

Luciano Alves Matias da Silveira

Análise comparativa das fibras colágenas e das fibras elásticas
de coronárias e carótidas em pacientes autopsiados

Uberaba, MG

Dezembro, 2017

Luciano Alves Matias da Silveira

Análise comparativa das fibras colágenas e fibras elásticas de coronárias e carótidas em pacientes autopsiados

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, área de concentração Patologia Humana, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^{ta}. Dra. Mara Lúcia da Fonseca Ferraz
Co-orientador: Prof. Dr. Vicente de Paula Antunes Teixeira

Uberaba, MG
Dezembro, 2017

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do
Triângulo Mineiro**

S589a Silveira, Luciano Alves Matias da
 Análise comparativa das fibras colágenas e das fibras elásticas de coroná-
 rias e carótidas em pacientes autopsiados / Luciano Alves Matias da Silveira.
 – 2017.
 68 f. : il., fig., graf., tab.

 Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) -- Universidade Federal
do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2017
 Orientadora: Profa. Dra. Mara Lúcia Fonseca Ferraz
 Coorientador: Prof. Dr. Vicente de Paula Antunes Teixeira

 1. Aterosclerose. 2. Doenças das artérias carótidas. 3. Doença da artéria
coronariana. I. Ferraz, Mara Lúcia Fonseca. II. Universidade Federal do Tri-
ângulo Mineiro. III. Título.

CDU 616.13-004.6

Luciano Alves Matias da Silveira

Análise comparativa das fibras colágenas e fibras elásticas de coronárias e carótidas em pacientes autopsiados

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, área de concentração Patologia Humana, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Uberaba, 18 de dezembro de 2017.

Banca examinadora:

Prof^ª. Dra. Mara Lúcia da Fonseca Ferraz
Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM
Orientadora

Profa. Dra. Flora Margarida Barra Bisinotto
Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM

Prof. Dr. Hélio Humberto Angotti Carrara
Universidade de São Paulo - USP

Uberaba, MG
Dezembro, 2017

APOIO FINANCEIRO

O presente trabalho foi desenvolvido com os recursos financeiros da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), da Fundação de Ensino e Pesquisa de Uberaba (FUNEPU), Fundação de Amparo e Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

À minha Mãe Angela e à minha irmã Alinne, vocês são os alicerces de tudo que construí até hoje. Sem vocês ao meu lado e o apoio incondicional que têm me dado, nada disso teria se concretizado. Essa conquista também é de vocês.

AGRADECIMENTOS

Hoje consigo perceber que o despertar da docência ocorre na graduação. Através dos longos anos de estudo acadêmico, trilha-se caminhos de colaboração ao ensino, ajuda mútua entre os colegas e a percepção do que realmente te faz feliz. Assim, agradeço a Deus pela oportunidade de exercer a Medicina, à ajuda ao próximo e o início de uma carreira acadêmica em uma Universidade de que tanto me orgulho.

Fazer parte da Turma LXII de Medicina da Universidade Federal do Triângulo Mineiro permitiu que esse sentimento fosse despertado. Durante esses anos, tive a oportunidade de trilhar caminhos na pesquisa e extensão que muito contribuíram para o que sou hoje.

Confesso que, ao olhar para trás, tenho muito orgulho da oportunidade que tive de ser aluno de Iniciação Científica por quatro anos na disciplina de Patologia Geral. Passei por todas as fases: a insegurança, o aprendizado, a disciplina e o reconhecimento. E a toda a equipe da Disciplina, em especial aos meus orientadores Prof. Dr. Vicente de Paula Antunes Teixeira e Prof^a. Dra. Mara Lúcia da Fonseca Ferraz, os meus agradecimentos por cada minuto que me dedicaram a ensinar algo, a construir o profissional que sou. O meu retorno ao mestrado a essa Disciplina mostra o carinho e a confiança que tenho por todos vocês.

Tive a oportunidade de encontrar na residência médica em Anestesiologia uma profissional exemplar na dedicação acadêmica. Nós, docentes, temos a obrigação de construirmos na área da saúde bons profissionais, mas, principalmente, seres humanos dedicados a assistir ao paciente sempre a melhor conduta. À senhora, Prof^a. Dra. Flora Margarida Barra Bisinotto, todo o meu respeito, dedicação e carinho.

“A vida é um caminho longo, onde você é mestre e aluno. Algumas vezes você ensina e todos os dias você aprende.”

(Autor desconhecido)

RESUMO

Introdução: Estima-se que uma em cada duas mortes nos países desenvolvidos seja decorrente de doenças cardiovasculares, o que, segundo a Sociedade Brasileira de Cardiologia, corresponde a, aproximadamente, 300 mil óbitos por ano somente no Brasil. Prever um risco cardiovascular é uma meta de estudos para diversas linhas de pesquisa. Estudos procuram provar uma associação entre a aterosclerose existente nas artérias carótidas e coronárias. **Objetivos:** Analisar morfológicamente as fibras colágenas e fibras elásticas das artérias carótidas e coronárias de pacientes autopsiados e verificar associação entre elas. **Metodologia:** Após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Institucional, foram coletados fragmentos das carótidas comum direita (CD) e esquerda (CE) e coronárias descendente anterior (DA), descendente posterior (DP) e circunflexa (Cx) de 22 pacientes autopsiados da Disciplina de Patologia Geral. Após coletas, esses fragmentos foram encaminhados à confecção de lâminas, com colorações de Picrosirius, para quantificação de fibras colágenas, e Verhoeff, para quantificação de fibras elásticas. Foi utilizado o sistema Leica Qwin Plus® para quantificação das fibras colágenas e elásticas. A análise estatística foi realizada através do software Graphpad Prism® 5, com significância com $p < 0,05$. **Resultados:** Foram analisados 22 laudos de autópsias, no qual 59% eram do gênero masculino (13) e 72,7% eram de cor branca (16). A mediana de idade foi de 45 anos (25 – 74). Quanto ao IMC, os pacientes apresentaram média de $22,16 \pm 5,51 \text{ kg/m}^2$. Através da análise realizada para quantificação de fibras colágenas, obteve-se a mediana em coronárias DA (3,085%), DP (3,270%) e Cx (1,9%) da área analisada. Em CD (2,895%) e CE (2,805%). Quando realizado a quantificação de fibras elásticas, obteve-se a mediana em coronárias DA (5,595%), DP (5,870%) e Cx (5,735%) da área analisada. Em CD (6,195%) e CE (5,890%). Houve diferença significativa apenas na coloração de Picrosirius entre a Cx e as CD ($t = 2,197$; $p < 0,05$) e CE ($t = 2,212$; $p < 0,05$). Não houve diferença significativa entre outras associações das artérias ($p > 0,05$). **Conclusões:** As análises realizadas demonstram que o processo de formação aterosclerótica é comum entre as artérias demonstrado pelas fibras colágenas e elásticas, o que corrobora a literatura de que se trata de um processo inflamatório sistêmico, o qual acomete diversos leitos arteriais concomitantemente. Sendo assim, estudos para prever riscos ateroscleróticos devem ser estimulados, a fim de se reduzir a morbimortalidade relacionada a essas doenças.

Palavras chave: aterosclerose; doenças das artérias carótidas; doença da artéria coronariana

ABSTRACT

Introduction: It is estimated that one in two deaths in developed countries is due to cardiovascular diseases. According to the Brazilian Society of Cardiology, this corresponds to approximately 300 thousand deaths per year in Brazil alone. Several lines of research are aimed at predicting cardiovascular risks, so many researchers have studied carotid arteries in an attempt to establish a correlation between carotid and coronary artery atherosclerosis. **Objectives:** To analyze the morphology of the carotid and coronary arteries of autopsied patients and to assess the correlation between them. **Methods:** After approval of the Research Ethics Committee of the Federal University of Triangulo Mineiro, sections of the right common carotid artery (RCCA), of the left common carotid artery (LCCA), of the anterior descending coronary artery (ADCA), of the posterior descending coronary artery (PDCA), and of the circumflex coronary artery (Cx) were collected from 22 autopsied patients at the Department of General Pathology. Then these sections were mounted on glass slides with Picrosirius red staining for quantification of collagen fibers and with Verhoeff's stain for quantification of elastic fibers. Leica Qwin Plus® software was used to quantify collagen and elastic fibers. Statistical analysis was performed using Graphpad Prism® 5 software, with a significance of $p < 0.05$. **Results:** Autopsy reports of 22 patients were analyzed, 59% of which were male (13) and 72.7% were white (16). The mean age was 45 years (25-74), and the mean BMI was $22.16 \pm 5.51 \text{ kg/m}^2$. After quantification of collagen fibers, the median ADCA (3.085%), PDCA (3.270%), Cx (1.9%), RCCA (2.895%) and LCCA (2.805%) of the analyzed area were obtained. The median values for quantification of elastic fibers were also obtained for ADCA (5.595%), PDCA (5.870%), Cx (5.735%), RCCA (6.195%) and LCCA (5.890%) of the analyzed area. There was a significant difference only in Picrosirius staining, between Cx and RCCA ($t=2.197$, $p < 0.05$) and LCCA ($t=2.212$, $p < 0.05$). There was no significant difference between the other correlations of arteries investigated ($p > 0.05$). **Conclusion:** The analyses performed show that the initial process of atherosclerotic formation is common across different arteries, thus corroborating the literature, which regards it as a systemic inflammatory process affecting several arterial beds. Therefore, studies aiming to predict atherosclerotic risks must be encouraged in order to reduce the morbidity and mortality rates associated with these diseases.

Keywords: Atherosclerosis; Carotid artery diseases; Coronary artery disease.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Análise histológica com objetiva de 20x (aumento final de 800x) das camadas íntima e média da parede arterial, através da coloração de Picrosirius, antes (A) e após visualização sob luz polarizada (B), com realce de fibras colágenas.....33

Figura 2: Análise histológica com objetiva de 20x (aumento final de 620x) das camadas íntima e média da parede arterial, através da coloração de Verhoeff, com visualização de fibras elásticas pela coloração enegrecida.....34

Figura 3: Box-plot com mediana e intervalos interquartil das medidas por campo de imagem (%) de fibras colágenas mensuradas na carótida direita (CD) e nas coronárias descendente anterior (DA), descendente posterior (DP) e circunflexa (Cx) de pacientes autopsiados, através da coloração de Picrosirius. * $t = 2,197$; $p = 0,033$39

Figura 4: Box-plot com mediana e intervalos interquartil das medidas por campo de imagem (%) de fibras colágenas mensuradas na carótida esquerda (CE) e nas coronárias descendente anterior (DA), descendente posterior (DP) e circunflexa (Cx) de pacientes autopsiados, através da coloração de Picrosirius. * $t = 2,212$; $p = 0,032$40

Figura 5: Box-plot com mediana e intervalos interquartil das medidas por campo de imagem (%) de fibras elásticas mensuradas na carótida direita (CD) e nas coronárias descendente anterior (DA), descendente posterior (DP) e circunflexa (Cx) de pacientes autopsiados, através da coloração de Verhoeff. $p > 0,05$42

Figura 6: Box-plot com mediana e intervalos interquartil das medidas por campo de imagem (%) de fibras elásticas mensuradas na carótida esquerda (CE) e nas coronárias descendente anterior

(DA), descendente posterior (DP) e circunflexa (Cx) de pacientes autopsiados, através da coloração de Verhoeff. $p > 0,05$43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação da placa aterosclerótica segundo a <i>American Heart Association (AHA)</i> .	22
Tabela 2: Fatores de risco relacionados ao desenvolvimento da aterosclerose.....	24
Tabela 3: Características gerais da amostra de pacientes autopsiados na Disciplina de Patologia Geral do HC – UFTM utilizados no estudo.....	38
Tabela 4: Quantificação por campo de imagem (%) de fibras colágenas em diferentes leitos arteriais de pacientes autopsiados.....	39
Tabela 5: Associação da mensuração (%) de fibras colágenas entre as arteriais carótidas direita e esquerda com as diferentes coronárias de paciente autopsiados no HC – UFTM.....	41
Tabela 6: Quantificação por campo de imagem (%) de fibras elásticas em diferentes leitos arteriais de pacientes autopsiados.....	41
Tabela 7: Associação da mensuração (%) de fibras elásticas entre as arteriais carótidas direita e esquerda com as diferentes coronárias de pacientes autopsiados no HC – UFTM.....	44
Tabela 8: Associação das diferentes artérias analisadas quanto a porcentagem das fibras colágenas e fibras elásticas em relação ao sexo feminino e masculino.....	45
Tabela 9: Associação das diferentes artérias analisadas quanto (%) das fibras colágenas e fibras elásticas em relação à etnia.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a.c. – Antes de cristo

AHA – *American Heart Association*

AVEh – Acidente Vascular Encefálico hemorrágico

AVEi – Acidente Vascular Encefálico isquêmico

CD – Carótida Comum Direita

CE – Carótida Comum Esquerda

CEP – Comitê de Ética em Pesquisa

Cx – Coronária Circunflexa

DA – Coronária Descendente Anterior

DP – Coronária Descendente Posterior

dp – Desvio Padrão

EUA – Estados Unidos da América

HC – UFTM – Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro

HDL – *High Density Lipoprotein*

HIV – *Human Immunodeficiency Virus*

IL – Interleucina

IMC – Índice de Massa Corporal

LDL – *Low Density Lipoprotein*

max - máximo

MEC – Matriz Extra Celular

min – mínimo

NCHS - *National Center for Health Statistics*

p – nível de significância

SBC – Sociedade Brasileira de Cardiologia

t – Teste t de Student

TC – Tomografia Computadorizada

U – Teste de Mann Whitney

UFTM – Universidade Federal do Triângulo Mineiro

VLDL – *Very Low-Density Lipoprotein*

LISTA DE SÍMBOLOS

% - Porcentagem

® - Registrado

g - Grama

μm – Micrômetro

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	20
JUSTIFICATIVA	29
HIPÓTESE.....	30
OBJETIVO GERAL	31
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
MATERIAIS E MÉTODOS	33
ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	35
ASPECTOS ÉTICOS	36
NORMAS PARA CONFEÇÃO DO MANUSCRITO	37
RESULTADOS	38
DISCUSSÃO	49
CONCLUSÃO.....	54
REFERÊNCIAS	55
ANEXO A.....	62
ANEXO B	65
ANEXO C.....	70

INTRODUÇÃO

Estudos em autopsias são necessários à prática médica. Relatos apontam a primeira autopsia datada de 3000 a.c., no Egito Antigo, difundindo-se posteriormente para as regiões atuais da Grécia e da Alemanha. De origem grega, a palavra autopsia significa “ver por si mesmo”, caracterizando seu real objetivo de realizar associações entre causa de morte e doenças correlatas e, pois, auxiliar no diagnóstico final de causas de morte desconhecidas. No século XIX, Kaul Rokitansky foi considerado o pai da autopsia moderna, delineando suas principais investigações por órgãos e tecidos, e Rudolph Virchow que trouxe o marco da necessidade da avaliação através dos estudos microscópicos na complementação diagnóstica. (COSTACHE *et al.*, 2014).

No século XX, o número de autopsias reduziu significativamente, devido a novas tecnologias diagnósticas que surgiram e a redução do interesse da classe médica em solicitar o exame. Dados do *National Center for Health Statistics (NCHS)*, dos Estados Unidos da América (EUA), demonstraram uma redução de 19,1% para 8,5% entre 1972 a 2007, incluindo autopsias clínicas e forenses (HOYERT, 2011). Em um estudo australiano, demonstrou-se redução de 50% nas autopsias realizadas no período de 1992 a 2003, fenômeno que ocorre mundialmente (COSTACHE *et al.*, 2014). Entretanto, defensores ainda relatam a importância da autopsia na elucidação diagnóstica, assim como correlação das múltiplas doenças associadas a causa morte e possibilidade do uso microscópico para adentrar na fisiopatogênese. Além disso, sabe-se que a autopsia é substrato para inúmeras indagações que levam a pesquisas científicas, contribuindo com o avançar do conhecimento na área de ciências de saúde (COSTACHE *et al.*, 2014).

A doença cardiovascular é uma das causas mais relevantes de mortalidade em todo mundo (NASCIMENTO *et al.*, 2014). Estima-se que uma em cada duas mortes nos países desenvolvidos seja decorrente de doenças associadas a patologias cardiovasculares (ROGER *et al.*, 2011), o que, segundo a Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC), corresponde a aproximadamente 300 mil óbitos por ano somente no Brasil. A doença arterial é responsável por grande parte da incidência de mortalidade na população, sendo menos frequentes as complicações venosas. E, no âmbito arterial, a aterosclerose é a responsável por muitos dos eventos cardiovasculares nos países ocidentais (VAN DAM *et al.*, 2016).

Estimativas recentes realizadas nos EUA demonstraram que um terço da população

apresenta algum tipo de doença cardiovascular, o que corresponderia a 71,3 milhões de habitantes naquele país. E, dessas, 17 milhões apresentam doença arterial coronariana e 10 milhões com sintomatologia clínica de *angina pectoris* (FIHN *et al.*, 2012; LLYOD-JONES *et al.*, 2010). Mesmo com os últimos avanços em terapias medicamentosas e intervencionistas no tratamento da aterosclerose e de suas repercussões clínicas importantes, estima-se que em 2030 acima de 23,6 milhões de pessoas no mundo apresentem óbitos relacionados a doenças ateroscleróticas, o que representa um grande impacto na saúde pública mundial (YAHAGI, 2016).

Apesar de ser substrato para diversas pesquisas em todo o mundo, a fisiopatologia da aterosclerose ainda permanece não totalmente esclarecida, o que é visto em artigos que são publicados anualmente a respeito do desenvolvimento dessa doença. Um estudo na literatura mostra que, aproximadamente, mais de cinco mil trabalhos são publicados anualmente sobre a fisiopatologia correlacionada a aterosclerose (BODARY, EITZMAN, 2006). Os conhecimentos iniciais a respeito da fisiologia e patogenia aterosclerótica são originários dos estudos do pesquisador Rudolph Carl Virchow, Professor de Patologia, que iniciou as pesquisas sobre a fisiopatologia da aterosclerose em 1858. Na ocasião, o pesquisador defendeu a teoria de que a aterosclerose se desenvolvia através de estímulos extrínsecos às células da parede arterial, e que essas células afetariam outras células adjacentes. Ademais, o pesquisador sugeriu que o acúmulo de lipídeos e a proliferação celular na parede arterial eram o marco inicial para o desenvolvimento aterosclerótico (BODARY, EITZMAN, 2006).

Na mesma década, outro pesquisador importante nos esclarecimentos iniciais da fisiopatologia da aterosclerose foi Rokitsky que descreveu o desenvolvimento inicial da aterosclerose como sendo uma deposição de fibrina na parede arterial e a persistência dessa deposição levaria a alterações estruturais deletérias que culminariam com o processo patológico (BODARY, EITZMAN, 2006).

Sabe-se que a chave central da doença se encontra em pacientes com níveis sanguíneos elevados de colesterol, a hipercolesterolemia, associado à disfunção endotelial, ao processo inflamatório agudo, ao processo inflamatório crônico e ao processo trombogênico. O acúmulo de lipídeos na parede arterial ocorre de forma proporcional à sua concentração na corrente sanguínea (SANTOS-GALLEGO, PICATOSTE, BADIMÓM, 2014). Entender as alterações fisiológicas e fisiopatológicas da parede arterial é fundamental para o desenvolvimento de estratégias de impacto

preventivo e de possibilidades terapêuticas (JASHARI et al., 2013).

Nos EUA, a doença cardiovascular encontra-se em primeiro lugar como causa de mortalidade e as doenças cerebrovertebrais (Acidente Vascular Encefálico hemorrágico (AVEh) ou isquêmico (AVEi)) em quarto lugar, em revisões de comissão de óbitos realizadas no ano de 2010. (HERON, 2013). No Brasil, essas doenças também representam a principal causa de mortalidade, sendo responsáveis por grande parte dos óbitos na população acima de trinta anos de idade (MANSUR, FAVARATO, 2016.)

Sabe-se que o desenvolvimento patológico inicial da aterosclerose se dá primordialmente pelo aumento dos níveis de lipoproteína de baixa densidade (LDL - *Low Density Lipoprotein*), o que acarreta o início do processo inflamatório agudo na parede arterial de forma sistêmica. Isso pode ser confirmado através da redução da mortalidade cardiovascular mundial após a introdução das estatinas no tratamento da hipercolesterolemia (GOULD, *et al.*, 1998). Ou seja, o aumento por si só dos níveis de colesterol é capaz de desencadear o processo inflamatório agudo e posteriormente crônico na parede arterial. A LDL possui a capacidade de estimular células endoteliais a produzir moléculas pró-inflamatórias, como moléculas de adesão, citocinas (IL-1 e IL-6) e quimiocinas. Ainda, existe uma participação crucial de monócitos, os quais se diferenciam em macrófagos, e células de linhagem T. Associado a essa cascata inflamatória, existem os elementos naturais da parede arterial que interagem a nível celular. Essa interação, que ocorre ao longo de vários anos, leva a lesões da parede arterial e a formação de placas, que em algum momento podem levar a um processo trombogênico ou a uma ruptura de placa, com consequente oclusão arterial. A oclusão arterial aguda é a chave central do evento clínico das situações de infarto agudo do miocárdio e acidente vascular cerebral (JASHARI et al., 2013).

A deposição de derivados lipídicos provoca lesões endoteliais, com inúmeras mudanças nas túnicas íntima e média arterial, o que altera a conformação dos componentes subendoteliais. Um aumento generalizado da síntese e deposição de matriz extracelular (MEC), como glicosaminoglicanos, fibras colágenas e fibras elásticas, pode ser resultado do aumento indiscriminado de células musculares lisas nas camadas íntima e média por migração e neoformação celular. Concomitante, existe uma produção de fatores de crescimento que aumentam a expressão de genes responsáveis pela produção de fibras colágenas e elásticas em uma variedade de células subendoteliais (MORTON, BARNES, 1982; IGNOTZ, MASSAGUE, 1986). Esse

remodelamento arterial pode provocar alterações no diâmetro e na espessura do vaso, o que leva a uma disfunção da homeostase arterial (STRONG, 1992).

Inicialmente, as alterações decorrentes da aterosclerose acometem principalmente as artérias em regiões de origens, bifurcações e ramos. Entretanto, com o avançar das décadas de vida podem acometer outros sítios do corpo humano. Com o início da inflamação da parede arterial em decorrência da lesão endotelial, células musculares lisas na túnica íntima são capazes de sintetizar fibras colágenas e elásticas, assim como suas migrações por frenestrações da lâmina elástica interna. Essa migração ocorre por quimiotaxia induzida por citocinas e quimiocinas, o que acarreta em um aumento subendotelial da parede arterial (BASSI, GARCIA, MIRANDA NETO, 1997).

Em decorrência de um longo período evolutivo em sua formação, a *American Heart Association* (AHA) optou por definir em classificações as inúmeras apresentações da placa aterosclerótica (STARY, 2000). **Tabela 1.**

Tabela 1: Classificação da placa aterosclerótica segundo a *American Heart Association* (AHA)

Tipo 1: Células espumosas isoladas na túnica íntima arterial;
Tipo 2: Inúmeras células espumosas organizadas em camadas;
Tipo 3: Conjunto de lipídeos extracelulares sem um núcleo bem definido;
Tipo 4: Núcleo lipídico bem definido recoberto por uma íntima íntegra;
Tipo 5: Núcleo lipídico com cápsula fibrosa com ou sem calcificação (fibroateroma);
Tipo 6: Fibroateroma com cápsula fibrosa com defeitos, como hemorragia ou trombose;
Tipo 7: Calcificações proeminentes à luz arterial;
Tipo 8: Tecido fibroso proeminente à luz arterial;

As coronárias se originam distalmente a valva aórtica, nos seios de Valsalva, e são arterias de, aproximadamente, 5 a 10 cm de comprimento e possuem um diametro de, aproximadamente, 3

mm. São responsáveis pela irrigação arterial do coração e oclusões, em qualquer parte de suas extensões, podem levar a um desequilíbrio da oferta e consumo de oxigênio, desecandando um evento isquêmico agudo, como a síndrome coronariana. As três principais coronárias são: descendente anterior esquerda, circunflexa e coronária direita, sendo a descendente posterior ramo direto da coronária direita (ROBBINS, 2005).

No período embriológico, no decorrer da quarta semana do desenvolvimento, os arcos faríngeos se desenvolvem, e são supridos por artérias que são os arcos aórticos. As carótidas comuns são derivadas da porção proximal do terceiro par de arcos aórticos. As porções distais do terceiro par se juntam com as aortas dorsais para formar as carótidas internas. O primeiro arco aórtico contribui para formação das artérias carótidas externas (MOORE, 2004).

O arco da aorta dá origem a três ramos principais: da direita para a esquerda, esses ramos são o tronco braquiocefálico, a artéria carótida comum esquerda e a artéria subclávia esquerda. O tronco braquiocefálico origina a artéria carótida comum direita e a artéria subclávia direita. As artérias carótidas comum direita e esquerda ascendem até o nível da 4^o vértebra cervical ou da borda superior da lâmina da cartilagem tireoide, quando então se bifurcam em artéria carótida externa, medialmente, e artéria carótida interna, lateralmente (GARDNER, 1999).

Estruturalmente, as artérias são constituídas por 3 túnicas. As túnicas íntima, média e adventícia. A túnica íntima, a mais interna, é composta pelo endotélio, sustentado por tecido conjuntivo frouxo em pequena quantidade, e separada pela túnica média pela lâmina elástica interna. A túnica média é composta por células musculares lisas, fibras elásticas e colágenas, e é separada pela adventícia pela lâmina elástica externa. A adventícia, a mais externa, é constituída basicamente de tecido colágeno e elástico (GARDNER, 1999). Com o avançar da idade, ocorre o surgimento de uma camada fibrosa entre a túnica íntima e túnica média (BASSI, GARCIA, MIRANDA NETO, 1997).

Sabe-se que o fator de risco de maior impacto na fisiopatogênese da aterosclerose é o avançar da idade. O consagrado estudo realizado na cidade de Framingham, no estado norte-americano de Massachusetts, demonstrou que, após os quarenta anos de idade, 49% dos homens e 32% das mulheres apresentam uma doença arterial coronariana em desenvolvimento (LLOYD-JONES et al., 1999). Entretanto, estudos em autopsias fetais demonstraram que a fase pré-clínica, constituída de acúmulo de lipídeos subendoteliais e fagocitose pelos monócitos diferenciados em

macrófagos, em que se origina as células espumosas, podem ser encontradas durante o desenvolvimento fetal, com presença de estrias de lipídeos nos principais leitos arteriais do corpo humano. Isso demonstra que o desenvolvimento da inflamação crônica da parede arterial pode ocorrer ainda no desenvolvimento gestacional (NAPOLI, 2007).

Existem diversos fatores de risco estabelecidos pela literatura mundial no desenvolvimento da aterosclerose. São divididos em fatores de risco modificáveis e fatores não modificáveis, esses relacionados ao componente genético próprio do paciente. Dentre os fatores de risco modificáveis ou relacionados ao ambiente, pode-se listar o tabagismo, o uso de drogas - como a cocaína - a ausência ou baixa prática de atividade física regular, alimentação desequilibrada - com dietas ricas em gorduras - e agentes infecciosos – de forma aguda ou crônica. Em contrapartida, há aqueles fatores de risco com significativo cunho genético, como o diabetes mellitus, a hipertensão arterial sistêmica, o sexo masculino, a síndrome metabólica (associada a resistência periférica a insulina e obesidade), elevações dos níveis de homocisteína e fatores hemostáticos (como o fibrinogênio), e elevações dos níveis de LDL e redução dos níveis da lipoproteína de alta densidade (HDL - *High density lipoprotein*) (TENDERA, ABOYANS, BARTELINK, 2011). **Tabela 2.**

Tabela 2: Fatores de risco relacionados ao desenvolvimento da aterosclerose

Fatores não genéticos
Ausência de atividades físicas regulares
Dieta rica em alimentos gordurosos
Processo infeccioso agudo ou crônico
Tabagismo
Uso de drogas
Fatores com componente genéticos
Diabetes mellitus
Elevação de lipoproteínas

Elevação dos níveis de fibrinogênio
Elevação dos níveis de homocisteína
Elevação dos níveis de LDL e VLDL
Hipertensão arterial sistêmica
História familiar
Obesidade
Redução dos níveis de HDL
Sexo masculino
Síndrome metabólica (Resistência insulínica)

Diversos estudos apontam o consumo regular de álcool como preventivo às doenças cardiovasculares, porém não totalmente esclarecido. Sabe-se que, com um consumo diário de álcool de modo moderado, existe uma redução dos níveis de LDL colesterol – de característica aterogênica – e aumento dos níveis de HDL colesterol – de característica cardioprotetora. Os níveis de triglicerídeos são incertos se há o aumento ou a redução em pessoas com ingesta de álcool regular. Porém, apesar de haver esse aumento de HDL e redução de LDL, sabe-se que existem inúmeros outros efeitos nocivos do álcool relacionados a saúde da população, o que leva ao estímulo de um consumo mínimo para seu efeito cardioprotetor (TABARA et al., 2017).

Estudos mais recentes apontam o papel da vitamina D na fisiopatogênese da aterosclerose, em que atuaria na resposta imune e inflamatória, além do papel na trombogênese, o que acarreta instabilidade na doença arterial coronariana. Nardin et al (2016) compararam dois fatores de risco relacionados a aterosclerose, o diabetes mellitus e a hipovitaminose D, em pacientes que foram submetidos a angiografia coronariana, em que se percebeu que pacientes portadores de diabetes com hipovitaminose D possuíam maior prevalência e severidade da doença arterial coronariana (QUERFELD, 2013; BUITRAGO, ARANGO, BOLAND, 2012).

A presença de infecções agudas ou crônicas já foi citada como contribuinte da patogenia da disfunção endotelial arterial, seja por vírus ou bactérias (ROSENFELD, CAMPBELL, 2011). Uma

associação entre infecção pela Influenza com aumento do risco de eventos cardiovasculares já foi relatada (JASHARI, IBRAHIMI, NICOLL et al., 2013). Ainda, alguns autores sugerem que componentes bacterianos isolados são capazes de desencadear a aterosclerose (WESTERTERP, BERBÉE, PIRES et al., 2007). Silveira et al (2013) demonstraram um aumento significativo de fibras colágenas na aorta de pacientes portadores de infecção fúngica sistêmica. As infecções agudas ou crônicas podem contribuir com a aterosclerose no desencadeamento de uma resposta inflamatória sistêmica, levando a uma desestabilização da lesão aterosclerótica endotelial, podendo muitas vezes levar a ruptura e trombose do leito arterial (JASHARI, IBRAHIMI, NICOLL et al., 2013).

Os pesquisadores buscam uma interpretação da aterosclerose de forma não invasiva, a fim de prever um risco cardiovascular do paciente. Para isso, estudos são realizados obtendo-se formas de rastreio ou *screening* dos pacientes que apresentem fatores de risco conhecidos para o desenvolvimento de aterosclerose. Entretanto, ainda existem controvérsias na literatura. Em um estudo recente, Rau et al (2016) compararam o uso de tomografia computadorizada (TC) coronariana e cinecoronariografia em pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV - *Human Immunodeficiency Virus*), concluindo que a angiografia nesses pacientes se mostrou superior à tomografia computadorizada na detecção da aterosclerose. Nessa linha de pesquisa, Baroncini et al (2016) demonstraram a importância da ultrassonografia em pacientes pediátricos, utilizando-se o método não invasivo em carótidas, demonstrando aumento da espessura da parede arterial relacionado a idade e ao Índice de Massa Corporal (IMC). Prever um risco cardiovascular é uma meta de estudos para diversas linhas de pesquisa. Através do estudo das carótidas, tenta-se provar uma correlação entre a aterosclerose existente na artéria carótida e nas artérias coronarianas, buscando associação entre elas (KAZUM et al., 2016; ASCHER et al., 2001; WANAMAKER et al., 2012; CHUN et al., 2014; DURAND et al., 2004; STEINVIL et al., 2011).

O mecanismo em torno do evento agudo cardiovascular envolvendo coronárias e carótidas é semelhante. A ruptura da capa fibrosa aterosclerótica ou a erosão superficial podem desencadear o contato do núcleo lipídico, rico em lipídios, fibras colágenas e elásticas, e fatores teciduais, com elementos do sangue, como fatores de coagulação e plaquetas, promovendo a trombose. Independente do mecanismo que ocorre, a desestabilização da placa pode levar a eventos como síndrome coronariana aguda e acidente vascular encefálico (JASHARI et al., 2013).

As complicações cardiovasculares são uma preocupação relevante que pode ocorrer no período perioperatório, o que leva a um desfecho desfavorável ao paciente, com altas taxas de morbimortalidade perioperatória. Pacientes portadores de doença arterial coronariana que são submetidos ao stress cirúrgico, associado a episódios de taquicardia e alterações de níveis pressóricos como hipotensão e hipertensão sustentadas, podem apresentar um balanço negativo na oferta e consumo de oxigênio miocárdico, assim como situações de ruptura de placas estáveis ou instáveis e, assim, haver uma síndrome coronariana aguda (HOBAlKA, SEIBERLICH, ISSA, 2007). Ainda, pacientes que apresentam doença arterial em carótidas possuem risco aumentado no perioperatório de cirurgias de revascularização miocárdica, o que demonstra a importância do *screening* desses pacientes, buscando uma melhor qualidade na assistência pré-operatória e evitando intercorrências ao paciente (ABOYANS, LACROIX, 2009).

É mandatório que os fatores de risco no período perioperatório sejam investigados e a identificação dos pacientes com maior risco para doenças cardiovasculares devem ser conduzidos a fim de melhores resultados nesse período. Sabe-se que a mortalidade em cirurgias não cardíacas de pacientes de moderado e alto risco para doenças cardiovasculares situa-se entre 2 a 6%, respectivamente, e, provavelmente, aumente à medida que há o aumento do número de fatores de risco associados. Em um universo de, aproximadamente, 230 milhões de cirurgias de maior complexidade que ocorrem anualmente no mundo, esse número representa uma alta mortalidade nesse âmbito perioperatório (MÜLLER, ZOTT, 2013).

JUSTIFICATIVA

Após revisões na literatura, observa-se que ainda existem controvérsias sobre a associação fisiopatológica da aterosclerose apresentada em diferentes leitos arteriais, como coronárias e carótidas de pacientes. Entretanto, sabe-se que o processo inflamatório sistêmico é fator de risco para aterosclerose em ambos os leitos arteriais – coronarianos e carotídeos. Assim, o presente estudo propõe verificar em pacientes autopsiados o desenvolvimento de fibras colágenas e fibras elásticas existentes por métodos microscópicos em carótidas e coronárias e, ainda, relacionar as diferentes coronárias com as carótidas, buscando associação entre elas.

HIPÓTESE

Os leitos arteriais coronarianos e carotídeos de pacientes autopsiados apresentam quantidade de fibras colágenas e fibras elásticas semelhantes em suas camadas íntima e média.

OBJETIVO GERAL

Avaliar o processo de desenvolvimento da aterosclerose presente em diferentes leitos arteriais de paciente autopsiados pela Disciplina de Patologia Geral no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (HC – UFTM).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Comparar a porcentagem de fibras colágenas presente em carótidas direita e esquerda com coronárias de pacientes autopsiados;
2. Comparar a porcentagem de fibras elásticas presente em carótidas direita e esquerda com coronárias de pacientes autopsiados;
3. Comparar a porcentagem de fibras colágenas e elásticas presente em carótidas e coronárias de pacientes autopsiados quanto ao gênero;
4. Comparar a porcentagem de fibras colágenas e elásticas presente em carótidas e coronárias de pacientes autopsiados quanto a cor.

MATERIAIS E MÉTODOS

Através das autópsias realizadas por dois médicos patologistas pela Disciplina de Patologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas e Naturais (ICBN) da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba - Minas Gerais, Brasil, foi realizado um estudo com seres humanos, quantitativo, observacional, transversal e descritivo. Foram analisados os laudos de autópsias realizadas pela Disciplina de Patologia Geral no HC – UFTM no período de 2008 a 2014, em que foram selecionados os laudos de autópsias completos, independente da causa de morte ou doença de base.

Foram excluídos do estudo os casos que apresentavam laudos de autópsias incompletos com os dados analisados e ausência de material de coleta para análises (coronárias e carótidas).

Foram coletados 110 fragmentos dos seguintes leitos arteriais: carótidas comum direita (CD) e carótidas comum esquerda (CE); e coronárias descendente anterior (DA), descendente posterior (DP) e coronária circunflexa (CX) para as análises microscópicas. Os fragmentos coletados de carótidas e coronárias foram fixados em formaldeído a 10%. Posteriormente, os fragmentos foram desidratados em álcoois com concentrações crescentes (70 a 100%), diafanizados em xilol e emblocados em parafina. Posteriormente, foram realizados cortes seriados de 4 µm de espessura e confeccionadas lâminas para as análises histopatológicas.

Foram feitas colorações específicas para fibras colágenas através do Picrosírius (solução aquosa saturada de ácido pícrico adicionada de 0,1g% de vermelho da Síria F3b, Sirius red F3B-Bayer) com contra-coloração pela hematoxilina (JUNQUEIRA, BIGNOLAS e BRENTANI 1979). A quantificação do colágeno foi realizada nas camadas íntima e média das artérias carótidas e das coronárias, em que foram examinadas sob luz polarizada, com objetiva de 20x de acordo com a espessura da camada. Para esta quantificação todos os campos do corte foram digitalizados. Dessa forma, a imagem do campo quantificado foi digitalizada por meio de uma câmera acoplada ao microscópio. A área de colágeno com aspecto birrefringente com cor em geral, amarelo/alaranjado foi marcada pelo observador para obter-se o percentual (%) de colágeno por área do campo analisado nas lâminas. Essas medidas foram obtidas por meio do sistema analisador de imagens interativo Leica QWin Plus® (Leica Microsystems, Inc., Wetzlar, Germany), na objetiva de 20x (aumento final 800x).

Foram feitas colorações específicas para fibras elásticas através de Verhoeff para a obtenção da porcentagem (%) de fibras elásticas nas camadas íntima e média. Após a digitalização da imagem como descrito anteriormente, a área de fibras elásticas com aspecto enegrecido foi marcada pelo observador para obter-se o percentual de fibras elásticas por área do campo analisado nas lâminas. Essas medidas foram obtidas por meio do sistema analisador de imagens interativo Leica QWin Plus® (Leica Microsystems, Inc., Wetzlar, Germany), na objetiva de 20x (aumento final 620x).

O número de campos para avaliação das medidas das camadas íntima e média foi definido pelo cálculo da Média Acumulada (WILLIAMS, 1977).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística foi elaborada uma planilha eletrônica no Microsoft Excel 2016®. As informações foram analisadas de forma estatística utilizando-se o programa eletrônico software Graphpad Prism 5.0. A verificação da distribuição normal das variáveis quantitativas foi feita pelo teste de Shapiro-Wilk. As variáveis contínuas que apresentarem distribuição normal foram expressas em média e desvio padrão ($\bar{x} \pm dp$), e aquelas que apresentarem distribuição não normal foram expressas em mediana, mínimo e máximo (med, min-max). As variáveis que apresentarem distribuição normal e variância homogênea foram analisadas pelo teste "t" de Student; caso contrário, foram analisadas pelo teste de Mann Whitney (U). Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando a probabilidade de erro for menor que 5% ($p < 0,05$).

ASPECTOS ÉTICOS

O projeto de pesquisa do presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (CEP/UFTM), protocolo nº 1683/2010 (Anexo A).

NORMAS PARA CONFEÇÃO DO MANUSCRITO

Para elaboração da escrita do trabalho foram consultadas as normas de estilo de Vancouver e as recomendações do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UFTM.

RESULTADOS

Foram analisados 22 laudos de autópsias realizadas pela Disciplina de Patologia Geral do HC - UFTM. Os pacientes autopsiados apresentavam mediana de idade de 45 anos, com idade mínima de 25 anos e máxima de 74 anos. Quanto ao IMC, os pacientes apresentaram média de $22,16 \pm 5,51 \text{ kg/m}^2$. As outras informações descritivas dos pacientes podem ser vistas na **Tabela 3**.

Tabela 3: Características gerais da amostra de pacientes autopsiados na Disciplina de Patologia Geral do HC – UFTM utilizados no estudo

Características gerais	%
Gênero	
Masculino	59
Feminino	41
Etnia	
Branco	72,7
Não brancos	27,3
Causa de morte	
Cardiovascular	22,7
Infecciosa	63,6
Digestória	9
Neoplásica	4,7

Através da análise realizada pela coloração de Picrosirius, para quantificação por campo (%) de fibras colágenas, obteve-se a mediana em carótidas direita (2,895%) e esquerda (2,805%). Em coronárias descendente anterior (3,085%), descendente posterior (3,270%) e circunflexa (1,9%) da área analisada. **Tabela 4. Figuras 1, 2 e 3.**

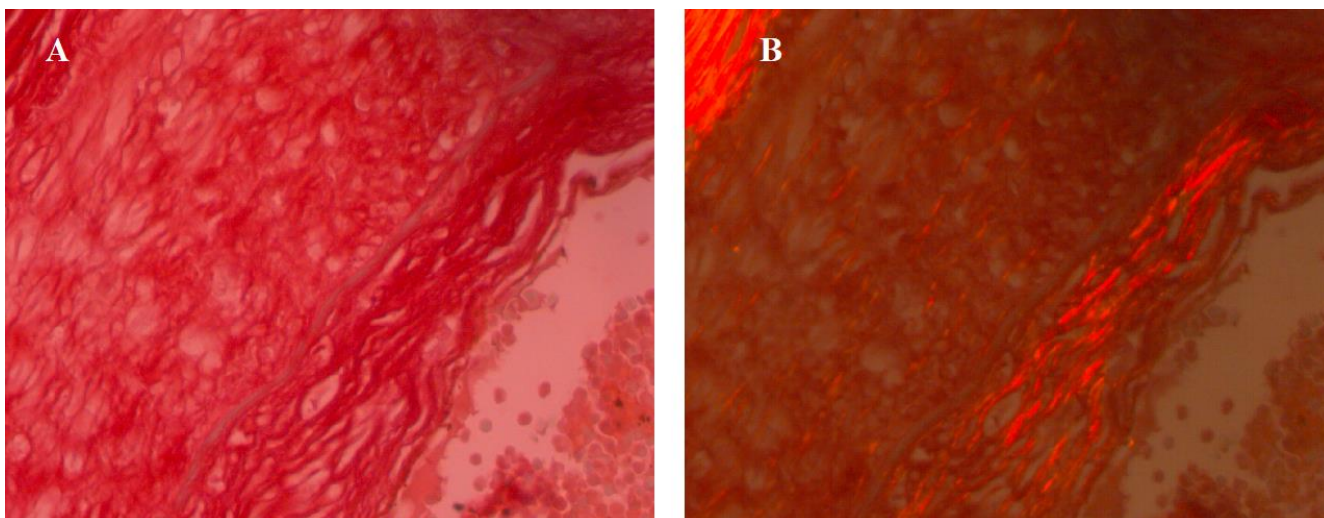


Figura 1: Análise histológica com objetiva de 20x (aumento final de 800x) das camadas íntima e média da parede arterial, através da coloração de Picrosirius, antes (A) e após visualização sob luz polarizada (B), com realce de fibras colágenas.

Tabela 4: Quantificação por campo de imagem (%) de fibras colágenas em diferentes leitos arteriais de pacientes autopsiados

Leito Arterial	Mediana (%)	(Min – Max %)
Carótida Direita	2,895	0,09 – 7,7
Carótida Esquerda	2,805	0,51 – 9,56
Coronária DP	3,270	0,1 – 14,79
Coronária DA	3,085	0,07 – 19,15
Coronária Cx	1,9	0,1 – 18,48

min = mínimo; max = máximo

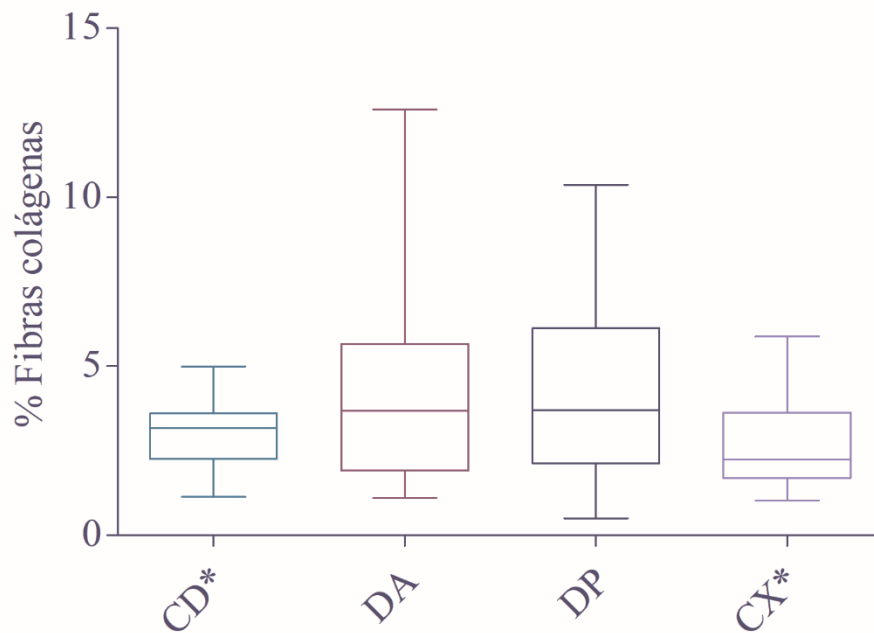


Figura 2: Box-plot com mediana e intervalos interquartil das medidas por campo de imagem (%) de fibras colágenas mensuradas na carótida direita (CD) e nas coronárias descendente anterior (DA), descendente posterior (DP) e circunflexa (Cx) de pacientes autopsiados, através da coloração de Picrosirius. * $t = 2,197$; $p = 0,033$.

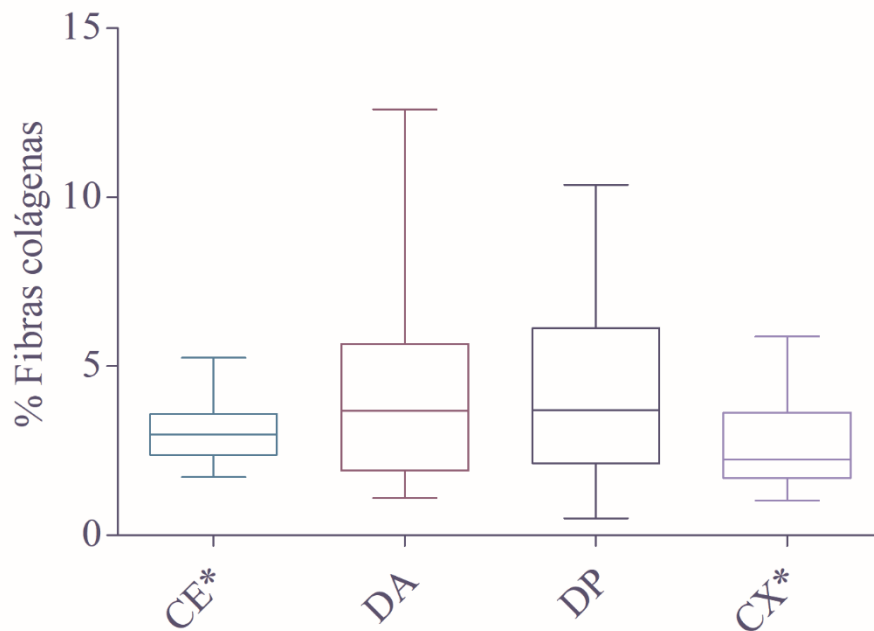


Figura 3: Box-plot com mediana e intervalos interquartil das medidas por campo de imagem (%) de fibras colágenas mensuradas na carótida esquerda (CE) e nas coronárias descendente anterior (DA), descendente posterior (DP) e circunflexa (Cx) de pacientes autopsiados, através da coloração de Picrosirius. * $t = 2,212$; $p = 0,032$.

A **Tabela 5** mostra a associação entre as diferentes carótidas (direita e esquerda) com as diferentes coronárias (descendente anterior, descendente posterior e circunflexa), quanto a mensuração, por porcentagem, das fibras colágenas, o qual mostra diferença significativa entre as carótidas direita e esquerda em relação a artéria circunflexa ($p < 0,05$).

Tabela 5: Associação da mensuração (%) de fibras colágenas entre as arteriais carótidas direita e esquerda com as diferentes coronárias de paciente autopsiados no HC – UFTM.

Carótida Direita		
Descendente Anterior	U = 193	p = 0,25
Descendente Posterior	U = 192	p = 0,245
Circunflexa	t = 2,197	p = 0,033*
Carótida Esquerda		
Descendente Anterior	U = 198	p = 0,307
Descendente Posterior	U = 177	p = 0,13
Circunflexa	t = 2,212	p = 0,032*

Através da análise realizada pela coloração de Verhoeff, para quantificação por campo (%) de fibras elásticas, obteve-se a mediana em carótidas direita (6,195%) e carótida esquerda (5,89%). Em coronárias descendentes anterior (5,595%), descendente posterior (5,870%) e circunflexa (5,735) da área analisada. **Tabela 6. Figuras 4, 5 e 6.**

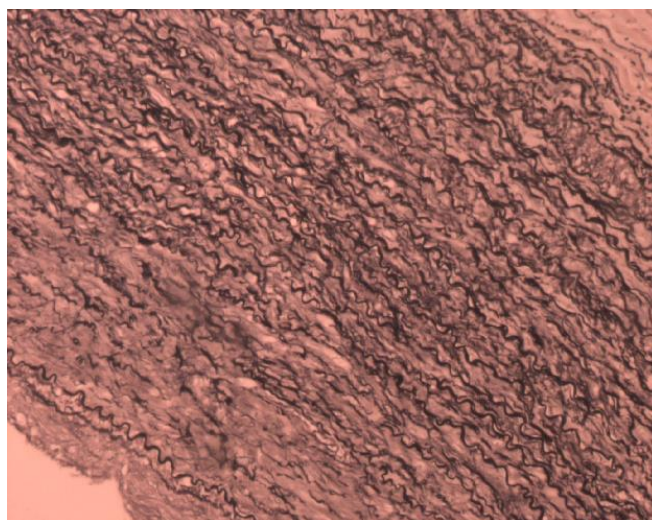


Figura 4: Análise histológica com objetiva de 20x (aumento final de 620x) das camadas íntima e média da parede arterial, através da coloração de Verhoeff, com visualização de fibras elásticas pela coloração enegrecida.

Tabela 6: Quantificação por campo de imagem (%) de fibras elásticas em diferentes leitos arteriais de pacientes autopsiados

Leito Arterial	Mediana (%)	(Min – Max %)
Carótida Direita	6,195	2,2 – 16,57
Carótida Esquerda	5,890	2,66 – 15,81
Coronária Cx	5,735	2,12 – 13,19
Coronária DA	5,595	1,15 – 14,46
Coronária DP	5,870	0,98 – 12,56

min = mínimo; max = máximo

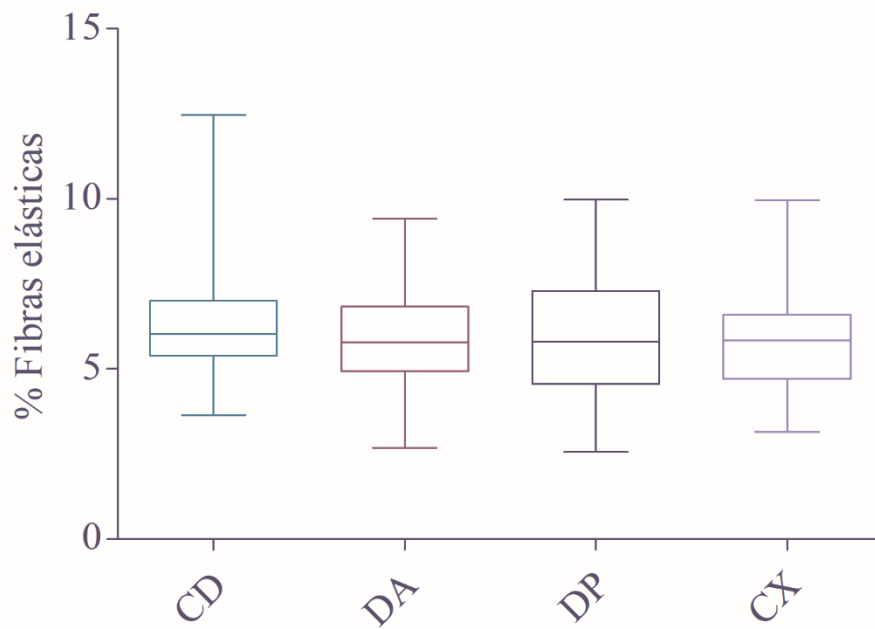


Figura 5: Box-plot com mediana e intervalos interquartil das medidas por campo de imagem (%) de fibras elásticas mensuradas na carótida direita (CD) e nas coronárias descendente anterior (DA), descendente posterior (DP) e circunflexa (Cx) de pacientes autopsiados, através da coloração de Verhoeff. $p > 0,05$

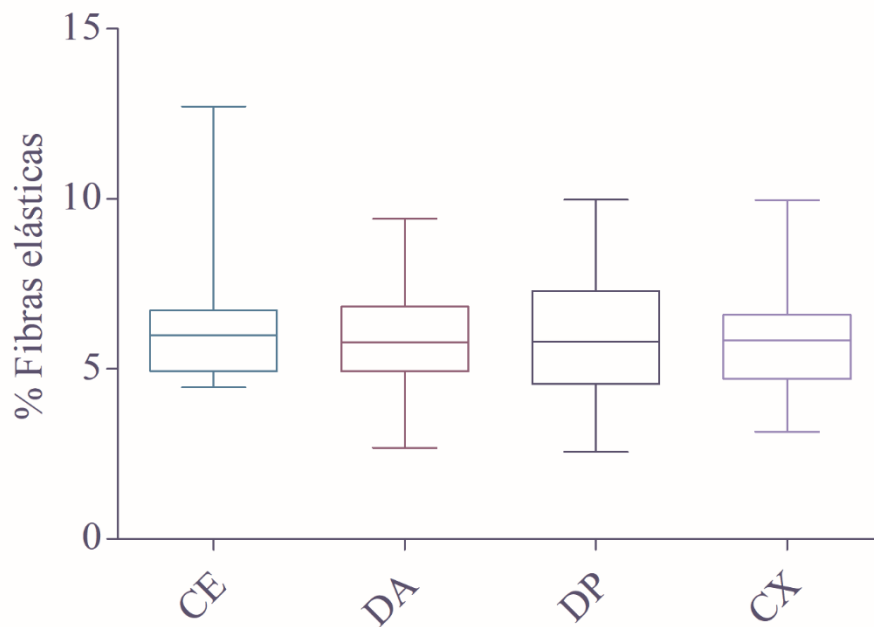


Figura 6: Box-plot com mediana e intervalos interquartil das medidas por campo de imagem (%) de fibras elásticas mensuradas na carótida esquerda (CE) e nas coronárias descendente anterior (DA), descendente posterior (DP) e circunflexa (Cx) de pacientes autopsiados, através da coloração de Verhoeff. $p > 0,05$

A **Tabela 7** mostra a relação entre as carótidas direita e esquerda com as diferentes coronárias, quanto a mensuração por campo de imagem (%) de fibras elásticas, onde não há diferença significativa entre todos os leitos arteriais analisados.

Tabela 7: Associação da mensuração (%) de fibras elásticas entre as arteriais carótidas direita e esquerda com as diferentes coronárias de pacientes autopsiados no HC – UFTM.

Carótida Direita		
Descendente Anterior	U = 183	p = 0,169
Descendente Posterior	U = 199	p = 0,318
Circunflexa	U = 187	p = 0,200
Carótida Esquerda		
Descendente Anterior	U = 126	p = 0,716
Descendente Posterior	U = 232	p = 0,823
Circunflexa	U = 221	p = 0,603

Quando se analisa os pacientes sob os gêneros masculino e feminino, não houve diferença significativa entre todas as carótidas e coronárias analisadas conforme visto na **Tabela 8**.

Tabela 8: Associação das diferentes artérias analisadas quanto a porcentagem das fibras colágenas e fibras elásticas em relação ao sexo feminino e masculino.

Gênero					
Feminino					
Fibras colágenas			Fibras elásticas		
CD x Cx	t = 1,496	p = 0,854	CD x Cx	t = 1,864	p = 0,08
CD x DA	t = 2,171	p = 0,05	CD x DA	t = 1,898	p = 0,675
CD x DP	t = 0,4052	p = 0,69	CD x DP	t = 1,436	p = 0,170
CE x Cx	t = 1,227	p = 0,237	CE x Cx	t = 1,385	p = 0,185
CE x DA	t = 1,733	p = 0,102	CE x DA	t = 1,435	p = 0,170
CE x DP	t = 0,4052	p = 0,69	CE x DP	t = 0,9544	p = 0,354
Gênero					
Masculino					
Fibras colágenas			Fibras elásticas		
CD x Cx	t = 1,584	p = 0,126	CD x Cx	t = 0,365	p = 0,717
CD x DA	U = 80	p = 0,837	CD x DA	U = 80	p = 0,837
CD x DP	t = 1,017	p = 0,319	CD x DP	U = 80	p = 0,737
CE x Cx	t = 1,790	p = 0,086	CE x Cx	U = 75	p = 0,644
CE x DA	U = 84	p = 1,00	CE x DA	U = 75	p = 0,744
CE x DP	t = 0,769	p = 0,449	CE x DP	t = 0,180	p = 0,858

Quando se analisa os pacientes sob as etnias branco e não branco, não houve diferença significativa em 100% dos brancos quanto as fibras colágenas e fibras elásticas e apenas diferença significativa de fibras colágenas entre a coronária circunflexa entre CE e CD dos pacientes não brancos. **Tabela 9.**

Tabela 9: Associação das diferentes artérias analisadas quanto (%) das fibras colágenas e fibras elásticas em relação à etnia.

Branços					
Fibras colágenas			Fibras elásticas		
CD x Cx	t = 1082	p = 0,288	CD x Cx	t = 2221	p = 0,054
CD x DA	t = 1824	p = 0,078	CD x DA	t = 1975	p = 0,052
CD x DP	U = 108	p = 0,426	CD x DP	t = 1853	p = 0,073
CE x Cx	t = 1168	p = 0,252	CE x Cx	U = 98	p = 0,266
CE x DA	t = 1924	p = 0,065	CE x DA	U = 108	p = 0,462
CE x DP	U = 104	p = 0,051	CE x DP	U = 103	p = 0,355
Não brancos					
Fibras colágenas			Fibras elásticas		
CD x Cx	t = 2,349	p = 0,04*	CD x Cx	t = 0,893	p = 0,392
CD x DA	t = 0,702	p = 0,498	CD x DA	t = 1,245	p = 0,241
CD x DP	t = 1,086	p = 0,303	CD x DP	t = 0,888	p = 0,394
CE x Cx	t = 2,275	p = 0,046*	CE x Cx	t = 0,939	p = 0,369
CE x DA	t = 0,603	p = 0,542	CE x DA	t = 1,288	p = 0,266
CE x DP	t = 1,369	p = 0,205	CE x DP	t = 0,934	p = 0,372

DISCUSSÃO

As doenças crônicas não transmissíveis tornaram-se uma preocupação mundial em que a doença aterosclerótica assim como outras doenças cardiovasculares são reconhecidas como destaque na morbimortalidade dos pacientes em geral, principalmente em pacientes idosos. Entretanto, merece destaque a incidência elevada dessas doenças em pacientes jovens, o que representa um grande impacto a saúde pública e privada em todo o mundo. A compreensão de sua fisiopatologia, progressão, fatores de risco e características clínicas associadas faz-se importante para um melhor manejo de prevenção e curativo dessa doença (SILVEIRA et al., 2016).

Estimativas populacionais apontam que em meados dos anos de 2025, o Brasil contará com 32 milhões de pessoas caracterizadas como idosas, o que representa cerca de 13% da população geral. Esse envelhecimento populacional demonstra a importância de estudos e políticas públicas no tratamento de doenças crônicas, como a aterosclerose, alterando não apenas o desfecho de morbimortalidade, mas como redução de gastos em saúde (IBGE, 2009).

O grande impacto que a cardiopatia isquêmica representa na vida da população faz com que milhares de artigos científicos sejam publicados anualmente com o intuito de compreender as mudanças na parede arterial que levam a formação da aterosclerose. Estudos de autópsias em neonatos apontam o aparecimento de estrias lipídicas em suas artérias, o que demonstra que a sua fisiopatologia inicia-se antes mesmo da exposição a inúmeros fatores de risco consagrados (NEUFELD et al., 1962; FERRAZ et al., 2016).

Diferentemente dos demais países do hemisfério ocidental, o Brasil apresenta uma maior mortalidade relacionada as doenças cerebrovasculares, comparando-se com as doenças arteriais coronarianas. Segundo dados do Ministério da Saúde publicados pela Sociedade Brasileira de Cardiologia, houve uma mortalidade de 52,5% (246.322 pacientes) em relação as doenças cerebrovasculares, e de 47,5% (222.852 pacientes) de doenças coronarianas. Apesar de apresentarem fatores de risco semelhantes, essa diferença estatística apresenta grande impacto na saúde pública brasileira, visto que o acidente vascular encefálico representa a principal causa de invalidez temporária ou permanente, elevando tratamentos de alto custo e onerando os sistemas previdenciários público e privado (CESAR et al., 2014).

A associação da aterosclerose em diversos leitos arteriais é estudada em vários países devido à alta taxa de mortalidade cardiovascular, com elevado custo de gastos relacionados a saúde. No Japão, Nakamura et al (2017) realizaram um estudo em 121 pacientes autopsiados em que se buscou associação da doença arterial periférica assintomática com doenças cardiovasculares e aterosclerose em artérias carótidas, coronárias e renais. Ao se analisar de forma histopatológica, foram encontradas placas ateroscleróticas nas artérias ilíacas comum de graus avançados, de acordo com a AHA, em 72% de pacientes assintomáticos, com fatores de risco consagrados como hipertensão, diabetes mellitus e idade acima de 60 anos. Quanto à associação com outros leitos arteriais, encontraram 75% de pacientes com placas ateroscleróticas avançadas em coronárias, carótidas e ilíacas comum, com forte associação das lesões com doenças cardiovasculares, como infarto agudo do miocárdio, acidente vascular encefálico e doença renal (NAKAMURA et al., 2017)

Em um outro estudo realizado por Iwakiri et al (2014) buscou-se a associação das doenças vasculares renais e doença aterosclerótica sistêmica, em que se avaliaram 107 pacientes autopsiados através de alterações morfológicas das artérias renais e a espessura da camada íntima e média das artérias renais, cerebral, coronárias, carótidas e ilíacas comum. Através dessa mensuração de espessura, os autores concluíram que há forte associação entre as espessuras dos leitos arteriais, o que demonstra que pacientes com doença renal crônica possuem risco aumentado para doenças cardiovasculares. Isso pode ser confirmado com outro estudo realizado in vivo em que mais de 50% dos pacientes com doença renal crônica dialíticos apresentavam estenose significativa de artérias coronarianas (JOKI et al., 2009; OHTAKE et al., 2005).

De forma geral, ao analisar as fibras colágenas nesse estudo, foi possível verificar que não houve diferença significativa em relação as carótidas direita e carótidas esquerda com as coronárias descendente anterior e posterior, em que apresentam mensurações de campo de imagem (%) de fibras colágenas semelhantes nesses leitos arteriais. Estes achados corroboram com a literatura científica de que a aterogênese é um comprometimento crônico, de cunho sistêmico, em que há possibilidade de inflamação e início de formação de placas em diversos leitos arteriais do corpo humano simultaneamente. Em nosso estudo foi possível verificar uma diferença significativa entre as artérias carótidas direita e esquerda com a coronária circunflexa, onde houve maior predomínio de colágeno nas artérias carótidas. Isso pode ser explicado devido a redução de diâmetro e

comprimento da artéria coronária circunflexa, em comparação às outras coronárias analisadas, com redução de fluxo turbilhonar sanguíneo, em que pode haver menor lesão na camada íntima arterial. (SILVEIRA et al., 2017).

Um estudo revelou, que pacientes com quadro clínico de dor torácica devido a síndrome coronariana aguda apresentou-se com comprometimento da artéria descendente anterior em 44 a 56% dos casos, seguida em 27% a 39% pela coronária direita e 17% na artéria coronária circunflexa (SGARBOSSA, BIRNBAUM, PARRILLO, 2001).

As fibras colágenas constituem até 60% da proteína total da placa aterosclerótica, sendo constituídas principalmente por fibras do tipo 1 e fibras do tipo 3. As fibras do tipo 1 representam, aproximadamente, até dois terços da constituição colágena da placa, e as fibras do tipo 3 um terço. O aumento da matriz extracelular as custas de fibras colágenas levam não só ao aumento das camadas íntima e média da parede arterial, como depósitos para moléculas pró-aterogênicas, como fatores de crescimento e lipoproteínas modificadas, e a sinalização de macrófagos, células musculares lisas e estimulação da formação de trombos. Sabe-se que em lesões ateroscleróticas avançadas existem a presença de outros tipos de colágenos, como tipo 4 e 5. As fibras colágenas são essenciais tanto na formação da placa quanto na sua desestrutura funcional. O aumento exagerado leva a estenose arterial enquanto que uma produção deficiente qualitativamente e/ou quantitativamente pode levar a uma placa com risco de ruptura (REKHTER, 1999). Essa situação clínica é deletéria ao paciente em ambos os casos, em que o produto final pode ser o balanço negativo da oferta de oxigênio, levando a complicações cardiovasculares como infarto agudo do miocárdio e acidente vascular encefálico (MÜLLER, ZOTT, 2013).

Mudanças na estrutura das fibras colágenas em placas de aterosclerose de coronárias foi motivo de estudo em 68 pacientes que foram submetidos a bypass/enxerto coronariano devido a doença isquêmica do coração. Nesses pacientes, foi identificado acúmulo de lipídeos na camada de fibras colágenas, o que levou os autores a associar a presença de instabilidade de uma placa aterosclerótica ao aumento e a desestruturação das fibras colágenas da parede arterial (ZHDANOV et al., 2011).

Quanto às fibras elásticas, nosso estudo verificou que não houve diferença significativa entre todas as artérias carótidas e coronárias analisadas, o que mostra neoformação semelhante de

fibras elásticas, com comprometimento em ambos os leitos arteriais. As fibras elásticas compõem aproximadamente metade da matriz extracelular, sendo a proteína com maior porcentagem na parede arterial. Produzidas pelas células musculares lisas, representam significativa importância na parede arterial, contribuindo com a tensão basal e com elevações reduzidas da tensão da parede arterial em alterações hemodinâmicas, antes que as fibras colágenas sejam envolvidas. Isso pode ser visto em nosso estudo, sendo que a porcentagem de fibras elásticas medida por campo representa-se maior que as fibras colágenas (WANG et al.,2017)

O desenvolvimento da aterosclerose acontece através da associação do acúmulo local de lipídeos e cálcio na placa aterosclerótica em formação. É proposto que haja uma interação entre proteínas elásticas da parede arterial com as lipoproteínas de baixa densidade, o que leva a deposição lipídica. Estudos apontam que a deposição lipídica ocorre na placa aterosclerótica resultante de alterações qualitativas e quantitativas das fibras elásticas e colágenas. Esse remodelamento da parede arterial desequilibra a homeostase arterial, com migração de células musculares lisas e redução de defesa contra os ésteres de colesterol presentes (REKHTER, 1999).

Pacientes masculinos possuem maior fator de risco que femininos, antes do período do climatério, para o desenvolvimento de doença aterosclerótica. Apesar disso, nosso estudo demonstrou que a quantidade de fibras elásticas e colágenas em campo de imagem (%) seguiu-se de forma semelhante em ambos os gêneros, sem diferença significativa. Demonstra que os leitos arteriais seguem a mesma tendência de progressão da lesão crônica inflamatória, sem que haja, a princípio fator de influência do gênero nesse desenvolvimento patológico (REKHTER, 1999).

Há mais de cinquenta anos, os pesquisadores assumem uma associação entre as doenças arteriais periféricas e a doença arterial coronariana (HUR et al., 2012). Pacientes que apresentam lesões ateroscleróticas podem apresentá-las de formas sistêmicas em leitos coronarianos, carotídeos, femorais, ilíacos, renais entre outros. Existe um risco de complicações no pós-operatório de pacientes submetidos a doença arterial periférica, em decorrência de complicações cardiovasculares, o que aumenta significativamente a morbimortalidade. Hur et al (2012) relatam em seu trabalho que pacientes com doenças arteriais periféricas podem apresentar coronariopatias em 28% a 94% dos casos. Segundo os autores, essa ampla margem de diferença se deve as inúmeras classificações de estenose utilizadas pelos autores e pelos métodos diagnósticos utilizados. Em seus estudos, encontraram uma associação de doença arterial coronariana e doença em artérias carótidas

em 72% dos pacientes (HUR et al., 2013).

Em um estudo realizado por Lobo et al (2015) para verificar os diferentes desfechos no período de pós-operatório de endarterectomia carotídea devido a aterosclerose acentuada em 737 pacientes, verificou-se que, aproximadamente, 30% dos pacientes que apresentaram indicação cirúrgica em carótidas, concomitantemente, apresentavam doença arterial coronariana. Ainda, verificou-se que em 30 dias houve uma mortalidade de 0,3% nesses pacientes com causa morte a síndrome coronariana aguda. Apesar de uma incidência relativamente baixa, as coexistências dessas doenças devem ser conhecidas pela equipe médica que presta assistência ao paciente, buscando alternativas e vigilância para complicações cardiovasculares (LOBO et al., 2015).

Um dos fatores limitantes do nosso estudo é o número reduzido de material para análise das artérias envolvidas nesse projeto, devido ao número decrescente de autopsias que vem sendo realizadas em nossa Instituição, porém que segue uma tendência mundial (HOYERT, 2011). Outra limitação que encontramos é em decorrência da *causa mortis* dos pacientes envolvidos, pois grande parte dos pacientes autopsiados em nossa Instituição vieram ao óbito devido a patologias infecciosas e não cardiovasculares. Se obtivéssemos um maior número de solicitação de autópsias de pacientes cardiovasculares obteríamos resultados mais consistentes em relação à aterosclerose de pacientes com doenças cardiovasculares.

CONCLUSÃO

A análise histopatológica de diferentes leitos arteriais de pacientes autopsiados apresentam a porcentagem de fibras colágenas e fibras elásticas semelhantes em grande parte das artérias carótidas e coronárias, o que sugere que ambos os leitos estão susceptíveis à formação aterosclerótica, o que pode desencadear a complicações de formação de placas avançadas com o decorrer do tempo e avançar da idade em pacientes expostos aos fatores estabelecidos.

REFERÊNCIAS

ABOYANS, V.; LACROIX, P. Indications for carotid screening in patients with coronary artery disease. **Presse Med**, v. 38, p. 977 – 986, 2009.

ASCHER, E. et al. Routine preoperative carotid duplex scanning in patients undergoing open heart surgery: is it worthwhile? **Ann Vasc Surg**, v. 15, p. 669 - 678, 2001.

BARONCINI, L. A. V.; SYLVESTRE, L. C.; PECOITS FILHO, R. Avaliação da espessura médio-intimal em crianças saudáveis entre 1 e 15 anos. **Arq Bras Cardiol**, v. 106, n. 4, p. 319 - 326, 2016.

BASSI, C. L.; GARCIA, R. F.; MIRANDA NETO, M. H. Espessamentos da íntima e sua relação com a aterosclerose em humanos. **Arq Ciênc Saúde Unipar**, v. 1, n. 1, p. 39 - 44, 1997.

BODARY, P. F.; EITZMAN, D. T. Vascular biology of atherosclerosis. In: Handler C., Cleman M. **Classic Papers in Coronary Angioplasty**. Springer, London, 2006.

BUITRAGO, C. G.; ARANGO, N. S.; BOLAND, R. L. $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -dependent modulation of Akt in proliferating and differentiating C2C12 skeletal muscle cells, **J. Cell. Biochem**, v. 113, p. 1170 - 1181, 2012.

CESAR, L. A. et al. Diretriz de Doença Coronária Estável. **Arq Bras Cardiol**, v. 103, p. 1 - 59, 2014.

CHUN, L. J. et al. Screening carotid artery duplex in patients undergoing cardiac surgery. **Ann Vasc Surg**, v. 28, p. 1178-85, 2014.

COSTACHE, M. et al. Clinical or Postmortem? The Importance of the Autopsy: a retrospective Study. **MAEDICA – a Journal of Clinical Medicine**, v. 9, n. 3, p. 261 - 265, 2014.

DEITCH, J. S. et al. Cryptococcal aortitis presenting as a ruptured mycotic abdominal aortic aneurysm. **J Vasc Surg**, v. 30, n. 9, p. 189 - 92, 1999.

DURAND, D. J. et al. Mandatory versus selective preoperative carotid screening: a retrospective analysis. **Ann Thorac Surg**, v. 78, p. 159 - 66, 2004.

FERRAZ, M. L. F. et al. Morphometric evaluation of the aortic root in stillborns. **Pathology - Research and Practice**, v. 212, p. 686 – 689, 2016.

FIHN, S. D. et al. ACCF/AHA/ACP/AATS/PCNA/ SCAI/STS guideline for the diagnosis and management of patients with stable ischemic heart disease: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association task force on practice guidelines, and the American College of Physicians, American Association for Thoracic Surgery, Preventive Cardiovascular Nurses Association, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Thoracic Surgeons. **Circulation**, v. 126, p. 354 - 471, 2012.

GARDNER, E.; GRAY, D. J.; RAHILLY, R. O. Anatomia Estudo Regional do Corpo Humano. 4^a ed. Philadelphia, Guanabara Koogan, p. 679-680, 1999.

GOULD, L. A. et al. Cholesterol reduction yields clinical benefit: Impact of statin trials. **Circulation**, v. 97, p. 946 – 952, 1998.

HERON, M. Deaths: leading causes for 2010. **Natl Vital Stat**, v. 62, p. 91–96, 2013.

HOBAIKA, A. B. S.; SEIBERLICH, E.; ISSA, M. R. N. Acute coronary syndrome in patient with severe coronary artery disease after laparoscopic cholecystectomy. **Br J Anaesth**, v. 57, n. 4, p. 406 - 409, 2007.

HOYERT, D.L. The changing profile of autopsied deaths in the United States, 1972 - 2007. **NCHS Data Brief**, v. 67, p. 1 - 8, 2011.

HUR, D. J. et al. Frequency of Coronary Artery Disease in Patients Undergoing Peripheral Artery Disease Surgery. **Am J Cardiol**, v. 110, n. 5, p. 736 – 740, 2012.

IGNOTZ, R. A.; MASSAGUÉ, J. Transforming growth factor-beta stimulates the expression of fibronectin and collagen and their incorporation into the extracellular matrix. **Journal Biol Chem**, v. 9, p. 4337 - 45, 1986.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (IBGE). Indicadores Sociodemográficos e de Saúde no Brasil. **Estudos e Pesquisas**. Rio de Janeiro; 2009.

IWAKIRI, T. et al. Association between renal vasculature changes and generalized atherosclerotic: an autopsied survey. **Journal of Atherosclerosis and Trombosis**, v. 21, p. 99 - 107, 2014.

JASHARI, F. et al. Coronary and carotid atherosclerosis: similarities and differences. **Atherosclerosis**, v. 227 p. 193 - 200, 2013.

JOKI, N. et al. Effects of calcimimetic on vascular calcification and atherosclerosis in uremic mice. **Bone**, v. 45, p. 30 – 34, 2009.

KAZUM, S. et al. Prevalence of carotid artery disease among ambulatory patients with coronary artery disease. **IMAJ**, v. 18, p. 100 – 103, 2016.

KOSHI, G.; Cherian, K. M. Aspergillus terreus, an uncommon fungus causing aortic root abscess and pseudoaneurysm. **Indian Heart J**, v. 47, n. 3, p. 265 - 267, 1995.

LLOYD-JONES, D. et al. Heart disease and stroke statistics — 2010 update: a report from the American Heart Association. **Circulation**, v. 121, p. 46 - 215, 2010.

LLOYD-JONES, D. M. et al. Lifetime risk of developing coronary heart disease. **Lancet**, v. 353, p. 89 – 92, 1999.

LOBO, M.; MOURAO, J.; AFONSO, G. Endarterectomia carotídea: revisão de 10 anos de prática de anestesia geral e locorregional num hospital terciário de Portugal. **Rev Bras Anesthesiol**, v. 65, n. 4, p. 249 - 254, 2015.

MANSUR, A. P.; FAVARATO, D. Trends in Mortality Rate from Cardiovascular Disease in Brazil, 1980-2012. **Arq Bras Cardiol**, v. 107, n. 1, p. 20 – 25, 2016.

MOORE, K. L.; PERSAUD, T. V. N. Embriologia clínica 7ª edição .Rio de Janeiro, RJ. Editora Elsevier, Cap. O Sistema Cardiovascular, p. 395 - 396; pp 609, 2004.

MORTON, L. F.; BARNES, M. J. Collagen polymorphism in the normal and diseased blood vessel wall. Investigation of collagens types I, III and V. **Atherosclerosis**, v. 42, n. 1, p. 41 - 51, 1982.

MULLER, K. ZOTT, M. Diagnostico de isquemia e infarto perioperatorio. **Rev Chil Anest**, v. 42, n. 1, p. 48 – 54, 2013.

NAKAMURA, E. et al. Asymptomatic plaques of lower peripheral arteries and their association with cardiovascular disease: an autopsy study. **Journal of Atherosclerosis and Trombosis**, v. 24, p. 1 - 7, 2017.

NAPOLI, C.; PIGNALOSA, O.; NIGIRIS, F. Childhood infection and endothelial dysfunction: a potential link in atherosclerosis? **J American Heart Association**, v. 111, p. 1568 - 70, 2007.

NARDIN, M. et al. Vitamin D status, diabetes mellitus and coronary artery disease in patients undergoing coronary angiography. **Atherosclerosis**, v. 250, p. 114 – 121, 2016.

NASCIMENTO, B. R. et al. Global health and cardiovascular disease. **Heart**, v. 100, p. 1743 – 49, 2014.

NEUFELD, H. N.; WAGENWOORT, C.A.; EDWARDS, J.E. - Coronary arteries in fetuses, infants, juveniles and young adults. **Lab Invest**, v. 11, p. 837 - 42, 1962.

NEVES, J. A.; NEVES, J. A.; OLIVEIRA, R. C. M. Biomarkers of endothelial function in cardiovascular diseases: hypertension. **J Vasc Bras**, v. 15, n. 3, p. 223 – 24, 2016.

OHTAKE, T. et al. High prevalence of occult coronary artery stenosis in patients with chronic kidney disease at the initiation of renal replacement therapy: an angiographic examination. **J Am Soc Nephrol**, v. 16, p. 1141 – 8, 2005.

O'LEARY, D. H. et al. Carotid artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. **N Engl J Med**, v. 340, n. 1, p. 14 - 22, 1999.

QUERFELD, U. Vitamin D and inflammation. **Pediatr. Nephrol**, v. 28, p. 605 – 610, 2013.

RAU, P. et al. Coronary calcium assessment with computed tomography in HIV-infected patients. **Atherosclerosis**, v. 249, p. 99 - 100, 2016.

REKHETER, M. D. Collagen synthesis in atherosclerosis: too much and not enough. **Cardiovascular research**, v. 41, p. 376 – 384, 1999.

ROBBINS S. L. et al. Patologia – Bases patológicas das doenças. 7º Edição. Rio de Janeiro, RJ. Editora Elsevier, 2004.

ROGER, V. L. et al. Heart disease and stroke statistics - 2011 update: a report from the American Heart Association. **Circulation**, v. 123, n. 4, p. 18 – 20, 2011.

ROSENFELD, M. E.; CAMPBELL, L. A. Pathogens and atherosclerosis: update on the potential contribution of multiple infectious organisms to the pathogenesis of atherosclerosis. **Thromb. Haemost**, v. 106, p. 858 - 867, 2011.

SANTOS-GALLEGO, C. G.; PICATOSTE, B.; BADIMÓM, J. J. Pathophysiology of acute coronary syndrome. **Curr Atheroscler Rep**, v. 16, p. 401, 2014.

SGARBOSSA, E.; BIRNBAUM, Y.; PARRILLO, J. E. Electrocardiographic diagnosis of acute myocardial infarction: Current concepts for the clinician. **Am Heart J**, v. 141, p. 507 - 17, 2001.

SHINTAKU, M. et al. Aortic lesions in aspergillosis: histopathological study of two autopsy cases. **Virchows Arch**, v. 439, p. 640 - 4, 2001.

SILVEIRA, E. A. et al. Obesity and its Association with Food Consumption, Diabetes Mellitus, and Acute Myocardial Infarction in the Elderly. **Arq Bras Cardiol**, v. 107, n. 6, p. 509 - 517, 2016.

SILVEIRA, L. A. M. et al. Implications of systemic fungal infection in the atherosclerosis of autopsied patients. **J Health Sci Inst**, v. 31, n. 2, p. 141-3, 2013.

SIMÃO, A. F. et al. I Diretriz Brasileira de prevenção cardiovascular. **Arq Bras Cardiol**, v. 101, n. 6, p. 1 - 63, 2013.

STARY, H. C. Natural history and histological classification of atherosclerotic lesions: An Update. **Arterioscler Tromb Vasc Biol**, v. 20, p. 1177 - 78, 2000.

STEINVIL, A. et al. Prevalence and predictors of concomitante carotid and coronary artery atherosclerotic disease. **J Am Coll Cardiol**, v. 57, p. 779 - 83, 2011.

STRONG, J. P. Atherosclerotic lesions. Natural history, risk factors, and topography. **Arch Pathol Lab Med**, v. 116, n. 12, p. 1268 – 75, 1992.

TABARA, Y. et al. The causal effects of alcohol on lipoprotein subfraction and triglyceride levels using a Mendelian randomization analysis: The Nagahama study. **Atherosclerosis**, v. 257, p. 22 – 28, 2017.

TALARICO, G. P. et al. Cocaine and coronary artery diseases: a systematic review of the literature. **J Cardiovasc Med**, v. 18, n. 5, p. 291 - 294, 2017.

TENDERA, M. et al. Reduction of Atherothrombosis for Continued Health Registry Investigators. Three-year follow-up and event rates in the international reduction of Atherothrombosis for Continued Health Registry. ESC guidelines on the diagnosis and treatment of peripheral artery diseases: document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries: the Task Force on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Artery Diseases of the European Society of Cardiology (ESC). **Eur Heart J**, v. 32, n. 22, p. 2851 – 2906, 2011.

TOUBOUL, P. J. et al. Correlation between the Framingham risk score and intima media thickness: the Paroi Arterielle et Risque Cardio-vasculaire (PARC) study. **Atherosclerosis**, v. 192, n. 2, p. 363, 2007.

VAN DAM, A. D. et al. BCG lowers plasma cholesterol levels and delays atherosclerotic lesion progression in mice. **Atherosclerosis**, v. 251, p. 6 – 14, 2016.

WANAMAKER, K. M. et al. Contemporary incidence and risk factors for carotid artery disease in patients referred for coronary artery bypass surgery. **J Cardiothorac Surg**, v. 7, p. 78 - 82, 2012.

WANG, D. et al. Roles of Cells from the Arterial Vessel Wall in Atherosclerosis. **Mediator Inflamm**, 2017:8135934, 2017.

WESTERTERP, M. et al. Apolipoprotein C-I is crucially involved in lipopolysaccharide-induced atherosclerosis development in apolipoprotein E-knockout mice. **Circulation**, v. 116, p. 2173 – 81, 2007.

WILLIAMS, M. A. Quantitative methods in biology. In: Practical methods in electron microscopy. Edited by Glaubert A. M. Elsevier North-Holland Biomedical Press. Amsterdam, The Netherlands, p. 233, 1977.

YAHAGI, K. et al. Pathophysiology of native coronary, vein graft, and in-stent atherosclerosis. **Nat Rev Cardiol**, v. 13, n. 2, p. 79 – 78, 2016.

ZHDANOV, V. S. et al. Collagen fiber pathology in atherosclerotic plaques of the coronary arteries in ischemic heart disease. **Arkh Patol**, v. 73, n. 6, p. 3 – 6, 2011.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO – Uberaba(MG)
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA-CEP
Parecer Consubstanciado
PROTOCOLO DE PROJETO DE PESQUISA COM ENVOLVIMENTO DE SERES HUMANOS

IDENTIFICAÇÃO

TÍTULO DO PROJETO: ANÁLISE COMPARATIVA DO COLÁGENO DE CORONÁRIA E CARÓTIDA EM PACIENTES AUTOPSIDADOS

PESQUISADOR(A) RESPONSÁVEL: VICENTE DE PAULA ANTUNES TEIXEIRA

INSTITUIÇÃO ONDE SE REALIZARÁ A PESQUISA: UFTM

DATA DE ENTRADA NO CEP/UFTM: 16/06/2010

PROTOCOLO CEP/UFTM: 1683

SUMÁRIO DO PROJETO

1. OBJETIVOS

- Quantificar o colágeno presente em coronária de pacientes autopsiados;
- Quantificar o colágeno presente em carótidas comuns de pacientes autopsiados;
- Relacionar a quantidade de colágeno presente em carótida e coronária de pacientes autopsiados;
- Verificar a associação da presença de colágeno na coronária com o gênero e a cor e o IMC;

2. JUSTIFICATIVA

A aterosclerose é uma afecção que ocorre por múltiplos fatores na parede arterial, que levam à formação de placa ateromatosa. Esse processo pode ocorrer tanto em médias quanto em grandes artérias do organismo. O aumento de depósitos de lipídeos e de células do sistema imune diminui o fluxo sanguíneo local, que leva a esclerose, constituída por deposição de tecido conjuntivo por fibroblastos. Assim, a artéria passa a ter uma estrutura enrijecida e inflexível. Além disso, sais de cálcio circulantes podem se precipitar com moléculas da placa ateromatosa, tornando as artérias rígidas.

O desenvolvimento de depósitos lipídicos provoca várias mudanças no colágeno da camada íntima. Um aumento generalizado no colágeno, caracterizando a fibrose, pode ser resultado da hiperplasia de músculo liso, e também da produção de fatores de crescimento que aumentam a expressão de genes responsáveis pela produção de colágeno em uma variedade de células.

Relatos na literatura apontaram uma relação entre o aumento da espessura da camada das artérias carótida e coronária, decorrente – inicialmente – pelo processo de fibrose, e evoluindo para o processo aterosclerótico, o que, indiretamente, poderia predizer o risco cardiovascular do paciente afetado por essa situação.

3. DESCRIÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

As amostras de coronária e carótida comum serão obtidas de autópsias realizadas no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba – MG, no período de 1963 a 2008. Os indivíduos com 18 anos ou mais serão selecionados pelos laudos de autópsias, independente da causa de morte ou doença de base. A idade, o gênero e a cor serão obtidos nos laudos de autópsias.

O estado nutricional será considerado de acordo com o índice de massa corporal (IMC), calculado pela relação do peso corporal em kg pela altura em m². O IMC para os idosos, abaixo de 22 kg/m² será adotado como subnutrição e acima de 27 kg/m², sobrepeso enquanto que para os indivíduos não-idosos a faixa de normalidade será considerado de 18,5 a 25 kg/m².

Serão coletados fragmentos de coronária e carótida que serão em seguida fixados em formaldeído a 3,7%. Posteriormente, os fragmentos serão desidratados em álcoois com concentrações crescentes (70 a 100%), diafanizados em xilol e emblocados em parafina. Posteriormente, serão realizados cortes seriados de 4 µm de espessura. A lâmina será corada por picrossírius (solução aquosa saturada de ácido picrico adicionada de 0,1g% de vermelho da Síria F3b, Sírius red F3B-Bayer) com contra-coloração pela hematoxilina (JUNQUEIRA, BIGNOLAS e BRENTANI 1979). A quantificação do colágeno será realizada na camada íntima da coronária e carótida, utilizando a lâmina corada por picrossírius examinada sob luz polarizada, com objetiva de 5, 10 ou 40x de acordo com a espessura da camada. Para esta quantificação todos os campos do corte serão digitalizados. A morfometria será feita com o sistema analisador de imagens semi-automático "Image j 1.32j" (National Institutes of Health, USA). Dessa forma, a imagem do campo a ser quantificado será



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO – Uberaba(MG)
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA-CEP
Parecer Consubstanciado
PROTOCOLO DE PROJETO DE PESQUISA COM ENVOLVIMENTO DE SERES HUMANOS

IDENTIFICAÇÃO

TÍTULO DO PROJETO: ANÁLISE COMPARATIVA DO COLÁGENO DE CORONÁRIA E CARÓTID EM PACIENTES AUTOPSIDADOS

PESQUISADOR(A) RESPONSÁVEL: VICENTE DE PAULA ANTUNES TEIXEIRA

INSTITUIÇÃO ONDE SE REALIZARÁ A PESQUISA: UFTM

DATA DE ENTRADA NO CEP/UFTM: 16/06/2010

PROTOCOLO CEP/UFTM: 1683

digitalizada por meio de uma câmera acoplada ao microscópio. Para a digitalização da imagem da camada íntima será considerado a delimitação entre a íntima e média. Após a digitalização, se necessário a camada íntima será delimitada com o programa "Adobe Photoshop" para excluir áreas vazias. A área de colágeno que se apresentar com aspecto birrefringente com cor em geral, amarela será marcada pelo observador para obter-se o percentual de colágeno por área do campo analisado.

4. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Os critérios de exclusão serão as condições que poderão influenciar o IMC, tais como edema, anasarca, nefropatias, fígado cardíaco, cirrose e neoplasias.

5. ADEQUAÇÃO DA METODOLOGIA

A análise estatística será realizada por meio do programa SigmaStat 2.03. A verificação da distribuição normal das variáveis quantitativas será feita pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. As variáveis contínuas que apresentarem distribuição normal serão expressas em média \pm desvio padrão e aquelas que apresentarem distribuição não-normal serão expressas em mediana com valores mínimo e máximo. Para relacionar a quantidade de colágeno com a idade e o gênero, as variáveis que apresentarem distribuição normal e variância homogênea serão analisadas pelos testes "t" de Student para comparação de dois grupos ou Anova (F) para comparação de mais de dois grupos, seguido pelo teste de Tukey quando necessário. Caso contrário, serão analisadas pelos testes de Mann Whitney (T) para comparação de dois grupos ou Kruskal-Wallis (H) para comparação de mais de dois grupos, seguido pelo teste de Dunn quando necessário. Para correlacionar as espessuras das camadas da coronária e carótida, bem como, a quantidade de colágeno com a idade, será empregado o coeficiente de correlação de Pearson (r) para distribuição normal e o de Spearman para distribuição não-normal. Os resultados serão considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$.

6. ADEQUAÇÃO DAS CONDIÇÕES

O Trabalho será realizado no laboratório da Disciplina de Patologia Geral da UFTM. Além da infra-estrutura necessária, os laboratórios dispõem dos seguintes itens: Protocolos de autópsias realizadas no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro; Microcomputador, com os *Softwares* necessários para confecção de Planilha Eletrônica, análise estatística (Microsoft Word, Excel, PowerPoint, SigmaStat).

7. ANÁLISE DE RISCOS E BENEFÍCIOS

Não há desconforto e o único risco potencial é de perda de confidencialidade. Não será divulgado o nome do paciente ou quaisquer outras informações contidas nos prontuários, mantendo, assim, sigilo e privacidade. Para que não ocorra perda de confidencialidade, os casos serão identificados por letras e números.

8. RETORNO DE BENEFÍCIOS PARA O SUJEITO E/OU PARA A COMUNIDADE

O trabalho visa o retorno em termos de conhecimento para melhor diagnóstico e tratamento de pacientes acometidos com aterosclerose.

9. JUSTIFICATIVA DE SUSPENSÃO TERAPÊUTICA ("Wash out") – Não pertinente.

10. JUSTIFICATIVA DO USO DE PLACEBO – Não pertinente.

11. ORÇAMENTO FINANCEIRO DETALHADO DA PESQUISA

O trabalho será realizado nos Laboratórios da Disciplina de Patologia Geral da Universidade Federal do Triângulo Mineiro. Serão necessários: a) papel A4; b) microcomputador; c) impressora laser; d) toner para impressora; e) câmera fotográfica digital; f) *Softwares*; g) confecção de pôster. O orçamento do Projeto será suprido com recursos disponibilizados pela Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), pela



3/3

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO – Uberaba(MG)
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA-CEP
Parecer Consubstanciado
PROTOCOLO DE PROJETO DE PESQUISA COM ENVOLVIMENTO DE SERES HUMANOS

IDENTIFICAÇÃO

TÍTULO DO PROJETO: ANÁLISE COMPARATIVA DO COLÁGENO DE CORONÁRIA E CARÓTID EM PACIENTES AUTOPSICADOS

PESQUISADOR(A) RESPONSÁVEL: VICENTE DE PAULA ANTUNES TEIXEIRA

INSTITUIÇÃO ONDE SE REALIZARÁ A PESQUISA: UFTM

DATA DE ENTRADA NO CEP/UFTM: 16/06/2010

PROTOCOLO CEP/UFTM: 1683

Fundação de Ensino e Pesquisa de Uberaba (FUNEP), pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). O Valor total do projeto será de R\$ 10.000,00 (dez mil reais).

12. FORMA E VALOR DA REMUNERAÇÃO DO PESQUISADOR

O Pesquisador não terá remuneração além referente ao cargo de professor na UFTM.

13. ADEQUAÇÃO DO TERMO DE CONSENTIMENTO E FORMA DE OBTÊ-LO

Não será feito. Na realização da autópsia destes pacientes o responsável legal assinou um termo permitindo a realização do exame. Este material ficou sob responsabilidade da administração da UFTM que concorda com a realização deste estudo. Algumas destas autópsias foram realizadas há vários anos, sendo difícil a localização de parentes e a convocação destes familiares para a assinatura do termo de consentimento que causaria maior desconforto e angústia para os parentes.

14. ESTRUTURA DO PROTOCOLO – O protocolo foi adequado para atender às determinações da Resolução CNS 196/96.

15. COMENTÁRIOS DO RELATOR, FRENTE À RESOLUÇÃO CNS 196/96 E COMPLEMENTARES

PARECER DO CEP: APROVADO

(O relatório anual ou final deverá ser encaminhado um ano após o início do processo).

DATA DA REUNIÃO: 27/08/2010

Prof.^a Ana Palmira Soares dos Santos
Coordenadora

ANEXO B

Coronária Descendente Posterior (DP)

Autópsia	% do colágeno	% fibras elásticas	Sexo	Idade	Cor	IMC	Causa Morte
N3865	1,1395	3,386	F	66	B	21,51	cardiovascular
N3929	3,277	8,009	F	46	B	33,24	Outros
N3951	0,5065	5,8325	M	31	B	17,47	infecçiosa
N3959	2,454	5,0865	F	31	B	23,76	digestória
N3975	2,0505	2,5575	F	71	B	14,9	cardiovascular
N3981	6,7335	6,719	F	45	B	27,26	infecçiosa
N3984	1,002	4,402	M	61	B	19,8	cardiovascular
N3995	2,161	6,143	M	36	B	18,51	infecçiosa
N4012	2,7315	5,6785	M	53	B	25,6	infecçiosa
N4018	4,5335	3,172	M	25	N	15,52	infecçiosa
N4035	8,179	7,526	M	44	N	23,46	infecçiosa
N4048	9,729	8,014	F	31	N	17,7	infecçiosa
N4056	9,5525	9,978	M	26	N	34,4	infecçiosa
N4062	5,826	6,145	F	74	B	23,11	cardiovascular
N4121	10,3675	4,6025	M	59	B	16,7	infecçiosa
N4178	5,9315	7,218	M	56	B	14,5	digestória
N4207	3,785	8,176	M	65	B	22,34	infecçiosa
N4262	1,3625	6,599	M	35	N	19,96	infecçiosa
N4263	5,059	5,7585	M	26	N	18,56	infecçiosa
N4268	5,486	4,9415	F	35	B	28,04	infecçiosa
N4270	3,6375	5,7035	F	49	B	26,17	neoplásica
N4273	3,0305	3,4045	M	67	B	25,12	infecçiosa

Coronária Circunflexa (Cx)

Autópsia	% do colágeno	% fibras elásticas	Sexo	Idade	Cor	IMC	Causa Morte
N3865	3,681	3,3895	F	66	B	21,51	cardiovascular
N3929	1,823	6,5395	F	46	B	33,24	outros
N3951	1,795	5,915	M	31	B	17,47	infecciosa
N3959	5,4285	4,658	F	31	B	23,76	digestória
N3975	5,878	3,3725	F	71	B	14,9	cardiovascular
N3981	1,174	5,847	F	45	B	27,26	infecciosa
N3984	2,208	5,809	M	61	B	19,8	cardiovascular
N3995	1,542	6,16	M	36	B	18,51	infecciosa
N4012	1,854	5,6805	M	53	B	25,6	infecciosa
N4018	1,031	6,2885	M	25	N	15,52	infecciosa
N4035	3,617	3,15263	M	44	N	23,46	infecciosa
N4048	2,1485	7,572	F	31	N	17,7	infecciosa
N4056	1,7025	7,6435	M	26	N	34,4	infecciosa
N4062	3,358	7,3155	F	74	B	23,11	cardiovascular
N4121	1,553	6,7355	M	59	B	16,7	infecciosa
N4178	4,339	5,349	M	56	B	14,5	digestória
N4207	4,839	5,1865	M	65	B	22,34	infecciosa
N4262	2,2615	9,9635	M	35	N	19,96	infecciosa
N4263	3,15	6,3315	M	26	N	18,56	infecciosa
N4268	2,4275	4,9705	F	35	B	28,04	infecciosa
N4270	1,682	4,59	F	49	B	26,17	neoplásica
N4273	2,4895	4,7255	M	67	B	25,12	infecciosa

Coronária Descendente Anterior (DA)

Autópsia	% do colágeno	% fibras elásticas	Sexo	Idade	Cor	IMC	Causa Morte
N3865	2,4275	3,1625	F	66	B	21,51	cardiovascular
N3929	5,0155	8,1155	F	46	B	33,24	outros
N3951	1,8895	6,8025	M	31	B	17,47	infecçiosa
N3959	6,854	5,258	F	31	B	23,76	digestória
N3975	7,2805	2,6845	F	71	B	14,9	cardiovascular
N3981	3,752	5,7885	F	45	B	27,26	infecçiosa
N3984	1,3375	4,939	M	61	B	19,8	cardiovascular
N3995	1,3815	6,2145	M	36	B	18,51	infecçiosa
N4012	2,135	5,9	M	53	B	25,6	infecçiosa
N4018	1,642	4,973	M	25	N	15,52	infecçiosa
N4035	4,433	5,788	M	44	N	23,46	infecçiosa
N4048	4,0365	5,828	F	31	N	17,7	infecçiosa
N4056	12,6025	9,41	M	26	N	34,4	infecçiosa
N4062	3,623	6,92	F	74	B	23,11	cardiovascular
N4121	10,574	4,984	M	59	B	16,7	infecçiosa
N4178	6,617	5,3375	M	56	B	14,5	digestória
N4207	3,583	7,3285	M	65	B	22,34	infecçiosa
N4262	1,925	9,0315	M	35	N	19,96	infecçiosa
N4263	1,1005	6,72	M	26	N	18,56	infecçiosa
N4268	5,3425	4,911	F	35	B	28,04	infecçiosa
N4270	1,981	4,8505	F	49	B	26,17	neoplásica
N4273	4,5035	4,1945	M	67	B	25,12	infecçiosa

Carótida Direita

Autópsia	% do colágeno	% fibras elásticas	Sexo	Idade	Cor	IMC	Causa Morte
N3865	2,6155	8,0675	F	66	B	21,51	cardiovascular
N3929	2,2965	10,5855	F	46	B	33,24	outros
N3951	3,3735	5,957	M	31	B	17,47	infeciosa
N3959	3,4785	8,699	F	31	B	23,76	digestória
N3975	3,354	7,018	F	71	B	14,9	cardiovascular
N3981	2,586	6,923	F	45	B	27,26	infeciosa
N3984	4,0975	5,217	M	61	B	19,8	cardiovascular
N3995	1,1305	5,4125	M	36	B	18,51	infeciosa
N4012	3,9885	3,64	M	53	B	25,6	infeciosa
N4018	4,9995	6,6355	M	25	N	15,52	infeciosa
N4035	2,098	6,239	M	44	N	23,46	infeciosa
N4048	3,3255	5,3355	F	31	N	17,7	infeciosa
N4056	3,126	5,4655	M	26	N	34,4	infeciosa
N4062	3,1585	5,2055	F	74	B	23,11	cardiovascular
N4121	4,1065	6,0475	M	59	B	16,7	infeciosa
N4178	1,6445	6,989	M	56	B	14,5	digestória
N4207	2,105	5,9955	M	65	B	22,34	infeciosa
N4262	3,178	6,2885	M	35	N	19,96	infeciosa
N4263	1,3345	5,963	M	26	N	18,56	infeciosa
N4268	2,902	5,847	F	35	B	28,04	infeciosa
N4270	4,184	4,5135	F	49	B	26,17	neoplásica
N4273	3,3325	12,469	M	67	B	25,12	infeciosa

Carótida Esquerda

Autópsia	% do colágeno	% fibras elásticas	Sexo	Idade	Cor	IMC	Causa Morte
N3865	2,4205	7,572	F	66	B	21,51	cardiovascular
N3929	2,6085	7,3155	F	46	B	33,24	outros
N3951	2,25	5,1865	M	31	B	17,47	infeciosa
N3959	3,888	9,862	F	31	B	23,76	digestória
N3975	4,5415	6,3315	F	71	B	14,9	cardiovascular
N3981	3,7295	4,9705	F	45	B	27,26	infeciosa
N3984	3,468	4,645	M	61	B	19,8	cardiovascular
N3995	2,536	4,7255	M	36	B	18,51	infeciosa
N4012	3,000476	4,46381	M	53	B	25,6	infeciosa
N4018	5,248	7,117	M	25	N	15,52	infeciosa
N4035	2,7435	6,017	M	44	N	23,46	infeciosa
N4048	3,2345	5,633	F	31	N	17,7	infeciosa
N4056	3,2085	5,227	M	26	N	34,4	infeciosa
N4062	1,9105	4,853	F	74	B	23,11	cardiovascular
N4121	2,9495	5,948	M	59	B	16,7	infeciosa
N4178	1,746	6,114	M	56	B	14,5	digestória
N4207	1,7225	6,598	M	65	B	22,34	infeciosa
N4262	2,595	5,5075	M	35	N	19,96	infeciosa
N4263	1,856	6,0735	M	26	N	18,56	infeciosa
N4268	3,5395	6,5855	F	35	B	28,04	infeciosa
N4270	4,0045	4,6285	F	49	B	26,17	neoplásica
N4273	3,189	12,723	M	67	B	25,12	infeciosa

ANEXO C



ATESTADO DE APROVAÇÃO

Uberaba, 18 de dezembro de 2017.

Defesa de dissertação e exame final de **LUCIANO ALVES MATIAS DA SILVEIRA**, candidato (a) ao grau de Mestre (a) em Ciências – Patologia Humana.

A Comissão Examinadora comunica à Coordenadoria do PGCS/UFTM, para os devidos fins, que procedeu, nesta data, ao exame da Dissertação de Mestrado **“ANÁLISE COMPARATIVA DAS FIBRAS COLÁGENAS E DAS FIBRAS ELÁSTICAS DE CORONÁRIAS E CARÓTIDAS EM PACIENTES AUTOPSIADOS”** do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (área de concentração Patologia Humana), bem como ao exame final.

O (a) candidato (a) foi considerado (a) aprovado.

A COMISSÃO:

Dra. Mara Lúcia da Fonseca Ferraz

Dra. Flora Margarida Barra Bisinotto

Dr. Hélio Humberto Angotti Carrara



Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Triângulo Mineiro
Av. Getúlio Guaritá, 130, 38025-440 Uberaba – MG – Tel.: (0xx34) 3318-5154/5176
e-mail: pgcs@pesqpg.uftm.edu.br - <http://uftm.edu.br/stricto-sensu/ppgcs>