

POMPEU TOMÉ RIBEIRO DE CAMPOS

Caracterização morfológica e imuno-histoquímica das alterações da vasculatura pulmonar em pacientes com hipertensão pulmonar associada à falência do coração esquerdo: correlações clínicas e hemodinâmicas

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Cardiologia

Orientadora: Profa. Dra. Vera Demarchi Aiello

**São Paulo
2017**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Campos, Pompeu Tomé Ribeiro de
Caracterização morfológica e imuno-histoquímica das alterações da vasculatura pulmonar em pacientes com hipertensão pulmonar associada à falência do coração esquerdo : correlações clínicas e hemodinâmicas / Pompeu Tomé Ribeiro de Campos - São Paulo, 2017.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Cardiologia.
Orientadora: Vera Demarchi Aiello.

Descritores: 1.Hipertensão pulmonar 2.Insuficiência cardíaca 3.Imuno-histoquímica 4.Pulmão/irrigação sanguínea 5.Transplante cardíaco 6.Autópsia 7.Pulmão/anatomia & histologia

USP/FM/DBD-259/17

Dedico esta obra à minha queridíssima mãe, pessoa de grande coração, e ao meu queridíssimo pai, pessoa de poucas palavras, mas de grandes atitudes. A eles eu devo simplesmente tudo!

AGRADECIMENTOS

Pela realização deste trabalho agradeço:

À minha esposa, pela paciência e apoio em todos os momentos.

À minha orientadora, Professora Doutora Vera Demarchi Aiello pela paciência, dedicação e ensinamentos.

Aos meus eternos mestres Professor Doutor Silvio dos Santos Carvalho, Professor Walter Pazinato, Professora Doutora Maria Aparecida Barone Teixeira e Professor Carlos Osvaldo Teixeira, que me mostraram como é a verdadeira Medicina.

Ao Professor Doutor Antonio Augusto Lopes e ao Doutor Victor Issa pela ajuda fornecida em vários momentos deste trabalho.

Aos funcionários do Laboratório de Anatomia Patológica do InCor Adriana Psota, Antonio José Vicente Guedes e Solange Aparecida Consorti.

Às funcionárias do Laboratório de Imuno-histoquímica da Faculdade de Medicina da USP Ângela Santos e Maria Cristina.

A todos vocês muito obrigado!

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE GRÁFICOS

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO.....	2
1.1 Conceitos e definições da HP secundária às doenças do coração esquerdo.....	3
1.2 O endotélio vascular e sua participação geral na hipertensão pulmonar	9
1.3 Endotelina e HP passiva.....	10
1.3.1 Endotelina A e B, os receptores da endotelina-1	12
1.4 Fosfodiesterase-5 e HP passiva	15
1.5 A HP nas doenças do coração esquerdo e a indicação para transplante cardíaco.....	16
1.6 Correlação entre lesão morfológica e alterações hemodinâmicas ..	17
2 OBJETIVOS	20
3 PACIENTES E MÉTODOS.....	22
3.1 Casuística	22
3.2 Critérios de exclusão.....	23
3.3 Caracterização morfométrica de artérias e veias pulmonares	24
3.4 Caracterização imuno-histoquímica	26
3.5 Análise estatística.....	27
4 RESULTADOS	29
4.1 Aspectos clínicos e demográficos	29
4.2 Dados hemodinâmicos.....	30
4.3 Alterações morfológicas quantitativas, qualitativas e correlações .	30
4.3.1 Parênquima pulmonar	30
4.3.2 Vasos	33

4.3.3 Dados hemodinâmicos e alterações morfológicas dos vasos pulmonares.....	35
4.3.4 Dados hemodinâmicos e características clínicas e demográficas	36
4.3.5 Alterações morfológicas dos vasos pulmonares e características clínicas.....	37
4.3.6 Medidas hemodinâmicas e alterações morfológicas.....	38
4.4 Resultados da avaliação imuno-histoquímica	40
4.4.1 Expressão da endotelina-1 e dos seus receptores A e B nas artérias pulmonares.....	44
4.4.2 Expressão da endotelina-1 e dos seus receptores A e B nas veias pulmonares.....	45
4.4.3 Expressão da fosfodiesterase-5 nas artérias pulmonares.....	46
4.4.4 Expressão da fosfodiesterase-5 nas veias pulmonares.....	47
4.4.5 Artérias pulmonares versus veias em relação à marcação imuno-histoquímica.....	48
5 DISCUSSÃO.....	51
5.1 Alterações morfológicas	51
5.2 Medidas hemodinâmicas.....	52
5.3 Correlação entre medidas hemodinâmicas e alterações morfológicas	53
5.4 Dados hemodinâmicos e características clínicas e demográficas ..	54
5.5 Alterações morfológicas em pacientes cardiopatas chagásicos	54
5.6 Hemangiomatose capilar e sua relação com dados hemodinâmicos e morfológicos	55
5.7 Endotelina-1 e seus receptores A e B nas artérias pulmonares.....	56
5.8 Receptores A e B da endotelina nas veias pulmonares	58
5.9 Fosfodiesterase-5 nas artérias pulmonares	60
5.9.1 Fosfodiesterases-5 nas veias pulmonares	61
5.9.2 Artérias pulmonares versus veias em relação à marcação imuno-histoquímica.....	62
6 LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	65
7 COMENTÁRIOS FINAIS	67
8 CONCLUSÃO	69
9 ANEXOS.....	71
10 REFERÊNCIAS	88

LISTA DE ABREVIATURAS

% Esp Art:	porcentagem de espessura da parede das artérias pulmonares
% Esp Veias:	porcentagem de espessura da parede das veias pulmonares
Ap Diast:	pressão diastólica da artéria pulmonar
Ap Média:	pressão média da artéria pulmonar
Ap Sist:	pressão sistólica da artéria pulmonar
CP:	pressão do capilar pulmonar
DPD:	diferença pressórica diastólica
ET-1 CM:	marcador da endotelina 1 presente na camada média das artérias pulmonares
ET-1 com lesão CM:	marcador da endotelina 1 presente na camada média das artérias pulmonares com lesão intimal
ET-1 com lesão End:	marcador da endotelina 1 presente no endotélio das artérias pulmonares com lesão intimal
ET-1 End:	marcador da endotelina 1 presente no endotélio das artérias pulmonares
ET-1 intra CM:	marcador da endotelina 1 presente na camada média das artérias pulmonares intra-acinares
ET-1 intra End:	marcador da endotelina 1 presente no endotélio das artérias pulmonares intra-acinares
ET-1 pré CM:	marcador da endotelina 1 presente na camada média das artérias pulmonares intra-acinares
ET-1 pré End:	marcador da endotelina 1 presente no endotélio das artérias pulmonares pré-acinares
ET-1 sem lesão CM:	marcador da endotelina 1 presente na camada média das artérias pulmonares sem lesão intimal
ET-1 sem lesão End:	marcador da endotelina 1 presente no endotélio das artérias pulmonares sem lesão intimal
ET-1 Veias CM:	marcador da endotelina 1 presente na camada média das veias pulmonares

ET-1 Veias End:	marcador da endotelina 1 presente no endotélio das veias pulmonares
ET-1:	endotelina-1
ET-A CM:	marcador do receptor A da endotelina presente na camada muscular das artérias pulmonares
ET-A com lesão CM:	marcador do receptor A da endotelina presente na camada média das artérias pulmonares que apresentam lesão intimal
ET-A com lesão End:	marcador do receptor A da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares que apresentam lesão intimal
ET-A End:	marcador do receptor A da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares
ET-A intra CM:	marcador do receptor A da endotelina presente na camada média das artérias pulmonares intra-acinares
ET-A intra End:	marcador do receptor A da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares intra-acinares
ET-A pré CM:	marcador do receptor A da endotelina presente na camada média das artérias pulmonares pré-acinares
ET-A pré End:	marcador do receptor A da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares pré-acinares
ET-A sem lesão CM:	marcador do receptor A da endotelina presente na camada média das artérias pulmonares que não apresentam lesão intimal
ET-A sem lesão End:	marcador do receptor A da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares que não apresentam lesão intimal
ET-A Veias CM:	marcador do receptor da endotelina A presente na camada média das veias pulmonares
ET-A Veias End:	marcador do receptor da endotelina A presente no endotélio das veias pulmonares
ET-A:	receptor A da endotelina-1
ET-B CM:	marcador do receptor B da endotelina presente na camada média das artérias pulmonares
ET-B com lesão CM:	marcador do receptor B da endotelina presente na camada média das artérias pulmonares com lesão intimal

ET-B com lesão End:	marcador do receptor B da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares com lesão intimal
ET-B End:	marcador do receptor B da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares
ET-B intra CM:	marcador do receptor B da endotelina presente na camada média das artérias pulmonares intra-acinares
ET-B intra End:	marcador do receptor B da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares intra-acinares
ET-B pré CM:	marcador do receptor B da endotelina presente na camada média das artérias pulmonares pré-acinares
ET-B pré End:	marcador do receptor B da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares pré-acinares
ET-B sem lesão CM:	marcador do receptor B da endotelina presente na camada média das artérias pulmonares
ET-B sem lesão End:	marcador do receptor B da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares sem lesão intimal
ET-B Veias CM:	marcador do receptor B da endotelina presente na camada média das veias pulmonares;
ET-B Veias End:	marcador do receptor B da endotelina presente no endotélio das veias pulmonares
ET-B:	receptor B da endotelina-1
GTP:	gradiente transpulmonar
HP:	hipertensão pulmonar
PDE-5 CM:	marcador da fosfodiesterases-5 presente na camada média das artérias pulmonares
PDE-5 com lesão CM:	marcador da fosfodiesterases-5 presente na camada média das artérias pulmonares com lesão intimal
PDE-5 com lesão End:	marcador da fosfodiesterases-5 presente no endotélio das artérias pulmonares com lesão intimal
PDE-5 End:	marcador da fosfodiesterases-5 presente no endotélio das artérias pulmonares

PDE-5 intra CM:	marcador da fosfodiesterases-5 presente na camada média das artérias pulmonares intra-acinares
PDE-5 intra End:	marcador da fosfodiesterases-5 presente no endotélio das artérias pulmonares intra-acinares
PDE-5 pré CM:	marcador da fosfodiesterases-5 presente na camada média das artérias pulmonares pré-acinares
PDE-5 pré End:	marcador da fosfodiesterases-5 presente no endotélio das artérias pulmonares pré-acinares
PDE-5 sem lesão CM:	marcador da fosfodiesterases-5 presente na camada média das artérias pulmonares sem lesão intimal
PDE-5 sem lesão End:	marcador da fosfodiesterases-5 presente no endotélio das artérias pulmonares sem lesão intimal
PDE-5 Veias CM:	marcador da fosfodiesterases-5 presente na camada média das veias pulmonares
PDE-5 Veias End:	marcador da fosfodiesterases-5 presente no endotélio das veias pulmonares
PDE-5:	marcador da fosfodiesterase-5
RVP:	resistência vascular pulmonar
Tx:	transplante cardíaco

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - As retas em vermelho mostram as medidas do diâmetro externo (*reta maior*) e da espessura da camada média (*reta menor*) da parede arterial pulmonar.....25
- Figura 2** – As linhas vermelhas delimitam a parede da veia pulmonar. A medida desta parede foi, portanto, realizada por meio da subtração da área externa com a área interna26
- Figura 3** - Fotomicrografia do aspecto característico de congestão passiva crônica pulmonar encontrada em todos os casos avaliados, com macrófagos alveolares contendo pigmento de hemossiderina (acastanhado). Coloração pela hematoxilina-eosina, aumento da objetiva=20X.31
- Figura 4** - Foco do parênquima pulmonar exibindo proliferação de capilares, que se apresentam em mais de uma camada e espessam os septos alveolares. Coloração pela hematoxilina-eosina, aumento da objetiva= 40x.32
- Figura 5** - Fotomicrografia de artéria pré-acinar apresentando lesão proliferativa da túnica íntima. A marcação imuno-histoquímica para PDE-5 mostra positividade tanto nas células da túnica média (ML) como também em células musculares modificadas e proliferadas da lesão oclusiva da íntima (setas). Contra-coloração pela hematoxilina de Harris e aumento da objetiva= 40x.42
- Figura 6** - Fotomicrografia representativa dos achados das reações de imuno-histoquímica em artérias (painéis da esquerda) e em veias (painéis da direita). A marcação da Endotelina-1 (ET-1) mostrou-se positiva em endotélio e mais fraca em células musculares lisas da túnica média de artérias e de veias. O receptor A da endotelina (ET-A) marcou tanto células endoteliais como células musculares lisas da média, enquanto que o receptor B (ET-B) marcou fracamente tanto endotélio como células da túnica média. As reações contra fosfodiesterase-5 (PDE-5) mostraram positividade forte tanto em células endoteliais como em células musculares lisas das artérias e das veias. Contra-coloração pela hematoxilina de Harris, aumento da objetiva=40x.....43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Etiologia das cardiopatias	23
Tabela 2	– Características dos doadores	24
Tabela 3	– Descrições clínicas	29
Tabela 4	– Medidas hemodinâmicas	30
Tabela 5	– Casos com e sem aspecto microscópico compatível com <i>hemangiomatose capilar e lesão arterial intimal</i>	33
Tabela 6	– Porcentagem de espessura da camada média das artérias pulmonares e da parede das veias pulmonares	34
Tabela 7	– Valores da porcentagem de espessura da camada média das artérias pulmonares e da parede das veias pulmonares	34
Tabela 8	– Correlação com os dados hemodinâmicos e a porcentagem de espessura das artérias e das veias pulmonares	36
Tabela 9	– Valores médios e de desvio-padrão na comparação de dados morfométricos entre grupos chagásico e não chagásicos	38
Tabela 10	– Valores médios e de desvio-padrão na comparação de dados morfométricos entre grupos idiopáticos e não idiopáticos	38
Tabela 11	– Frequências absolutas e relativas do GTP e RVP, segundo o grupo de Hemangiomatose.....	39
Tabela 12	– Valores descritivos das variáveis hemodinâmicas, segundo o grupo de Hemangiomatose.....	40
Tabela 13	– Valores descritivos das variáveis imuno-histoquímicas - artérias	41
Tabela 14	– Valores descritivos das variáveis imuno-histoquímicas-veias..	41
Tabela 15	– Valores descritivos das variáveis imuno-histoquímicas - biópsias	42
Tabela 16	– Coeficiente de correlação de Spearman, variáveis morfológicas e variáveis imuno-histoquímicas	48

Tabela 17 - Valores descritivos das variáveis imuno-histoquímicas, segundo o tipo de vaso e local de marcação	48
Tabela 18 - Frequências absolutas e relativas do GTP e RVP, segundo o grupo de Chagas.	71
Tabela 19 - Valores descritivos das variáveis hemodinâmicas, segundo o grupo de Chagas	71
Tabela 20 - Frequências absolutas e relativas do GTP e RVP, segundo o grupo de Tx.....	72
Tabela 21 - Valores descritivos das variáveis hemodinâmicas, segundo o grupo de Tx.....	72
Tabela 22 – Comparação entre dados hemodinâmicos e a etiologia da cardiopatia (<i>idiopática ou não-idiopática</i>).....	73
Tabela 23 – Comparação entre dados hemodinâmicos e gênero	73
Tabela 24 - Valores descritivos das variáveis morfométricas, segundo o grupo de Tx.....	74
Tabela 25 – Valores médios e de desvio-padrão na comparação de dados morfométricos entre gêneros	74
Tabela 26 - Média de marcação imuno-histoquímica nas artérias pulmonares	74
Tabela 27 - Média de marcação imuno-histoquímica nas veias pulmonares	75
Tabela 28 - Valores descritivos das variáveis imuno-histológicas, segundo o grupo de Hemangiomas.....	76
Tabela 29 - Valores descritivos das variáveis imuno-histoquímicas, segundo o grupo de Chagas	79
Tabela 30 - Valores descritivos das variáveis imuno-histoquímica, segundo o grupo de Tx.....	82

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1** – Correlação entre porcentagem de espessura da artéria pulmonar e pressão pulmonar diastólica35
- Gráfico 2** – Correlação entre porcentagem de espessura da artéria pulmonar e a pressão pulmonar média36
- Gráfico 3** – Comparação entre pacientes com e sem hemangiomatose capilar quanto a resistência vascular pulmonar39
- Gráfico 4** – Comparação entre pacientes com ou sem hemangiomatose em relação à marcação do receptor A da endotelina nas artérias pulmonares44
- Gráfico 5** - Correlação entre porcentagem de espessura das artérias pulmonares com lesão intimal e o receptor B da endotelina na camada média45
- Gráfico 6** - Comparação de pacientes com ou sem hemangiomatose capilar em relação ao marcador dos receptores A da endotelina presentes no endotélio das veias pulmonares.....46
- Gráfico 7** - Correlação entre porcentagem de espessura das artérias pulmonares e marcação da PDE-5 presente na camada média das artérias pulmonares com lesão intimal.....47

RESUMO

Campos PTR. *Caracterização morfológica e imuno-histoquímica das alterações da vasculatura pulmonar em pacientes com hipertensão pulmonar associada à falência do coração esquerdo: correlações clínicas e hemodinâmicas* [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2017.

INTRODUÇÃO: Pacientes portadores de doença cardíaca com disfunção do coração esquerdo podem desenvolver, especialmente nos estágios avançados da doença, hipertensão pulmonar (HP) “passiva”. Apesar do reconhecimento de que o desenvolvimento de HP em tais pacientes está associado a um pior prognóstico da doença de base, dados da literatura sobre sua incidência, fisiopatologia e tratamento são escassos. **OBJETIVOS:** Em tecido pulmonar de pacientes com HP passiva: **1**-caracterizar e quantificar as alterações morfológicas dos vasos pulmonares; **2**-correlacionar o resultado do estudo hemodinâmico invasivo com o grau de lesão da vasculatura pulmonar; **3**-avaliar a expressão da endotelina-1, de seus receptores A e B e da fosfodiesterase-5 (PDE-5) na parede vascular, correlacionando-a com as alterações morfológicas e com os parâmetros hemodinâmicos; **4**-como meta secundária, avaliar comparativamente todos os objetivos acima listados entre as diversas etiologias da cardiopatia de base. **MÉTODO:** A partir do arquivo de casos de necrópsia do Laboratório de Anatomia Patológica do InCor HCFMUSP foram selecionados 21 pacientes consecutivos portadores de doença do coração esquerdo e listados para transplante ou então que haviam sido submetidos a transplante cardíaco até 60 dias antes do óbito. Em cortes histológicos dos pulmões, todas as artérias e veias presentes no fragmento foram analisadas, excetuando-se aquelas com artefato. As mensurações lineares foram obtidas utilizando sistema computadorizado de análise de imagens. Em outros cortes histológicos de tecido pulmonar foi realizada também marcação imuno-histoquímica para endotelina-1 e seus receptores (ET-A e ET-B), e para fosfodiesterase-5, sendo sua expressão avaliada semi-quantitativamente. **RESULTADOS:** Foi encontrada hipertrofia da camada média de artérias em todos os casos e fibrose intimal em 60% deles. As veias apresentavam fibrose intimal de graus variáveis em todos os casos. Em cinco casos, encontramos focalmente aspecto microscópico compatível com hemangiomas capilares. Houve correlação positiva entre a porcentagem de espessura da camada média arterial e a pressão pulmonar diastólica ($p=0,01$), e também com a pressão pulmonar média ($p=0,032$). Pacientes chagásicos apresentaram menor porcentagem de espessura da parede das veias em comparação àqueles com outras etiologias da cardiopatia de base ($p=0,019$). Indivíduos com focos de hemangiomas capilares apresentavam maiores valores tanto de GTP quanto de RVP e menor expressão imuno-histoquímica de ET-A no endotélio das artérias pulmonares ($p=0,019$). A comparação entre

pacientes submetidos ou não ao transplante cardíaco revelou diferença significativa apenas quanto à expressão de ET-A na camada muscular das veias pulmonares, sendo a marcação maior nos primeiros. Houve correlação positiva estatisticamente significativa entre a média da porcentagem de espessura das artérias pulmonares com fibrose intimal e a intensidade de marcação da PDE-5 na camada média das mesmas artérias ($p=0,012$). Observamos diferença significativa entre artérias e veias em relação aos marcadores, ET-A, ET-B e PDE-5, sendo a marcação menor nas veias. **CONCLUSÃO:** o presente estudo mostrou em tecido pulmonar de humanos a expressão imuno-histoquímica da endotelina-1 e de seus receptores A e B e também da PDE-5 tanto em artérias como em veias pulmonares de pacientes com insuficiência cardíaca crônica. O significado de tais achados precisa ser entendido no contexto da doença e possivelmente guiar medidas terapêuticas futuras.

Descritores: hipertensão pulmonar; insuficiência cardíaca; imuno-histoquímica; pulmão/irrigação sanguínea; transplante cardíaco; autópsia; pulmão/anatomia & histologia

ABSTRACT

Campos PTR. *Morphologic and immunohistochemistry characterization of the pulmonary vasculature in patients with pulmonary hypertension associated with left heart disease: hemodynamic and clinical correlations* [Thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2017.

BACKGROUND: patients with heart failure may develop, especially in the end stage of the disease, “passive” pulmonary hypertension (PH). Even with the recognition that PH in such patients is associated with poor prognosis, data from literature about its incidence, physiopathology and treatment are lacking. **OBJECTIVES:** in pulmonary tissue from patients with passive PH: **1-** characterize and quantify the morphologic alterations of pulmonary vessels; **2-** correlate the hemodynamic data with the degree of pulmonary vasculature lesions; **3-** evaluate the endothelin-1, and its receptors A and B, and phosphodiesterase-5 expression in the vascular wall, correlating them with the morphologic alterations and the hemodynamic data; **4-** as a secondary goal, evaluate comparatively all the objectives above mentioned among all cardiopathy etiologies. **METHODOLOGY:** from the autopsy archives of the Laboratory of Pathology of the Heart Institute (InCor) of Sao Paulo University School of Medicine, twenty one consecutive adult patients with end-stage left heart disease who died in the waiting list for heart transplant or up to two months after the procedure were selected. In lung histological sections, all arteries and veins presented in the same section were analyzed, excepting those with some kind of artifact. Linear measurements were made using a computerized system of image analyze. In pulmonary histological sections especially made for this research endothelin-1 and its receptors (ET-A and ET-B), and phosphodiesterase-5 immunohistochemistry labeling was realized and their expression were evaluated semi-quantitatively. **RESULTS:** arterial medial layer hypertrophy was seen in all cases, and intimal fibrosis in 60% of patients. In all cases veins showed intimal fibrosis of variable degrees. In five cases we found capillary hemangiomatosis-like lesions. There was positive correlation between the percentage of the arterial medial thickness and both: the mean pulmonary arterial pressure ($p=0.032$) and the diastolic pulmonary arterial pressure ($p=0.01$). Chagasic patients presented lower percentage of vein wall thickness comparatively with non-Chagasic individuals ($p = 0.019$). Patients with hemangiomatosis-like lesions had greater values of transpulmonary gradient and pulmonary vascular resistance and lower pulmonary artery endothelium ET-A immunohistochemistry expression ($p = 0.019$). Patients submitted or not to heart transplant comparison showed statistical difference only when the ET-A expression was presented in the medial layer of pulmonary veins, with formers greater values. There was positive correlation between the mean thickness percentage of pulmonary arteries with intimal lesions and the expression of PDE-5 in the medial layer of

the same arteries ($p = 0.012$). There was also significant difference between arteries and veins in relation to ET-A, ET-B and PDE-5 expression, with lower values in veins. **CONCLUSION:** the present study showed in human pulmonary tissue the immunohistochemistry expression of endothelin-1 and its receptors A and B and of PDE-5 in pulmonary arteries and veins of patients with chronic heart failure. The significance of such results should be understood in the disease context and possibly guide future therapeutics decisions.

Descriptors: hypertension, pulmonary; heart failure; immunohistochemistry; lung/blood supply; heart transplantation; autopsy; lung/anatomy & histology

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Pacientes portadores de doença cardíaca de qualquer etiologia que se apresentam com disfunção do coração esquerdo, seja por alteração miocárdica, seja por envolvimento valvar, podem desenvolver, especialmente nos estágios mais avançados da doença, hipertensão pulmonar (HP) “passiva”. Embora estes pacientes sejam classificados como portadores de HP venosa ou passiva, podem apresentar algumas alterações morfológicas que também são observadas em portadores de hipertensão arterial pulmonar (Chin, 2008). Sabe-se que até 60% dos pacientes com disfunção sistólica e 70% daqueles com disfunção diastólica esquerda desenvolvem HP passiva (Hoepfer, 2009).

Na classificação de HP proposta no 5º Simpósio Mundial sediado em Nice, França em 2013 (Simonneau *et al.*, 2013) esse tipo de doença vascular pulmonar é categorizado no grupo 2 (HP associada a doenças do coração esquerdo, com disfunção sistólica, diastólica ou valvar). Alguns autores a denominam como a forma “não-arterial” da HP (Hoepfer, 2009).

Apesar do reconhecimento de que o desenvolvimento de HP em pacientes com doenças do coração esquerdo está associado a um pior prognóstico da doença de base, dados da literatura sobre sua incidência, fisiopatologia e tratamento são escassos (Guazzi, 2010). Décadas atrás, a estenose mitral reumática era reconhecida como sendo a causa mais frequente de hipertensão pulmonar, dentre todas as demais causas (Guazzi, 2010). No entanto, atualmente, a cardiopatia por hipertensão e a cardiopatia isquêmica são reconhecidas como as doenças cardíacas mais frequentes que levam a essa forma de HP (Guazzi, 2010).

Paradoxalmente, embora a causa mais frequente de HP seja a que vem associada a doenças do coração esquerdo (pela sua grande prevalência), a chamada HP arterial, mais rara, vem merecendo um maior número de estudos quanto à patogenia, diagnóstico e tratamento.

Além disso, métodos terapêuticos consagrados utilizados no tratamento da modalidade arterial da hipertensão pulmonar são cada vez mais extrapolados, ainda que de forma experimental, para os casos não-arteriais. Estudo recente demonstrou melhora da capacidade ao exercício e de padrões hemodinâmicos com o uso de sildenafil em pacientes portadores de insuficiência cardíaca sistólica e hipertensão pulmonar secundária (Lewis, 2007). Por outro lado, embora os resultados iniciais dos estudos apontem para uma perspectiva futura do uso destas medicações também para os casos não-arteriais, a recomendação atual para o tratamento específico da hipertensão pulmonar, secundária a cardiopatias do coração esquerdo, é que este seja realizado de forma excepcional (McLaughlin, 2009).

1.1 Conceitos e definições da HP secundária às doenças do coração esquerdo

A hipertensão pulmonar é diagnosticada quando o nível da pressão arterial pulmonar média atingir valores maiores ou iguais a 25 mmHg medida em repouso e por meio de procedimento invasivo conhecido como cateterismo de câmaras direitas (McLaughlin, 2009). No entanto, apenas a medida da pressão arterial pulmonar média não define a hipertensão pulmonar como sendo secundária a doenças cardíacas, sendo para isso, necessário que os valores de pressão do capilar pulmonar sejam maiores do que 15 mmHg (McLaughlin, 2009). A pressão do capilar pulmonar reflete, na verdade, a medida pressórica da artéria pulmonar na qual o catéter está encunhado, que é a mesma daquela encontrada na veia pulmonar de mesmo calibre. De forma indireta, é possível atribuir estas medidas pressóricas àquelas encontradas no átrio esquerdo. Assim, em termos hemodinâmicos, a grande diferença entre as doenças que provocam hipertensão pulmonar por acometimento das artérias pulmonares e aquelas atribuídas ao acometimento do coração esquerdo e, por conseguinte das veias pulmonares, é que as primeiras apresentam níveis de pressão do capilar pulmonar igual ou abaixo de 15 mmHg (McLaughlin, 2009). Este efeito do aumento da pressão do capilar

pulmonar acima de 15 mmHg utilizado como critério de definição para a hipertensão pulmonar passiva será explicado com maiores detalhes mais adiante.

Em relação aos aspectos morfológicos, a HP em suas diferentes formas clínicas é caracterizada por uma grande variedade de anormalidades na parede dos vasos pulmonares (McLaughlin, 2009). Artérias de todos os calibres podem ser afetadas, desde o tronco da artéria pulmonar e seus ramos, nos quais placas ateromatosas podem ser visualizadas nos casos mais graves, até as arteríolas (Abbas *et al.*, 2005). Todas as camadas que compõem a parede vascular podem ser afetadas: *hiperplasia intimal*, *hipertrofia muscular da túnica média e espessamento da adventícia* (Abbas *et al.*, 2005; McLaughlin, 2009). Além disso, podem ser observados formação de trombos na luz vascular (trombose *in situ*), assim como vários graus de inflamação arterial (McLaughlin, 2009). Nas formas mais avançadas e na forma idiopática particularmente, é possível ainda destacar a formação de lesões chamadas complexas ou dilatadas (plexiformes, angiomatoides, microangiopatias, venopatia oclusiva).

No que se refere às alterações morfológicas da vasculatura pulmonar na HP secundária a doenças cardíacas esquerdas, independentemente da causa da cardiopatia e do grupo funcional à qual ela pertença, sistólica ou diastólica, o efeito final que levará ao quadro de hipertensão pulmonar e, portanto às modificações estruturais na parede dos vasos pulmonares, será o aumento da pressão hidrostática nas veias e vênulas pulmonares, capilares e, por contiguidade, nas arteríolas e artérias pulmonares devido à incapacidade cardíaca de impulsionar anterogradamente, em quantidades suficientes, o volume sanguíneo que chega em suas câmaras esquerdas, no caso das cardiopatias sistólicas, ou devido à diminuição do complacência ventricular, no caso das cardiopatias diastólicas. No entanto, ainda que não totalmente compreendido, acredita-se que o aumento da pressão na vasculatura pulmonar não seja tão somente um efeito hemodinâmico passivo provocado pelo aumento da pressão de enchimento nos vasos sanguíneos. É possível que a diminuição na velocidade do fluxo sanguíneo nos vasos pulmonares

associada ao aumento na pressão hidrostática exercida no endotélio vascular pulmonar, provocada pelo aumento da pressão atrial esquerda, contribua de alguma forma, embora ainda não se saiba como, para a formação de algum tipo de reação vascular, talvez inicialmente estimulada por alguma forma de lesão endotelial, podendo ser mais tardiamente, com o avançar da doença, perpetuada pelo acometimento das outras camadas da parede vascular, tais como fibrose intimal e hipertrofia da camada média. Pensando nisso é que citamos a seguir o trabalho de Delgado *et al.* que descreveram e caracterizaram o surgimento de lesões vasculares pulmonares em pacientes com hipertensão pulmonar secundária a doenças do coração esquerdo. Neste trabalho (Delgado, 2005), os autores encontraram aumento na porcentagem de espessura da parede das artérias pulmonares musculares (100 – 1000 μm de diâmetro), com média de $19,5 \pm 5,8\%$, quase três vezes o limite superior da normalidade que é de 7%. No entanto, o encontro de fibrose importante na camada intimal não foi significativo. Em relação à caracterização histopatológica das paredes das veias pulmonares neste estudo, os autores não descrevem achados importantes de fibrose intimal ou hipertrofia da camada muscular. Resultados semelhantes aos de Delgado foram encontrados por Hasleton e Brooks em 1995. Estes dois autores descrevem dois casos submetidos a exame microscópico dos pulmões após transplante cardíaco. Na análise destes pacientes os autores encontraram oclusão por fibrose intimal e muscularização das veias pulmonares. Em relação às artérias, os autores descrevem hipertrofia da camada muscular além de muscularização da parede das arteríolas pulmonares. Relatos clássicos da chamada HP passiva descreveram, principalmente nas lesões obstrutivas valvares (estenose mitral reumática), outras alterações vasculares que incluem o espessamento da parede das veias e dilatação linfática em septos interlobulares. Além disso, o parênquima pulmonar exibia alterações congestivas caracterizadas por exsudatos alveolares, hemossiderose sob a forma das chamadas “células do vício cardíaco” nas luzes alveolares, e espessamento de septos por edema. Esses autores descreveram também lesões proliferativas fibro-intimais de grau acentuado em artérias e arteríolas.

Existem também lesões vistas nos capilares pulmonares, embora sejam de ocorrência bastante rara, caracterizadas por proliferação focal de capilares nas paredes alveolares, pleura, brônquios e paredes de veias e artérias (Guimarães *et al.*, 2005). Sobre estas lesões, conhecidas como hemangiomatose capilar, Wang *et al.* em 2009 descreveram sua presença em uma paciente de 86 anos portadora de estenose aórtica. Segundo estes mesmos autores, existem ainda apenas mais dois casos relatados deste tipo de lesão em pacientes com HP passiva, um deles secundário à cardiopatia hipertrófica (Jing *et al.*, 1998) e o outro secundária a congestão passiva pulmonar devido à metástase de câncer de cólon na região pulmonar hilar (Moritani *et al.*, 2006).

Evidentemente nem todos os pacientes com hipertensão pulmonar secundária a doenças do coração esquerdo se apresentariam com lesões da vasculatura pulmonar como descritas pelos autores citados anteriormente. No entanto, aqueles que as têm se enquadrariam em um subgrupo de doentes cardiopatas no qual alguns autores se acostumaram a chamar de *hipertensão pulmonar reativa* ou de *hipertensão pulmonar desproporcional*. A finalidade desta nomenclatura, e até mesmo de outras, é a de diferenciar este subgrupo de cardiopatas daqueles que, provavelmente, apresentariam hipertensão pulmonar mais leve no qual não haveria evidente componente morfológico vascular associado às alterações hemodinâmicas. Embora este tipo de diferenciação sofra diversas críticas por parte de vários autores por ser algo muito mais especulativo do que realmente comprovado, na prática esta diferenciação nestes subgrupos tem sido utilizada durante a avaliação para o procedimento de transplante cardíaco. A grande crítica que podemos fazer para a utilização deste critério de seleção é que ele se baseia apenas em dados hemodinâmicos sem levar em consideração as possíveis alterações morfológicas presentes na vasculatura pulmonar. Na prática, procura-se inferir o componente anatomopatológico de acordo com os resultados hemodinâmicos, especulando-se que exista uma relação direta entre estes achados. Assim, pacientes com gradiente transpulmonar (GTP), calculado por meio da fórmula: PAPm (pressão média da artéria pulmonar) – PCP (pressão

média do capilar pulmonar), maior ou igual a 12 mmHg apresentariam contraindicação para o transplante cardíaco ou pelo menos estariam em situação de maior probabilidade para a falência aguda do ventrículo direito após o procedimento (Vachiéry *et al.*, 2013). Butler e colaboradores (2005) mostraram que um gradiente transpulmonar $> 16\text{mmHg}$ estava relacionado a maior risco de falência do coração direito no pós-transplante. Acredita-se, portanto, que pacientes com $\text{GTP} \geq 12\text{ mmHg}$ estariam no subgrupo de *hipertensão pulmonar reativa* ou *desproporcional*, provavelmente por apresentarem lesões vasculares significativas, tais como fibrose intimal e hipertrofia da camada muscular. Isto ocorreria porque tais lesões, localizadas principalmente no componente arterial, levariam a um aumento desproporcional dos níveis da PAPm em comparação com os da PCP, aumentando o GTP. Já nas Diretrizes Brasileiras de Insuficiência Cardíaca e Transplante, este gradiente limítrofe foi descrito como sendo 15mmHg (Bacal, 2010).

Um outro parâmetro hemodinâmico frequentemente utilizado como critério para contraindicação de transplante cardíaco é o valor da *resistência vascular pulmonar* (RVP), calculada por meio da fórmula: $\text{GTP} \div \text{DC}$ (débito cardíaco). Da mesma forma que o GTP, pacientes com RVP acima de 5 uW são considerados portadores de *hipertensão pulmonar reativa* ou *desproporcional* (Bacal, 2010). Dados de um centro de transplante cardíaco apontam que cerca de 50% dos pacientes que se apresentam como candidatos ao procedimento apresentam resistência vascular pulmonar acima de 2 unidades Wood (uW) (Hoepfer, 2009). Outros relatam que 15 a 35% dos pacientes mostram valores de resistência acima de $3,5\text{ uW}$ (Nallet, 2009). No entanto, nem todos concordam que a hipertensão pulmonar grave está relacionada a maior mortalidade por falência do ventrículo direito do doador no período pós-transplante imediato. Guglin e Khan (2010), por exemplo, citam os trabalhos de Tenderich *et al.* e de Addonizio *et al.* que não confirmaram aumento de mortalidade em pacientes transplantados com $\text{RVP} \geq 5\text{ uW}$ e $\text{GTP} > 15\text{ mmHg}$, e RVPi (resistência vascular pulmonar indexada – corrigida pela massa corpórea) ≥ 6 no pré-transplante, respectivamente.

Finalmente, mais recentemente tem se defendido o uso de outro parâmetro hemodinâmico para a avaliação deste subgrupo de pacientes, a *Diferença Pressórica Diastólica* (DPD) que pode ser calculada pela fórmula: PAPd (pressão diastólica da artéria pulmonar) – PCP. Os autores que defendem o uso da DPD como uma maneira de identificar o aparecimento de lesão vascular pulmonar alegam que a *pressão diastólica da artéria pulmonar* estaria menos sujeita às alterações na pressão do capilar pulmonar (Vachiéry *et al.*, 2013) em comparação com as outras medidas hemodinâmicas citadas anteriormente. Assim, pacientes com $DPD > 7$ mmHg estariam em maior risco de apresentarem falência aguda do ventrículo direito no pós-transplante por se enquadrarem no subgrupo dos pacientes com lesão vascular (Vachiéry *et al.*, 2013).

Independentemente de qualquer um destes parâmetros, o fato é que carecemos ainda de recursos que possam apresentar adequada correlação entre os dados hemodinâmicos e a presença ou não de doença vascular pulmonar significativa, como ficou comprovado pelo estudo de Delgado *et al.*, comentado acima, no qual os autores não encontram correlação significativa entre os parâmetros hemodinâmicos (PAPm, GTP, RVP) e a porcentagem de espessura da parede vascular pulmonar.

Especula-se que toda alteração morfológica que ocorre nos vasos pulmonares provocada pelo aumento nas pressões de enchimento secundário às doenças cardíacas seria desencadeada pela chamada *disfunção endotelial*, acarretando um desequilíbrio entre as diversas substâncias produzidas por esta estrutura, o que geraria alterações profundas na função contrátil da musculatura lisa presente na parede vascular das artérias e arteríolas pulmonares, assim como efeitos proliferativos das células de sustentação do endotélio. Maiores detalhes sobre os efeitos da *disfunção endotelial* discutiremos a seguir.

1.2 O endotélio vascular e sua participação geral na hipertensão pulmonar

Desde 1865 quando o termo “*endothelium*” surge pela primeira vez na literatura por meio das descrições de Whilhem His, até o início da década de 1970, o endotélio vascular, definido como sendo a *monocamada de células mais interna da parede de um vaso, seja ele sanguíneo ou linfático* (Félétou, 2011), era considerado como sendo meramente uma barreira difusora que, no entanto, impedia a passagem das hemácias através da parede vascular. Entretanto, a partir de então, o endotélio passou a ser reconhecido como tendo um papel importante na fluidez sanguínea, na agregação plaquetária e no tônus vascular, além de suas funções na regulação imunológica, inflamatória, metabólica e da angiogênese, podendo ser também considerado um órgão do sistema endócrino (Félétou, 2011). Desta forma, o endotélio é responsável pela manutenção do equilíbrio entre vasodilatação e vasoconstrição, inibição e promoção da proliferação e migração de células musculares lisas, prevenção e estímulo da adesão e agregação plaquetária, assim como da trombogênese e da fibrinólise (Félétou, 2011). Dentre as diversas substâncias produzidas pelo endotélio e que são responsáveis pelas funções endoteliais descritas acima estão o óxido nítrico, a prostaciclina, a tromboxane A₂ e a endotelina-1. Nas doenças que levam à disfunção endotelial e, por conseguinte à hipertensão pulmonar, ocorreria, portanto, um desequilíbrio entre as substâncias vasodilatadoras (óxido nítrico e prostaciclina) e as vasoconstritoras (tromboxane A₂ e endotelina-1), havendo maior produção destes últimos, além da diminuição na produção dos primeiros (Tuder *et al.*, 1999; Giaid *et al.*, 1995). No entanto, a disfunção endotelial não acarreta apenas alterações vasomotoras no calibre vascular, podendo provocar também diminuição do diâmetro dos vasos pulmonares através de modificações estruturais em sua parede devido a mudanças na expressão e função dos fatores de crescimento produzidos pelo endotélio, entre os quais podemos destacar como relevantes na fisiopatogenia da hipertensão pulmonar o *bone morphogenetic proteins* (BMP) e seu receptor do tipo 2 (BMPR2), o *fator de crescimento endotelial vascular* (VEGF), o fator de

crescimento derivado de plaquetas (PDGF), de fibroblastos (FGF-2), insulina-símile (IGF-1) e o fator de crescimento epidérmico (EGF). Outro agente frequentemente envolvido na hipertensão pulmonar é a *serotonina*. Além de ação vasoconstritora, a serotonina está associada à indução de hiperplasia e hipertrofia de células musculares lisas e ao efeito mitogênico em células endoteliais e em fibroblastos (Launay *et al.*, 2002).

Estes mecanismos expostos acima e que tentam explicar a fisiopatogenia da hipertensão pulmonar são derivados de estudos relacionados principalmente a casos de hipertensão arterial pulmonar. Se tais mecanismos são exclusivos desta modalidade específica de hipertensão pulmonar ou se eles podem também estar relacionados com a forma secundária a doenças cardíacas, ainda é motivo para ampla discussão. A seguir, detalharemos o envolvimento da endotelina e da fosfodiesterase-5 na fisiopatogenia da hipertensão pulmonar relacionada às doenças do coração esquerdo.

1.3 Endotelina e HP passiva

A *endotelina-1* é um peptídeo produzido fundamentalmente pelo endotélio e é conhecido como um dos mais potentes vasoconstritores. Entretanto, a endotelina é muito mais do que uma substância vasoconstritora, pois também apresenta efeitos indutores de hipertrofia e hiperplasia (Ito *et al.*, 1991), proliferação de fibroblastos (Kahaleh, 1991; Cambrey *et al.*, 1994; Shi-wen *et al.*, 1998), produção de matriz extracelular (Shi-wen *et al.*, 1998), inflamação (Filep *et al.*, 1995), e estimulação neuro-hormonal (Belloni *et al.*, 1996). Admite-se que a estimulação do *Sistema Endotelina* seja uma resposta comum a muitas doenças caracterizadas por vasoconstrição anormal, entre as quais está a hipertensão pulmonar (Stewart *et al.*, 1991; Giaid *et al.*, 1993; Vancheeswaran *et al.*, 1994).

Acredita-se que a disfunção endotelial em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva seja o determinante da reatividade vascular com vasoconstrição que eleva a pressão pulmonar. Segundo Steward *et al.* (1991), a produção de endotelina-1 está significativamente aumentada em pacientes com insuficiência cardíaca. Cody e colaboradores (1992) também demonstraram elevação dos níveis plasmáticos da endotelina-1 em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva, além de correlação positiva com valores de pressão e resistência vascular pulmonar. Além disso, alguns autores verificaram que a sensibilidade à vasoconstrição mediada pela endotelina-1 (ET-1) é maior em veias do que em artérias pulmonares (Takahashi *et al.*, 2001).

Experimentalmente demonstrou-se haver aumento da expressão da endotelina em endotélio vascular de ratos em modelo de falência cardíaca esquerda (Sakai *et al.*, 1996).

Assim, é de se esperar, portanto, que o bloqueio dos receptores da endotelina provoque benefícios hemodinâmicos em pacientes com insuficiência cardíaca. No entanto, embora a participação da endotelina esteja bem estabelecida na patogênese da HP associada à insuficiência cardíaca, a utilização de drogas inibidoras desse peptídeo não se mostrou útil no manejo dessa complicação, por promover agravamento da falência cardíaca (Guglin; Khan, 2010). No estudo EARTH, o uso de dursentana, um bloqueador seletivo dos receptores da endotelina-1, não melhorou o remodelamento cardíaco, nem as manifestações clínicas de pacientes com insuficiência cardíaca esquerda (Anand *et al.*, 2004). Em um outro estudo multicêntrico comparando bosentana, um bloqueador não-seletivo dos receptores da endotelina-1, e placebo em pacientes com insuficiência cardíaca e hipertensão pulmonar não houve diferença na pressão arterial pulmonar, no índice cardíaco e nem em 22 parâmetros ecocardiográficos analisados. Além disso, a frequência de efeitos adversos requerendo a suspensão da droga foi maior no grupo da bosentana (Kaluski *et al.*, 2008). No estudo ENABLE o tratamento com bosentana aumentou o risco de piora da insuficiência cardíaca levando à hospitalização (Kalra *et al.*, 2002). No estudo HEAT a

administração de durasentana por curto período aumentou o índice cardíaco, mas não mudou a pressão capilar pulmonar, a pressão arterial pulmonar, a resistência vascular pulmonar e a pressão atrial direita (Luscher *et al.*, 2002). A resistência vascular sistêmica diminuiu significativamente, havendo também maior tendência ao aparecimento de eventos adversos, incluindo morte e exacerbação precoce da insuficiência cardíaca (Luscher *et al.*, 2002). Apesar destes resultados surpreendentemente desfavoráveis em relação ao uso dos antagonistas dos receptores da endotelina em pacientes com hipertensão pulmonar secundária a doenças cardíacas, poderá haver utilidade no bloqueio da ação da endotelina em pacientes nos quais o transplante cardíaco fora contraindicado devido à gravidade da hipertensão pulmonar. Em um estudo realizado por Perez-Villa *et al.* (2006) houve diminuição da resistência vascular pulmonar em cinco de sete pacientes considerados inelegíveis para o transplante cardíaco, em decorrência de elevada resistência vascular pulmonar (mesmo após a infusão de nitroprussiato), após o uso de bosentana.

1.3.1 Endotelina A e B, os receptores da endotelina-1

Dois subtipos de receptores da endotelina são o *receptor-A* e o *receptor-B*, que juntamente com a endotelina-1 formam o chamado *Sistema Endotelina*. Ambos os receptores estão amplamente presentes no organismo humano, embora o receptor B da endotelina esteja especialmente presente nas células endoteliais dos pulmões e do cérebro (Ogawa *et al.*, 1991). Há uma predominância dos receptores B nas artérias pulmonares de pequeno calibre em comparação com os receptores A (McCulloch *et al.*, 1996; Davie *et al.*, 2002). Ambos os receptores participam dos efeitos vasoconstritores e de proliferação celular provocados pela endotelina (McCulloch *et al.*, 1996; Davie *et al.*, 2002). Apesar destes receptores serem fisiologicamente indutores de vasoconstrição e proliferação celular, como dito anteriormente, os receptores B da endotelina presentes no endotélio vascular, em situações de doença que levam a disfunção endotelial, apresentam sua expressão diminuída (Clozel *et*

al., 1993). Por outro lado, nas doenças cardiovasculares, ocorre aumento da expressão dos receptores B da endotelina presentes nas células musculares lisas. Resultados similares foram encontrados por Hall et al em um estudo com 12 crianças portadoras de hipertensão arterial pulmonar idiopática. Neste estudo, houve diferença significativa na comparação entre crianças normais e crianças com a doença em relação à expressão do receptor A da endotelina no endotélio das artérias pulmonares, sendo menor nestes últimos (Hall *et al.*, 2011). No entanto, o mesmo não aconteceu com a expressão do receptor A nas células musculares da camada média das mesmas artérias, sendo similar ao controle. De forma bastante interessante, a expressão deste mesmo receptor no endotélio das artérias pulmonares foi maior nas crianças portadoras da doença tratadas com a associação de bosentana e epoprostenol em comparação com as crianças portadoras da mesma doença, mas que não receberam o tratamento. No entanto, resposta totalmente oposta foi observada com os receptores A da endotelina nas células musculares da camada média das artérias pulmonares comparando-se os mesmos pacientes acima referidos. Ou seja, observou-se menor expressão do receptor A da endotelina nas células musculares das artérias pulmonares de pacientes tratados em comparação com os pacientes não tratados. Em relação aos receptores B, houve maior expressão destes receptores nas células musculares nos pacientes com doença em relação ao controle. Não houve diferença na expressão destes receptores em relação aos pacientes tratados em comparação aos pacientes não tratados. Assim, de acordo com o resultado deste estudo, embora a princípio pudéssemos imaginar que a expressão dos receptores da endotelina deveria estar aumentada em situações de hipertensão pulmonar, vemos que o comportamento deles é, na verdade, diametralmente oposto, havendo diminuição da sua expressão, pelo menos em relação aos receptores presentes no endotélio. Desta forma, a menor expressão dos receptores no endotélio vascular de pacientes portadores de hipertensão pulmonar pode ser explicada pela disfunção endotelial provocada pela doença. Tal hipótese é reforçada pelo estudo de Hall, no qual as crianças tratadas com bloqueadores dos receptores da

endotelina tiveram aumento na expressão destes receptores em comparação com os controles, provavelmente devido ao fato de o tratamento ter, ao menos em parte, revertido a disfunção endotelial. Em relação à expressão dos receptores B no endotélio vascular, embora sem significância estatística, os mesmos autores encontram os mesmos resultados, ou seja, há menor expressão do receptor B endotelial nos pacientes doentes em comparação aos controles. Resultado semelhante a este foi encontrado no estudo de Kakoki *et al.* (1999), no qual os autores estudaram as artérias renais de ratos hipertensos, diabéticos e dislipidêmicos e encontraram menor expressão do receptor B da endotelina presente no endotélio destes vasos em comparação com o grupo controle. Os autores ainda destacam dois pontos importantes no estudo. O primeiro é a presença de menor expressão do receptor mesmo em vasos sem alteração morfológica. O segundo, a semelhança do estudo de Hall *et al.*, é a normalização da expressão do receptor nos vasos dos ratos diabéticos quando tratados com imidapril, um inibidor da enzima conversora da angiotensina. Está demonstrado que a angiotensina II aumenta a produção de endotelina-1 em várias condições (Clavell *et al.*, 1996). Isto pode sugerir, portanto, que a angiotensina II pode estar envolvida na diminuição da expressão dos receptores B presentes no endotélio vascular. Os autores (Kakoki *et al.*, 1999) também justificam a diminuição da expressão do receptor B da endotelina presente no endotélio vascular pelo aumento nos níveis da endotelina-1 e a consequente ativação da proteína quinase C e mobilização do cálcio intracelular.

O papel destes receptores na parede dos vasos pulmonares ainda carece de maiores esclarecimentos, principalmente, no que se refere ao papel dos receptores-B da endotelina que estão presentes no endotélio destes vasos. Desta forma, embora saibamos que a estimulação destes receptores (A e B) da endotelina quando presentes na camada média dos vasos pulmonares exerce efeitos de vasoconstrição e proliferação celular, especula-se que o papel do receptor B da endotelina quando presente no endotélio vascular pulmonar possa exercer papéis antagônicos, ou seja, é possível que estes receptores, quando presentes no endotélio vascular, modulem tanto

vasoconstrição como vasodilatação, além de efeitos tanto proliferativos quanto anti-proliferativos.

1.4 Fosfodiesterase-5 e HP passiva

A inibição da fosfodiesterase-5 (PDE-5) promove aumento da disponibilidade do óxido nítrico e, portanto, da vasodilatação por ele mediada. As drogas inibidoras dessa enzima vêm sendo utilizadas no tratamento de pacientes com diferentes formas de HP, desde as formas idiopáticas àquelas associadas a outras doenças como as cardiopatias com shunt direita-esquerda.

Na insuficiência cardíaca congestiva, a utilização de drogas inibidoras da PDE-5 tem se mostrado eficaz em aumentar a contratilidade miocárdica e em reduzir a pós-carga das câmaras esquerdas. O uso do sildenafil também melhorou a função sistólica do ventrículo direito, assim como o desempenho no teste de caminhada de 6 minutos (Lewis *et al.*, 2007). Segundo Patel *et al.* 2005, o uso de sildenafil em pacientes com insuficiência cardíaca e hipertensão pulmonar melhorou a função endotelial. Ainda em relação a esta droga, houve melhora da rigidez arterial com o seu uso (Guazzi, 2008).

Sildenafil também melhora a capacidade de difusão pulmonar, assim como a hemodinâmica pulmonar, tanto em repouso quanto no exercício (Guglin; Khan, 2010). Mensurações obtidas por meio de estudo hemodinâmico demonstraram que sildenafil reduz agudamente a pressão da artéria pulmonar, tanto no repouso quanto no exercício, assim como a resistência vascular sistêmica e a resistência vascular pulmonar, além de aumentar o índice cardíaco tanto no exercício como no repouso, sem alterar, contudo, a pressão arterial média, a frequência cardíaca ou a pressão capilar pulmonar, atuando, portanto, como um vasodilatador seletivo para a circulação pulmonar (Lewis *et al.*, 2007). Demonstrou-se ainda em humanos que essas drogas inibidoras promovem vasodilatação pulmonar seletiva, tendo sido utilizadas em testes de reversibilidade de HP passiva (Freitas Jr.

et al., 2009). Além disso, sildenafil também pode ser usada em pacientes potencialmente candidatos ao transplante cardíaco nos quais o procedimento fora contraindicado pela presença de hipertensão pulmonar grave, tornando-os elegíveis novamente (Guglin; Khan, 2010). Em um pequeno estudo, seis pacientes candidatos ao transplante cardíaco e portadores de hipertensão pulmonar não-responsiva ao nitroprussiato, foram selecionados para o uso de sildenafil oral. Após um mês três pacientes tiveram a resistência vascular pulmonar e o gradiente transpulmonar normalizados e dois pacientes se tornaram responsivos ao nitroprussiato (Zakliczynski *et al.*, 2007). Forfia *et al.* em 2007 demonstraram que, tanto em seres humanos com insuficiência cardíaca, quanto em modelos animais experimentais, a atividade da PDE-5 no tecido pulmonar está aumentada.

1.5 A HP nas doenças do coração esquerdo e a indicação para transplante cardíaco

A circulação pulmonar é caracterizada por apresentar alto fluxo e baixa resistência, com grande capacidade de reserva, que possibilita acomodar grandes variações no débito cardíaco, regulando o enchimento das câmaras esquerdas através da manutenção do GTP. Um dos principais fatores limitantes ao sucesso do transplante cardíaco é a disfunção do ventrículo direito do enxerto devido à hipertensão pulmonar grave (Stolf, 2005). Isso ocorre porque o coração do doador não está adaptado às novas condições pressóricas às quais será submetido, entrando rapidamente em falência. A extensão da reversibilidade das lesões vasculares pulmonares no pós-transplante não está completamente esclarecida. Embora exista uma tendência a decréscimo gradual da pressão arterial pulmonar no pós-transplante cardíaco, alguns pacientes mantêm HP residual por longos períodos (Delgado, 2001). A resistência vascular pulmonar (RVP) pode se normalizar em 30 dias, embora a dilatação ventricular direita acentuada possa permanecer por até um ano (Chang *et al.*; Butler *et al.*, 2005). Alguns trabalhos revelaram tempo prolongado para retorno às condições de normalidade da

pressão pulmonar após o transplante cardíaco em pacientes com níveis pré-operatórios elevados (Greenberg, 1985; Tamburino, 1989; Bathia, 1987; Bourge; von Scheidt, 1991), havendo relatos de hipertensão residual mesmo 3 anos após o procedimento. Esses dados sugerem a existência de alterações estruturais “fixas” na vasculatura pulmonar, ou seja, aquelas não dependentes apenas de acomodação do tônus das células musculares lisas da parede vascular, conforme discutido anteriormente. O conceito de reversibilidade histológica das lesões da HP na insuficiência cardíaca não está estabelecido. Todavia, deve ser diferente daquele utilizado para as lesões arteriais presentes nas cardiopatias congênitas que cursam com hiperfluxo pulmonar. O principal motivo é a natureza, localização e intensidade das lesões arteriais. Enquanto na HP das cardiopatias congênitas encontramos as lesões plexogênicas clássicas, com intensa proliferação intimal e mesmo lesões complexas e dilatadas, na doença vascular pulmonar da congestão crônica essas lesões são praticamente inexistentes, como verificado no trabalho de Delgado e colaboradores (2005). Por outro lado, na vasculopatia congestiva o comprometimento dos vasos arteriais intra-acinares e das veias pulmonares é particularmente expressivo, e seu papel não está definido.

1.6 Correlação entre lesão morfológica e alterações hemodinâmicas

Embora a presença de lesão vascular pulmonar, levando ao estreitamento da luz arterial ou venosa, possa acarretar em aumento da pressão da artéria pulmonar e, portanto, em HP, não existe uma relação perfeita entre a intensidade das alterações anatômicas da vasculatura pulmonar e o grau de pressão ou sobrecarga hemodinâmica ao coração direito, conforme sugeriu o trabalho de Delgado e colaboradores (2005). Existe uma série de condições nas quais haverá sobrecarga hemodinâmica no coração direito sem, no entanto, a presença de lesão vascular pulmonar correspondente. Este tipo de situação ocorre em casos de anemia, gestação, tireotoxicose, sepse, síndrome porto-pulmonar, e está relacionada com o

aumento do fluxo sanguíneo transpulmonar (McLaughlin *et al.*, 2009). Além disso, seria também possível especular que pacientes com doença do coração esquerdo teriam hipertensão pulmonar independente da presença de lesão vascular, em decorrência do aumento da pressão de enchimento nas câmaras esquerdas proporcionando maior sobrecarga hemodinâmica no coração direito sem apresentar, no entanto, alterações vasculares.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

Em tecido pulmonar de pacientes com hipertensão pulmonar associada à falência do coração esquerdo e falecidos na lista de transplante cardíaco ou no pós-operatório:

- 1- caracterizar e quantificar as alterações morfológicas da parede de veias, vênulas, artérias de resistência e artérias musculares;
- 2- correlacionar o resultado da avaliação obtida por meio do estudo hemodinâmico invasivo com o grau de lesão da vasculatura pulmonar;
- 3- avaliar semiquantitativamente a expressão dos receptores A e B da endotelina, assim como a expressão da endotelina-1 e da fosfodiesterase-5 na parede de veias e artérias, correlacionando os achados com as alterações morfológicas e com os parâmetros hemodinâmicos;
- 4- como meta secundária, todos os objetivos acima listados serão avaliados comparativamente entre as diversas etiologias da cardiopatia de base.

3 PACIENTES E MÉTODOS

3 PACIENTES E MÉTODOS

3.1 Casuística

A partir de avaliação retrospectiva do arquivo de casos de necrópsia do Laboratório de Anatomia Patológica do Instituto do Coração do HCFMUSP foram selecionados 21 pacientes portadores de doença do coração esquerdo de qualquer etiologia e independente da faixa etária (nove pacientes com miocardiopatia idiopática, sete com miocardiopatia chagásica, um com miocardiopatia isquêmica, um com miocardite viral, um com miocardiopatia secundária ao uso de doxorubicina, uma com miocardiopatia periparto, e um com miocardiopatia hipertrófica – Tabela 1) em sua forma avançada e que foram selecionados para transplante cardíaco, porém que vieram a falecer antes da sua realização, ou que foram a óbito até no máximo dois meses após o procedimento. A existência de dados de estudo hemodinâmico invasivo para estimativa de pressões e resistência vascular pulmonares (*pressão sistólica, diastólica e média da artéria pulmonar, pressão do capilar pulmonar, resistência vascular pulmonar, gradiente transpulmonar e diferença pressórica diastólica*) como parte da avaliação para seleção dos candidatos ao transplante cardíaco com intervalo máximo de 12 meses antes do óbito (ou do procedimento), foi condição para inclusão na casuística. Além disso, todos os pacientes selecionados foram submetidos à necrópsia no Laboratório de Anatomia Patológica do Instituto do Coração do HCFMUSP – InCor-HCFMUSP. De acordo com o protocolo de necrópsias do Laboratório, os fragmentos de pulmão obtidos foram fixados em solução de formalina a 10% e em seguida submetidos a processamento histológico convencional e emblocamento em parafina para posteriormente serem seccionados em cortes de cinco micrômetros de espessura.

Também acrescentamos em nossa casuística, fragmentos de pulmão de três indivíduos biopsiados (que seriam utilizados como doadores do órgão), porém sem finalidade de comparação estatística (*devido ao pequeno número de casos*). Assim como, nos pacientes necropsiados, estes três casos também foram submetidos aos mesmos procedimentos de fixação e processamento histológico acima mencionado.

3.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos da avaliação pacientes que mesmo após preenchidos os critérios acima mencionados apresentaram fatores que pudessem atuar como confundidores durante o estudo dos casos:

1. dados hemodinâmicos incompletos ou ausentes no prontuário do paciente;
2. artefatos de técnica gerados durante a confecção das lâminas que pudessem impedir a adequada avaliação do caso;
3. alterações histopatológicas presentes no caso que pudessem atrapalhar a interpretação dos achados vasculares morfométricos e/ou imuno-histoquímicos, tais como excessiva congestão vascular pulmonar, presença de processo inflamatório no parênquima pulmonar, presença de infecção etc.

Tabela 1 – Etiologia das cardiopatias

Miocardiolpatia idiopática	9 (43%)
Miocardiolpatia chagásica	7 (33%)
Miocardiolpatia sistêmica	1 (5%)
Miocardiolpatia vital	1 (5%)
Miocardiolpatia por doxorubicina	1 (5%)
Miocardiolpatia periparto	1 (5%)
Miocardiolpatia hipertrófica	1 (5%)

Além disto, conseguimos avaliar tecido pulmonar de três indivíduos normais, inicialmente considerados como doadores de pulmão para transplante, mas cujos órgãos foram rejeitados antes da cirurgia. Nenhum deles mostrava características de má-preservação. As características demográficas desses doadores encontram-se na Tabela 2. Esses casos, pelo número limitado, não puderam ser considerados como controles, porém serviram como referência nas reações de imuno-histoquímica, sem contudo se prestarem a comparações.

Tabela 2 - Características dos doadores

Casos	Sexo	Idade	Diagnóstico
B12/131	Masculino	61 anos	Broncopneumonia
B11/2740	Masculino	41 anos	Edema alveolar focal
B 12/1053	Masculino	65 anos	Broncopneumonia

3.3 Caracterização morfométrica de artérias e veias pulmonares

Para demonstração das fibras elásticas, e posterior caracterização da camada média, foi utilizado corante específico por meio do método de Miller (Miller, 1971).

A vasculatura pulmonar dos pacientes selecionados foi avaliada sob dois aspectos: quantitativo e semiquantitativo. Em termos quantitativos, todas as artérias e veias presentes no fragmento de pulmão foram analisadas, excetuando-se aquelas que apresentaram alguma alteração morfológica artefactual como colapso, retração, enrugamento etc. As mensurações lineares foram obtidas utilizando-se o sistema de análise de imagens *AxioVision Release 4.7,1* (Copyright 2006-2008 Carl Zeiss Imaging Solutions GmbH).

Na avaliação da camada muscular das artérias pulmonares foi determinada a porcentagem de espessura da camada média por meio da seguinte fórmula (Figura 1) (Egito *et al.*, 2003):

$$\frac{2 \times \text{espessura da camada média} \times 100}{\text{diâmetro externo}} = \% \text{ de espessura da média}$$

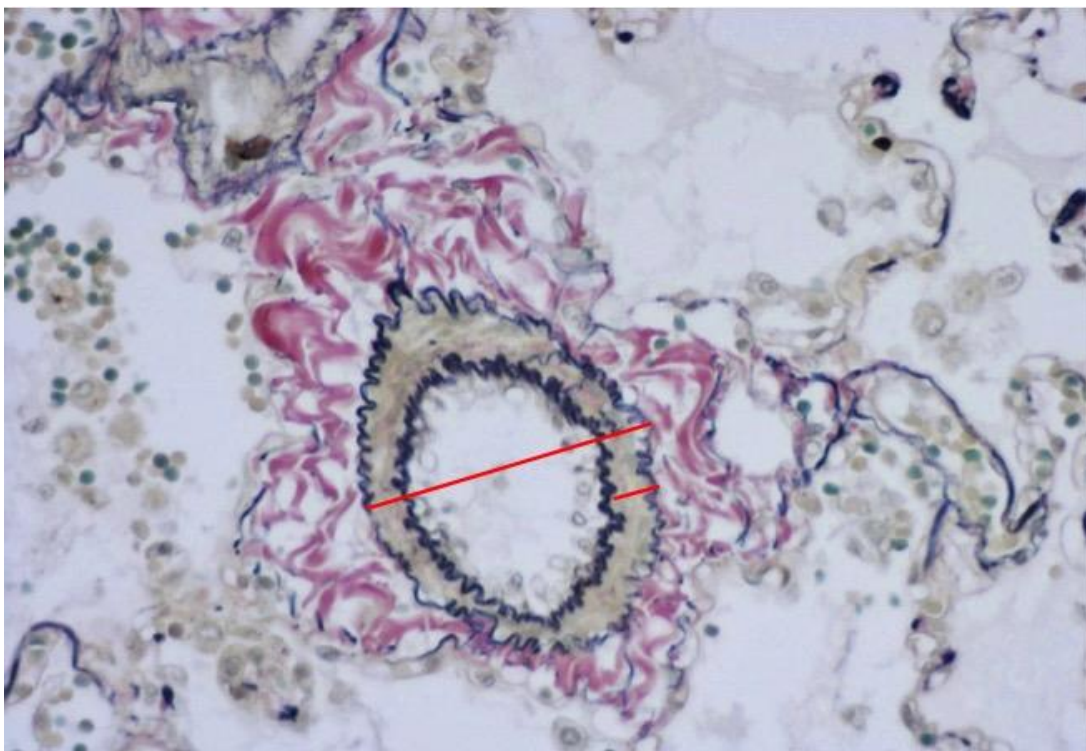


Figura 1 - As retas em vermelho mostram as medidas do diâmetro externo (*reta maior*) e da espessura da camada média (*reta menor*) da parede arterial pulmonar.

Em relação às veias pulmonares, realizamos a avaliação da parede como um todo (camada íntima + camada muscular média), pois, visto que elas não apresentam duas lâminas elásticas delimitando a camada muscular, como ocorre nas artérias, é muito difícil separar visualmente as duas camadas que compõem a parede da veia. Assim, a avaliação foi realizada por meio da medida da área ocupada pelo diâmetro externo, medido a partir da lâmina elástica externa englobando a luz, e da área ocupada pelo diâmetro interno, que compreende a luz da veia (Figura 2). Em seguida as medidas dos diâmetros foram subtraídas e obteve-se a medida da área ocupada pela parede da veia. Também com a ajuda do mesmo sistema de análise de imagens foi calculada a área ocupada pelas lesões proliferativas da camada íntima das veias.

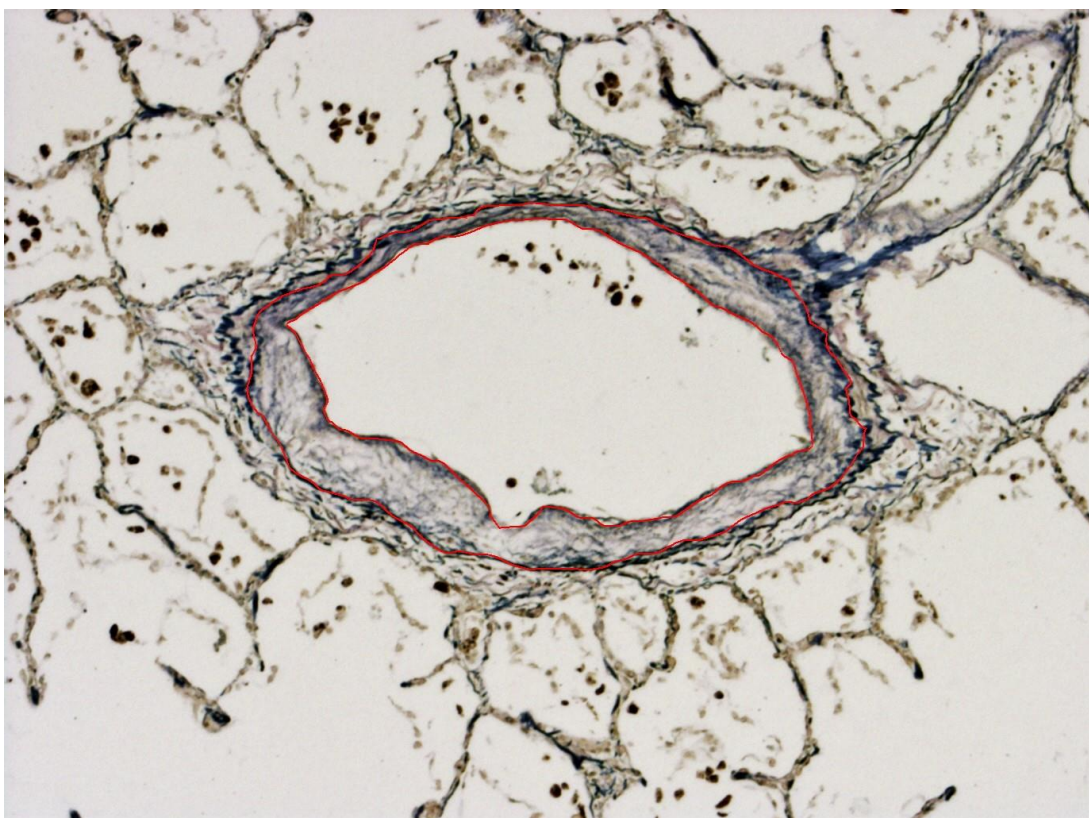


Figura 2 – As linhas vermelhas delimitam a parede da veia pulmonar. A medida desta parede foi, portanto, realizada por meio da subtração da área externa com a área interna

3.4 Caracterização imuno-histoquímica

Em cortes histológicos do tecido pulmonar especialmente produzidos para a pesquisa, foi feita marcação imuno-histoquímica para endotelina-1 e seus receptores (ET-A e ET-B), além da marcação para fosfodiesterase-5, por meio de reações do tipo avidina-biotina-peroxidase. Essas reações foram realizadas no Laboratório de imuno-histoquímica do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da USP (*em anexo*).

Os cortes histológicos marcados para ET-A, ET-B, endotelina-1 e fosfodiesterase-5 foram avaliados semiquantitativamente em uma escala de intensidade de zero a 2 (zero, 1/2, 1, 2), por 2 observadores, na qual zero seria a ausência de marcação e 2 a intensidade máxima da marcação. É importante notar que tal avaliação foi realizada nas artérias e nas veias. Além disso, em

relação às artérias avaliadas, tal análise foi feita inicialmente na camada íntima e posteriormente na camada muscular. As artérias pulmonares foram ainda subdivididas, e analisadas separadamente, em artérias intra e pré-acinares, e, finalmente, em artérias com e sem lesão proliferativa do endotélio.

Foram ainda descritas outras características histológicas do parênquima pulmonar e dos vasos.

Finalmente, após a caracterização e a quantificação (ou qualificação) das alterações morfológicas e imuno-histoquímicas da vasculatura pulmonar, foi testada a correlação com resultados da avaliação obtida por meio do estudo hemodinâmico invasivo no grupo como um todo e, como meta secundária do estudo, comparando-se estes resultados com as diversas etiologias.

3.5 Análise estatística

Os resultados das medidas lineares e de áreas foram apresentados sob a forma de médias e desvios-padrão ou, caso não apresentem distribuição normal sob forma de mediana e valores interquartis.

Possíveis correlações entre medidas morfométricas e hemodinâmicas foram testadas pelos métodos de Pearson ou Spearman de acordo com a distribuição dos dados.

Variáveis qualitativas foram avaliadas e sua associação testada por meio de testes de Qui-quadrado ou exato de Fisher.

Comparações entre médias foram efetuadas pelos testes t de Student ou testes de Wilcoxon ou Mann-Whitney para variáveis sem distribuição normal.

O nível de significância adotado foi o de 5%.

4 RESULTADOS

4 RESULTADOS

4.1 Aspectos clínicos e demográficos

Dos 21 pacientes analisados, 14 eram do sexo masculino (66,7%) e a média etária foi de 44,05 (\pm 15,61) anos. Em relação à etiologia da cardiopatia, 9 pacientes (42,9%) foram considerados portadores de cardiopatia dilatada idiopática, 7 (33,3%) portadores de miocardiopatia chagásica, 1 pacientes com miocardiopatia hipertrófica, 1 paciente com cardiopatia isquêmica, 1 paciente com miocardite viral, 1 paciente com miocardiopatia periparto, 1 paciente com cardiopatia secundária ao uso de doxorubicina. No que diz respeito ao transplante, dos 21 pacientes, 15 (71,4%) foram submetidos ao procedimento (Tabela 3).

Tabela 3 – Descrições clínicas

CASO	Idade	Sexo	Etiologia	Tx
1	11	F	Doença de Chagas	Não
2	30	M	Idiopática	Não
3	63	M	Isquêmica	Sim
4	50	F	Idiopática	Sim
5	53	M	Doença de Chagas	Sim
6	34	M	Miocardite viral	Sim
7	53	F	Doença de Chagas	Sim
8	53	M	Doença de Chagas	Sim
9	30	M	Idiopática	Sim
10	33	M	Idiopática	Não
11	15	M	Idiopática	Sim
12	54	M	Idiopática	Não
13	42	F	Doxorubicina	Sim
14	23	M	Doença de Chagas	Não
15	61	F	Idiopática	Não
16	47	F	Miocardiopatia periparto	Sim
17	41	M	Doença de Chagas	Sim
18	61	M	Idiopática	Sim
19	62	F	Doença de Chagas	Sim
20	53	M	Idiopática	Sim
21	56	M	Hipertrófica	Sim
Média	44,05			
DP	15,61			

Tx: transplante cardíaco

4.2 Dados hemodinâmicos

As medidas hemodinâmicas de cada paciente realizada por método invasivo estão descritas na tabela abaixo (Tabela 4):

Tabela 4 – Medidas hemodinâmicas

CASO	Ap Sist (mmHg)	Ap Diast (mmHg)	Ap Média (mmHg)	CP (mmHg)	GTP (mmHg)	RVP (uW)
A 149-02	78	29	50	30	20	3,77
A 125-06	56	23	37	35	2	0,5
A 122-07	48	32	36	25	11	3,5
A 66-09	34	13	22	15	7	1,48
A 83-09	31	14	21	12	9	1,34
A 42-10	44	28	38	18	20	5,71
A 53-09	40	24	30	22	8	2,85
A 181-03	28	18	23	20	3	0,88
A 13-03	60	34	42	32	10	2,7
A 20-03	52	25	38	26	12	2,79
A 74-08	48	20	33	22	11	2,34
A 115-10	46	24	32	16	16	4
A 24-11	48	24	34	19	15	3,75
A 74-11	35	20	26	19	7	1,94
A 80-11	45	22	29	20	9	
A 22-12	47	32	37	31	6	2,14
A 80-13	55	32	39	32	7	1,45
A 109-13	56	35	45	...		
A 51-11	64	32	45	38	7	2,05
A 26-05	55	30	38	40	(2)	
A 16-14	65	40	48	42	6	1,22
Média	49	26,5	35,25	24,95	9,79	2,47
DP	12,38	7,2	8,43	8,36	5,02	1,31

Ap Diast: Pressão Diastólica da Artéria Pulmonar; **Ap Média:** Pressão Média da Artéria Pulmonar; **Ap Sist:** Pressão Sistólica da Artéria Pulmonar; **CP:** Pressão do Capilar Pulmonar; **DP:** desvio-padrão; **GTP:** Gradiente Transpulmonar; **RVP:** Resistência Vascular Pulmonar.

4.3 Alterações morfológicas quantitativas, qualitativas e correlações

4.3.1 Parênquima pulmonar

Em todos os nossos casos encontramos alterações microscópicas compatíveis com congestão pulmonar, particularmente a *congestão passiva crônica*, por se tratar de um processo de longa duração. Constatamos também

as chamadas *células do vício cardíaco*, caracterizadas por macrófagos carregados de hemossiderina (Figura 3), em decorrência da destruição e fagocitose dos detritos de eritrócitos oriundos de pequenos focos de hemorragia do parênquima pulmonar provocados pela ruptura dos capilares nos locais de congestão crônica (Abbas *et al.*, 2005).

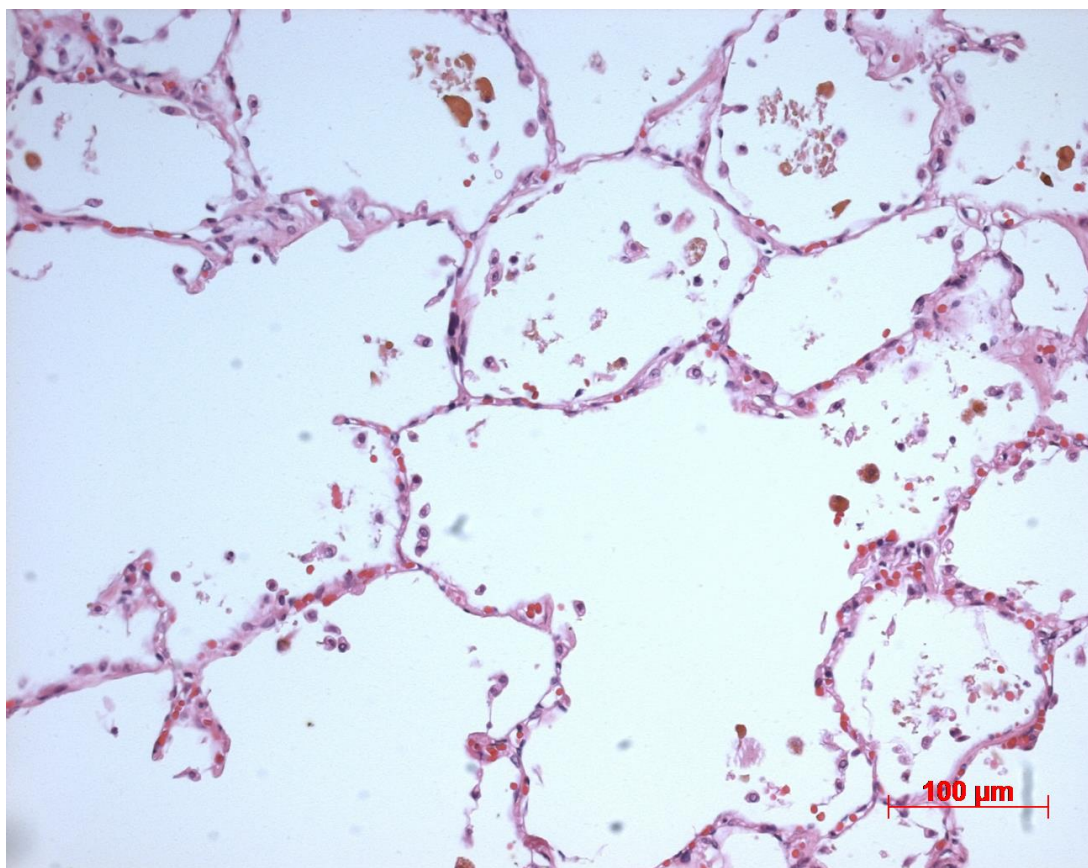


Figura 3 - Fotomicrografia do aspecto característico de congestão passiva crônica pulmonar encontrada em todos os casos avaliados, com macrófagos alveolares contendo pigmento de hemossiderina (acastanhado). Coloração pela hematoxilina-eosina, aumento da objetiva=20X.

Em cinco casos encontramos focalmente aspecto microscópico compatível com *hemangiomatose capilar*, caracterizado pela presença de capilares proliferados, espessando os septos alveolares e raramente ocupando também espaços peri-brônquicos (Figura 4). Destes cinco casos, dois apresentavam algum grau de lesão intimal nas artérias pulmonares (Tabela 5).

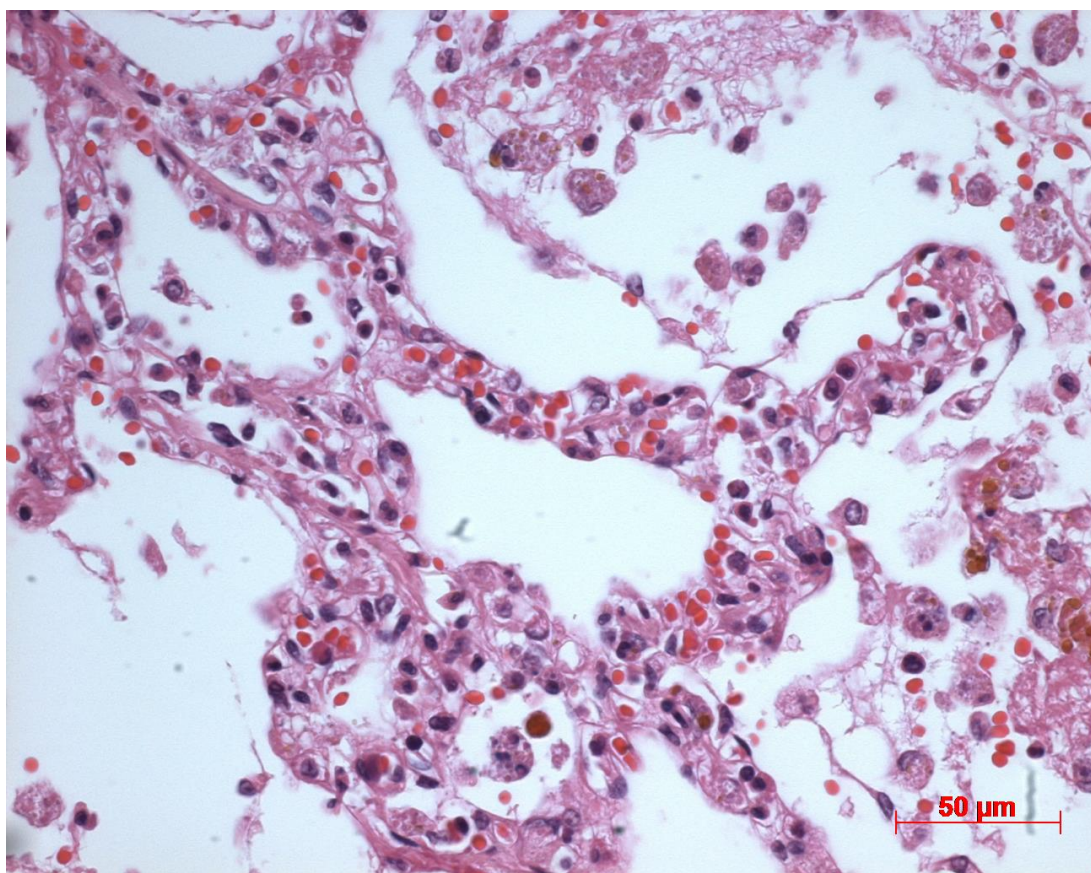


Figura 4 - Foco do parênquima pulmonar exibindo proliferação de capilares, que se apresentam em mais de uma camada e espessam os septos alveolares. Coloração pela hematoxilina-eosina, aumento da objetiva= 40x.

Tabela 5 -Casos com e sem aspecto microscópico compatível com *hemangiomatose capilar e lesão arterial intimal*

Caso	Hemangiomatose	Com lesão intimal
A 149-2	1	0
A 125-6	1	1
A 122-7	1	0
A 66-9	1	0
A 83-9	1	1
A 42-10	0	1
A 53-9	0	0
A 181-3	0	1
A 13-3	0	0
A 20-3	0	1
A 74-8	0	1
A 115-10	0	1
A 24-11	0	1
A 74-11	0	0
A 80-11	0	1
A 22-12	0	1
A 80-13	0	0
A 109-13	0	1
A 51-11	0	1
A 26-5	0	0
A 16-14	0	0

0: ausência de aspecto microscópico compatível com *hemangiomatose capilar*

1: presença de aspecto microscópico compatível com *hemangiomatose capilar*

4.3.2 Vasos

As principais alterações morfológicas encontradas foram a hipertrofia da camada média das artérias pré e intra-acinares e a fibrose intimal de artérias. Dos 20 casos analisados (1 caso teve que ser excluído desta análise devido a artefatos técnicos na confecção da lâmina), encontramos algum grau de fibrose intimal arterial em 12 casos (60% - Tabela 5). Em relação a hipertrofia da camada média nas artérias pulmonares, os resultados constam na tabela 3. As veias apresentavam fibrose da íntima de graus variáveis em todos os

casos (Tabela 6). Os valores médios de espessura da parede vascular (artérias e veias) encontram-se na Tabela 7.

Tabela 6 - Porcentagem de espessura da camada média das artérias pulmonares e da parede das veias pulmonares

CASO	% Esp Art	% Esp Veias
A 149-2	15,04	42,51
A 125-6	12,43	55,53
A 122-7	15,8	41,47
A 66-9	9,8	41,01
A 83-9	14,19	24,12
A 42-10	22,3	48,49
A 53-9	7,74	37,27
A 13-3	15,06	48,16
A 20-3	13,88	42,81
A 74-8	10,74	37,72
A 115-10	9,88	44,79
A 24-11	10,06	36,03
A 74-11	13,68	26,75
A 80-11	26,91	57,86
A 80-13	24,73	48,62
A 109-13	21,81	45,94
A 51-11	12,26	34,5
A 26-5	22,78	55,53
A 16-14	19,07	43,74

% Esp Art: porcentagem de espessura da camada média das artérias pulmonares

% Esp Veias: porcentagem de espessura da parede das veias pulmonares

Tabela 7 - Valores da porcentagem de espessura da camada média das artérias pulmonares e da parede das veias pulmonares

Variável	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo
% Esp Art	20	15,56	5,16	14,62	7,74	26,91
% Esp Veias	20	41,24	9,41	42,66	21,76	57,86

% Esp Art: porcentagem de espessura da camada média das artérias pulmonares

% Esp Veias: porcentagem de espessura da parede das veias pulmonares

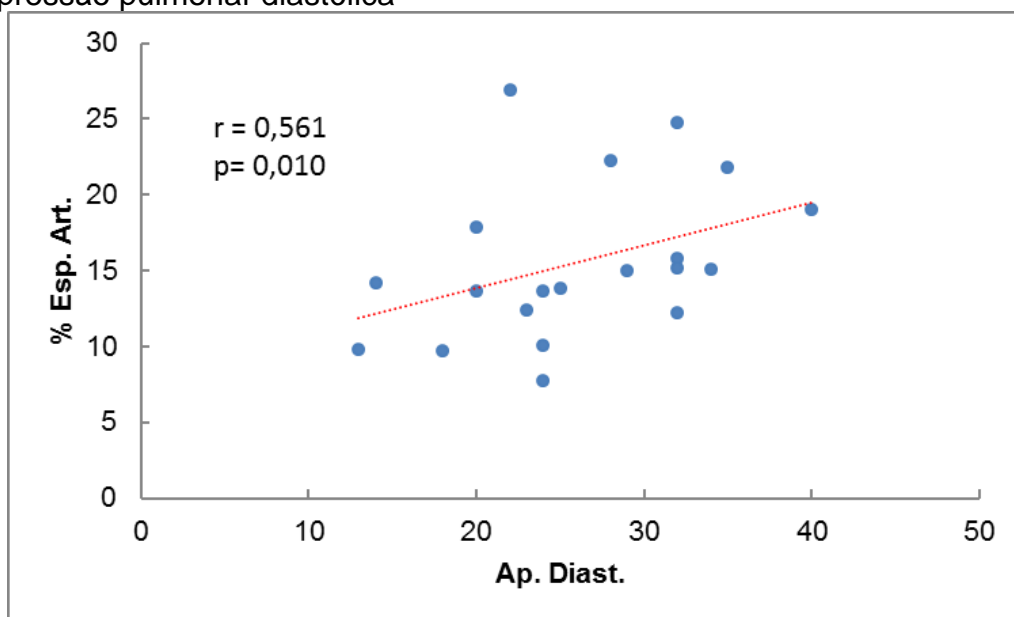
Também observamos por meio do coeficiente de correlação de Spearman que há correlação positiva e significativa entre a porcentagem de espessura das artérias pulmonares e a porcentagem de espessura das veias pulmonares ($r = 0,660$, $p=0,002$). Assim quanto maior o valor da porcentagem de espessura das artérias pulmonares maior o valor da porcentagem de espessura das veias pulmonares e vice-versa.

4.3.3 Dados hemodinâmicos e alterações morfológicas dos vasos pulmonares

Foram testadas as correlações entre dados hemodinâmicos e as alterações morfológicas quantitativas dos vasos pulmonares. Encontramos resultados significativos apenas no que diz respeito à correlação entre a porcentagem de espessura da camada média das artérias com a pressão pulmonar diastólica ($r = 0,561$; $p = 0,01$), e também com a pressão pulmonar média ($r = 0,480$; $p = 0,032$), embora os coeficientes de correlação tenham sido baixos (*gráficos 1 e 2*). Os testes de correlação com os demais dados hemodinâmicos (pressão pulmonar sistólica, GTP, RVP) não obtiveram relevância estatística, como pode ser observado na Tabela 8.

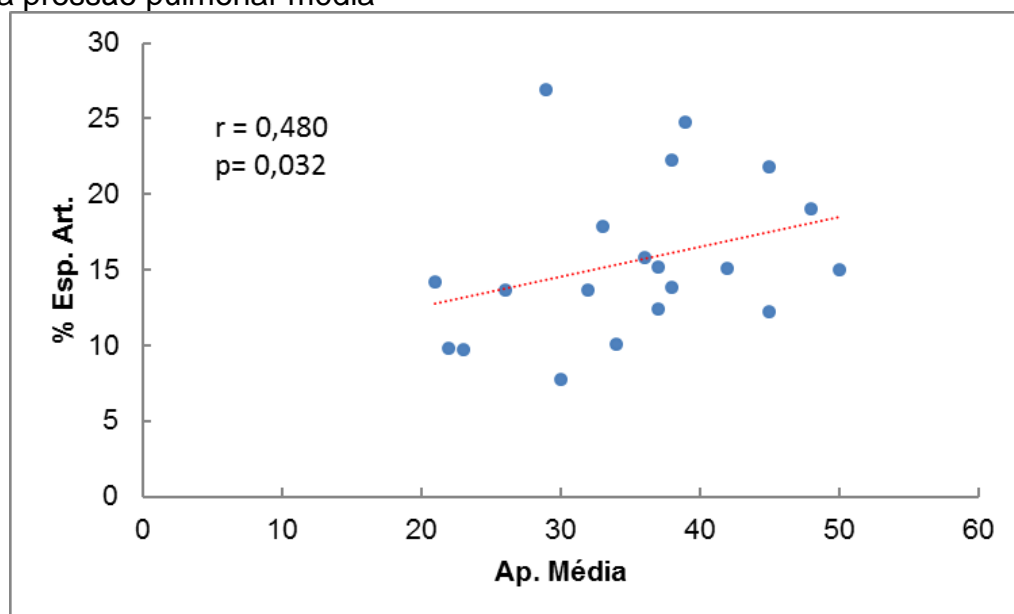
Em relação às alterações na parede das veias, não encontramos correlação estatisticamente significativa com nenhum dado hemodinâmico, embora tenha havido tendência à existência de correlação com a pressão pulmonar diastólica ($r = 0,438$; $p = 0,054$) e com a pressão pulmonar média ($r = 0,437$; $p = 0,054$) (Tabela 8).

Gráfico 1 – Correlação entre porcentagem de espessura da artéria pulmonar e pressão pulmonar diastólica



% Esp. Art.: porcentagem de espessura da artéria pulmonar
Ap. Diast.: pressão pulmonar diastólica

Gráfico 2 – Correlação entre porcentagem de espessura da artéria pulmonar e a pressão pulmonar média



% Esp. Art.: porcentagem de espessura da artéria pulmonar

Ap. Média.: pressão pulmonar média

Tabela 8 – Correlação com os dados hemodinâmicos e a porcentagem de espessura das artérias e das veias pulmonares

Variável		Ap Sist	Ap Diast	Ap Média	CP	GTP	RVP
% Esp Art	r	0,355	0,561	0,480	0,319	0,098	0,040
	p	0,125	0,010	0,032	0,183	0,690	0,874
	n	20	20	20	19	19	18
% Esp Veias	r	0,396	0,438	0,437	0,347	0,064	0,137
	p	0,084	0,054	0,054	0,145	0,793	0,587
	n	20	20	20	19	19	18

ApDiast: Pressão Diastólica da Artéria Pulmonar; **Ap Média:** Pressão Média da Artéria Pulmonar; **ApSist:** Pressão Sistólica da Artéria Pulmonar; **CP:** Pressão do Capilar Pulmonar; **% Esp Art:** coeficiente de correlação da porcentagem de espessura da camada média das artérias pulmonares; **% Esp Veias:** coeficiente de correlação da porcentagem de espessura da parede das veias pulmonares; **GTP:** Gradiente Transpulmonar; **RVP:** resistência vascular pulmonar

4.3.4 Dados hemodinâmicos e características clínicas e demográficas

Comparamos os resultados do exame hemodinâmico quanto às diferentes características clínicas e demográficas dos pacientes (*etiologia da cardiopatia, gênero e submissão ou não ao transplante cardíaco*). Em relação

à variável *etiologia da cardiopatia*, analisamos especificamente o subgrupo de pacientes com cardiopatia idiopática, comparando-o com o grupo de pacientes com etiologia não-idiopática. O mesmo foi feito com os pacientes de etiologia chagásica. Não encontramos significância estatística em nenhuma das comparações (Tabelas 18, 19, 20, 21, 22 e 23 – em anexo).

4.3.5 Alterações morfológicas dos vasos pulmonares e características clínicas

Ao compararmos os dados morfométricos obtidos nos vasos pulmonares com as características clínicas, encontramos diferença estatisticamente significativa entre grupos chagásico e não-chagásico com relação à porcentagem de espessura da parede das veias pulmonares, sendo que os pacientes cardiopatas chagásicos tiveram menor porcentagem de espessura em comparação aos pacientes com outras etiologias (Tabela 9). No entanto, não encontramos diferença em relação à porcentagem de espessura da parede das artérias pulmonares (Tabela 9). Em relação aos pacientes com cardiopatia idiopática também encontramos diferença estatística apenas com a porcentagem de espessura das veias pulmonares, mas não com as artérias. No entanto, diferentemente do que aconteceu com os pacientes chagásicos, os pacientes com a forma idiopática tiveram maior porcentagem de espessura em relação aos não-idiopáticos (Tabela 10). A comparação da porcentagem de espessura das paredes das artérias e das veias pulmonares com pacientes submetidos ou não ao transplante cardíaco (Tabela 24, em anexo), e com pacientes do gênero masculino ou feminino (Tabela 25, em anexo) não demonstrou relevância estatística.

Tabela 9 - Valores médios e de desvio-padrão na comparação de dados morfométricos entre grupos chagásico e não chagásicos

Variável	Chagas	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p*
% Esp Art	Não	13	15,61	5,46	15,06	9,80	26,91	0,351
	Sim	7	13,91	5,43	13,68	7,74	24,73	
% Esp Veias	Não	13	45,33	6,24	44,79	36,03	57,86	0,019
	Sim	7	33,65	9,97	34,50	21,76	48,62	

(*) nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico Mann-Whitney

% **Esp Art**: porcentagem de espessura da parede das artérias pulmonares

% **Esp Veias**: porcentagem de espessura da parede das veias pulmonares

Tabela 10 - Valores médios e de desvio-padrão na comparação de dados morfométricos entre grupos idiopáticos e não idiopáticos

Variável	Idiopática	n	Média	dp	p
% Esp Art	Não	11	14,98	5,05	0,974
	Sim	9	15,06	6,18	
% Esp Veias	Não	11	37,58	9,27	0,029
	Sim	9	46,73	6,94	

% **Esp Art**: porcentagem de espessura da parede das artérias pulmonares

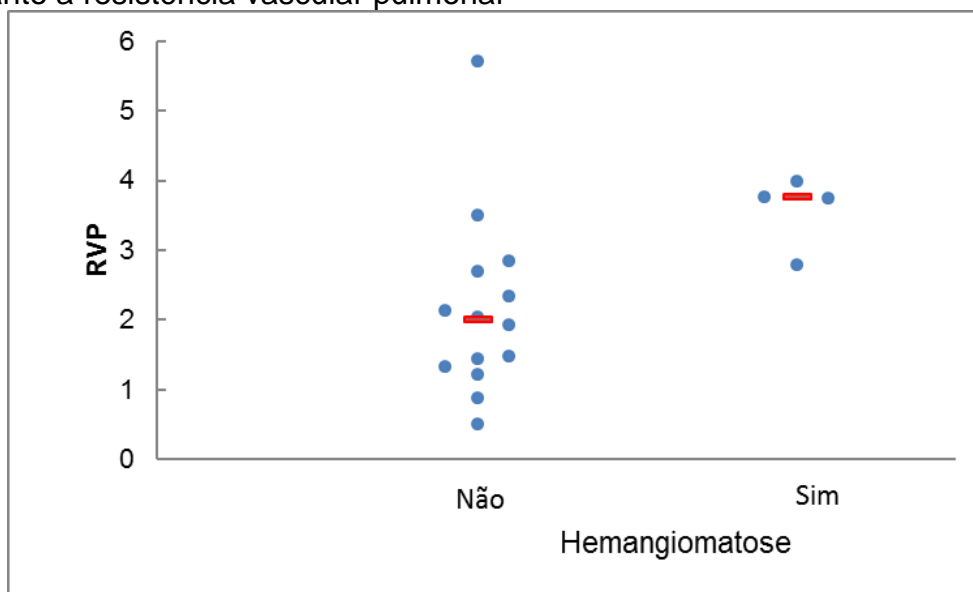
% **Esp Veias**: porcentagem de espessura da parede das veias pulmonares

4.3.6 Medidas hemodinâmicas e alterações morfológicas

Separámos os pacientes em dois grupos tendo como aspectos discriminatórios fatores hemodinâmicos que podem influenciar no prognóstico. Conforme citado anteriormente, o GTP > 15 mmHg (Bacal, 2010) e a RVP > 3 uW (Gerges, 2013) poderiam apontar para um grupo de pacientes com hipertensão pulmonar desproporcional e de maior gravidade. Assim, dividimos os pacientes em grupos de GTP > 15 mmHg ou ≤ 15 mmHg e RVP ≤ 3 uW ou RVP > 3 uW, e em seguida, avaliamos a presença ou ausência de hemangiomatose capilar, e novamente os comparamos em relação aos dados hemodinâmicos e morfológicos. Encontramos relevância estatística em relação apenas ao RVP, sendo que o grupo com hemangiomatose apresentou porcentagem de casos com RVP > 3 uW significativamente maior que o grupo sem hemangiomatose (Gráfico 3 e Tabela 11). Por outro lado, ao analisarmos ainda os pacientes com ou sem hemangiomatose capilar e comparando-os entre si em relação aos mesmos parâmetros hemodinâmicos, mas agora sem

dividi-los em $GTP > 15$ mmHg ou ≤ 15 mmHg de acordo com determinação da Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca e Transplante (Bacal, 2010) e $RVP \leq 3$ uW ou $RVP > 3$ uW, percebemos que os pacientes com hemangiomatose capilar apresentavam maiores valores tanto de GTP quanto de RVP (Tabela 12).

Gráfico 3 – Comparação entre pacientes com e sem hemangiomatose capilar quanto a resistência vascular pulmonar



RVP: resistência vascular pulmonar

Tabela 11 - Frequências absolutas e relativas do GTP e RVP, segundo o grupo de Hemangiomatose

Variável	Classe	Hemangiomatose				p*
		Não		Sim		
		n	%	n	%	
GTP	≤ 15	14	93,3	2	50,0	0,097
	> 15	1	6,7	2	50,0	
RVP	< 3	12	85,7	1	25,0	0,044
	≥ 3	2	14,3	3	75,0	

(*) nível descritivo de probabilidade do teste exato de Fisher

GTP: gradiente transpulmonar

RVP: resistência vascular pulmonar

Tabela 12 - Valores descritivos das variáveis hemodinâmicas, segundo o grupo de Hemangiomatose

Variável	Hemangiomatose	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p*
Ap Sist	Não	15	46,67	11,71	47,00	28,00	65,00	0,197
	Sim	5	56,00	12,88	52,00	46,00	78,00	
Ap diast	Não	15	25,60	7,94	24,00	13,00	40,00	0,497
	Sim	5	27,40	4,72	25,00	24,00	35,00	
Ap Média	Não	15	33,73	8,38	36,00	21,00	48,00	0,230
	Sim	5	39,80	7,56	38,00	32,00	50,00	
CP	Não	15	25,53	8,90	22,00	12,00	42,00	0,530
	Sim	4	22,75	6,40	22,50	16,00	30,00	
GTP	Não	15	8,20	4,14	7,00	2,00	20,00	0,004
	Sim	4	15,75	3,30	15,50	12,00	20,00	
RVP	Não	14	2,15	1,31	2,00	0,50	5,71	0,018
	Sim	4	3,58	0,54	3,76	2,79	4,00	

(*) nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

4.4 Resultados da avaliação imuno-histoquímica

Dos 21 casos avaliados inicialmente, um deles foi excluído da análise imuno-histoquímica, pois continha artefatos de preparo da lâmina que impossibilitaram uma avaliação acurada dos vasos pulmonares (excessiva digestão do tecido durante procedimento de recuperação antigênica) – Tabela 26 e 27, em anexo.

Os resultados da avaliação semi-quantitativa dos marcadores imuno-histoquímicos utilizados neste trabalho estão listados nas Tabelas 13 (artérias), 14 (veias) e 15 (biópsias), a seguir.

Exemplos representativos dessa marcação estão mostrados nas Figuras 5 e 6.

Tabela 13 - Valores descritivos das variáveis imuno-histoquímicas - artérias

Variável	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo
ET-1 End	20	0,75	0,40	0,70	0,04	1,65
ET-1 CM	20	0,71	0,31	0,65	0,18	1,22
ET-A End	20	0,64	0,14	0,63	0,39	1,00
ET-A CM	20	0,56	0,15	0,53	0,34	0,95
ET-B End	20	0,28	0,18	0,24	0,02	0,74
ET-B CM	20	0,18	0,13	0,15	0,02	0,45
PDF-5 End	20	0,68	0,21	0,60	0,41	1,08
PDF-5 CM	20	0,68	0,18	0,70	0,29	1,05

ET-A End: marcador do receptor A da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares; **ET-A CM:** marcador do receptor A da endotelina presente na camada muscular das artérias pulmonares; **ET-B End:** marcador do receptor B da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares; **ET-B CM:** marcador do receptor B da endotelina presente na camada média das artérias pulmonares; **ET-1 End:** marcador da endotelina-1 presente no endotélio das artérias pulmonares; **ET-1 CM:** marcador da endotelina-1 presente na camada média das artérias pulmonares; **PDE-5 End:** marcador da fosfodiesterases-5 presente no endotélio das artérias pulmonares; **PDE-5 CM:** marcador da fosfodiesterases-5 presente na camada média das artérias pulmonares.

Tabela 14 - Valores descritivos das variáveis imuno-histoquímicas-veias

Variável	N	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo
ET-1 Veias End	17	0,77	0,58	0,56	0,00	2,00
ET-1 Veias CM	17	0,70	0,61	0,50	0,00	2,00
ET-A Veias End	13	0,48	0,23	0,50	0,09	1,00
ET-A Veias CM	13	0,35	0,22	0,33	0,00	0,75
ET-B Veias End	15	0,19	0,19	0,17	0,00	0,50
ET-B Veias CM	15	0,09	0,14	0,00	0,00	0,50
PDE-5 Veias End	16	0,52	0,22	0,50	0,00	1,00
PDE-5 Veias CM	16	0,62	0,35	0,54	0,00	1,31

ET-A Veias End: marcador do receptor da endotelina A presente no endotélio das veias pulmonares; **ET-A Veias CM:** marcador do receptor da endotelina A presente na camada média das veias pulmonares; **ET-B Veias End:** marcador do receptor B da endotelina presente no endotélio das veias pulmonares; **ET-B Veias CM:** marcador do receptor B da endotelina presente na camada média das veias pulmonares; **ET-1 Veias End:** marcador da endotelina-1 presente no endotélio das veias pulmonares; **ET-1 Veias CM:** marcador da endotelina-1 presente na camada média das veias pulmonares; **PDE-5 Veias End:** marcador da fosfodiesterases-5 presente no endotélio das veias pulmonares; **PDE-5 Veias CM:** marcador da fosfodiesterases-5 presente na camada média das veias pulmonares.

Tabela 15 - Valores descritivos das variáveis imuno-histoquímicas - biópsias

Variável	n	Média	dp	Mínimo	Máximo
ET-1 End	3	0,7	0,2	0,5	0,9
ET-1 CM	3	0,49	0,1	0,41	0,6
ET-A End	3	0,88	0,02	0,87	0,9
ET-A CM	3	0,73	0,18	0,52	0,84
ET-B End	3	0,29	0,09	0,2	0,39
ET-B CM	3	0,08	0,05	0,03	0,12
PDE-5 End	3	0,74	0,08	0,66	0,83
PDE-5 CM	3	0,55	0,06	0,5	0,62

ET-A End: marcador do receptor A da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares; **ET-A CM:** marcador do receptor A da endotelina presente na camada muscular das artérias pulmonares; **ET-B End:** marcador do receptor B da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares; **ET-B CM:** marcador do receptor B da endotelina presente na camada média das artérias pulmonares; **ET-1 End:** marcador da endotelina-1 presente no endotélio das artérias pulmonares; **ET-1 CM:** marcador da endotelina-1 presente na camada média das artérias pulmonares; **PDE-5 End:** marcador da fosfodiesterases-5 presente no endotélio das artérias pulmonares; **PDE-5 CM:** marcador da fosfodiesterases-5 presente na camada média das artérias pulmonares.

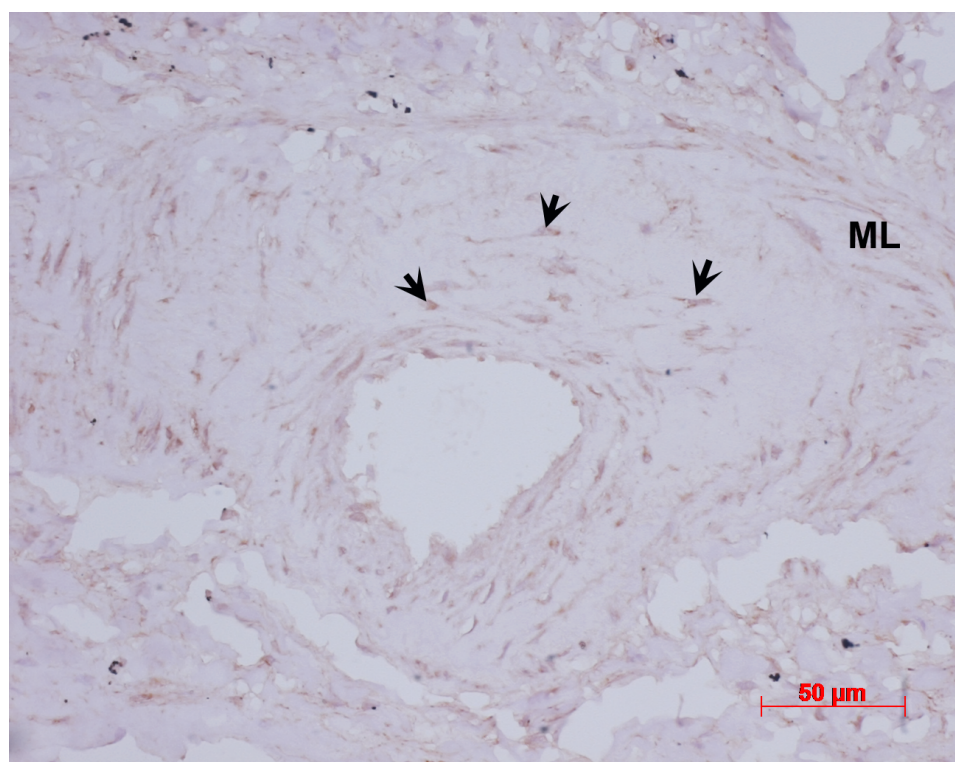


Figura 5 - Fotomicrografia de artéria pré-acinar apresentando lesão proliferativa da túnica íntima. A marcação imuno-histoquímica para PDE-5 mostra positividade tanto nas células da túnica média (ML) como também em células musculares modificadas e proliferadas da lesão oclusiva da íntima (setas). Contra-coloração pela hematoxilina de Harris e aumento da objetiva= 40x.

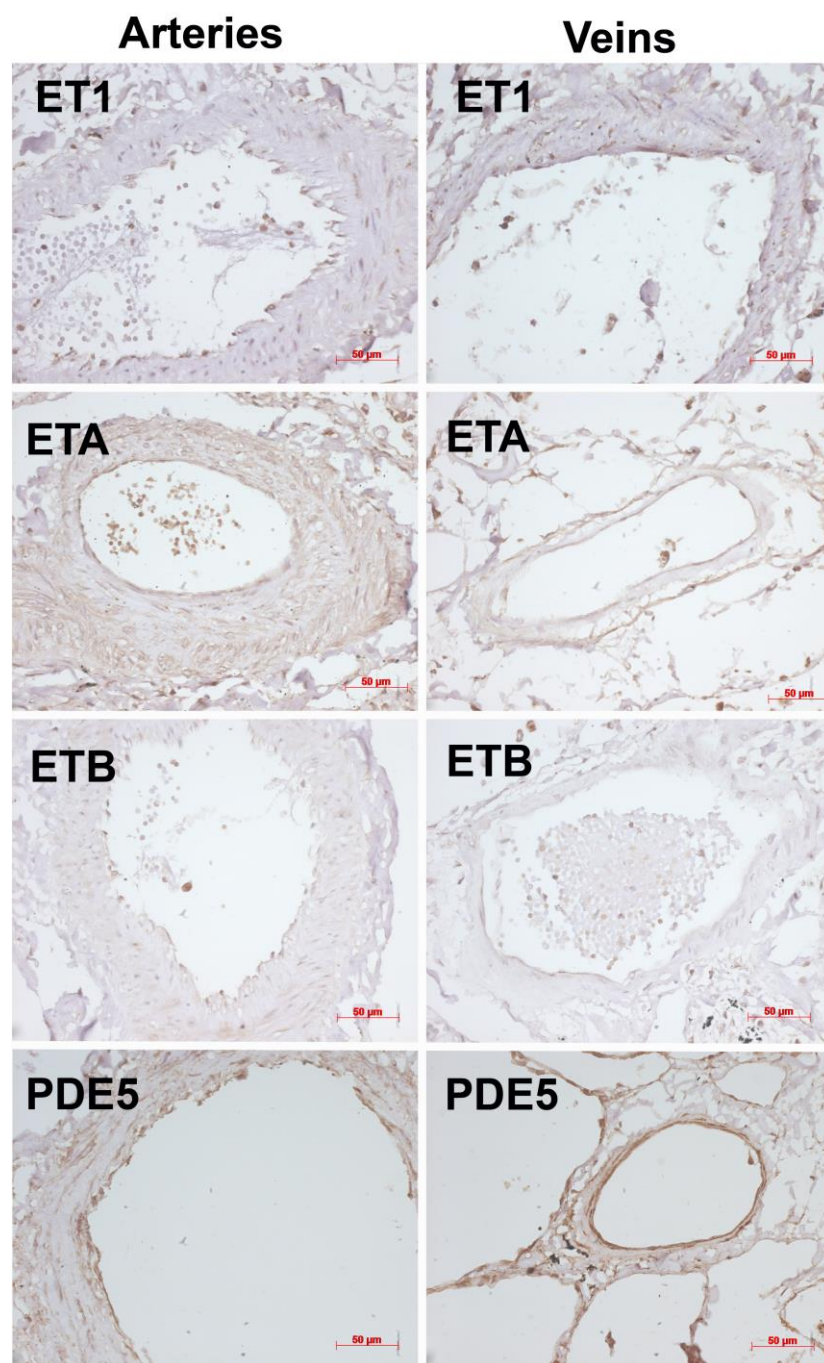


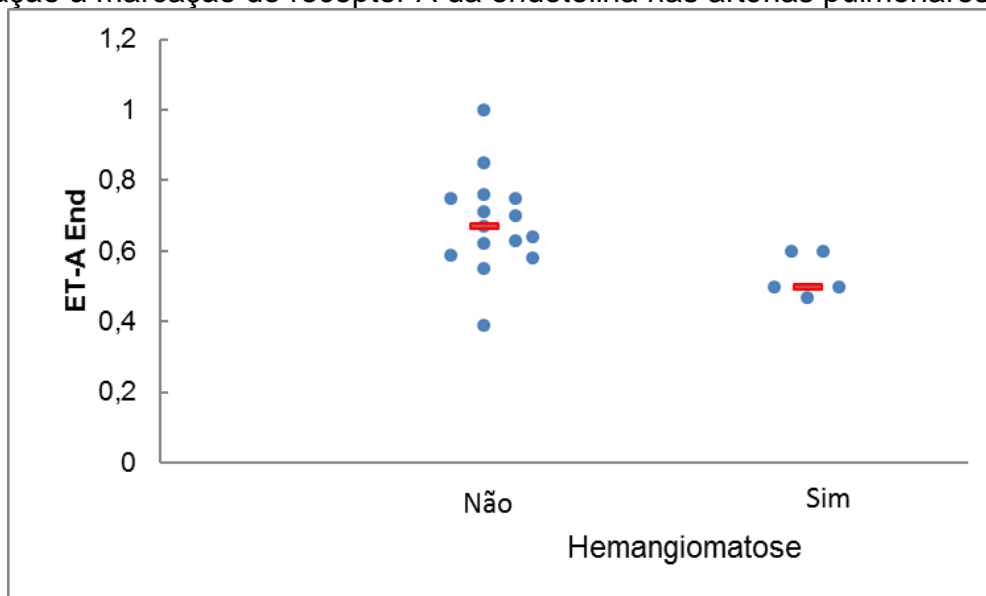
Figura 6 - Fotomicrografia representativa dos achados das reações de imunohistoquímica em artérias (painéis da esquerda) e em veias (painéis da direita). A marcação da Endotelina-1 (ET-1) mostrou-se positiva em endotélio e mais fraca em células musculares lisas da túnica média de artérias e de veias. O receptor A da endotelina (ET-A) marcou tanto células endoteliais como células musculares lisas da média, enquanto que o receptor B (ET-B) marcou fracamente tanto endotélio como células da túnica média. As reações contra fosfodiesterase-5 (PDE-5) mostraram positividade forte tanto em células endoteliais como em células musculares lisas das artérias e das veias. Contra-coloração pela hematoxilina de Harris, aumento da objetiva=40x.

4.4.1 Expressão da endotelina-1 e dos seus receptores A e B nas artérias pulmonares

Testamos os resultados de expressão imuno-histoquímica dos marcadores acima com algumas características clínicas, hemodinâmicas e morfológicas do grupo de estudo.

Procedemos agora a uma divisão em dois grupos interessando os pacientes com e sem hemangiomatose capilar e comparando-os com as marcações imuno-histoquímicas. Encontramos significância estatística em relação aos receptores A da endotelina presentes no endotélio das artérias pulmonares. Os pacientes sem hemangiomatose apresentaram maior marcação imuno-histoquímica do que os pacientes com hemangiomatose ($p = 0,019$) (Gráfico 4 e Tabela 28, em anexo).

Gráfico 4 – Comparação entre pacientes com ou sem hemangiomatose em relação à marcação do receptor A da endotelina nas artérias pulmonares

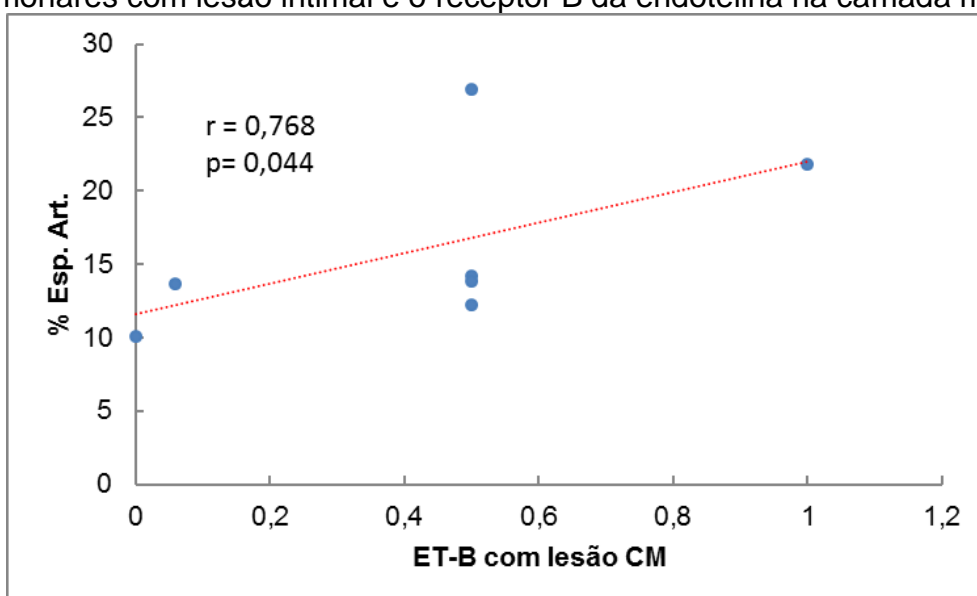


ET-A: receptor A da endotelina

Encontramos ainda correlação positiva estatisticamente significativa entre a média da porcentagem de espessura das artérias pulmonares que apresentavam fibrose intimal e a intensidade de marcação do receptor B da endotelina na camada média Gráfico 5.

Em relação aos dados hemodinâmicos, encontramos correlação negativa com os receptores B no endotélio das artérias com os seguintes parâmetros hemodinâmicos: *pressão sistólica da artéria pulmonar* ($r = -0,484$; $p = 0,031$), *pressão diastólica da artéria pulmonar* ($r = -0,596$; $p = 0,006$), *pressão média da artéria pulmonar* ($r = -0,484$; $p = 0,031$) e *pressão o capilar pulmonar* ($r = -0,507$; $p = 0,027$).

Gráfico 5 - Correlação entre porcentagem de espessura das artérias pulmonares com lesão intimal e o receptor B da endotelina na camada média



% Esp. Art.: porcentagem de espessura das artérias pulmonares com lesão intimal
ET-B com lesão CM: receptor B da endotelina na camada média das artérias pulmonares com lesão intimal

4.4.2 Expressão da endotelina-1 e dos seus receptores A e B nas veias pulmonares

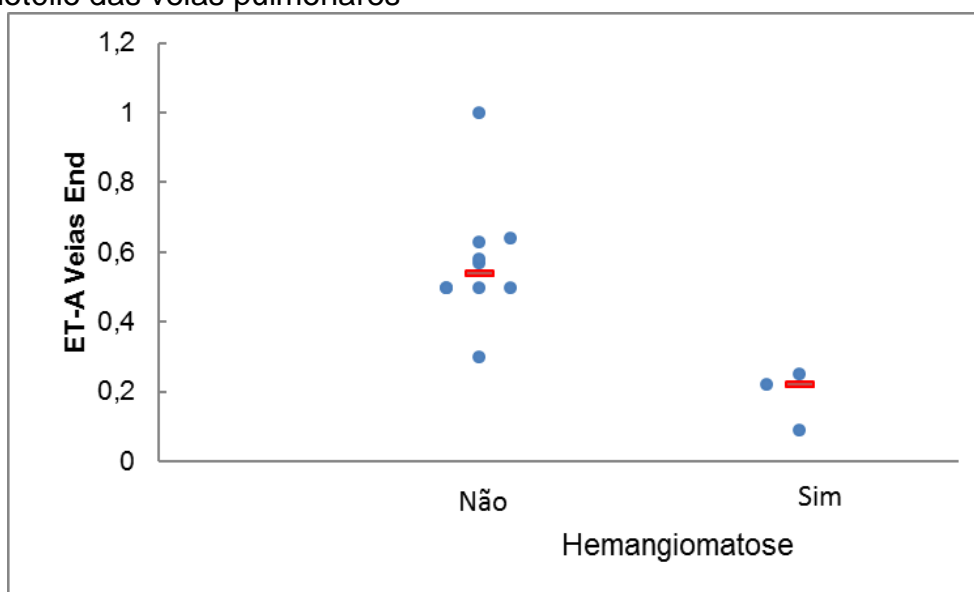
Ao avaliarmos a expressão desses marcadores em veias, detectamos algumas associações e diferenças relacionadas a seguir.

Encontramos tendência estatística ($p = 0,05$) ao compararmos pacientes com cardiopatia chagásica e não-chagásica em relação à intensidade de marcação imuno-histoquímica do receptor A da endotelina no endotélio das veias, sendo maior em pacientes chagásicos. Em relação aos receptores B não houve diferença entre estes dois grupos (Tabela 29 – em anexo).

A comparação entre pacientes submetidos ou não ao transplante cardíaco em relação aos mesmos marcadores imuno-histoquímicos, revelou diferença significativa apenas quanto aos receptores A da endotelina presentes na camada muscular das veias pulmonares, sendo a marcação maior em pulmões de pacientes submetidos ao transplante ($p = 0,006$ – Tabela 30, em anexo).

Em relação ao grupo dos pacientes com e sem hemangiomatose, comparando-os com as marcações imuno-histoquímicas, encontramos significância estatística em relação também aos receptores A da endotelina presentes no endotélio das veias pulmonares ($p = 0,007$). Os pacientes sem hemangiomatose apresentaram maior marcação imuno-histoquímica do que os pacientes com hemangiomatose (Gráfico 6 e Tabela 28, em anexo).

Gráfico 6 - Comparação de pacientes com ou sem hemangiomatose capilar em relação ao marcador dos receptores A da endotelina presentes no endotélio das veias pulmonares



ET-A Veias End: receptor A da endotelina presente no endotélio das veias pulmonares

4.4.3 Expressão da fosfodiesterase-5 nas artérias pulmonares

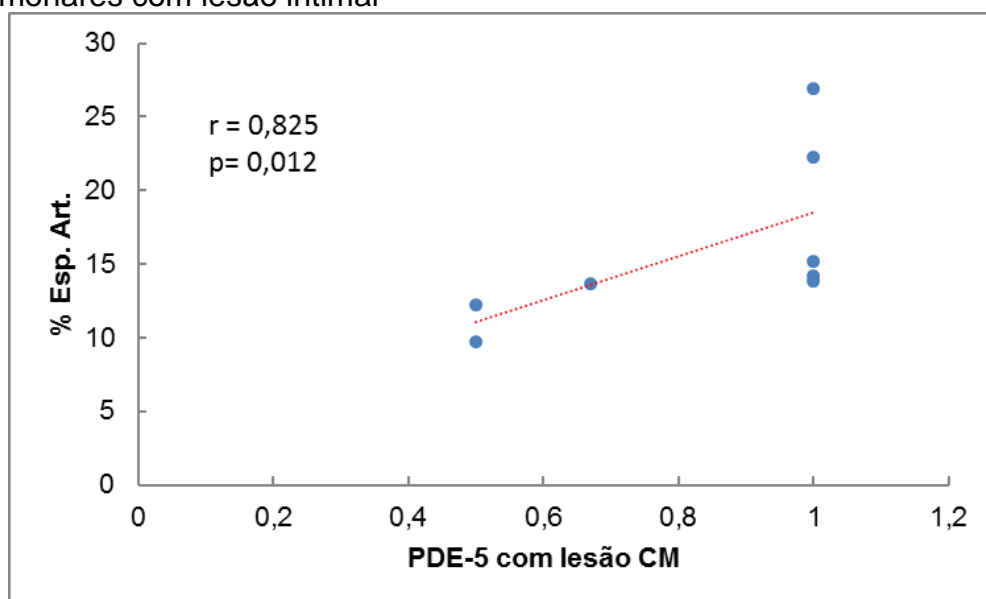
Houve correlação positiva estatisticamente significativa entre a média da porcentagem de espessura das artérias pulmonares que apresentavam

fibrose intimal e a intensidade de marcação da fosfodiesterase-5 na camada média das mesmas artérias ($p = 0,012$; $r = 0,825$ - Gráfico 7).

Em relação aos parâmetros hemodinâmicos, houve correlação negativa entre a *pressão do capilar pulmonar* e intensidade de marcação da fosfodiesterase-5 no endotélio das artérias pulmonares ($r = -0,463$; $p = 0,046$).

Encontramos também tendência a uma menor expressão imunohistoquímica da PDE-5 presente no endotélio das artérias pulmonares intracinares em pacientes com hemangiomatose capilar em comparação com os pacientes sem esta alteração ($p = 0,066$; Tabela 28, em anexo).

Gráfico 7 - Correlação entre porcentagem de espessura das artérias pulmonares e marcação da PDE-5 presente na camada média das artérias pulmonares com lesão intimal



% Esp. Art.: porcentagem de espessura das artérias pulmonares com lesão intimal
PDE-5 com lesão CM: PDE-5 presente na camada média das artérias pulmonares com lesão intimal

4.4.4 Expressão da fosfodiesterase-5 nas veias pulmonares

Houve correlação significativa, porém negativa, entre a média da porcentagem de espessura das veias pulmonares e o receptor da fosfodiesterase-5 da camada média dos mesmos vasos (Tabela 16).

Tabela 16 - Coeficiente de correlação de Spearman, variáveis morfológicas e variáveis imuno-histoquímicas

Variável		ET-A Veias End	ET-A Veias CM	ET-B Veias End	ET-B Veias CM	PDE-5 Veias End	PDE-5 Veias CM
% Esp Art	r	-0,150	-0,292	0,303	0,401	0,120	-0,340
	p	0,624	0,333	0,272	0,139	0,659	0,197
	n	13	13	15	15	16	16
% Esp Veias	r	-0,460	-0,473	0,141	0,251	-0,258	-0,514
	p	0,114	0,103	0,617	0,367	0,335	0,042
	n	13	13	15	15	16	16

Também encontramos relevância estatística ao compararmos pacientes chagásicos com não-chagásicos em relação à PDE-5 presente na camada média das artérias pulmonares pré-acinares, sendo menor nos primeiros ($p = 0,028$ – Tabela 29, em anexo).

4.4.5 Artérias pulmonares versus veias em relação à marcação imuno-histoquímica

Os resultados da comparação entre intensidade de expressão de cada marcador imuno-histoquímico entre artérias e veias estão mostrados na Tabela 17.

Tabela 17 - Valores descritivos das variáveis imuno-histoquímicas, segundo o tipo de vaso e local de marcação

Variável	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p*
ET-1 End	17	0,74	0,43	0,66	0,04	1,65	0,501
ET-1 Veias End	17	0,77	0,58	0,56	0,00	2,00	
ET-1 CM	17	0,70	0,32	0,64	0,18	1,22	
ET-1 Veias CM	17	0,70	0,61	0,50	0,00	2,00	0,623
ET-A End	13	0,65	0,10	0,64	0,50	0,85	0,007
ET-A Veias End	13	0,48	0,23	0,50	0,09	1,00	
ET-A CM	13	0,54	0,09	0,53	0,45	0,71	
ET-A Veias CM	13	0,35	0,22	0,33	0,00	0,75	0,003
ET-B End	15	0,23	0,15	0,19	0,02	0,54	0,315
ET-B Veias End	15	0,19	0,19	0,17	0,00	0,50	

continua

Variável	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	conclusão
							p*
ET-B CM	15	0,13	0,09	0,10	0,02	0,29	0,041
ET-B Veias CM	15	0,09	0,14	0,00	0,00	0,50	
PDF-5 End	16	0,69	0,22	0,60	0,44	1,08	0,008
PDE-5 Veias End	16	0,52	0,22	0,50	0,00	1,00	
PDF-5 CM	16	0,66	0,19	0,69	0,29	1,05	0,485
PDE-5 Veias CM	16	0,62	0,35	0,54	0,00	1,31	

(*) nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Wilcoxon.

Portanto observamos diferença significativa entre artérias e veias em relação aos marcadores: receptores A e B da endotelina e fosfodiesterase-5. Quanto ao receptor A, a expressão foi significativamente menor tanto no endotélio como na túnica muscular das veias quando comparadas às artérias. O receptor B na camada média também teve expressão significativamente menor em veias do que em artérias. A fosfodiesterase-5 teve expressão significativamente menor no endotélio das veias.

5 DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

5.1 Alterações morfológicas

À semelhança do que já foi descrito por outros autores (Abbas *et al.*; Delgado, 2005; McLaughlin, 2009) encontramos em nossa casuística fibrose intimal na maioria dos casos (60%) e hipertrofia da camada média das artérias pulmonares (média da porcentagem de espessura da camada muscular das artérias pulmonares de 15,01%). Em relação a este último achado, em particular, nossos resultados se assemelham aos encontrados por Delgado *et al.* (2005), que descreveram aumento médio na porcentagem de espessura da parede das artérias pulmonares de 19,5%. Também à semelhança de outros autores (Hasleton; Brooks, 1995) constatamos a presença de fibrose intimal nas veias pulmonares em todos os nossos casos. No entanto, a quantificação desse espessamento da parede venosa não havia sido antes realizada. Tal quantificação permitiu-nos ainda detectar a correlação positiva e significativa entre as espessuras das paredes vasculares nos territórios venoso e arterial, mostrando que a adaptação desses vasos é interdependente e provavelmente consequência do aumento da pressão nas câmaras cardíacas da esquerda.

Em relação às alterações parenquimatosas, nossos achados estão em concordância aos relatos clássicos, com congestão passiva crônica pulmonar de graus variados. Em nossa casuística, conforme descrito nos resultados, encontramos adicionalmente aspecto histológico semelhante à hemangiomatose capilar em cinco pacientes (23,8%). Este tipo de achado não é característico ou restrito às condições que levam à congestão passiva, e têm sido descritos em diversas situações como descrito por Jing *et al.*, 1998; Moritani *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2009 e Aiello *et al.*, 2014. Optamos por descrever o quadro como aspecto “semelhante à hemangiomatose capilar” visto que a proliferação capilar pareceu estar restrita aos septos alveolares e

não aos espaços peri-brônquicos e peri-vasculares como descrito na forma clássica. O significado deste tipo de lesão não está esclarecido. Em nosso estudo, todavia, sua presença esteve associada a alterações indicativas de gravidade da doença vascular e a alguns padrões de marcação imuno-histoquímica, como será discutido posteriormente.

5.2 Medidas hemodinâmicas

Analisando a nossa amostra percebemos que boa parte dos pacientes não apresentava medidas hemodinâmicas compatíveis com hipertensão pulmonar grave como $GTP \geq 15$ mmHg, PSAP entre 50 e 60 mmHg e $RVP > 5$ uW (Bacal *et al.*, 2010), apesar do grave comprometimento cardíaco e da insuficiência cardíaca em fase terminal. Avaliando-se as medidas hemodinâmicas constantes na tabela 2 podemos ver que a média do GTP está bem abaixo de 15 mmHg. Assim, dos 20 pacientes analisados (um paciente não apresentava este dado) apenas 4 possuíam GTP maior ou igual a 15 mmHg. Em relação à PSAP, apenas nove pacientes apresentaram valores maiores que 50 mmHg, com média de 49 mmHg. Finalmente, em relação à RVP, apenas um paciente apresentou valor acima de 5 uW, mais precisamente 5,71 uW. Desta forma, podemos perceber, como dito acima, que a grande maioria destes pacientes não apresentavam hipertensão pulmonar grave e, provavelmente, este fato teve implicações em relação aos resultados que obtivemos pois, como veremos nas seções seguintes, não apontam para uma única e inequívoca direção.

Além destes valores hemodinâmicos que são utilizados como parâmetro de gravidade da hipertensão pulmonar, podemos observar que três pacientes apresentavam valores de PAPm menores do que 25 mmHg (valor utilizado como ponto de corte para o diagnóstico hemodinâmico de hipertensão pulmonar). No entanto, podemos ver ainda que destes três pacientes, um apresentava GTP acima do valor considerado como normal (5-7 mmHg, Bacal *et al.*, 2010), um segundo apresentava GTP no limite superior da normalidade

e, finalmente, o terceiro possuía GTP de 3 mmHg. Além disso, conforme citado anteriormente, para considerarmos a hipertensão pulmonar como sendo de etiologia cardíaca, ou ao menos pós-capilar, seriam necessários valores de pressão do capilar pulmonar (PCP) acima de 15 mmHg. Em relação a estes mesmos três pacientes, um deles apresentava PCP de 20 mmHg, um segundo 15 mmHg e, finalmente, o terceiro 12 mmHg. Assim, podemos afirmar que, apesar destes pacientes não apresentarem valores de PSAP que possam defini-los como portadores de hipertensão pulmonar, dificilmente ela estaria ausente nestes indivíduos, ainda mais se levarmos em consideração os demais parâmetros hemodinâmicos, como GTP e PCP. O que poderia, portanto, justificar valores baixos de PAPm nestes indivíduos seria, por exemplo, a falência do ventrículo direito, tão comum em pacientes com insuficiência cardíaca em estágio terminal.

5.3 Correlação entre medidas hemodinâmicas e alterações morfológicas

Conforme citado anteriormente, busca-se ainda na prática clínica diária um marcador hemodinâmico que possa indicar ou contraindicar de forma precisa a realização do transplante cardíaco, estabelecendo de forma inequívoca a correlação entre valores hemodinâmicos e as alterações na morfologia da vasculatura pulmonar. Infelizmente, entre os três marcadores utilizados atualmente na prática clínica (GTP, RVP e DPD), nenhum deles apresenta-se altamente confiável. Neste trabalho tentamos identificar, entre estes marcadores, qual deles poderia estabelecer melhor correlação com as alterações morfológicas vasculares. No entanto, ao realizarmos os testes de correlação utilizando o GTP e a RVP, como marcadores de gravidade, não encontramos resultados estatísticos significantes em nenhuma das situações. Assim, não podemos afirmar, com base em nossos resultados, que um paciente que apresentasse GTP menor do que 15 mmHg (ou RVP menor do 5 uW) teria artérias pulmonares menos espessas que outro paciente que apresentasse GTP (ou RVP) acima destes limites. Importante lembrar que

estes achados estão de acordo com o trabalho de Delgado *et al.* (2005), que também não encontraram correlação dos dados hemodinâmicos pesquisados com as alterações morfológicas da vasculatura pulmonar por eles descritas. O que nossos dados apontam é que a utilização da pressão pulmonar diastólica, assim como, da pressão pulmonar média como marcadores de gravidade da hipertensão pulmonar poderia ser mais precisa ao identificar uma melhor correlação entre a alteração morfológica da vasculatura pulmonar e os parâmetros hemodinâmicos em pacientes com hipertensão pulmonar secundária a doenças cardíacas.

5.4 Dados hemodinâmicos e características clínicas e demográficas

Não encontramos em nossos resultados associações significativas entre os parâmetros hemodinâmicos e a etiologia da cardiopatia, muito embora, apesar de termos etiologias diferentes em nossa casuística, apenas duas (cardiopatia chagásica e idiopática) estiveram presentes em mais de um paciente, o que provavelmente possa ter impedido uma análise estatística mais fidedigna. Em relação ao gênero, também não encontramos diferenças entre homens e mulheres no que diz respeito aos parâmetros hemodinâmicos. Embora não haja relatos na literatura que tal fato tenha sido encontrado por outros autores, não há motivos para pensarmos que isto poderia acontecer, visto que não existem estudos demonstrando maior gravidade da cardiopatia em relação aos diferentes gêneros.

5.5 Alterações morfológicas em pacientes cardiopatas chagásicos

Existe um conceito sustentado por médicos cardiologistas e oriundo de observações práticas segundo o qual pacientes cardiopatas chagásicos apresentam menores níveis de hipertensão pulmonar em comparação com pacientes cardiopatas de outras etiologias. Uma explicação para isso poderia

ser a menor geração de pressão para os pulmões devido ao acometimento precoce do ventrículo direito em pacientes chagásicos. Corroborando esta hipótese está o trabalho de Gelape *et al.* (2011) que demonstraram este efeito comparando pacientes chagásicos com não-chagásicos em lista de transplante. Tal conceito parece também estar sustentado pelos dados que obtivemos ao compararmos a porcentagem de espessura da parede das veias pulmonares de pacientes chagásicos com pacientes não-chagásicos e constatarmos que realmente os primeiros apresentam menor valor dos que os últimos. Um pouco mais sobre este tema discutiremos em uma outra seção.

5.6 Hemangiomatose capilar e sua relação com dados hemodinâmicos e morfológicos

Conforme salientado anteriormente, a hemangiomatose capilar, definida como sendo uma proliferação focal de capilares nas paredes alveolares, pleura, brônquios e paredes de veias e artérias (Guimarães *et al.*, 2005), é de ocorrência bastante rara e não se sabe ao certo seu verdadeiro significado, quando do seu aparecimento em pacientes com hipertensão pulmonar secundária a doenças cardíacas. No entanto, tem sido descrita com freqüência em associação à doença pulmonar veno-oclusiva, uma forma de hipertensão pulmonar recentemente classificada como do grupo 1 por similaridades com as formas idiopática e familiar da hipertensão arterial pulmonar (Simoneau, 2013). Como no nosso estudo temos também pressão venosa aumentada seria de se esperar que pacientes com hemangiomatose capilar e hipertensão pulmonar passiva apresentassem aspectos morfológicos e hemodinâmicos referentes a estados de maior gravidade da doença cardiopulmonar. Em nossos resultados não encontramos dados que pudessem de forma inquestionável sustentar esta suposição, e sim apenas a possibilidade de que talvez ela seja verdadeira. Isto pode ser verificado, portanto, no achado de maiores níveis de resistência vascular pulmonar em pacientes com focos microscópicos de padrão de hemangiomatose capilar. Porém, demais comparações utilizando outros dados hemodinâmicos ou

morfométricos em relação a esta proliferação capilar não demonstraram significância estatística. Este aspecto mereceria reavaliação em casuística maior de pacientes candidatos ao transplante cardíaco.

5.7 Endotelina-1 e seus receptores A e B nas artérias pulmonares

Conforme referido anteriormente, está bem estabelecido o importante papel da endotelina na patogenia da hipertensão pulmonar, independentemente de sua etiologia. No entanto, o que ainda precisa ser melhor esclarecido é qual o seu verdadeiro mecanismo de atuação, principalmente no que se refere aos seus receptores presentes no endotélio vascular.

Por ser a endotelina-1 um potente vasoconstritor e estar aumentada de forma significativa em pacientes com insuficiência cardíaca, conforme demonstrado por Steward *et al.* e por Cody *et al.* (1992), esperávamos encontrar aumento da sua expressão imuno-histoquímica em pacientes com hipertensão pulmonar do grupo 2. Esperávamos também encontrar correlação positiva entre a marcação imuno-histoquímica e parâmetros hemodinâmicos, visto que, conforme relatado por Cody *et al.* (1992), há correlação positiva entre valores de pressão, ou resistência vascular pulmonar, com níveis plasmáticos elevados de endotelina-1. Nossos resultados também foram diferentes do relatado por Sakai *et al.* (1996) que demonstraram maior expressão imuno-histoquímica da endotelina-1 em endotélio vascular de ratos em modelo de falência cardíaca esquerda. Por outro lado, nossos achados poderiam estar em concordância com os resultados de outros trabalhos que não encontraram eficácia no tratamento da hipertensão pulmonar em pacientes do grupo 2 com bloqueadores dos receptores da endotelina-1, como foi o caso do estudo EARTH (Anand *et al.*, 2004) e do estudo HEAT (Luscher *et al.*, 2002).

Um achado bastante curioso de nosso trabalho, mas que não possui explicação fácil, foi a presença de menor intensidade de marcação imuno-

histoquímica do receptor A da endotelina no endotélio das artérias pulmonares de pacientes com hemangiomatose capilar. Tal fato nos surpreende pois esperávamos encontrar dados diametralmente opostos, visto que a maior marcação do receptor A da endotelina deveria estar presente em pacientes supostamente mais graves e com doença mais avançada, como supomos serem os pacientes com hemangiomatose capilar. No entanto, resultado semelhante a este foi encontrado por Hall SM *et al.* (2011), no qual os autores descrevem menor expressão deste mesmo receptor no endotélio das artérias pulmonares de pacientes portadores de hipertensão arterial pulmonar idiopática em comparação com os controles. Uma explicação plausível para este achado é a de que pacientes portadores de hipertensão pulmonar, por apresentarem *disfunção endotelial*, teriam diminuída a expressão dos receptores da endotelina no endotélio vascular (Hall *et al.*, 2011). Este e os outros resultados de expressão imuno-histoquímica, em nosso trabalho, não puderam ser convenientemente comparados do ponto de vista estatístico com um grupo controle, pois conseguimos apenas três pulmões normais como referência. Todavia, pudemos observar valores médios menores de expressão do receptor A da endotelina nos doentes em relação à média dos três casos de referência.

Em relação aos receptores do tipo B, sabe-se que seu papel na fisiologia vascular é mais complexo. Inicialmente conhecidos como indutores de vasodilatação, sabe-se hoje que em estados patológicos fazem mediação dos efeitos patológicos da endotelina, como vasoconstrição, proliferação e fibrose. Demonstrou-se regulação aumentada do gene desse receptor (B) em pacientes com hipertensão pulmonar de grau acentuado consequente a tromboembolismo crônico (Bauer, 2002). Tal fato é corroborado com nosso achado de correlação positiva estatisticamente significativa entre a média da porcentagem de espessura das artérias pulmonares que apresentavam fibrose intimal e a intensidade de marcação do receptor B da endotelina na camada média. Estes dados estão de acordo com os resultados de Hall *et al.* (2011) que demonstraram maior expressão destes receptores nas células musculares das artérias pulmonares nos pacientes com hipertensão pulmonar

idiopática em relação ao controle. Mesmo tomando o grupo de três pulmões-controle apenas como referência, a média de intensidade de expressão do receptor B da endotelina nas células musculares da túnica média foi maior no grupo dos doentes estudados.

5.8 Receptores A e B da endotelina nas veias pulmonares

O presente estudo mostra pela primeira vez que a expressão dos receptores A e B da endotelina são menores nas veias pulmonares em relação à expressão nas artérias em grupo de pacientes com hipertensão pulmonar do grupo 2.

Outro achado intrigante foi a presença de maior marcação do receptor A da endotelina no endotélio das veias pulmonares de pacientes com cardiopatia chagásica em comparação com pacientes portadores de cardiopatia de outras etiologias. Uma forma de explicar este achado seria a de que pacientes chagásicos apresentariam menor disfunção endotelial quando comparados com pacientes portadores de cardiopatia de outras etiologias. Este fato, associado ao resultado que obtivemos demonstrando que na etiologia chagásica a porcentagem de espessura da parede das veias pulmonares é menor em comparação com as outras etiologias, nos faz crer que pacientes portadores de cardiopatia chagásica teriam, na verdade, doença vascular menos grave em relação aos pacientes de outras etiologias. Entretanto, esta menor gravidade parece, por algum motivo, estar relacionada às lesões vasculares presentes apenas nas veias pulmonares, mas não nas artérias, visto que apenas as veias pulmonares de pacientes chagásicos apresentam menores níveis de lesão morfológica em comparação com as veias pulmonares de pacientes de outras etiologias. Ao compararmos as lesões presentes nas artérias pulmonares, entre estes dois grupos, não encontramos relevância estatística, conforme referido anteriormente. Tão pouco, não detectamos diferenças significativas em relação aos parâmetros hemodinâmicos quando comparamos estes dois grupos etiológicos.

Poderíamos, portanto, especular que, embora as lesões tenham sido mais leves nas veias pulmonares dos pacientes chagásicos, esta diferença não foi suficiente para gerar alterações pressóricas significativas a ponto de provocar distinções nos parâmetros hemodinâmicos entre os dois grupos.

O papel da endotelina e de seus receptores no endotélio das veias pulmonares, seja em termos fisiológicos, seja em termos patológicos, necessita de maiores esclarecimentos. Em hipertensão pulmonar do grupo 2 não temos conhecimento de investigações sobre a expressão da endotelina e de seus receptores no território venoso pulmonar, embora se conheça que a endotelina-1 é um constritor mais potente em veias do que em artérias (Gao, 2005).

Takahashi *et al.* demonstraram experimentalmente aumento da expressão da endotelina-1 e seus receptores A e B em veias de animais submetidos à condição de hipóxia (Takahashi, 2001).

Nosso achado de maior marcação imuno-histoquímica dos receptores A da endotelina na camada média das veias pulmonares no subgrupo de pacientes já submetidos ao transplante cardíaco só poderá ser interpretada de forma totalmente especulativa. Evidentemente, precisamos levar em consideração o tempo entre o transplante cardíaco e a realização da necrópsia. Em nossa casuística tivemos apenas um paciente que foi a óbito 60 dias após o transplante, sendo a média de 13,8 dias. Poder-se-ia especular que a regularização das pressões do ventrículo esquerdo, embora em tão pouco tempo de evolução pós-operatória, foi suficiente para melhorar a disfunção endotelial e aumentar a expressão dos receptores. Vale a pena ressaltar que o paciente com maior tempo de sobrevivência de nossa casuística (60 dias) teve média de marcação imuno-histoquímica de 0,33. Este valor está abaixo da média de marcação dos pacientes transplantados que é de 0,45, mas está bem acima da média dos pacientes não transplantados que é de 0,13. Relatos da literatura mostram, entretanto, que pode haver um longo período entre a realização do transplante cardíaco e a melhora nos parâmetros hemodinâmicos e até anatômicos nestes pacientes (Greenberg, 1985; Bathia, 1987; Tamburino, 1989; Bourge; von Scheidt, 1991; Delgado,

2001; Chang *et al.*; Butler *et al.* 2005). No nosso estudo, não temos como avaliar se os parâmetros hemodinâmicos melhoraram ou não após o transplante, por se tratar de um trabalho retrospectivo.

Em concordância com os achados de menor marcação imuno-histoquímica do receptor A da endotelina no endotélio das artérias pulmonares de pacientes portadores de hemangiomatose capilar, relatamos agora o mesmo fenômeno ocorrendo com o mesmo receptor, mas desta vez presente no endotélio das veias pulmonares. Assim toda a especulação que já realizamos em outras partes deste texto sobre este tema pode ser novamente aplicada também nesta situação.

5.9 Fosfodiesterase-5 nas artérias pulmonares

A vasodilatação pulmonar é obtida, em parte, pela estimulação da guanilato ciclase solúvel, a qual eleva o conteúdo da cGMP na musculatura lisa vascular (Waldman *et al.*, 1988). Desta forma, mecanismos que modulam o nível da cGMP na musculatura lisa dos vasos são críticos em determinar o tônus e a reatividade dos vasos (Hanson *et al.*, 1998). O conteúdo da cGMP na musculatura lisa vascular é mediado, em parte, por sua hidrólise, o que por sua vez, diminui seu nível intracelular favorecendo o aumento do tônus vascular (Hanson *et al.*, 1998). A maior parte da hidrólise da cGMP é realizada por fosfodiesterases específicas (Hanson *et al.*, 1998), como é o caso da fosfodiesterase-5.

Conforme demonstrado por Forfia *et al.* em 2007, em modelos animais experimentais de insuficiência cardíaca, a atividade da PDE-5 na vasculatura pulmonar está aumentada em comparação com animais controles (*determinada por polarização fluorescente*). Hanson *et al.* (1998) também encontraram aumento da atividade da fosfodiesterase-cGMC, particularmente da PDE-5, em modelos animais de hipertensão pulmonar em comparação com os controles. De forma semelhante, Black *et al.* (2001) demonstraram aumento da expressão imuno-histoquímica da PDE-5 nas artérias pulmonares

de modelos animais experimentais de hipertensão pulmonar (*shunting* aortopulmonar) em comparação com animais controles.

Em relação à marcação da fosfodiesterase-5 na camada média das artérias pulmonares que apresentavam lesão intimal e sua correlação positiva com a média da porcentagem de espessura destes mesmos vasos, encontramos resultados mais fáceis de se explicar face aos conhecimentos atuais que possuímos em relação à fisiopatogenia da hipertensão pulmonar no tocante a esta enzima. Conforme discutido acima, nos parece lógico esta maior intensidade de marcação imuno-histoquímica nos pacientes que apresentavam estes vasos, em média, com maior espessura, visto que a ativação do receptor desta enzima proporciona efeitos vasoconstritores.

A tendência de menor marcação imuno-histoquímica do receptor da fosfodiesterase-5 presente no endotélio das artérias pulmonares intra-acinares de pacientes portadores de hemangiomatose capilar, embora bastante intrigante, está em concordância com os achados de menor marcação imuno-histoquímica do receptor A da endotelina, seja quando presente no endotélio das artérias pulmonares, seja quando presente no endotélio das veias pulmonares. É possível acreditarmos, portanto, que existe alguma lógica presente nestes fenômenos aqui demonstrados em relação aos pacientes portadores de hemangiomatose capilar no que diz respeito ao mecanismo fisiopatológico da disfunção endotelial representada pela menor marcação imuno-histoquímica destes receptores, tanto nas artérias quanto nas veias pulmonares, embora ainda estejamos longe de saber qual é o seu verdadeiro significado.

5.9.1 Fosfodiesterases-5 nas veias pulmonares

Embora dados de estudos sobre o efeito de drogas inibidoras da enzima fosfodiesterase-5 em pacientes com hipertensão pulmonar secundária a doenças cardíacas tenha mostrado, até o momento, resultados animadores (Patel *et al.*, 2005; Lewis *et al.*, 2007; Guazzi, 2008; Guglin; Khan, 2010),

pouco se sabe sobre a real implicação desta enzima na fisiopatogenia desta modalidade de hipertensão pulmonar. Ainda assim, a correlação negativa entre a média da porcentagem de espessura da parede das veias pulmonares e o receptor da fosfodiesterase-5 presente na camada média destes mesmos vasos, encontrada em nossa casuística, nos parece bastante intrigante. Seria, pelo menos em termos teóricos, de se esperar que nas veias pulmonares com maior porcentagem de espessura de suas paredes obtivéssemos o resultado oposto, visto que a maior atividade da enzima, representada aqui como maior intensidade de marcação imuno-histoquímica, acarretaria em um maior efeito vasoconstritor. Novamente, a interpretação deste achado deverá ser, neste momento, meramente especulativa. Uma possível justificativa para este achado seria a possibilidade destes pacientes, principalmente os que se encontravam em condições mais avançadas da doença, terem feito uso de drogas inibidoras da fosfodiesterase-5, mesmo que por um curto período de tempo. Embora fosse o mais apropriado, uma extensa análise dos prontuários destes pacientes à procura de alguma prescrição desta medicação não seria viável de ser realizada. Ainda assim, mesmo que tal análise fosse feita não poderíamos descartar a possibilidade do uso destas medicações por parte destes pacientes mesmo sem prescrição médica, ato este, que embora bastante condenável, ainda é extensamente praticado por nossa população.

A menor marcação da PDE-5 presente na camada média das artérias pulmonares pré-acinares em pacientes chagásicos em comparação aos pacientes não-chagásicos corrobora mais uma vez com o conceito empírico de que pacientes com cardiopatia por doença de Chagas apresentariam menor comprometimento vascular quando comparados com pacientes com falência ventricular esquerda de outras etiologias.

5.9.2 Artérias pulmonares versus veias em relação à marcação imuno-histoquímica

As diferenças entre artérias e veias no tocante à marcação imuno-histoquímica, demonstrando haver maior expressão nas artérias em relação

às veias pode ser justificada pelas características anatômicas de cada uma delas. Seria natural especular que artérias tenham maior expressão de marcadores pois apresentam camada intimal e média fisiologicamente mais espessas do as veias, e estão submetidas a níveis maiores de pressão. Por outro lado, isso não justifica o fato de não encontramos diferença em relação à endotelina-1, receptor B da endotelina e à PDE-5 (estes últimos quando presentes na camada média). Tal situação não possui explicação aceitável a não ser pelo fato de que ainda estamos distantes de uma total compreensão do papel destes marcadores na fisiopatologia da hipertensão pulmonar em pacientes com cardiopatia.

6 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

6 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

A maior limitação deste estudo foi o fato de não termos incluído em nossa casuística um grupo controle, com o qual poderíamos comparar especialmente os achados imuno-histoquímicos. Tal ocorrência pode ser explicada pela dificuldade em encontrar tais características em material de necrópsia ou seja, tecido pulmonar de indivíduos saudáveis ou com poucas comorbidades não seria viável em nosso meio, a não ser as raras ocasiões de recusa de doadores de transplante, como foi o caso dos três indivíduos considerados como referência normal neste trabalho.

7 COMENTÁRIOS FINAIS

7 COMENTÁRIOS FINAIS

Por ser este um trabalho original no que diz respeito a estes marcadores em pacientes portadores de hipertensão pulmonar do grupo 2, acreditamos ter deixado uma pequena contribuição em relação ao entendimento desta que parece ser uma intrincada rede fisiopatológica atuando na circulação pulmonar de pacientes portadores de hipertensão pulmonar secundária a doenças cardíacas. Acreditamos que uma outra contribuição deste trabalho foi a de termos demonstrado que, apesar de ser pequena a nossa casuística e isto ser um grande limitador para conclusões definitivas, marcadores hemodinâmicos amplamente utilizados para definir pacientes com hipertensão pulmonar *desproporcional*, o que conferiria a eles a presença de lesões pulmonares vasculares importantes, podem não se mostrarem capazes de retratar tal conceito, visto que não encontramos correlação entre GTP ou RVP e aumento na porcentagem de espessura tanto da parede das artérias como também das veias pulmonares.

8 CONCLUSÃO

8 CONCLUSÃO

Em 21 pacientes portadores de doença cardíaca esquerda terminal e hipertensão pulmonar a ela associada, concluímos que:

- Tanto artérias como veias pulmonares são remodeladas em consequência à insuficiência cardíaca crônica, em graus variáveis e aparentemente com intensidade interdependente, ou seja, alterações venosas mais significativas são acompanhadas de maiores alterações no território arterial.
- O padrão histológico de hemangiomatose capilar encontrado focalmente em 25% dos casos parece estar relacionado a características de maior gravidade hemodinâmica da doença vascular pulmonar neste grupo de pacientes.
- Ao contrário do que foi demonstrado anteriormente por outros autores, nossos resultados apontam para correlação entre algumas variáveis hemodinâmicas e intensidade de remodelamento histológico do território arterial pulmonar.
- Apesar das raras associações significativas entre marcação imuno-histoquímica da endotelina-1, seus receptores A e B e da fosfodiesterase-5 com dados hemodinâmicos e alterações morfológicas em vasos pulmonares, este estudo contribuiu para o entendimento do papel de cada uma dessas substâncias na fisiopatologia da hipertensão pulmonar do grupo 2.
- O achado de remodelamento vascular diferente nos pacientes com cardiopatia de etiologia Chagásica corrobora dados anteriormente descritos derivados de observações clínicas neste grupo etiológico.

9 ANEXOS

Tabela 18 - Frequências absolutas e relativas do GTP e RVP, segundo o grupo de Chagas.

Variável	Classe	Chagas				p*
		Não		Sim		
		n	%	n	%	
GTP	<= 15	10	83,3	6	85,7	1,000
	> 15	2	16,7	1	14,3	
RVP	< 3	7	63,6	6	85,7	0,596
	>=3	4	36,4	1	14,3	

(*) nível descritivo de probabilidade do teste exato de Fisher.

GTP: gradiente transpulmonar

RVP: resistência vascular pulmonar

Tabela 19 - Valores descritivos das variáveis hemodinâmicas, segundo o grupo de Chagas

Variável	Chagas	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p*
Ap Sist	Não	13	49,92	7,93	48,00	34,00	65,00	0,485
	Sim	7	47,29	18,81	40,00	28,00	78,00	
Ap Diast	Não	13	27,08	7,31	25,00	13,00	40,00	0,393
	Sim	7	24,14	7,13	24,00	14,00	32,00	
Ap Média	Não	13	36,23	6,73	37,00	22,00	48,00	0,588
	Sim	7	33,43	11,33	30,00	21,00	50,00	
CP	Não	12	25,08	8,39	23,50	15,00	42,00	1,000
	Sim	7	24,71	8,96	22,00	12,00	38,00	
GTP	Não	12	10,42	4,96	10,50	2,00	20,00	0,384
	Sim	7	8,71	5,31	7,00	3,00	20,00	
RVP	Não	11	2,74	1,46	2,70	0,50	5,71	0,328
	Sim	7	2,04	0,99	1,94	0,88	3,77	

(*) nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

Ap Diast: pressão diastólica da artéria pulmonar

Ap Média: pressão média da artéria pulmonar

Ap Sist: pressão sistólica da artéria pulmonar

CP: pressão do capilar pulmonar

GTP: gradiente transpulmonar

RVP: resistência vascular pulmonar

Tabela 20 - Frequências absolutas e relativas do GTP e RVP, segundo o grupo de Tx

Variável	Classe	Tx				p*
		Não		Sim		
		n	%	n	%	
GTP	<= 15	4	66,7	12	92,3	0,222
	> 15	2	33,3	1	7,7	
RVP	< 3	3	60,0	10	76,9	0,583
	> = 3	2	40,0	3	23,1	

(*) nível descritivo de probabilidade do teste exato de Fisher.

GTP: gradiente transpulmonar

RVP: resistência vascular pulmonar

Tx: transplante cardíaco

Tabela 21 - Valores descritivos das variáveis hemodinâmicas, segundo o grupo de Tx

Variável	Tx	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p
Ap Sist	Não	6	52,00	14,60	49,00	35,00	78,00	0,718
	Sim	14	47,71	11,66	48,00	28,00	65,00	
Ap diast	Não	6	23,83	3,06	23,50	20,00	29,00	0,312
	Sim	14	27,00	8,30	30,00	13,00	40,00	
Ap Média	Não	6	35,33	8,52	34,50	26,00	50,00	0,904
	Sim	14	35,21	8,71	36,50	21,00	48,00	
CP	Não	6	24,33	7,28	23,00	16,00	35,00	0,898
	Sim	13	25,23	9,08	22,00	12,00	42,00	
GTP	Não	6	11,00	6,45	10,50	2,00	20,00	0,467
	Sim	13	9,23	4,40	8,00	3,00	20,00	
RVP	Não	5	2,60	1,43	2,79	0,50	4,00	0,633
	Sim	13	2,42	1,32	2,14	0,88	5,71	

(*) nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

Ap Diast: pressão diastólica da artéria pulmonar

Ap Média: pressão média da artéria pulmonar

Ap Sist: pressão sistólica da artéria pulmonar

CP: pressão do capilar pulmonar

GTP: gradiente transpulmonar

RVP: resistência vascular pulmonar

Tabela 22 - Comparação entre dados hemodinâmicos e a etiologia da cardiopatia (*idiopática ou não-idiopática*)

DADOS HEMODYNÂMICOS	C. IDIOPÁTICA		C. NÃO-IDIOPÁTICA		P
	MÉDIA	DESVIO- PADRÃO	MÉDIA	DESVIO- PADRÃO	
Ap Sist (mmHg)	49,63	8,25	48,58	14,86	0,859
Ap Diast (mmHg)	24,50	7,19	27,08	7,33	0,447
Ap Média (mmHg)	34,75	7,36	35,58	9,38	0,835
CP (mmHg)	23,71	7,67	25,67	8,98	0,637
GTP (mmHg)	9,57	4,35	9,92	5,55	0,890
RVP (uW)	2,30	1,20	2,55	1,41	0,718

Ap Diast: pressão diastólica da artéria pulmonar

Ap Média: pressão média da artéria pulmonar

Ap Sist: pressão sistólica da artéria pulmonar

C. Idiopática: cardiopatia idiopática

CP: pressão do capilar pulmonar

GTP: gradiente transpulmonar

RVP: resistência vascular pulmonar

DPD: diferença pressórica diastólica

Tabela 23 – Comparação entre dados hemodinâmicos e gênero

DADOS HEMODYNÂMICOS	MASCULINO		FEMININO		P
	MÉDIA	DESVIO- PADRÃO	MÉDIA	DESVIO- PADRÃO	
Ap Sist (mmHg)	48	11,2	50,86	15,1	0,635
Ap Diast (mmHg)	26,54	7,68	25,14	6,69	0,691
Ap Média (mmHg)	35,23	8,12	35,29	9,66	0,989
CP (mmHg)	24,92	8,83	25	8,16	0,984
GTP (mmHg)	9,5	5,11	10,29	5,22	0,752
RVP (uW)	2,36	1,49	2,67	0,95	0,652

Ap Diast: pressão diastólica da artéria pulmonar

Ap Média: pressão média da artéria pulmonar

Ap Sist: pressão sistólica da artéria pulmonar

C. Idiopática: cardiopatia idiopática

CP: pressão do capilar pulmonar

GTP: gradiente transpulmonar

RVP: resistência vascular pulmonar

DPD: diferença pressórica diastólica

Tabela 24 - Valores descritivos das variáveis morfométricas, segundo o grupo de Tx.

Variável	Tx	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p
% Esp Art	Não	6	15,30	5,95	13,78	9,88	26,91	1,000
	Sim	14	14,89	5,33	14,63	7,74	24,73	
% Esp Veias	Não	6	45,04	11,14	43,80	26,75	57,86	0,312
	Sim	14	39,61	8,50	41,24	21,76	48,62	

(*) nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

% Esp Art: porcentagem de espessura da parede das artérias pulmonares

% Esp Veias: porcentagem de espessura da parede das veias pulmonares

Tabela 25 - Valores médios e de desvio-padrão na comparação de dados morfométricos entre gêneros

DADOS HEMODINÂMICOS	MASCULINO		FEMININO		p
	MÉDIA	DESVIO- PADRÃO	MÉDIA	DESVIO- PADRÃO	
% Esp Art	15,64	4,91	13,85	6,38	0,493
% Esp Veias	40,6	10,39	42,13	7,97	0,766

% Esp Art: porcentagem de espessura da parede das artérias pulmonares

% Esp Veias: porcentagem de espessura da parede das veias pulmonares

Tabela 26 - Média de marcação imuno-histoquímica nas artérias pulmonares

Caso	ET-1 End	ET-1 CM	ET-A End	ET-A CM	ET-B End	ET-B CM	PDE-5 End	PDE-5 CM
A 149-2	0,38	0,65	0,47	0,52	0,24	0,16	0,44	0,48
A 125-6	0,97	1	0,6	0,83	0,39	0,45	0,55	0,78
A 122-7	0,48	0,44	0,5	0,46	0,24	0,05	0,41	0,53
A 66-9	0,04	0,18	0,5	0,46	0,1	0,02	0,6	0,53
A 83-9	0,44	0,33	0,6	0,45	0,17	0,18	0,8	0,75
A 42-10	1,65	1,2	0,64	0,55	0,12	0,07	0,45	0,74
A 53-9	1,33	1,22	1	0,95	0,12	0,24	0,76	0,92
A 181-3	0,73	0,78	0,75	0,57	0,36	0,1	1	0,7
A 13-3	1,02	0,64	0,71	0,53	0,5	0,38	0,95	0,86
A 20-3	0,8	0,73	0,59	0,48	0,35	0,25	0,85	0,69
A 74-8	0,41	0,5	0,39	0,34	0,1	0,07	0,46	0,67
A 115-10	1,3	1,19	0,85	0,71	0,38	0,19	0,59	0,55
A 24-11	1,03	0,9	0,7	0,53	0,29	0,06	0,93	0,75
A 74-11	0,84	1	0,76	0,7	0,54	0,29	1,08	1,05
A 80-11	0,55	0,8	0,62	0,45	0,47	0,29	0,83	0,86

continua

Caso	conclusão							
	ET-1 End	ET-1 CM	ET-A End	ET-A CM	ET-B End	ET-B CM	PDE-5 End	PDE-5 CM
A 22-12	0,63	0,55	0,67	0,63	0,74	0,4	0,81	0,74
A 80-13	0,94	0,62	0,63	0,5	0,19	0,08	0,55	0,63
A 109-13	0,38	0,25	0,58	0,42	0,19	0,14	0,5	0,29
A 51-11	0,66	0,64	0,75	0,58	0,14	0,14	0,52	0,6
A 26-5	—	—	—	—	—	—	—	—
A 16-14	0,33	0,56	0,55	0,49	0,02	0,03	0,49	0,43

ET-A End: marcador do receptor A da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares; **ET-A CM:** marcador do receptor A da endotelina presente na camada muscular das artérias pulmonares; **ET-B End:** marcador do receptor B da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares; **ET-B CM:** marcador do receptor B da endotelina presente na camada média das artérias pulmonares; **ET-1 End:** marcador da endotelina 1 presente no endotélio das artérias pulmonares; **ET-1 CM:** marcador da endotelina 1 presente na camada média das artérias pulmonares; **PDE-5 End:** marcador da fosfodiesterases-5 presente no endotélio das artérias pulmonares; **PDE-5 CM:** marcador da fosfodiesterases-5 presente na camada média das artérias pulmonares; **ET-1 End:** marcador da endotelina 1 presente no endotélio das artérias pulmonares; **ET-1 CM:** marcador da endotelina 1 presente na camada média das artérias pulmonares.

Tabela 27 - Média de marcação imuno-histoquímica nas veias pulmonares

Caso	ET-1 Veias End	ET-1 Veias CM	ET-A Veias End	ET-A Veias CM	ET-B Veias End	ET-B Veias CM	PDE-5 Veias End	PDE-5 Veias CM
A 149-2	0,5	0,5	—	—	0	0,25	0,5	1
A 125-6	—	—	—	—	—	—	—	—
A 122-7	0,5	0,5	0,09	0,14	0	0	—	—
A 66-9	0	0	0,22	0,33	0,05	0	0,53	0,47
A 83-9	0,5	0	0,25	0,25	0,17	0,17	0,8	0,5
A 42-10	2	2	0,3	0	0,5	0,5	0	0,17
A 53-9	1,33	1,33	—	—	0,5	0,17	—	—
A 181-3	0,5	0,6	—	—	0	0	0,4	0,5
A 13-3	0,56	0,19	0,5	0,5	—	—	0,5	0,67
A 20-3	—	—	—	—	—	—	—	—
A 74-8	0,5	0,33	—	—	0	0	0,38	0,75
A 115-10	2	2	1	0,75	0,25	0	0,5	1
A 24-11	1,25	0,92	0,57	0,5	0,5	0	0,64	0,57
A 74-11	0,67	1	0,64	0,64	0,25	0,1	0,69	1,31
A 80-11	0,75	0,25	0,63	0,13	0,33	0,17	1	1

continua

Caso							conclusão	
	ET-1 Veias End	ET-1 Veias CM	ET-A Veias End	ET-A Veias CM	ET-B Veias End	ET-B Veias CM	PDE-5 Veias End	PDE-5 Veias CM
A 22-12	—	—	0,5	0,25	—	—	0,5	0,5
A 80-13	0,9	0,6	0,5	0,33	0,2	0	0,5	0,83
A 109-13	0	0,5	—	—	—	—	0,33	0
A 51-11	0,78	0,89	0,58	0,5	0,13	0	0,5	0,5
A 26-5	—	—	—	—	—	—	—	—
A 16-14	0,38	0,25	0,5	0,25	0	0	0,5	0,2

ET-A Veias End: marcador do receptor da endotelina A presente no endotélio das veias pulmonares; **ET-A Veias CM:** marcador do receptor da endotelina A presente na camada média das veias pulmonares; **ET-B Veias End:** marcador do receptor B da endotelina presente no endotélio das veias pulmonares; **ET-B Veias CM:** marcador do receptor B da endotelina presente na camada média das veias pulmonares; **ET-1 Veias CM:** marcador da endotelina 1 presente na camada média das veias pulmonares; **PDE-5 Veias End:** marcador da fosfodiesterases-5 presente no endotélio das veias pulmonares; **PDE-5 Veias CM:** marcador da fosfodiesterases-5 presente na camada média das veias pulmonares

Tabela 28 - Valores descritivos das variáveis imuno-histológicas, segundo o grupo de Hemangiomatose

Variável	Hemangiomatose	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p*
ET-1 End	Não	15	0,84	0,38	0,80	0,33	1,65	0,081
	Sim	5	0,46	0,33	0,44	0,04	0,97	
ET-1 CM	Não	15	0,77	0,28	0,73	0,25	1,22	0,142
	Sim	5	0,52	0,32	0,44	0,18	1,00	
ET-A End	Não	15	0,68	0,14	0,67	0,39	1,00	0,019
	Sim	5	0,53	0,06	0,50	0,47	0,60	
ET-A CM	Não	15	0,56	0,15	0,53	0,34	0,95	0,445
	Sim	5	0,54	0,16	0,46	0,45	0,83	
ET-B End	Não	15	0,30	0,20	0,29	0,02	0,74	0,612
	Sim	5	0,23	0,11	0,24	0,10	0,39	
ET-B CM	Não	15	0,18	0,12	0,14	0,03	0,40	0,672
	Sim	5	0,17	0,17	0,16	0,02	0,45	
PDE-5 End	Não	15	0,72	0,22	0,76	0,45	1,08	0,142
	Sim	5	0,56	0,16	0,55	0,41	0,80	
PDE-5 CM	Não	15	0,70	0,19	0,70	0,29	1,05	0,395
	Sim	5	0,61	0,14	0,53	0,48	0,78	
ET-1 Intra End	Não	15	0,80	0,37	0,75	0,31	1,56	0,081
	Sim	5	0,43	0,35	0,34	0,00	0,96	

continua

								continuação
Variável	Hemangiomatose	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p*
ET-1 Intra CM	Não	15	0,68	0,28	0,69	0,11	1,16	0,266
	Sim	5	0,52	0,32	0,43	0,20	1,00	
ET-A Intra End	Não	15	0,66	0,14	0,64	0,37	1,00	0,081
	Sim	5	0,53	0,16	0,45	0,42	0,81	
ET-A Intra CM	Não	15	0,54	0,15	0,50	0,33	0,94	0,672
	Sim	5	0,53	0,17	0,45	0,38	0,81	
ET-B Intra End	Não	15	0,29	0,21	0,26	0,02	0,74	0,612
	Sim	5	0,21	0,11	0,21	0,08	0,38	
ET-B Intra CM	Não	15	0,17	0,13	0,14	0,02	0,39	0,800
	Sim	5	0,16	0,17	0,11	0,03	0,45	
PDE-5 Intra End	Não	15	0,69	0,20	0,75	0,43	1,00	0,066
	Sim	5	0,48	0,10	0,50	0,35	0,59	
PDE-5 Intra CM	Não	15	0,64	0,18	0,64	0,28	1,05	0,497
	Sim	5	0,57	0,15	0,50	0,43	0,77	
ET-1 Pré End	Não	15	0,89	0,46	0,80	0,43	2,00	0,119
	Sim	5	0,51	0,34	0,50	0,06	1,00	
ET-1 Pré CM	Não	15	0,84	0,34	0,81	0,43	1,56	0,197
	Sim	5	0,55	0,32	0,54	0,11	1,00	
ET-A Pré End	Não	15	0,73	0,20	0,75	0,50	1,00	0,306
	Sim	5	0,85	0,10	0,80	0,75	1,00	
ET-A Pré CM	Não	15	0,63	0,17	0,58	0,38	1,00	0,672
	Sim	5	0,68	0,22	0,60	0,50	1,00	
ET-B Pré End	Não	14	0,36	0,23	0,50	0,00	0,75	0,687
	Sim	5	0,36	0,09	0,33	0,25	0,50	
ET-B Pré CM	Não	14	0,32	0,19	0,32	0,00	0,50	0,893
	Sim	5	0,30	0,22	0,33	0,00	0,50	
PDE-5 Pré End	Não	14	0,74	0,22	0,79	0,50	1,00	0,964
	Sim	5	0,71	0,17	0,64	0,60	1,00	
PDE-5 Pré CM	Não	14	0,90	0,29	0,88	0,50	1,50	0,964
	Sim	5	0,87	0,19	1,00	0,63	1,00	

continua

								continuação
Variável	Hemangiomatose	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p*
ET-1 com lesão End	Não	5	0,73	0,26	0,63	0,50	1,00	0,556
	Sim	4	0,52	0,44	0,50	0,00	1,07	
ET-1 com lesão CM	Não	5	0,90	0,22	1,00	0,50	1,00	0,286
	Sim	4	0,51	0,56	0,38	0,00	1,29	
ET-A com lesão End	Não	3	1,00	0,00	1,00	1,00	1,00	-
	Sim	3	0,87	0,13	0,86	0,75	1,00	
ET-A com lesão CM	Não	3	0,75	0,25	0,75	0,50	1,00	-
	Sim	3	0,69	0,27	0,57	0,50	1,00	
ET-B com lesão End	Não	3	0,52	0,03	0,50	0,50	0,55	-
	Sim	4	0,39	0,13	0,41	0,25	0,50	
ET-B com lesão CM	Não	3	0,50	0,00	0,50	0,50	0,50	-
	Sim	4	0,39	0,46	0,28	0,00	1,00	
PDE-5 com lesão End	Não	6	0,79	0,33	0,75	0,50	1,25	-
	Sim	2	0,50	0,00	0,50	0,50	0,50	
PDE-5 com lesão CM	Não	6	0,83	0,26	1,00	0,50	1,00	-
	Sim	2	0,84	0,23	0,84	0,67	1,00	
ET-1 sem lesão End	Não	15	0,83	0,39	0,80	0,33	1,67	0,119
	Sim	5	0,46	0,33	0,45	0,02	0,95	
ET-1 sem lesão CM	Não	15	0,75	0,31	0,73	0,26	1,25	0,142
	Sim	5	0,48	0,33	0,42	0,09	0,95	
ET-A sem lesão End	Não	15	0,66	0,14	0,66	0,39	1,00	0,081
	Sim	5	0,52	0,18	0,47	0,36	0,81	
ET-A sem lesão CM	Não	15	0,55	0,15	0,52	0,34	0,95	0,445
	Sim	5	0,51	0,18	0,43	0,37	0,81	
ET-B sem lesão End	Não	15	0,30	0,19	0,35	0,02	0,75	0,497
	Sim	5	0,21	0,11	0,20	0,07	0,38	
ET-B sem lesão CM	Não	15	0,17	0,11	0,14	0,03	0,40	0,672
	Sim	5	0,17	0,17	0,16	0,02	0,45	
PDE-5 sem lesão End	Não	15	0,66	0,19	0,58	0,40	0,92	0,349
	Sim	5	0,55	0,16	0,55	0,40	0,80	
PDE-5 sem lesão CM	Não	15	0,69	0,21	0,68	0,25	1,16	0,306
	Sim	5	0,60	0,13	0,52	0,50	0,78	
ET-1 Veias End	Não	13	0,89	0,60	0,75	0,00	2,00	0,060
	Sim	4	0,38	0,25	0,50	0,00	0,50	

continua

Variável	Hemangiomatose	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	conclusão	
								p*	
ET-1 Veias CM	Não	13	0,84	0,62	0,60	0,19	2,00	0,060	
	Sim	4	0,25	0,29	0,25	0,00	0,50		
ET-A Veias End	Não	10	0,57	0,18	0,54	0,30	1,00	0,007	
	Sim	3	0,19	0,09	0,22	0,09	0,25		
ET-A Veias CM	Não	10	0,39	0,23	0,42	0,00	0,75	0,371	
	Sim	3	0,24	0,10	0,25	0,14	0,33		
ET-B Veias End	Não	11	0,24	0,20	0,25	0,00	0,50	0,138	
	Sim	4	0,06	0,08	0,03	0,00	0,17		
ET-B Veias CM	Não	11	0,09	0,15	0,00	0,00	0,50	0,661	
	Sim	4	0,11	0,13	0,09	0,00	0,25		
PDE-5 Veias End	Não	13	0,50	0,23	0,50	0,00	1,00	0,239	
	Sim	3	0,61	0,17	0,53	0,50	0,80		
PDE-5 Veias CM	Não	13	0,62	0,37	0,57	0,00	1,31	0,900	
	Sim	3	0,66	0,30	0,50	0,47	1,00		

(*) nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

Tabela 29 - Valores descritivos das variáveis imuno-histoquímicas, segundo o grupo de Chagas

Variável	Chagas	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p*
ET-1 End	Não	13	0,79	0,43	0,80	0,04	1,65	0,485
	Sim	7	0,67	0,36	0,55	0,38	1,30	
ET-1 CM	Não	13	0,73	0,32	0,73	0,18	1,22	0,757
	Sim	7	0,67	0,29	0,64	0,25	1,19	
ET-A End	Não	13	0,65	0,13	0,63	0,50	1,00	0,757
	Sim	7	0,62	0,16	0,62	0,39	0,85	
ET-A CM	Não	13	0,58	0,16	0,53	0,45	0,95	0,351
	Sim	7	0,51	0,12	0,52	0,34	0,71	
ET-B End	Não	13	0,28	0,20	0,24	0,02	0,74	0,757
	Sim	7	0,29	0,16	0,24	0,10	0,50	
ET-B CM	Não	13	0,17	0,14	0,10	0,02	0,45	0,485
	Sim	7	0,20	0,11	0,16	0,07	0,38	
PDE-5 End	Não	13	0,71	0,22	0,76	0,41	1,08	0,393
	Sim	7	0,61	0,20	0,52	0,44	0,95	

continua

								continuação
Variável	Chagas	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p*
PDE-5 CM	Não	13	0,71	0,16	0,74	0,43	1,05	0,351
	Sim	7	0,62	0,20	0,60	0,29	0,86	
ET-1 Intra End	Não	13	0,75	0,43	0,75	0,00	1,56	0,438
	Sim	7	0,62	0,33	0,63	0,33	1,24	
ET-1 Intra CM	Não	13	0,65	0,29	0,69	0,20	1,00	0,699
	Sim	7	0,61	0,32	0,59	0,11	1,16	
ET-A Intra End	Não	13	0,65	0,15	0,64	0,44	1,00	0,588
	Sim	7	0,60	0,16	0,63	0,37	0,83	
ET-A Intra CM	Não	13	0,56	0,17	0,50	0,38	0,94	0,588
	Sim	7	0,50	0,11	0,50	0,33	0,67	
ET-B Intra End	Não	13	0,27	0,21	0,24	0,02	0,74	0,817
	Sim	7	0,28	0,17	0,21	0,08	0,50	
ET-B Intra CM	Não	13	0,16	0,15	0,08	0,02	0,45	0,536
	Sim	7	0,18	0,11	0,14	0,04	0,38	
PDE-5 Intra End	Não	13	0,66	0,20	0,59	0,35	1,00	0,536
	Sim	7	0,60	0,20	0,53	0,40	0,97	
PDE-5 Intra CM	Não	13	0,67	0,18	0,66	0,40	1,05	0,157
	Sim	7	0,54	0,14	0,58	0,28	0,68	
ET-1 Pré End	Não	13	0,80	0,40	0,80	0,06	1,63	0,438
	Sim	7	0,78	0,57	0,50	0,43	2,00	
ET-1 Pré CM	Não	13	0,79	0,41	0,70	0,11	1,56	0,877
	Sim	7	0,73	0,23	0,75	0,43	1,00	
ET-A Pré End	Não	13	0,77	0,19	0,79	0,50	1,00	0,757
	Sim	7	0,75	0,19	0,79	0,50	1,00	
ET-A Pré CM	Não	13	0,67	0,19	0,58	0,50	1,00	0,536
	Sim	7	0,60	0,17	0,60	0,38	0,90	
ET-B Pré End	Não	12	0,32	0,24	0,36	0,00	0,75	0,261
	Sim	7	0,43	0,12	0,50	0,20	0,50	
ET-B Pré CM	Não	12	0,28	0,21	0,25	0,00	0,50	0,432
	Sim	7	0,37	0,14	0,38	0,17	0,50	
PDE-5 Pré End	Não	12	0,76	0,19	0,75	0,50	1,00	0,432
	Sim	7	0,69	0,23	0,60	0,50	1,00	

continua

continuação

Variável	Chagas	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p*
PDE-5 Pré CM	Não	12	0,97	0,18	1,00	0,63	1,33	0,028
	Sim	7	0,76	0,34	0,70	0,50	1,50	
ET-1 com lesão End	Não	7	0,60	0,36	0,50	0,00	1,07	-
	Sim	2	0,75	0,35	0,75	0,50	1,00	
ET-1 com lesão CM	Não	7	0,65	0,46	0,50	0,00	1,29	-
	Sim	2	1,00	0,00	1,00	1,00	1,00	
ET-A com lesão End	Não	4	0,90	0,12	0,93	0,75	1,00	-
	Sim	2	1,00	0,00	1,00	1,00	1,00	
ET-A com lesão CM	Não	4	0,77	0,27	0,79	0,50	1,00	-
	Sim	2	0,63	0,18	0,63	0,50	0,75	
ET-B com lesão End	Não	5	0,41	0,12	0,50	0,25	0,50	-
	Sim	2	0,53	0,04	0,53	0,50	0,55	
ET-B com lesão CM	Não	5	0,41	0,40	0,50	0,00	1,00	-
	Sim	2	0,50	0,00	0,50	0,50	0,50	
PDE-5 com lesão End	Não	5	0,70	0,27	0,50	0,50	1,00	-
	Sim	3	0,75	0,43	0,50	0,50	1,25	
PDE-5 com lesão CM	Não	5	0,93	0,15	1,00	0,67	1,00	-
	Sim	3	0,67	0,29	0,50	0,50	1,00	
ET-1 sem lesão End	Não	13	0,78	0,44	0,80	0,02	1,67	0,438
	Sim	7	0,66	0,34	0,57	0,35	1,30	
ET-1 sem lesão CM	Não	13	0,70	0,36	0,73	0,09	1,25	0,699
	Sim	7	0,64	0,29	0,63	0,26	1,19	
ET-A sem lesão End	Não	13	0,64	0,16	0,61	0,36	1,00	0,877
	Sim	7	0,61	0,16	0,62	0,39	0,87	
ET-A sem lesão CM	Não	13	0,56	0,17	0,49	0,37	0,95	0,536
	Sim	7	0,50	0,12	0,52	0,34	0,71	
ET-B sem lesão End	Não	13	0,28	0,20	0,20	0,02	0,75	0,757
	Sim	7	0,28	0,16	0,22	0,09	0,49	
ET-B sem lesão CM	Não	13	0,16	0,14	0,10	0,02	0,45	0,438
	Sim	7	0,18	0,09	0,17	0,06	0,34	
PDE-5 sem lesão End	Não	13	0,68	0,19	0,78	0,40	0,92	0,211
	Sim	7	0,55	0,15	0,52	0,44	0,87	

continua

Variável	Chagas	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	conclusão
								p*
PDE-5 sem lesão CM	Não	13	0,70	0,19	0,68	0,40	1,16	0,485
	Sim	7	0,60	0,19	0,58	0,25	0,80	
ET-1 Veias End	Não	10	0,80	0,58	0,59	0,00	2,00	0,962
	Sim	7	0,73	0,62	0,56	0,00	2,00	
ET-1 Veias CM	Não	10	0,72	0,62	0,60	0,00	2,00	0,669
	Sim	7	0,67	0,63	0,50	0,19	2,00	
ET-A Veias End	Não	9	0,40	0,19	0,50	0,09	0,64	0,050
	Sim	4	0,68	0,22	0,61	0,50	1,00	
ET-A Veias CM	Não	9	0,30	0,19	0,25	0,00	0,64	0,330
	Sim	4	0,47	0,26	0,50	0,13	0,75	
ET-B Veias End	Não	10	0,22	0,21	0,19	0,00	0,50	0,594
	Sim	5	0,14	0,15	0,13	0,00	0,33	
ET-B Veias CM	Não	10	0,09	0,16	0,00	0,00	0,50	0,953
	Sim	5	0,08	0,12	0,00	0,00	0,25	
PDE-5 Veias End	Não	9	0,51	0,23	0,50	0,00	0,80	0,536
	Sim	7	0,53	0,22	0,50	0,33	1,00	
PDE-5 Veias CM	Não	9	0,56	0,34	0,50	0,17	1,31	0,252
	Sim	7	0,70	0,37	0,75	0,00	1,00	

(*) nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

Tabela 30 - Valores descritivos das variáveis imuno-histoquímica, segundo o grupo de Tx

Variável	Tx	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p
ET-1 End	Não	6	0,78	0,47	0,59	0,38	1,65	0,968
	Sim	14	0,73	0,38	0,77	0,04	1,33	
ET-1 CM	Não	6	0,77	0,29	0,73	0,44	1,20	0,547
	Sim	14	0,68	0,32	0,64	0,18	1,22	
ET-A End	Não	6	0,58	0,08	0,61	0,47	0,67	0,274
	Sim	14	0,67	0,15	0,67	0,39	1,00	
ET-A CM	Não	6	0,57	0,14	0,54	0,45	0,83	0,779
	Sim	14	0,55	0,15	0,52	0,34	0,95	
ET-B End	Não	6	0,37	0,22	0,32	0,12	0,74	0,207
	Sim	14	0,25	0,16	0,19	0,02	0,54	

continua

								continuação
Variável	Tx	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p
ET-B CM	Não	6	0,24	0,17	0,23	0,05	0,45	0,353
	Sim	14	0,16	0,11	0,14	0,02	0,38	
PDE-5 End	Não	6	0,58	0,19	0,50	0,41	0,83	0,109
	Sim	14	0,72	0,21	0,68	0,46	1,08	
PDE-5 CM	Não	6	0,69	0,15	0,74	0,48	0,86	0,841
	Sim	14	0,67	0,20	0,68	0,29	1,05	
ET-1 Intra End	Não	6	0,76	0,44	0,62	0,33	1,56	0,968
	Sim	14	0,68	0,38	0,74	0,00	1,38	
ET-1 Intra CM	Não	6	0,73	0,22	0,73	0,43	1,00	0,397
	Sim	14	0,60	0,32	0,55	0,11	1,16	
ET-A Intra End	Não	6	0,60	0,15	0,61	0,42	0,81	0,547
	Sim	14	0,65	0,16	0,64	0,37	1,00	
ET-A Intra CM	Não	6	0,57	0,14	0,54	0,45	0,81	0,444
	Sim	14	0,53	0,16	0,50	0,33	0,94	
ET-B Intra End	Não	6	0,35	0,24	0,31	0,06	0,74	0,353
	Sim	14	0,24	0,16	0,20	0,02	0,54	
ET-B Intra CM	Não	6	0,22	0,18	0,19	0,05	0,45	0,353
	Sim	14	0,14	0,11	0,14	0,02	0,38	
PDE-5 Intra End	Não	6	0,55	0,20	0,49	0,35	0,80	0,179
	Sim	14	0,67	0,20	0,58	0,45	1,00	
PDE-5 Intra CM	Não	6	0,61	0,14	0,65	0,43	0,77	0,968
	Sim	14	0,63	0,19	0,62	0,28	1,05	
ET-1 Pré End	Não	6	0,80	0,47	0,65	0,40	1,63	0,718
	Sim	14	0,80	0,47	0,66	0,06	2,00	
ET-1 Pré CM	Não	6	0,85	0,39	0,71	0,50	1,56	0,602
	Sim	14	0,73	0,34	0,73	0,11	1,50	
ET-A Pré End	Não	6	0,74	0,20	0,80	0,50	1,00	0,841
	Sim	14	0,77	0,18	0,77	0,50	1,00	
ET-A Pré CM	Não	6	0,64	0,20	0,55	0,50	1,00	0,904
	Sim	14	0,65	0,18	0,59	0,38	1,00	
ET-B Pré End	Não	6	0,49	0,15	0,50	0,33	0,75	0,127
	Sim	13	0,31	0,20	0,38	0,00	0,50	

continua

								continuação
Variável	Tx	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p
ET-B Pré CM	Não	6	0,36	0,13	0,36	0,17	0,50	0,639
	Sim	13	0,29	0,22	0,25	0,00	0,50	
PDE-5 Pré End	Não	6	0,72	0,19	0,66	0,50	1,00	0,966
	Sim	13	0,74	0,21	0,75	0,50	1,00	
PDE-5 Pré CM	Não	6	1,01	0,27	1,00	0,70	1,50	0,244
	Sim	13	0,84	0,25	0,75	0,50	1,33	
ET-1 com lesão End	Não	3	0,73	0,30	0,63	0,50	1,07	-
	Sim	6	0,58	0,38	0,50	0,00	1,00	
ET-1 com lesão CM	Não	3	0,76	0,46	0,50	0,50	1,29	-
	Sim	6	0,71	0,46	1,00	0,00	1,00	
ET-A com lesão End	Não	3	0,95	0,08	1,00	0,86	1,00	-
	Sim	3	0,92	0,14	1,00	0,75	1,00	
ET-A com lesão CM	Não	3	0,86	0,25	1,00	0,57	1,00	-
	Sim	3	0,58	0,14	0,50	0,50	0,75	
ET-B com lesão End	Não	3	0,44	0,11	0,50	0,31	0,50	-
	Sim	4	0,45	0,14	0,50	0,25	0,55	
ET-B com lesão CM	Não	3	0,35	0,25	0,50	0,06	0,50	-
	Sim	4	0,50	0,41	0,50	0,00	1,00	
PDE-5 com lesão End	Não	3	0,67	0,29	0,50	0,50	1,00	-
	Sim	5	0,75	0,35	0,50	0,50	1,25	
PDE-5 com lesão CM	Não	3	0,89	0,19	1,00	0,67	1,00	-
	Sim	5	0,80	0,27	1,00	0,50	1,00	
ET-1 sem lesão End	Não	6	0,78	0,48	0,60	0,39	1,67	0,968
	Sim	14	0,72	0,38	0,75	0,02	1,34	
ET-1 sem lesão CM	Não	6	0,75	0,28	0,69	0,42	1,20	0,494
	Sim	14	0,65	0,35	0,66	0,09	1,25	
ET-A sem lesão End	Não	6	0,59	0,16	0,61	0,36	0,81	0,547
	Sim	14	0,64	0,16	0,64	0,39	1,00	
ET-A sem lesão CM	Não	6	0,53	0,16	0,51	0,37	0,81	1,000
	Sim	14	0,54	0,15	0,50	0,34	0,95	
ET-B sem lesão End	Não	6	0,36	0,23	0,30	0,13	0,75	0,239
	Sim	14	0,24	0,15	0,20	0,02	0,49	

continua

								conclusão
Variável	Tx	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p
ET-B sem lesão CM	Não	6	0,24	0,17	0,22	0,04	0,45	0,239
	Sim	14	0,14	0,10	0,13	0,02	0,34	
PDE-5 sem lesão End	Não	6	0,57	0,20	0,50	0,40	0,87	0,239
	Sim	14	0,66	0,18	0,58	0,44	0,92	
PDE-5 sem lesão CM	Não	6	0,67	0,13	0,70	0,50	0,80	0,841
	Sim	14	0,67	0,22	0,68	0,25	1,16	
ET-1 Veias End	Não	4	0,94	0,72	0,63	0,50	2,00	0,703
	Sim	13	0,72	0,55	0,56	0,00	2,00	
ET-1 Veias CM	Não	4	0,81	0,80	0,50	0,25	2,00	0,956
	Sim	13	0,66	0,57	0,60	0,00	2,00	
ET-A Veias End	Não	4	0,38	0,24	0,40	0,09	0,63	0,414
	Sim	9	0,53	0,23	0,50	0,22	1,00	
ET-A Veias CM	Não	4	0,13	0,10	0,14	0,00	0,25	0,006
	Sim	9	0,45	0,17	0,50	0,25	0,75	
ET-B Veias End	Não	4	0,21	0,25	0,17	0,00	0,50	1,000
	Sim	11	0,19	0,18	0,17	0,00	0,50	
ET-B Veias CM	Não	4	0,23	0,21	0,21	0,00	0,50	0,078
	Sim	11	0,04	0,07	0,00	0,00	0,17	
PDE-5 Veias End	Não	4	0,50	0,41	0,50	0,00	1,00	0,953
	Sim	12	0,52	0,13	0,50	0,33	0,80	
PDE-5 Veias CM	Não	4	0,67	0,41	0,75	0,17	1,00	0,770
	Sim	12	0,61	0,35	0,54	0,00	1,31	

(*) nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

ET-A End: marcador do receptor A da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares; **ET-A CM:** marcador do receptor A da endotelina presente na camada muscular das artérias pulmonares; **ET-A intra End:** marcador do receptor A da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares intra-acinares; **ET-A intra CM:** marcador do receptor A da endotelina presente na camada média das artérias pulmonares intra-acinares; **ET-A pré End:** marcador do receptor A da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares pré-acinares; **ET-A pré CM:** marcador do receptor A da endotelina presente na camada média das artérias pulmonares pré-acinares; **ET-A com lesão End:** marcador do receptor A da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares que apresentam lesão intimal; **ET-A com lesão CM:** marcador do receptor A da endotelina presente na camada média das artérias pulmonares que apresentam lesão intimal; **ET-A sem lesão End:** marcador do receptor A da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares que não apresentam lesão intimal; **ET-A sem lesão CM:** marcador do receptor A da endotelina presente na camada média das artérias pulmonares que não apresentam lesão intimal; **ET-A Veias End:** marcador do receptor da endotelina A presente no endotélio das veias pulmonares; **ET-A Veias CM:** marcador do receptor da endotelina A presente na camada média das veias pulmonares; **ET-B End:** marcador do receptor B da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares; **ET-B CM:** marcador do receptor B da endotelina presente na camada média das artérias pulmonares; **ET-B intra End:** marcador do receptor B da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares intra-acinares; **ET-B intra CM:** marcador do receptor B da endotelina presente na camada média das artérias pulmonares intra-acinares; **ET-B pré End:** marcador do receptor B

da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares pré-acinares; **ET-B pré CM:** marcador do receptor B da endotelina presente na camada média das artérias pulmonares pré-acinares; **ET-B com lesão End:** marcador do receptor B da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares com lesão intimal; **ET-B com lesão CM:** marcador do receptor B da endotelina presente na camada média das artérias pulmonares com lesão intimal; **ET-B sem lesão End:** marcador do receptor B da endotelina presente no endotélio das artérias pulmonares sem lesão intimal; **ET-B sem lesão CM:** marcador do receptor B da endotelina presente na camada média das artérias pulmonares; **ET-B Veias End:** marcador do receptor B da endotelina presente no endotélio das veias pulmonares; **ET-B Veias CM:** marcador do receptor B da endotelina presente na camada média das veias pulmonares; **ET-1 End:** marcador da endotelina 1 presente no endotélio das artérias pulmonares; **ET-1 CM:** marcador da endotelina 1 presente na camada média das artérias pulmonares; **ET-1 intra End:** marcador da endotelina 1 presente no endotélio das artérias pulmonares intra-acinares; ; **ET-1 intra CM:** marcador da endotelina 1 presente na camada média das artérias pulmonares intra-acinares; ; **ET-1 pré End:** marcador da endotelina 1 presente no endotélio das artérias pulmonares pré-acinares; ; **ET-1 pré CM:** marcador da endotelina 1 presente na camada média das artérias pulmonares intra-acinares; ; **ET-1 com lesão End:** marcador da endotelina 1 presente no endotélio das artérias pulmonares com lesão intimal; **ET-1 com lesão CM:** marcador da endotelina 1 presente na camada média das artérias pulmonares com lesão intimal; **ET-1 sem lesão End:** marcador da endotelina 1 presente no endotélio das artérias pulmonares sem lesão intimal; **ET-1 sem lesão CM:** marcador da endotelina 1 presente na camada média das artérias pulmonares sem lesão intimal; **ET-1 Veias End:** marcador da endotelina 1 presente no endotélio das veias pulmonares; **ET-1 Veias CM:** marcador da endotelina 1 presente na camada média das veias pulmonares; **PDE-5 End:** marcador da fosfodiesterases-5 presente no endotélio das artérias pulmonares; **PDE-5 CM:** marcador da fosfodiesterases-5 presente na camada média das artérias pulmonares; **PDE-5 intra End:** marcador da fosfodiesterases-5 presente no endotélio das artérias pulmonares intra-acinares; **PDE-5 CM:** marcador da fosfodiesterases-5 presente na camada média das artérias pulmonares intra-acinares; **PDE-5 pré End:** marcador da fosfodiesterases-5 presente no endotélio das artérias pulmonares pré-acinares; **PDE-5 CM:** marcador da fosfodiesterases-5 presente na camada média das artérias pulmonares pré-acinares; **PDE-5 com lesão End:** marcador da fosfodiesterases-5 presente no endotélio das artérias pulmonares com lesão intimal; **PDE-5 com lesão CM:** marcador da fosfodiesterases-5 presente na camada média das artérias pulmonares com lesão intimal; **PDE-5 sem lesão End:** marcador da fosfodiesterases-5 presente no endotélio das artérias pulmonares sem lesão intimal; **PDE-5 sem lesão CM:** marcador da fosfodiesterases-5 presente na camada média das artérias pulmonares sem lesão intimal; **PDE-5 Veias End:** marcador da fosfodiesterases-5 presente no endotélio das veias pulmonares; **PDE-5 Veias CM:** marcador da fosfodiesterases-5 presente na camada média das veias pulmonares

10 REFERÊNCIAS

10 REFERÊNCIAS

Abbas AK, Kumar V, Fausto N. *Robbins & Cotran. Bases patológicas das doenças*. 7ª edição. Elsevier; 2005.

Abman SH, Accurso FJ. Sustained fetal pulmonary vasodilation with prolonged atrial natriuretic factor and GMP infusions. *Am. J. Physiol.* 1961;260(*Heart Circ. Physiol.* 29):H183-H192.

Addonizio LJ, Gersony WM, Robbins RC, Drusin RE, Smith CR, Reison DS, *et al.* Elevated pulmonary vascular resistance and cardiac transplantation. *Circulation.* 1987;76:52-5.

Aiello VD, Thomaz AM, Pozzan G, Lopes AA. Capillary hemangiomatosis like-lesions in lung biopsies from children with congenital heart defects. *Pediatr Pulmonol.* 2014 Mar;49(3):E82-5.

Al-Hiti H, Melenovsky V, Syrovatka P, Kettner J, Málek I, Kautzner J. Sildenafil is more selective pulmonary vasodilator than prostaglandin E1 in patients with pulmonary hypertension due to heart failure. *Physiol Res.* 2011;60(2):303-8.

Anand I, McMurray J, Cohn JN, Konstam MA, Notter T, Quitzau K, *et al.* Long-term effects of darusentan on left-ventricular remodelling and clinical outcomes in the Endothelin A Receptor Antagonist Trial in Heart Failure (EARTH): randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2004;364:347-54.

Bacal F, Souza-Neto JD, Fiorelli AI, Mejia J, Marcondes-Braga FG, Mangini S, *et al.* II Diretriz Brasileira de Transplante Cardíaco. *Arq Bras Cardiol.* 2010;94(1 supl.1):e16-e73.

Bashey RI, Millan A, Jimenez SA. Increased biosynthesis of glycosaminoglycans by scleroderma fibroblasts in culture. *Arthritis Rheum Dis.* 1984;27:1040-5.

Bathia SJS, Kirshenbaum JM, Shemin RJ, Cohn LH, Collins JJ, Di Sesa VJ, *et al.* Time course of resolution of pulmonary hypertension and right ventricular remodeling after orthotopic cardiac transplantation. *Circulation.* 1987;76(4):819-26.

Bauer M, Wilkens H, Langer F, Schneider SO, Lausberg H, Schäfers HJ. Selective upregulation of endothelin B receptor gene expression in severe pulmonary hypertension. *Circulation.* 2002;105:1034-6.

Belloni AS, Rossi GP, Andreis PG, Neri G, Albertin G, Pessina AC, *et al.* Endothelin adrenocortical secretagogue effect is mediated by the B receptor in rats. *Hypertension*. 1996;27:1153-9.

Black SM, Sanchez LS, Mata-Greenwood E, Bekker JM, Steinhorn RH, Fineman JR. sGC and PDE-5 are elevated in lambs with increased pulmonary blood flow and pulmonary hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2001;281:L1051-7.

Bogaard HJ, Abe K, Vonk Noordegraaf A, Voelkel NF. The right ventricle under pressure: cellular and molecular mechanisms of right-heart failure in pulmonary hypertension. *Chest*. 2009 Mar;135(3):794-804. Review.

Bourge RC, Kirklin JK, Naftel DC, White C, Mason DA, Epstein AE. Analysis and predictors of pulmonary vascular resistance after cardiac transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1991;101:432-44.

Bristow MR, Zisman LS, Lowes BD, Abraham WT, Badesch DB, Groves BM, *et al.* The pressure-overloaded right ventricle in pulmonary hypertension. *Chest*. 1998 Jul;114(1 Suppl):101S-106S. Review.

Butler J, Stankewicz M, Wu J, Chomsky D, Howser R, Khadim G, *et al.* Pre-transplant reversible pulmonary hypertension predicts higher risk for mortality after cardiac transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2005;24(2):170-7.

Cambrey AD, Harrison NK, Dawes KE, Southcott AM, Black CM, du Bois RM, *et al.* Increased levels of endothelin-1 in bronchoalveolar fluid from patients with systemic sclerosis contribute to fibroblast mitogenic activity in vitro. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1994;11:439-45.

Chang P, Longenecker J, Wang N, Baughman K, Conte J, Hare J, *et al.* Mild vs severe pulmonary hypertension before heart transplant: different effect posttransplantation pulmonary hypertension and mortality. *J Heart Lung Transplant*. 2005;24(8):998-1007.

Chin KM, Rubin LJ. Hipertensão arterial pulmonar. *JACC*. 2008;51(16):1-15

Clavell AL, Mattingly MT, Stevens TL, Nir A, Wright S, Aarhus LL, *et al.* Angiotensin converting enzyme inhibition modulates endogenous endothelin in chronic canine thoracic inferior vena caval constriction. *J Clin Invest*. 1996;97:12860-1292.

Clozel M, Loffler BM, Breu V, Hilfiker L, Maire JP, Butscha B. Downregulation of endothelin receptors by autocrine production of endothelin-1. *Am J Physiol*. 1993;265(1 Pt 1):C188-92.

Cody RJ, Haas GJ, Plasma endothelin correlates with the extent of pulmonary hypertension in patients with chronic congestive heart failure. *Circulation*. 1992;85:504-9.

Davie N, Haleen SJ, Upton PD, Polak JM, Yacoub MH, Morrell NW, *et al*. ET(A) and ET(B) receptors modulate the proliferation of human artery smooth muscle cells. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165:398-405.

Delgado JF, Conde E, Sánchez V, Pulmonary vascular remodeling in pulmonary hypertension due to chronic heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2005;10:11-6.

Delgado JF, Gómez-Sánchez MA, Calzada AG. Impact of mild pulmonary hypertension on mortality and pulmonary artery pressure profile after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2001;20:942-8.

Egito STE, Aiello VD, Bosisio IBJ. Vascular remodeling process in reversibility of pulmonary arterial hypertension secondary to congenital heart disease. *Pathol. Res Pract*. 2003;199:521-32.

Félétou M. The Endothelium: Part 1: Multiple functions of the endothelial cells - focus on endothelium-derived vasoactive mediators. San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences; 2011. Chapter 1, Introduction.

Filep JG, Fournier A, Foldes-Filep E. Acute pro-inflammatory actions of endothelin-1 in the guinea-pig lung: involvement of ET-A and ET-B receptors. *Br Pharmacol*. 1995;115:227-36.

Forfia PR, Lee M, Tunin RS, Mahmud M, Acute phosphodiesterase 5 inhibition mimics hemodynamic effects of B-type natriuretic peptide and potentiates b-type natriuretic peptide effects in failing but not normal canine heart. *JACC*. 2007;49:10.

Freitas Jr AF, Bacal F, Oliveira JL, Santos RHB, Moreira LFP, Silva CP, *et al*. Impacto do sildenafil sublingual na hipertensão pulmonar de pacientes com insuficiência cardíaca. *Arq Bras Cardiol*. 2009;92(2):122-6.

Gao Y, Raj JU. Role of veins in regulation of pulmonary circulation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2005 Feb;288(2):L213-26. Review.

Gelape CL, Nunes MC, Bráulio R, Nogueira PH, Andrade SA, Machado PA, *et al*. Pulmonary pressure checked by echocardiography in chagasic patients on the heart transplant waiting list. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2011 Jan-Mar;26(1):54-60.

Gerges C, Mario Gerges M, Lang MB. Diastolic pulmonary vascular pressure gradient. *CHEST*. 2013;143(3):758-66.

Giaid A, Michel RP, Stewart DJ, Sheppard M, Corrin B, Hamid Q. Expression of endothelin-1 in lungs of patients with cryptogenic fibrosing alveolitis. *Lancet*. 1993;341:1550-4.

Giaid A, Saleh D. Reduced expression of endothelial nitric oxide synthase in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med*. 1995;333:214-21.

Greenberg ML, Uretsky BF, Reddy S, Bernstein RL, Griffith BP, Hardesty RL, et al. Long-term hemodynamic follow-up of cardiac transplant patients treated with cyclosporine and prednisone. *Circulation*. 1985;71(3):487-94.

Guazzi M, Arena R. Pulmonary hypertension with left-sided heart disease. *Nat Rev Cardiol*. 2010 Nov; 7(11):648-59.

Guazzi M. Sildenafil and phosphodiesterase-5 inhibitors for heart failure. *Curr Heart Fail Rep*. 2008;5:110e4.

Guglin M, Khan H. Pulmonary hypertension in heart failure. *J Cardiac Fail*. 2010;16(6):461-74.

Guimarães IJ, Lopes AA. *Diagnóstico, avaliação e terapêutica da hipertensão pulmonar*. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2005. Disponível em: www.cardiol.br.

Guyton AC, Hall JE. Circulação pulmonar, edema pulmonar, líquido pleural, In: *Tratado de fisiologia médica*. 11ª ed. Elsevier; 2006.

Hall SM, Davie N, Klein N, Haworth SG. Endothelin receptor expression in idiopathic pulmonary arterial hypertension: effect of bosentan and epoprostenol treatment. *Eur Respir J*. 2011;38:851-60.

Hanson KA, Ziegler JW, Rybalkin SD, Miller JW, Abman SH, Clarke WR. Chronic pulmonary hypertension increases fetal lung cGMP phosphodiesterase activity. *Am J Physiol*. 1998;275:L931-41.

Hasleton PS, Brooks NH. Severe pulmonary vascular change in patients dying with right ventricular failure after heart transplantation. *Thorax*. 1995;50:210-2.

Hoeper MM, Barberà JA, Channick RN, Diagnosis, assessment, and treatment of non-pulmonary arterial hypertension pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54:S85–96.

Hoffmann J, Yin J, Kukucka M, Yin N, Saarikko I, Sterner-Kock A, et al. Endothelin-1 induces hypertrophy with enhanced expression of muscle-specific genes in cultured neonatal rat cardiomyocytes. *Circ Res*. 1991;69:209-15.

Jabbour A, Keogh A, Hayward C, Macdonald P. Chronic sildenafil lowers transpulmonary gradient and improves cardiac output allowing successful heart transplantation. *Eur J Heart Fail.* 2007;9:674-7.

Jing X, Yokoi T, Nakamura Y, Nakamura M, Shan L, Tomimoto S, *et al.* Pulmonary capillary hemangiomatosis. A unique feature of congestive vasculopathy associated with hypertrophic cardiomyopathy. *Arch Pathol Lab Med.* 1998;122:94-6.

Kahaleh MB. Endothelin, an endothelin-dependent vasoconstrictor in scleroderma. Enhanced production and profibrotic action. *Arthritis Rheum.* 1991;34:978-83.

Kakoki M, Hirata Y, Hayakawa H, Tojo A, Nagata D, Suzuki E, *et al.* Effects of hypertension, diabetes mellitus and hypercholesterolemia on endothelin type B receptor-mediated nitric oxide release from rat kidney. *Circulation.* 1999;99:1242-8.

Kalra PR, Moon JC, Coats AJ. Do results of the ENABLE (Endothelin Antagonist Bosentan for Lowering Cardiac Events in Heart Failure) study spell the end for non-selective endothelin antagonism in heart failure? *Int J Cardiol.* 2002;85:195e7.

Kaluski E, Cotter G, Leitman M, Condiff R, Elliot CA, O'Toole L, *et al.* Clinical and hemodynamic effects of bosentan dose optimization in symptomatic heart failure patients with severe systolic dysfunction, associated with secondary pulmonary hypertension: a multi center randomized study. *Cardiology.* 2008;109:273e80.

Launay JM, Hervé P, Peoc'h K, Tournois C, Callebert J, Nebigil CG, *et al.* Function of the serotonin 5-hydroxytryptamine 2B receptor in pulmonary hypertension. *Nat Med.* 2002;8:1129-35.

Leong-Poi H, Kuppe H, Schermuly RT, Kuebler WM. Mast cells promote lung vascular remodeling in pulmonary hypertension. *Eur Respir J.* 2011 Jun;37(6):1400-10.

Lewis GD, Lachmann J, Camuso J, Lepore JJ, Shin J, Martinovic ME, *et al.* Sildenafil improves exercise hemodynamics and oxygen uptake in patients with systolic heart failure. *Circulation.* 2007;115:59e66.

Lewis GD, Shah R, Shahzad K, Camuso JM, Pappagianopoulos PP, Hung J, *et al.* Sildenafil improves exercise capacity and quality of life in patients with systolic heart failure and secondary pulmonary hypertension. *Circulation.* 2007;116:1555-62.

Lopes AA, Barreto AC, Franchi SM, Pereira AC. Hipertensão arterial pulmonar. fisiopatologia, aspectos genéticos e resposta ao uso crônico do sildenafil. *Arq Bras Cardiol.* 2005;85(2):147-54.

Luscher TF, Enseleit F, Pacher R, Mitrovic V, Schulze MR, Willenbrock R, et al. Hemodynamic and neurohumoral effects of selective endothelin A (ET(A)) receptor blockade in chronic heart failure: The Heart Failure ET(A) Receptor Blockade Trial (HEAT). *Circulation.* 2002;106:2666e72.

McCulloch KM, Docherty CC, Morecroft I, MacLean MR. Endothelin B receptor-mediated contraction in human pulmonary resistance arteries. *Br J Pharmacol.* 1996;119:1125-30.

McLaughlin VV, Archer SL, Badesch DB, Barst RJ, Farber HW, Lindner JR, ACCF/AHA 2009 Expert Consensus Document on Pulmonary Hypertension. *JACC.* 2009;53(17):2573-619.

Miller PJ. An elastin stain. *Med Lab Tech.* 1971;28:148-9.

Moritani S, Ichihara S, Seki Y, Kataoka M, Yokoi T. Pulmonary capillary hemangiomas incidentally detected in a lobectomy specimen for a metastatic colon cancer. *Pathol Int.* 2006;56:350-7.

Nallet O, Milleron O, Monsel F. Pulmonary hypertension and heart failure: The role of pulmonary vasculature. *Ann Cardiol d'Angéiol.* 2009;58:304-9.

Ogawa Y, Nakao K, Arai H, Nakagawa O, Hosoda K, Suga S, et al. Molecular cloning of a non-isopeptide-selective human endothelin receptor. *Biochem Biophys Res Commun.* 1991;178:248-55.

Patel MD, Katz SD. Phosphodiesterase 5 inhibition in chronic heart failure and pulmonary hypertension. *Am J Cardiol.* 2005;96:47M-51M.

Perez-Villa F, Cuppoletti A, Rossel V, Vallejos I, Roig E. Initial experience with bosentan therapy in patients considered ineligible for heart transplantation because of severe pulmonary hypertension. *Clin Transplant.* 2006;20:239e44.

Ronconi JC. *Estudo comparativo de diferentes métodos eletrocardiográficos de diagnóstico de hipertrofia ventricular esquerda e sua associação com características anatômicas e histológicas do coração* [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2005.

Sakai S, Miyauchi T, Sakurai T, Yamaguchi I, Kobayashi M, Goto K, et al. Pulmonary hypertension caused by congestive heart failure is ameliorated by long-term application of an endothelin receptor antagonist. Increased expression of endothelin-1 messenger ribonucleic acid and endothelin-1like immunoreactivity in the lung of congestive heart failure in rats. *J Am Coll Cardiol.* 1996 Nov;15;28(6):1580-8.

Shi-wen X, Denton CP, Holmes A, Dashwood MR, Abraham DJ, Black CM. Endothelins: effect on matrix biosynthesis and proliferation in normal and scleroderma fibroblasts. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1998;31(Suppl 1):S360-3.

Simonneau G, Gatzoulis MA, Adatia I, Celermajer D, Denton C, Ghofrani A, et al. Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *Journal of the American College of Cardiology*. 2013;62:D34-41.

Stewart DJ, Cernacek P, Costello KB, Rouleau JL. Elevated endothelin-1 in heart failure and loss of normal response to postural change. *Circulation*. 1992;85:510e7.

Stewart DJ, Levy RD, Cernacek P, Langleben D. Increased plasma endothelin-1 in pulmonary hypertension: marker or mediator of disease? *Ann Intern Med*. 1991;114:464-9.

Stolf NAG, Moreira LFP. *Tratamento cirúrgico da insuficiência cardíaca*. In: Tratado de Cardiologia SOCESP. Manole; 2005.

Takahashi H, Soma S, Muramatsu M, Oka M, Fukuchi Y. Upregulation of ET-1 and its receptors and remodeling in small pulmonary veins under hypoxic conditions. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2001 Jun;280(6):L1104-14.

Tamburino C, Corcos T, Feraco E, Leger P, Desruennes M, Vaissier E, et al. Hemodynamic parameters one and four weeks after cardiac transplantation. *Am J Cardiol*. 1989;63:635-7.

Tenderich G, Koerner MM, Stuetgen B, Mirow N, Arusoglu L, Morshuis M, et al. Does preexisting elevated pulmonary vascular resistance (transpulmonary gradient (15 mmHg or 5 wood unit) predict early and long-term results after orthotopic heart transplantation? *Transplant Proc*. 1998;30:1130-1.

Tuder RM, Cool CD, Geraci MW, Wang J, Abman SH, Wright L, et al. Prostacyclin synthase expression is decreased in lungs from patients with severe pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;159:1925-32.

Vachiéry JL, Adir Y, Barberà JA, Champion H, Coghlan JG, Cottin V, et al. Pulmonary hypertension due to left heart diseases. *JACC*. 2013;62(Suppl D):25.

Vancheeswaran R, Magoulas T, Efrat G, Wheeler-Jones C, Olsen I, Penny R, et al. Circulating endothelin-1 levels in systemic sclerosis subsets – a marker of fibrosis or vascular dysfunction? *J Rheumatol*. 1994;21:1838-44.

Von Scheidt W, Ziegler U, Kemkes BM, Erdmann E. Heart transplantation: hemodynamics over a five-year period. *J Heart Lung Transplant*. 1991;10:342-50.

Waldman SA, Murad F. Biochemical mechanisms underlying vascular smooth muscle relaxation: the guanylate cyclase-cyclic GMP system. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1988;12(Suppl. 5):S115–S8.

Wang KY, Tanimoto A, Inenaga T, Yamada S, Shimajiri S, Ding Y, *et al.* Pulmonary hemangiomatosis in chronic cardiac failure due to aortic stenosis. *J UOEH.* 2009;31(4):339-44.

Zakliczynski M, Maruszewski M, Pyka L, Trybunia D, Nadziakiewicz P, Przybylski R, *et al.* Effectiveness and safety of treatment with sildenafil for secondary pulmonary hypertension in heart transplant candidates. *Transplant Proc.* 2007;39:2856e8.