a história das crianças portadoras de defeitos cardíacos e também será o fator de impulso na investigação básica. As primeiras respostas deverão vir para as anomalias cujo tratamento cirúrgico está bem estabelecido, no intuito de melhorar cada vez mais os resultados tardios. A tetralogia de Fallot é um bom exemplo disto. Todavia, ainda nos dias atuais não existe consenso absoluto sobre a melhor abordagem operatória para muitos tipos de defeitos (Backer et al., 2007).

Dentre os aspectos mais interessantes relativos ao estudo histológico do remodelamento miocárdico está a possibilidade de correlação evolutiva com dados funcionais, sobretudo os derivados de exames não invasivos como a ecocardiografia com Doppler tecidual e a ressonância nuclear magnética.



Há que se reforçar também a importância do exame anatomopatológico em necrópsias de pacientes com doenças cardíacas congênicas. Em um passado não muito distante o principal motivo para a realização de necrópsias nesses pacientes era a obtenção de espécimes para avaliação macroscópica dos defeitos, mas hoje o foco mudou, e o exame histológico ganhou maior relevância. Embora mundialmente o número de necrópsias hospitalares venha diminuindo nos últimos anos, acreditamos que devam ser feitos esforços para reverter a situação, dada a enorme contribuição do método para fins de pesquisa e de educação médica (Aiello et al., 2007).

Atualmente já existe tecnologia para montar moldes tridimensionais de corações a partir de imagens obtidas em vida (Mottl-Link et al., 2005), porém nada substitui nos dias de hoje o exame histológico pormenorizado.

Dessa forma, a contribuição do patologista dentro da equipe multidisciplinar que investiga os aspectos evolutivos de adolescentes e adultos portadores de defeitos cardíacos congênicos é hoje e será no futuro, fundamental. Para tanto, o trabalho deste profissional dentro de um centro cardiológico terciário nos parece mais apropriado, por facilitar a troca de informações e o entendimento dos questionamentos, que irão finalmente privilegiar a correlação anatomoclínica.

---

## 7. Referências bibliográficas

Aiello VD. Porque sistematizar a nomenclatura dos defeitos cardíacos congênitos? *Arq Bras Cardiol.* 2002; 79:187-9.

Aiello VD, Atik E. Rachel Snitcowsky (1936-1996) - Obituary. *Cardiol Young.* 1998; 8:138-138.

Aiello VD, Binotto MA. Myocardial remodeling in congenital heart disease. *Arq Bras Cardiol.* 2007;88:e185-6.

Aiello VD, Debich-Spicer D, Anderson RH. Is there still a role for cardiac autopsy in 2007? *Cardiol Young.* 2007;17 (Suppl 2):97-103.

Aiello VD, de Moraes CF, Ribeiro IG, Sauaia N, Ebaid M. An infant with two "half-hearts" who survived for five days: a clinical and pathological report. *Pediatr Cardiol.* 1987;8:181-6.

Aiello VD, Décourt LV. Tetralogia de Fallot. Considerações Sobre Aspectos Morfológicos de Uma Entidade Descrita Com Perfeição *Arq Bras Cardiol.* 1994;62:307-11.

Aiello VD, Gomes F, Monteiro DCM, Marcial MB. Corações com dupla via de entrada ventricular. Aspectos morfológicos em 20 casos. *Arq Bras Cardiol.* 1991;56:19-24.

Aiello VD, Higuchi ML. Frequency and severity of endocardial fibroelastosis in dilated hearts of children. *Cardiol Young.* 1994;4:117-121.

Aiello VD, Ho SY, Anderson RH, Thiene G. Morphologic features of the hypoplastic left heart syndrome--a reappraisal. *Pediatr Pathol.* 1990;10:931-43.

Aiello VD, Xavier-Neto J. Full intrauterine development is compatible with cardia bifida in humans. *Pediatr Cardiol.* 2006;27:393-4.

Akagi T, Benson LN, Williams WG, Freedom RM. The relation between ventricular hypertrophy and clinical outcome in patients with double inlet left ventricle after atrial to pulmonary anastomosis. *Herz.* 1992;17:220-7.

Akiba T, Becker AE. Disease of the left ventricle in pulmonary atresia with intact ventricular septum. The limiting factor for long-lasting successful surgical intervention? *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1994;108:1-8.

Alison MR. Assessing cellular proliferation: what's worth measuring? *Hum Exp Toxicol.* 1995;14:935-44. Review.

---

Al-Radi OO, Harrell FE Jr, Caldarone CA, McCrindle BW, Jacobs JP, Williams MG, Van Arsdell GS, Williams WG. Case complexity scores in congenital heart surgery: a comparative study of the Aristotle Basic Complexity score and the Risk Adjustment in Congenital Heart Surgery (RACHS-1) system. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2007;133:865-75.

Anderson RH, Becker AE, Freedom RM, Macartney FJ, Quero-Jimenez M, Shinebourne EA, Wilkinson JL, Tynan M. Sequential segmental analysis of congenital heart disease. *Pediatr Cardiol.* 1984;5:281-7.

Anderson RH, Becker AE, Van Mierop LH. What should we call the 'crista'? *Br Heart J.* 1977;39:856-9.

Anderson RH, Macartney FJ, Tynan M, Becker AE, Freedom RM, Godman MJ, Hunter S, Quero-Jimenez M, Rigby ML, Shinebourne EA. Univentricular atrioventricular connection: the single ventricle trap unsprung. *Pediatr Cardiol.* 1983;4:273-80.

Anversa P, Beghi C, Levicky V, McDonald SL, Kikkawa Y, Olivetti G. Effects of strenuous exercise on the quantitative morphology of left ventricular myocardium in the rat. *J Mol Cell Cardiol.* 1985;17:587-95.

Anversa P, Capasso J. M., Ricci R, Sonnenblick E. H, Olivetti G. Morphometric analysis of coronary capillaries during physiologic myocardial growth and induced cardiac hipertrophy: a review. *Int. J. Microcirc. Clin. Exp* 1989; 8:353-363.

Anversa P, Capasso J. M., Olivetti G, Sonnenblick E. H. Myocyte cellular hypertrophy and hyperplasia in the heart during postnatal maturation and ageing. *Acta Paediatr.* 1992; 383 (Suppl): 29-31.

Anversa P, Olivetti G, Loud A. V. Morphometric study of early postnatal development in the left and right ventricular myocardium of the rat. I. Hypertrophy, hyperplasia, and binucleation of myocytes. *Circ Res.* 1980;46: 495-502.

Anversa P, Ricci R, Olivetti G. Coronary capillaries during normal and pathological growth. *Can J Cardiol.* 1986a; 2:104-13.

Anversa P, Ricci R, Olivetti G. Quantitative structural analysis of the myocardium during physiologic growth and induced cardiac hypertrophy: a review. *J Am. Coll. Cardiol.* 1986b; 7:1140-1149.

Anversa P, Rota M, Urbanek K, Hosoda T, Sonnenblick EH, Leri A, Kajstura J, Bolli R. Myocardial aging--a stem cell problem. *Basic Res Cardiol.* 2005;100:482-93. Review.

Assad RS, Cardarelli M, Abduch MC, Aiello VD, Maizato M, Barbero- Marcial M, Jatene A. Reversible pulmonary artery banding with a balloon catheter; assessment of rapid pulmonary ventricular hypertrophy. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2000;120:66-72.

Babu-Narayan SV, Kilner PJ, Li W, Moon JC, Goktekin O, Davlouros PA, Khan M, Ho SY, Pennell DJ, Gatzoulis MA. Ventricular fibrosis suggested by cardiovascular magnetic resonance in adults with repaired tetralogy of Fallot and its relationship to adverse markers of clinical outcome. *Circulation.* 2006;113:405-13.

Backer CL, Stewart RD, Mavroudis C. What is the best technique for repair of complete atrioventricular canal? *Semin Thorac Cardiovasc Surg.* 2007;19:249-57. Review.

Barbero-Marcial M. Classification of pulmonary atresia with ventricular septal defect. *Ann Thorac Surg.* 2001;72:316-7.

Becker AE, Connor M, Anderson RH. Tetralogy of Fallot: a morphometric and geometric study. *Am J Cardiol.* 1975;35:402-12.

Béland MJ, Franklin RC, Jacobs JP, Tchervenkov CI, Aiello VD, Colan SD, Gaynor JW, Krogmann ON, Kurosawa H, Maruszewski B, Stellin G, Weinberg PM. Update from the International Working Group for Mapping and Coding of Nomenclatures for Paediatric and Congenital Heart Disease. *Cardiol Young.* 2004;14:225-9.

Beltrami CA, Finato N, Rocco M, Feruglio GA, Puricelli C, Cigola E, Quaini F, Sonnenblick EH, Olivetti G, Anversa P. Structural basis of end-stage failure in ischemic cardiomyopathy in humans. *Circulation.* 1994;89(1):151-63.

Boettler P, Claus P, Herbots L, McLaughlin M, D'hooge J, Bijmens B, Ho SY, Kececioglu D, Sutherland GR. New aspects of the ventricular septum and its function: an echocardiographic study. *Heart.* 2005;91:1343-8.

Bolger AP, Gatzoulis MA. Towards defining heart failure in adults with congenital heart disease. *Int J Cardiol.* 2004; 97: 15-23.

Bottio T, Vida V, Padalino M, Gerosa G, Stellin G. Early and long-term prognostic value of Troponin-I after cardiac surgery in newborns and children. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2006 ;30:250-5.

Boutin C, Jonas RA, Sanders SP, Wernovsky G, Mone SM, Colan SD. Rapid two-stage arterial switch operation. Acquisition of left ventricular mass after pulmonary artery banding in infants with transposition of the great arteries. *Circulation.* 1994a;90:1304-9.

Boutin C, Wernovsky G, Sanders SP, Jonas RA, Castaneda AR, Colan SD. Rapid two-stage arterial switch operation. Evaluation of left ventricular systolic mechanics late after an acute pressure overload stimulus in infancy. *Circulation*. 1994b;90:1294-303.

Brickner ME, Hillis LD, Lange RA. Congenital heart disease in adults. First of two parts. *N Engl J Med*. 2000;342:256-63. Review.

Buchhorn R, Hulpke-Wette M, Ruschewski W, Ross RD, Fielitz J, Pregla R, Hetzer R, Regitz-Zagrosek V. Effects of therapeutic beta blockade on myocardial function and cardiac remodelling in congenital cardiac disease. *Cardiol Young*. 2003;13:36-43.

Canêo LF, Dias CA, Assad RS, Abduch MCD, Aiello VD, Moreira LFP, Lourenço Filho DD, Stolf NAG. Preparo do ventrículo subpulmonar através de dois diferentes modelos ajustáveis de bandagem do tronco pulmonar: estudo experimental. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2001;16:35-48.

Carabello BA, Nakano K, Ishihara K, Kanazawa S, Biederman RW, Spann JF Jr. Coronary blood flow in dogs with contractile dysfunction due to experimental volume overload. *Circulation*. 1991;83:1063-75.

Caspari PG, Gibson K, Harris P. Collagen and the myocardium. A study of their normal development and relationship in the rabbit. *Cardiovasc Res*. 1975;9:187-9.

Caspi J, Coles JG, Rabinovich M, Cohen D, Trusler GA, Williams WG, Wilson GJ, Freedom RM. Morphological findings contributing to a failed Fontan procedure. Twelve-year experience. *Circulation*. 1990;82:IV177-IV182.

Cavalini JF, Aiello VD, Ebaid M. Ausência de conexão atrioventricular à direita. Apresentação clínica e morfológica quando o ventrículo dominante é morfológicamente direito. *Arq Bras Cardiol*. 1998; 71:793-6

Celermajer DS, Dodd SM, Greenwald SE, Wyse RK, Deanfield JE. Morbid anatomy in neonates with Ebstein's anomaly of the tricuspid valve: pathophysiologic and clinical implications. *J Am Coll Cardiol*. 1992;19:1049-53.

Chowdhury UK, Sathia S, Ray R, Singh R, Pradeep KK, Venugopal P. Histopathology of the right ventricular outflow tract and its relationship to clinical outcomes and arrhythmias in patients with tetralogy of Fallot. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2006;132:270-7.

Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodelling-concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodelling. *J Am Coll Cardiol*. 2000;35: 569-82.

---

Croti UA, Marcial ML, Tanamati C, Jatene MB, Braile DM, de Oliveira SA. Assessment of the pulmonary vascular blood supply in patients with pulmonary atresia, ventricular septal defect and aortopulmonary collateral arteries. *Arq Bras Cardiol.* 2005;84:3-9.

DATASUS- Estatísticas vitais- Mortalidade e nascidos vivos. [citada 2008 Fev 24]. Disponível em:  
<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinasc/cnv/nvuf.def>

De la Cruz MV, Giménez-Ribotta M, Saravalli O, Cayré R. The contribution of the inferior endocardial cushion of the atrioventricular canal to cardiac septation and to the development of the atrioventricular valves: study in the chick embryo. *Am J Anat.* 1983;166:63-72.

De la Cruz MV, Muñoz-Castellanos L, Nadal-Ginard B. Extrinsic factors in the genesis of congenital heart disease. *Br Heart J.* 1971;33:203-13.

De Leval MR. The Fontan circulation: What have we learned? What to expect? *Pediatr Cardiol.* 1998;19: 316-320.

Deanfield JE, Ho SY, Anderson RH, McKenna WJ, Allwork SP, Hallidie-Smith KA. Late sudden death after repair of tetralogy of Fallot: a clinicopathologic study. *Circulation.* 1983;67:626-31.

Deanfield JE, Tommasini G, Anderson RH, Macartney FJ. Tricuspid atresia: analysis of coronary artery distribution and ventricular morphology. *Br Heart J.* 1982;48:485-92.

Dias CA, Assad RS, Caneo LF, Abduch MCD, Aiello VD, Dias AR, Barbero-Marcial M, Oliveira SA. Reversible pulmonary trunk banding II. An experimental model for rapid pulmonary ventricular hypertrophy. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2002;124:999-1006.

Dowell RT, McManus RE. Pressure-induced cardiac enlargement in neonatal and adult rats. *Circ Res.* 1978;42:303-10.

Drenthen W, Pieper PG, Roos-Hesselink JW, van Lottum WA, Voors AA, Mulder BJ, van Dijk AP, Vliegen HW, Yap SC, Moons P, Ebels T, van Veldhuisen DJ; ZAHARA Investigators. Outcome of pregnancy in women with congenital heart disease: a literature review. *J Am Coll Cardiol.* 2007;49:2303-11.

Duncan BW, Mee RB. Management of the failing systemic right ventricle. *Semin Thorac Cardiovasc Surg.* 2005;17:160-9.

---

Ebaid M , Cavalini JF, Aiello VD. Absent right atrioventricular connection with the left atrium connected to a left-sided dominant right ventricle - Anatomical and functional aspects in four cases. *Cardiol Young*. 1994; 4:381-5

Ellison GM, Torella D, Karakikes I, Nadal-Ginard B. Myocyte death and renewal: modern concepts of cardiac cellular homeostasis. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2007;4 (Suppl 1):S52-9.

Fogel MA, Gupta KB, Weinberg PM, Hoffman EA. Regional wall motion and strain analysis across stages of Fontan reconstruction by magnetic resonance tagging. *Am J Physiol*. 1995;269:H1132-H1152.

Fontan F, Baudet E. Surgical repair of tricuspid atresia. *Thorax*. 1971; 26: 240-248.

Frangogiannis NG, Michael LH, Entman ML. Myofibroblasts in reperfused myocardial infarcts express the embryonic form of smooth muscle myosin heavy chain (SMemb). *Cardiovasc Res*. 2000; 48: 89–100.

Franklin RCG, Jacobs JP, Krogmann ON, Béland MJ, Aiello VD, Colan SD, Elliott MJ, Gaynor JW, Kurosawa H, Maruszewski B, Stellin G, Tchervenkov CI, Walters III HL, Weinberg P, and Anderson RH. Nomenclature: Historical Perspectives and the International Paediatric and Congenital Cardiac Code. *Cardiol Young*. 2008- no prelo.

Freedom R M, Akagi T, Benson LN. The potentially obstructive subaortic region and pulmonary artery banding:selected observations in the patient considered for a Fontan algorithm. *Cardiol Young*. 1993;3:91-97.

Freedom RM, Hamilton R, Yoo SJ, Mikalilian H, Benson LN, Mccrindle B, Justino H, Williams WG. The Fontan procedure: analysis of cohorts and late complications. *Cardiol Young*. 2000;10:307-331.

Friedman AH, Fahey JT. The transition from fetal to neonatal circulation: normal responses and implications for infants with heart disease. *Semin Perinatol*. 1993;17:106-21.

Gatzoulis MA, Balaji S, Webber SA, Siu SC, Hokanson JS, Poile C, Rosenthal M, Nakazawa M, Moller JH, Gillette PC, Webb GD, Redington AN. Risk factors for arrhythmia and sudden cardiac death late after repair of tetralogy of Fallot: a multicentre study. *Lancet*. 2000b;356(9234):975-81.

Gatzoulis MA, Clark AL, Cullen S, Newman CG, Redington AN. Right ventricular diastolic function 15 to 35 years after repair of tetralogy of Fallot. Restrictive physiology predicts superior exercise performance. *Circulation*. 1995a;91:1775-81.

---

Gatzoulis MA, Elliott JT, Guru V, Siu SC, Warsi MA, Webb GD, Williams WG, Liu P, McLaughlin PR. Right and left ventricular systolic function late after repair of tetralogy of Fallot. *Am J Cardiol.* 2000a;86:1352-7.

Gatzoulis MA, Till JA, Somerville J, Redington AN. Mechanoelectrical interaction in tetralogy of Fallot: QRS prolongation relates to right ventricular size and predicts malignant ventricular arrhythmias and sudden death. *Circulation.* 1995b;92:231-7.

Gentles T. L., Mayer J. E., Jr.; Gauvreau K.; Newburger J. W.; Lock J. E.; Kupferschmid J. P.; Burnett J.; Jonas R. A.; Castaneda A. R.; Wernovsky G. Fontan operation in five hundred consecutive patients: factors influencing early and late outcome. *J Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1997;114:376-391.

Gerdes AM, Clark LC, Capasso JM. Regression of cardiac hypertrophy after closing an aortocaval fistula in rats. *Am J Physiol.* 1995;268(6 Pt 2):H2345-51.

Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker HH, Schwab U, Stein H. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol.* 1984;133:1710-5.

Gittenberger-de Groot AC, Bartelings MM, Deruiter MC, Poelmann RE. Basics of cardiac development for the understanding of congenital heart malformations. *Pediatr Res.* 2005;57:169-76.

Gittenberger-de Groot AC, Sauer U, Bindl L, Babic R, Essed CE, Bühlmeier K. Competition of coronary arteries and ventriculo-coronary arterial communications in pulmonary atresia with intact ventricular septum. *Int J Cardiol.* 1988;18:243-58.

Heil M, Eitenmüller I, Schmitz-Rixen T, Schaper W. Arteriogenesis versus angiogenesis: similarities and differences. *J Cell Mol Med.* 2006;10:45-55. Review.

Higuchi ML, Fukasawa S, De Brito T, Parzianello LC, Bellotti G, Ramires JA. Different microcirculatory and interstitial matrix patterns in idiopathic dilated cardiomyopathy and Chagas' disease: a three dimensional confocal microscopy study. *Heart.* 1999;82:279-85.

Ho SY, Jackson M, Kilpatrick L, Smith A, Gerlis LM. Fibrous matrix of ventricular myocardium in tricuspid atresia compared with normal heart. A quantitative analysis. *Circulation.* 1996;94:1642-6.

Hochman JS, Bulkley BH. Expansion of acute myocardial infarction; an experimental study. *Circulation.* 1982;65:1446-50.



---

Hoffman, JIE. Incidence, mortality and natural history. In: Anderson RH, Baker EJ, Macartney FJ, Rigby ML, Shinebourne EA, Tynan M, Eds. Paediatric Cardiology. 2<sup>nd</sup> Edition. London: Churchill Livingstone; 2002. p.111-139.

Huhta JC, Edwards WD, Feldt RH, Puga FJ. Left ventricular wall thickness in complete transposition of the great arteries. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1982;84:97-101.

Ilbawi MN, Idriss FS, DeLeon SY, Muster AJ, Gidding SS, Duffy E, Paul MH. Preparation of the left ventricle for anatomical correction in patients with simple transposition of the great arteries. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1987;94:87-94.

Izumo S, Nadal-Ginard B, Mahdavi V. Protooncogene induction and reprogramming of cardiac gene expression produced by pressure overload. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1988;85:339-43.

Jacobs JP, Maruszewski B, Tchervenkov CI, Lacour-Gayet FG, Jacobs ML, Clarke DR, Gaynor JW, Spray TL, Stellin G, Elliott MJ, Ebels T, Franklin RC, Béland MJ, Kurosawa H, Aiello VD, Colan SD, Krogmann ON, Weinberg P, Tobota Z, Dokholyan RS, Peterson ED, Mavroudis C. The current status and future directions of efforts to create a global database for the outcomes of therapy for congenital heart disease. *Cardiol Young.* 2005;15 (Suppl 1):190-7. Review.

Jacobs JP, Maruszewski B; European Association for Cardio-thoracic Surgery-Society of Thoracic Surgeons Joint Congenital Heart Surgery Nomenclature and Database Committee. Computerized outcomes analysis for congenital heart disease. *Curr Opin Pediatr.* 2005;17:586-91. Review.

James TN. Normal and abnormal consequences of apoptosis in the human heart. *Annu Rev Physiol.* 1998;60:309-25.

Jatene AD, Fontes VF, Paulista PP, de Souza LC, Neger F, Galantier M, Souza JE. Successful anatomic correction of transposition of the great vessels. Preliminary report. *Arq Bras Cardiol.* 1975;28:461-64.

Jatene AD, Fontes VF, Paulista PP, Souza LC, Neger F, Galantier M, Sousa JE. Anatomic correction of transposition of the great vessels. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1976 ;72:364-70.

Jimenez M, Espil G, Thambo JB, Choussat A . Outcome of operated Fallot's tetralogy. *Arch Mal Coeur Vaiss.* 2002;95:1112-8.

Jonas RA, Giglia TM, Sanders SP, Wernovsky G, Nadal- Ginard B, Mayer JE, Castaneda AR. Rapid, two- stage arterial switch for transposition of the

---

great arteries and intact ventricular septum beyond the neonatal period. *Circulation*. 1989;80(Suppl I):I-203-I-208

Jones M, Ferrans VJ, Morrow AG, Roberts WC. Ultrastructure of crista supraventricularis muscle in patients with congenital heart diseases associated with right ventricular outflow tract obstruction. *Circulation*. 1975;51:39-67.

Khairy P, Fernandes SM, Mayer JE Jr, Triedman JK, Walsh EP, Lock JE, Landzberg MJ. Long-term survival, modes of death, and predictors of mortality in patients with Fontan surgery. *Circulation*. 2008;117:85-92.

Korup E, Dalsgaard D, Nyvad O, Jensen TM, Toft E, Berning J. Comparisons of degrees of left ventricular dilation within 3 hours and up to 6 days after onset of first acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 1997;80:449.

Kvasnicka J, Vokrouhlicky L. Heterogeneity of the myocardium. Function of the left and right ventricle under normal and pathological conditions. *Physiol Res*. 1991; 40:31-7.

Lacour-Gayet F, Piot D, Zoghbi J, Serraf A, Gruber P, Macé L, Touchot A, Planché C. Surgical management and indication of left ventricular retraining in arterial switch for transposition of the great arteries with intact ventricular septum. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2001;20:824-9.

Le Bret E, Lupoglazoff JM, Borenstein N, Fromont G, Laborde F, Bachet J, Vouhé P. Cardiac "fitness" training: an experimental comparative study of three methods of pulmonary artery banding for ventricular training. *Ann Thorac Surg*. 2005;79:198-203.

Leri A, Barlucchi L, Limana F, Deptala A, Darzynkiewicz Z, Hintze TH, Kajstura J, Nadal-Ginard B, Anversa P. Telomerase expression and activity are coupled with myocyte proliferation and preservation of telomeric length in the failing heart. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98:8626-31.

Li F, Wang X, Capasso JM, Gerdes AM. Rapid transition of cardiac myocytes from hyperplasia to hypertrophy during postnatal development. *J Mol Cell Cardiol*. 1996; 28:1737-46.

Li YY, Feldman AM, Sun Y, McTiernan CF. Differential expression of tissue inhibitors of metalloproteinases in the failing human heart. *Circulation*. 1998;98:1728-34.

Manabe I, Shindo T, Nagai R. Gene Expression in Fibroblasts and Fibrosis. Involvement in Cardiac Hypertrophy. *Circ Res*. 2002; 91:1103-13.

Marijjanowski M. M., Van Der Loos C. M., Mohrschladt M. F., Becker A. E. The neonatal heart has a relatively high content of total collagen and type I

---

collagen, a condition that may explain the less compliant state. *J Am Coll Cardiol.* 1994; 23:1204-8.

McLean M, Ross MA, Prothero J. Three-dimensional reconstruction of the myofiber pattern in the fetal and neonatal mouse heart. *Anat Rec.* 1989;224:392-406.

Medugorac I. Collagen content in different areas of normal and hypertrophied rat myocardium. *Cardiovasc Res.* 1980;14:551-4.

Mesquita SF, Snitcowsky R, Lopes AA. Right ventricular structure and function as possible determinants of surgical outcome 30 years after repair of tetralogy of Fallot. *Arq Bras Cardiol.* 2003;81:453-61.

Mottl-Link S, Boettger T, Krueger JJ, Rietdorf U, Schnackenburg B, Ewert P, Berger F, Nagel E, Meinzer HP, Juraszek A, Kuehne T, Wolf I. Images in cardiovascular medicine. Cast of complex congenital heart malformation in a living patient. *Circulation.* 2005;112:e356-7.

Neirotti R, Galindez E, Kreutzer G, Rodriguez Coronel A, Pedrini M, Becu L. Tetralogy of Fallot with subpulmonary ventricular septal defect. *Ann Thorac Surg.* 1978;25:51-6.

Nishikawa T, Sekiguchi M, Takao A, Ando M, Hiroe M, Morimoto S, Kasajima T. Histopathological assessment of endomyocardial biopsy in children: Semiquantitative study on the hypertrophy of cardiac myocytes. *Am J Cardiovasc Pathol.* 1990;3:5-11

Norgård G, Gatzoulis MA, Josen M, Cullen S, Redington AN. Does restrictive right ventricular physiology in the early postoperative period predict subsequent right ventricular restriction after repair of tetralogy of Fallot? *Heart.* 1998;79:481-4.

Olivetti G, Cigola E, Maestri R, Corradi D, Lagrasta C, Gambert SR, Anversa P. Aging, cardiac hypertrophy and ischemic cardiomyopathy do not affect the proportion of mononucleated and multinucleated myocytes in the human heart. *J Mol Cell Cardiol.* 1996;28:1463-77.

Oosthoek PW, Moorman AF, Sauer U, Gittenberger-de Groot AC. Capillary distribution in the ventricles of hearts with pulmonary atresia and intact ventricular septum. *Circulation.* 1995;91:1790-8.

Penny DJ, Rigby ML, Redington AN. Abnormal patterns of intraventricular low and diastolic filling after the Fontan operation: evidence for incoordinate ventricular wall motion. *Br. Heart J.* 1991;66:375-8.

Perloff JK, Latta H, Barsotti P. Pathogenesis of the glomerular abnormality in cyanotic congenital heart disease. *Am J Cardiol.* 2000;86:1198-204.

Peters TH, Sharma HS, Yilmaz E, Bogers AJ. Quantitative analysis of collagens and fibronectin expression in human right ventricular hypertrophy. *Ann N Y Acad Sci.* 1999; 874:278-85.

Rakusan K. Verification of coronary angiogenesis by quantitative morphology. *Mol Cell Biochem.* 2004;264(1-2):45-9. Review.

Rakusan K, Flanagan MF, Geva T, Southern J, Van Praagh R. Morphometry of human coronary capillaries during normal growth and the effect of age in left ventricular pressure-overload hypertrophy. *Circulation.* 1992; 86: 38-46.

Rashkind WJ, Miller WW. Creation of an atrial septal defect without thoracotomy. A palliative approach to complete transposition of the great arteries. *JAMA.* 1966; 196:991-2.

Regan CP, Anderson PG, Bishop SP, Berecek KH. Captopril prevents vascular and fibrotic changes but not cardiac hypertrophy in aortic-banded rats. *Am J Physiol.* 1996;271(3 Pt 2):H906-13.

Report of the British Cardiac Society Working Party. Grown-up congenital heart (GUCH) disease: current needs and provision of service for adolescents and adults with congenital heart disease in the UK. *Heart.* 2002;88 (Suppl 1):i1-14.

Rossi MA. Pathologic fibrosis and connective tissue matrix in left ventricular hypertrophy due to chronic arterial hypertension in humans. *J Hypertens.* 1998a;16:1031-41

Rossi MA. Fibrosis and inflammatory cells in human chronic chagasic myocarditis: scanning electron microscopy and immunohistochemical observations. *Int J Cardiol.* 1998b;66:183-94.

Rossi MA. Patterns of myocardial fibrosis in idiopathic cardiomyopathies and chronic Chagasic cardiopathy. *Can J Cardiol.* 1991;7:287-94.

Rossi MA, Peres LC. Effect of captopril on the prevention and regression of myocardial cell hypertrophy and interstitial fibrosis in pressure overload cardiac hypertrophy. *Am Heart J.* 1992;124:700-9.

Rudolph AM. Distribution and regulation of blood flow in the fetal and neonatal lamb. *Circ Res.* 1985; 57:811-21.

Rudolph AM. The changes in the circulation after birth. *Circulation.* 1970;41:343-59.

Ruzicka M, Keeley FW, Leenen FH. The renin-angiotensin system and volume overload-induced changes in cardiac collagen and elastin. *Circulation*. 1994;90:1989-96.

Sabbah HN, Goldstein S. Ventricular remodelling: consequences and therapy. *Eur Heart J*. 1993;14 (Suppl C):24-9. Review.

Salih C, McCarthy KP, Ho SY. The fibrous matrix of ventricular myocardium in hypoplastic left heart syndrome: a quantitative and qualitative analysis. *Ann Thorac Surg*. 2004a;77:36-40.

Salih C, Sheppard MN, Ho SY. Morphometry of coronary capillaries in hypoplastic left heart syndrome. *Ann Thorac Surg*. 2004b;77:903-7

Sanchez-Quintana D, Anderson RH, Ho SY. Ventricular myoarchitecture in tetralogy of Fallot. *Heart*. 1996;76:280–6.

Sanchez-Quintana D, Climent V, Ho SY, Anderson RH. Myoarchitecture and connective tissue in hearts with tricuspid atresia. *Heart*. 1999;81:182–91

Sarkar S, Chawla-Sarkar M, Young D, Nishiyama K, Rayborn ME, Hollyfield JG, et al. myocardial cell death and regeneration during progression of cardiac hypertrophy to heart failure. *J Biol Chem*. 2004; 279:52630-42.

Savona-Ventura C, Grech V. Concepts in cardiology – a historical perspective. *Images Paediatr Cardiol*. 1999;1:22-31

Sidi D, Planché C, Kachaner J, Villain E, Lacour-Gayet F. Anatomic correction of simple TGA in 50 neonates. *Circulation*. 1987;75:429-35.

Soonpaa MH, Field LJ. Survey of studies examining mammalian cardiomyocyte DNA synthesis. *Circ Res*. 1998;83:15-26. Review.

Stolf NA. Congenital heart surgery in a developing country: a few men for a great challenge. *Circulation*. 2007;116:1874-5.

Sutton MS, Keane MG. Reverse remodelling in heart failure with cardiac resynchronisation therapy. *Heart*. 2007;93:167-71.

Tomanek RJ, Torry RJ. Growth of the coronary vasculature in hypertrophy: mechanisms and model dependence. *Cell Mol Biol Res*. 1994;40:129-36. Review.

Torrent-Guasp F, Buckberg GD, Clemente C, et al. The structure and function of the helical heart and its buttress wrapping: the normal macroscopic structure of the heart. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*. 2001;13:301–19.

Tsuchimochi H, Kurimoto F, Ieki K, Koyama H, Takaku F, Kawana M, Kimata S, Yazaki Y. Atrial natriuretic peptide distribution in fetal and failed adult human hearts. *Circulation*. 1988;78:920-7.

Urabe Y, Mann DL, Kent RL, Nakano K, Tomanek RJ, Carabello BA, Cooper G 4th. Cellular and ventricular contractile dysfunction in experimental canine mitral regurgitation. *Circ Res*. 1992;70:131-47.

Van Praagh R, David I, Van Praagh S. What is a ventricle? The single-ventricle trap. *Pediatr Cardiol*. 1982;2:79-84.

Van Praagh R. The segmental approach to diagnosis in congenital heart disease. *Birth Defects original article series* 1972; 8: 4–23.

Vitarelli A, Conde Y, Cimino E, D'Angeli I, D'Orazio S, Ventriglia F, Bosco G, Colloridi V. Quantitative assessment of systolic and diastolic ventricular function with tissue Doppler imaging after Fontan type of operation. *Int J Cardiol*. 2005;102:61-9.

Vogel M, Yates R, Deanfield J, Redington AN. Noninvasive detection of incoordinate wall motion in patients after the Fontan operation. *Eur Heart J*. 2000; 21(Suppl): 434.

Wang QD, Bohlooly-Y M, Sjöquist PO. Murine models for the study of congestive heart failure: Implications for understanding molecular mechanisms and for drug discovery. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2004; 50:163-74. Review.

Weber KT, Brilla CG. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system. *Circulation*. 1991;83:1849-65. Review.

Weber KT, Pick R, Silver MA, Moe GW, Janicki JS, Zucker IH, Armstrong PW. Fibrillar collagen and remodeling of dilated canine left ventricle. *Circulation*. 1990;82:1387-401.

Yacoub M, Radley-Smith R, Maclaurin R. Two stage operation for anatomical correction of TGA-IVS. *Lancet*. 1977;1:1275–1278.

Yu CM, Sanderson JE, Marwick TH, Oh JK. Tissue Doppler imaging a new prognosticator for cardiovascular diseases. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49:1903-14.

Zorc M, Vraspir-Porenta O, Zorc-Pleskovic R, Radovanović N, Petrovic D. Apoptosis of myocytes and proliferation markers as prognostic factors in end-stage dilated cardiomyopathy. *Cardiovasc Pathol*. 2003;12:36-9.

**8. ANEXOS**

**Anexo1**

## *The International Working Group for Mapping and Coding of Nomenclatures for Paediatric and Congenital Heart Disease*

---

### Update from The International Working Group for Mapping and Coding of Nomenclatures for Paediatric and Congenital Heart Disease

Marie J. Béland,<sup>1</sup> Rodney C. G. Franklin,<sup>2</sup> Jeffrey P. Jacobs,<sup>3</sup> Christo I. Tchervenkov,<sup>4</sup> Vera D. Aiello,<sup>5</sup> Steven D. Colan,<sup>6</sup> J. William Gaynor,<sup>7</sup> Otto N. Krogmann,<sup>8</sup> Hiromi Kurosawa,<sup>9</sup> Bohdan Maruszewski,<sup>10</sup> Giovanni Stellin,<sup>11</sup> Paul M. Weinberg<sup>12</sup>

<sup>1</sup>Division of Paediatric Cardiology, The Montreal Children's Hospital of the McGill University Health Centre, Montreal, Canada; <sup>2</sup>Paediatric Cardiology Directorate, Royal Brompton and Harefield NHS Trust, Middlesex, UK; <sup>3</sup>The Congenital Heart Institute of Florida (CHIF), Division of Thoracic and Cardiovascular Surgery, All Children's Hospital/University of South Florida College of Medicine, St-Petersburg, FL, USA; <sup>4</sup>Division of Pediatric Cardiovascular Surgery, The Montreal Children's Hospital of the McGill University Health Centre, Montreal, Canada; <sup>5</sup>Heart Institute (InCor), Sao Paulo University School of Medicine, Sao Paulo – SP, Brazil; <sup>6</sup>Department of Cardiology, Children's Hospital, Boston, MA, USA; <sup>7</sup>Cardiac Surgery, Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, PA, USA; <sup>8</sup>Paediatric Cardiology – CHD, Heart Center Duisburg, Duisburg, Germany; <sup>9</sup>Cardiovascular Surgery, Heart Institute of Japan, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan; <sup>10</sup>The Children's Memorial Health Institute, Department of Cardiothoracic Surgery, Warsaw, Poland; <sup>11</sup>Pediatric Cardiac Surgery Unit – University of Padova Medical School, Padova, Italy; <sup>12</sup>Division of Pediatric Cardiology, The Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, PA, USA

**T**HE FIRST INTERNATIONAL SUMMIT ON Nomenclature for Congenital Heart Disease was held on 27 May, 2001, in Toronto, Canada, just prior to the 3rd World Congress of Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery. At the Summit, enthusiastic and virtually unanimous support was expressed for the development of a unified system for describing congenital cardiac malformations, as well as the related procedures used to palliate or correct them. At the meeting of the International Nomenclature Committee for Paediatric and Congenital Heart Disease that immediately followed the Summit, a working group was appointed and given the

following tasks:

- Finalise the crossmap of the nomenclature “Short Lists” of the European Paediatric Cardiac Code<sup>1</sup> and the International Congenital Heart Surgery Nomenclature and Database Project,<sup>2</sup> both published in 2000.
- Crossmap the “Long Lists” and develop a single “super-tree” of nomenclature, to be called the International Paediatric and Congenital Cardiac Code, by the time of the next World Congress in Buenos Aires, Argentina.
- Report back to the International Committee to diffuse information about progress.

---

The International Working Group for Mapping and Coding of Nomenclatures for Paediatric and Congenital Heart Disease is supported in part by grants from the Canadian Institutes of Health Research (the Institute of Circulatory and Respiratory Health), the Heart and Stroke Foundation of Canada, and The Montreal Children's Hospital Foundation

Correspondence to: Dr Marie Béland, The Montreal Children's Hospital of the McGill University Health Centre, 2300 Tupper Street, Room D-365, Montreal, Quebec, Canada H4X 2G1. Tel: +1 (514) 412 4423; Fax: +1 (514) 412 4391; E-mail: marie.j.beland@muhc.mcgill.ca

Accepted for publication 24 November 2003

Mid-way through the time allotted to complete these tasks, therefore, we present a brief update on the progress of the working group to date. For additional details, we refer the reader to a full report outlining the background and events leading to the founding of the International Nomenclature Project for Paediatric and Congenital Heart Disease (Fig. 1), published in *Cardiology in the Young* in 2002.<sup>3</sup>





**Figure 1.**  
*Logo for the International Nomenclature Project for Paediatric and Congenital Heart Disease, presented at the First International Summit on Nomenclature for Congenital Heart Disease, May 27, 2001.*

### The Nomenclature Working Group

Six members were originally appointed to become the International Working Group for Mapping and Coding of Nomenclatures for Paediatric and Congenital Heart Disease. They were Vera D. Aiello, from Sao Paulo, Brazil; Marie J. Béland, from Montreal, Canada; Steven D. Colan, from Boston, USA; Rodney C. G. Franklin, from London, UK; Jeffrey P. Jacobs, from St. Petersburg, USA; and Christo I. Tchervenkov, from Montreal, Canada. To enhance international representation, and balance the number of surgical versus non-surgical members, an additional six individuals were added to the group. They were: J. William Gaynor, from Philadelphia, USA; Otto N. Krogmann, from Duisburg, Germany; Hiromi Kurosawa, from Tokyo, Japan; Bohdan Maruszewski, from Warsaw, Poland; Giovanni Stellin, from Padova, Italy; and Paul M. Weinberg, from Philadelphia, USA.

Since its inception, the Working Group has met four times, with each meeting lasting from three to five days. The first three meetings were held in Canada, while the fourth was held in Brazil. We have planned three more meetings to be held prior to the 4th World Congress of Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery in Argentina, which itself will be held in September, 2005 (Table 1).

### Crossmapping the Nomenclature Lists and building the International Paediatric and Congenital Cardiac Code

#### *Crossmapping the "Short Lists"*

The "Short Lists" of the European Paediatric Cardiac Code<sup>1</sup> and the International Congenital Heart Surgery

Table 1. Meetings of the Nomenclature Working Group.

Location	Date
Montreal, Canada	May 9–13, 2002
Montreal, Canada	January 17–19, 2003
Lake Louise, Canada	April 2–6, 2003
Recife, Brazil	December 10–14, 2003
Warsaw, Poland	Planned for July 2004
Montreal, Canada	Planned for December 2004
Saint Petersburg, USA	Planned for May 2005
Buenos Aires, Argentina	Planned for September 2005

Nomenclature and Database Project<sup>2</sup> were bidirectionally crossmapped by the Executive of the Nomenclature Working Group, made up of Marie J. Béland, Rodney C. G. Franklin, Jeffrey P. Jacobs, and Christo I. Tchervenkov. This work resulted in the publication of the two-way crossmap in 2002.<sup>4,5</sup>

The United Kingdom Central Cardiac Audit Database collects congenital heart surgery outcome data using the Short List established by the Association of European Paediatric Cardiology, also known as the European Paediatric Cardiac Code. The European Association for Cardio-thoracic Surgery Database collects data relating to the outcomes of surgery for congenital cardiac malformations using the Short List established by the International Congenital Heart Surgery Nomenclature and Database Project. The bidirectional crossmap between these two short lists will permit centres or surgeons coding in either system to submit data to both registries with one institutional database. Efforts are currently underway by the United Kingdom Central Cardiac Audit Database to facilitate this process, which would represent the first multi-institutional clinical application of the crossmaps.

#### *Crossmapping the "Long Lists"*

The crossmapping of the "Long Lists" is currently being carried out by the Nomenclature Working Group at semi-annual meetings. Prior to each meeting, the executive members of the group prepare an agenda listing the lesions to be reviewed. The lesions are selected from the table of contents of the International Congenital Heart Surgery Nomenclature and Database Project.<sup>2</sup> A member of the Working Group is assigned a lesion to review, and is expected to present the pertinent related nomenclatures, highlighting synonymous terms, and/or any controversies that may exist among the schemes for classification already extant. After each presentation to the group, the entries from the long list of the International Congenital Heart Surgery Nomenclature and Database Project are crossmapped one by one to equivalent terms from the European Paediatric Cardiac Code.

If there is no equivalent term, one is added, along with a numeric code conforming to the method of numerical codification of the European Paediatric Cardiac Code. The process of crossmapping is then carried out in the reverse direction, such that each entry from the long list of the European Paediatric Cardiac Code is reviewed, and its equivalency is sought on the list of the International Congenital Heart Surgery Nomenclature and Database Project. Omissions to the latter list are then added.

During the process of bidirectional crossmapping between the “Long Lists”, additional entries may be suggested from the collective expertise of the members of the Nomenclature Working Group, including terms that appear in the Nomenclature Tree of the Canadian Pediatric Cardiology Association, as yet unpublished, and the Fyler codes from Boston, also unpublished.

Each meeting of the Working Group begins with a session for the detailed review of lesions discussed at previous meetings. This half-day session is entitled “Omissions and Errors”. Its purpose is to have a second look at lesions already crossmapped, so as to ensure the completeness and accuracy of the process. Lesions and related procedures discussed during the first four meetings of the group are shown in Table 2. Through this elaborate and collaborative effort, we are meticulously constructing the International Paediatric and Congenital Cardiac Code.

### The International Classification of Diseases of the World Health Organization

Paediatric cardiologists and cardiac surgeons have long considered that the nomenclature and codes of the *International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, Ninth and Tenth Revisions*, known as “ICD-9” and “ICD-10”, provide insufficient detail for reporting lesions pertinent to their practice. In addition, cardiac procedures are not covered in the official versions provided by the World Health Organization. Notwithstanding these limitations, hospital administrators in many countries continue to require that these International Classifications be used. To reconcile the needs of paediatric cardiologists and cardiac surgeons with those of administrators, the International Paediatric and Congenital Cardiac Code will be crossmapped to both the Ninth and Tenth Revisions.

The World Health Organization has been apprised of the work of our Group. The Update Reference Committee of the World Health Organization recently consulted the group to clarify the classification of Eisenmenger syndrome and Eisenmenger defect for their deliberations in October, 2003. We anticipate still further collaboration with the World Health

Table 2. Lesions and related procedures reviewed to date and to be reviewed.

---

#### First Four Meetings

1. Interatrial Communications
2. Ventricular Septal Defects
3. Atrioventricular Septal Defects
4. Aortopulmonary Windows
5. Common Arterial Trunk (Truncus Arteriosus)
6. Pulmonary Venous Anomalies
7. Systemic Venous Anomalies
8. Tetralogy of Fallot
9. Pulmonary Atresia with Ventricular Septal Defect
10. Ebstein's Malformation and Other Tricuspid Valvar Anomalies
11. Aortic Valvar Disease
12. Mitral Valvar Anomalies
13. Aortic Aneurysm and Dissection
14. Hypoplastic Left Heart Syndrome
15. Patency of the Arterial Duct

#### Next Three Meetings

1. Right Ventricular Outflow Tract Obstruction with an Intact Ventricular Septum
2. Functionally Univentricular Heart
3. Concordant Atrioventricular Connections with Discordant Ventriculo-arterial Connections (Transposition of the Great Arteries)
4. Congenitally Corrected Transposition
5. Double Outlet Right Ventricle
6. Double Outlet Left Ventricle
7. Aorto-ventricular Tunnel
8. Coarctation of the Aorta, Interrupted Aortic Arch
9. Vascular Rings
10. Cardiac Malpositions

#### Future Meetings After Fourth World Congress

1. Cardiomyopathies and End-stage Congenital Heart Disease
  2. Diseases of the Pericardium
  3. Coronary Arterial Abnormalities
  4. Arrhythmias
  5. Interventional Procedures
  6. End-stage Lung Disease
  7. Cardiac Tumours
  8. Fetal Cardiology
  9. Adults with Congenital Heart Disease
  10. Paediatric Critical Cardiac Care
- 

Organization, and hope that this will result in the dissemination by the World Health Organization of lists of names that are more practical for the fields of paediatric and congenital cardiology and cardiac surgery.

### Goals of the Working Group for 2004 and 2005

#### *Completion of the crossmap of congenital heart disease and related procedures*

We expect to have crossmapped, in bidirectional fashion, the remaining major cardiac lesions by September, 2005. Several challenging lesions have yet to be discussed, including “functionally single ventricle” and “double outlet right ventricle” (Table 2).

### *Ensuring global understanding of, and support for, The International Nomenclature Project*

It is planned that, during 2004, all of the main national and continental organizations with responsibilities for children and adults with congenital heart disease will be contacted by the International Nomenclature Committee, informing them formally of our ongoing project. It is hoped that the aims of the International Nomenclature Committee, with its Working Group, will be both endorsed and supported, and that this endorsement will then be cascaded down to the individual members of these various bodies.

### *Obtaining further funding*

Funding for the first four meetings of the Nomenclature Working Group was generously provided, in part, by the Canadian Institutes of Health Research, the Heart and Stroke Foundation of Canada, and the Montreal Children's Hospital Foundation. Additional funding will be sought for the support of future meetings.

### *Cooperation and integration with other international projects relating to nomenclature*

Our group is aware that the *Systematized Nomenclature of Medicine Clinical Terms*, also known as the SNOMED CT project, which details terms with a numerical coding system from across all medical specialties, has major sections on paediatric cardiology and cardiac surgery. This system was originally developed by the College of American Pathologists,<sup>6</sup> and has more recently amalgamated with the Clinical Terms Version 3 developed in the United Kingdom, and formally known as the Read coding system, with an aim to become an integral part of the electronic patient record on both sides of the Atlantic.<sup>7</sup> The Working Group plans to link with the further development of this important system so as to have the final International Paediatric and Congenital Cardiac Code integrated into the Systematized Nomenclature of Medicine Clinical Terms.

### *Organization of the Second Summit*

The Second International Summit on Nomenclature for Paediatric and Congenital Heart Disease will be organized by the Working Group, and will be held during the 4th World Congress of Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery in Buenos Aires, Argentina. This will take place from September 18–22, 2005. It is anticipated that this will be the launch of the International Paediatric and Congenital Cardiac Code, a global venture to harmonize the various

disparate systems for coding and nomenclature that exist throughout the world. We expect that this will enable transcontinental cooperative studies further to advance the fields of paediatric cardiology and cardiac surgery.

### **The Future After the 4th World Congress**

The Working Group will be planning the next phase of its work after the next meeting of the International Committee, which will take place during the Second International Summit, planned for the World Congress in September, 2005. Interventional procedures, arrhythmias, cardiac tumours, cardiomyopathies, fetal congenital cardiac disease, and adults with congenital heart disease, are but some of the topics remaining to be reviewed after the World Congress.

Provision must be made for the renewal of the membership of the Nomenclature Working Group, and for the upkeep and revision of the International Paediatric and Congenital Cardiac Code. The "super-tree" of nomenclature for paediatric and congenital cardiac disease not only needs to be completed, but also a solid foundation needs to be established for continued revitalization and growth of the tree as new concepts, discoveries, and developments evolve. Much work remains to be done, and continued support of the project by the paediatric cardiologic and cardiovascular communities is much appreciated. Further concerted efforts will continue to ensure the successful completion and adoption of the International Paediatric and Congenital Cardiac Code across the world.

### **Acknowledgments**

The Nomenclature Working Group gratefully acknowledges the support of the Canadian Institutes of Health Research (the Institute of Circulatory and Respiratory Health), the Heart and Stroke Foundation of Canada, and The Montreal Children's Hospital Foundation.

### **References**

1. Association for European Paediatric Cardiology. The European Paediatric Cardiac Code. *Cardiol Young* 2000; 10 (Suppl 1): 1–146.
2. Mavroudis C, Jacobs JP (eds.). The International Congenital Heart Surgery Nomenclature and Database Project. *Ann Thorac Surg* 2000; 69 (S1): 1–372.
3. Béland MJ, Jacobs JP, Tchervenkov CI, Franklin RCG. The International Nomenclature Project for Paediatric and Congenital Heart Disease: Report from the Executive of The International Working Group for Mapping and Coding of Nomenclatures for Paediatric and Congenital Heart Disease. *Cardiol Young* 2002; 12: 425–430.

4. Franklin RCG, Jacobs JP, Tchervenkov CI, Béland MJ. Report from the Executive of The International Working Group for Mapping and Coding of Nomenclatures for Paediatric and Congenital Heart Disease: Bidirectional Crossmap of the Short Lists of the European Paediatric Cardiac Code and the International Congenital Heart Surgery Nomenclature and Database Project. *Cardiol Young* 2002; 12 (Suppl 2): 18–22.
5. Franklin RCG, Jacobs JP, Tchervenkov CI, Béland MJ. The International Nomenclature Project for Congenital Heart Disease: Bidirectional Crossmap of the Short Lists of the European Paediatric Cardiac Code and the International Congenital Heart Surgery Nomenclature and Database Project. *Cardiol Young* 2002; 12: 431–435.
6. College of American Pathologists; Systematized Nomenclature of Medicine, 2 vols, 2nd edn; Côté RA, editor-in-chief. College of American Pathologists, Skokie, Illinois, 1979.
7. Stearns MQ, Price C, Spackman KA, Wang AY. SNOMED clinical terms: overview of the development process and project status. *Proc AMIA Symp* 2001: 662–666.

## **Anexo 2**

## The current status and future directions of efforts to create a global database for the outcomes of therapy for congenital heart disease

Jeffrey P. Jacobs,<sup>1</sup> Bohdan Maruszewski,<sup>2</sup> Christo I. Tchervenkov,<sup>3</sup> Francois G. Lacour-Gayet,<sup>4</sup> Marshall L. Jacobs,<sup>5</sup> David R. Clarke,<sup>4</sup> J. William Gaynor,<sup>6</sup> Thomas L. Spray,<sup>6</sup> Giovanni Stellino,<sup>7</sup> Martin J. Elliott,<sup>8</sup> Tjark Ebels,<sup>9</sup> Rodney C. G. Franklin,<sup>10</sup> Marie J. Béland,<sup>3</sup> Hiromi Kurosawa,<sup>11</sup> Vera D. Aiello,<sup>12</sup> Steven D. Colan,<sup>13</sup> Otto N. Krogmann,<sup>14</sup> Paul Weinberg,<sup>6</sup> Zdzislaw Tobota,<sup>2</sup> Rachel S. Dokholyan,<sup>15</sup> Eric D. Peterson,<sup>15</sup> Constantine Mavroudis<sup>16</sup>

<sup>1</sup>The Congenital Heart Institute of Florida, University of South Florida, Saint Petersburg, Florida, United States of America; <sup>2</sup>The Department of Cardiothoracic Surgery, Children's Memorial Health Institute, Warsaw, Poland; <sup>3</sup>Cardiovascular Surgery, The Montreal Children's Hospital, McGill University Health Center, and Department of Surgery, McGill University, Montreal, Quebec, Canada; <sup>4</sup>Denver Children's Hospital, University of Colorado, Denver, Colorado, United States of America; <sup>5</sup>St Christophers Hospital for Children Drexel, University College of Medicine, Philadelphia, Pennsylvania, United States of America; <sup>6</sup>The Cardiac Center at The Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Pennsylvania, United States of America; <sup>7</sup>Pediatric Cardiac Surgery Unit, University of Padova Medical School Padova, Padova, Italy; <sup>8</sup>The Great Ormond Street Hospital for Children National Health Service Trust, London, United Kingdom; <sup>9</sup>University Hospital Groningen, Groningen, The Netherlands; <sup>10</sup>Royal Brompton & Harefield National Health Service Trust, Harefield, Middlesex, United Kingdom; <sup>11</sup>Heart Institute of Japan, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan; <sup>12</sup>Heart Institute (InCor), Sao Paulo University School of Medicine, Sao Paulo, Brazil; <sup>13</sup>Department of Cardiology, Children's Hospital, Harvard, Boston, Massachusetts, United States of America; <sup>14</sup>Paediatric Cardiology, Heart Center, Duisburg, Germany; <sup>15</sup>Duke Clinical Research Institute, Duke University Medical Center, Durham, North Carolina, United States of America; <sup>16</sup>Children's Memorial Hospital, Northwestern University, Chicago, Illinois, United States of America

**T**HERE ARE MANY REASONS FOR SEEKING TO create a global database with which to record the outcomes of therapy for congenital heart disease. Such a database can function as a tool to support a variety of purposes:

- Care of patients, since there are 500,000 new patients born worldwide with congenital cardiac disease
- Research
- Teaching
- Management of medical practises
- Allocation of resources as guided by physicians
- Analysis of outcomes as driven by physicians

The events occurring at Bristol in England,<sup>1</sup> Denver, Colorado,<sup>2–8</sup> and Winnipeg in Canada<sup>9</sup> point

clearly to the importance of the analysis of outcomes as driven by physicians.

### Initial creation of databases

During the early and mid 1990s, both the Society of Thoracic Surgeons in the North America, under the leadership of Constantine Mavroudis, and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery, under the leadership of Martin J. Elliott, created databases with which to record the outcomes of congenital cardiac surgery.<sup>10–13</sup> A number of lessons were learned from these early attempts to create multi-institutional registries.<sup>12–14</sup> Most important, it became apparent that there are four primary requirements if such databases are to facilitate meaningful multi-institutional analysis of outcomes:

- They require a common language, or nomenclature
- The collection of data should be achieved using a uniform core dataset

Correspondence to: Jeffrey P. Jacobs MD, FACS, FACC, FCCP, The Congenital Heart Institute of Florida (CHIF) and University of South Florida (USF), Cardiac Surgical Associates (CSA), 603 Seventh Street South, Suite 450, St. Petersburg, FL 33701, USA. Tel: +1 727 822 6666; Fax: +1 727 821 5994; E-mail: JeffJacobs@msn.com; Web page: <http://www.heartsurgery-csa.com/>, <http://www.CHIF.us/>

- A mechanism is required for evaluating the complexity of cases
- A mechanism is needed to verify the completeness and accuracy of the data collected

In response to the weaknesses recognized in the databases established by both the Society of Thoracic Surgeons, and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery, these two organizations<sup>12,13</sup> established the International Congenital Heart Surgery Nomenclature and Database Project. Already this effort has produced results relative to the first 2 items in the list above, and a common nomenclature, along with a common core minimal dataset, have now been adopted by the Society of Thoracic Surgeons and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery. The specifications of these items were published in 2000 in the *Annals of Thoracic Surgery*.<sup>12</sup>

### The move towards an international database

The thrust towards the establishment of an international nomenclature is now being developed further by the International Nomenclature Committee for Pediatric and Congenital Heart Disease, chaired by Martin J. Elliott, which was established on October 6, 2000. The work is undertaken specifically by its subcommittee, the International Working Group for Mapping and Coding of Nomenclatures for Paediatric and Congenital Heart Disease, known more briefly as the Nomenclature Working Group, which is chaired by Christo I. Tchervenkov.<sup>15-20</sup> The need for the group became evident since, in 2000, almost simultaneously with the publication of the suggested international system described above, the Association for European Paediatric Cardiology also published a suggested system for nomenclature system. This coding system was the European Paediatric Cardiac Code.

Both the systems devised by the International Congenital Heart Surgery Nomenclature and Database Project, and that suggested by the Association for European Paediatric Cardiology, include a Short List and a Long List. The short lists facilitate the creation of multi-institutional registries for recording outcomes. The long lists underpin the creation of echocardiographic software, academic databases, and the electronic medical record. Since 2002, the Nomenclature Working Group has met twice each year, for one week at a time, in order to crossmap the nomenclatures and develop a single "super-tree" of nomenclature, to be termed the International Paediatric and Congenital Cardiac Code. A crossmap of the short lists has already been published.<sup>15-20</sup> A crossmap of the long lists will be presented at the

Fourth World Congress of Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery, to be held in Buenos Aires, Argentina, in September 2005.<sup>20</sup> This system of nomenclature will be made available free of charge via the Internet at [<http://www.IPCCC.NET>].

Meanwhile, the European Association for Cardio-Thoracic Surgery Congenital Heart Surgery Database [<http://www.eactscongenitaldb.org>], now under the leadership of Bohdan Maruszewski, and the Society of Thoracic Surgeons Congenital Heart Surgery Database [<http://www.sts.org>], now under the leadership of Constantine Mavroudis and Marshall Jacobs, both use the same international standardized international nomenclature and common core dataset developed by the International Congenital Heart Surgery Nomenclature and Database Project.<sup>12</sup> Since 2000, this nomenclature and database has been used by members of the two organisations to analyze the outcomes in over 40,000 patients with surgically-treated congenital cardiac disease.

Since its publication, the European Paediatric Cardiac Code, particularly the short list, has been incorporated as the nomenclature for many databases throughout Europe, including the German government-led programme of National Quality Control, and the national audit project of the Swiss Society of Paediatric Cardiology. In the United Kingdom, it is now obligatory for each paediatric cardiac centre to submit diagnostic and procedural data on all patients with congenital cardiac lesions undergoing surgical and transcatheter interventions using this same short list. This data is sent to a central body, the United Kingdom Paediatric Central Cardiac Audit Database, which then independently analyses the data to produce outcomes specific to each centre, and which is independently validated annually (see below). Currently, this involves the data from over 20,000 patients, collected over the years 2000 through 2004.

### Assessing the issue of complexity

In 1999, the Aristotle Project was conceived by Francois G. Lacour-Gayet, with input from members of the European Association for Cardio-Thoracic Surgery, the Society of Thoracic Surgeons, the European Congenital Heart Surgeons Association, formerly known as the European Congenital Heart Surgeons Foundation, and the Congenital Heart Surgeons' Society. The International Aristotle Committee eventually was created to address the third item listed above.<sup>21-24</sup> This Committee has already canvassed the opinions of a panel of experts, made up of 50 surgeons repairing congenital cardiac malformations in 23 countries, and representing multiple societies. Chaired by Francois G. Lacour-Gayet, the task of the Aristotle Committee is to overcome the

fact that, in the field of paediatric cardiac surgery, it is inadequate to analyse outcomes using raw measures of mortality without making adjustments to take note of complexity. The mix of cases submitted to operation can vary greatly from institution to institution. Without adjustment to acknowledge variability in complexity, surgeons and institutions caring for a higher proportion of patients with complex cardiac disease may be reluctant to participate in multi-institutional collaborations to determine outcomes. The goal of the Aristotle Committee is to develop a system that permits quantitation of complexity based on the fact that it is a constant feature for a particular operation in a particular patient at a

particular point in time. The method of adjustment allocates a basic score to each operation, varying from 1.5 to 15, along with a level from 1 to 4, based on the primary procedure of a given operation as selected from the short list of the nomenclature of the International Congenital Heart Surgery Nomenclature and Database Project. The basic score was calculated using the three factors of the potential for mortality, the potential for morbidity, and the technical difficulty of the operation (Table 1). Both the European Association for Cardio-Thoracic Surgery, and the Society of Thoracic Surgeons, now incorporate the basic score suggested by the Aristotle committee into their multi-institutional analyses (Table 2).<sup>25</sup>

Table 1. The basic score and basic level of complexity as used in the databases of the European Association for Cardio-Thoracic Surgery and the Society of Thoracic Surgeons.<sup>21-24</sup>

The Official basic complexity score					
	Score	Mortality	Morbidity	Difficulty	
	1 pt	<1%	ICU 0-24H	Elementary	
	2 pt	1-5%	ICU 1D-3D	Simple	
	3 pt	5-10%	ICU 4D-7D	Average	
	4 pt	10-20%	ICU 1W-2W	Important	
	5 pt	>20%	ICU >2W	Major	
		Total (Basic Score)	Complexity (Basic Level)		
		1.5 to 5.9	1		
		6.0 to 7.9	2		
		8.0 to 9.9	3		
		10.0 to 15.0	4		
Procedures	Total (Basic Score)	Complexity (Basic Level)	Mortality	Morbidity	Difficulty
Pleural drainage procedure	1.5	1	0.5	0.5	0.5
Bronchoscopy	1.5	1	0.5	0.5	0.5
Delayed sternal closure	1.5	1	0.5	0.5	0.5
Mediastinal exploration	1.5	1	0.5	0.5	0.5
Sternotomy wound drainage	1.5	1	0.5	0.5	0.5
Intra-aortic balloon pump (IABP) insertion	2.0	1	0.5	1.0	0.5
PFO, Primary closure	3.0	1	1.0	1.0	1.0
ASD repair, Primary closure	3.0	1	1.0	1.0	1.0
ASD repair, Patch	3.0	1	1.0	1.0	1.0
ASD partial closure	3.0	1	1.0	1.0	1.0
Pericardial drainage procedure	3.0	1	1.0	1.0	1.0
PDA closure, Surgical	3.0	1	1.0	1.0	1.0
Pacemaker implantation, Permanent	3.0	1	1.0	1.0	1.0
Pacemaker procedure	3.0	1	1.0	1.0	1.0
Shunt, Ligation and takedown	3.5	1	1.5	1.0	1.0
ASD, Common atrium (Single atrium), Septation	3.8	1	1.0	1.0	1.8
ASD creation/enlargement	4.0	1	1.0	2.0	1.0
Coronary artery fistula ligation	4.0	1	1.0	2.0	1.0
ICD (AICD) implantation	4.0	1	1.5	1.0	1.5
ICD (AICD) (automatic implantable cardioverter defibrillator) procedure	4.0	1	1.5	1.0	1.5
Ligation, Thoracic duct	4.0	1	1.0	2.0	1.0
Diaphragm plication	4.0	1	1.0	2.0	1.0
Atrial septal fenestration	5.0	1	2.0	2.0	1.0

(Continued)



Table 1. (Continued).

Procedures	Total (Basic Score)	Complexity (Basic Level)	Mortality	Morbidity	Difficulty
PAPVC repair	5.0	1	2.0	1.0	2.0
Lung biopsy	5.0	1	1.5	2.0	1.5
Ligation, Pulmonary artery	5.0	1	1.5	2.0	1.5
Decortication	5.0	1	1.0	1.0	3.0
Pectus repair	5.3	1	2.0	1.0	2.3
Valvuloplasty, Pulmonic	5.6	1	1.8	1.8	2.0
VSD repair, Primary closure	6.0	2	2.0	2.0	2.0
VSD repair, Patch	6.0	2	2.0	2.0	2.0
AVC (AVSD) repair, Partial (incomplete) (PAVSD)	6.0	2	2.0	2.0	2.0
AP window repair	6.0	2	2.0	2.0	2.0
Valve replacement, Truncal valve	6.0	2	2.0	2.0	2.0
PA, reconstruction (plasty), Main (trunk)	6.0	2	2.0	2.0	2.0
Pericardiectomy	6.0	2	2.0	2.0	2.0
Coarctation repair, End to end	6.0	2	2.0	2.0	2.0
Coarctation repair, Subclavian flap	6.0	2	2.0	2.0	2.0
Coarctation repair, Patch aortoplasty	6.0	2	2.0	2.0	2.0
Vascular ring repair	6.0	2	2.0	2.0	2.0
PA banding (PAB)	6.0	2	2.0	2.0	2.0
PA debanding	6.0	2	2.0	2.0	2.0
ECMO procedure	6.0	2	2.0	3.0	1.0
Aortic stenosis, Subvalvar, Repair	6.3	2	2.0	1.8	2.5
Shunt, Systemic to pulmonary, Modified Blalock–Taussig shunt (MBTS)	6.3	2	2.0	2.0	2.3
AVC (AVSD) repair, Intermediate (transitional)	6.5	2	2.0	2.0	2.5
RVOT procedure	6.5	2	2.0	2.0	2.5
Valve replacement, Pulmonic (PVR)	6.5	2	2.0	2.0	2.5
Cor triatriatum repair	6.8	2	2.0	2.0	2.8
Shunt, Systemic to pulmonary, Central (from aorta or to main pulmonary artery)	6.8	2	2.0	2.0	2.8
Bidirectional cavopulmonary anastomosis (BDCPA) (bidirectional Glenn)	6.8	2	2.3	2.0	2.5
Valvuloplasty, Truncal valve	7.0	2	2.0	2.0	3.0
Anomalous systemic venous connection repair	7.0	2	2.0	2.0	3.0
Occlusion MAPCA(s)	7.0	2	2.0	2.0	3.0
Valvuloplasty, Tricuspid	7.0	2	2.0	2.0	3.0
Valve excision, Tricuspid (without replacement)	7.0	2	3.0	3.0	1.0
DCRV repair	7.0	2	2.0	2.0	3.0
Valve replacement, Aortic (AVR), Mechanical	7.0	2	2.0	2.0	3.0
Valve replacement, Aortic (AVR), Bioprosthetic	7.0	2	2.0	2.0	3.0
Aortic arch repair	7.0	2	2.0	2.0	3.0
Glenn (unidirectional cavopulmonary anastomosis) (unidirectional Glenn)	7.0	2	2.5	2.0	2.5
Right/left heart assist device procedure	7.0	2	2.0	3.0	2.0
Ventricular septal fenestration	7.5	2	3.0	2.0	2.5
TOF repair, Ventriculotomy, Non-transanular patch	7.5	2	2.5	2.0	3.0
Valve replacement, Tricuspid (TVR)	7.5	2	2.5	2.0	3.0
Conduit placement, RV to PA	7.5	2	2.5	2.0	3.0
Aortic stenosis, Supravalvar, Repair	7.5	2	2.5	2.0	3.0
Sinus of Valsalva, Aneurysm repair	7.5	2	2.5	2.0	3.0
Valve replacement, Mitral (MVR)	7.5	2	2.5	2.0	3.0
Coronary artery bypass	7.5	2	2.5	2.0	3.0
Bilateral bidirectional cavopulmonary anastomosis (BBDCPA) (bilateral bidirectional Glenn)	7.5	2	2.5	2.0	3.0
Atrial baffle procedure (non-Mustard, non-Senning)	7.8	2	2.8	2.0	3.0
PA, reconstruction (plasty), Branch, Central (within the hilar bifurcation)	7.8	2	2.8	2.0	3.0
PA, reconstruction (plasty), Branch, Peripheral (at or beyond the hilar bifurcation)	7.8	2	2.8	2.0	3.0
Coarctation repair, Interposition graft	7.8	2	2.8	2.0	3.0
PAPVC, Scimitar, Repair	8.0	3	3.0	2.0	3.0
Systemic venous stenosis repair	8.0	3	3.0	2.0	3.0

(Continued)

Table 1. (Continued).

Procedures	Total (Basic Score)	Complexity (Basic Level)	Mortality	Morbidity	Difficulty
TOF repair, No ventriculotomy	8.0	3	3.0	2.0	3.0
TOF repair, Ventriculotomy, Transannular patch	8.0	3	3.0	2.0	3.0
TOF repair, RV-PA conduit	8.0	3	3.0	2.0	3.0
Conduit reoperation	8.0	2	3.0	2.0	3.0
Conduit placement, LV to PA	8.0	3	3.0	2.0	3.0
Valvuloplasty, Aortic	8.0	3	3.0	2.0	3.0
Aortic root replacement	8.0	3	2.5	2.0	3.5
Valvuloplasty, Mitral	8.0	3	3.0	2.0	3.0
Mitral stenosis, Supravalvar mitral ring repair	8.0	3	3.0	2.0	3.0
Coarctation repair, End to end, Extended	8.0	3	3.0	2.0	3.0
Arrhythmia surgery – atrial, Surgical ablation	8.0	3	3.0	2.0	3.0
Hemifontan	8.0	3	3.0	2.0	3.0
Aneurysm, Ventricular, Right, Repair	8.0	3	3.0	2.0	3.0
Aneurysm, Pulmonary artery, Repair	8.0	3	3.0	2.0	3.0
Cardiac tumor resection	8.0	3	3.0	2.0	3.0
Pulmonary embolectomy	8.0	3	3.0	3.0	2.0
LV to aorta tunnel repair	8.3	3	3.0	2.3	3.0
Valve replacement, Aortic (AVR), Homograft	8.5	3	3.0	2.0	3.5
Senning	8.5	3	3.0	2.5	3.0
Aortic root replacement, Mechanical	8.8	3	3.3	2.0	3.5
Aortic aneurysm repair	8.8	3	3.0	2.8	3.0
VSD, Multiple, Repair	9.0	3	3.0	2.5	3.5
VSD creation/enlargement	9.0	3	3.0	3.0	3.0
AVC (AVSD) repair, Complete (CAVSD)	9.0	3	3.0	3.0	3.0
Pulmonary artery origin from ascending aorta (hemitruncus) repair	9.0	3	3.0	3.0	3.0
TAPVC repair	9.0	3	3.0	3.0	3.0
Pulmonary atresia – VSD (including TOF, PA) repair	9.0	3	3.0	3.0	3.0
Valve closure, Tricuspid (exclusion, univentricular approach)	9.0	3	4.0	3.0	2.0
1 1/2 ventricular repair	9.0	3	3.0	3.0	3.0
Fontan, Atrio-pulmonary connection	9.0	3	3.0	3.0	3.0
Fontan, Atrio-ventricular connection	9.0	3	3.0	3.0	3.0
Fontan, TCPC, Lateral tunnel, Fenestrated	9.0	3	3.0	3.0	3.0
Fontan, TCPC, Lateral tunnel, Non-fenestrated	9.0	3	3.0	3.0	3.0
Fontan, TCPC, External conduit, Fenestrated	9.0	3	3.0	3.0	3.0
Fontan, TCPC, External conduit, Non-fenestrated	9.0	3	3.0	3.0	3.0
Congenitally corrected TGA repair, VSD closure	9.0	3	3.0	3.0	3.0
Mustard	9.0	3	3.0	3.0	3.0
Pulmonary artery sling repair	9.0	3	3.0	3.0	3.0
Aneurysm, Ventricular, Left, Repair	9.0	3	3.0	2.5	3.5
TOF – Absent pulmonary valve repair	9.3	3	3.0	3.0	3.3
Transplant, Heart	9.3	3	3.0	3.3	3.0
Aortic root replacement, Homograft	9.5	3	3.5	2.0	4.0
Damus–Kaye–Stansel procedure (DKS) (creation of AP anastomosis without arch reconstruction)	9.5	3	3.0	3.0	3.5
Arterial switch operation (ASO)	10.0	4	3.5	3.0	3.5
Rastelli	10.0	4	3.0	3.0	4.0
Anomalous origin of coronary artery from pulmonary artery repair	10.0	4	3.0	3.0	4.0
Ross procedure	10.3	4	4.0	2.3	4.0
DORV, Intraventricular tunnel repair	10.3	4	3.3	3.0	4.0
Interrupted aortic arch repair	10.8	4	3.8	3.0	4.0
Truncus arteriosus repair	11.0	4	4.0	3.0	4.0
TOF – AVC (AVSD) repair	11.0	4	4.0	3.0	4.0
Pulmonary atresia – VSD – MAPCA (pseudotruncus) repair	11.0	4	4.0	3.0	4.0
Unifocalization MAPCA(s)	11.0	4	4.0	3.0	4.0
Konno procedure	11.0	4	4.0	3.0	4.0
Congenitally corrected TGA repair, Atrial switch and Rastelli	11.0	4	4.0	3.0	4.0

(Continued)

Table 1. (Continued).

Procedures	Total (Basic Score)	Complexity (Basic Level)	Mortality	Morbidity	Difficulty
Congenitally corrected TGA repair, VSD closure and LV to PA conduit	11.0	4	4.0	3.0	4.0
Arterial switch operation (ASO) and VSD repair	11.0	4	4.0	3.0	4.0
REV	11.0	4	4.0	3.0	4.0
DOLV repair	11.0	4	4.0	3.0	4.0
Aortic dissection repair	11.0	4	4.0	3.0	4.0
Pulmonary venous stenosis repair	12.0	4	4.0	4.0	4.0
Partial left ventriculectomy (LV volume reduction surgery) (Batista)	12.0	4	4.0	4.0	4.0
Transplant, Lung(s)	12.0	4	4.0	4.0	4.0
Ross–Konno procedure	12.5	4	4.5	3.0	5.0
Transplant, Heart and lung(s)	13.3	4	4.0	5.0	4.3
Congenitally corrected TGA repair, Atrial Switch and ASO (Double switch)	13.8	4	5.0	3.8	5.0
Norwood procedure	14.5	4	5.0	4.5	5.0
HLHS biventricular repair	15.0	4	5.0	5.0	5.0

Table 2. Summary of the information entered into the databases maintained by the European Association for Cardio-Thoracic Surgery and the Society of Thoracic Surgeons between 1998 and 2004.<sup>25</sup>

	All	0 to 28 days	29 days to 1 year	Other
<i>Society of Thoracic Surgeons</i>				
Eligible patients	18,928	3,988	6,152	8,788
Discharge mortality	825	487	202	136
Discharge mortality (%)	4.4	12.2	3.3	1.5
Basic complexity score	7.1	8.6	7.0	6.5
<i>European Association for Cardio-Thoracic Surgery</i>				
Eligible patients	21,916	4,273	7,316	10,327
Discharge mortality	1,097	514	377	206
Discharge mortality (%)	5.4	13.3	5.56	2.1
Basic complexity score	6.5	7.6	6.6	5.9

## Verification of data

Collaborative efforts involving the European Association for Cardio-Thoracic Surgery and the Society of Thoracic Surgeons are now underway to address the fourth item listed above, specifically the need to develop mechanisms to verify the completeness and accuracy of the information submitted to the databases.<sup>26–28</sup> The importance of the verification of the accuracy of the data is demonstrated by the recent report from the United Kingdom Central Cardiac Audit Database.<sup>29</sup> This report analyzed 3666 surgical procedures, and 1828 therapeutic catheterizations, undertaken from 2000 and 2001 in the 13 tertiary centres in the United Kingdom that perform cardiac surgery or therapeutic cardiac catheterisation in children with congenital cardiac disease. The mortality within 30 days of a procedure was identified both by information supplied from the hospital

databases, and by independently validated data from the Office for National Statistics, using the unique National Health Service number given to all subjects born in the United Kingdom. Central tracking of mortality by the Office for National Statistics identified 469 deaths, of which 194 occurring within 30 days of the procedure, but 275 occurred later. Of the 194 deaths recorded within 30 days, 42, accounting for just over one-fifth of all patients dying within 30 days, were detected by central tracking, but had not been volunteered by the tertiary centres themselves. In other words, the databases under-reported the deaths occurring within 30 days by one-fifth, even though those working in the tertiary centres were aware that the data would be independently verified. Multiple potential solutions to develop mechanisms to assure and verify the completeness and accuracy of data, therefore, are currently being

explored by both the European Association for Cardio-Thoracic Surgery, and the Society of Thoracic Surgeons.

### The advantages accruing from the establishment of an international database

In the long term, participation in a properly structured multi-institutional database designed for analysis of outcomes can provide multiple advantages to all institutions seeking to treat congenital cardiac malformations. Inclusion in multi-institutional reports of outcomes facilitates quality control by benchmarking. A single software program and institutional database can send information to multiple registries. One software package can incorporate multiple local, national, and international efforts:

- The Society of Thoracic Surgeons Congenital Heart Surgery Database
- The European Congenital Heart Surgeons Association-European Association for Cardio-Thoracic Surgery Congenital Heart Surgery Database
- The Aristotle Project
- The International Working Group for Mapping and Coding of Nomenclatures for Paediatric and Congenital Heart Disease (Nomenclature Working Group)
- The United Kingdom Central Cardiac Audit Database
- Congenital Heart Surgeons' Society Database
- The Pediatric Cardiac Care Consortium
- The Pediatric Heart Transplant Study Group Database
- Extracorporeal Life Support Organization Database

This same software program and institutional database also can have multiple additional applications:

- Computerized generation of brief operative reports
- Computerized generation of sheets reporting the decisions of joint cardiology and cardiac surgical conferences
- Computerized generation of discharge summaries
- Computerized generation of billing sheets
- Creation of a system for storage of digital images and videos, as discussed in an earlier manuscript in this Supplement

Clearly, the potential users of the database will have different needs. A multi-institutional registry aims to collect "some of the data about all of the patients", while an academic database aims to collect "all of the data about some of the patients".<sup>14</sup> A multi-institutional registry addresses the collection of a

small number of items from a large number of institutions. A scientific database, created to compare methods or treatments, will need large and very accurate sets of data from a few highly reliable institutions. Creation of a good database requires an investment of time, work, and money. Those who invest this time and money will have different needs, and different interests. The potential now exists, nevertheless, to work with a common language or nomenclature. A properly designed single institutional software package can allow participation in both a multi-institutional registry and an academic database.

A properly structured multi-institutional database permitting analysis of outcomes can be used as a tool for improvement. The database can be used as a benchmark upon which to grade surgical and institutional performance, and also as a registry to identify more, or less, successful strategies of management. Furthermore, the database can be used to measure application of new strategies for treatment. Thus, the database can be used as a tool for care of patients, teaching, research, management of practices, and improvement in quality.

### Seeking to become truly global

Efforts are ongoing to involve those working in Africa, Asia, Australia, and South America so that this project truly becomes global. The overall goal of such a global database is to improve the analysis of the outcomes of treatment of congenital cardiac malformations. The benefits of multi-institutional gathering and sharing of data are global, with the long-term goal of the continued improvement in the quality of therapeutic options worldwide.<sup>30</sup>

### References

1. Learning from Bristol: the report of the public inquiry into children's heart surgery at the Bristol Royal Infirmary 1984-1995. <http://www.bristol-inquiry.org.uk/>, accessed October 22, 2004.
2. Sherry A. Children's Hospital cardiology chief told to resign. *Denver Post*. Article published: March 1, 2001. <http://www.denverpost.com/news/news0301b.htm>, accessed March 21, 2001.
3. Sherry A. Hospitals shield mortality rates. *Denver Post*. Article published: March 2, 2001. <http://www.denverpost.com/news/news0302d.htm>, accessed March 21, 2001.
4. The Denver Post Editorial Board. At the heart of the problem. *Denver Post*. Article published: March 2, 2001. <http://www.denverpost.com/opinion/edits0302c.htm>, accessed March 21, 2001.
5. Johnson L. Baby's death at Children's turns parents to their faith. *Denver Post*. Article published: March 3, 2001. <http://www.denverpost.com/opinion/lett0311.htm>, accessed March 21, 2001.
6. White S. Kids' best interests: Re: "Children's Hospital cardiology chief told to resign," March 1. *Denver Post*. Article published: March 3, 2001. <http://www.denverpost.com/opinion/lett0311.htm>, accessed March 21, 2001.
7. Hernandez J. Other options. *Denver Post*. Article published: March 3, 2001. <http://www.denverpost.com/opinion/lett0311.htm>, accessed March 21, 2001.

8. Weinberg S. Rare look inside a surgeon's sanctum. Denver Post. Article published: Sunday, April 20, 2003. <http://www.denverpost.com/Stories/0%2C1413%2C36~28~1333663%2C00.html>, accessed October 22, 2004.
9. The Report of the Manitoba Pediatric Cardiac Surgery Inquest: An inquest into twelve deaths at the Winnipeg Health Sciences Centre in 1994. <http://www.pediatriccardiacinquest.mb.ca/>, accessed October 22, 2004.
10. Mavroudis C (Chairman) and Congenital Database Subcommittee: Backer CL, Bove E, Burke RP, Cameron D, Drinkwater DC, Edwards FH, Grover FL, Hammon Jr JW, Jacobs JP, Kron IL, Mayer JE, Myers JL, Ring WS, Siewers RD, Szarnicki RJ, Watson Jr DC. Data analyses of the Society of Thoracic Surgeons National Congenital Cardiac Surgery Database, 1994–1997, Summit Medical, Minnetonka, MN, September 1998.
11. Mavroudis C, Gevitz M, Rings WS, McIntosh CL, Schwartz M. The Society of Thoracic Surgeons National Congenital Heart Surgery Database: Analysis of the first harvest (1994–1997). *Ann Thorac Surg* 1999; 68: 601–624.
12. Mavroudis C, Jacobs JP (eds). Congenital Heart Surgery Nomenclature and Database Project. *Ann Thorac Surg* 2000; 69 (Suppl): S1–S372.
13. Jacobs JP. Software Development, Nomenclature Schemes and Mapping Strategies and for an International Pediatric Cardiac Surgery Database System. *Semin Thorac Cardiovasc Surg Pediatr Card Surg Annu* 2002; 5: 153–162.
14. Williams WG, McCrindle BW. Practical experience with databases for congenital heart disease: A registry versus an academic database. *Semin Thorac Cardiovasc Surg Pediatr Card Surg Annu* 2002; 5: 132–142.
15. Franklin RCG, Jacobs JP, Tchervenkov CI, Béland M. Report from the Executive of The International Working Group for Mapping and Coding of Nomenclatures for Paediatric and Congenital Heart Disease: Bidirectional Crossmap of the Short Lists of the European Paediatric Cardiac Code and the International Congenital Heart Surgery Nomenclature and Database Project. *Cardiol Young* 2002; 12 (Suppl II): 18–22.
16. Franklin RCG, Jacobs JP, Tchervenkov CI, Béland M. European Paediatric Cardiac Code Short List crossmapped to STS/EACTS Short List with ICD-9 & ICD-10 crossmapping. *Cardiol Young* 2002; 12 (Suppl II): 23–49.
17. Franklin RCG, Jacobs JP, Tchervenkov CI, Béland M. STS/EACTS Short List mapping to European Paediatric Cardiac Code Short List with ICD-9 & ICD-10 crossmapping. *Cardiol Young* 2002; 12 (Suppl II): 50–62.
18. Béland M, Jacobs JP, Tchervenkov CI, Franklin RCG. The International Nomenclature Project for Pediatric and Congenital Heart Disease: Report from the Executive of The International Working Group for Mapping and Coding of Nomenclatures for Paediatric and Congenital Heart Disease. *Cardiol Young* 2002; 12: 425–430.
19. Franklin RCG, Jacobs JP, Tchervenkov CI, Béland M. The International Nomenclature Project for Pediatric and Congenital Heart Disease: Bidirectional Crossmap of the Short Lists of the European Paediatric Cardiac Code and the International Congenital Heart Surgery Nomenclature and Database Project. *Cardiol Young* 2000; 12: 431–435.
20. Béland MJ, Franklin RCG, Jacobs JP, et al. Update from The International Working Group for Mapping and Coding of Nomenclatures for Paediatric and Congenital Heart Disease. *Cardiol Young* 2004; 14: 225–229.
21. Lacour-Gayet F. Risk stratification theme for congenital heart surgery. *Semin Thorac Cardiovasc Surg Pediatr Card Surg Annu* 2002; 5: 148–152.
22. Lacour-Gayet FG, Clarke D, Jacobs JP, et al. The Aristotle Score for Congenital Heart Surgery. *Semin Thorac Cardiovasc Surg Pediatr Card Surg Annu* 2004; 7: 185–191.
23. Lacour-Gayet FG, Clarke D, Jacobs JP, et al. The Aristotle Score: A complexity-adjusted method to evaluate surgical results. *Eur J Cardio Thorac Surg* 2004; 25: 911–924.
24. Jacobs JP, Lacour-Gayet FG, Jacobs ML, et al. Initial Application in The STS Congenital Database of Complexity-adjustment to Evaluate Surgical Case Mix and Results. *Ann Thorac Surg*, in press.
25. Jacobs JP, Maruszewski B, Lacour-Gayet FG, et al. Current Status of The European Association for Cardio-thoracic Surgery and The Society of Thoracic Surgeons Congenital Heart Surgery Database. For presentation at the 41st Annual Meeting of The Society of Thoracic Surgeons, Tampa, FL, USA, January 2005.
26. Jacobs JP, Jacobs ML, Mavroudis C, Lacour-Gayet FG. Executive Summary: The Society of Thoracic Surgeons Congenital Heart Surgery Database – Second Harvest – (1998–2001) Beta Site Test. The Society of Thoracic Surgeons (STS) and Duke Clinical Research Institute (DCRI), Duke University Medical Center, Durham, NC, USA, Fall 2002 Harvest.
27. Jacobs JP, Mavroudis C, Jacobs ML, et al. Lessons learned from the data analysis of the Second Harvest (1998–2001) of The Society Of Thoracic Surgeons (STS) Congenital Heart Surgery Database. *Eur J Cardio Thorac Surg* 2004; 26: 18–37.
28. Jacobs JP, Jacobs ML, Mavroudis C, Lacour-Gayet FG. Executive Summary: The Society of Thoracic Surgeons Congenital Heart Surgery Database – Third Harvest – (1998–2002). The Society of Thoracic Surgeons (STS) and Duke Clinical Research Institute (DCRI), Duke University Medical Center, Durham, NC, USA, Spring 2003 Harvest.
29. Gibbs JL, Monro JL, Cunningham D, Rickards A. Survival after surgery or therapeutic catheterisation for congenital heart disease in children in the United Kingdom: analysis of the central cardiac audit database for 2000–1. *BMJ*, doi:10.1136/bmj.38027.613403.F6 (published 24 February 2004).
30. Mavroudis C, Jacobs JP. Congenital heart disease outcome analysis: Methodology and rationale. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 123: 6–7.



## **Anexo 3**

# Reversible pulmonary trunk banding III: Assessment of myocardial adaptive mechanisms—contribution of cell proliferation

Maria C. D. Abduch, DVM, PhD,<sup>a</sup> Renato S. Assad, MD, PhD,<sup>b</sup> Miguel Q. Rodriguez, MD, PhD,<sup>b</sup> Acrisio S. Valente, MD,<sup>b</sup> José L. Andrade, MD, PhD,<sup>c</sup> Léa M. M. Demarchi, MD, PhD,<sup>a</sup> Miguel B. Marcial, MD, PhD,<sup>b</sup> and Vera D. Aiello, MD, PhD<sup>a</sup>

**Objectives:** Rapid ventricular conditioning induced by pulmonary artery banding has been recommended for patients with transposition of the great arteries who have lost the chance for the arterial switch operation or whose systemic (right) ventricle failed after the atrial switch. The present study was designed to experimentally evaluate 2 types of pulmonary artery banding (continuous and intermittent) and verify histologically the changes (hypertrophy or hyperplasia or both) of cardiomyocytes and vascular and interstitial cells from the stimulated ventricle beyond the neonatal period.

**Methods:** Twenty-one goats, 30 to 60 days old, were divided into 3 groups, each comprising 7 animals, as follows: control group (no surgical procedure); continuously stimulated group (systolic overload maintained for 96 hours); and intermittently stimulated group (4 periods of 12-hour systolic overload, alternated with a resting period of 12 hours). The animals were then killed for histologic and immunohistochemical analysis of the hearts. Murine monoclonal antibody Ki-67 was used as a proliferation cell marker. Myocardial collagen area fraction was determined by Sirius red staining.

**Results:** For both stimulated groups, a significant increase occurred in right ventricular cardiomyocytes and respective nuclei diameters compared with the controls ( $P < .05$ ). The number of Ki-67-positive cardiomyocytes and interstitial/vessel cells from the right ventricle was augmented in both trained groups in relation to the left ventricle ( $P < .05$ ). There was no significant difference in the right ventricular collagen area fraction from both trained groups compared with controls.

**Conclusions:** Irrespective of the shorter training time (periods of overload intercalated with resting), the intermittent stimulation regimen was able to produce a similar training of the subpulmonary ventricle compared with the continuous stimulation regarding mass acquisition, cell hypertrophy, and hyperplasia.

Left ventricular retraining induced by pulmonary artery banding (PAB) has been indicated for patients with transposition of the great arteries (TGA) beyond the neonatal period and patients who present with right (systemic) ventricular failure in congenitally corrected TGA or after failed atrial baffle operations.<sup>1,2</sup> Previous experimental studies have demonstrated that an increase in afterload leads to sustained ventricular hypertrophy in only a few days.<sup>3</sup>

In the clinical setting of TGA, a few centers have documented the clinical results of rapid preparation of the left ventricle (LV) in the two-stage Jatene operation. These trials succeeded in their objective, once there was significant cardiac mass acquisition in about 7 days, reducing the risks of complications resulting from the first stage of the anatomical correction in a patient with unprepared LV. However,

From the Laboratory of Pathology,<sup>a</sup> Division of Pediatric Surgery,<sup>b</sup> and Echocardiography Laboratory,<sup>c</sup> Heart Institute (InCor) University of Sao Paulo Medical School, Sao Paulo, Brazil.

Supported by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), grants 2002/11721-6 and 2004/08825-0.

Received for publication Aug 23, 2006; revisions received Nov 20, 2006; accepted for publication Dec 13, 2006.

Address for reprints: Dr Vera Demarchi Aiello, Heart Institute (InCor), University of Sao Paulo School of Medicine, Laboratory of Pathology, Av. Dr. Eneas C Aguiar, 44, Sao Paulo, SP 05403-000, Brazil (E-mail: anpvera@incor.usp.br).

J Thorac Cardiovasc Surg 2007;133:1510-6  
0022-5223/\$32.00

Copyright © 2007 by The American Association for Thoracic Surgery

doi:10.1016/j.jtcvs.2006.12.010



**Abbreviations and Acronyms**

ANOVA	= analysis of variance
LV	= left ventricle
PAB	= pulmonary artery banding
PT	= pulmonary trunk
RV	= right ventricle
TGA	= transposition of the great arteries
VS	= ventricular septum

some patients may have unsatisfactory contractile performance in the late follow-up.<sup>2,4</sup> Previous studies from our laboratory have demonstrated experimentally expressive muscular mass acquisition induced by an adjustable PAB system.<sup>5,6</sup>

At present, there is great concern about the quality of ventricular hypertrophy, leading to questions regarding the most efficient and physiologic training program and the adaptive mechanisms involved in the process.<sup>1,2,7,8</sup> On the other hand, the hypertrophy of an athlete's heart, characterized by normal or increased capillary density with little or no fibrosis, is a consequence of physiologic stresses like endurance exercise, intermittent by nature. Based on the fact that both the cardiac and the skeletal muscles are striated, it has been proposed that a fitness program similar to that developed by athletes would lead to an acquired muscular mass with better performance.<sup>9,10</sup> Besides that, the knowledge that the myocardium is a postmitotic organ, which means that cardiomyocytes are capable of proliferating after the neonatal period, leads to the hypothesis that myocyte hyperplasia may be an important feature in mass acquisition, although it has not been clarified to what extent it occurs.<sup>11,12</sup>

The present study was designed to experimentally evaluate 2 types of PAB (continuous and intermittent) and to analyze histologically the structural phenotype changes (hypertrophy and/or hyperplasia) of the contractile (cardiomyocytes) and noncontractile cells (vascular and interstitial) from the stimulated ventricle, beyond the neonatal period.

**Materials and Methods**

Twenty-one goats, 30 to 60 days old (beyond the neonatal period), were divided into 3 groups, each with 7 animals: control group, with no surgical procedure; continuously stimulated group; and intermittently stimulated group. All animals received humane care according to the "Guide for Care and Use of Laboratory Animals."<sup>13</sup>

**Pulmonary Artery Banding Device**

The device used in this study (Braile Biomedica, São José do Rio Preto, SP, Brazil) has been described previously.<sup>5</sup> It permits a fine control of the pulmonary blood flow percutaneously by adjusting accurately the cross-sectional diameter of the pulmonary trunk

(PT). The prototype is made completely of silicone and consists of 3 parts: a banding ring, extension tube, and an inflation reservoir. The banding ring is a C-shaped hydraulic cuff that compresses the lumen of the PT when expanded, according to the volume injected percutaneously into the inflation reservoir, implanted subcutaneously.

**Pulmonary Artery Banding Device Protocol**

The anesthetic and surgical protocols were performed according to previously described techniques.<sup>5</sup> Catheters were introduced into the descending aorta, right ventricular outflow tract, and PT (distally to the banding) for hemodynamic measurements. Baseline pressures in the right ventricle (RV), PT, and aorta were then taken in the awake animals with the device completely empty. After that, progressive inflation of the device was achieved by percutaneous injection of saline solution in the reservoir to reach a 0.7 RV-to-LV systolic pressure ratio,<sup>1,2,5</sup> as long as it did not cause a drop of more than 10% in systemic pressure. In cases where clinical signs of severe hypoxia (agitation, dyspnea, or arrhythmias) developed after inflation of the banding device, it was deflated to a tolerable value. The animals in the continuously stimulated group remained in RV systolic overload for 96 hours, with progressive inflations every 24 hours, at the maximum limit tolerated, while the intermittently stimulated group was submitted to 4 periods of 12-hour systolic overload, alternated with a resting period of 12 hours. Inflation of the device and pressure measurements were taken daily in both stimulated groups.

**Echocardiographic Study**

The echocardiographic evaluation was performed daily, using a 7.5-MHz transducer (Apogee CX, ATL—Advanced Technologies Laboratories, Bothell, Wash). The RV free wall mass was calculated through a bidimensional approach, according to the method described by Pontes and colleagues.<sup>14</sup> RV and LV ejection fractions were estimated by area  $\times$  length and Teichholz methods, respectively.<sup>15</sup>

**Morphologic Study of the Hearts**

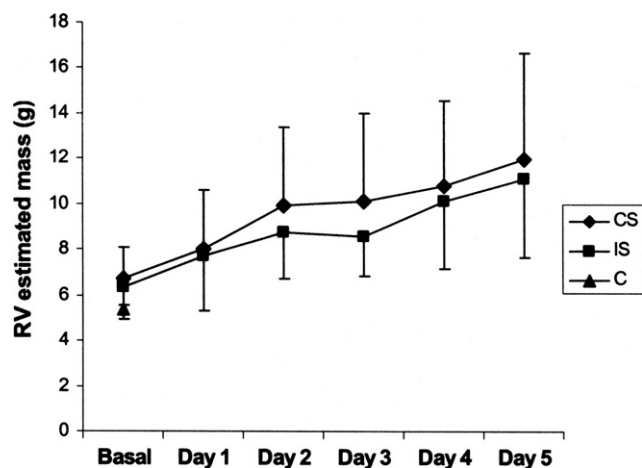
After the 96-hour protocol, the animals in the continuously stimulated and intermittently stimulated groups were killed.<sup>5,13</sup> All the hearts, including those from animals in the control group, were fixed in 10% buffered formalin for 24 hours. Transversal sections of both ventricles and the ventricular septum were obtained. After routine histologic processing, 5- $\mu$ m sections were stained with hematoxylin-eosin and Sirius red. Sections also underwent immunohistochemical reactions with Ki-67.

**Myocardial Fiber and Nucleus Diameter**

The morphometric measurements were carried out with an interactive computer-assisted image analyzer (Leica Quantimet; Leica Cambridge Ltd, Cambridge, UK) in 60 longitudinally and/or transversely sectioned cardiomyocytes, as already described.<sup>3</sup>

**Collagen Area Fraction**

Histologic samples stained with Sirius red were studied for collagen area fraction by means of the computed image analysis system color detection (Quantimet—Leica). Data were collected from 20



**Figure 1.** RV estimated mass (g) during training days. RV, Right ventricle; C, control group; CS, continuous stimulated group; IS, intermittent stimulated group.

fields at a magnification of 200 $\times$ . Regions occupied by vessels greater than 50  $\mu$ m or histologic artifacts were avoided.

### Immunohistochemical Study

Five micrometer-thick sections underwent immunohistochemical reactions using the streptavidin-peroxidase immunohistochemical method. Murine monoclonal antibody Ki-67, clone MIB-1, code number IM0505 (DAKO, Grostrup, Denmark) was used as proliferation cell marker. According to previous studies, this marker has been used in goats.<sup>16</sup> Ki-67-positive cardiomyocytes and interstitial/vessel cells were microscopically quantified in the RV, LV, and ventricular septum (VS). The index of cell proliferation was calculated as follows: for each section of the heart (RV, LV, and VS), 4000 cells were counted (2000 cardiomyocytes and 2000 interstitial/vessel cells); the number of positive Ki-67 cells/2000 expressed as a percentage represented the index for each cell type. For the sections of the ventricular septum, the index was determined summing up the first 1000 cells counted in each half. Ultimately, for each group, the proportion between contractile and noncontractile elements labeled by the cell proliferation marker was determined.

### Statistical Analysis

Values are expressed as means  $\pm$  SE. Analysis of variance (ANOVA) was used to compare the 3 groups; for comparisons between the segments inside each group, the repeated measures ANOVA was used. When data did not show normal distribution, nonparametric tests were used.

## Results

### Hemodynamic Study

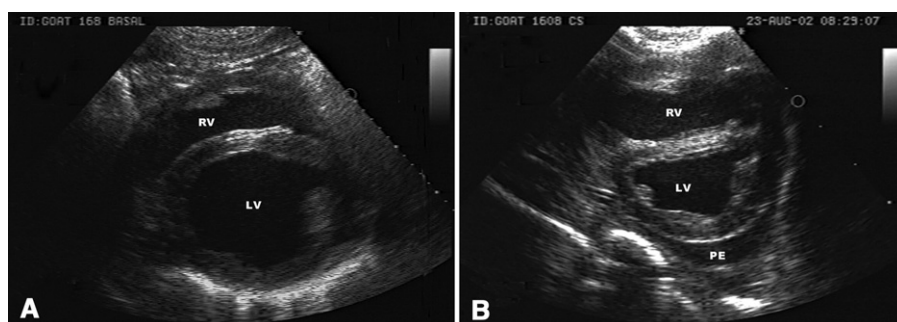
The intermittently stimulated group began the experiment with a 9.57 mm Hg basal RV-PT mean peak gradient (SE = 3.58 mm Hg). The last period inflation (72 hours) caused an 80.00 mm Hg gradient (SE = 4.92 mm Hg), which represents an increase equal to 736% ( $P = .018$ , Wilcoxon nonparametric test). In the continuously stimulated group, the basal mean peak gradient was 15.67 mm Hg (SE = 4.50 mm Hg). After 72 hours, this value was 57.14 mm Hg (SE = 5.22 mm Hg), which means a 265% rise in RV-PT pressure gradient ( $P = .028$ , Wilcoxon nonparametric test). Comparison between the 2 groups regarding the tolerated mean peak gradient indexed to the body weight revealed a significant difference, with greater values for the intermittently stimulated group after 72 hours of training ( $P = .008$ ).

### Right Ventricular Mass Estimated by Echocardiography

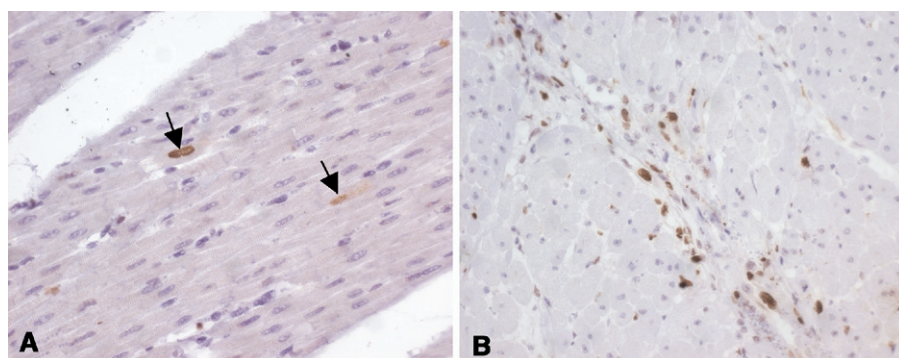
See Figures 1 and 2. Basal RV estimated mass was equal in the 3 groups (ANOVA,  $P = .110$ ); however, in both trained groups, the right ventricular mass increased progressively throughout the protocol (ANOVA,  $P < .05$ ). Right and left ventricular ejection fractions did not show significant changes in both stimulated groups during the study (mean values  $\pm$  SE for the RV: controls,  $0.71 \pm 0.02$ ; continuous stimulation,  $0.67 \pm 0.03$ ; intermittent stimulation,  $0.74 \pm 0.03$ ; mean values  $\pm$  SE for the LV: controls,  $0.70 \pm 0.02$ ; continuous stimulation,  $0.75 \pm 0.01$ ; intermittent stimulation,  $0.77 \pm 0.01$ ).

### Collagen Area Fraction of the Right and Left Ventricles

Microscopically, no evidence of interstitial edema, relevant inflammatory infiltrate, or necrosis in the myocardium was



**Figure 2.** Bidimensional echocardiogram at baseline (A) and after 5 days of training (B) in a CS group goat. RV, right ventricle; LV, left ventricle; PE, pericardial effusion.



**Figure 3.** Photomicrographs of the RV myocardium showing Ki-67 immunostaining. **A**, Arrows indicate 2 labeled cardiomyocyte nuclei. **B**, Numerous positive nuclei from interstitial and vessel cells. Objective: 40 $\times$ ; counterstaining with Harry's hematoxylin. *RV*, Right ventricle.

present in the 3 groups analyzed. The mean collagen area fraction was significantly higher in the RV of the 3 groups when compared with the respective LVs (ANOVA,  $P = .015$ ). There was no statistical difference in the RV collagen content between the groups (ANOVA,  $P = .403$ ).

#### Cell Diameters

With regard to RVs, stimulated groups had significantly higher values of cell diameter than those of the control group, for both cardiomyocytes and their respective nuclei (ANOVA,  $P < .005$ ). Compared with controls, myocyte diameters were 42.17% and 45.19% higher in the continuously stimulated and intermittently stimulated groups, respectively. Similarly, considering the cardiac segments inside the groups, RV cardiomyocytes and respective nuclei from the 2 stimulated groups had higher diameters than those of LV and ventricular septum (repeated measures ANOVA,  $P < .05$ ).

#### Ki-67-positive Cardiomyocytes and Interstitial/Vessel Cells

The histologic aspect of Ki-67-labeled cardiomyocytes is demonstrated in Figure 3, A. Higher indexes of proliferating cells were found in the RV of both stimulated groups (continuously stimulated group, 1.13%; intermittently stimulated group, 0.68%) when compared with the corresponding LV (continuously stimulated group, 0.37%; intermittently stimulated group, 0.21%; repeated measures ANOVA,  $P = .009$ ) and ventricular septum (continuously stimulated group, 0.21%; intermittently stimulated group, 0.08%;  $P < .001$ ; Figure 4, A). The histologic aspect of the interstitial and vessel cells labeled with Ki-67 is demonstrated in Figure 3, B. In this analysis, the values obtained for the 2 halves of the ventricular septum were significantly different and were treated independently ( $P = .024$ ). The right septal half had higher values compared with the left one. Analyzing the cardiac segments in the stimulated groups (Figure 4, B), RV had significantly higher indexes of cell proliferation than the LV (continuously stimulated group, 16.32% vs 2.57%; intermittently stimulated group, 12.36% vs 1.45%; repeated

measures ANOVA,  $P < .001$ ). The right septal half had statistically higher index values than did LV (continuously stimulated group, 3.73%; intermittently stimulated group, 4.94%;  $P = .024$ ) and the left septal half (continuously stimulated group, 2.06%; intermittently stimulated group, 1.61%;  $P = .012$ ). On the other hand, LV did not differ from the left septal half ( $P = .527$ ). No difference was detected in the cardiac segments of the control group (repeated measures ANOVA,  $P = .198$ ).

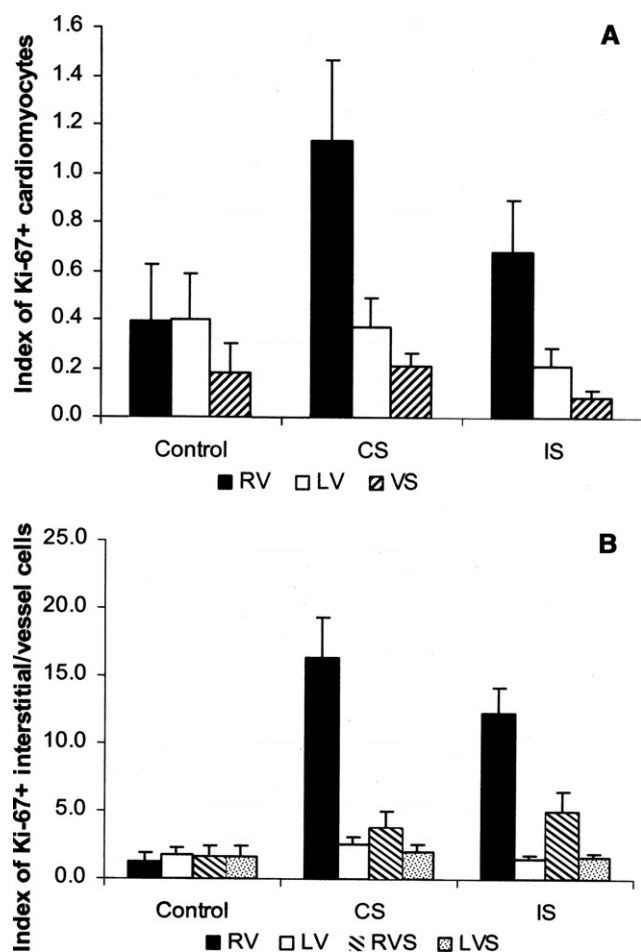
#### Proportion Between Numbers of Ki-67-labeled RV Cells (Cardiomyocytes/Interstitial and Vessel Cells)

Statistical analysis of these data did not depict any difference between the 3 groups (Kruskal–Wallis,  $P = .4320$ ).

#### Discussion

Induced myocardial hypertrophy has been proposed in children with TGA, aiming at preparing the future systemic ventricle to support the new hemodynamic conditions after the anatomical correction (Jatene's procedure).<sup>2,17</sup> The adaptation of the pulmonary ventricle to the systemic pressures must be effective, which means that the chamber has to keep the mass acquisition and not experience dilation or dysfunction over time. Based on the fitness program of athletes, where the skeletal and cardiac muscles are capable of sustaining a high workload through fiber hypertrophy, a hypothesis arose that perhaps intermittent conditioning of the subpulmonary ventricle could provide better adaptation.<sup>9,10</sup> However, no consensus exists about what would be the ideal time to impose systolic workload on a ventricle, inducing it to acquire good-quality muscular mass.

Pressure overload induces an increase in cardiac wall thickness without chamber dilation (concentric hypertrophy) for the purpose of normalizing systolic wall stress.<sup>18</sup> It is fundamental to determine the primary mechanism of mass acquisition (ie, cell hypertrophy, hyperplasia, or both). Hypertrophy is efficient as an adaptive mechanism in the compensated phase but may evolve into muscle dysfunction and congestive heart failure with time.<sup>19</sup> Nowadays, it is fully accepted that cardiomyocytes are capable of prolifer-



**Figure 4.** Mean and SE values of: (A) cardiomyocytes Ki-67-positive index (number of positive cells/2000 cardiomyocytes expressed as a percentage); (B) interstitial/vessel cells Ki-67-positive index (number of positive cells/2000 expressed as a percentage). *RV*, right ventricle; *LV*, left ventricle; *RVS*, right half of ventricular septum; *LVS*, left half of ventricular septum.

ating after the neonatal period. During fetal life, cardiac growth is mainly due to cell division (mitosis). In the neonatal period, a transition occurs from hyperplastic to hypertrophic growth. In the adult heart, most cardiomyocytes do not proliferate, and hypertrophy functions as the fundamental adaptive response.<sup>20</sup> Therefore, the magnitude of cardiomyocyte hypertrophy or hyperplasia is dependent on the age at which the stimulus is produced.<sup>4,8,12</sup>

### Myocardial Hypertrophy

In the present study, the echocardiogram showed a similar right ventricular mass acquisition for both stimulated groups. The RV free wall thickness, an important parameter in ventricular mass calculation, became similar to the septal and left ventricular wall thicknesses around the third day of

device inflation in both groups, despite the fact that 1 of them was stimulated intermittently. Morphometric analysis revealed that for both stimulated groups, hypertrophy of cardiomyocytes occurred, confirming that this mechanism participates in the process of muscle mass acquisition during ventricular training, as has already been demonstrated in other pressure-overload experimental models.<sup>18</sup>

In myocardial hypertrophy caused by other factors, it is well recognized that interstitial cell proliferation is also a feature. The interstitium has important functions, such as support for cardiomyocytes, blood and lymphatic vessels; acting as a defense mechanism against microorganisms; facilitating myocardial nutrient exchanges; and aiding in cell contraction. However, when interstitium enlargement is excessive, it may cause early diastolic dysfunction and, in the final stages, also jeopardizes systolic function.<sup>21</sup> In this study, no significant difference existed in RV collagen area fraction between the 3 groups. We cannot rule out the possibility that the observation time was not sufficient to demonstrate an increase in the interstitial component. Le Bret and colleagues,<sup>10</sup> comparing 3 types of pulmonary ventricular training in lambs for 5 weeks, demonstrated no interstitial fibrosis in animals undergoing the intermittent regimen of training in opposition to the other groups, suggesting that the cascade of events initiated with myocardial hypertrophy is not accompanied by fibrosis when it develops in good oxygen conditions (corresponding to the period that the ventricle does not experience an afterload increase). Buccino et al,<sup>22</sup> studying 26 cats with right ventricular hypertrophy produced by continuous PT constriction for a period of 3 to 90 days, encountered higher collagen concentrations in RVs compared with that in the controls and LVs. The majority of RVs failed after 20 to 50 days. Therefore, it seems that the duration of the training period is important as an inductor of myocardial fibrosis responsible for late heart failure.

### Cell Proliferation

The present study showed that both cardiomyocytes and interstitial/vessel cells are able to improve their capacity for proliferation, under continuous or intermittent elevation in afterload, even beyond the neonatal period. It is important to note that the intermittent regimen of PAB, which potentially could be better tolerated clinically, is as effective as the continuous regimen in inducing RV cardiomyocyte hyperplasia. Although the idea of having a high proliferation index for contractile myocardial cells would be tempting in this model, it must not be forgotten that an increase in their number will also augment the demand for oxygen and nutrients and, consequently, for blood vessels, to maintain the needs of proliferating cells.<sup>9,18</sup> So, it would be desirable to have a balance between myocardial cells and capillary vessel proliferation, promoting a ventricular conditioning

that is considered ideal to sustain the requirements of systemic circulation.<sup>23</sup> Anversa and associates<sup>9</sup> submitted 5-week-old Wistar–Kyoto rats to intermittent physical training by having them run on a treadmill 1 h/d, 5 d/wk, for 7 weeks. At the end of the experiment, they found a 16% increase in myocardial capillary vessels/mm<sup>2</sup>, indicating that vascular cell proliferation did occur in this physiologic model of fitness.

It is not easy to distinguish between interstitial cells (mainly fibroblasts) and capillary endothelial cells under optical microscopy, because the small vessels are not always open. Therefore, in the present study, it is not possible to confirm whether the Ki-67-labeled interstitial/vessel cells are predominantly endothelial cells or fibroblasts. Double-labeling immunohistochemical reactions may elucidate this question in the future.

Regarding the proportion of Ki-67-positive cardiomyocytes and interstitial/vessel cells, no statistical difference existed between the groups (Kruskal–Wallis,  $P = .432$ ). Hence, apparently, both fitness regimens are capable of inducing a proportionally equal increase in contractile and noncontractile elements after a period of 96 hours of training.

Myocyte proliferation has been demonstrated under normal and pathologic conditions, such as heart failure or acute myocardial infarction.<sup>24,25</sup> In the adult heart, a subpopulation of cardiomyocytes exists that is not differentiated, capable of reentering the cell cycle and proliferating. There is no definitive evidence about the exact origin of these undifferentiated cells. They may come from itinerant cells or even from myocardial stem cells. These hypotheses need further investigation.<sup>24</sup> Several researchers have also verified that the capacity of hyperplasia is accompanied by apoptosis.<sup>24–28</sup> Both clinical<sup>24</sup> and experimental<sup>28</sup> investigations showed that diseased hearts present, simultaneously, signs of cardiomyocyte hyperplasia and programmed cell death. The studies suggest that tissue homeostasis depends on proper relationships between proliferation, differentiation, and apoptosis, so that under severe stress, apoptosis overtakes cell division.<sup>28</sup> Concomitant cell proliferation and apoptosis would have important implications when a ventricle is prepared to support systemic pressures, once it is desirable that contractile cells proliferate and remain preserved. From a therapeutic standpoint, an index lower than 0.05% to 0.1% of proliferating cardiomyocytes would be sufficient to significantly increase the number of contractile cells in a few months, because this growth takes place in a sustained manner, which means without being overcome by apoptosis.<sup>20</sup> In the present study, training groups had indexes of 1.13% (continuously stimulated group) and 0.68% (intermittently stimulated group). However, we did not search for apoptosis in this model.

Another substantial factor to be analyzed in the future would be the quantification of capillaries in the 3 groups studied. The type of training that demonstrates the best balance between contractile cell proliferation and blood vessels, besides the smallest apoptotic index, would be considered as the most adequate to be used in the 2-stage arterial switch operation.

The finding of a higher proliferation index for cells in the right half of the ventricular septum deserves discussion. Feigenbaum<sup>29</sup> long ago described in echocardiography the presence of a bright line within the ventricular septum, dividing its 2 sides. Boettler and colleagues,<sup>30</sup> studying hearts from 30 healthy subjects, demonstrated, also through echocardiography, that this line probably represents the VS division in 2 halves (right and left). Results from the present study suggest a different behavior of the 2 septal halves when the RV undergoes pressure overload and corroborate the theories of septal division mentioned above.

### Limitations of the Study

The main limitation of this study is the fact that differences exist between the RVs and LVs with respect to anatomy and physiology. One could argue that experimental results would not be the same if the trained ventricle was the morphologically left one. However, even having knowledge of this limitation, the option to work with healthy animals prevailed because the surgical procedure to change the ventriculoarterial connections would cause high mortality, making the research impracticable.<sup>6</sup> Moreover, although at first sight RV training could represent a limitation because of the different geometry of the chamber, considering that in our experimental model the coronary arterial circulation is not submitted to a hypertensive regimen due to pressure overload, one can observe that this situation is similar to the one that occurs in the child with transposition requiring ventricular preparation, which would be an advantage. Another restriction to consider is the training time in our 2 groups: animals prepared continuously had PAB for 96 hours, and in the intermittently stimulated group, animals were trained for 48 hours. However, in this study, the intention was to analyze the behavior of the ventricles that underwent rapid preparation, totaling a week of study. The final objective of this line of research is to obtain the best results in the shortest time possible, aiming at optimal clinical application.

### Conclusions

Under the conditions of the present study, the intermittent stimulation regimen, even imposing a shorter training time (periods of overload intercalated to periods of resting), was able to induce a similar response of the myocardium regarding cell hypertrophy and hyperplasia when compared with the continuous stimulation. Moreover, although there was

an increase in the interstitial cellular activity, it did not impair right ventricular systolic function (represented by the ejection fraction) in both stimulated groups.

## References

- Iyer KS, Sharma R, Kumar K, Bhan A, Kothari SS, Saxena A, et al. Serial echocardiographic for decision making in rapid two-stage arterial switch operation. *Ann Thorac Surg.* 1995;60:658-64.
- Lacour-Gayet F, Piot D, Zoghbi J, Serraf A, Gruber P, Macé L, et al. Surgical management and indication of left ventricular retraining in arterial switch for transposition of the great arteries with intact ventricular septum. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2001;20:824-9.
- Assad RS, Cardarelli M, Abduch MC, Aiello VD, Maizato M, Barbero-Marcial M, et al. Reversible pulmonary artery banding with a balloon catheter; assessment of rapid pulmonary ventricular hypertrophy. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2000;120:66-72.
- Boutin C, Wernovsky G, Sanders SP, Jonas RA, Castaneda AR, Colan SD. Rapid two-stage arterial switch operation. Evaluation of left ventricular systolic mechanics late after an acute pressure overload stimulus in infancy. *Circulation.* 1994;90:1294-1303.
- Dias CA, Assad RS, Caneo LF, Abduch MCD, Aiello VD, Dias AR, et al. Reversible pulmonary trunk banding II. An experimental model for rapid pulmonary ventricular hypertrophy. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2002;124:999-1006.
- Canêo LF, Dias CA, Assad RS, Abduch MCD, Aiello VD, Moreira LFP, et al. Preparo do ventrículo subpulmonar através de dois diferentes modelos ajustáveis de bandagem do tronco pulmonar: estudo experimental. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2001;16:35-48. Abstract in English at: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0102-76382001000100006&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0102-76382001000100006&lng=en&nrm=iso&tlng=en).
- Taquini AC, Fermo JD, Aramendia P. Behavior of the right ventricle following acute constriction of the pulmonary artery. *Circ Res.* 1960;8:315-8.
- Dowell RT, McManus RE. Pressure-induced cardiac enlargement in neonatal and adult rats. *Circ Res.* 1978;42:303-10.
- Anversa P, Levicky V, Beghi C, McDonald SL, Kikkawa Y. Morphometry of exercise-induced right ventricular hypertrophy in the rat. *Circ Res.* 1983;52:57-64.
- Le Bret E, Lupoglazoff JM, Borenstein N, Fromont G, Laborde F, Bachet J, et al. Cardiac "fitness" training: an experimental comparative study of three methods of pulmonary artery banding for ventricular training. *Ann Thorac Surg.* 2005;79:198-203.
- Anversa P, Kajstura J. Ventricular myocytes are not terminally differentiated in the adult mammalian heart. *Circ Res.* 1998;83:1-14.
- Anversa P, Fitzpatrick D, Argani S, Capasso JM. Myocyte mitotic division in the aging mammalian rat heart. *Circ Res.* 1991;69:1159-64.
- Clark JD, Gebhart GF, Gonder JC, Keeling ME, Kohn DF. Special report. The 1996 guide for the care and use of laboratory animals. *ILAR J.* 1997;38:41-8.
- Pontes SC Jr, Assef JE, Barretto RB, Chacur P, Moreira DA, Nina VJS, et al. Estimation of right ventricular mass by two-dimensional echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2005;18:427-34.
- Vuille C, Weyman A. Left ventricle I: general considerations, assessment of chamber size and function. In: Weyman AE, editor. *Principles and Practice of Echocardiography.* 2nd ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1994; p. 575-624.
- Flores JM, Sanchez MA, Nieto A, Sanchez B, Gonzalez M, Garcia P. Detection of estrogen alpha and progesterone receptors and cell proliferation in the uterus during early pregnancy in the goat. *Theriogenology.* 2001;56:341-55.
- Corno AE, Hurni M, Payot M, Sekarski N, Tozzi P, von Segesser LK. Adequate left ventricular preparation allows for arterial switch despite late referral. *Cardiol Young.* 2003;13:49-52.
- Anversa P, Ricci R, Olivetti G. Quantitative structural analysis of the myocardium during physiologic growth and induced cardiac hypertrophy: a review. *J Am Coll Cardiol.* 1986;7:1140-9.
- Borow KM, Arensman FW, Webb C, Radley-Smith R, Yacoub MH. Assessment of left ventricular contractile state after anatomic correction of transposition of the great arteries. *Circulation.* 1984;69:106-12.
- Soonpaa MH, Field LJ. Survey of studies examining mammalian cardiomyocytes DNA synthesis. *Circ Res.* 1998;83:15-26.
- Weber KT. Cardiac interstitium in health and disease: the fibrillar collagen network. *J Am Coll Cardiol.* 1989;13:1637-52.
- Buccino RA, Harris E, Spann JF Jr, Sonnenblick EH. Response of myocardial connective tissue to development of experimental hypertrophy. *Am J Physiol.* 1969;216:425-8.
- Tomanek RJ, Searls JC, Lachenbruch PA. Quantitative changes in the capillary bed during developing, peak, and stabilized cardiac hypertrophy in the spontaneously hypertensive rat. *Circ Res.* 1982;51:295-304.
- Zorc M, Vraspir-Porenta O, Zorc-Pleskovic R, Radovanovic N, Petrovic D. Apoptosis of myocytes and proliferation markers as prognostic factors in end-stage dilated cardiomyopathy. *Cardiovasc Pathol.* 2003;12:36-9.
- Narula N, Narula J, Zhang PJ, Haider N, Raghunath PN, Brittin R, et al. Is the myofibrillar myocyte a forme fruste apoptotic myocyte? *Ann Thorac Surg.* 2005;79:1333-7.
- Dispersyn GD, Ausma J, Thoné F, Flameng W, Vanoverschelde JLLJ, Alessie MA, et al. Cardiomyocyte remodelling during myocardial hibernation and atrial fibrillation: prelude to apoptosis. *Cardiovasc Res.* 1999;43:947-57.
- James TN. Normal and abnormal consequences of apoptosis in the human heart. *Annu Rev Physiol.* 1998;60:309-25.
- Sarkar S, Chawla-Sarkar M, Young D, Nishiyama K, Rayborn ME, Hollyfield JG, et al. Myocardial cell death and regeneration during progression of cardiac hypertrophy to heart failure. *J Biol Chem.* 2004;279:52630-42.
- Feigenbaum H. Diseases of the myocardium. In: Feigenbaum H, editor. *Echocardiography.* 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1986. p. 514-47.
- Boettler P, Claus P, Herbots L, McLaughlin M, D'Hooge J, Bijnens B, et al. New aspects of the ventricular septum and its function: an echocardiographic study. *Heart.* 2005;91:1343-8.

## **Anexo 4**

## Left ventricular remodeling in hearts with tricuspid atresia: Morphologic observations and possible basis for ventricular dysfunction after surgery

Maria Angelica Binotto, MD<sup>a</sup>  
Maria de Lourdes Higuchi, MD<sup>b</sup>  
Vera Demarchi Aiello, MD<sup>b</sup>

**Objectives:** This study was undertaken to assess the pattern of left ventricular hypertrophy, the myocardial capillary network, and the extracellular matrix in hearts with tricuspid atresia.

**Methods:** We examined 32 hearts with tricuspid atresia and 27 normal hearts from control subjects with similar age and sex distribution. Wall thickness, inlet length, and outlet length were obtained from the left ventricle. Immunohistochemical staining for von Willebrand factor was used to label myocardial capillaries. By means of computer-assisted morphometry, the following data were obtained from the inlet, apex, and outlet of the left ventricle: transverse myocyte diameter, myocyte nuclear volume fraction, capillary volume fraction, interstitial fibrous volume fraction, and endocardial thickness.

**Results:** The wall thickness in affected hearts was not different from that in control hearts. The left ventricular outlet length was significantly greater in the malformed hearts ( $P = .005$ ). The myocyte diameter did not differ from that in control hearts. The capillary volume fraction was decreased in the malformed hearts ( $P < .001$ ). The interstitial fibrous deposition was greater in the malformed hearts at all sites analyzed ( $P < .001$ ). Fibrosis was greater in the inlet and apex ( $P = .004$ ) and also in the subendocardial half of the ventricular wall than in the subepicardial half. According to a logistic regression model, age was the only variable associated with the probability of occurrence of fibrosis.

**Conclusions:** Our findings in hearts with tricuspid atresia possibly represent chronically induced volume overload in the presence of ischemia, rather than a typical model of volume overload. A decreased capillary volume fraction may indicate a greater susceptibility to ischemia. Fibrous deposition probably occurs early in life.

**T**he application of the Fontan principle has improved survival and functional capacity for patients with univentricular atrioventricular connections. However, most centers have documented ongoing morbidity and mortality after surgery.<sup>1,2</sup> Abnormal ventricular function, both systolic and diastolic, is clearly related to the late outcome. Myocardial hypertrophy is certainly recognized as a risk factor for the Fontan procedure.<sup>3</sup> The systemic ventricle is chronically volume overloaded and

From the Department of Pediatric Cardiology and Adult Congenital Heart Disease<sup>a</sup> and the Laboratory of Pathology, Heart Institute (InCor)<sup>b</sup>, University of São Paulo Medical School, São Paulo, Brazil.

Supported by the Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), grant 98/07636-6.

Received for publication Sept 23, 2002; revisions requested Oct 29, 2002; revisions received Nov 13, 2002; accepted for publication Dec 2, 2002.

Address for reprints: Maria Angelica Binotto, MD, Heart Institute (InCor), University of São Paulo Medical School, Pediatric Cardiology, Av. Higienópolis, 1048/86, São Paulo 01238-000, Brazil (E-mail: conangelica@incor.usp.br).

J Thorac Cardiovasc Surg 2003;126:1026-32

Copyright © 2003 by The American Association for Thoracic Surgery

0022-5223/2003 \$30.00 + 0

doi:10.1016/S0022-5223(03)00696-2



subjected to longstanding hypoxemia and variable degrees of pressure overload, factors implicated in the myocardial remodeling process. In addition, the myocardium may be intrinsically abnormal, as has been suggested by Ho and colleagues<sup>4</sup> and, more recently, by Sanchez-Quintana and coworkers.<sup>5</sup> In addition to the pathologic remodeling, expansion of cardiac mass during postnatal physiologic growth also takes place.

Few studies have addressed ventricular remodeling in hearts with univentricular atrioventricular connections.<sup>4-6</sup> The purpose of this study was to analyze several aspects of the ventricular remodeling in hearts with tricuspid atresia, including myocardial hypertrophy, extracellular matrix deposition, and capillary network.

## Methods

We studied 32 hearts with tricuspid atresia, obtained at autopsy from the pathology laboratory collection of the Heart Institute, University of São Paulo Medical School. The control group comprised 27 structurally normal hearts from children aged 1 day to 6 years who had died of non-cardiovascular-related diseases. Age and sex distributions were similar for the two groups (study group age  $9.6 \pm 13.9$  months, median 2.5 months, 19 male and 13 female infants; control group age  $9.6 \pm 17.4$  months, median 3 months, 15 male and 12 female infants). The specimens were inspected after a sequential segmental analysis. The following measurements were obtained from the left ventricle (LV): thickness of the free wall at the inlet (the level of the superior edge of the papillary muscles) and at the outlet (the same plane relative to the apex-base axis), inlet and outlet lengths (an estimation of cavity size), arterial valve diameters, and the major diameter of the ventricular septal defect (VSD). The VSD was considered restrictive when its major diameter was smaller than that of the arterial valve emerging from the rudimentary right ventricle. Transmural blocks of tissue were taken from the LV wall at the sites used for the measurements of wall thickness in the inlet and outlet and also from the apex of the LV. The tissue was processed routinely for histologic examination, and 5- $\mu\text{m}$  sections were stained with hematoxylin and eosin and Masson trichrome stain. Histologic sections and staining considered to be technically inadequate were excluded from the analysis.

## Morphometric Analysis

**MYOCYTE TRANSVERSE DIAMETER.** The morphometric measurements were carried out with an interactive computer-assisted image analyzer (Leica Quantimet; Leica Cambridge Ltd, United Kingdom).<sup>7</sup> To avoid interobserver variation, a single investigator operated the analyzer.

The myocyte transverse diameter was measured at the level of the nucleus in the mesocardial layer of the ventricular wall, irrespective of the orientation of the section. Final magnification was  $\times 400$ .

In a pilot study, the evolution of the mean values and variance was analyzed to determine the number of measurements required. The mean values of myocyte diameter in 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 180, and 200 observations were obtained. We opted to measure 60 myocytes per section.

**CAPILLARY VOLUME FRACTION.** Immunohistochemical staining for von Willebrand factor was used to label myocardial capillary endothelial cells. The stained inlet LV sections containing circumferentially oriented capillaries were imaged at a final magnification of  $\times 1000$ . For each section 30 random fields  $11,456 \mu\text{m}^2$  in area were analyzed. With computer-assisted morphometry and an interposed grid of 598 points, incident points on myocardial capillaries were counted. The proportion of the points lying over the structure of interest over the number of points in the grid was used as a measure of the volume fraction, or volume density, of myocardium occupied by that structure.<sup>8</sup>

**NUCLEAR VOLUME FRACTION.** With the same system described previously and an interposed grid of 598 points, incident points on myocyte nuclei were counted in sections of the LV inlet stained with hematoxylin and eosin. For each section 25 random fields were analyzed at the mesocardial layer of the ventricular wall.

**QUANTIFICATION OF FIBROUS TISSUE.** Fibrous content in the interstitial space was estimated by analyzing at least 10 microscopic fields in the subendocardial and subepicardial halves of the ventricular wall at a magnification of  $\times 400$  (final resolution of 0.48  $\mu\text{m}/\text{pixel}$ ). Star-shaped scars and concentric perivascular fibrous tissue were excluded from the analysis. The interstitial fibrous volume fraction (IFVF) was expressed as a percentage of the myocardial area. Microscars were described qualitatively.

**ENDOCARDIAL THICKNESS.** Linear measurements of the endocardial thickness were obtained in histologic sections stained with hematoxylin-eosin from the inlet, apex, and outlet of the LV. A mean value was obtained from 10 measurements at each site.

## Statistical Analysis

Values are given as means, SDs, and medians. Unpaired Student *t* tests or Mann-Whitney tests as appropriate were used to compare values between control and study groups. Comparisons between subendocardial and subepicardial regions were done with the Wilcoxon test. The Friedman test was carried out for multiple comparisons, followed by the Tukey procedure as modified by Nemenyi. Correlation coefficients were obtained by the Spearman method. Logistic regression was used to identify independent predictors of the occurrence of fibrosis. Data were analyzed with SigmaStat 2.0 software (SPSS Inc, Chicago, Ill).

## Results

### Heart Specimens

The atrial arrangement was usual in all specimens. The ventriculoarterial connection was concordant in 20 hearts and discordant in 10. One of the remaining specimens showed a common arterial trunk emerging from the dominant LV, and another showed a double outlet from the LV. Twenty specimens showed signs of previous surgical intervention. Of these, 9 had a modified Blalock-Taussig shunt; 5 of them showed pulmonary artery banding, 3 with aortic coarctation repair. Of the remaining specimens, 5 had a Fontan-Kreutzer procedure (1 preceded by a modified Blalock-Taussig shunt and another by pulmonary artery banding) and 1 had undergone a Damus-Kaye-Stansel procedure associated with a bidirectional Glenn anastomosis. Death had occurred between 1 day and 2 years after surgery

TABLE 1. Characteristics of patients

Case	Sex	Age (mo)	Ventriculoarterial connection	Additional diagnosis	Previous operation	Interval*
1	M	0.1	Discordant	Coarctation	None	—
2	M	0.2	Concordant	TAPVC	None	—
3	M	0.2	Concordant	Restrictive VSD, PS	MBTS	5 d
4	F	0.3	Concordant	Restrictive VSD	MBTS	6 d
5	F	0.3	Discordant	Restrictive VSD, coarctation	None	—
6	F	0.4	Concordant	Restrictive VSD, TAPVC	MBTS	1 d
7	F	0.5	Concordant	Restrictive VSD, PS	MBTS	2 d
8	M	0.6	Discordant	Coarctation	None	—
9	M	0.7	Concordant	Coarctation	None	—
10	M	0.9	Concordant	Restrictive VSD, pulmonary atresia	None	—
11	F	1	Concordant	Pulmonary atresia	MBTS	9 d
12	M	1.2	Discordant	Coarctation	None	—
13	F	2	Discordant	Restrictive VSD, coarctation	None	—
14	F	2	Concordant		PAB	19 d
15	M	2	Concordant	Restrictive VSD	None	—
16	F	2.3	Single outlet	Truncus arteriosus communis	None	—
17	M	2.7	Discordant	PS	MBTS	38 d
18	M	3	Discordant	Coarctation	PAB plus coarctation repair	16 d
19	F	4	Concordant		None	—
20	M	6	Concordant	Restrictive VSD	Fontan-Kreutzer	1 d
21	F	6	Concordant	Restrictive VSD	MBTS	15 d
22	F	7	Concordant		None	—
23	F	8	Double-outlet LV	Restrictive VSD, coarctation	PAB plus coarctation repair	24 d
24	M	8	Discordant	Restrictive VSD, coarctation	PAB plus coarctation repair	2 mo
25	F	9	Concordant	PS	MBTS	5 mo
26	M	24	Discordant	Restrictive VSD	Bidirectional Glenn anastomosis plus Damus-Kaye-Stansel operation plus mitral valve replacement	3 d
27	M	26	Concordant	PS	MBTS	2 y
28	M	32	Concordant	Restrictive VSD	Fontan-Kreutzer	16 d
29	M	34	Discordant		PAB	2.3 y
30	M	36	Concordant	Restrictive VSD, PS	Fontan-Kreutzer	12 d
31	M	36	Concordant		PAB, Fontan-Kreutzer	3 mo
32	M	50	Concordant	Restrictive VSD	MBTS, Fontan-Kreutzer	2 d

TAPVC, Total anomalous pulmonary venous connection; PS, pulmonary valve stenosis; MBTS, modified Blalock-Taussig shunt; PAB, pulmonary artery banding.

\*Interval from surgery to death.

TABLE 2. Gross measurements from the inlet and outlet of the LV, comparing hearts with tricuspid atresia and control hearts

	Tricuspid atresia		Control		P value
	Mean ± SD	Median	Mean ± SD	Median	
Inlet wall thickness (cm)	0.68 ± 0.17	0.70	0.69 ± 0.22	0.70	.82
Outlet wall thickness (cm)	0.70 ± 0.21	0.70	0.70 ± 0.22	0.60	.94
Inlet length (cm)	3.19 ± 0.76	3.10	2.97 ± 0.63	2.90	.24
Outlet length (cm)	3.69 ± 0.84	3.55	3.05 ± 0.63	2.95	.005

(median 15 days); 14 of the patients had died within the first postoperative month. Additional data are shown in Table 1.

### LV Hypertrophy

The inlet and outlet wall thicknesses were not different from those in control hearts (Table 2). The LV outlet length was significantly greater in the malformed hearts (95% confidence interval for difference of means 0.19-1.01;  $P = .005$  by  $t$  test). On microscopy, the myocyte transverse diameter did not differ from the controls in any of the sites analyzed (95% confidence intervals for difference of means  $-2.1$  to  $1.18$  for inlet,  $-2.29$  to  $0.95$  for apex, and  $-1.37$  to  $1.53$  for outlet, respectively; Table 3). There was no difference when comparing inlet, apex, and outlet of the LV ( $P = .38$  by Friedman test). In addition, the myocyte nuclear volume fraction was significantly smaller in the malformed hearts

**TABLE 3. Myocyte diameter, interstitial fibrosis and endocardial thickness in the inlet, apex, and outlet of the LV in control hearts and those with tricuspid atresia**

	Myocyte diameter ( $\mu\text{m}$ )		Fibrosis (IFVF %)		Endocardial thickness ( $\mu\text{m}$ )	
	Mean $\pm$ SD	Median	Mean $\pm$ SD	Median	Mean $\pm$ SD	Median
Inlet						
Tricuspid atresia	9.6 $\pm$ 2.4	9.6 (25)	3.8 $\pm$ 2.8	3.1 (29)†	53.9 $\pm$ 40.1	41.8 (29)*
Control	10.0 $\pm$ 2.6	9.8 (15)	1.0 $\pm$ 0.7	1.0 (23)	24.0 $\pm$ 19.7	14.3 (18)
Apex						
Tricuspid atresia	9.6 $\pm$ 2.1	10.6 (15)	2.6 $\pm$ 2.0	2.0 (25)†	20.8 $\pm$ 14.7	15.1 (28)*
Control	9.0 $\pm$ 2.1	8.7 (14)	0.5 $\pm$ 0.5	0.4 (19)	10.7 $\pm$ 3.7	9.9 (19)
Outlet						
Tricuspid atresia	8.9 $\pm$ 1.9	9.0 (14)	2.1 $\pm$ 1.8	1.6 (22)†	34.1 $\pm$ 29.0	23.9 (22)
Control	9.0 $\pm$ 1.8	9.4 (14)	0.6 $\pm$ 0.5	0.4 (18)	19.0 $\pm$ 13.2	14.8 (16)

In parentheses are shown the numbers of cases analyzed in each comparison (tricuspid atresia versus control).

\* $P < .01$  versus control.

† $P < .001$  versus control.

(median value 2.4% vs 4.4%,  $P < .001$  by Mann-Whitney test).

### Capillary Volume Fraction

The myocardial capillary volume fraction was significantly smaller in hearts with tricuspid atresia than in normal control hearts (median value 6.8% vs 8.1%,  $P = .01$  by Mann-Whitney test).

### Interstitial Fibrosis

The IFVF was significantly greater in the malformed hearts at all three sites examined (Table 3 and Figure 1, A). The LV inlet and apex were more fibrotic than the outlet in the malformed hearts but not in the control group ( $P = .004$  by Friedman test). In addition, the IFVF was greater in the subendocardial halves of the ventricular wall in the inlet and apex of hearts with tricuspid atresia but not the control hearts ( $P = .002$  and  $P = .01$ , respectively, by Wilcoxon test Figure 2).

There was a weak but significant positive correlation between IFVF and the age of the patients in the study group ( $r_s = 0.50$ ,  $P = .006$ ) but not the control group ( $r_s = .16$ ,  $P = .45$ ).

The multivariate logistic regression model suggested that age was the only variable associated with an increased probability of occurrence of fibrosis, defined as IFVF greater than 3%. The other variables included in the model (type of ventriculoarterial connection, the presence of a restrictive VSD, presence of aortic coarctation or interruption, decreased pulmonary blood flow physiology, and previous surgery) were not independent predictors of occurrence of fibrosis in the multivariate model. In fact, children older than 3 months had an 8.3 times greater probability of occurrence of fibrosis than had a younger population (odds ratio 95% confidence interval 1.47-47.22, sensitivity 71.4%, specificity 76.9%; Figure 3).

### Myocardial Microscars

Myocardial microscars (Figure 1, B) were present in 7 specimens from patients aged 27 days through 50 months (median 4 months). Five were apical and 4 were restricted to the subendocardial half of the ventricular wall.

### Endocardial Thickness

LV endocardial thickness was greater at the inlet and apex of the malformed hearts than in the control hearts (Table 3).

### Type of Ventriculoarterial Connection

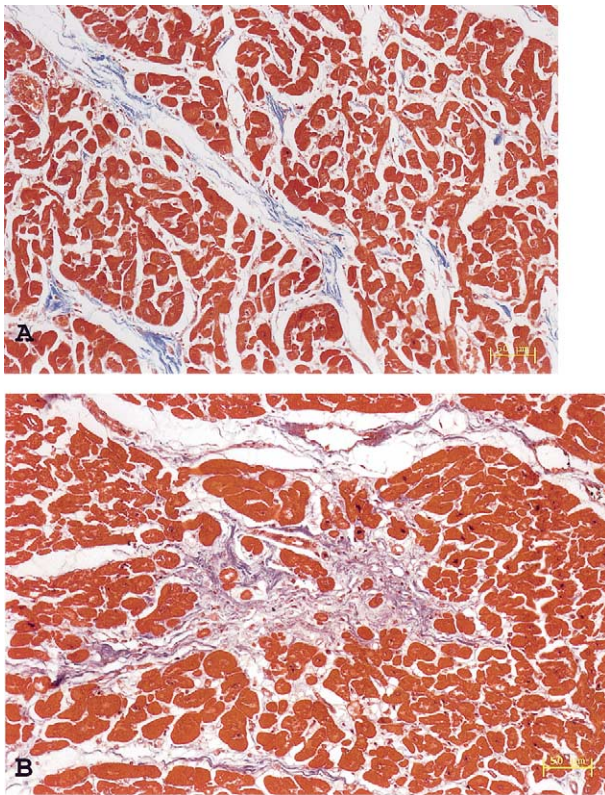
The age at death was similar between the two groups (concordant 3 days to 34 months, median 3.0 months; discordant 6 days to 50 months, median 2.3 months). There was no difference when comparisons were made between hearts with concordant and discordant ventriculoarterial connections to address the following variables: inlet wall thickness ( $P = .09$  by  $t$  test), inlet length ( $P = .5$  by  $t$  test), transverse myocyte diameter ( $P = .24$  by  $t$  test); IFVF ( $P = .19$  by Mann-Whitney test), and endocardial thickness ( $P = .76$  by  $t$  test).

### Discussion

The LV of the heart with tricuspid atresia plays a crucial role because it functions as the only pumping chamber. Few studies have addressed the myocardial structure of malformed hearts, particularly in univentricular atrioventricular connections.

### LV Hypertrophy

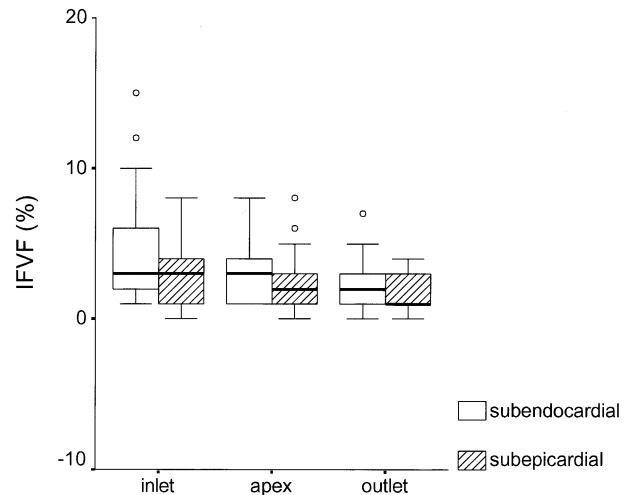
In our study the LVs of the malformed hearts were dilated, without a relative increase in the wall thickness corresponding to eccentric hypertrophy, as would be expected in situations where there is predominantly volume overload. These findings are in accordance with those described by others<sup>6</sup> in hearts with pulmonary atresia with intact ventric-



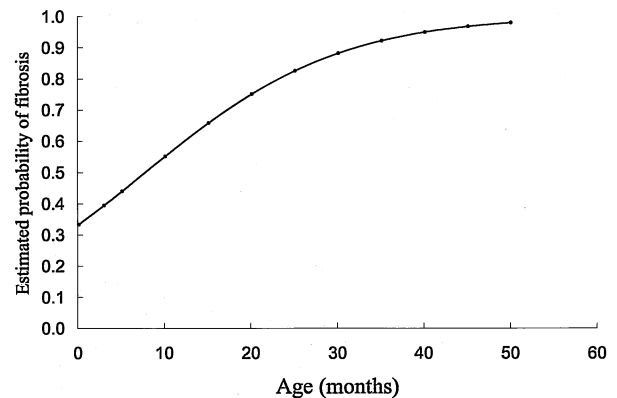
**Figure 1.** Photomicrographs of LV myocardium from child with tricuspid atresia (original magnification  $\times 20$ , Masson trichrome stain). **A**, Diffuse interstitial fibrosis stained in blue. **B**, Star-shaped scar stained in blue.

ular septum, suggesting that the ratio of LV mass to end-diastolic volume may be inadequate in univentricular hearts. We did not find specimens in our material with excessive wall thickness, as demonstrated in an autopsy series of patients who died after the Fontan procedure<sup>9</sup> and also in a clinical setting.<sup>10</sup> This diversity in results is likely to be related to the young age of death of the patients included in our study, most younger than 1 year, and the relative paucity of cases with discordant ventriculoarterial connection in association with a restrictive VSD and subaortic stenosis, in which setting conspicuous ventricular hypertrophy is more frequent.

During the adaptive phase of elevated diastolic wall stress in volume overloads, the ratio of wall thickness to chamber radius remains constant as a result of proportional growth in the transverse and longitudinal dimensions of the myocyte. After the progression toward decompensation, there is a disproportionate lengthening of the myocytes and a dilated, thin-walled ventricular chamber.<sup>11</sup> In this study the myocyte transverse diameter in the affected hearts did not differ from that in the control hearts. Although the longitudinal dimension could not be obtained, it is likely



**Figure 2.** Box and whisker plots comparing IFVF in subendocardial and subepicardial halves of LV wall of hearts with tricuspid atresia in three sites analyzed. Boxes represent median, upper, and lower quartiles. P values are .002, .01, and .09, respectively, for comparisons in inlet, apex, and outlet of LV.



**Figure 3.** Estimated probability of occurrence of fibrosis in relation to age of patients.

that these patients were in the maladaptive phase of eccentric hypertrophy before death.

Experimental data have indicated that the myocyte nuclear volume increases with cellular hypertrophy.<sup>12</sup> In addition, previous studies have demonstrated that human myocytes are prevalently mononucleated.<sup>13</sup> The myocyte nuclear volume fraction could therefore be viewed as an index of hypertrophy and of cell number in a given area of the histologic section. The decreased nuclear volume fraction found in hearts with tricuspid atresia relative to normal control hearts is in agreement with a predominantly longitudinal growth of the myocytes (eccentric hypertrophy). However, we could not establish a parallel to the hypertro-

phic process, either because one does not exist or because of the relatively small number of cases analyzed.

### Coronary Capillaries

The myocardial capillary network expands proportionally during physiologic growth<sup>14</sup> but may be inadequate under conditions of hemodynamic overload, increasing the potential for ischemic damage in cardiac hypertrophy. Evidence from animal and human studies indicates that capillary growth in pressure overload hypertrophy does not fully compensate for the increase in ventricular mass,<sup>15</sup> although limited capillary growth may occur in young patients<sup>16</sup> and during adaptation to a prolonged pressure overload.<sup>17</sup> In contrast, several experimental studies in volume overload models suggest that the adaptation of the myocardial capillary network is proportional to the degree of hypertrophy.<sup>18</sup> Experimental data on the myocardial capillary supply adaptation in response to hypoxia are controversial.<sup>15</sup> Yet hypoxia is considered to be an effective stimulus for growth of endothelial cells.<sup>15</sup> The finding of a decreased capillary volume fraction in our cases might indicate a greater vulnerability of these hearts to ischemia.

### Extracellular Matrix

Hearts with tricuspid atresia showed a higher proportion of fibrous tissue than normal since the first weeks of life, showing a positive correlation with increasing age. The multivariate logistic regression model indicated that infants older than 3 months had an 8.3 times greater probability of occurrence of fibrosis than had younger infants, supporting the view that the myocardium may be inherently abnormal.<sup>4,5</sup>

It has been well documented that pressure overload cardiac hypertrophy is accompanied by an increased accumulation of collagen in the myocardium.<sup>19,20</sup> Fibrosis of the heart accompanies chronic elevations in circulating effector hormones of the renin-angiotensin-aldosterone system, when heart failure or unilateral renal artery stenosis impairs renal perfusion.<sup>20</sup> In contrast, most of the published experimental data have indicated that interstitial collagen accumulation does not change in response to induced volume overload.<sup>21,22</sup>

Much attention is currently focused on the role of apoptosis in the pathogenesis of cardiac disease. Apoptosis has been implicated in a wide range of models, such as ischemia and myocardial infarction, pressure overload hypertrophy, cardiac rejection, and dilated cardiomyopathy.<sup>23</sup> It may be a contributing phenomenon in the pathologic remodeling in hearts with tricuspid atresia.

The morphometric method permitted the discrimination of the fibrous deposition across the ventricular wall. Hoyt and colleagues<sup>7</sup> compared the quantification of collagen in histologic sections stained with Masson trichrome, per-

formed with a computer-assisted method similar to ours, with those obtained from a hydroxyproline assay. The percentage of collagen from analysis of histologic sections strongly correlated with the hydroxyproline level, with excellent intraobserver and interobserver concordance. Results were unaffected by variations in histochemical staining.

Our study showed a greater deposition of fibrous tissue in the subendocardial half of the LV wall, following the pattern found in concentric hypertrophy,<sup>24</sup> dilated cardiomyopathy,<sup>25</sup> and ventricular remodeling after myocardial infarction.<sup>26</sup> This finding is not in agreement with observations by Ho and colleagues<sup>4</sup> in hearts with tricuspid atresia. Experimental studies of physiologic growth have demonstrated a relatively lower capillary luminal volume in the subendocardial layer, indicating a greater vulnerability of this region to ischemic injury.<sup>27</sup> In addition, the myocardial tissue pressure and oxygen demands are greater in the subendocardial portion of the wall. Thus the disturbance of oxygen supply and demand may result in chronic tissue injury and subendocardial fibrosis.

This analysis demonstrated regional variations in the fibrous deposition, with the LV inlet and apex being more fibrotic than the outlet in malformed hearts. This finding could explain, at least in part, regional ventricular wall motion abnormalities found in patients with univentricular hearts before and after stages of Fontan reconstruction.<sup>28,29</sup>

The comparison according to the type of ventriculoarterial connections did not show any significant difference in the content of fibrous tissue. This finding is in conformity with data published by Ho and colleagues,<sup>4</sup> possibly reflecting the dominant role of the LV.

The functional consequences of collagen remodeling have been extensively demonstrated.<sup>30</sup> It seems clear that both systolic and diastolic properties may be affected. Clinical trials with pharmacologic interventions directed toward collagen remodeling in such malformed hearts should be addressed in future studies.

### Conclusion

On the whole, our findings in hearts with tricuspid atresia are more likely to represent a chronically induced volume overload in the presence of ischemia than to represent a typical model of volume overload. Moreover, the pathologic insult occurs in parallel with the expansion of cardiac mass in a growing child. What remains to be clarified is why the capillary network seems not to develop properly in the presence of a strong potential stimulus for angiogenesis (hypoxia).

We thank Ms Creusa Maria Roveri dal Bó for assistance with statistical analysis and Professor Antonio Augusto Barbosa Lopes for his valuable suggestions.

## References

1. Fontan F, Kirklin JW, Fernandez G, Costa F, Naftel DC, Tritto F, et al. Outcome after a "perfect" Fontan operation. *Circulation*. 1990;81:1520-36.
2. Gentles TL, Mayer JE Jr, Gauvreau K, Newburger JW, Lock JE, Kupferschmid JP, et al. Fontan operation in five hundred consecutive patients: factors influencing early and late outcome. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1997;114:376-91.
3. Cohen AJ, Cleveland DC, Dyck J, Poppe D, Smallhorn J, Freedom RM, et al. Results of the Fontan procedure for patients with univentricular heart. *Ann Thorac Surg*. 1991;52:1266-70.
4. Ho SY, Jackson M, Kilpatrick L, Smith A, Gerlis LM. Fibrous matrix of ventricular myocardium in tricuspid atresia compared with normal heart: a quantitative analysis. *Circulation*. 1996;94:1642-6.
5. Sanchez-Quintana D, Climent V, Ho SY, Anderson RH. Myoarchitecture and connective tissue in hearts with tricuspid atresia. *Heart*. 1999;81:182-91.
6. Akiba T, Becker AE. Disease of the left ventricle in pulmonary atresia with intact ventricular septum: the limiting factor for long-lasting successful surgical intervention? *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1994;108:1-8.
7. Hoyt RH, Ericksen E, Collins SM, Skorton DJ. Computer-assisted quantitation of myocardial fibrosis in histologic sections. *Arch Pathol Lab Med*. 1984;108:280-3.
8. Weibel ER, Gomez DM. A principle for counting tissue structures on random sections. *J Appl Physiol*. 1962;17:343-8.
9. Caspi J, Coles JG, Rabinovich M, Cohen D, Trusler GA, Williams WG, et al. Morphological findings contributing to a failed Fontan procedure: twelve-year experience. *Circulation*. 1990;82(5 Suppl):IV177-82.
10. Malcic I, Sauer U, Stern H, Kellerer M, Kuhlein B, Locher D, et al. The influence of pulmonary artery banding on outcome after the Fontan operation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1992;104:743-7.
11. Gerdes AM, Clark LC, Capasso JM. Regression of cardiac hypertrophy after closing an aortocaval fistula in rats. *Am J Physiol*. 1995;268(6 Pt 2):H2345-51.
12. Gerdes AM, Liu Z, Zimmer HG. Changes in nuclear size of cardiac myocytes during the development and progression of hypertrophy in rats. *Cardioscience*. 1994;5:203-8.
13. Olivetti G, Cigola E, Maestri R, Corradi D, Lagrasta C, Gambert SR, et al. Aging, cardiac hypertrophy and ischemic cardiomyopathy do not affect the proportion of mononucleated and multinucleated myocytes in the human heart. *J Mol Cell Cardiol*. 1996;28:1463-77.
14. Anversa P, Ricci R, Olivetti G. Coronary capillaries during normal and pathological growth. *Can J Cardiol*. 1986;2:104-13.
15. Hudlicka O, Brown MD. Postnatal growth of the heart and its blood vessels. *J Vasc Res*. 1996;33:266-87.
16. Rakusan K, Flanagan MF, Geva T, Southern J, Van Praagh R. Morphometry of human coronary capillaries during normal growth and the effect of age in left ventricular pressure-overload hypertrophy. *Circulation*. 1992;86:38-46.
17. Tomanek RJ, Wessel TJ, Harrison DG. Capillary growth and geometry during long-term hypertension and myocardial hypertrophy in dogs. *Am J Physiol*. 1991;261(4 Pt 2):H1011-8.
18. Legault F, Rouleau JL, Juneau C, Rose C, Rakusan K. Functional and morphological characteristics of compensated and decompensated cardiac hypertrophy in dogs with chronic infrarenal aorto-caval fistulas. *Circ Res*. 1990;66:846-59.
19. Schwartzkopff B, Frenzel H, Dieckerhoff J, Betz P, Flasshove M, Schulte HD, et al. Morphometric investigation of human myocardium in arterial hypertension and valvular aortic stenosis. *Eur Heart J*. 1992;13(Suppl D):17-23.
20. Weber KT, Sun Y, Guarda E, Katwa LC, Ratajska A, Cleutjens JP, et al. Myocardial fibrosis in hypertensive heart disease: an overview of potential regulatory mechanisms. *Eur Heart J*. 1995;16(Suppl C):24-8.
21. Weber KT, Pick R, Silver MA, Moe GW, Janicki JS, Zucker IH, et al. Fibrillar collagen and remodeling of dilated canine left ventricle. *Circulation*. 1990;82:1387-401.
22. Namba T, Tsutsui H, Tagawa H, Takahashi M, Saito K, Kozai T, et al. Regulation of fibrillar collagen gene expression and protein accumulation in volume-overloaded cardiac hypertrophy. *Circulation*. 1997;95:2448-54.
23. Davies MJ. Apoptosis in cardiovascular disease. *Heart*. 1997;77:498-501.
24. Lund O, Kristensen LH, Baandrup U, Hansen OK, Nielsen TT, Emmertsen K, et al. Myocardial structure as a determinant of pre- and postoperative ventricular function and long-term prognosis after valve replacement for aortic stenosis. *Eur Heart J*. 1998;19:1099-108.
25. 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.
26. Michel JB, Nicoletti A, Arnal JF. Left ventricular remodelling following experimental myocardial infarction. *Eur Heart J*. 1995;16(Suppl I):49-57.
27. Anversa P, Capasso JM, Ricci R, Sonnenblick EH, Olivetti G. Morphometric analysis of coronary capillaries during physiologic myocardial growth and induced cardiac hypertrophy: a review. *Int J Microcirc Clin Exp*. 1989;8:353-63.
28. Akagi T, Benson LN, Williams WG, Freedom RM. Regional ventricular wall motion abnormalities in tricuspid atresia after the Fontan procedure. *J Am Coll Cardiol*. 1993;22:1182-8.
29. Fogel MA, Gupta KB, Weinberg PM, Hoffman EA. Regional wall motion and strain analysis across stages of Fontan reconstruction by magnetic resonance tagging. *Am J Physiol*. 1995;269(3 Pt 2):H1132-52.
30. Conrad CH, Brooks WW, Hayes JA, Sen S, Robinson KG, Bing OH. Myocardial fibrosis and stiffness with hypertrophy and heart failure in the spontaneously hypertensive rat. *Circulation*. 1995;91:161-70.