

Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Guilherme Ribeiro Juliano

Avaliação Morfológica e Histopatológica de Indivíduos Autopsiados com Cardiopatia  
Hipertensiva

Uberaba

2019

Guilherme Ribeiro Juliano

Avaliação Morfológica e Histopatológica de Indivíduos Autopsiados com Cardiopatia Hipertensiva

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, área de Concentração Patologia Investigativa, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Mara Lúcia da Fonseca Ferraz

Coorientador: Prof. Dr. Vicente de Paula Antunes Teixeira

Uberaba

2019

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

J89a Juliano, Guilherme Ribeiro  
Avaliação morfológica e histopatológica de indivíduos autopsiados com cardiopatia hipertensiva / Guilherme Ribeiro Juliano. -- 2019.  
74f. il.: fig., graf., tab.

Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2019  
Orientadora: Dra. Mara Lúcia da Fonseca Ferraz  
Coorientador: Prof. Dr. Vicente de Paula Antunes Teixeira

1. Coração – Doenças. 2. Cardiopatias. 2. Hipertensão. 3. Autópsia. 4. Mastócitos. I. Ferraz, Mara Lúcia da Fonseca. II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. III. Título.

CDU 616.12

Guilherme Ribeiro Juliano

Avaliação Morfológica e Histopatológica de Indivíduos Autopsiados com Cardiopatia  
Hipertensiva

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, área de Concentração Patologia Investigativa, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Uberaba-MG, 10 de junho de 2019.

Banca Examinadora:

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Mara Lúcia da Fonseca Ferraz  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Mariane Fernandes Ribeiro  
Faculdade Patos de Minas - FPM

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Renata Calciolari Rossi  
Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE

---

Dr.<sup>a</sup> Márcia Fernandes de Araújo  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sanívia Aparecida Lima Pereira  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM

# **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais, André Luís e Célia Maria (*in memoriam*), minha irmã Gabriela e  
minha esposa Laura, com todo meu amor.

# **AGRADECIMENTOS**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à Deus, por sempre me mostrar o caminho;

Aos meus pais André Luís e Célia Maria (*in memoriam*), por tudo que me passaram com muito amor;

À minha irmã Gabriela pela sua paciência e amizade;

À minha esposa Laura por esse amor e parceria incríveis. Mais uma etapa vencida;

A todos os amigos da Patologia Geral pelo carinho e companheirismo;

Aos meus amigos e familiares pelo apoio e torcida por cada conquista;

À professora Dr.<sup>a</sup> Mara Lúcia pela oportunidade, amizade e dedicação;

Ao professor Dr. Vicente por ser o nosso líder e nossa base profissional.

**APOIO FINANCEIRO**

## **APOIO FINANCEIRO**

O presente trabalho foi realizado 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), da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

**RESUMO**

## RESUMO

**Objetivo:** Analisar as alterações histopatológicas na cardiopatia hipertensiva e descrever e comparar os achados para esclarecer os fatores determinantes. **Métodos:** 42 fragmentos do miocárdio do ventrículo esquerdo e do ramo circunflexo da artéria coronária esquerda foram obtidos de indivíduos autopsiados no Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM) no período de 1984 a 2018. Os grupos foram divididos em indivíduos com cardiopatia hipertensiva (CH) e indivíduos sem cardiopatia (SC). A espessura da parede livre do ventrículo esquerdo foi medida com um paquímetro digital e tomografia computadorizada. A quantificação das fibras de colágeno foi realizada por morfometria computadorizada e a densidade de mastócitos foi avaliada por métodos imunohistoquímicos. **Resultados:** O peso cardíaco do grupo CH foi significativamente maior do que no grupo SC ( $p=0.0002$ ). A espessura da parede do ventrículo esquerdo do grupo CH foi significativamente maior do que do grupo SC ( $p=0.04$ ). A densidade de fibras colágenas no ventrículo esquerdo do grupo CH foi significativamente maior do que do grupo SC ( $p<0.0001$ ). A densidade de mastócitos no ventrículo esquerdo imunomarcados por anti-quimase/anti-triptase foi significativamente maior do que do grupo SC ( $p<0.0001$ ). A densidade de mastócitos no ramo circunflexo da artéria coronária esquerda imunomarcados por anti-quimase/anti-triptase foi significativamente maior do que do grupo SC ( $p=0.01$ ). **Conclusões:** Os mastócitos parecem estar envolvidos no desenvolvimento de cardiopatia hipertensiva, contribuindo para a remodelação das fibras de colágeno nessa doença.

**Palavras-chave:** Autópsia, Cardiopatia Hipertensiva, Mastócitos.

**ABSTRACT**

## ABSTRACT

*Objective:* To analyze morphological changes in hypertensive cardiopathy and to describe and compare findings in order to help clarify determinant factors. *Methods:* 42 fragments of the left ventricular myocardium and circumflex branch of the left coronary artery were obtained from individuals autopsied at the Clinical Hospital of the Federal University of Triângulo Mineiro (UFTM) in the period ranging from 1984 to 2018. Groups were split into individuals with hypertensive heart disease (HD) and individuals without heart disease (ND). The thickness of the free wall of the left ventricle was measured with a digital caliper and Computed Tomography. Quantification of collagen fibers was conducted by computerized morphometry and mast cell density was assessed by immunohistochemical methods. *Results:* There was a significant increase of heart weight in the HD group compared to the ND group, ( $p=0.0002$ ). There was a significant increase of thickness of the middle third of the free wall in the HD group compared to the ND group, ( $p=0.04$ ). There was a significant increase of collagen fibers in the left ventricle in the HD group compared to the ND group, ( $p<0.0001$ ). Concerning mast cell density, there was a significant increase in the left ventricle of individuals with HD immuno-labeled by the set anti-chymase/anti-tryptase ( $p<0.0001$ ). There was a significant increase of mast cell density in the circumflex branch of the left coronary artery of individuals with HD immuno-labeled by the set anti-chymase/anti-tryptase ( $p=0.01$ ). *Conclusions:* Mast cells appear to be involved in the development of hypertensive heart disease, contributing to the remodeling of collagen fibers in this disease.

Keywords: Autopsy; Hypertensive Heart Disease; Mast Cells.

# **LISTA DE FIGURAS**

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Análise macroscópica dos corações de 42 indivíduos com cardiopatia (CH) e sem cardiopatia (SC) autopsiados no HC/UFTM no período de 1984 a 2018. A – Gordura epicárdica acentuada. B – Região do ventrículo esquerdo para análise do paquímetro digital. C – Espessamento fibroso acentuado da válvula mitral. D – Espessamento fibroso acentuado da válvula aórtica e aterosclerose acentuada na raiz da aorta..... 40
- Figura 2 - Análise de imagens da Tomografia Computadorizada (TC) de 42 indivíduos com cardiopatia (CH) e sem cardiopatia (SC) autopsiados no HC/UFTM no período de 1984 a 2018. A seta indica a região da mensuração do ventrículo esquerdo..... 41
- Figura 3 – Análise morfométrica de 42 indivíduos com cardiopatia hipertensiva (CH) e sem cardiopatia (SC) autopsiados no HC/UFTM no período de 1984 a 2018. A e C – fragmento do ventrículo esquerdo (Picosírus - 620x). B e D – fragmento do ventrículo esquerdo (luz polarizada – 620x)..... 42
- Figura 4 – Análise imunohistoquímica do ventrículo esquerdo de 42 indivíduos com cardiopatia hipertensiva (CH) e sem cardiopatia (SC) autopsiados no HC/UFTM no período de 1984 a 2018. A, B e C – microscópio de luz convencional computador com o software de análise de imagem AxioVision® Rel 4.9.1 (Carl Zeiss). D – Fragmento do ventrículo esquerdo (620x)..... 44
- Figura 5 – Análise imunohistoquímica do ramo circunflexo da artéria coronária esquerda de 42 indivíduos com cardiopatia hipertensiva (CH) e sem cardiopatia (SC) autopsiados no HC/UFTM no período de 1984 a 2018. A, B e C – microscópio de luz convencional computador com o software de análise de imagem AxioVision® Rel 4.9.1 (Carl Zeiss). D – Fragmento do ramo circunflexo (620x)..... 45
- Figura 6 – Gráfico da correlação entre a densidade de mastócitos imunomarcados por anti-quimase e anti-triptase no ventrículo esquerdo e densidade de mastócitos imunomarcados por anti-quimase e anti-triptase no ramo circunflexo da artéria

coronária esquerda do grupo de indivíduos com cardiopatia (CH) autopsiados no período de 1984 a 2018..... 52

# **LISTA DE TABELAS**

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características gerais da amostra de 42 indivíduos com cardiopatia (CH) e sem cardiopatia (SC) autopsiados no HC-UFTM no período de 1984 a 2018.....	49
Tabela 2 - Alterações macroscópicas dos corações de 42 indivíduos com cardiopatia (CH) e sem cardiopatia (SC) autopsiados no período de 1984 a 2018.....	50
Tabela 3 - Análise morfométrica do terço médio da parede livre do ventrículo esquerdo e do ramo circunflexo da artéria coronária esquerda de de 42 indivíduos com cardiopatia (CH) e sem cardiopatia (SC) autopsiados no período de 1984 a 2018.....	53

# **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
®	Marca registrada
µl	Microlitro
µm	Micrômetro
CH	Cardiopatia Hipertensiva
CPA	Carboxipeptidase
DAB	Diaminobenzidina
DAC	Doença arterial coronariana
DCNTs	Doenças crônicas não transmissíveis
ECG	Eletrocardiograma
EROs	Espécies reativas do oxigênio
g	Gramma
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HC/UFTM	Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro
IC	Insuficiência cardíaca

ICC	Insuficiência cardíaca congestiva
IgE	Imunoglobulina E
IL	Interleucina
MCP	Protease de mastócitos
MEC	Matriz extracelular
mm <sup>2</sup>	Milímetros quadrados
MMP	Metaloproteinase de matriz
°C	Grau Celsius
p	Nível de significância
PAR2	Receptor tipo 2 ativado por protease
PBS	Tampão fosfato
PKC	Proteína cinase C
PS	Picrosírius
r	Coeficiente de Pearson
RM	Ressonância magnética
RNA <sub>m</sub>	Ácido ribonucleico mensageiro
r <sub>S</sub>	Coeficiente de Spearman

SC	Sem Cardiopatia
SCA	Síndrome coronariana aguda
SCF	Fator de célula-tronco
SUS	Sistema Único de Saúde
t	t de Student
TC	Tomografia computadorizada
TGF	Fator de crescimento transformador
TIMPs	Inibidores teciduais de metaloproteinases
TNF	Fator de necrose tumoral
U	Mann-Whitney
v	Volume
VE	Ventrículo esquerdo
X <sup>2</sup>	Qui-quadrado

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	25
1.1. ASPECTOS ANATÔMICOS DO CORAÇÃO.....	25
1.2. DOENÇA CARDIOVASCULAR.....	25
1.3. HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA.....	26
1.4. CARDIOPATIA HIPERTENSIVA.....	27
1.4.1. Aterosclerose.....	28
1.4.2. Coronariopatia.....	29
1.4.3. Fator de risco e prevalência da cardiopatia hipertensiva.....	29
1.4.4. Patogênese da cardiopatia hipertensiva.....	30
1.5. REMODELAMENTO CARDÍACO NA HAS.....	30
1.6. MASTÓCITOS.....	31
1.7. A AUTÓPSIA NA CARDIOPATIA HIPERTENSIVA .....	33
1.8. JUSTIFICATIVA.....	35
1.9. HIPÓTESE.....	35
1.10. OBJETIVO GERAL.....	36
1.10.1 Objetivo específico.....	36
<b>2. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	38
2.1. OBTENÇÃO DA AMOSTRA.....	38
2.2. COLETA E PROCESSAMENTO DOS FRAGMENTOS.....	38
2.3. ANÁLISE MACROSCÓPICA.....	39
2.4. ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO COLÁGENO DO MIOCÁRDIO.....	42
2.5. ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA DE MASTÓCITOS QUIMASE E MASTÓCITOS TRIPTASE.....	43
2.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	45
2.7. ASPECTOS ÉTICOS.....	46
2.8. NORMAS PARA CONFECÇÃO DO MANUSCRITO.....	46
<b>3. RESULTADOS</b> .....	48
3.1. CARACTERÍSTICAS GERAIS DA AMOSTRA.....	48
3.2. PESO CARDÍACO.....	48
3.3. INTENSIDADE DA ATEROSCLEORSE NA RAIZ DA AORTA.....	48

3.4. INTENSIDADE DA ATEROSCLEROSE NO RAMO CIRCUNFLEXO DA ARTÉRIACORONÁRIA ESQUERDA.....	49
3.5. ESPESSURA DO VENTRÍCULO ESQUERDO.....	50
3.6. ALTERAÇÕES MACROSCÓPICAS.....	50
3.7. PORCENTAGEM DE FIBRAS COLÁGENAS.....	51
3.8. DENSIDADE MASTOCITÁRIA.....	51
3.8.1 Densidade Mastocitária (ramo circunflexo x ventrículo esquerdo) .....	51
<b>4. DISCUSSÃO.....</b>	<b>55</b>
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>64</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>66</b>

# **INTRODUÇÃO**

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 ASPECTOS ANATÔMICOS DO CORAÇÃO

O coração e os vasos sanguíneos fazem parte do sistema de condução do sangue, proporcionando aos tecidos um suprimento constante de nutrientes vitais e facilitando a excreção de produtos residuais. O peso cardíaco médio em um adulto é de 250g a 300g nas mulheres e de 300g a 350g nos homens, sendo aproximadamente 0,5% do peso corporal. O coração humano bombeia o sangue de forma eficiente devido ao músculo cardíaco ser composto principalmente por células musculares especializadas chamadas de cardiomiócitos (SCHOEN; MITCHELL, 2010).

### 1.2 DOENÇA CARDIOVASCULAR

Doença cardiovascular é um termo genérico que designa todos os processos patológicos que afetam o coração e/ou os vasos sanguíneos. As doenças cardiovasculares são descritas em doenças ateroscleróticas (doença arterial coronariana, doença cerebrovascular e doença arterial periférica) e doenças não ateroscleróticas (doença valvar, doença reumática cardíaca, doença cardíaca congênita e tromboembolismo venoso) (LYNGBAKKEN et al., 2018). Juntamente com outras doenças como diabetes e doenças respiratórias crônicas, essas condições são descritas como doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs).

A morte prematura por DCNTs continua sendo uma das grandes causas de morbimortalidade no século XXI. As DCNTs matam 15 milhões de mulheres e homens entre as idades de 30 e 70 a cada ano. Esses números estão aumentando desproporcionalmente entre as pessoas de baixa e média renda. Dentre as DCNTs, as doenças cardiovasculares são a primeira causa de morte no mundo. As pessoas com doença cardiovascular ou com alto risco cardiovascular (devido à presença de

fatores de risco como hipertensão, diabetes e dislipidemia) necessitam de detecção e tratamento precoces (WHO, 2017).

O processo de transição epidemiológica descrito primeiramente por Omran (1971) caracteriza-se pela evolução progressiva de um perfil de alta mortalidade por doenças infecciosas para outro onde predominam os óbitos por doenças cardiovasculares, neoplasias, causas externas e outras doenças crônico-degenerativas. Nos países em desenvolvimento, o crescimento da população idosa e o aumento da longevidade, associados a mudanças nos padrões alimentares e no estilo de vida, têm forte repercussão sobre o padrão de morbidade (BARRETO et al., 2009). A doença cardiovascular tem sido a principal causa de morte no Brasil desde o final da década de 1960 (SCHMIDT et al., 2011).

Duas tendências importantes contribuíram para manter esse ranking nas últimas décadas. A primeira é a ocorrência de mudanças no estilo de vida relacionadas à urbanização e à globalização, como maior ingestão calórica e menor gasto energético. O segundo é o rápido envelhecimento populacional causado pela maior expectativa de vida e menor fertilidade (SCHMIDT et al., 2011; RIBEIRO et al., 2016). Dentre os fatores de risco para o desenvolvimento da doença cardiovascular o principal é a hipertensão arterial sistêmica (HAS).

### 1.3 HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA

A HAS afeta cerca de 1 bilhão de pessoas globalmente, permanece com o principal fator de morbidade e mortalidade e está previsto para ser o principal fator de risco em 2040 (FOREMAN et al., 2018; MELVILLE; BYRD, 2019). A HAS é um fator de risco independente para muitas condições clínicas como infarto do miocárdio, doença renal crônica, isquemia, acidente vascular hemorrágico, insuficiência cardíaca e morte prematura (RIVERA; MARTIN; LANDRY, 2019). A hipertensão essencial ou idiopática é responsável por aproximadamente 95% dos casos e se enquadra em uma doença multifatorial, onde a predisposição genética e fatores ambientais interagem no desenvolvimento da doença (DOMINICZAK; KUO, 2017).

Vários fatores predisõem a pessoa à HAS, como a aterosclerose, a obesidade, a idade avançada, o gênero, a etnia, o sedentarismo, a dieta inadequada, o tabagismo, o estresse, os hormônios, o diabetes e os fatores genéticos, cada qual contribuindo de maneira discreta, porém não menos importante (KIZER et al., 2004; DRAZNER et al., 2005; DICKSON; SIGMUND, 2006; FRAZER et al., 2009; LOVIC et al., 2014).

Uma das consequências da HAS não tratada, que induz o dano cardíaco e hipertrofia do ventrículo esquerdo, é a chamada cardiopatia hipertensiva (CH). Tem sido descrito um novo aspecto patogênico relacionado com a cardiopatia hipertensiva: a apoptose dos cardiomiócitos e alterações de síntese e degradação do colágeno, que podem desempenhar um papel importante na evolução da hipertrofia do ventrículo esquerdo e lesão miocárdica (GRADMAN et al., 2006; ANGUITA et al., 2008).

#### 1.4 CARDIOPATIA HIPERTENSIVA

No começo do século passado, os pesquisadores começaram a relacionar a hipertrofia do ventrículo esquerdo, manifestação clássica da cardiopatia hipertensiva, com processos patológicos que afetavam todo o sistema cardiovascular. Somente com o estudo de Framingham, uma cidade dos Estados Unidos que selecionada pelo governo americano para ser o local de um estudo cardiovascular, é que se quantificou a relevância clínica da HAS (KANDEL, 1991).

Antes do Framingham Heart Study, a maioria dos médicos acreditavam que a aterosclerose era um processo de envelhecimento inevitável e a HAS um resultante fisiológico deste processo que auxiliava o coração a bombear o sangue pelas artérias com lúmen reduzido (WILSON et al., 1998).

Processos fisiopatológicos na CH são controlados por complexas interações entre os cardiomiócitos, matriz extracelular e outras células presentes no tecido cardíaco. A CH é caracterizada por uma constelação de mudanças na estrutura do miocárdio (crescimento, apoptoses, neoformação de fibras colágenas intersticiais) (CHAHAL et al., 2010) que induzem o remodelamento do miocárdio, ocasionando

uma disfunção e hipertrofia do ventrículo esquerdo, provocando a falência cardíaca (DRAZNER, 2011).

A partir das alterações iniciais do remodelamento cardíaco, ocorre progressivo acúmulo de fibras colágenas (fibrose) no tecido, causando também anormalidades na vasculatura intramiocárdica (fibrose perivascular) (SCHWARTZKOPFF et al., 1993), desencadeando um desbalanço no suprimento energético dos cardiomiócitos (MUJUMDAR; TYAGI, 1999). O exagerado acúmulo de fibras colágenas no interstício, miocárdico e circundante nas artérias e arteríolas tem sido constantemente encontrado em corações de humanos autopsiados e em biópsias do miocárdio em pacientes com cardiopatia hipertensiva (GONZÁLES et al., 2009).

#### 1.4.1 Aterosclerose

Nos primórdios, a aterosclerose era descrita apenas como uma obstrução dos vasos ocasionada por depósitos de gordura. Atualmente já é bem descrito que o processo da aterogênese envolve diversas células e moléculas em uma complexa rede de interações em indivíduos geneticamente susceptíveis. Aproximadamente 10% da população mundial tem evidência clínica de aterosclerose (PANT et al., 2014). Devido a sua alta prevalência, suas complicações e seu lento desenvolvimento com lesões precoces que podem aparecer na infância e se desenvolverem gradualmente ao longo do tempo (STARY, 2000).

Em 1910, Windaus sugeriu que o colesterol poderia estar relacionado com esta doença, pois verificou que as placas ateroscleróticas da artéria aorta de doentes apresentavam 20 vezes mais colesterol do que as aortas normais. O primeiro estudo experimental de aterosclerose surgiu em 1913, quando o patologista russo Nikolai Anitschkow alimentou coelhos com colesterol puro. Os coelhos desenvolveram hipercolesterolemia e uma grave aterosclerose da aorta (MEHTA; KHAN, 2002; KONSTANTINOV et al., 2006).

Estudos demonstraram que há presença de reação inflamatória na zona aterosclerótica desde o início da lesão até no momento mais tardio de erosão ou

ruptura da placa aterosclerótica. No entanto não está claro o nexos de causalidade entre inflamação e lesão (KAARTINEN et al., 1994; KOVANEN et al., 1995).

#### 1.4.2 Coronariopatia

A redução da reserva de perfusão miocárdica, presente tanto na doença arterial crônica como na disfunção microvascular coronariana, que ocorre devido ao pequeno remodelamento das artérias coronárias, é um indicador sensível de dano vascular decorrente da HAS e pode ajudar a identificar pacientes com risco aumentado de morbidade e mortalidade cardiovascular (GAUDIERI et al., 2019). Essa redução da reserva de perfusão miocárdica pode ocorrer precocemente em indivíduos hipertensos, em hipertensos com hipertrofia ventricular esquerda e em indivíduos com aterosclerose coronariana (NADRUZ, 2015).

#### 1.4.3 Fator de risco e prevalência da cardiopatia hipertensiva

É consenso que a hipertrofia ventricular esquerda é um importante fenótipo intermediário na progressão da doença cardíaca hipertensiva e está associada a desfechos adversos. Embora a hipertrofia ventricular esquerda possa estar presente anteriormente ao desenvolvimento da HAS, a progressão da hipertensão para a hipertrofia é um passo importante no caminho para a insuficiência cardíaca (IC) (BOMBIG; POVÓA, 2018).

A prevalência da hipertrofia ventricular esquerda varia de acordo com o método utilizado para sua detecção e aumenta progressivamente com a idade. Os primeiros estudos de prevalência da hipertrofia ventricular esquerda foram realizados com base no eletrocardiograma (ECG), em que os dados iniciais dos estudos de Framingham indicam aproximadamente 3% da população em geral e 5% da população de hipertensos (KANDEL; GORDON; OFFUT, 1969, FERREIRA FILHO, 2012).

Como há fortes evidências de herdabilidade da massa do ventrículo esquerdo, incluindo observações de estudos da população geral, estudos com

irmãos, e estudos recentes com gêmeos, existe considerável interesse na identificação de fatores de risco genéticos putativos que modulam a massa do ventrículo esquerdo (FERREIRA FILHO, 2012). Esses esforços progrediram de estudos de associação de genes candidatos a análises de expressão genômica ampla com o uso de dados de *microarray* e estudos de associação genômica, mas permanecem em seus estágios relativamente iniciais e ainda não produziram resultados que se traduziram na área clínica. (FERREIRA FILHO, 2012).

#### 1.4.4 Patogênese da cardiopatia hipertensiva

O paradigma clássico da cardiopatia hipertensiva é que a parede do ventrículo esquerdo se espessa em resposta à pressão arterial elevada como um mecanismo compensatório para minimizar o estresse da parede (DRAZNER, 2011).

Processos fisiopatológicos na cardiopatia hipertensiva são controlados por complexas interações entre os cardiomiócitos, matriz extracelular e outras células presentes no tecido cardíaco. Além da hipertrofia de cardiomiócitos, alterações nestes e os componentes não cardiomiócitos (incluindo apoptose, fibrose e alterações na circulação coronariana) são descritas e parecem explicar o aumento do risco de desfechos cardiovasculares adversos relacionados à hipertrofia do ventrículo esquerdo. Fibroblastos proliferam e há acúmulo de fibras de colágeno tipo I e tipo III no do interstício e regiões perivasculares. Esses eventos induzem desenvolvimento de fibrose, que predispõe disfunção sistólica e diastólica do VE, diminuição da reserva de fluxo coronariano e arritmias ventriculares. Além disso, há mudanças na circulação coronariana, como hiperplasia e hipertrofia de artérias intramiocárdicas e diminuição relativa na perfusão arteriolar e densidade capilar, que predispõem à IC (NADRUZ, 2015).

#### 1.5 REMODELAMENTO CARDÍACO NA HAS

Remodelamento cardíaco é definido como alterações de tamanho, geometria, forma, composição e função do coração resultante da carga cardíaca ou lesão. O remodelamento do ventrículo esquerdo é frequentemente observado em indivíduos com HAS e tem sido considerado uma resposta adaptativa à sobrecarga hemodinâmica imposta pela hipertensão. A pressão arterial elevada sustentada leva a um aumento do estresse das paredes do ventrículo esquerdo, que é um dos principais determinantes do aumento do consumo de oxigênio exigido pelo miocárdico (DÍEZ, 2007).

Em resposta ao aumento do estresse da parede do ventrículo esquerdo, a parede engrossa e a massa aumenta, resultando em normalização da parede pelo estresse e desenvolvimento de um padrão estrutural conhecido como hipertrofia concêntrica. Alternativamente, o aumento do volume sanguíneo levaria a um aumento no raio da câmara, resultando em hipertrofia excêntrica (DÍEZ, 2007).

A hipertrofia do ventrículo esquerdo é uma adaptação do coração a HAS, e quando é induzida por sobrecarga de pressão apresenta um desproporcional acúmulo de colágeno no compartimento intersticial, conferindo aspecto característico (ROSSI, 1998; VAKILI; DEVEREUX, 2001). Estudo experimental sugere que o aumento da massa do ventrículo esquerdo não é necessariamente sinônimo de hipertrofia da célula miocárdica, havendo, nesse modelo, forte correlação com aumento na ativação das células intersticiais, volume intersticial, e conteúdo de colágeno (fibrose) (GOMES et al., 2010).

O aumento do colágeno fibrilar intersticial altera progressivamente a rigidez da diástole e a força de ejeção do ventrículo, isto porque o colágeno fibrilar que aumenta no interstício é o colágeno do tipo I, muito resistente à tração, ao contrário do colágeno do tipo II, mais passível de sofrer distensão. Portanto a elasticidade e a rigidez do estroma do miocárdio estão alteradas quando há acúmulo de colágeno tipo I, ocorrendo aumento de rigidez e provavelmente a força de contração sistólica torna-se menos eficaz, levando à insuficiência cardíaca do ventrículo esquerdo (PEREIRA, 1993; SHAHBAZ et al., 2010).

## 1.6 MASTÓCITOS

A presença de mastócitos foi documentada no coração de anfíbios, roedores, caninos e seres humanos. O primeiro pesquisador a descrever morfologicamente os mastócitos foi Ehrlich em 1878, demonstrando que seu citoplasma era preenchido com grânulos metacromáticos densos que se coravam de vermelho ou violeta quando tratados com corantes básicos à base de anilina. Observou também que os mastócitos geralmente residem no espaço intersticial e muitas vezes são justapostos aos nervos e entre vasos sanguíneos. Essas observações contribuíram para que Ehrlich recebesse o prêmio Nobel de Medicina em 1908 (BOT et al., 2008; METCALFE, 2008). São distribuídos em todos os órgãos e tecidos vascularizados do corpo, como pele, trato gastrointestinal, vias aéreas, peritônio, vasos sistêmicos e coração. Essa diversidade de distribuição é associada à heterogeneidade dos mastócitos (KINET, 2007).

Os mastócitos são derivados de uma célula precursora da medula óssea e sua maturação sofre especial influência do ligante c-kit, fator de célula-tronco. Circulam no sangue periférico como leucócitos mononucleares sem grânulos e expressam os marcadores de superfície CD13, CD33, CD38 e CD34. Seu fenótipo final depende do microambiente residente. São células capazes de produzir uma gama de fatores de crescimento, citocinas IL-1, IL-4, IL-5, IL-10, histamina, cininas, fosfolipases e endopeptidases (OKAYAMA; KAWAKAMI, 2006; THEOHARIDES et al., 2007).

Mastócitos cardíacos ativados liberam uma série de potentes mediadores da inflamação e pró-fibróticos, quimiocinas, além de algumas proteases. Podem ser ativados por meio de IgE e histamina liberados por macrófagos ou linfócitos T vizinhos ou por componentes do sistema complemento (C3a, C5a). Quando ativados iniciam a degranulação que é o processo de exocitose dos componentes dos seus grânulos (PATELLA et al., 1998; LESKINEN et al., 2003). Os fatores que ativam os mastócitos cardíacos não foram totalmente elucidados, porém endotelina-1, espécies reativas do oxigênio (EROs), substância P e IL-33 parecem estar envolvidos neste processo (CALDERÓN-GARCIDUENAS et al., 2001; MURRAY et al., 2004, MORGAN et al., 2008; LEVICK et al., 2011). As proteínas mais abundantes armazenadas nos grânulos de secreção dos mastócitos são as endopeptidases, dentre elas, as mais importantes são a triptase e quimase. Ambas são serinopeptidases, porém são diferentes na atividade e em padrões de expressão (DOGGRELL et al., 2004; TSURUDA et al., 2006). Mastócitos maturando

em microambientes de tecidos diferentes podem variar no tipo e na quantidade de triptase e quimase expressas.

O papel fisiológico da triptase e da quimase ainda é incerto e suas atividades não são observadas em tecidos normais e sim em tecidos com lesão. A triptase é a enzima predominante nos grânulos (METCALFE et al., 1997) e mastócitos humanos que contém triptase em seus grânulos expressam receptor tipo 2 ativado por protease (PAR2), e estudos *in vitro* demonstraram que o pré-tratamento dessas células com peptídeo ativador de PAR2 promove o aumento de IL-8/CXC8 (CARVALHO et al., 2010). A incubação de triptase em culturas de células endoteliais induz migração de neutrófilos *in vitro* que é dependente da IL-8 (COMPTON et al., 2000). Outro estudo demonstrou que a incubação de fibroblastos cardíacos com triptase levou à proliferação e síntese de colágeno (LEVICK et al., 2009). Já foi demonstrado que a quimase possui a capacidade de ativar a angiotensina I em angiotensina II (REILLY et al., 1982) e que provavelmente está envolvida no remodelamento estrutural associado às doenças do sistema cardiovascular (DOGGRELL et al., 2004).

Os mastócitos desempenham um papel relevante em várias cardiopatias, porém devido à complexa composição de grânulos secretórios e à plasticidade do seu fenótipo, sua contribuição precisa ser elucidada (REID et al., 2011). Estudos recentes envolvendo técnicas moleculares têm sido propostos na tentativa de caracterizar o gene-chave na modulação destes processos patológicos, porém ainda se encontram em estágios iniciais, e seus achados ainda não são capazes de serem transportados para a prática clínica (POST et al., 1997; ARNETT et al., 2002; KAPUKU et al., 2006; PETRETTO et al., 2008; VASAN et al., 2009). Pelo fato dos mastócitos poderem expressar algumas peptidases em níveis elevados, imunohistoquímica e imunoenaios usando anticorpos dirigidos contra estas enzimas são úteis experimentalmente para avaliar o número de mastócitos, locais de ativação e doenças associadas (CAUGHEY, 2007).

## 1.7 A AUTÓPSIA NA CARDIOPATIA HIPERTENSIVA

A autópsia é identificada como uma parte essencial da medicina. Além do diagnóstico final, a autópsia também revela a causa de morte. Há dois tipos fundamentais de autópsias: as forenses e as clínicas. As forenses são realizadas em caso de causa suspeita, violenta ou desconhecidas da morte. As clínicas são praticadas nos hospitais pelos patologistas, fundamentadas no consentimento do paciente antes do falecimento ou parente próximo, com o intuito de descoberta e melhor clareza das causas da morte (ROTHENBERG et al., 2008). Consiste no exame externo e evisceração e dissecação dos principais órgãos para a identificação de processos patológicos macroscópicos e identificação histopatológica de acordo com o critério de patologista.

Vários estudos realizados em espécimes *post mortem* de coração humano tem demonstrado o aumento do colágeno em pacientes com cardiopatia hipertensiva em comparação aos pacientes normotensos, porém outros achados microscópicos e também macroscópicos envolvendo a cardiopatia hipertensiva não têm sido muito bem documentados na literatura (TANAKA et al., 1986; SANT'ANNA et al., 2012). Isso se deve em parte ao desinteresse clínico. Uma revisão dos serviços dos médicos legistas no Reino Unido questionou a justificativa de um número tão elevado de autópsias, e uma auditoria nacional criticou o número de relatórios de autópsias ruins e inadequados. A objeção pública de longa data à dissecação de cadáveres ressurgiu como uma questão importante depois do órgão e escândalos de retenção no final da década de 1990 (ROBERTS et al., 2012). Alguns grupos, notavelmente comunidades judaicas e muçulmanas, têm objeções religiosas à autópsia, e a demanda por uma alternativa minimamente invasiva aumentou (ROBERTS et al., 2012). As causas para esse declínio no Brasil são múltiplas e complexas, incluindo a falta de interação médico-paciente/médico-família, sendo o médico incapaz ou pouco envolvido na tarefa de prover informações adequadas às famílias antes e após o óbito do paciente; a falta de esclarecimento público sobre o papel central da autópsia no progresso da medicina e, conseqüentemente, na melhoria do tratamento dos doentes. Existem muitos tabus do público e dos médicos. Entre estes últimos, talvez pela crença, salientam-se razões diagnósticas, caracterizadas pelo significativo avanço tecnológico na imagenologia disponível atualmente, incluindo tomografia computadorizada (TC) e ressonância magnética (RM), com a suposição de que todos os diagnósticos agora podem ser feitos em vida; a crescente ansiedade de processos judiciais contra médicos pela evidência e

o não pagamento da autópsia pelo Sistema Único de Saúde (SUS) (RODRIGUES et al., 2011).

## 1.8 JUSTIFICATIVA

A importância do estudo em materiais de autópsia vinculada aos fatores de risco analisados e seus diversos meios de avaliação definem a relevância compreensão da HAS e seus efeitos no coração.

## 1.9 HIPÓTESE

Há um aumento das fibras colágenas e da densidade mastocitária no ventrículo esquerdo de indivíduos com cardiopatia hipertensiva.

## 1.10 OBJETIVO GERAL

Realizar avaliação *post mortem* do miocárdio, aorta e coronária de indivíduos com cardiopatia hipertensiva por meio de métodos morfológicos e morfométricos.

### 1.10.1 Objetivos Específicos

- I. Comparar o peso cardíaco;
- II. Quantificar macroscopicamente, de forma semi-quantitativa, a intensidade da aterosclerose da raiz da aorta e do ramo circunflexo da artéria coronária esquerda;
- III. Comparar, por meio de métodos morfométricos, a espessura do ventrículo esquerdo;
- IV. Realizar a avaliação qualitativa da cardiopatia hipertensiva;
- V. Quantificar a porcentagem fibras colágenas no ventrículo esquerdo e no ramo circunflexo da artéria coronária esquerda;
- VI. Quantificar a densidade de mastócitos imunomarcados por anti-quimase e anti-triptase no ventrículo esquerdo e no ramo circunflexo da artéria coronária esquerda;
- VII. Correlacionar a densidade de mastócitos imunomarcados por anti-quimase e anti-triptase no ventrículo esquerdo com densidade de mastócitos imunomarcados por anti-quimase e anti-triptase no ramo circunflexo da artéria coronária esquerda.

# **MATERIAIS E MÉTODOS**

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 OBTENÇÃO DA AMOSTRA

Tratou-se de um estudo quantitativo, com seres humanos, observacional, transversal, retrospectivo e descritivo. Dos 4.000 laudos analisado, foram utilizados corações de 42 indivíduos autopsiados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (HC/UFTM), Uberaba-MG, no período de 1984 a 2018. Os protocolos de autópsias foram analisados para a obtenção dos dados como a idade, o gênero e cor. Foram selecionados indivíduos com a idade igual ou superior a 18 anos, os quais foram divididos em dois grupos: (1) indivíduos com cardiopatia hipertensiva (CH) (n=21) e (2) indivíduos sem cardiopatia (SC) (n=21). Foram excluídos deste estudo os casos em que o laudo de autópsia estava incompleto, presença de doença renal, tumores ou distúrbios vasculares ou endocrinológicos que pudesse causar hipertensão secundária e casos em que os indivíduos apresentavam doença de Chagas ou qualquer outro tipo de cardiopatia.

Foram avaliadas as seguintes características macroscópicas: peso cardíaco, presença de aterosclerose na raiz da aorta, presença de aterosclerose no ramo circunflexo da artéria coronária esquerda, espessura do terço médio da parede livre do ventrículo esquerdo, aspecto cardíaco, gordura epicárdica, espessamento fibroso da valva mitral, aórtica, tricúspide e pulmonar e também a espessura do septo interventricular e do ventrículo direito.

Foram avaliadas as seguintes características microscópicas: porcentagem de fibras colágenas do terço médio da parede livre do ventrículo esquerdo, porcentagem de fibras colágenas no ramo circunflexo da artéria coronária esquerda, densidade mastocitária do terço médio da parede livre do ventrículo esquerdo, densidade mastocitária no ramo circunflexo da artéria coronária esquerda.

### 2.2 COLETA E PROCESSAMENTO DOS FRAGMENTOS

Os 42 fragmentos do ventrículo esquerdo e da coronária esquerda de indivíduos autopsiados foram recuperados no arquivo de peças da Disciplina de Patologia Geral – UFTM. Os fragmentos do ventrículo esquerdo e da coronária esquerda já estavam fixados em formaldeído a 10%. Inicialmente, foram desidratados em álcoois com concentrações crescentes (70 a 100%), diafanizados em xilol e emblocados em parafina. A seguir, foram realizados cortes seriados de 4 µm de espessura. Foram confeccionadas seis lâminas (três do ventrículo esquerdo e três do ramo circunflexo da artéria coronária esquerda), sendo que a lâmina 1 e 2 foram coradas pelo Picrosírius (PS) (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 et al, 1979).

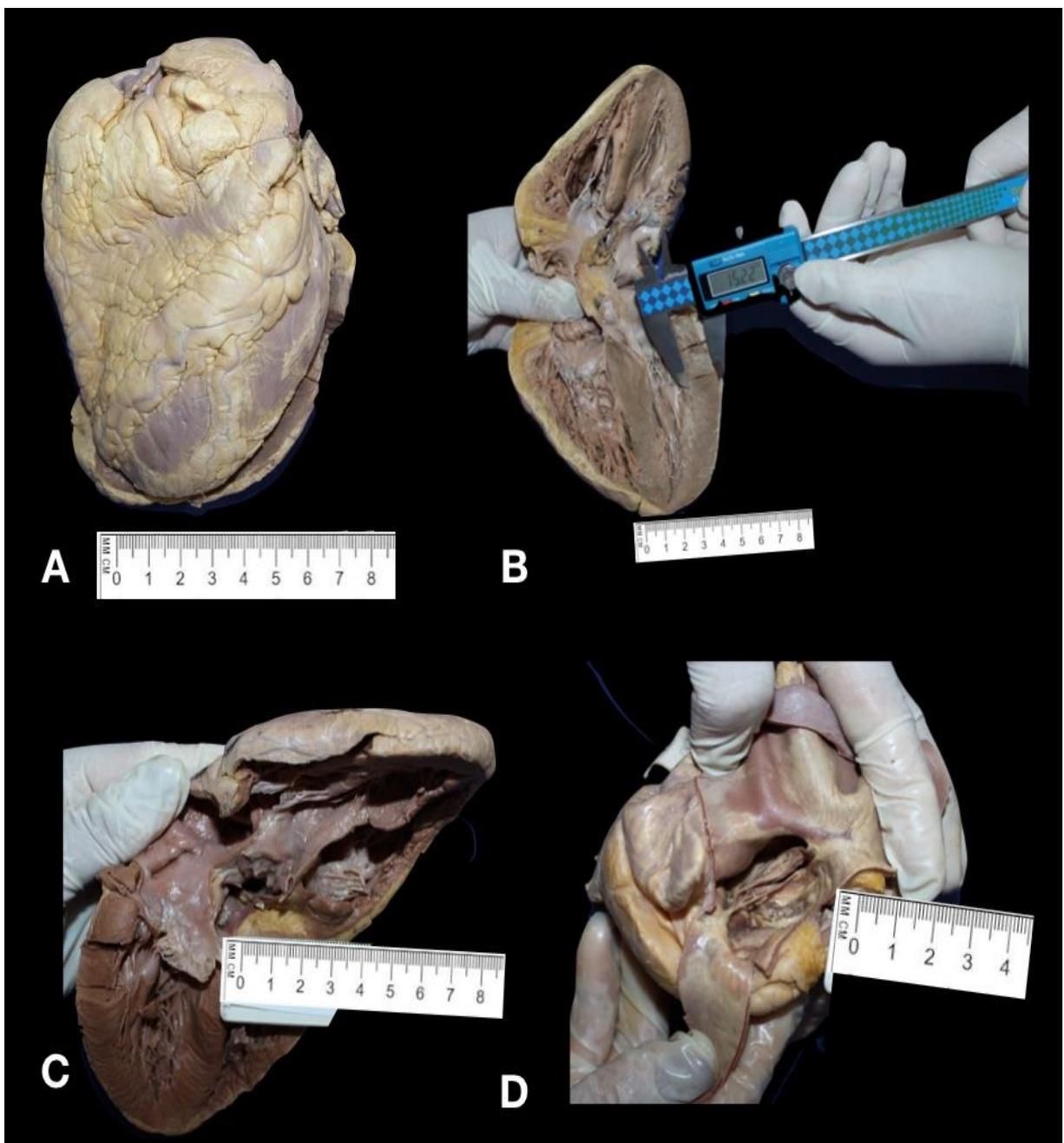
### 2.3 ANÁLISE MACROSCÓPICA

Para a análise da espessura da parede, o coração foi seccionado cuidadosamente em um corte transversal, expondo o ventrículo esquerdo. O terço médio da parede livre foi selecionado e usado para as mensurações (SANT'ANNA et al., 2012) com o uso de paquímetro digital (100.174B) (Digimess Instrumentos de Precisão Ltda.) (Figura 1) e pelo uso de equipamento de tomografia computadorizada (TC) Toshiba Aquilion 64 (TSX-101 A/H) (Toshiba America Medical Systems Inc) (Figura 2) e *software* para análise das imagens eFilm LITE 2.1.0 (Merge Healthcare), que utilizou cortes de 1 mm de espessura, com interpolação de 0,5 mm de reconstrução das imagens que aumenta a qualidade de reconstrução das imagem processadas em outros planos e mesmo em 3 dimensões, disponível no serviço de Radiologia do HC/UFTM. Foram também medidas as espessuras do septo interventricular e do ventrículo direito. Trabeculações do endocárdio, gordura epicárdica e músculo papilar foram excluídos das medidas, por serem considerados dados de confusão.

A intensidade dos processos foi classificada semiquantitativamente de acordo com o predomínio na estrutura analisada da seguinte forma: a) ausente, b) discreta (no caso de acometimento de até 25% da estrutura), c) moderada (no caso de

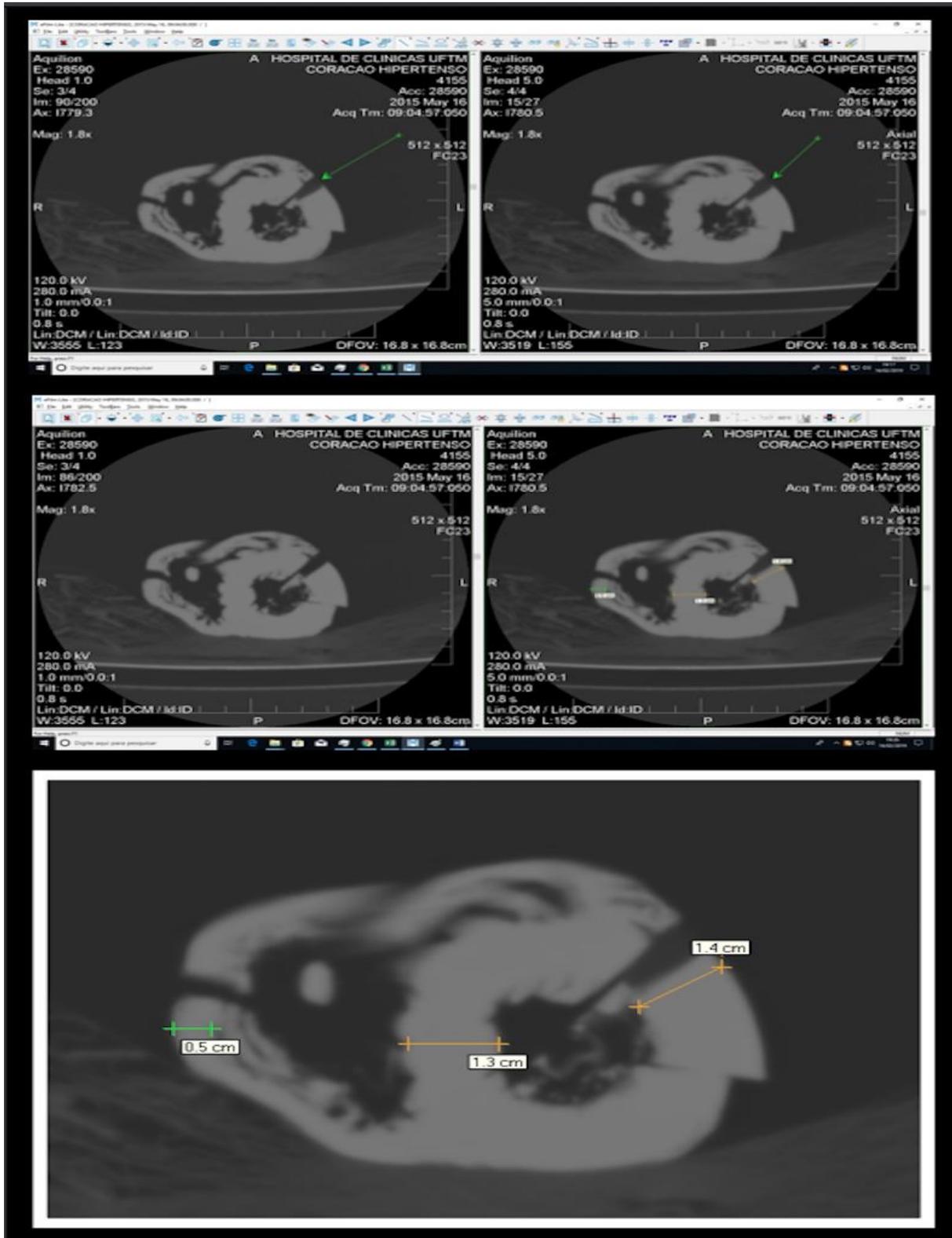
acometimento de 26 a 50% da estrutura) e d) acentuada (no caso de acometimento superior a 51% da estrutura) (FERRAZ et al., 2012).

Figura 1 – Análise macroscópica dos corações de 42 indivíduos com cardiopatia (CH) e sem cardiopatia (SC) autopsiados no HC/UFTM no período de 1984 a 2018. A – Gordura epicárdica acentuada. B – Região do ventrículo esquerdo para análise do paquímetro digital. C – Espessamento fibroso acentuado da válvula mitral. D – Espessamento fibroso acentuado da válvula aórtica e aterosclerose acentuada na raiz da aorta.



Fonte: Do autor. 2019.

Figura 2 - Análise de imagens da Tomografia Computadorizada (TC) dos corações de 42 indivíduos com cardiopatia (CH) e sem cardiopatia (SC) autopsiados no HC/UFTM no período de 1984 a 2018. A seta indica a região da mensuração do ventrículo esquerdo.

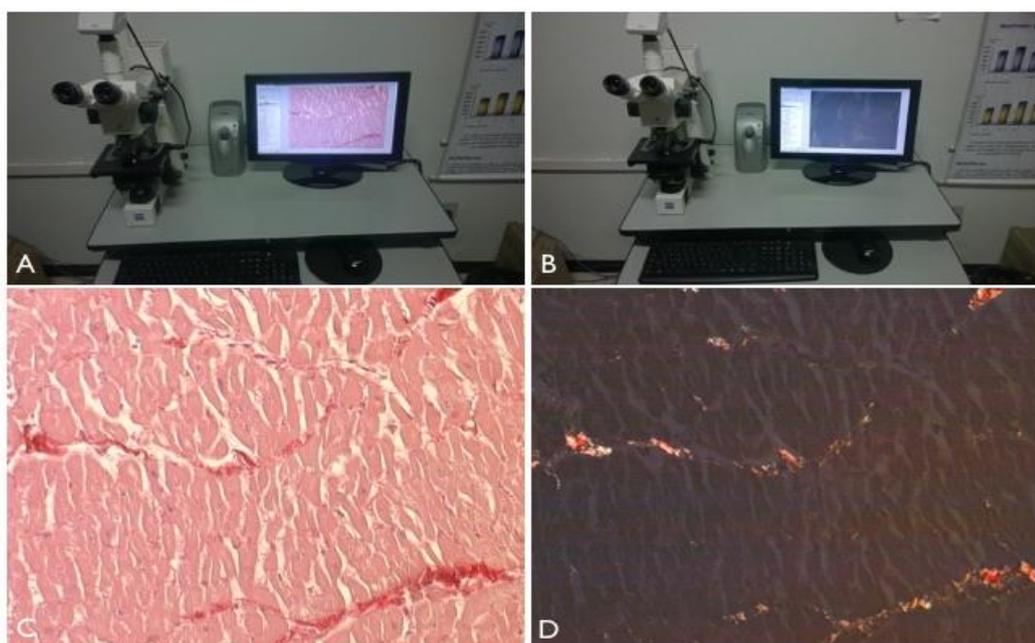


Fonte: Do autor. 2019.

## 2.4 ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO COLÁGENO DO MIOCÁRDIO

O número de campos para avaliação e quantificação das fibras colágenas do ventrículo esquerdo e da coronária esquerda foi definido pelo teste da média acumulada (WILLIAMS, 1977). Dividiu-se em quatro quadrantes o corte histológico e digitalizamos quarenta campos de cada fragmento. A área de fibras colágenas sob a luz polarizada apresentava um aspecto birrefringente, variando de amarelo esverdeado a laranja avermelhada (Figura 3). As fibras colágenas foram marcadas pelo observador para obter-se o percentual de colágeno por campo analisado. Dessa forma, a imagem do campo quantificado foi digitalizada por meio de uma câmera acoplada ao microscópio. A morfometria foi realizada com o sistema analisador de imagem LeicaQWin® Plus (Leica Microsystems), com aumento final de 620x.

Figura 3 – Análise morfométrica do colágeno do miocárdio dos corações de 42 indivíduos com cardiopatia hipertensiva (CH) e sem cardiopatia (SC) autopsiados no HC/UFTM no período de 1984 a 2018. A e C – fragmento do ventrículo esquerdo (Picosírus - 620x). B e D – fragmento do ventrículo esquerdo (luz polarizada – 620x).



Fonte: Do autor. 2019.

## 2.5 ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA DE MASTÓCITOS QUIMASE E MASTÓCITOS TRIPTASE

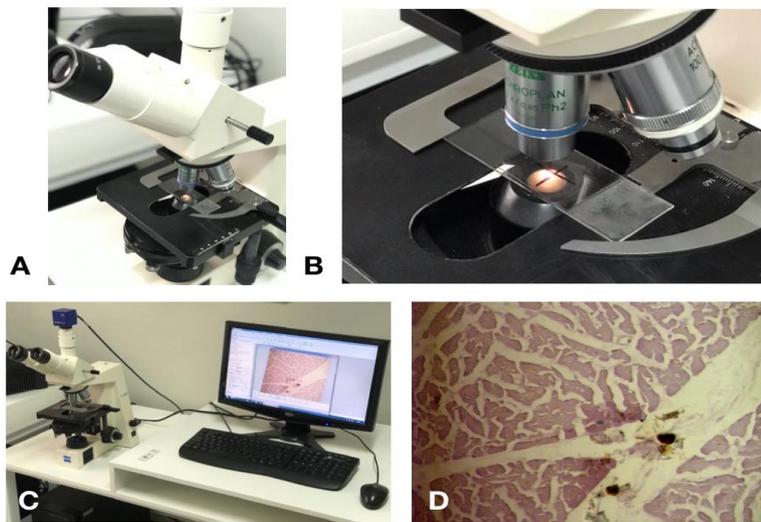
As Lâminas 3,4,5 e 6 foram utilizadas para a análise imunohistoquímica. A imunohistoquímica foi realizada para a identificação da positividade para anti-quimase 1:2000 (Diagnostic BioSystems®) e anti-triptase 1:500 (Diagnostic BioSystems®) para a marcação dos mastócitos. Foi utilizado o xilol para retirar a parafina da lâmina e, posteriormente, hidratada em álcoois decrescentes até água destilada. Em uma panela a vapor a 97°C as lâminas foram embebidas em solução de tampão citrato por 30 minutos e, logo após, resfriadas em temperatura ambiente de 25°C por mais 30 minutos. O material foi lavado em água destilada rapidamente. A peroxidase endógena foi inibida com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,03v, três vezes por 5 minutos, em temperatura ambiente e no escuro. Então foi feita a lavagem em água rapidamente e depois em solução salina tamponada (PBS) 5 minutos. Os anticorpos primários foram reconstituídos e diluídos em solução de PBS juntamente com albumina, incubados em câmara úmida e escura e deixados *overnight* a 8°C.

Posteriormente lavou-se novamente em água destilada rapidamente e depois em solução de PBS 5 minutos. Os anticorpos secundários foram incubados por 1 hora à temperatura ambiente em câmara úmida. Em seguida foi lavado em solução de PBS e depois colocado em PBS por 5 minutos. Incubou-se em peroxidase por 1 hora à temperatura ambiente em câmara úmida. Lavou-se em solução de PBS 5 minutos. As lâminas foram incubadas com DAB *Chromogen Substrate System* (Dako®) por 10 minutos à temperatura ambiente e câmara úmida (100 µl DAB + 15 µl de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). As lâminas foram lavadas com água destilada para inativar o DAB, contra corados com Hematoxilina de Harris e montadas com lamínula e Entellan®.

A quantificação de mastócitos foi realizada usando uma câmera de vídeo conectada a um microscópio de luz convencional e a um computador com o software de análise de imagem AxioVision® Rel 4.9.1 (Carl Zeiss) (Figuras 4 e 5). Os mastócitos foram quantificados ao longo da lâmina usando uma ampliação final de 620x em um campo de microscópio de 0,1520mm<sup>2</sup>. Os fragmentos foram divididos em quatro quadrantes e em cada quadrante foram quantificados dez campos de forma aleatória. A densidade de mastócitos de cada fragmento foi determinada

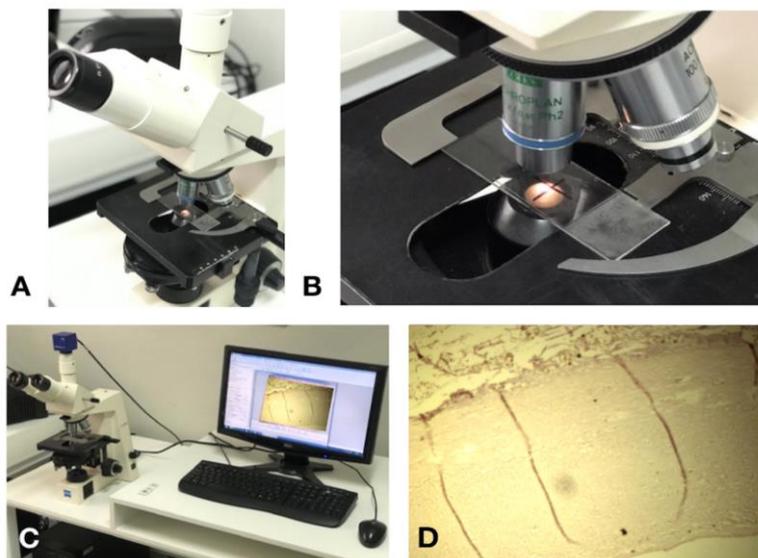
dividindo-se o número total de mastócitos quantificados nos quarenta campos pela área total dos campos, expressa em mastócitos/mm<sup>2</sup>.

Figura 4 – Análise imunohistoquímica de quimase e triptase do ventrículo esquerdo de 42 indivíduos com cardiopatia hipertensiva (CH) e sem cardiopatia (SC) autopsiados no HC/UFTM no período de 1984 a 2018. A, B e C – microscópio de luz convencional computador com o software de análise de imagem AxioVision® Rel 4.9.1 (Carl Zeiss). D – Fragmento do ventrículo esquerdo (620x).



Fonte: Do autor. 2019

Figura 5 – Análise imunohistoquímica de quimase e triptase do ramo circunflexo da artéria coronária esquerda de 42 indivíduos com cardiopatia hipertensiva (CH) e sem cardiopatia (SC) autopsiados no HC/UFTM no período de 1984 a 2018. A, B e C – microscópio de luz convencional computador com o software de análise de imagem AxioVision® Rel 4.9.1 (Carl Zeiss). D – Fragmento do ramo circunflexo (620x).



Fonte: Do autor. 2019.

## 2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística foi elaborada uma planilha do programa Microsoft Excel®. As informações foram analisadas utilizando-se o programa eletrônico GraphPad Prism® 7 (GraphPad Software). Para verificar o tipo de distribuição das variáveis foi aplicado o teste estatístico de Shapiro-Wilk. Quando a distribuição foi normal utilizamos o teste t de Student (t) para a comparação de dois grupos. Quando a distribuição foi não normal, utilizamos o teste de Mann-Whitney (U) para a comparação de dois grupos. Para correlação, foi empregado o coeficiente de correlação de Pearson (r) para distribuição normal e o de Spearman (rS) para distribuição não-normal. Para os dados semiquantitativos expressos em diferentes graus (discreto, moderado ou acentuado), utilizou-se o teste de frequência  $X^2$  (qui-quadrado) e o teste exato de Fisher. As diferenças foram consideradas estatisticamente significantes quando p foi menor que 5% ( $p < 0,05$ ).

## 2.7 ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UFTM por meio do protocolo CAAE nº 61526216.5.0000.5154.

## 2.8 NORMAS PARA CONFECCÃO DO MANUSCRITO

Para a elaboração da escrita do trabalho foram consultadas as normas ABNT-NBR 6027:2012, e as recomendações da PGCS/UFTM (Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UFTM).

# **RESULTADOS**

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA AMOSTRA

Dentre os 42 corações analisados, 21 foram enquadrados em indivíduos com cardiopatia hipertensiva (CH) e 21 em indivíduos sem cardiopatia (SC). A média de idade dos indivíduos no grupo com cardiopatia hipertensiva foi de 50,8, variando de 26 a 81 anos e no grupo sem cardiopatia foi de 54,2 anos, variando de 30 a 80 anos. De acordo com o gênero, 28 (66,6%) indivíduos eram do gênero masculino e 14 (33,3%) indivíduos eram do gênero feminino. Em relação à cor, 25 (59,5%) indivíduos eram brancos e 17 (40,5%) indivíduos eram não brancos (Tabela 1).

#### 3.2 PESO CARDÍACO

Os indivíduos com cardiopatia hipertensiva (CH) ( $414,6 \pm 24,68$ g (média  $\pm$  erro padrão)) apresentaram peso cardíaco significativamente maior que os indivíduos sem cardiopatia ( $304,3 \pm 11,35$ g) ( $t=4.058$ ;  $p=0.0002^*$ ) (Tabela 3).

#### 3.3 INTENSIDADE DA ATEROSCLEROSE NA RAIZ DA AORTA

Em relação a presença de aterosclerose na raiz da aorta de 42 corações analisados, 3 (7,1%) indivíduos não apresentaram aterosclerose (1 no grupo CH e 2 no grupo SC), 21 (50%) apresentaram aterosclerose discreta (10 no grupo CH e 11 no grupo SC), 6 (14,2%) apresentaram aterosclerose moderada (3 no grupo CH e 3 no grupo SC) e 12 (28,6%) apresentaram aterosclerose acentuada (7 no grupo CH e 5 no grupo SC). Não houve diferença significativa entre os grupos ( $X^2=0.714$ ;  $p=0.869$ ) (Tabela 1).

### 3.4 INTENSIDADE DA ATEROSCLEROSE NO RAMO CIRCUNFLEXO DA ARTÉRIA CORONÁRIA ESQUERDA

Em relação a presença de aterosclerose no ramo circunflexo da artéria coronária esquerda de 42 corações analisados, 11 (26,2%) indivíduos não apresentaram aterosclerose (4 no grupo CH e 7 no grupo SC), 19 (45,2%) apresentaram aterosclerose discreta (9 no grupo CH e 10 no grupo SC), 8 (19%) apresentaram aterosclerose moderada (5 no grupo CH e 3 no grupo SC) e 4 (9,5%) apresentaram aterosclerose acentuada (3 no grupo CH e 1 no grupo SC). Não houve diferença significativa entre os grupos ( $X^2=2.371$ ;  $p=0.499$ ) (Tabela 1)

Tabela 1 - Características gerais da amostra de 42 indivíduos com cardiopatia (CH) e sem cardiopatia (SC) autopsiados no HC-UFTM no período de 1984 a 2018.

Variáveis	Com cardiopatia (n=21)	Sem cardiopatia (n=21)
<b>Idade média (erro padrão)</b>	50,8 (3,2)	54,2 (3,3)
<b>Gênero n (%)</b>		
Masculino	14 (66,67%)	14 (66,67%)
Feminino	7 (33,33%)	7 (33,33%)
<b>Cor n (%)</b>		
Branco	12 (57,14%)	13 (61,90%)
Não branco	9 (42,86%)	8 (38,10%)
<b>Aterosclerose (raiz da aorta) n (%)</b>		
Ausente	1 (4,76%)	2 (9,52%)
Discreta	10 (47,62%)	11 (52,38%)
Moderada	3 (14,29%)	3 (14,29%)
Acentuada	7 (33,33%)	5 (23,81%)
<b>Aterosclerose (Coronária esquerda) n (%)</b>		
Ausente	4 (19,04%)	7 (33,33%)
Discreta	9 (42,86%)	10 (47,62%)
Moderada	5 (23,81%)	3 (14,29%)
Acentuada	3 (14,29%)	1 (4,76%)

n: amostra; %: porcentagem

raiz da aorta:  $X^2=0.714$ ;  $p=0.869$

coronária esquerda:  $X^2=2.371$ ;  $p=0.499$

### 3.5 ESPESSURA DO VENTRÍCULO ESQUERDO

Comparando a espessura do terço médio da parede livre do ventrículo esquerdo pelo paquímetro digital, houve diferença significativa entre o grupo com cardiopatia ( $1,144 \pm 0,058$ cm (média  $\pm$  erro padrão)) e o grupo sem cardiopatia ( $0,999 \pm 0,037$ cm) ( $t=2.077$ ;  $p=0.04^*$ ) (Tabela 3).

Comparando a espessura do terço médio da parede livre ventrículo esquerdo pelas imagens da tomografia computadorizada (TC), não houve diferença significativa entre o grupo com cardiopatia (1,25 (1-1,6cm)) (mediana (min–máx)) e o grupo sem cardiopatia (1,3 (0,5-1,3cm) ( $U=12.5$ ;  $p=0.443$ ) (Tabela 3).

### 3.6 ALTERAÇÕES MACROSCÓPICAS

As alterações macroscópicas analisadas (espessamento fibroso da válvula mitral, aórtica, tricúspide e pulmonar; gordura epicárdica) estão descritas na tabela 2

Tabela 2 - Alterações macroscópicas dos corações de 42 indivíduos com cardiopatia (CH) e sem cardiopatia (SC) autopsiados no período de 1984 a 2018.

Alterações Macroscópicas	CH (n=21) n(%)				SC (n=21) n(%)				p
	Ausente	Discreto	Moderado	Acentuado	Ausente	Discreto	Moderado	Acentuado	
<b>Espessamento Fibroso</b>									
Mitral	1(4,76)	7(33,33)	8(38,1)	5(23,8)	-	8(38,09)	6(28,57)	7(33,33)	0.640
Aórtica	7(33,33)	7(33,33)	3(14,28)	4(19,04)	7(33,33)	5(23,8)	3(14,28)	6(28,57)	0.865
Tricúspide	6(28,57)	8(38,09)	7(33,33)	1(4,76)	6(28,6)	9(42,85)	5(23,8)	1(4,76)	0.946
Pulmonar*	18(85,7)	3(14,28)	-	-	15(71)	5(23,8)	-	-	0.453
<b>Gordura Epicárdica</b>	5(23,80)	1(4,76)	10(47,6)	5(23,80)	5(23,8)	7(33,33)	6(28,57)	3(14,28)	0.111

Teste do qui-quadrado; \*Teste de Fisher

### 3.7 PORCENTAGEM DE FIBRAS COLÁGENAS

Comparando a porcentagem de fibras colágenas do terço médio da parede livre do ventrículo esquerdo, houve diferença significativa entre o grupo com cardiopatia (1,165 (0 – 91,42%)) (mediana (min–máx)) e o grupo sem cardiopatia (0,805 (0-20,11)) (U=311775;  $p<0.0001^*$ ) (Tabela 3).

Comparando a porcentagem de fibras colágenas no ramo circunflexo da artéria coronária esquerda, não houve diferença significativa entre o grupo com cardiopatia (4,57 (0 – 40,08%)) (mediana (min–máx)) e o grupo sem cardiopatia (3,62 (0,04-84,42)) (U=109884;  $p=0.216$ ) (Tabela 3).

### 3.8 DENSIDADE MASTOCITÁRIA

Comparando a densidade de mastócitos imunomarcados por anti-quimase e anti-triptase do terço médio da parede livre do ventrículo esquerdo, houve diferença significativa entre o grupo com cardiopatia ( $4,096\pm 0,467$  células/mm<sup>2</sup> (média  $\pm$  erro padrão)) e o grupo sem cardiopatia ( $1,881\pm 0,2$  células/mm<sup>2</sup>) ( $t=4.356$ ;  $p<0.0001^*$ ) (Tabela 3).

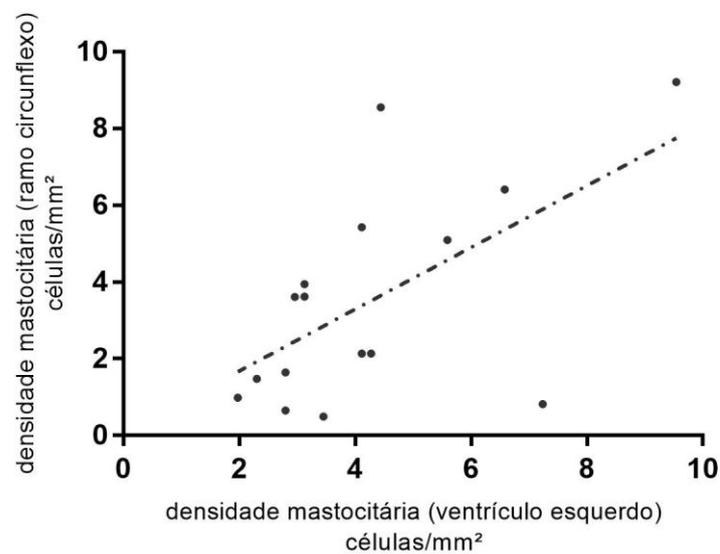
Comparando a densidade de mastócitos imunomarcados por anti-quimase e anti-triptase no ramo circunflexo da artéria coronária esquerda, houve diferença significativa entre o grupo com cardiopatia (2,138 (0,822 – 9,211 células/mm<sup>2</sup>) (mediana (min–máx)) e o grupo sem cardiopatia (0,986 (0-2,632 células/mm<sup>2</sup>)) (U=36.5;  $p=0.01^*$ ) (Tabela 3).

#### 3.8.1 Densidade Mastocitária (ramo circunflexo x ventrículo esquerdo)

Houve correlação positiva entre a densidade de mastócitos imunomarcados por anti-quimase e anti-triptase no ramo circunflexo da artéria coronária esquerda e o ventrículo esquerdo no grupo com cardiopatia (CH) ( $rS=0.544$ ;  $p=0.031^*$ ) (Figura

6). Não houve correlação entre densidade de mastócitos imunomarcados por anti-quimase e anti-triptase no ramo circunflexo da artéria coronária esquerda e o ventrículo esquerdo no grupo sem cardiopatia (SC) ( $rS=-0.486$ ;  $p=0.06$ ).

Figura 6 – Gráfico da correlação entre a densidade de mastócitos imunomarcados por anti-quimase e anti-triptase no ventrículo esquerdo e densidade de mastócitos imunomarcados por anti-quimase e anti-triptase no ramo circunflexo da artéria coronária esquerda do grupo de indivíduos com cardiopatia (CH) autopsiados no período de 1984 a 2018.



$rS=0.554$ ;  $p=0.031^*$

Tabela 3 - Análise morfométrica do terço médio da parede livre do ventrículo esquerdo e do ramo circunflexo da artéria coronária esquerda de 42 indivíduos com cardiopatia (CH) e sem cardiopatia (SC) autopsiados no período de 1984 a 2018.

Grupos	PC (g)	EVEPD (cm)	EVETC (cm)	FCVE (%)	FCCE (%)	DMVE (células/mm <sup>2</sup> )	DMCE (células/mm <sup>2</sup> )
média±erro padrão ou mediana (mínimo-máximo)							
<b>Com cardiopatia</b>	414,6±24,68	1,14±0,58	1,25 (1-1,6)	1,16 (0-91,42)	4,57 (0-40,08)	4,10±0,47	2,14 (0,82-9,21)
<b>Sem cardiopatia</b>	304,3±11,35	0,99±0,04	1,3 (0,5-1,3)	0,80 (0-20,11)	3,62 (0,04-84,42)	1,88±0,2	0,99 (0-2,63)
	t=4,06; p=0,0002*	t=2,08; p=0,04*	U=12,5; p=0,44	U=31177; p<0,0001*	U=109884; p=0,22	t=4,36; p<0,0001*	U=36,5; p=0,01*

PC: peso cardíaco; EVEPD: espessura do terço médio da parede livre do ventrículo esquerdo pelo paquímetro digital; EVETC: espessura do terço médio da parede livre do ventrículo esquerdo pela tomografia computadorizada; FCVE: porcentagem de fibras colágenas do terço médio da parede livre do ventrículo esquerdo; FCCE: porcentagem de fibras colágenas do ramo circunflexo da artéria coronária esquerda; DMVE: densidade de mastócitos imunomarcados por anti-quimase e anti-triptase do terço médio da parede livre do ventrículo esquerdo; DMCE: densidade de mastócitos imunomarcados por anti-quimase e anti-triptase do ramo circunflexo da artéria coronária esquerda; teste t de Student.

# **DISCUSSÃO**

## 4 DISCUSSÃO

Em nosso estudo, o peso cardíaco no grupo CH foi significativamente maior que no grupo SC. A literatura evidencia a influência de dados antropométricos e massa corporal sobre a massa cardíaca, em especial em avaliações do peso do coração. Uma metanálise mostrou que os pacientes com aumento da massa ventricular esquerda apresentam risco, pelo menos duplicado, para evento cardiovascular e morte, independentemente de outros fatores de risco (VAKILI; DEVEREUX, 2001). Diversos autores levam em consideração o índice de massa corporal (peso e altura) na interpretação de seus resultados (CARDOSO et al., 2002; MANCIA et al., 2002). Pesquisadores ressaltam que todas as avaliações de massa cardíaca deveriam ser ajustadas aos valores encontrados em autópsias para a população que se quer estudar. Variam com idade, sexo, etnia, tamanho e composição corporal (RODRIGUES et al., 2007; KUMAR et al., 2014). Alguns estudos demonstraram a relação do excesso de peso com hipertrofia ventricular esquerda e remodelamento concêntrico e excêntrico, e com disfunção diastólica seguida de disfunção sistólica a longo prazo, indicando efeito direto da composição corporal no sistema cardiovascular (SALTON et al., 2002; NEELAND et al., 2013). Um dos limitadores da nossa análise foi a ausência, em alguns laudos, de dados como peso corporal e altura. Isso impossibilitou a análise da relação peso cardíaco/peso corporal x100 para a definição mais acurada de hipertrofia cardíaca.

Já em relação a espessura do ventrículo esquerdo houve diferença significativa entre o grupo CH e o grupo SC. Apesar da diferença significativa, a literatura considera hipertrofia ventricular esquerda em corações com espessura acima de 1,5 cm do ventrículo esquerdo (SILVA et al., 2002; KAWEL et al., 2012). A média da espessura em nossos estudos foi de 1,144 cm mensurado pelo paquímetro digital e 1,26 cm mensurado pela TC. Apesar destes valores discrepantes, nos laudos dos indivíduos que foram definidos para o grupo CH a nefrosclerose arteriolar foi um achado importante, confirmando a HAS não tratada ou mal controlada. A hipertrofia do ventrículo esquerdo é definida como aumento da massa ventricular, ou do índice de massa do ventrículo esquerdo, o qual é calculado corrigindo-se o valor da massa, em gramas (g), pela área de superfície corpórea, em metros quadrados (m<sup>2</sup>) (FILHO, 2012). Em hipertensos, o aumento das

catecolaminas e, portanto, do débito cardíaco e da pressão arterial fazem com que haja elevação da pós-carga. O aumento do estresse da parede, nesse caso, induz ao aumento dos sarcômeros em paralelo, e conseqüente aumento da espessura das paredes. Esse aumento é bem mais significativo do que o observado na sobrecarga de volume, e essa hipertrofia é caracterizada como concêntrica (FERREIRA FILHO, 2012). Uma das limitações do nosso trabalho é não dispor de alguns dados como superfície corpórea para o real ajuste da definição de hipertrofia ventricular esquerda. Por se tratar de um estudo sobre dimensões lineares (espessura) das paredes cardíacas, decidiu-se pela não avaliação do peso dos ventrículos, em virtude da dificuldade natural na separação do septo interventricular entre miocárdio esquerdo e direito e também de fragmentos que foram retirados dos corações para outros estudos.

A autópsia convencional envolve procedimentos invasivos que são o meio tradicional de exame pós-morte em humanos. Ao contrário, a virtópsia é uma tecnologia emergente minimamente invasiva no campo da medicina que incorpora a tecnologia imaginológica (BADAM et al., 2017). Apesar de utilizarmos uma tecnologia de imagem para a análise dos corações, a TC não demonstrou ter uma acurácia elevada em relação à técnica clássica do paquímetro digital, mais barata e de alta reprodutibilidade. Mesmo considerando que os corações estão no arquivo da Disciplina de Patologia Geral há tempos e que o formol poderia causar mudanças nos espécimes, o custo da análise por TC tem de ser considerado. As autópsias são procedimentos caros, que envolvem dependências e equipamentos especiais, corpos médico e técnico especializados, muitas horas de trabalho na realização, preparo das peças, seguimento dos fragmentos para histopatologia, exame das lâminas, relatórios macro e microscópicos, apresentação e discussão dos achados em reuniões anatomoclínicas. O custo de todos esses procedimentos também tem sido apontado como uma das razões para o desinteresse dos órgãos médicos na montagem e na manutenção de serviços de autópsia. Para minimizar os custos, agilizar o estudo histopatológico e otimizar os laudos de todas as autópsias, pode-se utilizar uma quantidade menor e selecionada de fragmentos escolhidos criteriosamente em função da presença ou não de alterações macroscópicas óbvias e do contexto da doença principal e das causas conseqüenciais; ao contrário da rotina antiga e clássica de seguir fragmentos de todos os órgãos, independente de exibirem alterações morfológicas (RODRIGUES et al., 2011). Em estudo publicado

sobre série de óbitos não selecionados encaminhados ao médico legista, os autores encontraram uma grande discrepância entre a autópsia e as causas de morte por imagem em 30% dos casos. No geral, a TC foi mais precisa do que a RM na identificação da causa da morte; a maior taxa de discrepância em comparação com a autópsia foi significativamente maior para RM do que para a TC e os relatórios de consenso (ROBERTS et al., 2012). A TC tem importantes vantagens práticas, sendo mais amplamente disponível, menos dispendiosa e mais rápida do que a RM. TC também pode ser combinada com angiografia, aumentando a precisão da detecção de processos patológicos vasculares.

No presente estudo encontramos um aumento de fibras colágenas no ventrículo esquerdo do grupo de indivíduos com cardiopatia hipertensiva em comparação ao grupo de indivíduos sem cardiopatia. Estes achados corroboram com a literatura, onde relata que dentre as alterações morfológicas da cardiopatia hipertensiva, a fibrose é uma das modificações mais encontradas nos pacientes hipertensos, caracterizada por excesso ou acúmulo difuso de fibras colágenas, conseqüentemente aumentando a rigidez miocárdica, progredindo para a disfunção do ventrículo esquerdo e culminando com a insuficiência cardíaca (JIMÉNEZ-NAVARRO et al, 2005). Essa fibrose reacional é característica de processos patológicos que desencadeiam a hipertrofia miocárdica (BERK et al., 2007; SPINALE, 2007). Os mecanismos responsáveis pela progressão da hipertrofia ventricular esquerda incluem não só uma resposta para o estresse mecânico, mas também as influências de neuro-hormônios, fatores de crescimento e citocinas, demonstrando que o estroma tem papel crucial no remodelamento cardíaco (HILL; OLSON, 2008; DÍEZ, 2010; DRAZNER, 2011).

Um estudo realizado na quantificação do colágeno em corações autopsiados de indivíduos hipertensos e não hipertensos, demonstrou um discreto aumento de colágeno nos indivíduos hipertensos com hipertrofia ventricular esquerda (JORGE et al., 2004). Outro estudo demonstrou que tanto em humanos quanto em ratos cardiopatas hipertensos, o metabolismo do colágeno tipo I está aumentado (LÓPEZ et al., 2001). Trabalhos relataram a estreita relação entre o diagnóstico histológico não invasivo de fibrose miocárdica em animais e pacientes hipertensos, utilizando marcadores bioquímicos como pró-peptídeo carboxi-terminal do pró-colágeno tipo I (JIMÉNEZ-NAVARRO et al, 2005) e dosagens séricas deste pró-peptídeo demonstraram uma elevada concentração nos indivíduos com cardiopatia

hipertensiva em relação aos indivíduos sem cardiopatia (GONZÁLES et al., 2009), evidenciando que os precursores da síntese do colágeno estão aumentados nos indivíduos acometidos pela cardiopatia hipertensiva. Além disso, estresse mecânico pode ser acoplado a sinais intracelulares que são responsáveis pela resposta hipertrófica via fosfolipases, canais iônicos e trocadores de íons ou podem induzir a liberação de fatores promotores de crescimento (por exemplo, angiotensina II, endotelina- 1 e fator de crescimento transformador beta), proporcionando assim vias de indução do crescimento (NADRUZ et al., 2015).

Sabe-se que as metaloproteinases de matriz (MMPs) são uma família de endopeptidases zinco-dependentes que são importantes para degradação da matriz extracelular (MEC). Sua atividade desencadeia o *turnover* da MEC (síntese e degradação) que resulta em remodelação matricial. MMPs aumentados, particularmente MMP-2, forneceram importantes percepções mecanicistas associadas à fisiopatologia da disfunção cardíaca e remodelação associada ou não ao aumento da pós-carga (RIZZI et al., 2010). Além disso, já foi também demonstrado que a razão sérica entre MMP-1 e seu inibidor tecidual estão alteradas nos pacientes com cardiopatia hipertensiva e que pacientes que apresentavam falência na fração de ejeção decorrente da dilatação da câmara ventricular esquerda apresentavam alterações na distribuição de fibras colágenas, sobretudo perivascular e cicatricial e aumento considerável de MMP-1 (LÓPEZ et al., 2001). Estes relatos da literatura podem fazer conexão com achados do presente trabalho, pois estas enzimas são as principais mediadoras do remodelamento miocárdico, que ocorre via ativação de MMPs principalmente pela liberação de triptase, que cliva o precursor pro-MMP-3, ativando MMP-3 que então ativa MMP-1 e pela liberação de quimase, ativando MMP-2 e MMP-9 (GRUBER et al., 1989; LEES et al., 1994; SUZUKI et al., 1995; TCHOUGOUNOVA et al., 2005; HEIKKILA et al., 2008).

As atividades de MMPs desequilibradas resultam na deposição de MEC modulada por expressão aumentada de TGF- $\beta$ , um mecanismo importante para a transição de fibroblastos para miofibroblastos, promovendo fibrose. A respeito disso, níveis aumentados de MMPs e TGF- $\beta$  foram mostrados em hipertrofia ventricular esquerda e ambos, MMPs e TGF- $\beta$ , são ativados pelo estresse oxidativo. Em modelo experimental descrito pelos pesquisadores, demonstraram que a ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona, e aumento da produção de angiotensina II tem efeitos hipertróficos diretos e que este processo pode ocorrer devido ao

aumento da formação de EROs. De fato, a angiotensina II promove o estresse oxidativo e aumenta os níveis de TGF- $\beta$  e as atividades das MMPs (RIZZI et al., 2011).

A atividade de MMP é inibida por mediadores endógenos, os inibidores teciduais de MMPs (TIMPs) e a disfunção das TIMPs promove disfunção cardíaca e remodelação durante sobrecarga de pressão. Embora quatro TIMPs (TIMP-1 a -4) tenham sido identificadas, TIMP-4 é abundantemente encontrada no tecido miocárdico e este inibidor exerce efeitos potentes sobre a atividade da MMP-2. É importante ressaltar que os níveis aumentados de EROs, que estão implicados na remodelação cardíaca, pode resultar em atividade prejudicada da TIMP-4 e consequente ativação de MMP-2 promovendo assim uma maior atividade líquida de MMP e alterar a MEC (RIZZI et al., 2013).

No presente estudo, encontramos aumento significativo na densidade de mastócitos imunomarcados com anti-quimase e anti-triptase no ramo circunflexo da artéria coronária esquerda e no ventrículo esquerdo de indivíduos com cardiopatia hipertensiva. Estudos experimentais que explicam nosso resultado demonstraram o aumento da densidade mastocitária em condições de sobrecarga ventricular esquerda e remodelamento do miocárdio. Os produtos da degranulação dos mastócitos são de natureza pró-inflamatória, pró-fibrogênicos e hipertróficos, e dentre estes, destacam o fator de crescimento transformador  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), histamina, triptase, quimase, interleucina-4 (IL-4), fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (MATSUMOTO et al., 2003; PALANIYANDI et al., 2007).

Esse remodelamento parece ser crítico para a progressão da hipertrofia ventricular esquerda, provavelmente resultado da inflamação crônica presente na cardiopatia hipertensiva. Um estudo demonstrou o aumento da densidade mastocitária nas coronárias de pacientes acometidos pela doença arterial coronariana e que níveis séricos de triptase, principal biomarcador da elevação dos números de mastócitos, podem ser usados como teste de *screening* para avaliação dessa condição em pacientes que ainda não apresentam manifestações clínicas (DELIARGYRIS et al., 2005). A doença arterial coronariana (DAC) tem sido descrita como uma doença inflamatória, e a síndrome coronariana aguda (SCA) pode ser considerada como resultado de um processo inflamatório agudo. Isso levou os pesquisadores na direção da pesquisa de biomarcadores que buscam avaliar com precisão a carga de dano relacionado à isquemia e detectar atividade inflamatória

como uma expressão de instabilidade de placa e risco futuro. Além disso, dada a recente presença demonstrada de receptores C5a nos mastócitos, podemos sugerir que um ciclo de *feedback* positivo poderia ser gerado na placa coronariana instável em que os mastócitos ativados geram indiretamente C5a, que por meio do seu receptor, ativam os mastócitos presentes na lesão-alvo e em outras placas na artéria coronária. O mesmo cenário pode ocorrer em todas as artérias coronárias epicárdicas ateroscleróticas de um paciente com SCA com situação complexa (alto grau de complexidade cardiovascular). Tal retroalimentação positiva poderia, teoricamente, ter mantido a triptase em um nível alto durante o curto período de observação deste estudo (PASTORELLO et al., 2014).

No entanto, de acordo com informações recentemente obtidas sobre o papel dos mastócitos em muitos processos inflamatórios, as serina proteases também foram implicadas em outros processos patológicos importantes, como o crescimento da placa aterosclerótica e desestabilização. Por meio da sua ação nos receptores PAR-2 de macrófagos, a triptase está envolvida na formação de células espumosas macrofágicas, promovendo assim a acumulação de lipídios no início do processo aterosclerótico. Esse efeito pode facilitar a formação e progressão da placa e, conseqüentemente, o desenvolvimento de doenças cardíacas. Além disso, a ativação de as MMPs promovidas pela triptase podem ser um fator que leva à desestabilização da placa, que pode dar origem a efeitos cardiovasculares importantes a ruptura ou erosão da placa coronariana. Dado este contexto e a capacidade da triptase para promover também a cascata de coagulação e o processo trombótico, a triptase parece ser um dos mais importantes inflamatórios mediadores tanto na aterosclerose como nos processos patológicos coronarianos (PASTORELLO et al., 2014).

Estudos experimentais relatam que os mastócitos cardíacos estão envolvidos no desenvolvimento da fibrose miocárdica. Os primeiros a descreverem esta associação foram Olivetti et al., (1989) quando observaram o aumento dos mastócitos cardíacos no ventrículo direito em ratos com estenose da artéria pulmonar, apesar de não indicarem se os mastócitos estavam associados com a fibrose. Já Panizo et al., (1995) foram os primeiros a investigarem os mastócitos no ventrículo esquerdo na HAS, e notaram a forte correlação do aumento da densidade mastocitária e aumento do colágeno. O mastócito do rato consiste em várias proteases incluindo quimase (mMCP-1, -2, -4, -5, -9), triptases (mMCP-6, -7, triptase

ligada à membrana e um número de outras proteases de serina semelhantes a tripsina) e a carboxipeptidase CPA3. Quimase e triptase são potentes ativadoras da proliferação de fibroblastos e indutores da síntese proteica da MEC. As proteases de mastócitos podem promover o acúmulo de MEC por meio da formação de angiotensina II, ativação de TGF- $\beta$  ou agindo como mitógenos para fibroblastos. Estudos anteriores demonstraram que a expressão e atividade de mastócitos triptase e quimase positivos estão elevados nos ventrículos esquerdos de indivíduos hipertensos. Pesquisadores realizaram a análise de expressão gênica em tecidos de ventrículo direito de camundongos e encontraram um regulação positiva de várias proteases de mastócitos de camundongos, incluindo mMCP-2, 4, 5, 6 e CPA3. A inibição de mastócitos quimase e triptase demonstraram prevenir fibrose e melhorar a disfunção ventricular esquerda em vários modelos de cardiopatia esquerda. Curiosamente, a inibição de mastócitos quimase aumenta a eficácia cardíaca da terapia com inibidores da enzima conversora da angiotensina I e melhora a sobrevivência após infarto do miocárdio em ratos hipertensos (LUITEL et al., 2017).

Dados da literatura demonstram que as principais citocinas que participam do desenvolvimento da fibrose no tecido miocárdico são o TGF- $\beta$ , IL-13 e IL-4 (BHOGAL et al., 2008; TEEKAKIRIKUL et al., 2010), sendo que a IL-4 é altamente eficaz para estimular a biossíntese de colágeno em fibroblastos humanos (KANELLAKIS, 2012). Outros estudos experimentais demonstraram que a presença de mastócitos cardíacos era fundamental para o desenvolvimento da insuficiência cardíaca congestiva (ICC) e que estavam envolvidos na transição da hipertrofia compensatória para a hipertrofia descompensada e, conseqüentemente, culminando com a falência cardíaca (HARA et al., 2002). Quando estimulados, os mastócitos migram para o local da lesão inflamatória, sendo que a quimiocina responsável por essa migração é o *stem cell factor* (SCF), produzido por células mesenquimais do tecido, como os fibroblastos. Este fator foi detectado em células endoteliais e musculares lisas da íntima das artérias humanas sugerindo ser responsável pela migração de mastócitos para os tecidos lesionados (KOVANEN, 2007).

Um estudo experimental com ratos hipertensos demonstrou que a densidade mastocitária elevou significativamente no tecido cardíaco e também a liberação de citocinas, como TGF- $\beta$  e TNF- $\alpha$ . Demonstraram também que a taxa de expressão do RNA mensageiro (mRNA) do gene codificador do SCF estava significativamente elevada nos ratos hipertensos já durante o período neonatal (SHIOTA et al., 2003).

Já está estabelecido na literatura que a proteína quinase C (PKC) é um ponto de convergência para esses eventos (GILFILLAN; TKACZYK, 2006). Embora estudos *in vitro* tenham implicado a PKC na degranulação de mastócitos, ainda não existem estudos *in vivo* utilizando modelos de insuficiência cardíaca que examinem o papel da PKC na degranulação de mastócitos (CHANG et al., 1997). Em um estudo com ratos hipertensos, os autores demonstraram que a inibição da via da PKC atenuava a degranulação de mastócitos sem afetar a densidade dos mastócitos. Esse tratamento também inibiu a infiltração de células inflamatórias, vasculopatia e fibrose no miocárdio (PALANIYANDI et al., 2008). Um estudo diferente em ratos com hiperlipidemia, análise *Western Blot* e imuno-histoquímica demonstraram que a expressão protéica do TGF- $\beta$  no coração do grupo de ratos lipêmicos aumentou significativamente em comparação com o grupo controle (CHENG et al., 2017). Esses achados da literatura corroboram com os dados encontrados neste trabalho, visto que no grupo de indivíduos com cardiopatia hipertensiva, a densidade de mastócitos imunomarcados tanto com anti-quimase quanto por anti-triptase encontrou-se aumentada tanto na coronária quanto no ventrículo. Optamos por utilizar duas proteases específicas dos mastócitos para evitar qualquer tipo de marcação cruzada e também destacar o papel destas na remodelação cardíaca e progressão da fibrose no ventrículo esquerdo dos indivíduos com cardiopatia hipertensiva.

# **CONCLUSÃO**

## 5 CONCLUSÃO

Apesar da diminuição das autópsias e da crescente demanda por métodos minimamente invasivos, a autópsia clássica ainda é o padrão ouro principalmente em lesões cardiovasculares decorrentes da hipertensão arterial sistêmica.

Nos indivíduos com cardiopatia hipertensiva, ocorre um aumento das fibras colágenas no ventrículo esquerdo. Essa fibrose reacional é um processo fundamental para desencadear a hipertrofia miocárdica. A maior densidade de mastócitos no ventrículo esquerdo de indivíduos com cardiopatia hipertensiva observada no estudo nos permitiu concluir que os mastócitos possuem um papel que vai além do remodelamento do miocárdio na cardiopatia hipertensiva. No entanto, estudos adicionais poderão colaborar para a completa elucidação dos mecanismos desencadeantes e mantenedores da hipertrofia ventricular esquerda.

## **REFERÊNCIAS**

## REFERÊNCIAS

- ANGUITA, M. et al. Hipertensión arterial, cardiopatía hipertensiva e insuficiéncia cardíaca. Papel de los diuréticos de asa. *Med Clin (Barc)*, v. 131, n. 17, p. 660-664, 2008.
- ARNETT, D. K. et al. Pharmacogenetic approaches to hypertension therapy: design and rationale for the genetics of hypertension associated treatment (GenHAT) study. *Pharmacogenomics J*, v. 2, p. 309-317, 2002.
- BADAM, R. K. et al. Virtopsy: Touch-free autopsy. *J Forensic Dent Sci*, v. 9, n. 1, p. 42, 2017.
- BARRETO, M. L. et al. O nascimento, a vida, o adoecimento, a morte e a atenção à saúde da população brasileira durante 20 anos de Sistema Único de Saúde: uma síntese. In: BRASIL. Ministério da Saúde (Org.) Saúde Brasil 2008: 20 anos de Sistema Único de Saúde (SUS). Brasília: Ministério da Saúde, 2009. p. 407-4016.
- BERK, B. C.; FUJIWARA, K.; LEHOUX, S. ECM remodeling in hypertensive heart disease. *J Clin Invest*, v. 117, p.568–575, 2007.
- BHOGAL, R. K.; BONA, C. A. Regulatory effect of extracellular signal-regulated kinases (ERK) on type 1 collagen synthesis in human dermal fibroblasts stimulated by IL-4 and IL-13. *Int Rev Immunol*, v. 27, p. 472-496, 2008.
- BOMBIG, M. T. N.; POVÓA, R. Cardiopatía hipertensiva: aspectos epidemiológicos, prevaléncia e fator de risco cardiovascular. *Rev Bras Hipertens*, v. 15, n. 2, p. 75-80, 2008.
- BOT, I.; VAN BERKEL, T. J. C.; BIESSEN, E. A. L. Mast cells: pivotal players in cardiovascular diseases. *Current Cardiology Reviews*, v. 4, p. 170-178, 2008. *Cardiol do Rio Grande do Sul*, v. 12, n. 3, p. 5-15, 2003.
- CALDERÓN-GARCIDUENAS, L. et al. Canines as sentinel species for assessing chronic exposures to air pollutants: Part 2. Cardiac pathology. *Toxicol Sci*, v. 61, p. 356-367, 2001.
- CARDOSO, E. et al. Alterações eletrocardiográficas e sua relação com os fatores de risco para doença isquêmica do coração em população da área metropolitana de São Paulo. *Rev Assoc Med Bras (1992)*, v. 48, p. 231-6, 2002.
- CARVALHO, R. F.; NILSSON, G.; HARVIMA, I. T. Increased mast cell expression of PAR-2 in skin inflammatory diseases and release of IL-8 upon PAR-2 activation. *Exp Dermatol*, v. 19, p. 117-122, 2010.
- CAUGHEY, G. H. Mast cell tryptases and chymases in inflammation and host defense. *Immunol Rev*, n. 217, p. 141-154, 2007.

CHAHAL, N.S. et al. Ethnicity-related differences in left ventricular function, structure and geometry: a population study of UK Indian Asian and European White subjects. *Heart*, v. 96, n. 6, p. 466-71, 2010.

CHANG, E. Y. et al. Functional effects of overexpression of protein kinase C -alpha, -beta, -delta, -epsilon, and -eta in the mast cell line RBL-2H3. *J Immunol*, v. 159, p. 2624-2632, 1997.

CHENG, Y. et al. Large Accumulation of Collagen and Increased Activation of Mast Cells in Hearts of Mice with Hyperlipidemia. *Arq Bras Cardiol*, v. 109, p. 404-409, 2017.

COMPTON, S. J. et al. Human mast cell tryptase stimulates the release of an IL-8-dependent neutrophil chemotactic activity from human umbilical vein endothelial cells (HUVEC). *Clin Exp Immunol*, v. 121, p. 31-36, 2000.

DELIARGYRIS, E. M. et al. Mast cell tryptase: a new biomarker in patients with stable coronary artery disease. *Atherosclerosis*, v. 178, n. 2, p. 381-386, 2005.

DICKSON, M. E.; SIGMUND, C. D. Genetic Basis of Hypertension: Revisiting Angiotensinogen. *Hypertension*, v.48, n. 1, p. 14-20, 2006.

DÍEZ, J.; FROHLICH, E. D. A Translational Approach to Hypertensive Heart Disease. *Hypertension*, v. 55, p. 1-8, 2010.

DOGGRELL, S. A.; WANSTALL, J. C. Vascular chymase: pathophysiological role and therapeutic potential of inhibition. *Casdiovasc Res*, v. 61, p. 653-662, 2004.

DOMINICZAK, A. F.; KUO, D. Hypertension: update 2017. *Hypertension*, v. 69, p. 3-4, 2017.

DRAZNER, M. H. et al. Left ventricular hypertrophy is more prevalent in blacks than whites in the general population: the Dallas Heart Study. *Hypertension*, v. 46, p. 124-129, 2005.

DRAZNER, M. H. The Progression of Hypertensive Heart Disease. *Circulation*, v. 123, p. 327-334, 2011.

FERRAZ, M. L. et al. Correlation of lifetime progress of atherosclerosis and morphologic markers of severity in humans: new tools for a more sensitive evaluation. *Clinics (Sao Paulo)*, v. 67, p. 1071-5, 2012.

FERREIRA FILHO, P.R.P. Padrões de Hipertrofia e Geometria do Ventrículo Esquerdo pela Ecocardiografia Transtorácica. *Rev bras ecocardiogr imagem cardiovasc*, v. 25, n. 2, p. 103-115, 2012.

FOREMAN, K.J. et al. Forecasting life expectancy, years of life lost, and all-cause and cause-specific mortality for 250 causes of death: reference and alternative scenarios for 2016-40 for 195 countries and territories. *Lancet*, v. 392, n. 10159, p. 2052-90, 2018.

FRAZER, K. A. et al. Human genetic variation and its contribution to complex traits. *Nature Reviews Genetics*, v. 10, p. 241-251, 2009.

GAUDIERI, V. et al. Coronary vascular function in patients with resistant hypertension and normal myocardial perfusion: a propensity score analysis. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*, 2019.

GILFILLAN, A. M.; TKACZYK, C. Integrated signalling pathways for mast-cell activation. *Nat Rev*, v. 6, p. 218-230, 2006.

GOMES, E. R. et al. Angiotensin-(1-7) prevents cardiomyocyte pathological remodeling through a nitric oxide/guanosine 3', 5'-cyclic monophosphate-dependent pathway. *Hypertension*, v. 55, p. 153-160, 2010.

GONZÁLES, A. et al. Biochemical markers of myocardial remodeling in hypertensive heart disease. *Cardiovasc Res*, v. 81, p. 509-518, 2009.

GRADMAN, A. H.; ALFAYOUMI, F. From left ventricular hypertrophy to congestive heart failure: management of hypertensive heart disease. *Prog Cardiovasc Dis*, v. 48, p. 326-41, 2006.

GRUBER, B. L. et al. Synovial procollagenase activation by human mast cell tryptase dependence upon matrix metalloproteinase 3 activation. *J Clin Invest*, v. 84, p. 1657-1662, 1989.

HARA, M. et al. Evidence for a role of mast cells in the evolution to congestive heart failure. *J Exp Med*, v. 195, p. 375-381, 2002.

HEIKKILA, H. M. et al. Activated mast cells induce endothelial cell apoptosis by a combined action of chymase and tumor necrosis factor-alpha. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, v. 28, p. 309-314, 2008.

HILL, J. A.; OLSON, E. N. Cardiac plasticity. *N Engl J Med*, v. 358, p. 1370-1380, 2008.

JIMÉNEZ-NAVARRO, M. F. et al. Collagen synthesis and heart failure. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*, v. 58, p. 975-8; 2005.

JORGE, A. C. et al. Avaliação Histológica da Fibrose Cardíaca de Indivíduos Urêmicos Hipertensos: Estudo Caso e Controle. *J Bras Nefrol*, v. 26, n. 4, p. 190-195, 2004.

JUNQUEIRA, L. C. U.; BIGNOLAS, G.; BRENTANI, R. R. A simple and sensitive 6 method for the quantitative estimation of collagen. *Anal Biochem*, v. 94, n. 7 p. 96-99, 1979.

KAARTINEN, M.; PENTTILA, A.; KOVANEN, P.T. Accumulation of activated mast cells in the shoulder region of human coronary atheroma, the predilection site of atheromatous rupture. *Circulation*, v. 90, p. 1669-78, 1994.

KANNEL, W. B.; GORDON, T.; OFFUT, D. Left ventricular hypertrophy by electrocardiogram. Prevalence, incidence, and mortality in the Framingham study. *Ann Intern Med*, V. 71, N. 1, P. 89-105, 1969.

KANNEL, W. Left ventricular hypertrophy as a risk factor: The Framingham experience. *J Hypertens*, v. 9, p. 2-9, 1991.

KANELLAKIS, P. et al. A pro-fibrotic role for interleukin-4 in cardiac pressure overload. *Cardiovasc Res*, v. 95, n. 1, p. 77-85, 2012.

KAPUKU, G. K. et al. Early markers of cardiovascular disease. *Vasc Pharmacol*, v. 45, p. 277-280, 2006.

KAWEL, N. et al. Normal left ventricular myocardial thickness for middle aged and older subjects with SSFP cardiac MR: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis *Circ Cardiovasc Imaging*, v. 5, p. 500-508, 2012.

KINET, J. The essential role of mast cells in orchestrating inflammation. *Immunol Rev*, v.217, p. 5-7, 2007.

KIZER, J. R.; ARNETT, D. K.; BELLA, J. N. Differences in left ventricular structure between black and white hypertensive adults: the Hypertension Genetic Epidemiology Network study. *Hypertension*, v. 43, p. 1182, 2004.

KONSTANTINOV, I.E. et al. Anichkov and his theory of atherosclerosis. *Tex Heart Inst J*, v. 33n. 4, p. 417-23, 2006.

KOVANEN, P. T. Mast cells: multipotent local effector cells in atherothrombosis. *Immunol Rev*, n. 217, p. 105-122, 2007.

KOVANEN, P.T.; KAARTINEN, M.; PAAVONEN, T. Infiltrates of activated mast cells at the site of coronary atheromatous erosion or rupture in myocardial infarction. *Circulation*, v. 92, p. 1087-8, 1995.

KUMAR, N. T. et al. Postmortem heart weight: relation to body size and effects of cardiovascular disease and cancer. *Cardiovasc Pathol*, v. 23, p. 5-11, 2014.

LEES, M.; TAYLOR, D. J.; WOOLLEY, D. E. Mast cell proteinases activate precursor forms of collagenase and stromelysin, but not of gelatinases A and B. *Eur J Biochem*, v. 223, p. 171–177, 1994.

LESKINEN, M. J. et al. Mast cell chymase induces smooth muscle cell apoptosis by a mechanism involving fibronectin degradation and disruption of focal adhesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, v. 23, p. 238-243, 2003.

LEVICK, S. P. et al. Cardiac mast cells mediate left ventricular fibrosis in the hypertensive rat heart. *Hypertension*, v. 53, p. 1041–1047, 2009.

LEVICK, S. P. et al. Cardiac mast cells: the centrepiece in adverse myocardial remodelling. *Cardiovasc Res*, v. 89, p. 12–19, 2011.

LÓPEZ, B. et al. Biochemical Assessment of Myocardial Fibrosis in Hypertensive Heart Disease. *Hypertension*, v. 38, p. 1222-1226, 2001.

LOVIC, D.; ERDINE, S.; ÇATAKOĞLU, A. B. How to estimate left ventricular hypertrophy in hypertensive patients. *Anadolu Kardiyol*, v. 14, p. 389-95, 2014.

LUITEL, H. et al. Pressure overload leads to an increased accumulation and activity of mast cells in the right ventricle. *Physiol Rep*, v. 5, n. 6, p. e13146, 2017.

LYNGBAKKEN, M. N. et al. Novel biomarkers of cardiovascular disease: Applications in clinical practice. *Crit Rev Clin Lab Sci*, v. 20, p. 1-28, 2018.

MANCIA, G. et al. Prevalence of left ventricular hypertrophy in hypertensive patients without and with blood pressure control: data from the PAMELA population. *Hypertension*, v. 39, p. 744-9, 2002.

MATSUMOTO, T. et al. Chymase inhibition prevents cardiac fibrosis and improves diastolic dysfunction in the progression of heart failure. *Circulation*, v. 107, p. 2555-8, 2003.

MEHTA, N. J.; KHAN, I. A. Cardiology's 10 greatest discoveries of the 20th century. *Tex Heart Inst J*, v. 29, n. 2, p. 167-71, 2002.

MELVILLE, S.; BYRD, J.B. Personalized Medicine and the Treatment of Hypertension. *Curr Hypertens Rep*, v. 21, n. 2, p. 13, 2019.

METCALFE, D. D.; BARAM, D.; MEKORI, Y. A. Mast cells. *Physiol Rev*, v. 77, p. 1033-1079, 1997.

METCALFE, D. D. Mast cells and mastocytosis. *Blood J*, v. 112, p. 946-956, 2008.

MUJUMDAR, V. S.; TYAGI, S.C. Temporal regulation of extracellular matrix components in transition from compensatory hypertrophy to decompensatory heart failure. *J Hypertens*, v. 17, p. 261-70, 1999.

MORGAN, L. G. et al. A novel technique for isolating functional mast cells from the heart. *Inflamm Res*, v. 57, p. 1-6, 2008

MURRAY, D. B. et al. Endothelin-1 mediates cardiac mast cell degranulation, matrix metalloproteinase activation, and myocardial remodeling in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v. 287, p. 2295-2299, 2004.

NADRUZ, W. Myocardial remodeling in hypertension. *J Hum Hypertens*, v. 29, n. 1, p. 1-6, 2015.

NEELAND, I. J. et al. Relation of regional fat distribution to left ventricular structure and function. *Circ Cardiovasc Imaging*, v. 6, p. 800-7, 2013.

OKAYAMA, Y.; KAWAKAMI, T. Development, migration, and survival of mast cells. *Immunol Res*, v. 34, p. 97-115, 2006.

OLIVETTI, G. et al. Long-term pressure-induced cardiac hypertrophy: capillary and mast cell proliferation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v. 257, p. 1766–1772, 1989.

OMRAN, A. R. The epidemiologic Transition: a theory of epidemiology of population change. *Milbank Mem Fund Q*, v. 49, p. 509-538, 1971.

PALANIYANDI, S. S. et al. Chymase inhibition reduces the progression to heart failure after autoimmune myocarditis in rats. *Exp Biol Med*; v. 232, p. 1213–1221, 2007.

PALANIYANDI, S. S.; INAGAKI, K.; MOCHLY-ROSEN, D. Mast cells and epsilonPKC: a role in cardiac remodeling in hypertension-induced heart failure. *J Mol Cell Cardiol*, v. 45, p. 779-786, 2008.

PANIZO, A. et al. Are mast cells involved in hypertensive heart disease? *J Hypertens*, v. 13, p. 1201–1208, 1995.

PANT, S. et al. Inflammation and atherosclerosis--revisited. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, v. 19, n. 2, p. 170-178, 2014.

PASTORELLO, E. A. et al. Serum Tryptase: A New Biomarker in Patients with Acute Coronary Syndrome? *Int Arch Allergy Immunol*, v. 164, p. 97-105, 2014.

PATELLA, V. et al. Stem cell factor in mast cells and increased mast cell density in idiopathic and ischemic cardiomyopathy. *Circulation*, v. 17, p. 971-978, 1998.

PEREIRA, F. E. L. Hipertrofia cardíaca: Aspectos Morfológicos e Clínicos. In: *Contratilidade Miocárdica. Aspectos Básicos e Clínicos*, 1.ed. São Paulo, 1993. cap. II, p.29-40.

PETRETTO, E. R. et al. Integrated genomic approaches implicate osteoglycin(Ogn) in the regulation of left ventricular mass. *Nat Genet*, v. 40, n. 5, p. 546-552, 2008.

POST, W. S. et al. Heritability of leftventricular mass: The Framingham Heart Study. *Hypertension*, v. 30, 1025-1028, 1997.

REID, A. C. et al. Targeting Cardiac Mast Cells: Pharmacological Modulation of the Local Renin-Angiotensin System. *Curr Pharm*, v. 17, n. 34, 3744-3752, 2011.

REILLY, C. F. et al. Rapid conversion of angiotensin I to angiotensin II by neutrophil and mast cell proteinases. *J Biol Chem*, v. 257, n. 15, p. 8619-8622, 1982.

RIBEIRO, A. L. et al. Cardiovascular Health in Brazil: Trends and Perspectives. *Circulation*, v. 133, n. 4, p. 422-33, 2016.

RIVERA, S.L.; MARTIN, J.; LANDRY J. Acute and Chronic Hypertension: What Clinicians Need to Know for Diagnosis and Management. *Crit Care Nurs Clin North Am*, v. 31, n. 1, p. 97-108, 2019.

- RIZZI, E. et al. Matrix Metalloproteinase Inhibition Improves Cardiac Dysfunction and Remodeling in 2-Kidney, 1-Clip Hypertension. *J Card Fail*, v. 16, n. 7, p. 599-607, 2010.
- RIZZI, E. et al. Tempol inhibits TGF- $\beta$  and MMPs upregulation and prevents cardiac hypertensive changes. *Int J Cardiol*, v. 165, p. 165-173, 2011.
- RIZZI, E. et al. Temporal changes in cardiac matrix metalloproteinase activity oxidative stress, and TGF- $\beta$  in renovascular hypertension-induced cardiac hypertrophy. *Exp Mol Pathol*, v. 94, p. 1-9, 2013.
- ROBERTS, I. S. et al. Post-mortem imaging as an alternative to autopsy in the diagnosis of adult deaths: a validation study. *Lancet*, v. 14, p. 136-42, 2012.
- RODRIGUES, S.L.; PIMENTEL, E. B.; MILL, J. G. Peso dos ventrículos cardíacos determinado em necropsia de indivíduos saudáveis mortos por causas externas. *Arq Bras Cardiol*, v. 89, p. 279-84, 2007.
- RODRIGUES, F. R. et al. O decréscimo vertiginoso das autópsias em um hospital universitário do Brasil nos últimos 20 anos. *J Bras Patol Med Lab*, v. 47, n. 4, p. 445-450, 2011.
- ROSSI, M. A. Pathologic fibrosis and connective tissue matrix in left ventricular hypertrophy due to chronic arterial hypertension in humans. *J Hypertens*, v. 16, p. 1031-1041, 1998.
- ROTHENBERG K. The Autopsy through History. In Ayn Embar-seddon, Allan D. Pass (eds). *Forensic Science*. Salem Press, p. 100–100, 2008.
- SALTON, C. M. L. et al. Gender differences and normal left ventricular anatomy in an adult population free of hypertension: a cardiovascular magnetic resonance study of the Framingham Heart Study Offspring Cohort. *J Am Coll Cardiol*, v. 39, p. 1055-60, 2002.
- SANT'ANNA, M. P. et al. Hipertrofia cardíaca esquerda e direita em necropsias de hipertensos. *Rev Assoc Med Bras (1992)*, v. 58, p. 41-47, 2012.
- SCHMIDT, M.I. et al. Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges. *Lancet*, v. 377, p. 1949–1961, 2011.
- SCHOEN, F. J.; MITCHELL, R. N. O Coração. In: KUMAR, V.; ABBAS, A. K; FAUSTO, N. Robbins & Cotran. *Patologia: bases patológicas das doenças*. 8ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2010. p. 538.
- SCHWARTZKOPFF, B. et al. Structural and functional alterations of the intramyocardial coronary arterioles in patients with arterial hypertension. *Circulation*, v. 88, p. 993-1003, 1993.
- SHAHBAZ, A. U. et al. Fibrosis in hypertensive heart disease: molecular pathways and cardioprotective strategies. *J Hypertens*, v. 28, n. 1, p. 25–32, 2010.

SHIOTA, N. et al. A role for cardiac mast cells in the pathogenesis of hypertensive heart disease. *Journal of Hypertension*, v. 21, p.1935-1944, 2003.

SILVA, R. P.; AMODEO, C.; RAMIRES, J. A. F. O ventrículo direito e a hipertensão arterial: aspectos ecocardiográficos. *Arq Bras Cardiol*, v. 79, p. 313-8, 2002.

SPINALE, F. G. Myocardial matrix remodeling and the matrix metalloproteinases: influence on cardiac form and function. *Physiol Rev*, v. 87, n.4, p. 1285-342, 2007.

STARY, H.C. Natural history and histological classification of atherosclerotic lesions: an update. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, v. 20, p. 1177-8, 2000.

SUZUKI, K. et al. Activation of precursors for matrix metalloproteinases 1 (interstitial collagenase) and 3 (stromelysin) by rat mast-cell proteinases I and II. *Biochem J*; v. 305, p. 301–306, 1995.

TANAKA, M. et al. Quantitative analysis of myocardial fibrosis in normals, hypertensive hearts, and hypertrophic cardiomyopathy. *Br Heart J*, v. 55, p. 575-581, 1986.

TCHOUGOUNOVA, E. et al. A key role for mast cell chymase in the activation of pro-matrix metalloprotease-9 and pro-matrix metalloprotease-2. *J Biol Chem*, v. 280, p. 9291–9296, 2005.

TEEKAKIRIKUL, P. et al. Cardiac fibrosis in mice with hypertrophic cardiomyopathy is mediated by non-myocyte proliferation and requires TGF-beta. *J Clin Invest*, v. 120, p. 3520-3529, 2010.

THEOHARIDES, T. C. et al. Differential release of mast cell mediators and the pathogenesis of inflammation. *Immunol. Rev*, v. 217, p. 65-78, 2007.

TSURUDA, T. et al. Adrenomedullin in mast cells of abdominal aortic aneurysm. *Cardiovasc Res*, v. 70, p. 158-164, 2006.

VAKILI, B. A.; OKIN, P. M.; DEVEREUX, R. B. Prognostic implications of left ventricular hypertrophy. *Am Heart J*, v. 141 n. 3, p. 334-341, 2001.

VASAN, R. S. et al. Association of leukocyte telomere length with echocardiographic left ventricular mass: the Framingham heart study. *Circulation*, v. 120, p. 1195-1202, 2009.

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.

WILSON, P. W. F. et al. Prediction of Coronary Heart Disease Using Risk Factor Categories. *Circulation*, v. 97, n. 18, p. 1837-1847, 1998.

World Health Organization. Cardiovascular diseases (CVDs). 2017. Disponível em: [http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)). Acesso em: 23 nov 2018.

World Health Organization. Noncommunicable Diseases Progress Monitor. 2017. Disponível em: <http://www.who.int/nmh/publications/ncd-progress-monitor-2017/en/>. Acesso em: 24 nov 2018.