

Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Mariana Silva Oliveira

**Avaliação morfológica da aterosclerose nas artérias aortas,
carótidas e ilíacas de pacientes autopsiados**

**UBERABA - MG
2021**

Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Mariana Silva Oliveira

**Avaliação morfológica da aterosclerose nas artérias aortas,
carótidas e ilíacas de pacientes autopsiados**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, área de concentração "Patologia Básica e Experimental", da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

**Orientadora: Prof^a Dr^a Mara Lúcia da
Fonseca Ferraz**

**Coorientador: Prof. Dr. Vicente de Paula
Antunes Teixeira**

**UBERABA - MG
2021**

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

O45a Oliveira, Mariana Silva
Avaliação morfológica da aterosclerose nas artérias aortas,
carótidas e ilíacas de pacientes autopsiados / Mariana Silva Oliveira.
– 2021.
61 f. il.: fig., graf., tab.

Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Fe-
deral do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2021
Orientadora: Profa. Dra. Mara Lúcia da Fonseca Ferraz
Coorientador: Prof. Dr. Vicente de Paula Antunes Teixeira

1. Aterosclerose. 2. Cardiopatias. 3. Artérias. 4. Autópsia.
I. Ferraz, Mara Lúcia da Fonseca. II. Universidade Federal do
Triângulo Mineiro. IV. Título.

CDU 616.13-004.6

Amanda Franzão R. Silva
CRB-6/3461

Mariana Silva Oliveira

Avaliação morfológica da aterosclerose nas artérias aortas,
carótidas e ilíacas de pacientes autopsiados

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, área de concentração "Patologia Básica e Experimental", da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciências da Saúde.

Orientadora: Mara Lúcia da Fonseca Ferraz

Coorientador: Vicente de Paula Antunes Teixeira

Uberaba-MG, 19 de janeiro de 2021.

Banca Examinadora:

Profª Drª Mara Lúcia da Fonseca Ferraz - Orientadora

Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Profª Drª Renata Calciolari Rossi

Universidade do Oeste Paulista

Profª Drª Mariana Molinar Mauad Cintra

Universidade de Uberaba

Profª Drª Jurema Ribeiro Luiz Gonçalves

Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Prof Dr Guilherme Ribeiro Juliano

Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Dedicatória

Dedico o meu trabalho à minha família, amigos e a todos que contribuíram para a minha caminhada que sempre me apoiam, encorajam e são presença em minha vida. Graças a vocês consegui atingir essa etapa tão importante em minha vida, me mostrando os caminhos a serem percorridos, dando conselhos, apoio e acolhida em todos os momentos. Sei que vocês estarão sempre ao meu lado em todos os momentos de minha vida.

Agradecimentos

A **Deus** por todos os caminhos que Ele me direciona e orienta, me auxiliando a superar os obstáculos, com fé e sabedoria.

Aos meus pais **Alzira e Rogério** que são meu porto seguro, meus exemplos e inspiração.

À minha avó **Maria Dorcelina** por todas as orações, escuta e acolhimento.

À minha irmã **Ana Laura** pelas palavras amigas e paciência.

Ao meu marido **Victor** pelo amor, paciência nos momentos difíceis, acolhimento e conselhos.

Aos meus sogros **Vicente e Sonia** pelo apoio, força e palavras amigas.

À minha orientadora **Mara** pelo incentivo, compreensão e apoio.

Agradeço aos **professores e funcionários da Disciplina de Patologia Geral e do programa de Pós Graduação** pelo conhecimento, paciência e valiosas vivências compartilhadas.

Agradeço **a meus amigos que fiz através da Pós Graduação** pela amizade, pelos conselhos, ensinamentos e apoio.

Deixo meu sincero agradecimento a **todas as pessoas** que ao cruzarem o meu caminho deixaram uma contribuição para o meu aprendizado e crescimento.

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).

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1 Angiogênese	10
1.2 Disfunção endotelial	11
1.3 Aterosclerose	11
1.4. A importância da autópsia na pesquisa	15
2. JUSTIFICATIVA	17
3. OBJETIVOS	19
4. ARTIGOS	21
4.1. Artigo 1 – Achado encontrado durante a coleta e análise dos materiais biológicos	21
4.2. Artigo 2 – Resultado da avaliação macroscópica das artérias aorta, ilíacas e carótidas através de método desenvolvido pela equipe de pesquisa	28
4.3. Artigo 3 - Estudo morfológico da aterosclerose nas artérias aortas, carótidas e ilíacas de pacientes autopsiados	44
5. COMENTÁRIOS	60
6. CONCLUSÕES	62
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64

INTRODUÇÃO

1. Introdução

1.1 Angiogênese

A angiogênese inicia-se na terceira semana do desenvolvimento embrionário, onde ocorre agregação de angioblastos com formação de células angiogênicas e as ilhotas sanguíneas. Através da convergência das fendas entre as células, dá-se as cavidades (MOORE, 2013).

A formação das células endoteliais ocorre pelo achatamento dos angioblastos, que ficam localizados ao redor da cavidade formada. Os vasos estendem-se para outras regiões com o objetivo de irrigar os locais de formação de órgão através do processo de brotos ou fusões com outros canais endoteliais (MOORE, 2013).

Sendo a principal artéria do corpo humano, devido a capacidade de circulação sistêmica (RICE, et al., 2007), a aorta forma-se também na terceira semana embrionária. A artéria aorta emerge do ventrículo esquerdo cardíaco e é dividida anatomicamente em raiz da aorta, aorta ascendente, arco da aorta e aorta descendente (GARDNER, 1999).

Na quarta semana embrionária, há o desenvolvimento dos arcos faríngeos que são supridos pelos arcos aórticos. Os arcos aórticos irão originar as artérias carótidas comuns, carótidas internas, carótidas externas, dentre outros importantes vasos sanguíneos (MOORE, 2013).

As carótidas comuns ascendem até o nível da quarta vértebra cervical, quando então se bifurcam em carótida externa, medialmente, e carótida interna, lateralmente (GARDNER, 1999).

As artérias ilíacas comuns, direita e esquerda, são originárias da bifurcação da porção descendente da artéria aorta. As artérias ilíacas comuns dividem-se bilateralmente em artérias ilíacas internas e externas (DATE et al., 2014).

A artéria aorta, as carótidas e as ilíacas são constituídas de três camadas, sendo elas a camada íntima formada por epitélio sustentado por pequena quantidade de tecido conjuntivo frouxo, a camada média que consiste em porções variáveis de músculo liso e tecido elástico e a camada adventícia, que se compõe tanto de fibras elásticas quanto de fibras colágenas

(GARDNER, 1988).. Tais artérias classificadas como grandes artérias elásticas com a função de estabilização do fluxo sanguíneo. Isso ocorre, pois estruturalmente elas possuem lâminas elásticas na camada média, que são circundadas por fibras musculares lisas, fibras de colágeno, proteoglicanas e glicoproteínas (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2013).

1.2 Disfunção endotelial

O endotélio dos vasos é o tecido que regula a passagem das moléculas na parede celular, com isso modula o fluxo sanguíneo, a resistência e regula reações imunológicas e inflamatórias frente a alguma situação adversa (SCHOEN, 2005; GOTO et al., 2003)

Quando há uma agressão endotelial, como por exemplo a dislipidemia, a resposta inflamatória é uma forma de defesa frente a tal situação. Agressões persistentes e constantes causam uma disfunção endotelial, fazendo com que este tecido sofra uma redução das suas funções, como a capacidade de proteção do vaso (GHISI et al., 2010; ALLEN et al., 2006).

Com a disfunção endotelial ocorre um remodelamento arterial, causando enrijecimento do vaso e propiciando o desenvolvimento da aterosclerose, o que irá prejudicar progressivamente o fluxo sanguíneo pois reduz a luz do vaso, além de reduzir a capacidade de vasodilatação (ALLEN et al., 2006; SCHOEN, 2005).

1.3 Aterosclerose

As doenças cardiovasculares, no cenário atual, são responsáveis por aproximadamente um terço das causas de morte no Brasil (BRASILa, 2014), sendo também responsáveis por aproximadamente metade das causas de morte no continente europeu, sendo mais frequente em pessoas com idade avançada (NICHOLS et al., 2014).

No Brasil, as mortes em indivíduos com 50 anos ou mais causadas por doenças cardiovasculares foram responsáveis por aproximadamente 145 mil

Introdução

ocorrências, representando 32% do total de casos notificados (BRASILb, 2012), e as internações no ano de 2014 representaram 22%, tendo como a principal causa essas doenças (BRASILb, 2014).

Em meados de 1913, Anitschkov e Chalatov realizaram um experimento em que eles suspeitaram que o depósito de colesterol em uma lesão aterosclerótica seria causado pelo consumo excessivo de gordura e testaram esta hipótese por meio de uma indução de dieta rica em colesterol em coelhos. Através desse experimento chegaram à conclusão de que o consumo excessivo de colesterol é um dos fatores contribuintes para o desenvolvimento da placa aterosclerótica, sendo esta constituída não apenas por lipídios, mas também por uma variedade de células, dentre elas, os leucócitos, células musculares lisas, macrófagos e linfócitos (HANSSON, 2009).

O termo aterosclerose vem do grego sendo *athéros* - papa, mingau - e *sclerós* - endurecimento, descrito devido ao endurecimento do vaso e depósito de moléculas de lipídios (DUQUE, 1998).

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica (KETELHUTH e HANSSON, 2015) que se caracteriza pela formação de placas fibroateromatosas nas camadas íntima e média das artérias de médio e grande calibre, sendo estas placas fatores que predisõem a obstrução arterial, a isquemia, a hipotrofia, degenerações e necrose nos órgãos afetados (ROSS, 1993; CHIU *et al.*, 2006). O acometimento se inicia de forma silenciosa e assintomática até que a progressão da lesão ou a obstrução do vaso sejam mais severas (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2014).

Os vasos sanguíneos, principalmente artérias elásticas de médio e grande calibre são acometidos pelo agravo (KRAUSE *et al.*, 2007), como a aorta. Sua etiologia pode ser relacionada a vários fatores de risco, com influências genéticas e ambientais (PERK *et al.*, 2012).

A base morfológica do dano às células causado pela aterosclerose é resultante de uma interação complexa entre diferentes tipos celulares, presentes tanto na circulação quanto na estrutura da parede vascular (BORSHCH *et al.*, 2012). O remodelamento arterial provocado por este processo é um processo dinâmico que tem um papel crucial nos mecanismos dos danos que ocorrem em resposta à aterosclerose (SINDERMANN JR &

MARCH, 2005) envolvendo componentes celulares e não celulares do vaso, levando à alteração da massa e da composição da parede.

A progressão da lesão inicial pode levar ao acúmulo de lipídeos extracelulares, principalmente o colesterol e cálcio, muitas vezes levando à obstrução parcial ou total da luz vascular, o que limita o fluxo de sangue rico em oxigênio ao corpo. A aterosclerose pode ser assintomática até que a progressão da lesão e a obstrução do vaso sejam mais severas (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2014). Ela afeta os vasos sanguíneos periféricos e centrais, com prolongadas evoluções de lesões, que tendem a se agravar com o tempo (KRAUSE et al., 2007; RICE et al., 2007; KHANNA, 2013).

Há vários fatores de risco para o desenvolvimento aterogênico, como o aumento dos níveis de triglicerídeos (TG), de colesterol total (CT) e de colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL-colesterol); a diminuição do colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL-colesterol); a hipertensão; a diabetes; o tabagismo e a inatividade física. Dentre esses fatores, o perfil lipídico tem sido amplamente estudado pela sua elevada associação com a aterogênese (KRAUSE et al., 2007; GÓES JUNIOR et al., 2007). Aproximadamente 10% da população mundial tem evidência clínica da aterosclerose, que normalmente não causa morte, mas é responsável por várias doenças cardiovasculares (MANDUTEANU et al., 2012).

Macroscopicamente a aterosclerose caracteriza-se pela progressão do depósito lipídico, que originam as estrias, que posteriormente evoluem para placas fibroateromatosas nas camadas íntima e média das artérias de médio e grande calibre. Pode apresentar desde lesões discretas na parede das artérias, até a obstruções levando à isquemia e subsequente hipotrofia, degenerações e necrose nos órgãos afetados (CHIU et al., 2006). Apesar das manifestações clínicas da aterosclerose geralmente ocorrerem na idade adulta, a fase pré-clínica, é constituída pelo acúmulo de lipídios e inflamações na parede arterial, que podem ser encontrados durante o desenvolvimento fetal (NAPOLI, 2007). No processo inflamatório, que dá início à formação da placa ateromatosa, as células musculares lisas da íntima secretam colágeno, fibras elásticas e proteoglicanas para a matriz extracelular (INSULL, 2009; LIU, et al., 2013).

A degradação de fibras elásticas é um processo proeminente na aterosclerose (KURTZ et al., 2012). As calcificações que ocorrem nas placas ateroscleróticas podem afetar as fibras elásticas, devido a calcificação da elastina, que resulta em completa degradação das fibras elásticas (BOBRY SHEV, 2005).

O desenvolvimento de depósitos lipídicos provocam várias mudanças no colágeno da camada íntima. Um aumento generalizado no colágeno, caracterizando a fibrose, pode ser resultado da hiperplasia de músculo liso, e também da produção de fatores de crescimento que aumentam a expressão de genes responsáveis pela produção de colágeno em uma variedade de células (MORTON e BARNES, 1982; IGNOTZ e MASSAGUE, 1986). Esse remodelamento arterial pode provocar alterações no diâmetro e na espessura do vaso devido ao aumento da espessura média da camada íntima das artérias (STRONG, 1992).

Embora a aterosclerose seja um processo que possa acometer toda a árvore circulatória, sendo encontrada em qualquer artéria de grande ou médio calibre, a doença tende a localizar-se em áreas particulares do sistema arterial, como os segmentos aortoilíaco, ilíacofemoral ou as artérias carótidas. Fatores como modificações do fluxo sanguíneo, alterações da pressão extravascular e particularidades anatômicas e bioquímicas parecem explicar a preferência das lesões por esses vasos (BRASILEIRO FILHO, 2011).

A aterosclerose é responsável por um grande impacto na mortalidade mundial (PENG et al., 2017), atinge diferentes artérias, musculares e elásticas, de grande ou médio calibre e acomete preferencialmente a camada íntima, podendo também atingir a camada média (CAGLE e COOPERSTEIN, 2018), sendo fator de risco para eventos cardiovasculares e morte súbita (ABOYANS et al., 2018).

Sendo escassas as publicações abordando a evolução morfológica da aterosclerose em várias artérias como aortas, carótidas e ilíacas, o presente estudo contribuirá com a descrição de aspectos morfológicos da doença de pacientes autopsiados, fornecendo subsídios morfológicos e epidemiológicos para abordagens preventivas e realização de outros estudos.

1.4. A importância da autópsia na pesquisa

A autópsia trata-se de um exame patológico através da dissecação de um cadáver com o objetivo de investigar e avaliar processos patológicos existentes (KING & MEEHAN, 1973).

A autópsia é um exame técnico que fornece dados importantes sobre o processo de morte da pessoa, sendo que a realização deste exame associado ao uso de novas técnicas e tecnologias auxilia o examinador a encontrar mais informações e realizar avaliações mais precisas e importantes que contribuem para a evolução da pesquisa e o entendimento das doenças (FERRARA, 2017).

No exame de autópsia é possível encontrar alterações que não foram vistas nos exames in vivo e compreender os mais variados processos de uma doença, portanto faz-se necessário o incentivo de realização desta técnica para que através das evidências científicas, consolide e valorize a importância da autópsia para a sociedade (CECCHETTO, et al., 2017).

JUSTIFICATIVA

2. Justificativa

As doenças cardiovasculares são responsáveis por aproximadamente um terço das causas de morte no Brasil, principalmente em indivíduos com 50 anos ou mais (BRASIL, 2014), sendo também responsáveis por aproximadamente metade das causas de morte no continente europeu, sendo mais frequente em pessoas com idade avançada (NICHOLS et al., 2014).

Sendo escassas as publicações abordando a evolução macroscópica e microscópica da aterosclerose em várias artérias como aortas, carótidas e ilíacas e em material de autópsia, o presente estudo contribuirá com a descrição de aspectos morfológicos da doença de pacientes autopsiados, fornecendo subsídios morfológicos e epidemiológicos para abordagens preventivas e realização de outros estudos, além de contribuir para a valorização dos estudos anatomopatológicos realizados através de exames de autópsia.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

Em relação às aortas, carótidas e íliacas de pacientes autopsiados, foram abordados os seguintes objetivos:

1. Quantificar macroscopicamente, de forma semi-quantitativa, a intensidade da aterosclerose e compará-la de acordo com o sexo, a causa de morte e correlacioná-la com a idade;
2. Comparar, por meio de métodos morfométricos, a espessura das camadas íntima e média em relação ao sexo, a causa de morte e correlacioná-la com a idade;
3. Quantificar a porcentagem de depósito lipídico e compará-la com o sexo, a causa de morte e correlacioná-la com a idade;
4. Quantificar a porcentagem de fibras colágenas e compará-la de acordo com o sexo, a causa de morte e correlacioná-la com a idade.

ARTIGOS

4. ARTIGOS

4.1. Artigo 1 – Caso raro encontrado durante a coleta e análise dos materiais biológicos

Bone metaplasia with functional bone marrow in arterial calcification of two autopsied patients

Mariana Silva Oliveira, Bianca Gonçalves Silva Torquato,
Maria Luiza Gonçalves dos Reis Monteiro, Ian Pedro Borges Rezende,
Júlia Neves Silva Dutra, Mara Lúcia da Fonseca Ferraz

ABSTRACT

Osteoid metaplasia with functioning marrow is a rare pathological process in arterial calcifications, associated to the asymptomatic development of atherosclerotic plaques. Objective: To describe morphological aspects of bone metaplasia in arterial calcifications and its pathogenesis in two cases. Macroscopic examination of iliac arteries was performed and fragments of approximately 2 cm of the right and left iliac arteries were collected for microscopic analysis of atherosclerosis. These fragments were processed histologically and stained with hematoxylin and eosin (HE). A pronounced atherosclerosis, characterized by diffuse atheroma plaques and foci of calcifications, was evidenced. In both cases, in intima layer of atherosclerotic plaque in right iliac artery, a dilatation, and the presence of bone metaplasia with bone trabeculae, calcifications, and functioning bone marrow with red blood cells and megakaryocytes were observed. Due to the rarity of this lesion, its description allows better characterization of morphological data and pathogenesis.

Keywords: Autopsy, Bone marrow, Calcinoses, Iliac artery

Mariana Silva Oliveira¹, Bianca Gonçalves Silva Torquato¹,
Maria Luiza Gonçalves dos Reis Monteiro¹, Ian Pedro
Borges Rezende¹, Júlia Neves Silva Dutra¹, Mara Lúcia
da Fonseca Ferraz¹

Affiliation: ¹General Pathology Discipline, Federal University of Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba, Minas Gerais, Brazil.

Corresponding Author: Mara Lúcia da Fonseca Ferraz, General Pathology Discipline, Federal University of Triângulo Mineiro, Avenida Frei Paulino, n. 30, Bairro Abadia, CEP: 38025-180, Uberaba, Minas Gerais, Brazil; Email: mara.ferraz@yahoo.com.br

Received: 12 September 2019

Accepted: 14 February 2020

Published: 23 March 2020

How to cite this article

Oliveira MS, Torquato BGS, dos Reis Monteiro MLG, Rezende IPB, Dutra JNS, da Fonseca Ferraz ML. Bone metaplasia with functional bone marrow in arterial calcification of two autopsied patients. Int J Case Rep Images 2020;11:101105Z01MG2020.

Article ID: 101105Z01MG2020

doi: 10.5348/101105Z01MO2020CS

INTRODUCTION

Progression of atherosclerotic lesions leads to accumulation of extracellular lipids and calcium, with partial or total obstruction of vascular lumen [1]. The prevalence of arterial calcification in atherosclerotic lesions is 90%, considered as an independent risk factor for cardiovascular mortality [2, 3].

Arterial calcification interferes with atherosclerotic plaque stability and may lead to its rupture. Microcalcifications increase the risk of rupture [4, 5], but lesions with high calcium volume are generally more stable [6, 7]. Calcifications also interfere with endovascular repair during surgical procedure, making it difficult to repair vessels and perform arterial anastomoses [8, 9].

Rarely, bone tissue can be formed in atheromatous lesions, characterized by osteoid matrix, bone cells, osteoclasts, and regulatory bone cytokines [7]. This formation, in carotid lesions, is a process known as osteoid metaplasia and is associated with asymptomatic development of atherosclerotic plaques [7]. The formation of bone tissue with functioning bone marrow in an arterial calcification is a poorly elucidated pathological process in scientific literature [10].

Bone metaplasia with functional bone marrow in arterial calcification of two autopsied patients

ABSTRACT

Osteoid metaplasia with functioning marrow is a rare pathological process in arterial calcifications, associated to the asymptomatic development of atherosclerotic plaques. Objective: To describe morphological aspects of bone metaplasia in arterial calcifications and its pathogenesis in two cases. Macroscopic examination of iliac arteries was performed and fragments of approximately 2 cm of the right and left iliac arteries were collected for microscopic analysis of atherosclerosis. These fragments were processed histologically and stained with hematoxylin and eosin (HE). A pronounced atherosclerosis, characterized by diffuse atheroma plaques and foci of calcifications, was evidenced. In both cases, in intima layer of atherosclerotic plaque in right iliac artery, a dilatation, and the presence of bone metaplasia with bone trabeculae, calcifications, and functioning bone marrow with red blood cells and megakaryocytes were observed. Due to the rarity of this lesion, its description allows better characterization of morphological data and pathogenesis.

Keywords: Autopsy, Bone marrow, Calcinosis, Iliac artery

INTRODUCTION

Progression of atherosclerotic lesions leads to accumulation of extracellular lipids and calcium, with partial or total obstruction of vascular lumen [1]. The prevalence of arterial calcification in atherosclerotic lesions is 90%, considered as an independent risk factor for cardiovascular mortality [2],[3].

Arterial calcification interferes with atherosclerotic plaque stability and may lead to its rupture. Microcalcifications increase the risk of rupture [4],[5], but lesions with high calcium volume are generally more stable [6],[7]. Calcifications also interfere with endovascular repair during surgical procedure, making it difficult to repair vessels and perform arterial anastomoses [8],[9].

Rarely, bone tissue can be formed in atheromatous lesions, characterized by osteoid matrix, bone cells, osteoclasts, and regulatory bone cytokines [7]. This formation, in carotid lesions, is a process known as osteoid metaplasia and is associated with asymptomatic development of atherosclerotic plaques [7]. The formation of bone tissue with functioning bone marrow in an arterial calcification is a poorly elucidated pathological process in scientific literature [10].

Autopsy material is very interesting for research. Therefore, this study aims to describe morphological aspects and pathogenesis of bone metaplasia in arterial calcifications.

CASE SERIES

Methods

The present study was approved by the Research Ethics Committee of Federal University of Triângulo Mineiro, according to the certificate of presentation for ethical appreciation (CAAE): 56931816.4.0000.5154.

Pathology examination

The anatomopathological examination was performed in HC-UFTM by necropsy in two white patients, the patient 1 was 82 years old, female, with body weight of 35 kg and height of 140 cm, leading to a body mass index of 17.9 kg/m², characteristics of marked malnutrition¹¹. She presented anasarca, probable osteoporosis, sternal and rib friability, and surgical scar due to correction of right femoral neck fracture. Internal examination revealed severe atherosclerotic arteriosclerosis in aorta and its main branches, which, in association with a localized compression of the large intestinal mucosa by a stony fecal mass, were probably responsible for ischemic colitis and hemorrhagic infarction in colon. There was also an ulcerated gastric adenocarcinoma, with raised borders and an approximate diameter of 7 cm, associated with hemorrhage.

The patient 2 was female, 92 years old, body weight was 53 kg, and the height was 163 cm, with a body mass index of 19.9 kg/m², characterizing malnutrition [11]. On internal examination, presented bilateral acute bronchopneumonia, especially in lower and posterior lobes, marked atherosclerosis in aorta and its main branches, probable ischemic colitis, senile hypotrophy of pancreas, spleen, ovary, and thyroid. There was also a hiatal hernia through which gastric fundus was insinuated.

Material preparation

Fragments of approximately 2 cm of right and left iliac arteries were collected. These fragments were processed histologically by fixation in 10% formaldehyde, dehydration in alcohols with increasing concentrations (70–100%), diaphanization in xylol and paraffin embedding. Then, serial 4- μ m thick sections were performed and slides were obtained for histological analysis.

Slides were stained with HE for evaluation under light microscopy with a 20 \times objective and a final magnification of 1200 \times .

Observations

In arterial macroscopic analysis, marked atherosclerosis was evidenced in both cases, with diffuse atheroma plaques and foci of calcifications.

In microscopic analysis, extensive atherosclerotic lesions in the right and left iliac arteries with inflammatory cells and calcification were seen. In right iliac artery in both cases, a bone metaplasia was observed, with trabecular bone,

calcifications, functioning bone marrow (Figure 1) with red blood cells and megakaryocytes on the atherosclerotic plaque in the intima layer, resulting in local bulging.

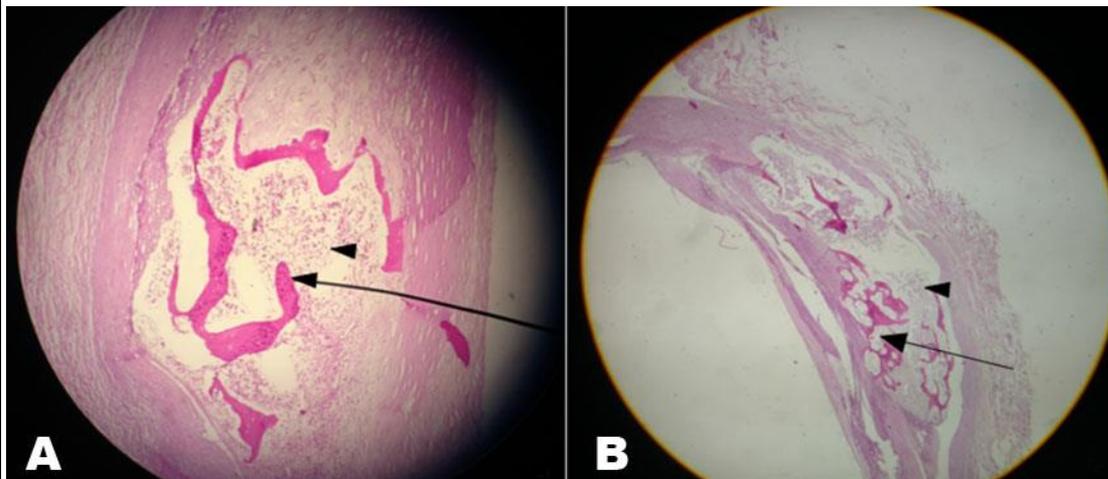


Figure 1: Microscopic analysis of right iliac arteries, indicating arterial dilation with bone metaplasia (arrow) and functioning bone marrow formation (arrowhead) (HE 1600x). (A) Patient 1, (B) Patient 2.

DISCUSSION

Anatomopathological examination in both cases showed marked atherosclerosis of aorta and its main branches. Microscopic analysis of the right and left iliac arteries showed atherosclerotic plaque, with bone metaplasia associated with calcification in the intimal layer of the right iliac artery in both cases.

Heterotopic bone formation has been shown to be closely related to calcification process and its presence has been reported particularly in the aortic valve, mitral valve calcified ring (annular calcification), and rarely in arterial atherosclerotic plaques [6],[12],[13]. The pathogenesis is controversial, with studies advocating the transformation of connective tissue into bone, and others arguing that bone formation occurs due to attachment to cartilage, bone, bone embryonic matrix, or cartilage [14].

It was recognized that there may be an active process of bone formation in advanced lesions [15], demonstrated by the expression of bone metabolizing proteins and the presence of bone metaplasia. This metaplasia is observed in approximately 15.6% of resected aortic valves, characterizing a late histological finding in the progression of aortic sclerosis to aortic stenosis [16], and its clinical significance is unknown.

The pathogenesis underlying bone metaplasia in aortic valves with stenosis is unclear, especially regarding the origin metaplastic cell. The source may be native differentiated valvular interstitial cells and/or circulating mesenchymal stem cells. These native valvular interstitial cells are a heterogeneous cellular group that compose the majority of aortic valve cellular population and are responsible for maintaining local homeostasis. They can turn into an osteogenic

phenotype when exposed to a variety of signs [17]. There is also evidence that stem cells contribute to heterotopic ossification in atherosclerosis [18],[19], and it has been shown that hematopoietic cells derived from bone marrow can populate atherosclerotic lesion [20],[21].

In aortic valve stenosis, several bone-associated proteins are expressed as bone sialoprotein and bone morphogenetic protein 2, indicating that calcification may be an actively regulated process [22]. The occurrences of bone metaplasia or functional bone marrow in arterial calcification are rare pathological findings and may be asymptomatic. Surgical repair may be a strategy to prevent possible lethal complications [23].

It was believed that bone formation occurred only in aorta and cardiac vessels, but it was shown that vessels from extremities might also be involved, including places outside the vessels [24]. A necropsy study described a patient who died due to generalized infection, who had aortic arterial thickening due to atherosclerosis and two portions of bone formation were observed in the intimal layer. In a similar study, bone formation with red, white, and giant cells was found in the sclerotic portion of aorta [24].

Recent studies have shown the presence of pericytes involved in calcification process, as well as other factors that regulate bone remodeling. Another substance involved in the process arterial bone formation is osteoprotegerin (OPG), with high rates of expression in arterial lesions with metaplasia, as it inhibits osteoclast activation, favoring the process of bone formation. Both substances involved are recruited for atherosclerosis plaque due to inflammatory stress, causing an attempt to defend aggression by inducing local mineral formation. Therefore, as atherosclerotic lesions evolve, increases the chances of developing bone metaplasia [7].

The occurrence of severe atherosclerosis associated with bone metaplasia probably contributed to mesenteric circulation acute changes found in the first patient, considered an emergency, as the most prevalent risk factors for this disease are atherosclerosis of aorta and its branches, arterial stenosis, and different types of heart failure [11],[25].

CONCLUSION

The morphological description of bone metaplasia in atheromatous plaques is relevant to characterize new data about the disease and to emphasize the importance of considering calcium deposition, atherosclerotic disease progression, and the presence of substances that favor its formation to avoid complications, such as plaque rupture and arterial stenosis.

REFERENCES

1. Rafieian-Kopaei M, Setorki M, Douudi M, Baradaran A, Nasri H. Atherosclerosis: Process, indicators, risk factors and new hopes. *Int J Prev Med* 2014;5(8): 927–46. [\[Pubmed\]](#) ▲

2. O'Rourke RA, Brundage BH, Froelicher VF, et al. American College of Cardiology/American Heart Association Expert Consensus Document on electron-beam computed tomography for the diagnosis and prognosis of coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2000;36(1):326–40. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) ▲
3. Allison MA, Hsi S, Wassel CL, et al. Calcified atherosclerosis in different vascular beds and the risk of mortality. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012;32(1):140–6. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) ▲
4. Hoshino T, Chow LA, Hsu JJ, et al. Mechanical stress analysis of a rigid inclusion in distensible material: A model of atherosclerotic calcification and plaque vulnerability. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;297(2):H802–10. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) ▲
5. Maldonado N, Kelly-Arnold A, Vengrenyuk Y, et al. A mechanistic analysis of the role of microcalcifications in atherosclerotic plaque stability: Potential implications for plaque rupture. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2012;303(5):H619–28. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) ▲
6. Hunt JL, Fairman R, Mitchell ME, et al. Bone formation in carotid plaques: A clinicopathological study. *Stroke* 2002;33(5):1214–9. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) ▲
7. Davaine JM, Quillard T, Brion R, et al. Osteoprotegerin, pericytes and bone-like vascular calcification are associated with carotid plaque stability. *PLoS One* 2014;9(9):e107642. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) ▲
8. Morlacchi S, Pennati G, Petrini L, Dubini G, Migliavacca F. Influence of plaque calcifications on coronary stent fracture: A numerical fatigue life analysis including cardiac wall movement. *J Biomech* 2014;47(4):899–907. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) ▲
9. Otsuka F, Nakano M, Sakakura K, Ladich E, Kolodgie FD, Virmani R. Unique demands of the femoral anatomy and pathology and the need for unique interventions. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 2013;54(2):191–210. [\[PubMed\]](#) ▲
10. Lie JT. Aortic and extracranial large vessel giant cell arteritis: A review of 72 cases with histopathologic documentation. *Semin Arthritis Rheum* 1995;24(6):422–31. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) ▲
11. Baeshko AA, Klumuk SA, Iushkevich VA. Acute disorders of mesenteric circulations: The etiology, risk factors and incidence of lesions. [Article in Russian]. *Angiol Sosud Khir* 2004;10(4):99–113. [\[PubMed\]](#) ▲
12. Doherty TM, Asotra K, Fitzpatrick LA, et al. Calcification in atherosclerosis: Bone biology and chronic inflammation at the arterial crossroads. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100(20):11201–6. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) ▲
13. Jeziorska M, McCollum C, Wooley DE. Observations on bone formation and remodelling in advanced atherosclerotic lesions of human carotid arteries. *Virchows Arch* 1998;433(6):559–65. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) ▲
14. Buerger L, Oppenheimer A. Bone formation in sclerotic arteries. *J Exp Med* 1908;10(3):354–67. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) ▲
15. Torre M, Hwang DH, Padera RF, Mitchell RN, VanderLaan PA. Osseous and chondromatous metaplasia in calcific aortic valve stenosis. *Cardiovasc Pathol* 2016;25(1):18–24. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) ▲

16. Mohler ER 3rd, Gannon F, Reynolds C, Zimmerman R, Keane MG, Kaplan FS. Bone formation and inflammation in cardiac valves. *Circulation* 2001;103(11):1522–8. [[CrossRef](#)] [[Pubmed](#)] ▲
17. Osman L, Yacoub MH, Latif N, Amrani M, Chester AH. Role of human valve interstitial cells in valve calcification and their response to atorvastatin. *Circulation* 2006;114(1 Suppl):I547–52. [[CrossRef](#)] [[Pubmed](#)] ▲
18. Suda RK, Billings PC, Egan KP, et al. Circulating osteogenic precursor cells in heterotopic bone formation. *Stem Cells* 2009;27(9):2209–19. [[CrossRef](#)] [[Pubmed](#)] ▲
19. Fadini GP, Albiero M, Menegazzo L, et al. Widespread increase in myeloid calcifying cells contributes to ectopic vascular calcification in type 2 diabetes. *Circ Res* 2011;108(9):1112–21. [[CrossRef](#)] [[Pubmed](#)] ▲
20. Tanaka K, Sata M, Fukuda D, et al. Age-associated aortic stenosis in apolipoprotein E-deficient mice. *J Am Coll Cardiol* 2005;46(1):134–41. [[CrossRef](#)] [[Pubmed](#)] ▲
21. Hajdu Z, Romeo SJ, Fleming PA, Markwald RR, Visconti RP, Drake CJ. Recruitment of bone marrow-derived valve interstitial cells is a normal homeostatic process. *J Mol Cell Cardiol* 2011;51(6):955–65. [[CrossRef](#)] [[Pubmed](#)] ▲
22. Kaden JJ, Bickelhaupt S, Grobholz R, et al. Expression of bone sialoprotein and bone morphogenetic protein-2 in calcific aortic stenosis. *J Heart Valve Dis* 2004;13(4):560–6. [[Pubmed](#)] ▲
23. Charokopos NA, Antonitsis P, Rouska E, Kostopoulos I, Charaf A, Spanos PK. Cartilaginous and osseous metaplasia with bone marrow formation in the aortic valve of a patient with giant cell aortitis. *Ann Thorac Surg* 2006;81(5):1877–9. [[CrossRef](#)] [[Pubmed](#)] ▲
24. Bunting CH. The formation of true bone with cellular (RED) marrow in a sclerotic aorta. *J Exp Med* 1906;8(3):365–76. [[CrossRef](#)] [[Pubmed](#)] ▲
25. Safioleas MC, Moulakakis KG, Papavassiliou VG, Kontzoglou K, Kostakis A. Acute mesenteric ischaemia, a highly lethal disease with a devastating outcome. *Vasa* 2006;35(2):106–11. [[CrossRef](#)] [[Pubmed](#)] ▲

4.2. Artigo 2 – Resultado da avaliação macroscópica das artérias aortas, ilíacas e carótidas através de método desenvolvido pela equipe de pesquisa

Arquivos Brasileiros de Cardiologia



ABC Cardiol Journal

Avaliação macroscópica da aterosclerose nas artérias: uma ferramenta de avaliação na autópsia

Journal:	<i>Arquivos Brasileiros de Cardiologia</i>
Manuscript ID:	ABC-2019-0846.R2
Manuscript Type:	Original Article
Subject/Field of study:	Atherosclerosis/Endothelium/Vascular
Type of Study:	Single-center Study
Keywords - Please find your keywords from the following lists http://decs.bvs.br/ and http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh.:</td> <td>Aterosclerose, Artérias, Autopsia</td>	Aterosclerose, Artérias, Autopsia

SCHOLARONE™
Manuscripts

<https://mc04.manuscriptcentral.com/abc-scielo>

Aceite da revista

Arquivos Brasileiros de Cardiologia

Decision Letter (ABC-2019-0846.R2)

From: rochitte@cardiol.br
To: maholiveira7@hotmail.com
CC:
Subject: Arquivos Brasileiros de Cardiologia - Decision on Manuscript ID/Decisão sobre ID do Manuscrito ABC-2019-0846.R2
Body: Dear Mrs. Oliveira:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Avaliação macroscópica da aterosclerose nas artérias: uma ferramenta de avaliação na autópsia" in its current form for publication in the Arquivos Brasileiros de Cardiologia. The comments of the reviewer(s) who reviewed your manuscript are included at the bottom of this letter.

Send the following forms below completed and signed to revista@cardiol.br and inform the Manuscript ID:

Transfer of Author's Copyright: <https://bit.ly/2KB8kSq>
Statement of Potential Conflict of Interest: <https://bit.ly/2rPnb54>
Author Contribution: <https://bit.ly/2r5K052>
Statement of Informed Consent and Statement of Human and Animal Rights: <https://bit.ly/21OH3X>

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of the Arquivos Brasileiros de Cardiologia, we look forward to your continued contributions to the journal.

Sincerely,
Dr. Carlos Rochitte
Editor-in-Chief
rochitte@cardiol.br
Arquivos Brasileiros de Cardiologia

Avaliação macroscópica da aterosclerose nas artérias: uma ferramenta de avaliação na autópsia**Resumo:**

Fundamento: A aterosclerose, em alguns casos, é uma condição assintomática, sendo necessário conhecer o grau de comprometimento arterial provocado pelas placas e sua associação com os fatores de risco. O exame de autópsia permite a compreensão dos processos básicos de doenças, assim como a avaliação e fornecimento de dados sobre a característica macroscópica do acometimento aterosclerótico. **Objetivo:** avaliar macroscopicamente e padronizar o acometimento aterosclerótico das artérias aorta, carótidas e ilíacas e comparar com a idade, o sexo e a causa de morte. **Métodos:** foram coletados 53 artérias aorta, 53 artérias carótida direita, 53 artérias carótida esquerda, 53 artérias ilíaca direita e 53 artérias ilíaca esquerda. Para essa avaliação, foi considerada a extensão de estrias lipídicas, de placas ateromatosas, de fibrose e de calcificação, as quais serviram de referência para pontuar a intensidade do acometimento aterosclerótico. Foram observados vários graus da aterosclerose e valores acurados para a classificação discreta, moderada e acentuada. Para a análise estatística, os dados foram analisados utilizando-se o *software GraphPad Prism*[®] 7.0. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando “p” foi menor que 5% ($p < 0,05$). **Resultados:** As artérias carótidas apresentaram maior acometimento aterosclerótico em comparação às outras artérias avaliadas ($K=15,73$, $p=0,0004$). A ocorrência da aterosclerose se mostrou progressiva e significativa com o decorrer da idade (carótidas: $t=6,321$; $p < 0,0001$; aortas: $U=83,5$; $p < 0,0001$; ilíacas: $U=306$; $p < 0,0001$) e na causa de morte cardiovascular (carótidas: $t=5,047$; $p < 0,0001$; aortas: $U=98,5$; $p=0,0068$; ilíacas: $U=467,5$; $p=0,0012$). **Conclusão:** A avaliação macroscópica da aterosclerose trata-se de uma forma inovadora e de baixo custo de avaliação através da visualização direta das placas ateroscleróticas, possibilitando uma associação com fatores de risco como idade avançada e doenças cardiovasculares, fornecendo dados importantes para a prática

clínica.

Descritores: Aterosclerose, artérias, autópsia

Introdução

A aterosclerose é uma doença multifatorial associada a fatores hereditários, sexo e hábitos de vida como o tabagismo, alimentação inadequada e pouca ou nenhuma atividade física¹. A presença e progressão da placa aterosclerótica provocam inflamação e deposição de lipídios na parede das artérias¹ que podem desencadear o desenvolvimento de doenças cardiovasculares com alta incidência a nível mundial².

O diagnóstico precoce da aterosclerose como preditor da doença arterial coronariana (DAC) e do infarto agudo do miocárdio (IAM) se faz necessário para reduzir a morbidade e mortalidade associada à doença. Estudos exploram a prevalência e a associação de fatores que contribuem para estratificação dos riscos³. A avaliação e o diagnóstico precoce em pacientes que se enquadram nesses grupos se fazem importantes.

Sabe-se que o exame de autópsia é de extrema importância, pois permite a compreensão dos processos básicos das doenças⁴. Estudos têm demonstrado que além da eliminação dos fatores de risco associados à aterosclerose existem medicamentos atualmente eficazes para o tratamento dessa doença⁵. No entanto, para a eficácia do tratamento é necessário conhecer o grau de comprometimento arterial provocado pelas placas ateroscleróticas⁶. Tal fato torna a nossa avaliação e fornecimento de dados sobre a característica macroscópica ainda mais valiosa, pois estudos de autópsia permitem uma visualização ampla e direta da aterosclerose^{7,8}.

Por se tratar de uma doença cardiovascular, multifatorial e responsável pelo desenvolvimento de enfermidades graves, a avaliação macroscópica da aterosclerose em material de autópsia é importante, pois fornece uma descrição fidedigna e padronizada sobre a progressão da placa aterosclerótica. A associação dos aspectos macroscópicos com os fatores de risco contribuem para o fornecimento de dados epidemiológicos para a clínica. O objetivo do trabalho foi identificar macroscopicamente a intensidade do acometimento aterosclerótico das artérias aorta, carótidas e ilíacas e

comparar o grau do acometimento nesses leitos arteriais e com fatores de risco como a idade, o sexo e a causa de morte.

Métodos

Foram avaliados 2931 protocolos de autópsias realizadas, no período de 1963 a 2018. A partir desses protocolos, foram selecionados os materiais biológicos (artérias carótidas, aorta e ilíacas) daqueles pacientes que apresentaram o laudo de autópsia completo, com informações relativas à idade (selecionados os com idade superior a 18 anos), ao sexo e a causa de morte (cardiovascular ou não). Os casos em que os materiais biológicos não se encontravam em bom estado de conservação ou que tinham o laudo de autópsia incompleto foram excluídos do estudo. Foi obtida uma amostra de 53 pacientes autopsiados. Após a seleção da amostra, do arquivo de peças anatômicas da Disciplina de Patologia Geral, foram coletados 53 artérias aorta, 53 artérias carótida direita, 53 artérias carótida esquerda, 53 artérias ilíaca direita e 53 artérias ilíaca esquerda.

O estudo foi desenvolvido na Disciplina de Patologia Geral da Universidade Federal do Triângulo Mineiro e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro sob o número de Certificado de Apresentação de Apreciação Ética (CAAE): 56931816.4.0000.5154 em conformidade com a resolução 466/2012.

Avaliação macroscópica da aterosclerose

Três examinadores realizaram a classificação da intensidade macroscópica da aterosclerose nas artérias aorta, carótida direita, carótida esquerda, ilíaca direita e ilíaca esquerda. Foi feita utilizando-se um critério já descrito na literatura⁹. A progressão de estrias lipídicas, de placas ateromatosas, de fibrose e de calcificação, na parede das artérias serviram de referência para pontuar a intensidade do acometimento (Figura 1). Em uma folha foi feita uma linha de 12,0 cm não milimetrada (Figura 2A). Essa linha foi utilizada como escala para o acometimento da aterosclerose.

Ao abrirem uma artéria, os examinadores observavam a progressão das lesões, em seguida, registrava-se um ponto na escala referente a intensidade do acometimento, quanto mais próximo do 0,0 cm menor o acometimento, e quanto mais próximo de 12,0 cm maior o acometimento (Figura 2B).

Após o final de todas as avaliações, foi realizada a medida da distância do ponto 0,0 cm ao ponto marcado na escala pelos examinadores, com a finalidade de evitar interferências nas classificações (Figura 2C). Para a classificação em discreto, moderado e acentuado, foram padronizadas medidas na escala. A intensidade da aterosclerose foi classificada como discreta quando a avaliação foi de 0,1cm a 4,0cm; moderada, de 4,1cm a 7,0cm e acentuada, de 7,1cm a 12,0cm⁹.

Foram observados vários graus da aterosclerose e valores acurados para a classificação discreta, moderada e acentuada (Figura 3).

Análise estatística

Para a análise estatística foi elaborado um banco de dados no programa *Microsoft Excel*[®]. Os dados foram analisados utilizando-se o software *GraphPad Prism*[®] 7.0. Para verificar o tipo de distribuição das variáveis foi aplicado o teste estatístico de *Kolmogorov-Smirnov* (com *Dallal-Wilkinson-Lillie* para valor de p). Para as variáveis contínuas com distribuição normal foram apresentadas a média e desvio padrão e para as com distribuição não normal, a mediana e intervalo interquartil. Utilizamos o teste t de *student* (t) não pareado para a distribuição normal e o teste de *Mann-Whitney* (U) para a distribuição não normal na comparação de dois grupos. Para a comparação de três grupos, foi utilizado o teste de *Kruskal-Wallis* (H), seguido pelo pós-teste de *Dunn*. Para correlação foi empregado o coeficiente de correlação de *Spearman* (rS) para distribuição não-normal. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando “p” foi menor que 5% (p<0,05).

Resultados:

Com relação à distribuição geral da amostra, os dados estão descritos na tabela 1.

As artérias carótidas apresentaram maior acometimento aterosclerótico em comparação às outras artérias avaliadas ($H=15,73$, $p=0,0004$), sendo encontrada diferença significativa entre as artérias carótidas e ilíacas ($p=0,0002$).

A variação da intensidade macroscópica da aterosclerose nas artérias analisadas está descrita na tabela 2.

As distribuições da avaliação macroscópica da aterosclerose nas artérias carótidas, aortas e ilíacas estão representadas e os diferentes graus do acometimento macroscópico da aterosclerose estão representados na figura 4.

A ocorrência da aterosclerose se mostrou progressiva e significativa com o decorrer da idade nas carótidas ($rS=0,5133$; $p<0.0001$), nas aortas ($rS=0,716$; $p<0.0001$) e nas ilíacas ($rS= 0,7378$; $p<0.0001$) (Figura 5).

De acordo com a avaliação macroscópica da aterosclerose com as variáveis analisadas, os dados estão descritos na tabela 2.

Discussão:

Por meio de uma amostra proveniente de material de autópsia, evidenciou-se o acometimento da aterosclerose em diferentes leitos arteriais sendo eles de grande importância para o suprimento sanguíneo do organismo. A análise macroscópica fornece um meio de compreender o processo de desenvolvimento da doença, sendo um instrumento válido e preciso para a pesquisa e fornecimento de dados para a clínica como já demonstrado em outros estudos⁹⁻¹¹.

O presente estudo demonstrou um maior acometimento nas artérias carótidas, quando comparada às artérias aorta e ilíacas, porém com diferença significativa somente entre as carótidas e ilíacas. Embora a aterosclerose seja um processo que possa acometer toda a árvore circulatória, sendo encontrada em qualquer artéria de grande ou médio calibre, a doença tende a localizar-se em áreas particulares do sistema arterial, como os segmentos aortoilíaco, ilíacofemoral ou as artérias carótidas. Fatores como modificações do fluxo sanguíneo, alterações da pressão extra vascular e particularidades anatômicas e bioquímicas parecem explicar a preferência das lesões por

esses vasos¹². Além disso a carótida é uma artéria avaliada em vários outros estudos como marcadora de aterosclerose e determinante para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares¹³⁻¹⁵.

De modo geral, a intensidade da aterosclerose variou entre discreta e moderada. Nas lesões avaliadas como discretas havia presença de estrias lipídicas, o que indica o início do processo da lesão. Embora essas lesões não alterem a circulação sanguínea por não obstruírem a luz vascular, a sua localização facilita a contínua deposição lipídica e evolução para aterosclerose¹⁶.

Nos pacientes idosos houve uma intensidade maior e significativa da aterosclerose quando comparado aos não idosos. A idade tem sido demonstrada com um preditor significativo para o desenvolvimento da aterosclerose^{17,18}. Foi encontrado um aumento de placas ateroscleróticas acentuadas e assintomáticas em artérias de pacientes idosos¹⁹, assim como calcificações²⁰, o que corrobora com nossos achados.

Com relação ao sexo, foi encontrado maior intensidade da aterosclerose nas mulheres, porém sem diferença significativa, o que corrobora com um estudo semelhante que analisou a aterosclerose por meio de ultrassonografia, onde os autores não encontraram diferenças entre os sexos²¹. Um estudo recente comprovou que os sexos respondem fisiologicamente aos fatores de risco (tabagismo, obesidade, diabetes e hipertensão arterial sistêmica) de forma diferente, sendo o sexo feminino o mais acometido e sensibilizado frente às agressões citadas. Embora estudos comprovem que maiores índices de eventos cardiovasculares nos homens, vêm sendo apresentadas pesquisas divergentes a esse fato, visto que a resposta fisiológica do sexo feminino é mais sensível frente aos fatores de risco, o que contribui para o desenvolvimento ou piora do quadro da doença cardiovascular²².

No presente estudo os pacientes que foram a óbito devido a causas cardiovasculares apresentaram intensidade significativamente maior de aterosclerose. O estudo anatomopatológico de pacientes que foram à óbito por causas cardiovasculares fornece a melhor amostra da população para se estudar a aterosclerose⁴. Doenças cardiovasculares estão diretamente

associadas com a ocorrência da aterosclerose sistêmica, que na maioria das vezes é assintomática²³, o que dificulta a prevenção, porém de extrema importância.

De forma geral, nosso estudo possui algumas limitações por ser um estudo post mortem, como a perda de algumas informações sobre os hábitos de vida anteriores dos pacientes como uso de medicações, alimentação, tabagismo, entre outros fatores de risco que também estão relacionados com o desenvolvimento da aterosclerose. Além disso, alguns óbitos ocorreram sem que a aterosclerose fosse investigada anteriormente durante a internação do paciente, o que seria um bom preditor para a acurácia da avaliação macroscópica. Porém existem vários pontos positivos que fortalecem o trabalho, como o fato da avaliação macroscópica direta e precisa através da visualização da placa em sua totalidade, e a confirmação da associação de fatores de risco intrínsecos como a idade e o sexo e também a causa de morte que pode ter ocorrido devido a fatores extrínsecos. Além disso, foram coletados vários leitos arteriais de importância para a circulação corpórea (carótida direita e esquerda, aorta e íliaca direita e esquerda) que demonstraram resultados semelhantes quando comparados aos fatores de risco e que confirmaram serem bons locais para a avaliação da aterosclerose sistêmica.

Conclusões: A aterosclerose apresenta um padrão de lesão progressivo ao longo da vida, que afeta diferentes leitos arteriais, sendo que as artérias carótidas são as mais acometidas, mostrando-se bons marcadores para estudo e avaliação da progressão da placa aterosclerótica. O estudo mostra a importância da avaliação da aterosclerose e traz uma forma inovadora de avaliação, pois é possível mensurar a intensidade macroscópica do acometimento através da visualização direta das placas ateroscleróticas e comparar com fatores de risco que, em associação podem contribuir para a progressão da placa e para o desenvolvimento de outras doenças cardiovasculares. A idade avançada, o sexo feminino e a causa de morte cardiovascular contribuem como fatores de risco para maior acúmulo lipídico nestas artérias. A avaliação macroscópica é um método de baixo custo, eficaz

e padronizado para a mensuração da intensidade da aterosclerose e permite a melhor compreensão do desenvolvimento de outros eventos cardiovasculares no momento da autópsia, além de fornecer dados para a prática clínica.

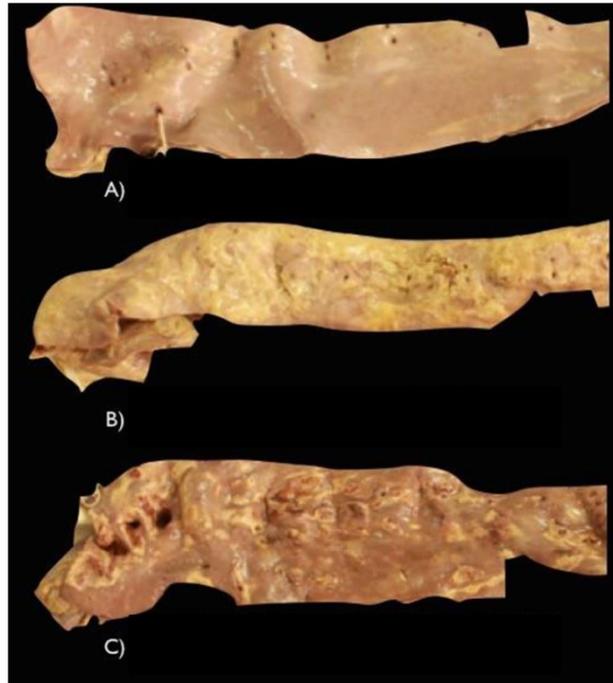
Figuras:

Figura 1. A- Artéria aorta com estrias lipídicas. B- Artéria aorta com placas ateromatosas. C- Artéria aorta com placas ateromatosas, fibrose e calcificações.

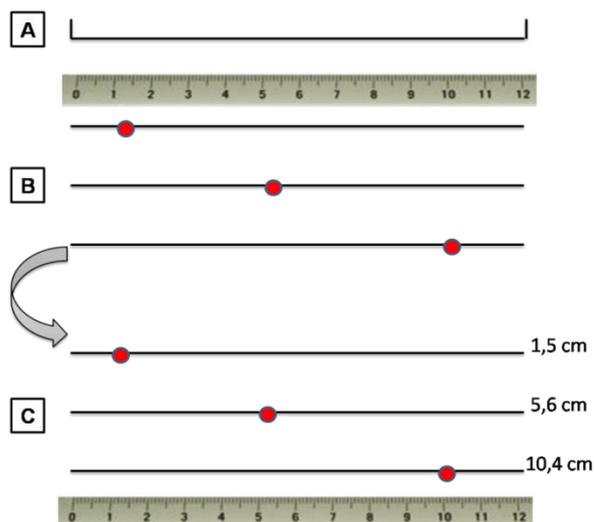


Figura 2. A- Modelo de linha de 12,0 cm não milimetrada utilizada como escala para o acometimento da aterosclerose. B- Registro do ponto na escala não milimetrada, referente a intensidade do acometimento, após avaliação das lesões. C- Medida da distância do ponto 0,0 cm ao ponto marcado após a finalização das avaliações em todas as artérias.



Figura 3. A- Artéria aorta avaliada como discreta. B- Artéria aorta avaliada como moderada. C- Artéria aorta avaliada como acentuada.

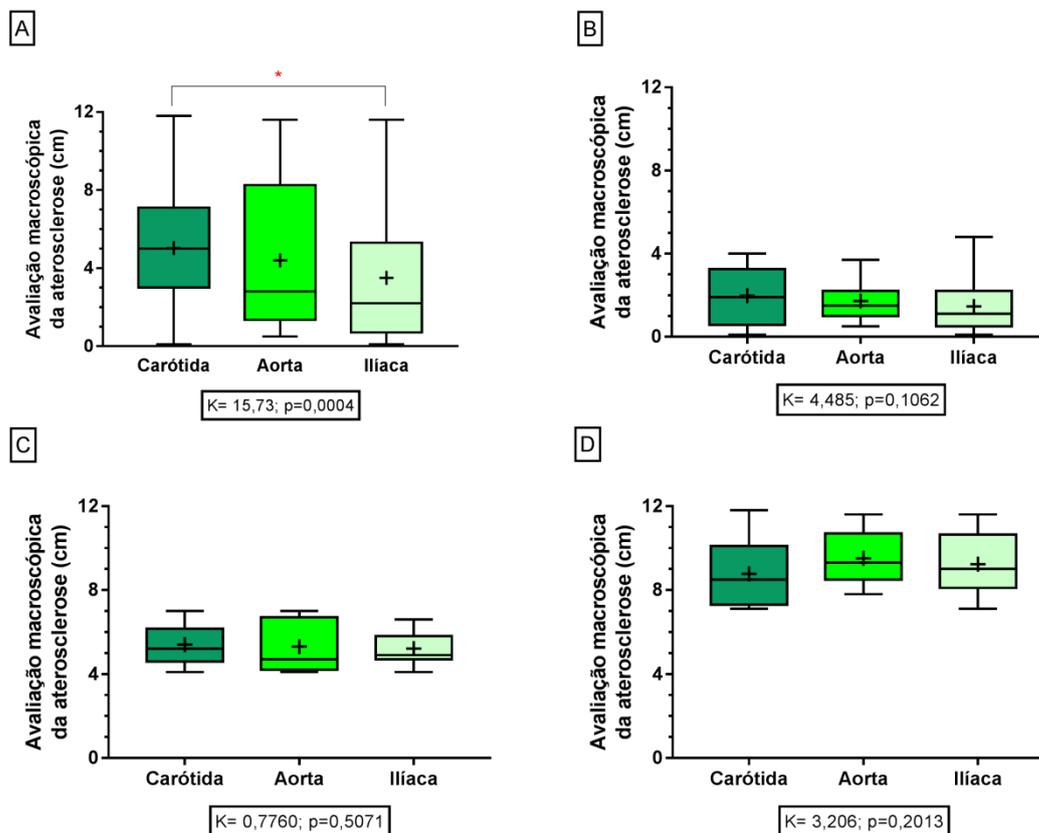


Figura 4. A- Comparação da avaliação macroscópica da aterosclerose nas artérias carótidas, aortas e ílicas. B - Comparação entre a avaliação macroscópica da aterosclerose nas artérias carótidas, aortas e ílicas classificadas como discretas (0 a 4 cm). C- Comparação entre a avaliação macroscópica da aterosclerose nas artérias carótidas, aortas e ílicas classificadas como moderadas (4,1 a 7 cm). D - Comparação entre a avaliação macroscópica da aterosclerose nas artérias carótidas, aortas e ílicas classificadas como acentuadas (7,1 a 12 cm).

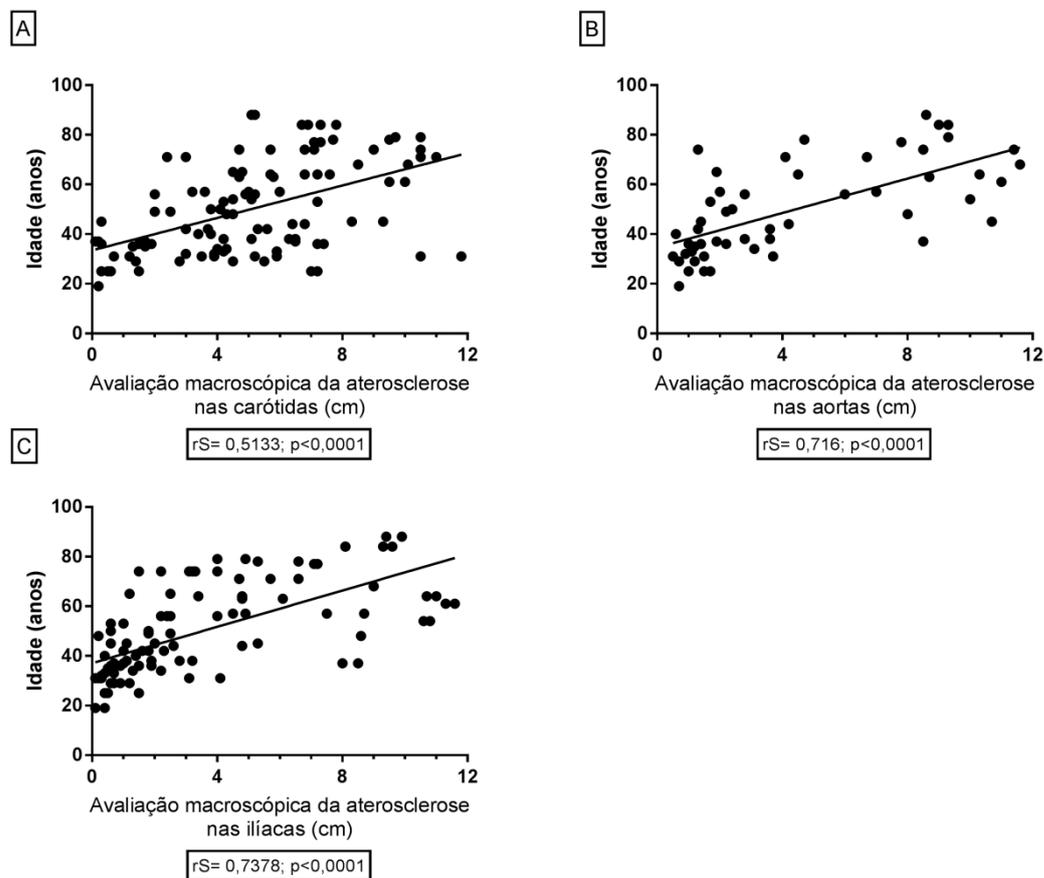


Figura 5. A – Correlação entre a avaliação macroscópica da aterosclerose nas carótidas com a idade. B - Correlação entre a avaliação macroscópica da aterosclerose nas aortas com a idade. C - Correlação entre a avaliação macroscópica da aterosclerose nas íliacas com a idade.

Tabelas:

Tabela 1 – Características gerais da amostra

Variáveis	n (%)	Idade med± desv pad (anos)
Total da amostra	53 (100%)	49,9±18,6

Idade		
Idoso	17 (32,1%)	72,88±8,1
Não idoso	36 (67,9%)	39,05±10,24
Sexo		
Masculino total	26 (49,1%)	49,77±16,40
Feminino total	27 (50,9%)	50,04±20,77
Masculino idoso	7 (41,18%)	72±6,35
Feminino idoso	10 (58,82%)	74±9,42
Masculino não idoso	19 (52,78%)	41,58±9,84
Feminino não idoso	17 (47,22%)	36,24±10,22
Causa de morte		
Cardiovascular	10 (18,9%)	64,3±17,09
Não cardiovascular	43 (81,1%)	46,56±17,43

n: amostra; idade med: idade média; desv pad: desvio padrão

Tabela 2. Avaliação macroscópica das carótidas direita e esquerda, aortas e íliacas direita e esquerda dos pacientes autopsiados.

Variáveis	Carótida (cm)	Aorta (cm)	Íliaca (cm)
n=53 (100%)	média ±desvio padrão ou mediana e intervalo interquartil		
Idade			
Idoso	7,256±2,254	8,6 (4,6-9,8)	5,9 (3,85-9,07)
Não idoso	3,983±2,59	1,8 (1,13-3,6)	1,15 (0,5-2,5)
	t=6,321; p<0,0001	U=83,5; p<0,0001	U=306; p<0,0001
Sexo			
Masculino	4,675±2,593	2,6 (1,28-6,18)	1,85 (0,6-4,78)
Feminino	5,378±3,178	3,7 (1,5-9)	2,85 (0,98-8,1)
	t=1,245; p=0,2160	U=285; p=2442	U=1165; p=0,1316
Causa de morte			
Cardiovascular	7,7±2,617	7,25 (3,33-10,58)	5,1 (2,65-7,18)
Não cardiovascular	4,413±2,625	2,2 (1,2-7)	1,8 (0,6-4,73)
	t=5,047; p<0,0001	U=98,5; p=0,0068	U=467,5; p=0,0012

n: amostra; cm: centímetros

Referências

1. Levula M, Oksala N, Airla N, Zeitlin R, Salenius JP, Järvinen O et al. Genes involved in systemic and arterial bed dependent atherosclerosis–Tampere Vascular study. *PLoS One*. 2012;7:e33787.
2. Gargiulo P, Marsico F, Parente A, Paolillo S, Cecere M, Casaretti L et al. Ischemic heart disease in systemic inflammatory diseases. An appraisal. *Int J Cardiol*. 2014;170:286–290.
3. Simão AF, Precoma DB, Andrade JP, Correa Filho H, Saraiva JF, Oliveira GM, et al; Sociedade Brasileira de Cardiologia. [I Brazilian Guidelines for cardiovascular prevention]. *Arq Bras Cardiol*. 2013;101(6 Suppl 2):1-63. Erratum in: *Arq Bras Cardiol*. 2014;102(4):415.
4. Abedinzadeh N, Pedram B, Sadeghian Y, Nodushan SM, Gilasgar M, Darvish M et al. A histopathological analysis of the epidemiology of coronary atherosclerosis: an autopsy study. *Diagn Pathol*. 2015;3:87.
5. Bergheanu SC, Bodde MC, Jukema JW. Pathophysiology and treatment of atherosclerosis. *Neth Heart J*. 2017;25(4):231-242.
6. Spence JD, Hackam DG. Treating arteries instead of risk factors: a paradigm change in management of atherosclerosis. *Stroke*. 2010;41(6):1193-9.
7. Suemoto CK, Ferretti-Rebustini REL, Rodriguez RD, Leite REP, Soterio L, Brucki SMD et al. Neuropathological diagnoses and clinical correlates in older adults in Brazil: A cross-sectional study. *PLoS Med*. 2017;14(3):e1002267.
8. Van der Kooy K, Seidell JC. Techniques for the measurement of visceral fat: a practical guide. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1993;17(4):187–96.
9. Ferraz MLF, Nascimento DMS, Rorato JPH, Espindula AP, Oliveira LF, Ramalho LS et al. Correlation of lifetime progress of atherosclerosis and morphologic markers of severity in humans: new tools for a more sensitive evaluation. *Clinics*. 2012;67(9):1071-1075.
10. Oliveira MS, Torquato BGS, da Silveira LAM, Juliano GR, Aguiar LS, Juliano GR et al. Evaluation of aortic changes in elderly people autopsied with acquired immunodeficiency syndrome. *Surg Exp Pathol*. 2018;1:7.
11. Nishizawa A, Suemoto CK, Farias-Itao DS, Campos FM, Silva KCS, Bittencourt MS et al. Morphometric measurements of systemic atherosclerosis and visceral fat: Evidence from an autopsy study. *PLoS ONE*. 2017;12(10):e0186630.
12. Brasileiro Filho G. *Bogliolo patologia geral*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.
13. Çetin M, Erdoğan T, Kiriş T, Özyildiz AG, Ergül E, Durakoğlugil E et al. Endothelial dysfunction, subclinical atherosclerosis and LDL cholesterol are the independent predictors of left atrial functions in hypertension. *Int J Cardiovasc Imag*. 2019; 1-9.

14. Paraskevas KI, Sillesen HH. Carotid atherosclerosis markers and adverse cardiovascular events. *Int J Cardiol.* 2019;0(0).
15. Yoshida K, Yang T, Yamamoto YU, Kurosaki Y, Funaki T, Kikuchi T et al. Expansive carotid artery remodeling: possible marker of vulnerable plaque. *J Neurosurg.* 2019;1-6.
16. Lloyd-Jones DM, Nam BH, D'Agostino RB Sr, Levy D, Murabito JM, Wang TJ et al. Parental Cardiovascular Disease as a Risk Factor for Cardiovascular Disease in Middle-aged Adults: A Prospective Study of Parents and Offspring. *JAMA.* 2004;291(18):2204–2211.
17. Zavatta M, Mell MW. A national Vascular Quality Initiative database comparison of hybrid and open repair for aortoiliac-femoral occlusive disease. *J Vasc Surg.* 2018;67:199-205.
18. Hendriks EJ, Beulens JW, De Jong PA, Van Der Schouw YT, Sun WN, Wright CM et al. Calcification of the splenic, iliac, and breast arteries and risk of all-cause and cardiovascular mortality. *Atherosclerosis.* 2017;259:120-127.
19. Fernandez-Friera L, Penalvo JI, Fernandez-Ortiz A, Ibanez B, Lopez-Melgar B, Laclaustra M. Prevalence, vascular distribution, and multiterritorial extent of subclinical atherosclerosis in a middle-aged cohort: The PESA (Progression of Early Subclinical Atherosclerosis) Study. *Circulation.* 2015;131:2104-2113.
20. Chen HY, Engert JC, Thanassoulis G. Risk factors for valvular calcification. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2019;26:1-7.
21. Yang YJ, Park HJ, Won KB, Chang HJ, Park GM, Kim YG et al. Relationship between the optimal cut-off values of anthropometric indices for predicting metabolic syndrome and carotid intima-medial thickness in a Korean population. *Medicine.* 2019;98;42:e17620.
22. Cifkova R, Pitha J, Krajcoviechova A, Kralikova E. Is the impact of conventional risk factors the same in men and women? Plea for a more gender-specific approach. *Int J Cardiol.* 2019;S0167-5273:37008-6.
23. Nakamura E, Sato Y, Iwakiri T, Yamashita A, Moriguchi-Goto S, Maekawa K et al. Asymptomatic Plaques of Lower Peripheral Arteries and Their Association with Cardiovascular Disease: An Autopsy Study. *J Atheroscler Thromb.* 2017;24:921-927.

4.3. Artigo 3 - Estudo morfológico da aterosclerose nas artérias aortas, carótidas e ilíacas de pacientes autopsiados

Resumo

Introdução: A aterosclerose é responsável por um grande impacto na mortalidade mundial atingindo de forma sistêmica diferentes artérias, sendo fator de risco para as doenças cardiovasculares. A placa aterosclerótica ocasiona em inflamação crônica e remodelamento arterial podendo causar complicações e óbito. **Objetivo:** avaliar o acometimento aterosclerótico das artérias aortas, carótidas e ilíacas e comparar com a idade, o sexo e a causa de morte. **Métodos:** Foi obtida uma amostra de 53 pacientes autopsiados e coletados fragmentos das artérias carótidas, aortas e ilíacas. Os fragmentos foram submetidos a processamento histológico e confeccionadas lâminas coradas com Verhoeff para a avaliação da espessura das fibras elásticas, Picosírus para avaliação da porcentagem das fibras colágenas e Sudam III para a porcentagem de depósito lipídico. **Resultados:** De acordo com os resultados obtidos, a porcentagem de fibras colágenas foi maior nos idosos, nas mulheres na artéria aorta e nos homens nas artérias carótida e ilíaca e na causa de morte cardiovascular nas artérias ilíacas e não cardiovascular nas artérias carótida e aorta e cardiovascular na ilíaca. A espessura de fibras elásticas foi maior nas artérias dos idosos, sexo masculino e causa de morte cardiovascular. A porcentagem de depósito lipídico foi maior em idosos, sexo feminino e causa de morte cardiovascular. **Conclusão:** O desenvolvimento de estudos sobre as alterações arteriais ocorridas na aterosclerose e a associação com os diversos fatores de risco são importantes, pois com um maior conhecimento da base patológica da doença, é possível contribuir para a detecção e tratamento precoce nos grupos mais vulneráveis.

Palavras chave: aterosclerose, autópsia, morfometria, artéria.

INTRODUÇÃO

Por meio da análise anatômica-patológica de uma amostra em material de autópsia é possível compreender os mais variados processos de uma doença, sendo esta análise significativa para a pesquisa (CECCHETTO, et al., 2017).

A aterosclerose é responsável por um grande impacto na mortalidade mundial (PENG et al., 2017), atinge diferentes artérias, musculares e elásticas, de grande ou médio calibre e acomete preferencialmente a camada íntima, podendo também atingir a camada média (CAGLE e COOPERSTEIN, 2018), sendo fator de risco para eventos cardiovasculares e morte súbita (ABOYANS et al., 2018).

No processo de formação da placa aterosclerótica, a hiperplasia das células musculares lisas e a expressão de fatores de crescimento podem gerar um estado inflamatório crônico resultando no remodelamento arterial (REZVANI-SHARIF, TAFAZZOLI-SHADPOUR e AVOLIO, 2019) caracterizado pelo acúmulo de lipídios extracelulares, hipertrofia e hiperplasia de células musculares lisas e uma matriz de proteoglicanos (NAKAGAWA e NAKASHIMA, 2018). Por apresentar uma evolução lenta, as lesões ateroscleróticas podem ocorrer em diferentes artérias, como carótidas, aortas e ilíacas, o que caracteriza uma incidência sistêmica (SUH et al., 2018).

Em geral, é considerada assintomática, no entanto, quando são identificados os sintomas, a doença já pode estar em uma fase avançada, sendo de alto risco à vida (NAKAMURA et al., 2017; NISHIHIRA e YASUDA, 2017; LEE et al., 2017) o que ressalta a necessidade de investigar e compreender sua evolução nas principais artérias do corpo humano.

Dessa forma o objetivo desse estudo foi avaliar o acometimento aterosclerótico microscopicamente das artérias aorta, carótidas e ilíacas e comparar com a idade, o sexo e a causa de morte.

MÉTODOS

Foram avaliados 2931 protocolos de autópsias realizadas, no período de 1963 a 2018. A partir desses protocolos, foram selecionados os materiais biológicos (artérias carótidas, aortas e ilíacas) daqueles pacientes que apresentaram o laudo de autópsia completo, com informações relativas à idade (selecionados os com idade superior a 18 anos), ao sexo e a causa de morte

(cardiovascular ou não). Os casos em que os materiais biológicos não se encontravam em bom estado de conservação ou que tinham o laudo de autópsia incompleto foram excluídos do estudo. Foi obtida uma amostra de 53 pacientes autopsiados. Após a seleção da amostra, do arquivo de peças anatômicas da Disciplina de Patologia Geral, foram coletados 53 artérias aorta, 53 artérias carótida direita, 53 artérias carótida esquerda, 53 artérias ilíaca direita e 53 artérias ilíaca esquerda.

O estudo foi desenvolvido na Disciplina de Patologia Geral da Universidade Federal do Triângulo Mineiro e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro sob o número de Certificado de Apresentação de Apreciação Ética (CAAE): 56931816.4.0000.5154 em conformidade com a resolução 466/2012.

Todos os fragmentos foram submetidos a processamento histológico, e em seguida, cortes seriados de 4 μ m de espessura foram feitos para procedimentos histoquímicos.

As lâminas foram coradas com Verhoeff para a avaliação da espessura das fibras elásticas, Picosírus para avaliação da porcentagem das fibras colágenas e Sudam III para a porcentagem de depósito lipídico na camada íntima e média das artérias aortas, carótidas e ilíacas (Figura 1). As análises das fibras colágenas e das fibras elásticas foram feitas pelo software de morfometria Axio Vision[®].

Para a análise estatística foi elaborado um banco de dados no programa Microsoft Excel[®]. Os dados foram analisados utilizando-se o software GraphPad Prism[®] 7.0. Para verificar o tipo de distribuição das variáveis foi aplicado o teste estatístico de D'agostino e Shapiro Wilk. Utilizamos o teste t de *student* (t) para a distribuição normal e o teste Mann-Whitney (U) para a distribuição não normal na comparação de dois grupos. Na comparação de três grupos foi usado o teste de Kruskal Wallis (K) para a distribuição não normal. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando "p" foi menor que 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Foram realizadas avaliações em fragmentos dos três leitões arteriais (carótidas, aortas e ilíacas) e comparadas com a idade (idoso e não idoso), sexo (feminino e masculino) e causa de morte (cardiovascular e não cardiovascular).

De acordo com a comparação das variáveis analisadas com a porcentagem de fibras colágenas, os resultados estão descritos na tabela 1. Na comparação com a espessura das fibras elásticas, os resultados estão na tabela 2. E de acordo com a porcentagem de depósito lipídico, na tabela 3.

Tabela 1 – Comparação entre a porcentagem de fibras colágenas e a idade, o sexo e a causa de morte de pacientes autopsiados.

	Fibras colágenas		
	Carótidas	Aortas	Íliacas
Idade			
Idoso	6,31(2,11-31,72)	7,24(3,08-37,34)	29,29(5,76-53,86)
Não idoso	5,03(0,98-21,21)	6,28(1,58-30,72)	24,2(5,87-63,18)
	U=1125; p=0,5057	U=303; p=0,0,9590	U=1005; p=0,1383
Sexo			
Feminino	5,07(2,01-31,72)	6,72(3,05-17,46)	17,53(5,87-63,18)
Masculino	5,95(0,98-22,95)	5,84(1,58-30,72)	25,93(8,95-57,59)
	U=1335; p=0,6629	U=153; p=0,8023	U=453; p=0,0291
Causa de morte			
Cardiovascular	3,46(2,01-22,95)	4,94(3,05-19,33)	31,99(6,19-53,86)
Não cardiovascular	6,19(0,98-31,72)	7,26(1,58-37,34)	24,9(5,76-63,18)
	U=600,5; p=0,0356	U=154; p=0,1705	U=619,5; p=0,0519

Tabela 2 – Comparação entre a espessura das camadas íntima e média e a idade, o sexo e a causa de morte de pacientes autopsiados.

	Fibras elásticas					
	Carótidas		Aortas		Íliacas	
	Íntima	média	Íntima	média	Íntima	média
Idade						
Idoso	244,6(29,32-694,9)	635,4±128,4	686,7(233-1036)	1029(786,8-9998)	451,2(443-1249)	525,4(147-868,5)
Não idoso	118,4(34,32-623,5)	563,4±105,1	225,3(65,29-1931)	982,6(674,2-1346)	184,5(15,42-1120)	579,9(110,5-833,4)
	U=627, p<0,000 1	t=3,064, p=0,002 8	U=115, p=0,000 2	U=225, p=0,125 9	U=623, p<0,000 1	U=982, p=0,102 3
Sexo						

Artigos

Feminino	127,5(65 ,13- 694,9)	530,6(36 8,3- 823,6)	256,6(68 ,22)	1014(67 4,2- 9998)	237,3(4, 43-1249)	525,5(11 0,5- 868,5)
Masculino	132,8(29 ,32- 647,6) U=1398, p=0,971 1	621,5(39 7,1- 901,2) U=969, p=0,005 7	321,2(65 ,29- 1036) U=325, p=0,652 7	1022(77 4,9- 1488) U=324, p=0,64	280,3(23 ,17- 1029) U=1351, p=0,741 1	621,2(12 9,8- 833,4) U=967, p=0,005 5
Causa de morte						
Cardiovascular	233,6(29 ,32- 623,50)	666,4±1 39,6	681,1(22 0,3- 1036)	1078±94 ,32	437,4(4, 43-1111)	528,1(15 1,6- 824,5)
Não cardiovascular	127,1(34 ,32- 694,9) U=576, p=0,021 1	567,9±1 04,1 t=3,561, p=0,000 6	241,1(65 ,29- 1931) U=98, p=0,006 7	995,4±1 80,8 t=1,386, p=0,171 6	238,9(15 ,42- 1249) U=589, p=0,028 2	561,7(11 0,5- 868,5) U=741, p=0,341 3

Tabela 3 – Comparação entre a porcentagem de depósito lipídico e a idade, o sexo e a causa de morte de pacientes autopsiados.

	Sudam III		
	Carótidas	Aortas	Íliacas
Idade			
Idoso	41,5(0,53-69,25)	39,57(0,67-72,46)	38,02(2,46-72,93)
Não idoso	7,52(0,05-63,47) U=442, p<0,0001	7,25(0,13-53,57) U=121, p=0,0003	15,29(1,67-86,9) U=625,5, p<0,0001
Sexo			
Feminino	32,16(0,05-69,25)	29,53(0,13-72,46)	28,35(1,67-72,93)
Masculino	15,61(0,16-63,47) U=1151, p=0,1108	13,33(0,53-53,56) U=286, p=0,2535	23,89(1,86-86,89) U=1376, p=0,8589
Causa de morte			
Cardiovascular	37,96(0,53-58,46)	37,41(0,67-47,36)	34,75(2,46-52,62)
Não cardiovascular	12,36(0,05-69,25) U=594, p=0,0313	9,35(0,13-72,46) U=144, p=0,1099	21,81(1,67-86,89) U=659, p=0,1054

DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos, a porcentagem de fibras colágenas foi maior nos idosos, nas mulheres na artéria aorta e nos homens nas artérias carótida e ilíaca e na causa de morte cardiovascular nas artérias ilíacas e não cardiovascular nas artérias carótida e aorta e cardiovascular na ilíaca.

A espessura de fibras elásticas foi maior nas artérias dos idosos, sexo masculino e causa de morte cardiovascular, sendo que o espessamento arterial é um parâmetro estabelecido para avaliação da aterosclerose (NEZU et al., 2016; CHO et al., 2016).

A porcentagem de depósito lipídico foi maior em idosos, sexo feminino e causa de morte cardiovascular.

Nosso estudo demonstrou que de acordo com o envelhecimento, houve um aumento da produção de fibras colágenas na camada íntima da aorta em ambos os grupos. A formação da placa de ateroma desencadeia um processo inflamatório que envolve células musculares lisas da íntima secretoras de colágeno, fibras elásticas e proteoglicanos para a matriz extracelular (INSULL, 2009).

Nosso trabalho demonstrou que das diferentes artérias analisadas, a aterosclerose se apresentou de forma semelhante em todas elas. A aterosclerose acomete artérias de grande e médio calibre de forma sistêmica, visto isso, diferentes leitos arteriais podem ser avaliados para o diagnóstico da doença (LEE et al., 2017; NISHIHARA & YASUDA, 2017; IWAKIRI et al., 2012).

No desenvolvimento da aterosclerose há a ocorrência de remodelamento arterial com deposição de substâncias, recrutamento de células e formação das placas ateromatosas (JUDD et al., 2013).

Nas artérias dos pacientes idosos foi observado um aumento de fibras colágenas, espessamento na camada íntima e média e maior deposição lipídica. O envelhecimento é considerado um fator de risco para a ocorrência da aterosclerose, onde estudos demonstram que em pacientes com idade avançada há maior número de placas de ateroma formadas e em estágio mais avançado (ZAVATTA & MELL, 2018; HENDRIKS, 2017).

Fisiologicamente no envelhecimento ocorre uma diminuição da atividade de fibroblastos (ASHCROFT et al., 1997) e conseqüentemente a redução de fibras colágenas.

Na literatura há evidências de aumento de porcentagem de colágeno em idosos quando em ocorrência de aterosclerose (FERRAZ et al., 2012), o que corrobora com o nosso estudo, em que os idosos por apresentarem maiores índices de depósito lipídico, também apresentaram um aumento da porcentagem das fibras colágenas.

No envelhecimento, em virtude das mudanças fisiológicas, pode ocorrer um espessamento arterial considerado como espessamento adaptativo (URSCHEL et al., 2012). O envelhecimento, independente da constatação da aterosclerose ou não, promove um remodelamento vascular ocasionando em espessamento das camadas íntima e média das artérias e uma rigidez vascular aumentada de acordo com a evolução do quadro do paciente (BOLTON e RAJKUMAR, 2010). Na ocorrência da aterosclerose, o espessamento também ocorre, pois há liberação de citocinas e fatores de crescimento, além do acúmulo de lipídios extracelulares, hipertrofia e hiperplasia de células musculares lisas e uma matriz de proteoglicanos (NAKAGAWA & NAKASHIMA, 2018). Pacientes maiores de 60 anos apresentam as fibras elásticas com uma perda de seu modelo de formação, apresentando-se emaranhadas, formando massas espessas irregulares (ORTOLAN et al., 2013).

Além disso, com o envelhecimento há aumento da porcentagem de lipídios aterogênicos, com o avançar da idade (KARLSON et al., 2017; MIEDEMA et al., 2015).

Com relação ao sexo, as alterações arteriais ocorreram de forma diversa em ambos os sexos, sem diferenças significativas. A literatura trás dados divergentes sobre o remodelamento arterial e acometimento da aterosclerose entre os sexos, em que não encontram diferenças evidentes entre as mulheres e os homens (YANG et al., 2019), visto que homens e mulheres respondem fisiologicamente aos diversos fatores de risco envolvidos com a aterosclerose (CIFKOVA et al. 2019), o que converge com nosso estudo. Embora estudos trazem que as mulheres em idade fértil têm menores índices de desenvolvimento da aterosclerose quando comparado aos homens (GO et al., 2014), devido ao estrogênio produzido ter ação protetora nos vasos (OSTADAL & OSTADAL, 2014; MENDELSON & KARAS,

2005). Os hormônios sexuais endógenos estão envolvidos no metabolismo lipídico (WANG et al., 2011), ocasionando em um perfil lipídico plasmático basal menos aterogênico nas mulheres na fase pré menopausa (KARLSON et al., 2017).

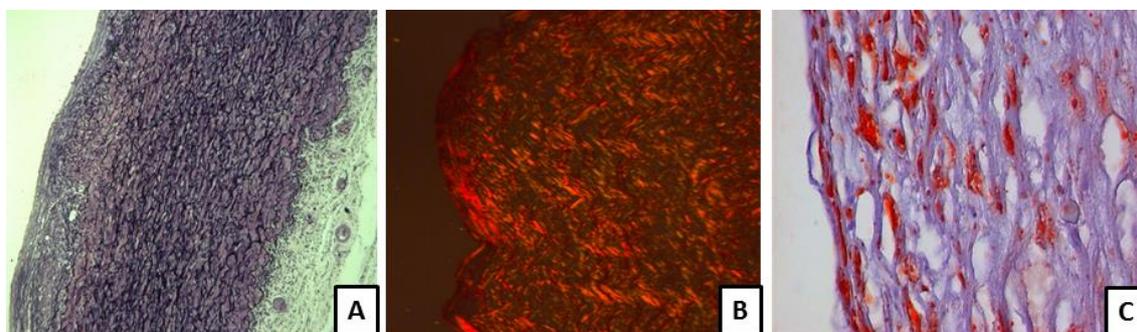
A causa de morte cardiovascular foi evidenciada nos casos com aumento de porcentagem de fibras colágenas, espessura das camadas arteriais e porcentagem de depósito lipídico. Já foi demonstrado em outros estudos que a aterosclerose é um evento assintomático e preditor de doenças cardiovasculares, onde ocorrem tais alterações arteriais, causando alterações no fluxo sanguíneo e na pressão arterial (KADOYA et al. 2017; WICKSTROM et al., 2017; HORIMATSU et al., 2017; ALLISON et al., 2012). Já é evidenciado na literatura que níveis de lipídios elevados são indicativos de doença cardiovascular (HANDELSMAN & SHAPIRO, 2017), o que vai de acordo com nosso estudo, em que há um aumento de deposição de lipídios e remodelamento arterial em pacientes que foram a óbito devido a causas cardiovasculares.

Os leitos arteriais analisados juntamente com as variáveis analisadas mostraram que por ser a aterosclerose uma doença multifatorial, estudos que analisam e associam fatores de risco com o desenvolvimento e evolução da doença e o remodelamento arterial são importantes para o fornecimento de dados para a atuação na prevenção e tratamento dos pacientes clínicos.

CONCLUSÃO

Foi possível observar que de acordo com as variáveis analisadas, a idade e a doença cardiovascular são sinais de alerta para a ocorrência da aterosclerose. Com relação ao sexo, são necessários dados sobre outros fatores de risco envolvidos como o tabagismo e o etilismo, que podem cursar no desenvolvimento ou evolução da doença de forma diferente entre as mulheres e os homens, visto que respondem de forma diferente a tais fatores. O nosso trabalho elucida a importância do desenvolvimento de outros estudos que tragam as alterações arteriais ocorridas na aterosclerose e a associação com os diversos fatores que podem desencadear ou causar uma progressão da doença. Estudos que investigam a base anatomopatológica e morfológica da aterosclerose contribuem para a detecção e tratamento precoce nos grupos mais vulneráveis.

Figura 1 – **A.** Artéria aorta corada com Verhoeff para a medida da espessura das camadas íntima e média. **B.** Artéria aorta corada com Picrosírius evidenciando as fibras colágenas com a coloração birrefringente. **C.** Artéria ilíaca corada com Sudam III com o depósito lipídico marcado em coloração avermelhada.



REFERÊNCIAS

CECCHETTO, G.; BAJANOWSKI, T.; CECCHI, R.; FAVRETTO, D.; GRABHERR, S.; ISHIKAWA, T. et al. Back to the Future - Part 1. The medico-legal autopsy from ancient civilization to the post-genomic era. **Int J Legal Med**, v. 4, p.1069-1083, 2017.

PENG, J.; LUO, F.; RUAN, G.; PENG, R.; LI, X. Hypertriglyceridemia and atherosclerosis. **Lipids Health Dis**, v.16, n.1, p.233, 2017.

CAGLE JR, S. D.; COOPERSTEIN, N. Coronary artery disease: diagnosis and management. **Primary Care: Clinics in Office Practice**, v. 45, n. 1, p. 45–61, 2018.

ABOYANS, V.; RICCO, J. B.; BARTELINK, M. E. L.; BJÖRCK, M.; BRODMANN, M.; COHNERT, T. et al. ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS): Document covering atherosclerotic

disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries Endorsed by: the European Stroke Organization (ESO) The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Society for Vascular Surgery (ESVS). **Eur Heart J**, v. 39, p.763-816, 2018.

REZVANI-SHARIF, A.; TAFAZZOLI-SHADPOUR, M.; AVOLIO, A.. Progressive changes of elastic moduli of arterial wall and atherosclerotic plaque components during plaque development in human coronary arteries. **Med Biol Eng Comput**, v. 57, p.731-740, 2019.

NAKAGAWA, K.; NAKASHIMA, Y. Pathologic intimal thickening in human atherosclerosis is formed by extracellular accumulation of plasma-derived lipids and dispersion of intimal smooth muscle cells. **Atherosclerosis**, v. 274, p.235-242, 2018.

SUH, B.; SONG, Y. S.; SHIN, D. W.; LIM, J.; KIM, H.; MIN, S. H. et al. Incidentally detected atherosclerosis in the abdominal aorta or its major branches on computed tomography is highly associated with coronary heart disease in asymptomatic adults. **J Cardiovasc Comput Tomogr**, v. 12, p.305-311, 2018.

NAKAMURA, E.; SATO, Y.; IWAKIRI, T.; YAMASHITA, A.; MORIGUCHI-GOTO, S.; MAEKAWA, K. et al. Asymptomatic Plaques of Lower Peripheral Arteries and Their Association with Cardiovascular Disease: An Autopsy Study. **J Atheroscler Thromb**, v.24, p.921-927, 2017.

NISHIHARA, K.; YASUDA, S. Histopathology of Asymptomatic Iliac Atherosclerosis: From Autopsy to Practice. **J Atheroscler Thromb**, v. 24, p.910-911, 2017.

LEE, J. J.; PEDLEY, A.; WEINBERG, I.; BRITTON, K. A.; MASSARO, J. M.; HOFFMANN, U. et al. Relation of Iliac Artery Calcium With Adiposity Measures and Peripheral Artery Disease. **Am J Cardiol**, v. 119, p.1217-1223, 2017.

HENDRIKS, E.J.; BEULENS, J.W.; DE JONG, P.A.; VAN DER SCHOUW, Y.T.; SUN, W.N.; WRIGHT, C.M. et al. Calcification of the splenic, iliac, and breast arteries and risk of all-cause and cardiovascular mortality. **Atherosclerosis**, v. 259, p.120-127, 2017.

CIFKOVA, R.; PITHA, J.; KRAJCOVIECHOVA, A.; KRALIKOVA, E. Is the impact of conventional risk factors the same in men and women? Plea for a more gender-specific approach. **Int J Cardiol**, v. S0167-5273, n.18, p. 37008-6, 2019.

IWAKIRI, T.; YANO, Y.; SATO, Y.; HATAKEYAMA, K.; MARUTSUKA, K.; FUJIMOTO, S. et al. Usefulness of carotid intima-media thickness measurement as an indicator of generalized atherosclerosis: findings from autopsy analysis. **Atherosclerosis**, v. 225, n.2, p.359-362, 2012.

NISHIHARA, K.; YASUDA, S. Histopathology of Asymptomatic Iliac Atherosclerosis: From Autopsy to Practice. **J Atheroscler Thromb**, 2017.

FERRAZ, M.L.; NASCIMENTO, D.M.; RORATO, J.P.; ESPINDULA, A.P.; OLIVEIRA, L.F.; RAMALHO, L.S. 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, n.9, p.1071-1075, 2012.

ZAVATTA, M; MELL, M.W. A national Vascular Quality Initiative database comparison of hybrid and open repair for aortoiliac-femoral occlusive disease. **J Vasc Surg**, v.67, n.1, p.199-205, 2018.

GO, A.S.; MOZAFFARIAN, D.; ROGER, V.L.; BENJAMIN, E.J.; BERRY, J.D.; BLAHA, M.J. et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics–2014 update: a report from the American Heart Association. **Circulation**, v.129, n.3, p.399-410, 2014

OSTADAL, B.; OSTADAL, P. Sex-based differences in cardiac ischaemic injury and protection: therapeutic implications. **Br J Pharmacol**, v.171, n.3, p.541-54, 2014.

MENDELSON, M.E.; KARAS, R.H. Molecular and cellular basis of cardiovascular gender differences. **Science**, v.308, n.5728, p.1583-7, 2005.

KADOYA, Y.; KENZAKA, T.; NAITO, D.; ZEN, K.; MATOBA, S. Pseudo aortoiliac bifurcation" leading to significant plaque shifting in the endovascular treatment of an aortoiliac bifurcation lesion: a case report. **BMC Cardiovasc Disord**, v.17, n.1, p.179, 2017.

ALLISON, M.A.; HIS, S.; WASSEL, C.L.; MORGAN, C.; IX, J.H., WRIGHT, C.M. et al. Calcified atherosclerosis in different vascular beds and the risk of mortality. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v.32, n.1, p.140-6, 2012.

WICKSTRÖM, J.E.; JALKANEN, J.M.; VENERMO, M.; HAKOVIRTA, H.H. Crural Index and extensive atherosclerosis of crural vessels are associated with long-term cardiovascular mortality in patients with symptomatic peripheral artery disease. **Atherosclerosis**, v.264, p.44-50, 2017.

HORIMATSU, T.; FUJII, K.; FUKUNAGA, M.; MIKI, K.; NISHIMURA, M.; NAITO Y. et al. The distribution of calcified nodule and plaque rupture in patients with peripheral artery disease: an intravascular ultrasound analysis. **Heart Vessels**, v.32, n.10, p.1161-1168, 2017.

URSCHEL, K.; CICHA, I.; DANIEL, W.G.; GARLICH, C.D. Shear stress patterns affect the secreted chemokine profile in endothelial cells. **Clin Hemorheol Microcirc**, v.50, n.1-2, p.143-52, 2012.

NAKAGAWA, K.; NAKASHIMA, Y. Pathologic intimal thickening in human atherosclerosis is formed by extracellular accumulation of plasma-derived lipids and dispersion of intimal smooth muscle cells. **Atherosclerosis**, v.274. p.235-242, 2018.

NEZU, T.; HOSOMI, N.; AOKI, S.; MATSUMOTO, M. Carotid intima-media thickness for atherosclerosis. **J J Atheroscler Thromb**, v.23, n.1, p.18-31, 2016.

CHO, K.I.; KIM, B.H.; KIM, H.S.; HEO, J.H. Low carotid artery wall shear stress is associated with significant coronary artery disease in patients with chest pain. **J Atheroscler Thromb**, v.23, n.3, p.297-308, 2016.

KARLSON, B.W.; PALMER, M.K.; NICHOLLS, S.J.; BARTER, P.J.; LUNDMAN, P. Effects of age, gender and statin dose on lipid levels: Results from the VOYAGER meta-analysis database. **Atherosclerosis**, v.265, p. 54-59, 2017.

MIEDEMA, M.D.; LOPEZ, F.L.; BLAHA, M.J.; VIRANI, S.S.; CORESH, J.; BALLANTYNE, C.M. et al. Eligibility for statin therapy according to new cholesterol guidelines and prevalent use of medication to lower lipid levels in an older US cohort: the Atherosclerosis Risk in Communities Study Cohort. **JAMA Intern Med**, v.175, n.1, p138-40, 2015.

WANG, X; MAGKOS, F.; MITTENDORFER, B. Sex differences in lipid and lipoprotein metabolism: it's not just about sex hormones. **J Clin Endocrinol Metab**, v.96, n.4, p.885-93, 2011.

HANDELSMAN, Y.; SHAPIRO, M.D. Triglycerides, atherosclerosis, and cardiovascular outcome studies: focus on omega-3 fatty acids. **Endocr Pract**, v.23, n.1, p.100-112, 2017.

ASHCROFT, G.S.; KIELTY, C.M.; HORAN, M.A.; FERGUSON, M.W. Age-related changes in the temporal and spatial distributions of fibrillin and elastin mRNAs and proteins in acute cutaneous wounds of healthy humans. **J Pathol**, v.183, n.1, p.80-89, 1997.

JUDD S.E. et al. Self-report of stroke, transient ischemic attack, or stroke symptoms and risk of future stroke in the Reasons for Geographic and Racial Differences in Stroke (REGARDS) study. **Stroke**, v.44, n.1, p.55-60, 2013.

YANG, Y.J.; PARK, H.J.; WON, K.B.; CHANG, H.J.; PARK, G.M.; KIM, Y.G. et al. Relationship between the optimal cut-off values of anthropometric indices for predicting metabolic syndrome and carotid intima-medial thickness in a Korean population. **Medicine**, v.98, n.42, p.e17620, 2019.

INSULL, J.R.W. The Pathology of Atherosclerosis: Plaque Development and Plaque Responses to Medical Treatment. **The American Journal of Medicine**, v. 122, n. 1A, p. s3-s14, 2009.

BOLTON, E.; RAJKUMAR, C. The ageing cardiovascular system. **Rev. Clinical. Gerontol.**,v. 21, p. 99-109, 2010.

ORTOLAN, M.C.A.B, *et al.* Influência do envelhecimento na qualidade da pele de mulheres brancas: o papel do colágeno, da densidade de material elástico e da vascularização. São Paulo: **Rev. Bras. Cir. Plást**, v. 28, n. 1, 2013.

COMENTÁRIOS

5. COMENTÁRIOS

A avaliação macroscópica é um método de baixo custo, eficaz e padronizado para a mensuração da intensidade da aterosclerose e permite a melhor compreensão do desenvolvimento de outros eventos cardiovasculares no momento da autópsia, além de fornecer dados para a prática clínica. A aplicação dessa avaliação permitiu a análise e comparação do acometimento aterosclerótico em diferentes leitos arteriais, o que resultou em uma melhor compreensão da incidência sistêmica da doença.

Nosso trabalho destaca a importância de realizar estudos comparativos com amostras diversificadas, como os diferentes leitos arteriais aqui utilizados, para abordagens mais completas da compreensão dos processos evolutivos da doença. Além disso, reforça a importância da autópsia como padrão ouro para análises sistematizadas e contribui com novas perspectivas para a prevenção regular no paciente ao revelar a intensa relação de grau de acometimento entre os diferentes leitos arteriais.

CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

Ao analisar o acometimento aterosclerótico de forma sistêmica por meio de material de autópsia, nosso estudo revela que o acompanhamento de um dos principais leitos arteriais como carótidas indica também comprometimento significativo em outras artérias, além de estar relacionado com o avanço da idade, sexo feminino e presença de comorbidades cardiovasculares.

A aterosclerose nesses leitos em geral se manifesta de forma silenciosa, sendo a ausência de sintomas um fator agravante. Assim, este estudo amplifica a necessidade de uma prevenção clínica mais investigativa e reforça o acometimento sistêmico como um fator determinante para complicações graves da doença ao evidenciar o acometimento progressivo, significativo e semelhante em diferentes leitos arteriais.

Portanto, o presente estudo fornece novas ferramentas para uma melhor compreensão da evolução da doença aterosclerótica sistêmica e sua relação com os grupos de risco e das alterações precoces associadas à aterosclerose pré-clínica.

O material de autópsia é de suma importância para a avaliação e associação de alterações com características dos indivíduos acometidos. A avaliação macroscópica e microscópica da aterosclerose e associação com fatores de risco e fatores intrínsecos do indivíduo fornecem dados importantes para a clínica, pois sabendo dos principais fatores envolvidos, é possível tratar e avaliar com mais cautela os pacientes que possuem maiores incidências de desenvolverem lesões ateroscleróticas e eventos cardiovasculares.

Além disso, durante a realização da coleta e análise do material foi encontrado um caso raro, relacionado à progressão da aterosclerose em que somente foi possível diagnosticar e ter conhecimento de tal fato através do material colhido durante a autópsia, reforçando a importância e utilidade desse exame.

REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOYANS, V.; RICCO, J. B.; BARTELINK, M. E. L.; BJÖRCK, M.; BRODMANN, M.; COHNERT, T. *et al.* ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS): Document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries Endorsed by: the European Stroke Organization (ESO) The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Society for Vascular Surgery (ESVS). **Eur Heart J**, v. 39, n.9, p.763-816, 2018.

ALLEN, J.D.; COBB, F.R.; KRAUS, W.E.; GOW, A.J. Total nitrogen oxide following exercise testing reflects endothelial function and discriminates health status. **Free Rad Biol Med**, v.41, n.5, p. 740-747, 2006.

BORSHCH, V.N.; ANDREEVA, E.R.; KUZ'MIN, S.G.; VOZONIKOV, I.N. New medicines and approaches to treatment of atherosclerosis. **Russian Journal of General Chemistry**, v. 82, n. 3, p. 554-563, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/>.

BRASILEIRO FILHO, G. *Bogliolo Patologia*. 8. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2011.

CAGLE JR, S. D.; COOPERSTEIN, N. Coronary artery disease: diagnosis and management. **Primary Care: Clinics in Office Practice**, v. 45, n. 1, p. 45–61, 2018.

CECCHETTO, G.; BAJANOWSKI, T.; CECCHI, R.; FAVRETTO, D.; GRABHERR, S.; ISHIKAWA, T. *et al.* Back to the Future - Part 1. The medico-legal autopsy from ancient civilization to the post-genomic era. **Int J Legal Med**, v. 4, p.1069-1083, 2017.

CHIU, B. Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE, **Journal of Medical Imaging**, v.143, p. 6143, 2006.

FERRARA, S.D.; CECCHETTO, G.; CECCHI, R.; FAVRETTO, D.; GRABHERR, S.; ISHIKAWA, T. et al. Back to the Future - Part 2. Post-mortem assessment and evolutionary role of the bio-medicolegal sciences. **Int J Legal Med**, v.131, n.4, p.1085-1101, 2017.

GHISI, G. L. M.; DURIEUX, A.; PINHO, R.; BENETTI, M. Exercício físico e disfunção endotelial. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 95, n. 5, p. e130-e137, 2010 .

GOTO, C., HIGASHI, Y., KIMURA, M., NOMA, K., HARA, K., NAKAGAWA, K., et al. Effect of different intensities of exercise on endothelium-dependent vasodilatation in humans: role of endothelium-dependent nitric oxide and oxidative stress. **Circulation**, v.108, n.5, p.530-535, 2003.

KING, L.S.; MEEHAN, M.C. A history of the autopsy. A review. **Am J Pathol**, v. 73, p.514–544, 1973.

LEE, J. J.; PEDLEY, A.; WEINBERG, I.; BRITTON, K. A.; MASSARO, J. M.; HOFFMANN, U. *et al.* Relation of Iliac Artery Calcium With Adiposity Measures and Peripheral Artery Disease. **Am J Cardiol**, v. 119, p.1217-1223, 2017.

NAKAGAWA, K.; NAKASHIMA, Y. Pathologic intimal thickening in human atherosclerosis is formed by extracellular accumulation of plasma-derived lipids and dispersion of intimal smooth muscle cells. **Atherosclerosis**, v. 274, p.235-242, 2018.

NAKAMURA, E.; SATO, Y.; IWAKIRI, T.; YAMASHITA, A.; MORIGUCHI-GOTO, S.; MAEKAWA, K. *et al.* Asymptomatic Plaques of Lower Peripheral Arteries and Their Association with Cardiovascular Disease: An Autopsy Study. **J Atheroscler Thromb**, v.24, p.921-927, 2017.

Referências bibliográficas

NAPOLI, C. Childhood infection and endothelial dysfunction: A potential link in atherosclerosis. **American Heart Association Journals**, v. 111, p. 1568-1570, 2007.

NICHOLS, M; TOWNSEND, N; SCARBOROUGH, P; RAYNER, M.
Cardiovascular disease in Europe 2014: epidemiological update. **Euro Heart Journal**, v.35, p.2950-2959, 2014.

NISHIHARA, K.; YASUDA, S. Histopathology of Asymptomatic Iliac Atherosclerosis: From Autopsy to Practice. **J Atheroscler Thromb**, v. 24, p.910-911, 2017.

PENG, J.; LUO, F.; RUAN, G.; PENG, R.; LI, X. Hypertriglyceridemia and atherosclerosis. **Lipids Health Dis**, v.16, n.1, p.233, 2017.

REZVANI-SHARIF, A.; TAFAZZOLI-SHADPOUR, M.; AVOLIO, A. Progressive changes of elastic moduli of arterial wall and atherosclerotic plaque components during plaque development in human coronary arteries. **Med Biol Eng Comput**, v. 57, p.731-740, 2019.

SCHOEN, F.J. Vasos Sanguíneos. In: Kumar V., Abbas A.K., Fausto N. Robbins and Cotran. **Patologia: Bases Patológicas das Doenças**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005, cap.11, p.537-582.

SINDERMANN, J.R.; MARCH, K.L. Balancing Luminal Size and smooth muscle proliferation – a key control point in atherosclerosis and arteriogenesis. **Mechanisms of Angiogenesis: Part 2**, p. 193-205, 2005.

SUH, B.; SONG, Y. S.; SHIN, D. W.; LIM, J.; KIM, H.; MIN, S. H. *et al.* Incidentally detected atherosclerosis in the abdominal aorta or its major branches on computed tomography is highly associated with coronary heart disease in asymptomatic adults. **J Cardiovasc Comput Tomogr**, v. 12, p.305-311, 2018.