

7

Artigo
de Revisão

A biópsia endomiocárdica no controle de rejeição em transplante cardíaco

Roberto José de Lima

MD, MS, Professor Assistente, Departamento de Patologia – Faculdade de Medicina / UFRJ. Serviço de Anatomia Patológica – HUCFF / UFRJ.

Nas últimas quatro décadas o transplante cardíaco confirmou-se como conduta terapêutica para o tratamento de doenças cardíacas terminais. As taxas de sobrevividas corroboraram para a adoção desse método e para validade dos investimentos em sua implementação. Diversos centros se estabeleceram espalhados pelo mundo todo. A incorporação de drogas imunossupressoras eficazes ampliaram a cobertura da indicação dos transplantes cardíacos. Atualmente, a idade varia do nascimento aos setenta anos. O diagnóstico para receptores de transplante cardíaco é principalmente a cardiomiopatia dilatada em estágio final e doença coronariana arteriosclerótica em estágio final em adultos. Depois incluem-se os grupos de pacientes com prótese valvular que não obtiveram sucesso, seguidos de doença cardíaca congênita. E, por fim, um pequeno grupo heterogêneo de enfermidades, como a amiloidose, sarcoidose, tumor cardíaco, doença de Marfan e miocardites.

A principal causa de morte em receptores de transplante cardíaco ainda permanece sendo pela rejeição aguda ou infecção em estados de imunossupressão acentuada nos estágios iniciais, ou doença vascular do enxerto nos estágios tardios. A despeito da introdução de diversos protocolos terapêuticos com sucesso significativo, a prevenção da rejeição aguda é ainda um ponto de incerteza. Com objetivo de se eliminar esta variável, diversos métodos têm sido testados. Embora métodos não invasivos venham sendo empregados, o diagnóstico definitivo de rejeição necessita da confirmação morfológica. A biópsia endomiocárdica continua

sendo utilizada com segurança no monitoramento do enxerto cardíaco nos diversos centros de transplante cardíaco. De quatro a seis fragmentos de miocárdio devem ser obtidos pelo biótomo introduzido via transjugular. Pelo menos quatro fragmentos de áreas de miocárdio, excluindo aquelas de biópsias anteriores ou de cicatrizes, devem ser avaliadas.

Em nossa rotina os fragmentos de miocárdio são fixados em solução de formol tamponado a 10 % e processados por método de inclusão rápida. Os cortes são corados em H&E, Tricrômia de Masson, fibra elástica de Weigert, PAS e Hematoxilina Fosfotúngica. Outras técnicas são usadas somente quando indicadas por objetivo específico, como, por exemplo, na suspeita de infecção fúngica, além do PAS, lança-se a mão da prata de Grocott. A definição de lesões viróticas pode ser auxiliada pela imunohistoquímica, entretanto esta técnica não é empregada de rotina. Cabe dizer que uma rotina com um bom processamento e a simples hematoxilina-eosina é o suficiente para valorização dos achados histopatológicos de rejeição. Também deve ser enfatizado o diálogo direto com a equipe clínica, para uma boa correlação diagnóstica.

O laudo da biópsia é discriminado em um relatório de acordo com o sistema recomendado pela Sociedade Internacional para Transplante do Coração e Pulmão (ISHLT) (Vide Tabela 1).

Tabela 1

Gradação da Biópsia Endomiocárdica de acordo com a ISHLT 1990

Grau	Nomenclatura ISHLT
0	Sem rejeição
1	A = Focal (perivascular ou intersticial) infiltrado sem necrose B = Difuso mas esparso infiltrado sem necrose
2	Somente um foco com infiltrado agressivo e lesão célula muscular focal
3	A = Infiltrado multifocal agressivo e lesão de célula muscular B = Processo inflamatório difuso com necrose
4	Infiltrado polimorfo difuso agressivo ± edema ± hemorragia ± vasculite com Necrose

Informação adicional requerida

Biópsia com menos que quatro fragmentos

Rejeição humoral (imunofluorescência positiva, vasculite ou edema severo na ausência de infiltrado celular)

Efeito Quilty A = Sem infiltração miocárdica
 B = Com infiltração miocárdica

Isquemia A = Acima de 3 semanas pós transplante
 B = Isquemia tardia

Infecção presente

Desordem linfoproliferativa

Outros

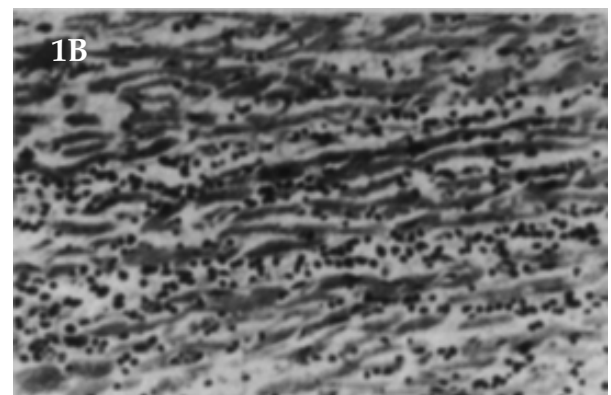
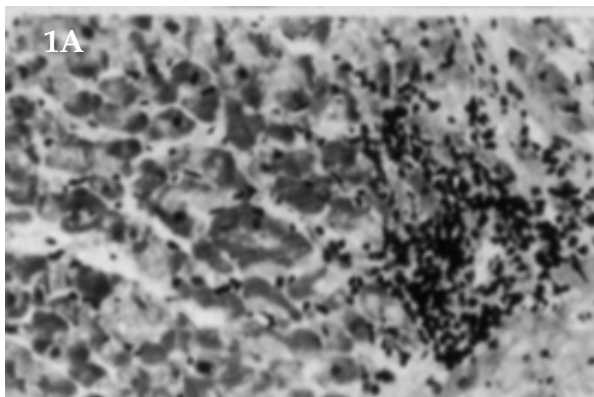
Esse sistema define basicamente (1) a natureza, intensidade e distribuição do infiltrado celular inflamatório, (2) a presença ou ausência de edema, e (3) a presença ou ausência de agressão à célula muscular.

Grau 0 –

Representa o miocárdio normal sem um infiltrado inflamatório ou lesão da célula muscular.

Grau 1 –

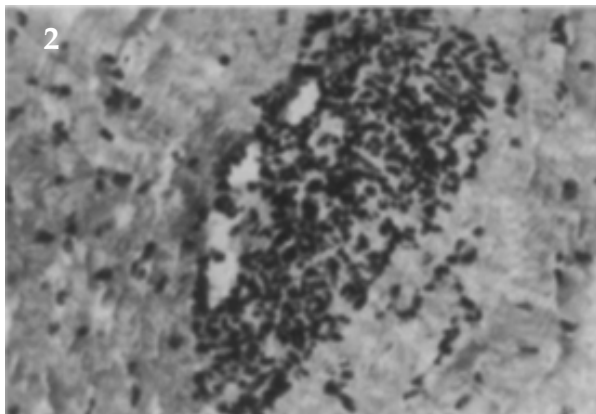
Grau 1A (rejeição aguda leve, focal) representa um infiltrado perivascular esparso de grandes linfócitos ativados em uma ou duas localizações em um único fragmento de biópsia ou em vários fragmentos de biópsias. Não é vista lesão de célula muscular.



Grau 1B (rejeição aguda leve, difusa) também representa um infiltrado de linfócitos esparso, mas mais difuso, estendendo-se ao interstício entre as células musculares e, às vezes, em volta delas, mas sem causar lesão.

Grau 2 –

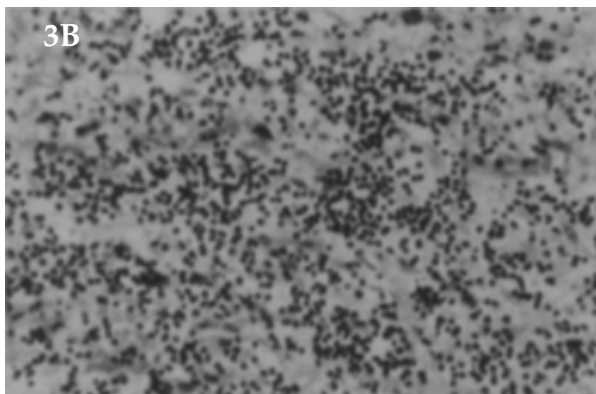
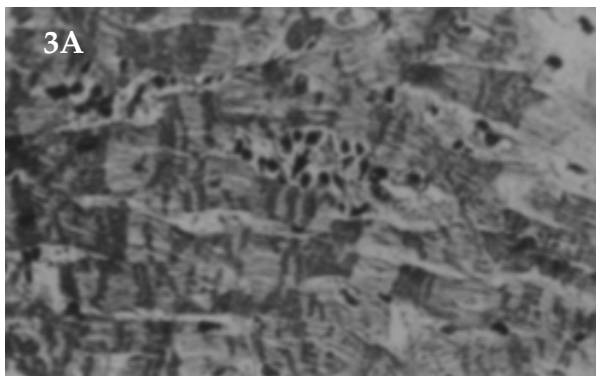
(rejeição aguda moderada, focal) representa um único infiltrado circunscrito de linfócitos com ou sem eosinófilos e com lesão focal de célula muscular. Pode ocorrer de forma isolada ou acompanhado de outras formas de grau 1, mas não de alto grau.

**Grau 3 –**

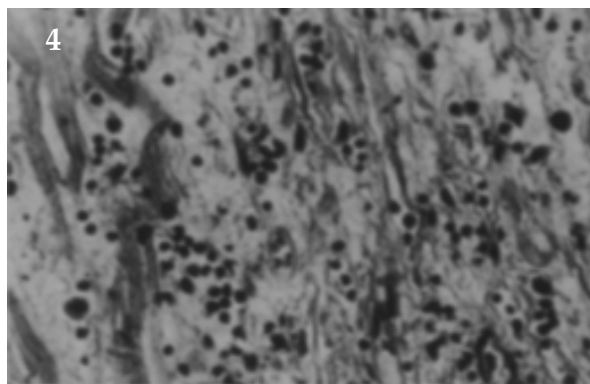
(rejeição aguda, acentuada) subdividida em dois subtipos.

Grau 3A representa infiltrados linfocíticos multifocais, com dois ou mais focos de lesão de células musculares ou substituição destas.

Grau 3B significa infiltrado inflamatório agressivo mais difuso com necrose de células musculares, em vários fragmentos de biópsias.

**Grau 4 –**

(rejeição aguda, severa) nesta condição o infiltrado inflamatório é marcante e pode tornar-se polimorfo com neutrófilos e eosinófilos. A necrose de células musculares é ampla. Uma endotelialite ou vasculite pode ser vista e, nestes casos, a hemorragia também pode estar presente.



Deve ser ressaltado inicialmente que biópsia endomiocárdica pode apresentar erro de amostra, como material representativo de fibrina, infiltração gordurosa ou fibrose.

Não é difícil seguir o critério quantitativo do sistema ISHLT, entretanto uma variedade de lesões pode se apresentar como diagnósticos diferenciais de uma rejeição aguda. Estas lesões podem ser definidas cronologicamente, como imediatas (0 - 24 horas), precoces (1 - 3 semanas), intermediárias (1 - 52 semanas) e tardias ou crônicas (1- 22 anos).

Antes de comentarmos estas lesões, devemos voltar aos aspectos práticos do diagnóstico de rejeição celular aguda. Como já foi dito, uma série de condições pode se apresentar com infiltrado linfocítico, entretanto não é apenas a quantificação deste infiltrado que define a agressividade da lesão. Um julgamento objetivo é a relação estabelecida entre a densidade do infiltrado e a aproximação do linfócito com a célula muscular lesada. A ação citotóxica do linfócito, ou seja, a agressividade, é estabelecida diretamente. O número total de infiltrado em uma biópsia é menos importante que a qualidade de agressividade de um simples foco. A relação de equidistância da célula muscular com os linfócitos permeando o conjuntivo, ou em áreas de cicatriz, ou no endocárdio, não configura agressividade. Como também a contração de bandas e a vacuolização da célula muscular não têm relação com a atividade citotóxica.

Estudos imunohistoquímicos, para avaliar a atividade citotóxica dos linfócitos, bem como a

detecção de moléculas com efeito citotóxico, têm sido empregados, entretanto os resultados não demonstram vantagem sobre as técnicas de rotina e um julgamento intuitivo baseado na experiência do patologista.

A lesão de rejeição aguda pode ser encontrada desde a primeira semana a cinquenta e duas semanas após o transplante cardíaco. Durante o primeiro ano, seguindo-se o transplante cardíaco e, em particular durante os três primeiros meses, dependendo do protocolo de imunossupressão, a rejeição aguda do miocárdio estará presente em muitos pacientes. Instituído o tratamento, com aumento na imunossupressão, ocorre a resolução do processo de rejeição.

Em muitos poucos casos, uma rejeição de baixo grau pode persistir pelos primeiros dois a três meses, requerendo tratamento imunossupressor. Um problema na avaliação da biópsia endomiocárdica de rejeição do transplante é a lesão de grau 2. Para o patologista existe um espectro de grau 2, de um diminuto foco de inflamação com uma ou duas células lesadas, a um grande infiltrado inflamatório com lesão de célula muscular definida. A dificuldade em diagnosticar grau 2 situa-se em torno da presença de lesão da célula muscular. O significado de ISHLT 2 tem sido questionado. Em alguns centros, com este diagnóstico os pacientes não são tratados, mas somente seguidos com biópsias repetidas em 1-2 semanas após. A mesma conduta é tomada em alguns centros para duas lesões agressivas, sendo que isto se constitui numa lesão de grau 3A no sistema ISHLT. Para outros centros isto implica no aumento da imunossupressão. Os estudos iniciais mostram que não existe diferença no desfecho de grau II, se tratado ou não. Mais recentemente algumas séries mostram que uma lesão grau 2 nos dois primeiros anos indica maior probabilidade de um episódio de rejeição, quando comparado à mesma lesão, aparecendo após os dois primeiros anos.

Efeito Quilty

O nome Quilty provém do paciente, em cujo material foi descrita pela primeira vez a lesão. Manifestando-se por um infiltrado plano ou elevado de agregado mononuclear, constituído predominantemente de linfócitos T (células CD4 predomina sobre células CD8), linfócitos B, histiócitos, plasmócitos e vasos. É designado como Quilty A se estão confinados ao tecido fibroso do endocárdio, e como Quilty B se os

linfócitos invadem o miocárdio subjacente. O significado desta lesão é bastante discutido. Antes da introdução da ciclosporina, esta lesão não era observada com grau de frequência significativa; a associação com o efeito direto desta droga seria uma das possibilidades levantadas. Também se especula que represente uma forma incomum de rejeição celular ou humoral "benigna". A possibilidade de representar uma reação linfoproliferativa associada a infecção pelo vírus Epstein-Barr tem sido descartada. Entre outras especulações existem referências a uma predisposição genética associada com o oncogene *c-abl*. Estudo com animais de experimentação sugerem que se trata de sítio de processamento de antígeno e estimulação imune de baixo grau.

De acordo com o sistema ISHLT, a lesão Quilty deve ser apontada separadamente do grau de rejeição. Desta forma, um paciente pode ser ISHLT 1A, Quilty B (um ou vários infiltrados inflamatórios não agressivos mais um infiltrado inflamatório endocárdico que estende-se ao miocárdio, respectivamente). Embora se discuta se A ou B tenham um valor preditivo, alguns centros consideram Quilty B como agressivo, e desta forma aplicam o menor grau de rejeição ISHLT 2. Pode ocorrer que o paciente já tenha um único infiltrado focal miocárdico; somando-se a um Quilty B, isto corresponderia a um Quilty 3A. Em alguns centros à incorporação do Quilty B, o percentual do grau ISHLT 2 ou 3 é baixo. Desta forma, consideram-se que as lesões Quilty A ou B não têm valor preditivo para rejeição celular.

Rejeição Hiperaguda

A rejeição hiperaguda é uma complicação rara, ocorrendo nas primeiras 24 horas. Os órgãos vascularizados apresentam maior risco deste tipo de complicação em pacientes previamente sensibilizados, por transplantes prévios, transfusões sanguíneas ou gravidez. Condições que predispoem a rejeição hiperaguda são (1) formação prévia de anticorpo ao sistema HLA em transplantado, particularmente anticorpos a antígenos classe I (HLA, B ou C); (2) a existência de anticorpos ABO pré-formados no receptor do enxerto no momento do transplante; e (3) no caso de xenotransplante, transplante entre espécies distintas filogeneticamente. Esta condição usualmente é vista em modelos experimentais. Destes vem a maior documentação sobre a patogênese deste processo, visto que a rejeição ocorre imediatamente e a biópsia geralmente não é realizada.

As alterações histopatológicas decorrem da agressão vascular. O miocárdio apresenta-se vermelho escuro, devido a hemorragia intersticial difusa. O enxerto, se prolongado, acentua-se o edema intersticial e os vasos, principalmente da microcirculação, apresentam-se com microtrombos e infiltrados por neutrófilos.

Falência do Enxerto Cardíaco Aguda (FECA)

A falência do enxerto cardíaco aguda (FECA) é definida como disfunção severa do enxerto cardíaco na ausência de rejeição hiperaguda clássica, rejeição celular aguda ou disfunção ventricular direita antecedida de hipertensão pulmonar preexistente. As causas de falência do enxerto cardíaco aguda (FECA) são assinaladas na tabela abaixo:

Tabela 2

Causas de falência do enxerto cardíaco aguda (FECA) *

- Trauma
- Metabólica
- Excesso de catecolaminas
- Isquemia por aquecimento
- Preservação inadequada
- Isquemia por resfriamento prolongada
- Problemas técnicos
- Hipertensão pulmonar mantida

As alterações morfológicas observadas na falência do enxerto cardíaco aguda (FECA) são a dilatação ventricular direita aguda e a insuficiência cardíaca. Microscopicamente ocorre edema intersticial e hemorragia no miocárdio. A necrose focal ou difusa é uma lesão freqüentemente observada.

Lesão de preservação

A lesão isquêmica decorre usualmente do tempo prolongado de transporte do coração doado e é acentuada pela reperfusão. A lesão de isquemia/reperfusão é precoce, geralmente nas 3 primeiras semanas pós-transplante, caracterizando-se por necrose coagulativa das células musculares e/ou variadas áreas de células musculares condensadas e desarranjadas. Nessas áreas, o infiltrado inflamatório é leve ou inexistente; quando presente, a célula predominante é o

neutrófilo. Este é um dado fundamental para se diferenciar de uma rejeição celular aguda, pois nesta o infiltrado é usualmente mononuclear e com eosinófilos. Em estágios mais tardios pode ser encontrado um tecido de granulação. A isquemia miocárdica é usualmente subendocárdica. Deve ser ressaltado que as lesões de isquemia/reperfusão são comumente observadas na primeira biópsia.

Outras condições relacionadas com o desenvolvimento de lesão de preservação são secundárias a trauma do sistema nervoso central e morte cerebral do doador. Nestes pacientes a ação somatória de catecolaminas endógenas e/ou administração exógena promovem necrose miocárdica. As alterações morfológicas nestes casos são de necrose focal das células musculares com contração de bandas e infiltrado inflamatório misto. Estas áreas focais são menores e mais discretas do que as observadas na lesão de isquemia/reperfusão. O infiltrado inflamatório misto é pequeno e não deve ser confundido com rejeição celular aguda.

Sítios de biópsia prévia

O biótomo tende a seguir o mesmo trajeto em um dado paciente, possibilitando a biópsia de um local previamente biopsiado. Se o sítio de uma biópsia recente for alcançado, o espécime apresenta massas de fibrina organizada e tecido de granulação. Áreas mais antigas de biópsias podem mostrar fibrose e desarranjo de células musculares na periferia da lesão. Infiltrado linfocitário em meio a sítios de antigas biópsias podem permanecer por muitos anos. Reações inflamatórias tipo corpo estranho podem ser encontradas nestas áreas de biópsias antigas.

Rejeição Humoral e Rejeição Vascular Aguda

Esta condição é observada em paciente com sinais e sintomas clínicos de rejeição e evidências hemodinâmicas e ecocardiográficas, mas sem os achados histológicos cardinais de rejeição celular. É entendida como uma rejeição humoral ou vascular mediada por anticorpos. A biópsia endomiocárdica mostra somente um edema intersticial com um infiltrado de células inflamatórias misto esparsas. Pode ser encontrado um líquido proteináceo ou fibrinóide no material. Hemorragia pode fazer parte do quadro. Também pode ser visto na biópsia edema de células endoteliais em capilares, vênulas e ou artérias. Nas fases tardias o quadro mais importante

é de uma vasculite, que na imunofluorescência mostra deposição de imunoglobulinas.

Infecções

Os pacientes receptores do enxerto cardíaco pelo fato de serem imunossuprimidos são usualmente sujeitos às infecções sistêmicas ou do miocárdio. As infecções mais comuns do miocárdio são aquelas causadas pelo citomegalovírus (CMV) e *Toxoplasma gondii*. Outros agentes como bactérias, fungos e protozoários podem acometer o paciente transplantado, produzindo miocardite, endocardite e pericardite. Infecção é a segunda causa mais comum de morte durante o primeiro ano, seguindo-se o transplante. Infecções bacterianas, particularmente pneumonia, são as mais comuns.

Desordens infecciosas podem produzir infiltrado inflamatório do miocárdio que resulta na clássica miocardite, tornando-se bastante difícil distingui-lo de um infiltrado inflamatório de rejeição, se a causa da infecção não for óbvia.

Referências bibliográficas:

1. Billingham ME: Cardiac Transplant Pathology, *in* Hammond E H (Ed.): Solid Organ Transplantation Pathology. Philadelphia, WB Saunders, 1994, p. 69.
2. Mindán JP and Panizo A: Pathology of Heart Transplant, *in* Berry C L (Ed.): Transplantation Pathology. A Guide for Practicing Pathologists. Berlin, Springer-Verlag, 1999, pg.137.
3. Stallmach TH, Schneider J and Brunner HP: Problems of interpretation of biopsy results according to ISHLT-working formulation (Conference). *in* Schnabel PA (Course Director): Pathology of Heart Transplantation. Long Course. XXI International Congress of the International Academy of Pathology and 12th World Congress of Academic and Environmental Pathology. Budapest, Hungary, 20-25 October 1996. Budapest, Hungary 1996.