

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde:
Infectologia e Medicina Tropical

Nayana Flamini Arantes Gomes

**ESTUDO ANATOMOPATOLÓGICO DA VALVA MITRAL ACOMETIDA PELA
DOENÇA REUMÁTICA**

BELO HORIZONTE
2020

Nayana Flamini Arantes Gomes

**ESTUDO ANATOMOPATOLÓGICO DA VALVA MITRAL ACOMETIDA PELA
DOENÇA REUMÁTICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Medicina.

Orientadora: Profa. Maria do Carmo Pereira Nunes.

Coorientador: Prof. Marcelo Antônio Pascoal Xavier.

BELO HORIZONTE
2020

G633e Gomes, Nayana Flamini Arantes.
Estudo anatomopatológico da valva mitral acometida pela doença reumática [manuscrito]. / Nayana Flamini Arantes Gomes. - - Belo Horizonte: 2017.
75 f.: il.
Orientador (a): Maria do Carmo Pereira Nunes.
Coorientador (a): Marcelo Antonio Pascoal Xavier.
Área de concentração: Infectologia e Medicina Tropical.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Febre Reumática. 2. Cardiopatia Reumática. 3. Estenose da Valva Mitral. 4. Valva Mitral. 5. Inflamação. 6. Dissertação Acadêmica. I. Nunes, Maria do Carmo Pereira. II. Xavier, Marcelo Antonio Pascoal. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WG 260

Bibliotecária responsável: Fabiene Letizia Alves Furtado CRB-6/2745



FOLHA DE APROVAÇÃO

"Estudo Anatomopatológico da Valva Mitral acometida pela Doença Reumática"

NAYANA FLAMINI ARANTES GOMES

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Medicina pelo Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS DA SAÚDE - INFECTOLOGIA E MEDICINA TROPICAL.

Aprovada em 14 de dezembro de 2017, pela banca constituída pelos membros:

Profa. Maria do Carmo Pereira Nunes - Orientadora
UFMG

Prof. Marcelo Antonio Pascoal Xavier - Coorientador
UFMG

Prof. Geraldo Brasileiro Filho
UFMG

Prof. Charles Simão Filho
UFMG

Belo Horizonte, 14 de dezembro de 2017.

À minha família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelas bênçãos derramadas em minha vida e por ter permitido que eu chegasse até aqui.

E agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste projeto, em especial:

À professora Maria do Carmo, pela oportunidade de convívio e aprendizado.

Ao professor Marcelo Pascoal, por ter me acolhido com muita receptividade.

À colega Livia e aos acadêmicos Thiago, Rafael e Matheus, que participaram ativamente deste trabalho.

Aos meus pais, minha fortaleza e meu orgulho.

Aos meus irmãos, meus melhores amigos.

Ao meu esposo Paulo, pelo amor e companheirismo.

Ao meu filho Pedro, por me fazer querer ser uma pessoa melhor e por ter preenchido minha vida com amor e felicidade.

RESUMO

Os mecanismos subjacentes pelos quais a cardiopatia reumática (CR) leva à disfunção valvar grave não são completamente compreendidos. A análise histológica das valvas mitrais excisadas de pacientes com CR é de grande importância para definir estratégias que previnam a progressão da doença. O presente estudo foi desenhado para avaliar de forma abrangente as alterações histopatológicas nas valvas mitrais no estágio final da disfunção valvar, buscando uma associação entre o padrão de disfunção valvar predominante e os achados histopatológicos. Sessenta valvas mitrais foram coletadas de pacientes submetidos à troca valvar, 40 de pacientes com CR e 20 de controles submetidos a transplante cardíaco. Dados clínicos e ecocardiográficos foram coletados de pacientes com CR. As análises histológicas foram realizadas utilizando coloração com hematoxilina-eosina para determinar o grau de inflamação e fibrose no endocárdio e interstício, presença de neoangiogênese, calcificação e metaplasia adiposa. A idade média dos pacientes com CR foi de 53 ± 13 anos, 36 (90%) eram do sexo feminino, enquanto a idade média dos controles foi de 50 ± 12 anos, semelhante aos casos, com predomínio dos homens (70%). O endocárdio da valva reumática apresentou maior espessura que os controles ($1,3 \pm 0,5$ mm *versus* $0,90 \pm 0,4$ mm, $p = 0,003$, respectivamente) e infiltrado inflamatório mais intenso no endocárdio (78% vs 36%; $p = 0,004$), com predominância de células mononucleares. Fibrose ocorreu em todas as valvas reumáticas e de controle, mas com maior intensidade nas valvas reumáticas (100% vs 29%, $p < 0,001$). A calcificação ocorreu em 35% das valvas reumáticas, principalmente entre as valvas estenóticas em comparação às lesões regurgitantes ou combinadas (56% vs 18%, $p = 0,014$, respectivamente). Um processo inflamatório ativo esteve presente nas lesões em estágio terminal da válvula mitral reumática, com intensidade leve, distribuição focal e predomínio de células mononucleares. Fibrose grave foi encontrada no interstício de todas as valvas reumáticas, levando à deformidade e disfunção da valvar na doença avançada. A calcificação valvar foi mais frequente na estenose mitral, associada à área valvar mitral, indicando comprometimento reumático avançado.

Palavras-chave: Febre reumática. Cardiopatia reumática. Estenose da valva mitral. Valva mitral. Inflamação.

ABSTRACT

The underlying mechanisms by which rheumatic heart disease (RHD) lead to severe valve dysfunction are not completely understood. Histological analysis of mitral valves excised from RHD patients are of great importance to define strategies that prevent disease progression. The present study was designed to comprehensively evaluate the histopathological changes in mitral valves at an end stage of valve dysfunction, seeking an association between the pattern of predominant valvular dysfunction and histopathological findings. Sixty mitral valves were collected from patients undergoing valve replacement, 40 were from RHD patients and 20 from controls undergoing heart transplantation. Clinical and echocardiographic data were collected from RHD patients. Histological analyses were performed using Hematoxylin-eosin staining to determine the degree of inflammation and fibrosis in the endocardium and interstitium, the presence of neoangiogenesis, calcification and adipose metaplasia. The mean age of RHD patients was 53 ± 13 years, 36 (90%) were female, whereas mean age of controls was 50 ± 12 years, similar to the cases, with the majority of males (70%). The rheumatic valve endocardium presented greater thickness than the controls (1.3 ± 0.5 mm versus 0.90 ± 0.4 mm, $p = 0.003$, respectively) and a more intense inflammatory infiltrate in the endocardium (78% versus 36%; $p = 0.004$), with predominance of mononuclear cells. Fibrosis occurred in all rheumatic and control valves, but with a higher intensity in rheumatic valves (100% vs 29%, $p < 0.001$). Calcification occurred in 35% of rheumatic valves, especially among stenotic valves compared to regurgitation or combined lesions (56% versus 18%, $p = 0.014$, respectively). An active inflammatory process was present in rheumatic mitral valve end-stage lesions, with mild intensity, focal distribution and with predominance of mononuclear cells. Severe fibrosis was found in the interstitium of all rheumatic valves leading to valve deformity and dysfunction during advanced disease. Valvular calcification was more frequent in mitral stenosis, associated with mitral valve area, indicating advanced rheumatic involvement.

Keywords: Rheumatic fever. Rheumatic heart disease. Rheumatic mitral valvopathy. Mitral valve. Histopathology inflammation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Anatomia da Valva Mitral	16
Figura 2: Valva Mitral	16
Figura 3: Estrutura da valva mitral	17
Figura 4: Prevalência global e taxas de mortalidade da CR	20
Figura 5: Resposta imune cruzada do EGA ao tecido cardíaco	23
Figura 6: Valva mitral reumática	25
Figura 7: Nódulo de Aschoff	26
Quadro 1: Critérios de Jones revisados	27
Figura 8: Valva mitral reumática. Imagem ECO 3D (A) e visualização durante procedimento cirúrgico de troca valvar (B).	30
Figura 9: A) Imagens de valvas mitrais normais retiradas de pacientes submetidos ao transplante cardíaco. B) Imagens de valvas mitrais reumáticas dos pacientes submetidos à cirurgia de troca valvar mitral.	34
Quadro 2: Passos do processamento histológico	35
Figura 10: Ordem de diluentes para a técnica de H&E	36
Figura 11: Codificação das variáveis da pesquisa	37
Figura 12 (Figure 1): Aspectos morfológicos macroscópicos das valvas mitrais de controles e de pacientes com cardiopatia reumática.	53
Figura 13 (Figure 2): Imagem histológica representativa da valva mitral de controles e de pacientes com cardiopatia reumática corados com Hematoxilina-eosina.	54
A. Visão histológica de uma valva mitral de controle, mostrando fibrose leve (seta).	
B. Valva mitral reumática com fibrose endocárdica (asterisco) e intersticial (ponta de seta) graves.	
Os painéis C-I mostram aspectos específicos das valvas mitrais de pacientes com cardiopatia reumática.	
C. Presença de endocárdio (seta) e interstício (asterisco) valvar. No endocárdio, há fibrose leve.	
D. Fibrose moderada no endocárdio (ponta de seta). Coloração: hematoxilina-eosina.	
E. Neovascularização (asterisco) no endocárdio valvar.	

F. Os focos inflamatórios (seta) são detectáveis nos focos de neovascularização (asterisco).

G. Calcificação nodular (asterisco).

H. Metaplasia adiposa (seta) com áreas de fibrose (ponta de seta).

I. Neovascularização (seta) com alguns elementos inflamatórios (ponta de seta).

Figura 14 (Figure 3): Associações entre achados histológicos e área valvar mitral e espessura do folheto.

56

A. Valva mitral com grau de inflamação moderado e alto mostra maior área valvar em comparação com as valvas com baixo grau de inflamação.

B. A calcificação foi associada à área valvar mitral, indicando estenose mitral como lesão predominante nas valvas mais calcificadas.

C. Associação entre espessura do folheto e intensidade da inflamação.

D. Associação entre neoangiogênese e área valvar mitral.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dados demográficos, clínicos e ecocardiográficos dos pacientes submetidos a troca valvar mitral por cardiopatia reumática	57
Tabela 2: Dados histológicos das valvas mitrais reumáticas e dos controles	58
Tabela 3: Dados histológicos de acordo com a lesão valvar mitral predominante	59

LISTA DE ABREVIATURAS

AVC	Acidente vascular cerebral
CF NYHA	Classe funcional da <i>New York Heart Association</i> .
CR	Cardiopatia reumática
EGA	Estreptococo beta-hemolítico do grupo A
EI	Endocardite infecciosa
FA	Fibrilação atrial
FEVE	Fração de ejeção do ventrículo esquerdo.
FM-UFMG	Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais
FR	Febre reumática
FRA	Febre reumática aguda
H&E	Hematoxilina & Eosina
HC-UFMG/EBSERH	Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais/Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares
IC	Insuficiência cardíaca
IVD	Insuficiência de ventrículo direito
LPM	Laboratório de Patologia Molecular
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PSAP	Pressão sistólica em artéria pulmonar
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
VMPB	Valvuloplastia mitral percutânea por balão
VMR	Valvopatia mitral reumática

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	15
2.1	Valva Mitral	15
2.1.1	Anatomia	15
2.1.2	Histologia.....	17
2.1.3	Patologia.....	18
2.2	Cardiopatia Reumática.....	19
2.2.1	Definição e História Natural	19
2.2.2	Epidemiologia	20
2.2.3	Fisiopatologia.....	21
2.2.4	Diagnóstico.....	27
2.2.5	Manifestações Clínicas.....	28
2.2.6	Tratamento e Profilaxia.....	29
3	OBJETIVOS.....	31
3.1	Geral	31
3.2	Específicos.....	31
4	METODOLOGIA	32
4.1	Delineamento do Estudo.....	32
4.2	Local de desenvolvimento do estudo	32
4.3	Critérios de Seleção.....	32
4.3.1	Critérios de Inclusão	32
4.3.2	Critérios de Exclusão.....	32
4.3.3	Grupo Controle	32
4.4	Recrutamento.....	33
4.5	Análise Histológica.....	34

4.5.1	Processamento histológico	34
4.5.2	Técnica de coloração pela Hematoxilina & Eosina (H&E)	35
4.5.3	Análise microscópica	36
4.6	Pesquisa e normatização bibliográfica	37
4.7	Análise Estatística	38
4.8	Aspectos éticos	38
5	RESULTADOS	39
5.1	Artigo Científico	39
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	60
7	REFERÊNCIAS	61
8	ANEXOS	67
8.1	Anexo 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	67
8.2	Anexo 2 – Protocolo Clínico	70
8.3	Anexo 3 – Protocolo Ecocardiográfico	72
8.4	Anexo 4 – Protocolo Histológico	73
8.5	Anexo 5 – Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG	74

1 INTRODUÇÃO

A febre reumática aguda (FRA) é uma complicação não supurativa da faringoamigdalite causada pelo estreptococo beta-hemolítico do grupo A (EGA), *Streptococcus pyogenes*, decorrente de resposta imune tardia a esta infecção em populações geneticamente predispostas (1). As manifestações clínicas da FRA são geralmente transitórias, evoluindo sem sequelas, porém a cardite reumática pode progredir para cardiopatia reumática crônica, com acometimento valvar caracterizado por processo inflamatório crônico associado à fibrose, levando à disfunção valvar definitiva e grave (2). A cardite reumática constitui a principal causa de morbidade e mortalidade por FRA.

A FRA e a resultante cardiopatia reumática (CR) constituem doenças associadas às precárias condições socioeconômicas e sanitárias (3). A drástica redução da incidência da FRA e, conseqüentemente, nas taxas da CR, em países desenvolvidos durante o século XX, foi atribuído em parte às melhorias nas condições socioeconômicas e ao amplo uso da penicilina G benzatina para o tratamento da faringite estreptocócica (4). Porém, permanecem como grave problema de saúde pública nos países em desenvolvimento, frequentemente subreconhecido (5).

As valvas cardíacas são estruturas de tecido conjuntivo organizadas, contendo principalmente duas populações celulares. As células intersticiais que são responsáveis pela renovação de matriz extracelular e as células endoteliais que contornam os folhetos da valva. O acometimento reumático valvar apresenta algumas características bem definidas, incluindo processo cicatricial, espessamento das cordoalhas tendíneas e dos folhetos valvares e a angiogênese. A lesão valvar reumática parece ser mediada pela desorganização da matriz extracelular com perda da integridade estrutural do tecido valvar. Achados histológicos e estudos imunológicos em vários órgãos, como coração e vasculatura, sugeriram que o tecido conjuntivo pode ser um local comum das manifestações da doença reumática.

Vários fatores estão implicados na progressão das lesões valvares. Episódios recorrentes de FRA apresentam papel importante na perpetuação do processo inflamatório com estabelecimento de reações autoimunes no tecido valvar, conseqüente à infecção prévia pelo *Streptococcus pyogenes*, mesmo na ausência

da bactéria. Susceptibilidade genética representa outro fator importante no desenvolvimento da lesão valvar, com polimorfismos genéticos implicados na ativação da resposta imune (6).

Entender melhor o processo inflamatório e a consequente fibrose, envolvidos na patogênese da lesão valvar reumática, é fundamental para definir evolução da doença e identificar os indivíduos susceptíveis à progressão para disfunção valvar grave, permitindo estabelecer estratégias terapêuticas diferenciadas com impacto no prognóstico dos pacientes acometidos por essa condição.

Dessa forma, o presente estudo foi desenhado para se estudar, de forma sistemática, as alterações histológicas encontradas nas valvas mitrais em estágio avançado de lesão valvar reumática. Além disso, buscou-se associação entre o padrão de disfunção valvar predominante com os achados histopatológicos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Valva Mitral

2.1.1 Anatomia

O aparelho da valva mitral é uma estrutura complexa constituída por um anel, dois folhetos, cordas tendíneas e dois músculos papilares (Figura 1) (7). O anel é uma estrutura geométrica não planar, complexa, em forma de sela, com um diâmetro intercomissural maior que médio-lateral (Figura 2). O folheto anterior é longo e estreito, enquanto o folheto posterior é mais curto e mais largo. O anterior apresenta continuidade com a valva aórtica através da fibrosa intervalvar mitro-aórtica. Os folhetos se encontram em duas comissuras: anterolateral e posteromedial. Para fins descritivos, cada folheto é dividido em três *scallops*, de lateral para medial. Ambos os folhetos se ligam ao anel mitral dinâmico em suas extremidades basais, enquanto que as cordas tendíneas emergem das superfícies ventriculares e se juntam distalmente aos músculos papilares (Figura 3).

As cordas tendíneas são estruturas fibrosas, classificadas em três tipos com base no seu nível de inserção. As primárias se inserem na margem livre dos folhetos, as secundárias na superfície rugosa dos folhetos e as terciárias apenas na parte basal do folheto posterior.

Os músculos papilares são nomeados, de acordo com a localização no ventrículo esquerdo, em anterolateral e posteromedial. O músculo papilar posteromedial tem suprimento de sangue único a partir da artéria coronária direita, enquanto o músculo papilar anterolateral é suprido tanto pela artéria descendente anterior quanto pela artéria circunflexa, ambas originadas da coronária esquerda (8).

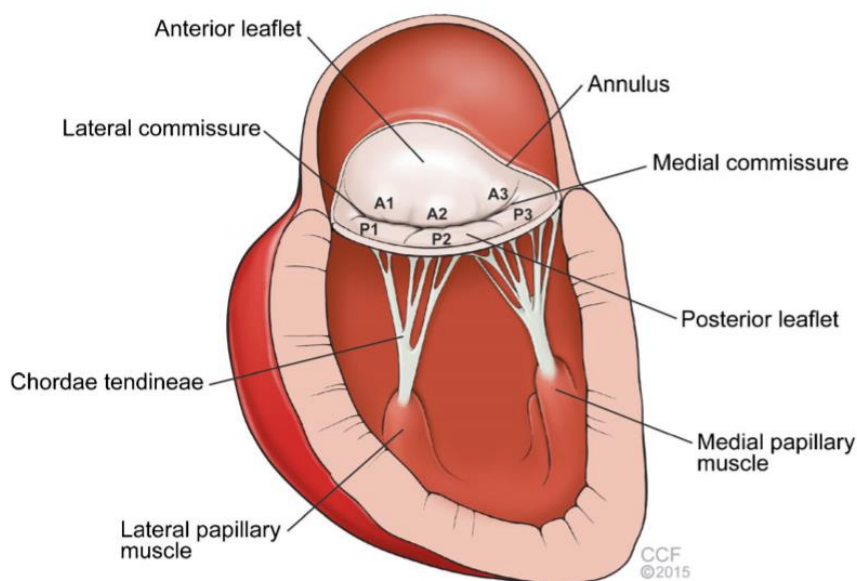


Figura 1: Anatomia da valva mitral. Esquema da estrutura do aparato valvar e seus componentes (Fonte: Harb, 2017).

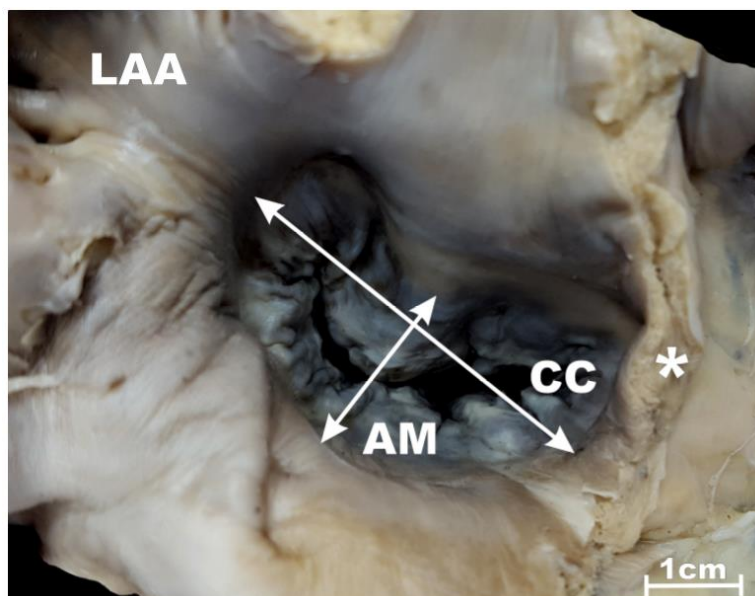


Figura 2: Valva mitral. Posição anatômica dos folhetos anterior e posterior e das comissuras ântero-lateral e pótero-medial. AM: diâmetro ântero-posterior. CC: diâmetro latero-medial (intercomissural). LAA: apêndice atrial esquerdo. * septo interatrial. (Fonte: Krawczyk-Ozóg, 2017)

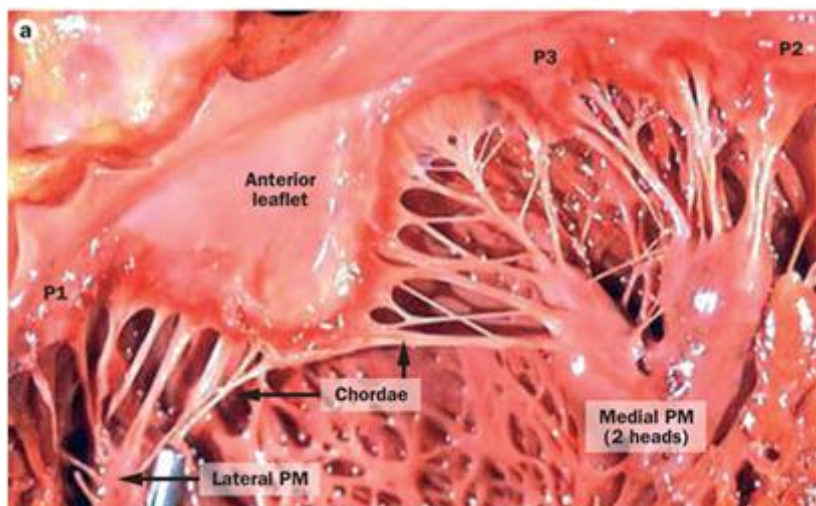


Figura 3: Estrutura da valva mitral. Estrutura formada por dois folhetos, anterior e posterior (composto por 3 *scallops*: P1, P2 e P3); cordas tendíneas e músculos papilares. (Fonte: Levine, 2015).

2.1.2 Histologia

Todas as valvas cardíacas têm a mesma histologia básica. Cada folheto valvar possui um eixo formado por tecido conjuntivo denso recoberto em ambos os lados por endocárdio. Nas valvas atrioventriculares, o endocárdio é mais espesso na face ventricular que na face atrial. O eixo de tecido conjuntivo é avascular, com predomínio de fibras colágenas e elásticas, mas também contém fibroblastos e células musculares lisas, que são nutridas pelo contato direto do sangue das câmaras cardíacas (9).

A estrutura dos folhetos mitrais é composta por três zonas. A zona de transição anel-folheto contém miócitos atriais e vasos sanguíneos. Fibras e terminações nervosas se estendem para esta região a partir do anel mitral, mantendo a continuidade eletrofisiológica com as demais estruturas cardíacas. A zona lisa, translúcida, que forma a região central do folheto, consiste em rede de colágeno fina, porém densa, e fibroblastos que sintetizam ativamente a matriz extracelular. A zona rugosa, localizada na borda livre do folheto, é espessa e rica em glicosaminoglicanos.

Ao corte transversal, os folhetos apresentam três camadas de tecido bem definidas, que são *atrialis*, esponjosa e fibrosa, cada uma com diferentes espessuras, células e composição da matriz.

A camada *atrialis* é revestida por endotélio e é formada por uma camada de tecido conjuntivo subendotelial de colágeno e elastina. A esponjosa, que contém colágeno frouxo e é rica em glicosaminoglicanos, é mais fina em direção ao anel mitral e torna-se mais proeminente em direção à borda livre do folheto. A fibrosa é composta predominantemente de fibras de colágeno denso, dispostas paralelamente à borda livre do folheto.

As células endoteliais e intersticiais da valva mitral têm interações recíprocas que favorecem a sua homeostase. Diante de algumas condições patológicas, as células intersticiais transitam para um fenótipo de miofibroblasto ativado, expressando proteínas e citocinas inflamatórias que remodelam rapidamente o meio extracelular (8).

2.1.3 Patologia

A patologia em qualquer nível do aparato valvar mitral pode levar à sua disfunção.

A cardiopatia reumática é causa frequente de patologia valvar, especialmente no nosso meio. A lesão tipo estenose é desencadeada pelo processo reumático na maioria dos casos em todo o mundo (7). As outras etiologias incluem a calcificação anular mitral, valvulite de radiação, causas congênitas, distúrbios inflamatórios sistêmicos e obstrução por massa intracardíaca.

A regurgitação valvar mitral pode ser classificada como primária ou secundária. A regurgitação primária refere-se a anormalidades em qualquer ponto da estrutura valvar, sendo o prolapso a causa mais comum em países desenvolvidos (10) e cardiopatia reumática a causa mais comum no Brasil (11). Outras etiologias incluem a endocardite infecciosa, calcificação anular mitral, doenças do tecido conjuntivo, causas congênitas e medicamentosas. A regurgitação secundária é decorrente de alterações geométricas do ventrículo esquerdo que impedem o funcionamento valvar adequado, sendo classificada em isquêmica e não isquêmica, encontrada nas cardiomiopatias (7).

2.2 Cardiopatia Reumática

2.2.1 Definição e História Natural

O pico de incidência da FRA é entre 5 e 15 anos de idade. Os episódios após 30 anos de idade são raros. Aproximadamente 60% das pessoas com FRA em comunidades endêmicas desenvolvem a CR (12, 13). A incidência da FRA é similar em homens e mulheres, porém o risco de desenvolvimento da CR é 1,6 a 2,0 vezes maior nas mulheres (5, 12).

A febre reumática aguda (FRA) é uma reação inflamatória sistêmica autoimune, que aparece de duas a quatro semanas após a faringite por estreptococo beta-hemolítico do grupo A, podendo apresentar envolvimento cardíaco, articular, neurológico e cutâneo (14).

A cardite é a manifestação mais grave da febre reumática (FR), pois pode deixar sequelas e acarretar óbito. A manifestação ocorre entre 40%-70% dos primeiros surtos, embora em séries mais recentes, nas quais a ecocardiografia foi utilizada para avaliação, demonstraram prevalências mais elevadas (3).

O acometimento cardíaco é caracterizado pela pancardite, sendo a valvulite a apresentação mais comum (15), com ampla variação em relação a gravidade, de leve envolvimento subclínico (16,8%) (16) a quadro grave com insuficiência cárdica congestiva e morte (20%) (17). No Brasil, a FR é a principal etiologia das valvopatias, entre crianças e adultos jovens, responsável por até 70% dos casos (18).

A valva mitral é mais comumente afetada (65-70% dos pacientes) seguida pela valva aórtica (25%). A valva tricúspide é acometida em apenas 10% dos pacientes e quase sempre está associada às lesões mitrais e aórticas (19).

Na FRA, com o intenso processo inflamatório em atividade, predominam as lesões regurgitativas, sendo mais frequente a regurgitação mitral. Por outro lado, as lesões valvares estenóticas ocorrem mais tardiamente, após décadas, na fase crônica da doença, decorrentes do processo de cicatrização (3).

O processo de cicatrização da cardite reumática resulta em vários graus de fibrose e dano valvar (20). Do ponto de vista patológico, ocorre espessamento dos folhetos com fusão das comissuras e de cordoalhas tendíneas, podendo estar

presente algum grau de calcificação dos folhetos, resultando em estenose ou uma combinação de estenose e insuficiência. O grau de envolvimento patológico destas estruturas é bastante variável, conferindo ao aparelho valvar mitral uma configuração semelhante a funil (11).

As lesões valvares permanentes desenvolvem entre 2 a 10 anos após um episódio de FRA, sendo que episódios recorrentes podem causar danos progressivos nas valvas (16).

2.2.2 Epidemiologia

Estudo recente estimou uma prevalência de 33 milhões de casos de CR em países endêmicos e uma mortalidade de 275.000 por ano, com redução de 8,1% nos últimos 25 anos (21). A distribuição global da FRA e da CR é desproporcional entre as regiões geográficas, como ilustrado na Figura 4 (14).

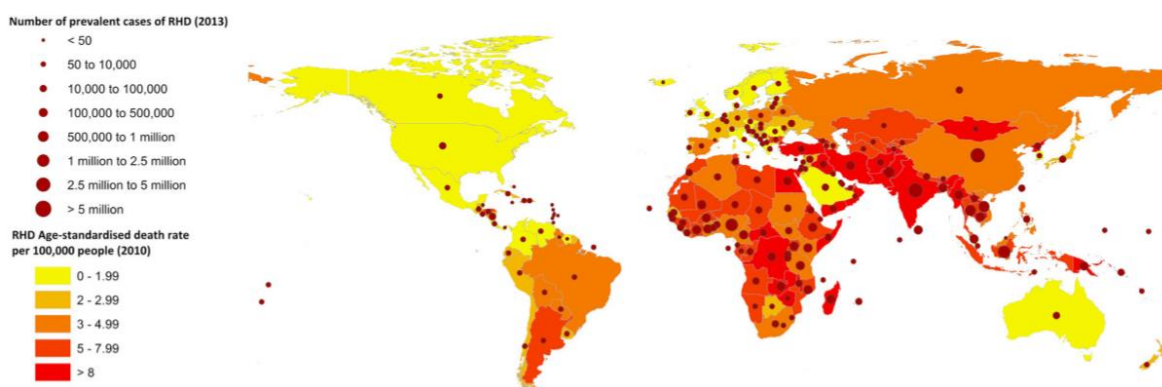


Figura 4: Prevalência global e taxas de mortalidade da CR. (Fonte: Global Burden of Disease - 2010/2013).

No Brasil, estima-se que anualmente ocorram cerca de 10 milhões de faringoamigdalites estreptocócicas, perfazendo o total de 30.000 novos casos de FR, dos quais aproximadamente 15.000 poderiam evoluir com acometimento cardíaco (22). Estudos realizados na população de escolares em algumas capitais brasileiras estimaram a prevalência de cardiopatia reumática crônica em 1-7 casos/1.000, o que é significativamente maior do que a prevalência da doença em países desenvolvidos, como os Estados Unidos, onde varia entre 0,1-0,4 casos/1.000 escolares (3, 13).

Estudos mais recentes avaliaram a prevalência da cardiopatia reumática através do ecocardiograma de *screening* para detecção precoce de lesões valvares, antes do desenvolvimento de sintomas. Em estudo realizado no estado de Minas Gerais com o ecocardiograma (PROVAR *study*) mostrou prevalência de 0,5% de cardiopatia reumática definitiva e 3,7% de casos *borderline* para cardiopatia. Esse estudo incluiu 5996 estudantes entre cinco a 18 anos de escolas públicas de Belo Horizonte e da região de Montes Claros, confirmando que a CR continua sendo um problema de saúde pública no nosso meio (23).

Segundo dados do Datasus, no Brasil, em 2015, houve 7.782 internações por cardiopatia reumática, com gasto de R\$ 84.080.772,39, e 2.420 internações por FRA, com gasto de R\$ 2.318.082,05. A mortalidade, neste mesmo ano, foi de 1.925 e 124, respectivamente. Estudo realizado no Hospital das Clínicas da UFMG demonstrou que 20% dos pacientes internados para cirurgia cardíaca eram portadores de CR. Além disso, a CR foi um preditor independente de hospitalização prolongada (24).

2.2.3 Fisiopatologia

A patogênese da CR está relacionada ao padrão de resposta imune após exposição ao EGA (*Streptococcus pyogenes*). Os estudos epidemiológicos e imunológicos identificaram claramente o EGA com agente etiológico e desencadeante da FR em indivíduo susceptível, porém as vias moleculares que os ligam são pouco entendidas (6).

A base patogênica da doença reumática é composta pela tríade caracterizada pela presença do EGA, hospedeiro geneticamente susceptível e resposta imune exacerbada. O mecanismo atualmente proposto para o desenvolvimento da doença envolve o mimetismo antigênico associado à resposta imune anormal, que é o compartilhamento de anticorpos ou epítopos de células T entre o hospedeiro e o microorganismo (25). A teoria mais amplamente aceita é o mimetismo entre a proteína M do EGA e a miosina cardíaca do hospedeiro, porém mecanismos adicionais de reação cruzada são prováveis (26).

A existência de processo autoimune na FR foi proposta após a observação de que as lesões no coração estavam associadas a anticorpos que reconheciam o

tecido cardíaco. Anticorpos do hospedeiro dirigidos contra antígenos estreptocócicos também reconhecem estruturas do hospedeiro, iniciando o processo de autoimunidade. Assim, como ocorre o reconhecimento cruzado humoral, também acontece reação cruzada celular, com linfócitos T ativados por epítopos estreptocócicos passando a reconhecer epítopos próprios, e conseqüente agressão celular aos tecidos próprios (27). A resposta celular parece ser especialmente importante em pacientes que desenvolvem cardite grave. Por outro lado, o papel dos anticorpos na FR parece ser mais importante durante a fase inicial da FR, causando entre outros, artrite por depósito de imunocomplexos nas articulações (15).

A resposta humoral é responsável principalmente por iniciar a cardite, seguida pela infiltração celular do endocárdio e tecidos valvares, resultando em danos adicionais que levam a lesão valvar. Pacientes com envolvimento valvar apresentam níveis elevados de autoanticorpos que se correlacionam com pior prognóstico e há significativa redução dos seus níveis após remoção cirúrgica das valvas acometidas (28).

Está bem claro que a FR e a CR resultam de uma complexa interação entre múltiplos antígenos estreptocócicos, anticorpos de reação cruzada e muitos alvos imunes. A resposta celular na cardite reumática envolve a produção de células T auto-reativas que infiltram a valva e o miocárdio, a ativação do endotélio valvar e a formação de nódulos Aschoff (figura 5) (1).

Estudos histológicos de pacientes com CR mostraram células plasmáticas cercadas por linfócitos T CD4+, próximos a fibroblastos, sugerindo interação entre a célula plasmática (linfócito B) e o linfócito T (29). Os nódulos de Aschoff são compostos por agregados de células semelhantes a macrófagos e monócitos, que exercem a função de células apresentadoras de antígeno para as células T (30). Desta forma, além da reação cruzada inicial, a apresentação continuada de antígenos no sítio da lesão, contribui para uma amplificação da resposta imune e ativação de maior número de clones auto-reativos de linfócitos T. A presença de linfócitos T CD4+ em grande quantidade foi demonstrada em pacientes com cardiopatia reumática crônica, o que sugere papel direto destas células na patologia da doença (31).

A suscetibilidade genética do hospedeiro para o desenvolvimento de FR e CR é assunto de grande interesse. Estudos populacionais sugerem que 5% dos

indivíduos a suscetibilidade à doença é hereditária. As moléculas HLA de classe II, expressas na superfície das células apresentadoras de antígenos e fundamentais para desencadear a resposta imune adaptativa, apresentam forte associação com a FR e mais de 30 alelos já foram identificados. Os alelos HLA-DR7 e HLA-DR4 foram os mais consistentemente relatados em diversas populações (26). O polimorfismo em genes que codificam as proteínas relacionadas à resposta imunológica também foi associado à suscetibilidade a FR e CR (1).

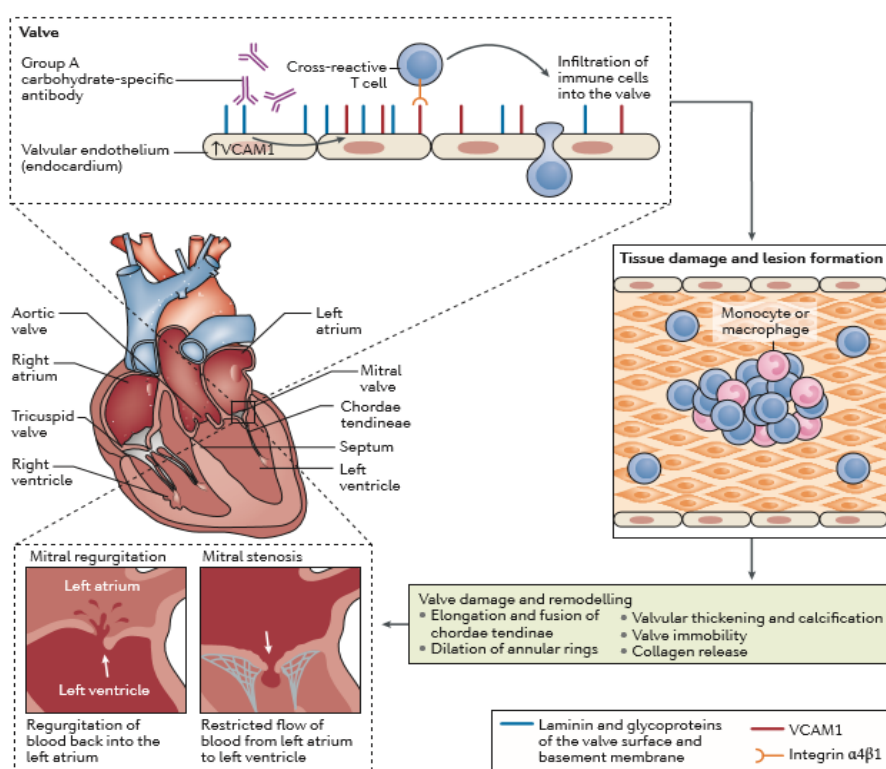


Figura 5: Resposta imune cruzada do EGA ao tecido cardíaco. Anticorpos contra o EGA reconhece a superfície valvar com aumento da expressão de moléculas de adesão ao endotélio valvar permitindo às células T (principalmente CD4) aderir ao endotélio e migrar para dentro da valva. Esse processo inflamatório remodela a estrutura valvar, ocasionado lesões irreversíveis. (Fonte: Carapetis, 2016)

2.2.3.1 Autoimunidade

Os anticorpos reativos que se unem ao endotélio valvar podem causar inflamação, infiltração celular e cicatriz na valva. Uma vez ativado, o aumento da expressão de várias moléculas de adesão pelo endotélio valvar facilita a ligação e infiltração das células T (32). Tanto as células T CD4 como CD8 infiltram as válvulas na FRA, com predomínio das células T CD4. Após o insulto valvar inicial, o processo

desencadeia uma cascata que leva ao reconhecimento de epítomos adicionais, permitindo subsequentes danos valvares mais graves. Estudos recentes demonstraram que a maioria dos péptidos reconhecidos pelos clones de células T infiltradas são exclusivamente de tecido valvar (33).

Citocinas inflamatórias como interferon (IFN) gama, fator de necrose tumoral (TNF) alpha e interleucina (IL) 10 são predominantes no tecido valvular, enquanto que a expressão de citocinas reguladoras como IL-4 é consistentemente baixa. A diminuição dos níveis de células T reguladoras também foi associada à CR e com maior gravidade. O desbalanço entre citocinas pró-inflamatórias e reguladoras, levam a um processo inflamatório persistente, que gera lesão valvar progressiva (34).

A presença de células inflamatórias, como neutrófilos, macrófagos, linfócitos T e B, tanto no miocárdio quanto nas valvas, demonstram que há uma inflamação crônica em progressão na doença reumática, em meio à fibrose resultante do processo de reparo do tecido valvar (20). Os fatores que levam a fibrose progressiva dos folhetos valvares com distorção de sua arquitetura, e consequente disfunção, não são completamente definidos. A diferenciação de fibroblastos cardíacos em miofibroblastos, que podem produzir até duas vezes mais colágeno, foi correlacionado a fibrose valvar. Estudo prévio avaliou o fator de transformação de crescimento (TGF) B1 como possível indutor de todo esse processo na CR (2).

2.2.3.2 Aspectos Morfológicos

A cardiopatia reumática caracteriza-se por uma pancardite. Vários mediadores inflamatórios estão envolvidos e atraem leucócitos, monócitos, linfócitos T e B, resultando em inflamação local, lesão tecidual e subsequente desorganização da matriz celular levando a disfunção valvar (35).

A lesão básica da cardite reumática é a deposição de material fibrinóide, fagocitose deste material por macrófagos modificados e resolução através da fibrose. A reação inflamatória inclui linfócitos, monócitos e neutrófilos e se acompanha de tecido de granulação. O caráter recidivante das lesões inflamatórias a cada novo surto de infecção causa piora progressiva do processo cicatricial causando a disfunção valvar permanente (Figura 6).

Os nódulos de Aschoff (Figura 7), característicos da fase aguda da doença reumática, podem ser encontrados após muito tempo em indivíduos sem atividade da doença. O aspecto dos nódulos varia conforme sua evolução. Na fase inicial predomina material fibrinoide. A fase granulomatosa é representada pelo acúmulo de macrófagos modificados. A fase final é a cicatricial, caracterizada pela regressão do processo proliferativo acompanhado por fibrose. São mais comuns no interstício do miocárdio, mas, nos casos mais intensos, podem ser encontrados no tecido valvar (36).

Na fase crônica da doença predomina a inflamação por mononucleares, acompanhada de neoformação vascular, fibrose e cicatrização (36). A calcificação também é encontrada na fase crônica. Embora tenha sido descrita há mais de 200 anos, os mecanismos celulares responsáveis pela calcificação não são completamente conhecidos. Um estudo recente demonstrou infiltrado inflamatório intenso e expressão de fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) em áreas de neoangiogênese em valvas reumáticas. Isso sugere que a calcificação ocorra nestas áreas, estimulada por um processo inflamatório ativo com liberação de VEGF, especificamente pelos macrófagos e miofibroblastos (37).

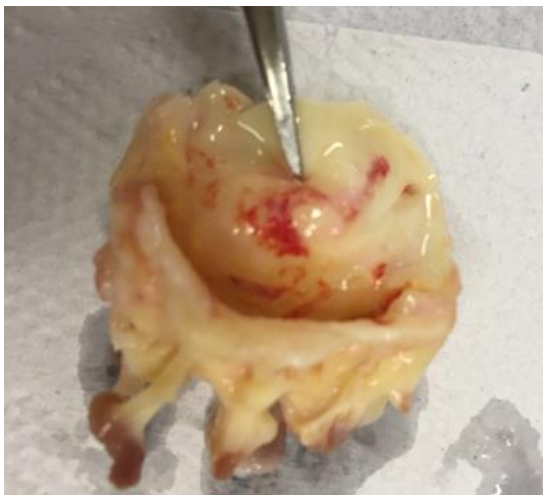


Figura 6: Valva mitral reumática. Imagem macroscópica da valva mitral reumática com abertura valvar reduzida, fusão de ambas as comissuras com espessamento das cordoalhas de uma paciente incluída no estudo.

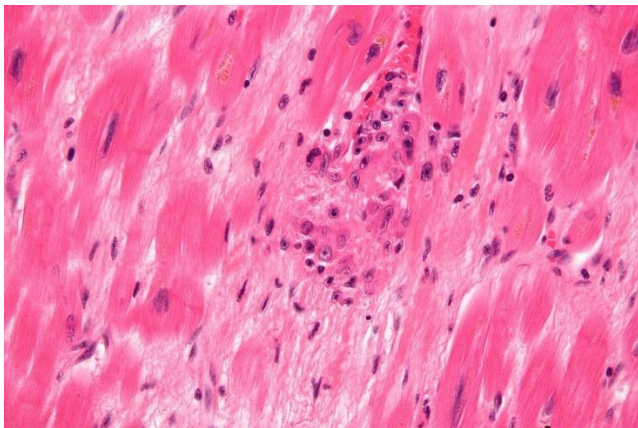


Figura 7: Nódulo de Aschoff. Granulomas de macrófagos modificados entre feixes de miocardiócitos. Os macrófagos são conhecidos como células de Anitschkow cujo núcleo possuem o aspecto clássico em “olho de coruja”. (Fonte: <http://anatpat.unicamp.br/>).

2.2.4 Diagnóstico

O diagnóstico da FR é clínico e não possui um único teste confirmatório. Os critérios mais amplamente utilizados para guiar o diagnóstico (Critérios de Jones) foram propostos em 1994 e revisados em 2015 (38).

Diante da heterogeneidade da distribuição global da FR, um único conjunto de critérios não é suficiente para todos os grupos populacionais e todas as regiões geográficas. Por isso, foi importante a revisão dos critérios que definiu dois conjuntos baseados no risco populacional, além de ter incluído o ecocardiograma para o diagnóstico de cardite e feito recomendações específicas para o diagnóstico de recorrência da FR.

O diagnóstico de um episódio inicial requer documentação de infecção recente por estreptococo e pelo menos dois critérios maiores ou um maior e dois menores (Quadro 1).

Quadro 1: Critérios de Jones revisados

A. Para todas as populações de pacientes com evidência de infecção estreptocócica anterior	
Diagnóstico: FR inicial	2 critérios maiores ou 1 maior e 2 menores
Diagnóstico: FR recorrente	2 critérios maiores ou 1 maior e 2 menores ou 3 menores
B. Critérios maiores	
Populações de baixo risco	Populações de risco moderado e alto
Cardite	Cardite
<ul style="list-style-type: none"> • Clínica e/ou Subclínica 	<ul style="list-style-type: none"> • Clínica e/ou Subclínica
Artrite	Artrite
<ul style="list-style-type: none"> • Apenas poliartrite 	<ul style="list-style-type: none"> • Monoartrite ou poliartrite • Poliartralgia
Coreia	Coreia
Eritema marginatum	Eritema marginatum
Nódulos subcutâneos	Nódulos subcutâneos
C. Critérios menores	
Populações de baixo risco	Populações de risco moderado e alto
Poliartralgia	Monoartralgia
Febre ($\geq 38,5^{\circ}\text{C}$)	Febre ($\geq 38^{\circ}\text{C}$)
VHS $\geq 60\text{mm/h}$ ou PCR $\geq 3,0\text{mg/dL}$	VHS $\geq 30\text{mm/h}$ ou PCR $\geq 3,0\text{mg/dL}$
Intervalo PR prolongado, após ajuste para idade (exceto se cardite como critério maior)	Intervalo PR prolongado, após ajuste para idade (exceto se cardite como critério maior)

Fonte: AHA 2015

A cardite subclínica foi reconhecida como manifestação da FR. Um estudo mostrou que 16,8% dos pacientes com FR apresentavam cardite subclínica e quase

metade desses (44,7%) apresentou doença valvar progressiva (16). O ecocardiograma é considerado mais específico que a ausculta (39) e um ecocardiograma normal exclui o diagnóstico de cardite clínica.

Nos grupos populacionais de baixo risco, definido por uma incidência da febre reumática ≤ 2 casos por 100.000 escolares (5 a 14 anos) por ano ou prevalência de cardiopatia reumática ≤ 1 caso por 1.000 pessoas (todas as idades) por ano (38), o mais importante é evitar superestimar o diagnóstico da FR. Já nos grupos populacionais de moderado a alto risco, o objetivo é detectar todos os casos da doença (14).

Pacientes com FR apresentam alto risco de recorrência. Na presença de história prévia de FRA ou CR e infecção estreptocócica recente documentada, o diagnóstico de recorrência se faz diante de dois critérios maiores ou um maior e dois menores ou três menores (38).

Alguns estudos estimaram a prevalência das manifestações maiores em pacientes portadores de FR: cardite 50-78% (40), artrite 35-88%, eritema *marginatum* < 6%, nódulos subcutâneos < 1-13% e coreia de Sydenham 2-19% (14).

2.2.5 Manifestações Clínicas

A CR tem um curso clínico variável, que compreende desde disfunção valvar subclínica até sintomas limitantes de insuficiência cardíaca (IC). Além da IC, outras complicações da CR são a endocardite infecciosa, a fibrilação atrial (FA) e o acidente vascular cerebral (1). Um estudo avaliou desfechos em longo prazo e determinou a incidência destas complicações (por 100 pessoas-ano): IC de 9,09, FA de 4,7, endocardite infecciosa de 1,0, e acidente vascular cerebral de 0,58 (41). De 1990 para 2015 houve um aumento de 88% nos casos de IC entre os pacientes portadores de CR (21).

Os sintomas da CR dependem do tipo da lesão valvar e de sua gravidade. Palpitação é o sintoma mais comum (95,4%), seguido de fadiga (89,2%), dispneia (75%), dor torácica (74,6%), síncope (15,4%) e edema (14,6%). Palpitações podem ocorrer se a fibrilação atrial estiver presente, particularmente na estenose mitral, enquanto angina e síncope predominam na valvopatia aórtica (42).

A cardiopatia reumática constitui fator de risco importante para endocardite infecciosa, justificando a necessidade de antibioticoprofilaxia antes de procedimento com alto risco de bacteremia (18).

As doenças valvares são fatores de risco para o desenvolvimento de FA (43) que é a principal causa de acidente vascular cerebral (20 a 30%). A FA e IC coexistem em alta porcentagem de pacientes (20 a 40%), sendo o aparecimento da arritmia um preditor independente de mortalidade. A anticoagulação oral está indicada nos pacientes que desenvolvem FA (44).

2.2.6 Tratamento e Profilaxia

A abordagem dos pacientes com CR visa prevenir episódios recorrentes de FRA, monitorização clínica dos sintomas e acompanhamento ecocardiográfico das lesões valvares e função ventricular. A disfunção valvar grave com sintomas constitui indicação de intervenção valvar, frequentemente cirúrgica, com troca da valva e implante de prótese valvar.

A profilaxia primordial envolve estratégias em promoção de saúde para evitar a infecção por EGA.

A profilaxia primária tem como objetivo impedir o desenvolvimento da FRA após uma infecção por EGA, através de cuidados de saúde adequados, incluindo a antibioticoterapia. A penicilina benzatina é a droga de escolha (45).

A profilaxia secundária continua sendo o ponto mais importante no manejo da FRA, por evitar a sua recorrência, reduzindo a gravidade da CR e evitando a progressão da doença. Consiste na administração contínua de antibiótico, permanecendo a penicilina benzatina como a droga de escolha. A duração deste tratamento é individualizada e depende da idade do paciente, do intervalo do último surto, da presença de cardite no surto inicial, do número de recidivas, da condição social e da gravidade da CR residual (15).

As intervenções valvares se fazem necessárias diante da CR avançada na presença de manifestações clínicas, podendo ser realizada por via percutânea ou cirúrgica. As indicações são baseadas na presença de sintomas e em critérios ecocardiográficos de gravidade da lesão valvar.

A valvoplastia mitral percutânea com balão é o procedimento de escolha em pacientes com estenose mitral grave sintomática. Escores que avaliam características morfológicas do aparato valvar e subvalvar determinam a elegibilidade para o procedimento (46). Estudos demonstram benefícios do procedimento em relação aos desfechos precoces e intermediários (47).

A cirurgia de troca valvar (Figura 8) é a única opção de tratamento para muitos pacientes com cardiopatia reumática, porém ainda não está amplamente disponível em todas as áreas endêmicas da doença. Identificar os pacientes cirúrgicos enquanto ainda são operáveis requer elevada capacitação diagnóstica, muitas vezes dentro de sistemas restritos de recursos e habilidades (14). A retirada da valva e implante da prótese se faz necessário quando o grau de deformidade da valva impossibilita a reconstituição ou o reparo valvar.

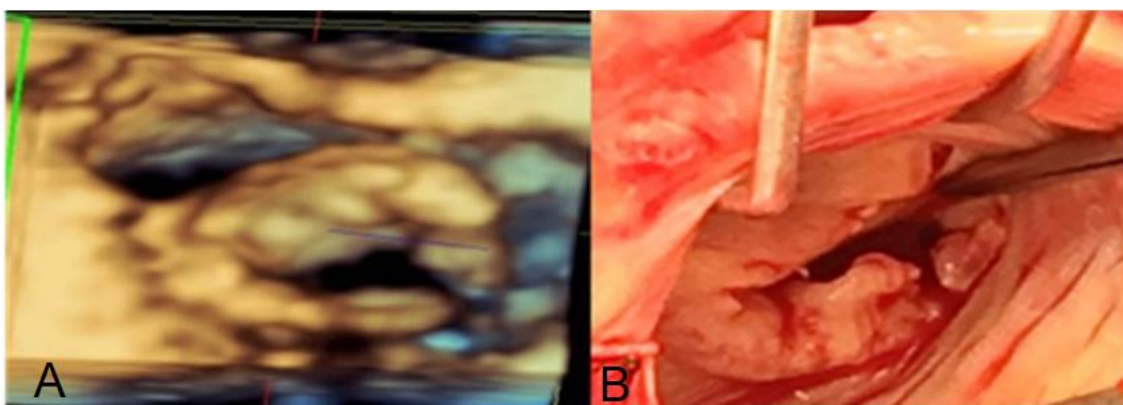


Figura 8: Valva mitral reumática. Imagem ECO 3D (A) e visualização durante procedimento cirúrgico de troca valvar (B). Paciente com estenose mitral reumática grave submetido à valvuloplastia mitral percutânea com balão, complicando com laceração do folheto posterior (P3) e regurgitação mitral significativa, necessitando troca valvar.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Analisar as alterações histológicas em fragmentos de tecido da valva mitral em estágio avançado de lesão valvar reumática, comparando-se com valvas retiradas após transplante cardíaco.

3.2 Específicos

Descrever os achados histológicos no endocárdio e no interstício da valva mitral acometida pela doença reumática.

Descrever os achados clínicos e ecocardiográficos dos pacientes submetidos à troca valvar mitral por cardiopatia reumática.

Comparar os achados histológicos da valva mitral entre os pacientes portadores de estenose em relação aos pacientes com insuficiência valvar ou lesão combinada.

Correlacionar achados clínicos e ecocardiográficos com os achados histológicos.

4 METODOLOGIA

4.1 Delineamento do Estudo

Trata-se de um estudo observacional, transversal, sem interferência no tratamento.

4.2 Local de desenvolvimento do estudo

O local da pesquisa foi o Hospital das Clínicas (HC) da UFMG/EBSERH, onde os pacientes foram submetidos à cirurgia cardíaca para retirada da valva mitral e implante de prótese valvar. A pesquisa envolveu também o Laboratório de Patologia Molecular (LPM) do Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Faculdade de Medicina (FM) da UFMG. Os exames clínicos, propedêutica complementar e o acompanhamento foram realizados nas dependências do HC-UFMG/EBSERH.

4.3 Critérios de Seleção

4.3.1 Critérios de Inclusão

Pacientes com doença reumática da valva mitral com indicação de troca valvar, submetidos à cirurgia cardíaca no HC-UFMG/EBSERH e concordância voluntária e por escrito em participar do estudo.

4.3.2 Critérios de Exclusão

Pacientes com lesão valvar secundária a outras patologias como isquemia ou doença degenerativa da valva mitral.

4.3.3 Grupo Controle

O grupo controle foi constituído por valvas coletadas de pacientes submetidos ao transplante cardíaco por etiologia não reumática.

Quadro 2: Passos do processamento histológico

Passo	Estágio	Solvente	Concentração	Duração (hora)
1	Desidratação	Álcool	70%	1
2	Desidratação	Álcool	80%	1
3	Desidratação	Álcool	90%	1
4	Desidratação	Álcool	95%	1
5	Desidratação	Álcool	100%	1
6	Desidratação	Álcool	100%	1
7	Desidratação	Álcool	100%	1
8	Desidratação	Álcool	100%	1
9	Clarificação	Xilol	100%	1
10	Clarificação	Xilol	100%	1
11	Impregnação	Parafina	100%	1
12	Impregnação	Parafina	100%	2

4.5.2 Técnica de coloração pela Hematoxilina & Eosina (H&E)

Os cortes foram corados com H&E. Com esse método de coloração, os núcleos se coram em azul (têm afinidade pelo corante básico hematoxilina, portanto são basofílicos), enquanto colágeno e fibras intersticiais se coram em vermelho ou rosado (têm afinidade pelo corante ácido eosina, portanto são eosinofílicos).

A técnica utilizada nesse estudo seguiu os procedimentos descritos abaixo, de acordo com a sequência de etapas apresentadas na Figura 10.

Procedimentos para coloração H&E:

1. Desparafinização dos cortes com xileno;
2. Hidratação dos cortes com banhos progressivos de etanol;
3. Adição da solução de hematoxilina de Mayer por 15 minutos;
4. Lavagem em água morna de torneira por 15 minutos;
5. Banho em água destilada;
6. Banho em álcool etílico (etanol) a 80% por 1 a 2 minutos;
7. Contracoloração com solução de eosina-floxina por 2 minutos;
8. Desidratação em álcool etílico a 95%, álcool etílico por 2 minutos;
9. Montagem da lâmina com entelam.

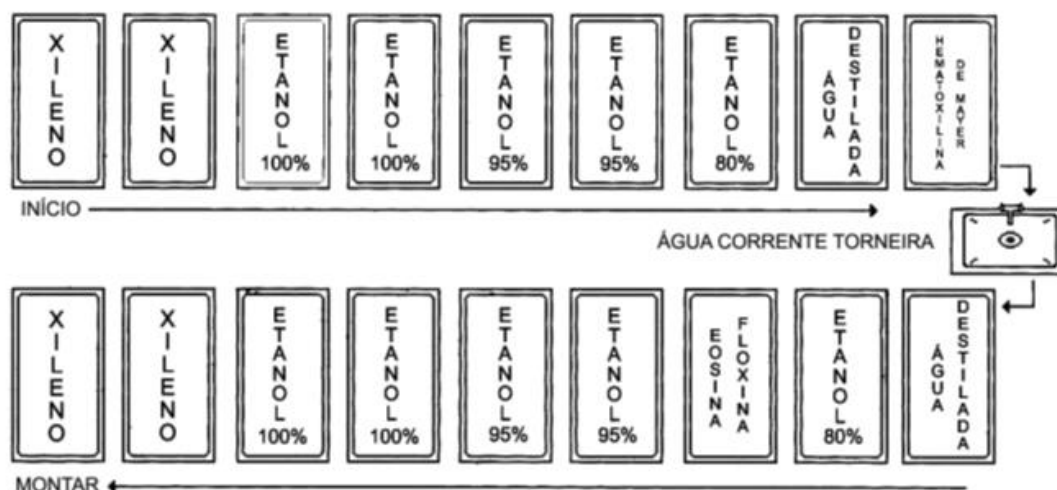


Figura 10: Ordem de diluentes para a técnica de H&E.

4.5.3 Análise microscópica

As lâminas com cortes histológicos corados pela H&E foram analisadas no microscópio óptico Nikon Eclipse E200, nas lentes com aumento 10x, 20x e 40x.

A análise microscópica da valva mitral coletada foi realizada pela mestrandia (juntamente com alunos de iniciação científica) e discutida com o Prof. Marcelo Pascoal, coorientador desse estudo, para consenso das classificações planejadas.

A partir dos conhecimentos da histologia da valva mitral (8), considerando as deformações previstas para a valvopatia em estudo e os trabalhos de Shenthar et al(49) e Galli et al(50), as variáveis de interesse da pesquisa foram codificadas de acordo com o esquema apresentado na Figura 11.

A partir desta codificação, foi realizada análise semi-quantitativa das amostras por meio da aplicação de escala graduada (anexo 4), tanto do endocárdio, que representa as camadas *atrialis* e fibrosa, quanto do interstício, que representa a camada esponjosa da valva.

4.4 Recrutamento

Os pacientes encaminhados ao HC-UFMG/EBSERH com diagnóstico de doença valvar mitral reumática caracterizada por estenose ou insuficiência, sem distinção de cor, classes ou grupos sociais, para serem submetidos à cirurgia cardíaca de troca valvar mitral foram elegíveis para o estudo.

Os pacientes foram esclarecidos sobre o estudo e convidados a participar, de forma voluntária, durante o seu acompanhamento antes do procedimento cirúrgico. Ao concordarem, os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (anexo 1), em que autorizaram a utilização de seus dados clínicos e de fragmentos de sua valva mitral no estudo. Não houve qualquer tipo de alteração no tratamento em virtude do presente estudo. A indicação de tratamento cirúrgico foi realizada pela equipe médica assistente seguindo as recomendações das diretrizes de indicação cirúrgica nas doenças valvares e avaliando individualmente os pacientes (48).

A consulta clínica dos pacientes, com anamnese e exame físico, foi realizada para coleta dos dados clínicos antes da cirurgia, seguindo o protocolo clínico (anexo 2) previamente estabelecido, assim como o ecocardiograma, realizado no setor de Ecocardiografia do HC-UFMG/EBSERH para a coleta de dados ecocardiográficos e de imagens, também através de protocolo clínico pré-definido (anexo 3).

As cirurgias foram realizadas no bloco cirúrgico do HC-UFMG/EBSERH e as valvas (Figura 9) encaminhadas tanto ao Serviço de Anatomia Patológica do Hospital das Clínicas da UFMG/EBSERH, para exame histopatológico convencional, conforme rotina estabelecida pelo Serviço de Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular do HC-UFMG/EBSERH, quanto ao Laboratório de Patologia Molecular (LPM) do Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da FM-UFMG, para realização desse estudo.

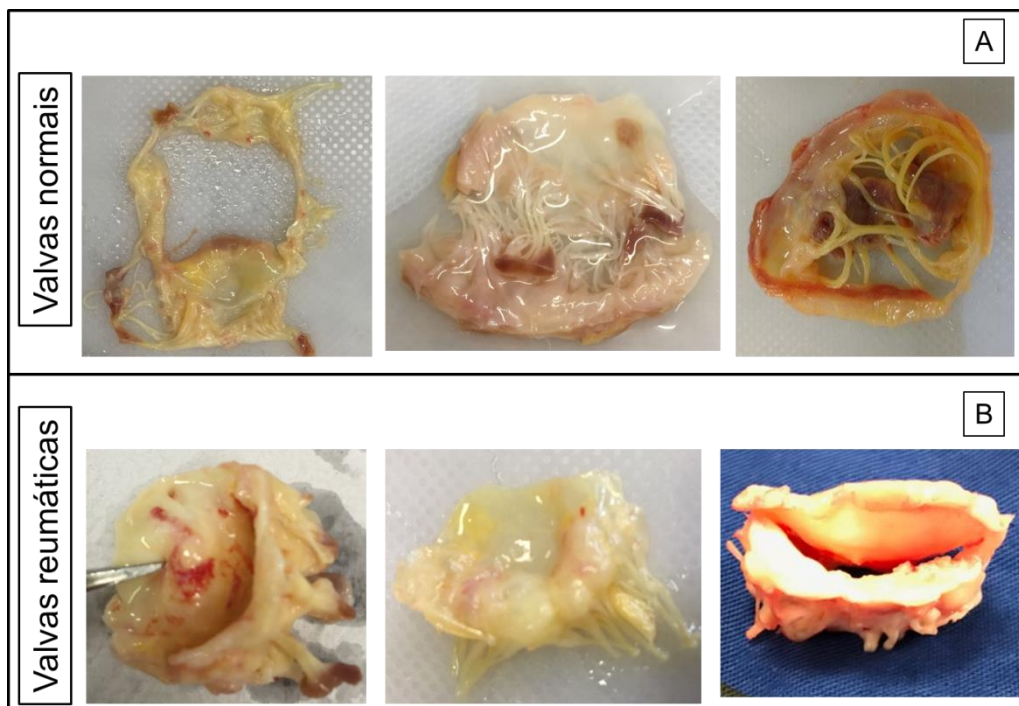


Figura 9: A) Imagens de valvas mitrais normais retiradas de pacientes submetidos ao transplante cardíaco. B) Imagens de valvas mitrais reumáticas dos pacientes submetidos à cirurgia de troca valvar mitral.

4.5 Análise Histológica

As valvas recebidas no LPM foram examinadas e encaminhadas para processamento histológico de acordo com protocolos da rotina do laboratório, com inclusão em parafina, coloração pela Hematoxilina e Eosina (H&E) e análise microscópica.

4.5.1 Processamento histológico

O processamento histológico das amostras foi totalmente realizado no processador automático de tecidos TP 1020 da Leica, seguindo os passos descritos no Quadro 2.

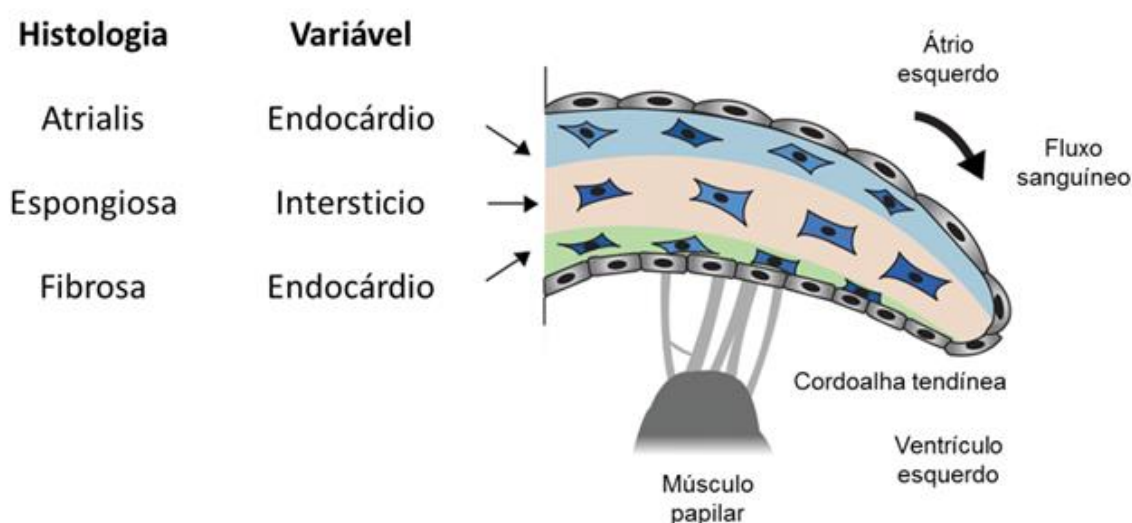


Figura 11: Codificação das variáveis da pesquisa (adaptada de Bischoff & Aikawa Progenitor cells valve J Cardiovas Trans Res 2011).

Detalhadamente, no endocárdio, foram avaliados a espessura; a intensidade e distribuição da inflamação, além do tipo celular predominante; intensidade e distribuição da fibrose; presença de neoangiogênese. No interstício foram avaliadas intensidade e distribuição da inflamação, além do tipo celular predominante; intensidade e distribuição da fibrose; presença de neoangiogênese, calcificação, sangramento e metaplasia adiposa.

A espessura do endocárdio foi determinada em milímetros. A intensidade da inflamação e da fibrose foi graduada em ausente, leve, moderada e acentuada; a distribuição da inflamação foi graduada em ausente, focal ou difusa; a distribuição da fibrose foi graduada em ausente, regular e irregular. A presença de neoangiogênese, calcificação, sangramento e metaplasia adiposa foram definidas como ausente ou presente.

4.6 Pesquisa e normatização bibliográfica

A pesquisa bibliográfica foi realizada por meio de ferramentas de busca utilizando-se as seguintes palavras-chave na língua inglesa: febre reumática, cardiopatia reumática, valvopatia mitral reumática, histologia, patologia, resposta inflamatória, ecodopplercardiograma, intervenção valvar, troca valvar. A base de dados consultada foi o portal de literatura biomédica Publicações Médicas (PUBMED), disponível na internet. Os artigos incluídos como referências

bibliográficas foram escolhidos após pesquisa de publicações indexadas nas áreas de interesse, de 1978 a agosto de 2017. Também foram utilizados livros textos referentes aos assuntos abordados.

4.7 Análise Estatística

Os dados foram inseridos em um protocolo de pesquisa, transferidos para um banco de dados eletrônico e analisados em um sistema de análise de dados intitulado SPSS, versão 21, para Windows. As variáveis categóricas foram apresentadas como frequência e porcentagem e comparadas através do teste de qui-quadrado. O teste T de Students foi usado para comparação das variáveis com distribuição normal, cujos valores foram apresentados como média \pm desvio padrão. Valor p de 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

4.8 Aspectos éticos

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG aprovou a realização deste estudo (Projeto: CAAE 32715214.90005149) (anexo 5).

O estudo não propôs nenhuma alteração no tratamento dos pacientes e não alterou a rotina do acompanhamento clínico e das cirurgias cardíacas do hospital. Assim não houve risco terapêutico adicional aos participantes, que permanecem em acompanhamento no serviço de cardiologia do HC-UFMG/EBSERH .

Apesar de não produzir benefícios imediatos aos indivíduos que participaram do estudo, o melhor entendimento do padrão morfológico e inflamatório da valvopatia reumática e sua correlação com o perfil clínico dos pacientes, contribui para o conhecimento do processo envolvido na patogênese dessa doença.

5 RESULTADOS

Os resultados e a discussão serão apresentados na forma de artigo científico.

5.1 Artigo Científico

HISTOPATHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF MITRAL VALVULAR LESIONS FROM PATIENTS WITH RHEUMATIC HEART DISEASE

Nayana F A Gomes^{1,2}, Marcelo A Pascoal-Xavier²; Livia S A Passos^{1,3}; Thiago Mendonça Nunes Paula⁴, João Marcelo de Souza Aguiar⁴, Felipe Vieira Guarçoni⁴, Maria Cecília Landim Nassif⁴, Claudio Leo Gelape⁵, Renato Braulio⁵, Paulo Henrique N Costa⁵, Luiz Guilherme Passaglia⁵, Raquel Braga Martins⁵, Walderez O Dutra^{1,3,6}, Maria Carmo Pereira Nunes^{1,4,5,6}

Institutions:

1. Postgraduate Course of Infectious Diseases and Tropical Medicine, School of Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil

2: Laboratory of Molecular Pathology, Department of Pathological Anatomy and Legal Medicine, School of Medicine of the Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

3. Laboratory of Cell-Cell Interactions, Department of Morphology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

4: School of Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil

5. Cardiac surgery at the Hospital das Clínicas of the Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

6. National Institutes of Sciences and Technology in Tropical Diseases (INCT-DT), Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

Address for correspondence:

Prof. Maria do Carmo P Nunes – Department of Internal Medicine, School of Medicine of the Federal University of Minas Gerais.

Av. Professor Alfredo Balena, 190, Santa Efigênia, 30130-100 - Belo Horizonte, MG, Brazil. Phone: +55 31 34099746. Fax: +55 31 34099437

Email: mcarmo@waymail.com.br

Abstract

Introduction: The underlying mechanisms by which rheumatic heart disease (RHD) lead to severe valve dysfunction are not completely understood. Histological analysis of mitral valves excised from RHD patients are of great importance to define strategies that prevent disease progression. The present study was designed to comprehensively evaluate the histopathological changes in mitral valves at an end stage of valve dysfunction, seeking an association between the pattern of predominant valvular dysfunction and histopathological findings. **Methods:** Sixty mitral valves were collected from patients undergoing valve replacement, 40 were from RHD patients and 20 from controls undergoing heart transplantation. Clinical and echocardiographic data were collected from RHD patients. Histological analyses were performed using Hematoxylin-eosin staining to determine the degree of inflammation and fibrosis in the endocardium and interstitium, the presence of neoangiogenesis, calcification and adipose metaplasia. **Results:** The mean age of RHD patients was 53 ± 13 years, 36 (90%) were female, whereas mean age of controls was 50 ± 12 years, similar to the cases, with the majority of males (70%). The rheumatic valve endocardium presented greater thickness than the controls (1.3 ± 0.5 mm versus 0.90 ± 0.4 mm, $p = 0.003$, respectively) and a more intense inflammatory infiltrate in the endocardium (78% versus 36%; $p = 0.004$), with predominance of mononuclear cells. Fibrosis occurred in all rheumatic and control valves, but with a higher intensity in rheumatic valves (100% vs 29%, $p < 0.001$). Calcification occurred in 35% of rheumatic valves, especially among stenotic valves compared to regurgitation or combined lesions (56% versus 18%, $p = 0.014$, respectively). **Conclusion:** An active inflammatory process was present in rheumatic mitral valve end-stage lesions, with mild intensity, focal distribution and with predominance of mononuclear cells. Severe fibrosis was found in the interstitium of all rheumatic valves leading to valve deformity and dysfunction during advanced disease. Valvular calcification was more frequent in mitral stenosis, associated with mitral valve area, indicating advanced rheumatic involvement.

Keywords: Rheumatic fever. Rheumatic heart disease. Rheumatic mitral valvopathy. Mitral valve. Histopathology inflammation.

1. Introduction

Rheumatic heart disease (RHD) remains a major public health concern, especially in low- and middle-income countries, where it is the leading cause of cardiovascular death in children and young adults [1-3]. There are an estimated 33 million individuals currently living with RHD, accounting for over a million premature deaths annually [1]. RHD has the highest cardiovascular disease-related loss of disability-adjusted-life-years (DALY) in children worldwide [4]. Much of the morbidity and mortality of RHD can be prevented, but if left untreated, subsequent heart failure and death are inevitable [5, 6]. Most deaths occur in young adults, who would otherwise be at the most productive years of their lives, indicating the devastating impact of this condition [6, 7].

RHD is a harmful post-infectious sequel of acute rheumatic fever (ARF) resulting from an abnormal immune response to a streptococcal pharyngitis that triggers valvular damage [8]. Unlike myocardium and pericardium, the valvular tissue often sustains permanent damage after active initial carditis [9]. In the late stage of RHD, ongoing chronic inflammation continues leading to pathological valve remodeling that perpetuate the valve damage over time [10, 11]. RHD most commonly and severely affects the mitral valve (MV), which over time becomes dysfunctional, contributing to an increased risk of death and other major adverse outcomes.

Despite the observed progress in research on RHD pathogenesis, a number of key scientific questions remain [12, 13]. Specifically, the underlying mechanisms involved in the development of severe valve dysfunction are not completely understood [14]. An active inflammatory process and endothelial activation are fundamental to perpetuate the progressive fibrotic leaflet remodeling and further valve dysfunction [15]. Therefore, to better understand this pathological process, histological analysis of mitral valves excised from RHD patients will have great impact in the development of novel therapeutic interventions strategies in RHD. The present study was designed to comprehensive evaluate the histopathological changes in mitral valves at an end stage of valve dysfunction, seeking an association between the pattern of predominant valvular dysfunction and histopathological findings.

2. Methods

2.1. Study population

A total of 60 mitral valves were collected during the period of January 2015 to 2018, 40 were from RHD patients, and 20 composed the control group, which included all patients who underwent heart transplant due to severe heart failure, without primary valve lesion.

Patients referred to the University Hospital of Federal University of Minas Gerais (HC-UFMG) diagnosed with rheumatic mitral valve disease, presenting stenosis or regurgitation, and with indication to undergo mitral valve replacement surgery were eligible for the study.

The patients were informed about the study and invited to participate, voluntarily, during their follow-up before the surgical procedure. Treatment was offered to all patients, independent of their willingness to participate in the study, and all those who agreed to participate signed an informed consent form. This study was approved by the Ethics Committee of Federal University of Minas Gerais.

Clinical consultation, anamnesis and physical examination were performed to collect the clinical data prior to surgery, and the echocardiogram was performed at HC-UFMG Echocardiography Sector, for the collection of echocardiographic and imaging data.

Management of the patients and the indication for mitral valve replacement was according to the recommended guidelines for valvular heart disease [16].

Surgeries were performed in the HC-UFMG Surgery Center and the valves were sent to the HC-UFMG Pathology Department for conventional histopathological examination, according to the routine established by the Cardiovascular and Cardiovascular Surgery Service of the HC-UFMG, as well as the Laboratory of Molecular Pathology (LMP) of the Department of Pathological Anatomy and Legal Medicine of FM-UFMG, to carry out this study.

2.2. Echocardiographic evaluation

Two-dimensional (2D) echocardiography imaging and Doppler was performed using a commercially available system (Philips ie33, Andover, MA or GE Vivid-q

Horten, Norway) in all patients. Standard echocardiograms were obtained according to the American Society of Echocardiography guidelines [17]. The conventional indexes for assessment of mitral stenosis severity, including mitral valve area, transmitral valve pressure gradients, and pulmonary artery systolic pressure were measured, as recommended.

2.3. Histological analysis

The valves received in the LMP were examined and referred for histological processing according to routine laboratory protocols, including fixation, paraffin embedding, hematoxylin-eosin staining and microscopic analysis. Semi-quantitative analysis of the samples was carried out using a graduated scale, both of the endocardium, representing the atrialis and fibrous layers, as well as the interstitium, representing the spongiosa layer of the valve.

Parameters of inflammation intensity, identification of the predominant cell type and fibrosis intensity were evaluated, in addition to presence of neoangiogenesis, calcification and adipose metaplasia.

Thickness of the endocardium was determined in millimeters. Intensity of inflammation and fibrosis were graded as absent, mild, moderate and severe. The presence of neoangiogenesis, calcification and adipose metaplasia was defined as absent or present.

2.4. Statistical analysis

Categorical variables, expressed as numbers and percentages, were compared using chi-squared testing. Continuous data were expressed as mean \pm SD and differences between inflammation intensity categories were assessed using Student's unpaired t-test. Differences that returned P values of ≤ 0.05 were considered statistically significant from one another. Statistical analysis was performed using the Statistical Package for Social Sciences for Windows, version 22.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois).

3. Results

3.1. Patient characteristics

The mean age of the patients was 53 ± 13 years and 36 (90%) were female. The characteristics of the study population are summarized in Table 1. The majority of the patients were in NYHA functional class III and IV (60%). Figure 1 shows representative pictures of the anatomical characteristics of mitral valves from control and patients.

Preoperative medications most frequently used were diuretics (60%) and beta-blockers (55%). Thirteen patients (33%) were using penicillin benzathine for secondary prevention of rheumatic fever. Patients with atrial fibrillation and/or previous stroke were taking anticoagulants.

Regarding the pattern of valve involvement, 18 patients (45%) had pure mitral stenosis,

14 patients (35%) had mixed mitral valve disease, and 8 patients (20%) displayed predominantly mitral regurgitation. Aortic lesion was detected in the echocardiogram in 15 patients (38%). Valvuloplasty had previously been performed in 22 patients (55%), including either percutaneous or surgical intervention. Surgical indication for complications of percutaneous valvuloplasty occurred in 6 patients (15%).

The control group consisted of 20 patients who underwent cardiac transplant, with mean age of 50 ± 12 years, similar to the cases of RHD, with the majority of males (70%). The causes of heart failure were Chagas dilated cardiomyopathy (9 patients), cardiomyopathy after myocarditis (3), ischemic cardiomyopathy (3), idiopathic dilated cardiomyopathy (4), and retransplantation by autoimmune rejection to the graft (1).

3.2. Histological analysis of rheumatic mitral valves

The rheumatic mitral valves endocardium was thicker (1.3 ± 0.5 vs 0.9 ± 0.4 mm) with greater intensity of fibrosis and inflammatory infiltrate compared with controls (Figure 2A and B). The histological findings of rheumatic mitral valves comparing to controls are shown in Table 2. Overall rheumatic valves presented

inflammation of mild intensity, focal distribution and predominance of mononuclear cells, and fibrosis of moderate to severe intensity in the interstitium (Figure 2C and D). Neoangiogenesis in the endocardium was present in a portion of the rheumatic valves and it was not observed among the controls (Figure 2E and F).

None of the valves of the control group presented calcification whereas 35% of rheumatic valves had calcification (Figure 2G). Only a small portion of the valves in both groups had adipose metaplasia (Figure 2H). Neoangiogenesis in the interstitium predominated among the rheumatic mitral valves and it was observed in a lower proportion among the controls (Figure 2I).

According to type of rheumatic mitral valve lesion, calcification was more frequent in pure mitral stenosis compared with mitral regurgitation or mixed lesions. Histological data according to the predominant mitral valve lesion that required valve replacement are shown in Table 3. We further stratified the patients into 3 groups according to inflammation intensity in low, moderate and high to correlate with mitral valve area. We observed that the patients with a higher degree of inflammation and without calcification had a larger mitral valve area (Figure 3 A and B, respectively). There were no differences regarding leaflet thickness and inflammation intensity (Figure 3C), nor neoangiogenesis and mitral valve area (Figure 3D).

3.3. Echocardiographic parameters associated with histological findings

Echocardiographic parameters and histological findings were further compared. We observed an association between left ventricular systolic function, assessed by ejection fraction, and the intensity of inflammation. Patients with left ventricular dysfunction had a higher intensity of inflammation compared to patients with preserved ventricular systolic function (50% and 12% respectively, $p=0.023$). While valvular calcification was not associated with left ventricular dysfunction, patients with right ventricular dysfunction had a higher calcification compared with patients with normal right ventricular function (56% and 21% respectively, $p=0.021$), which may be related to the type of lesion associated with calcification.

4. Discussion

Leaflet tissue inflammation and fibrosis play a central role to induce progressive valve damage in RHD [13]. The present study evaluated rheumatic mitral valves in the end-stage of RHD compared when life-threatening valve dysfunction required surgery for valve replacement. The histological findings from rheumatic valves were compared with excised mitral valves from patients who underwent cardiac transplant, without primary valve disease. The analysis of the histological data showed marked fibrosis among all rheumatic valves, showing that continued fibrosis perpetuates throughout RHD progression.

Notably, even though patients are later in their disease, the valves continue to show active inflammatory processes, predominantly composed of mononuclear cells. The presence of an inflammatory process in activity was observed in both the endocardium and the valve interstitium. The lower degree of fibrosis, irregularly distributed, in the endocardium, associated with the presence of inflammatory cells, indicates that endothelial activation remains present in the more advanced stages of the rheumatic disease and is responsible for keeping the process in progression.

The intensity of inflammation was associated with mitral valve area, but not with leaflet thickness. Calcification was detected in 35% of the rheumatic valves, predominantly in pure mitral stenosis, and correlated with valve area. The identification of calcification reinforces the chronicity of the process, and its occurrence may be related to the mechanisms underlying the end-stage of rheumatic impairment [18]. The predominance of calcification observed in rheumatic valves with pure stenosis confirms that this lesion predominates in the late stages of the disease [3]. Rajamannan et al. demonstrated that calcification occurs in areas of neoangiogenesis, stimulated by an active inflammatory process, formed especially by macrophages and myofibroblasts [19]. Banerjee et al found a greater degree of fibrosis and neovascularization with focal perivascular mild infiltration predominantly of lymphocytes and plasma cells [20].

Studies indicate that the autoimmune process involved in RHD begins when the reactive antibodies bind to the valvar endothelium, leading to inflammation and cellular infiltration. Once activated, the valvar endothelium increases the expression of adhesion molecules, which facilitates T-cell binding and infiltration [21]. After the initial valvar insult, the process triggers a cascade leading to the recognition of

additional epitopes, leading to progressive valve damage [22]. The evidence that continued presentation of autoantigens at the lesion site contributes to an amplification of the immune response is reinforced by the significant reduction in autoantibody levels after surgical removal of the affected leaflets [23].

After activation of the valvar endothelium with the adhesion of activated T cells, the cicatrization, neovascularization and lymphocyte infiltration cycle begins [24]. Avascular valvar tissue is normally protected by the endothelium until a triggering factor, which may be antibodies and / or inflammatory cytokines, breaks the endothelial barrier, allowing the cycle of cell infiltration and healing to begin [25]. Once initiated, the healing process becomes more intense in the valve interstitium, due to the activation and proliferation of myofibroblasts that are responsible for valve fibrosis [26]. It has already been demonstrated that, in view of some pathological conditions such as RHD, interstitial cells can transform into an activated myofibroblast phenotype, expressing inflammatory proteins and cytokines, capable of rapidly remodeling the extracellular environment [27]. The significant decrease in plasma levels of biomarkers of collagen metabolism following mitral valve replacement strongly suggests the contribution of the mitral valve apparatus to the perpetuation of the fibrotic process in RHD [20].

4.1. Study limitations

The high prevalence of atrial fibrillation, previous history of stroke, previous valve intervention, limiting dyspnea (NYHA III and IV) and pulmonary hypertension have been shown to be severe in patients with advanced disease. As we included only patients with indication for valve replacement, our population therefore is representative of a spectrum of more severe stages of disease.

Mitral valve replacement is indicated for symptomatic patients with advanced disease and marked valve anatomy deformity, where is unlikely mitral valve repair [28]. Therefore, the sample collected for our study represents the advanced rheumatic process, limiting the evaluation of the process in its initial phase.

The valves from the control group are not healthy, normal valves, since they were collected from patients undergone heart transplantation due to severe left ventricular dysfunction of different etiologies. Chagas heart disease, the predominant

etiology of valves collected from transplanted hearts, is an inflammatory disease, associated with fibrosis. Although Chagas disease primarily affects the ventricular myocardium, histological changes in the valves may be occur associated with heart failure [29]. The differences in histological analysis could be even greater if compared to healthy tissue valves.

4.2. Clinical implications

The pathological process involved in RHD is complex and still not fully understood. The identification of an active chronic inflammatory process, although of mild intensity, probably responsible for the maintenance of the immune response and the progression of the valve lesion, supports the concept that inhibiting inflammatory and fibrotic processes has the potential to limit progression of the valve disease and its consequences.

5. Conclusion

Our findings demonstrate that an active inflammatory process was present in rheumatic mitral valve end-stage lesions, with mild intensity, focal distribution and with predominance of mononuclear cells. This inflammation was associated with mitral valve area. Severe fibrosis was found in the interstitium of all rheumatic valves leading to valve deformity and dysfunction during advanced disease. Valvular calcification was more frequent in mitral stenosis, associated with mitral valve area, indicating later rheumatic involvement. Endothelial activation was fundamental to initiate and perpetuate the pathogenesis of rheumatic carditis. It is necessary to better understand what maintains the inflammation and how endothelial activation may predispose to clinical complications as well as the mechanisms that influence the RHD mortality.

References

- [1] Watkins DA, Johnson CO, Colquhoun SM, Karthikeyan G, Beaton A, Bukhman G, et al. Global, Regional, and National Burden of Rheumatic Heart Disease, 1990-2015. *The New England journal of medicine*. 2017;377:713-22.
- [2] Watkins DA, Beaton AZ, Carapetis JR, Karthikeyan G, Mayosi BM, Wyber R, et al. Rheumatic Heart Disease Worldwide: JACC Scientific Expert Panel. *Journal of the American College of Cardiology*. 2018;72:1397-416.
- [3] Leal MTBC, Passos LSA, Guarçoni FV, Aguiar JMdS, Silva RBRd, Paula TMNd, et al. Rheumatic heart disease in the modern era: recent developments and current challenges. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2019;52.
- [4] Naghavi M, Wang H, Lozano R, Davis A, Liang X, Zhou M, et al. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2015.
- [5] Zuhlke L, Karthikeyan G, Engel ME, Rangarajan S, Mackie P, Cupido-Katya Mauff B, et al. Clinical Outcomes in 3343 Children and Adults With Rheumatic Heart Disease From 14 Low- and Middle-Income Countries: Two-Year Follow-Up of the Global Rheumatic Heart Disease Registry (the REMEDY Study). *Circulation*. 2016;134:1456-66.
- [6] Zuhlke L, Engel ME, Karthikeyan G, Rangarajan S, Mackie P, Cupido B, et al. Characteristics, complications, and gaps in evidence-based interventions in rheumatic heart disease: the Global Rheumatic Heart Disease Registry (the REMEDY study). *European heart journal*. 2015;36:1115-22a.
- [7] Carapetis JR. The stark reality of rheumatic heart disease. *European heart journal*. 2015;36:1070-3.
- [8] Karthikeyan G, Guilherme L. Acute rheumatic fever. *Lancet*. 2018;392:161-74.
- [9] Tandon R, Sharma M, Chandrashekar Y, Kotb M, Yacoub MH, Narula J. Revisiting the pathogenesis of rheumatic fever and carditis. *Nature reviews Cardiology*. 2013;10:171-7.
- [10] Mechmeche R, Zaroui A, Aloui S, Boukhris M, Allal-Elasmi M, Kaabachi N, et al. Late mitral restenosis after percutaneous commissurotomy: Predictive value of

inflammation and extracellular matrix remodeling biomarkers. *Heart & Lung*. 2017;46:258-64.

[11] Woldu B, Bloomfield GS. Rheumatic Heart Disease in the Twenty-First Century. *Current cardiology reports*. 2016;18:96.

[12] Kaplan EL. Pathogenesis of acute rheumatic fever and rheumatic heart disease: evasive after half a century of clinical, epidemiological, and laboratory investigation. *Heart*. 2005;91:3-4.

[13] Guilherme L, Kohler KF, Kalil J. Rheumatic heart disease: mediation by complex immune events. *Advances in clinical chemistry*. 2011;53:31-50.

[14] Carapetis JR, Beaton A, Cunningham MW, Guilherme L, Karthikeyan G, Mayosi BM, et al. Acute rheumatic fever and rheumatic heart disease. *Nature reviews Disease primers*. 2016;2:15084.

[15] Guilherme L, Kalil J. Rheumatic fever and rheumatic heart disease: cellular mechanisms leading autoimmune reactivity and disease. *Journal of clinical immunology*. 2010;30:17-23.

[16] Nishimura RA, Otto CM, Bonow RO, Carabello BA, Erwin JP, 3rd, Guyton RA, et al. 2014 AHA/ACC guideline for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2014;148:e1-e132.

[17] Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *European heart journal cardiovascular Imaging*. 2015;16:233-70.

[18] BRASILEIRO, Filho G: Bogliolo: Patologia. 7. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 1472 p.

[19] Rajamannan NM. Calcified Rheumatic Valve Neoangiogenesis Is Associated With Vascular Endothelial Growth Factor Expression and Osteoblast-Like Bone Formation. *Circulation*. 2005;111:3296-301.

- [20] Sen U, Banerjee T, Mukherjee S, Ghosh S, Biswas M, Dutta S, et al. Clinical Significance of Markers of Collagen Metabolism in Rheumatic Mitral Valve Disease. *PLoS ONE*. 2014;9:e90527.
- [21] Fae, KC, da Silva, DD, Oshiro, SE, et al. Mimicry in recognition of cardiac myosin peptides by heart-intralesional T cell clones from rheumatic heart disease. *J Immunol* 2006;176:5662-70.
- [22] Cunningham, MW. Pathogenesis of group A streptococcal infections. *Clin Microbiol Rev* 2000;13:470-511.
- [23] Ellis Nadia MJ, Kurahara David K, Vohra H, Mascaro-Blanco A, Erdem G, Adderson Elisabeth E, et al. Priming the Immune System for Heart Disease: A Perspective on Group A Streptococci. *The Journal of Infectious Diseases*. 2010;202:1059-67.
- [24] Roberts S, et al. Pathogenic Mechanisms in Rheumatic Carditis: Focus on Valvular Endothelium. *The Journal of Infectious Diseases* 2001;183:507–11.
- [25] De Oliveira Martins C, Santos KS, Ferreira FM, Teixeira PC, Pomerantzeff PMA, Brandão CMA, et al. Distinct Mitral Valve Proteomic Profiles in Rheumatic Heart Disease and Myxomatous Degeneration. *Clinical Medicine Insights: Cardiology*. 2014;8:CMC.S17622.
- [26] Kim L, Kim DK, Yang WI, Shin DH, Jung IM, Park HK, et al. Overexpression of Transforming Growth Factor- β 1 in the Valvular Fibrosis of Chronic Rheumatic Heart Disease. *Journal of Korean Medical Science*. 2008;23:41.
- [27] Levine RA, Hagège AA, Judge DP, Padala M, Dal-Bianco JP, Aikawa E, et al. Mitral valve disease—morphology and mechanisms. *Nature Reviews Cardiology*. 2015;12:689-710.
- [28] Rheumatic fever and rheumatic heart disease: report of a WHO expert consultation on rheumatic fever and rheumatic heart disease. World Health Organization. Geneva, 2001 Oct 29 - Nov 1.
- [29] Andrade J.P., Marin-Neto J.A., Paola A.A.V., Vilas-Boas F., Oliveira G.M.M., Bacal F., Bocchi E.A, Almeida D.R., Fragata Filho A.A., Moreira M.C.V., Xavier S.S., Oliveira Junior W. A., Dias J.C.P. et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz Latino Americana para o Diagnóstico e Tratamento da Cardiopatia Chagásica.

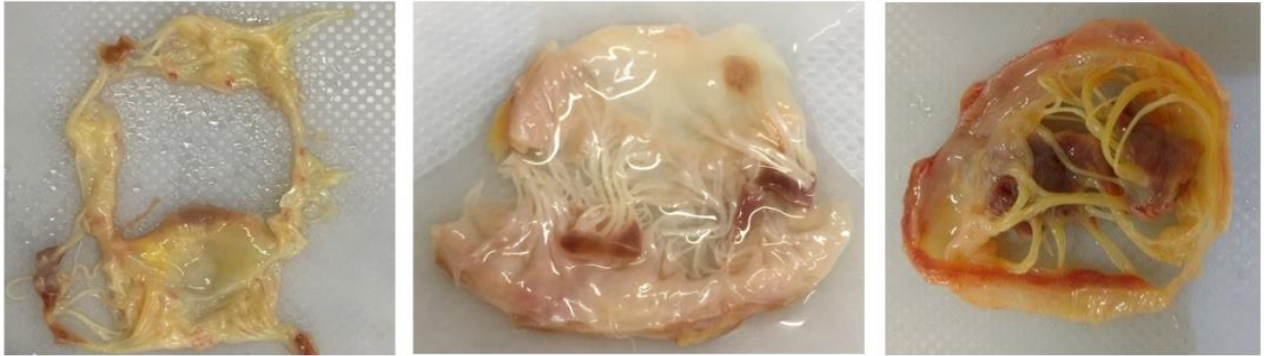
Figure legends**Controls****Rheumatic mitral valves**

Figure 1: Gross morphological aspects of the mitral valves from controls and patients with rheumatic heart disease. Note that in rheumatic valves, the anterior and posterior mitral leaflets are fused at the commissures. The chordae are shortened and fused.

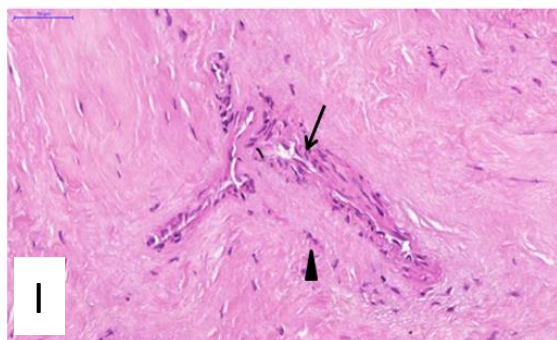
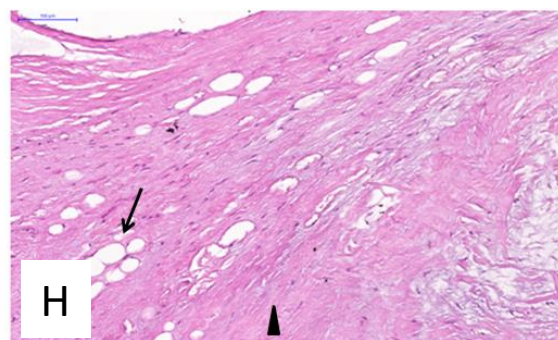
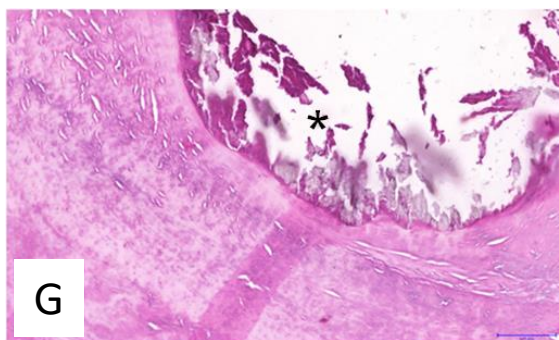
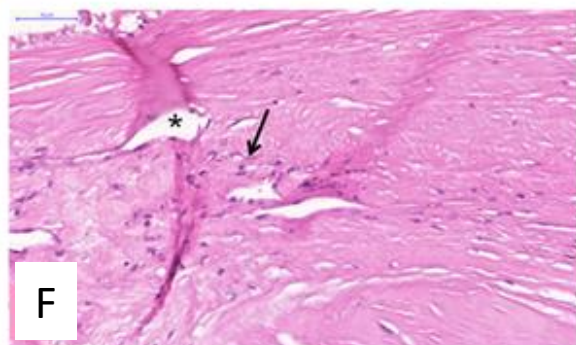
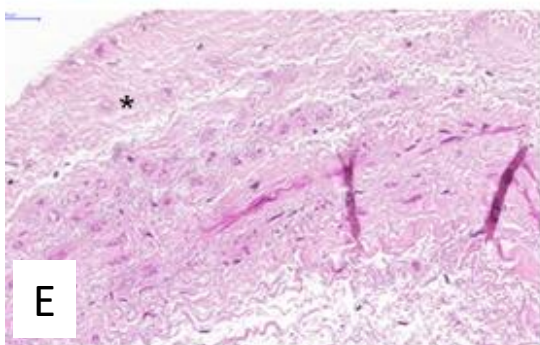
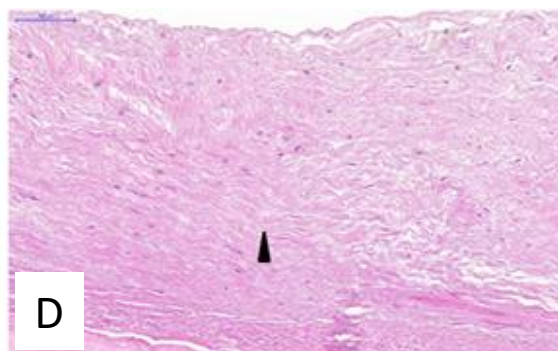
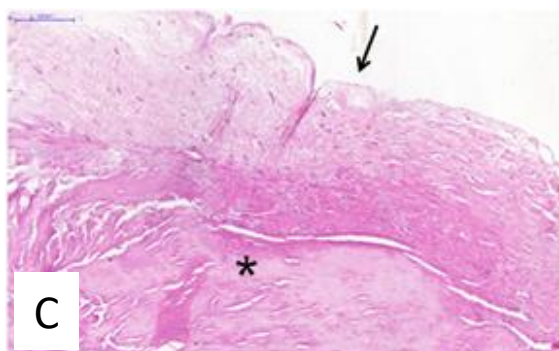
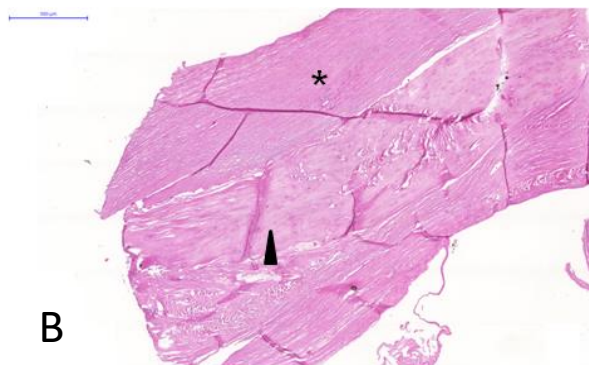
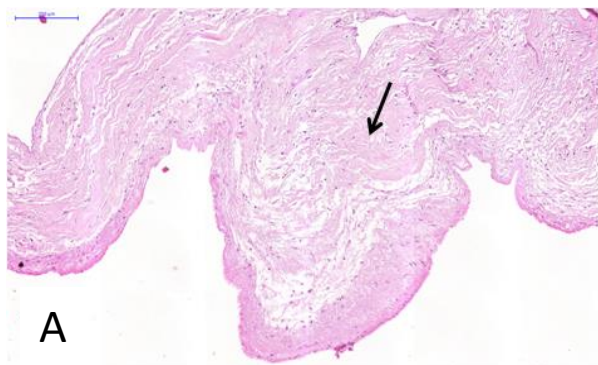


Figure 2: Representative histological image of mitral valve from controls and rheumatic heart disease patients stained with Hematoxylin-eosin.

A. Histologic view of a control mitral valve, showing mild fibrosis (arrow).

B. Rheumatic mitral valve with severe endocardial (asterisk) and interstitial (arrowhead) fibrosis.

Panels C-I show specific aspects of mitral valves from rheumatic heart disease patients

C. Presence of the endocardium (arrow) and interstitium (asterisk) valvar. In the endocardium, there is mild fibrosis.

D. Moderate fibrosis in the endocardium (arrowhead). Staining: hematoxylin-eosin.

E. Neovascularization (asterisk) in the valvar endocardium.

F. Inflammatory foci (arrow) are detectable within neovascularization foci (asterisk).

G. Nodular calcification (asterisk).

H. Adipose metaplasia (arrow) with areas of fibrosis (arrowhead).

I. Neovascularization (arrow) with some inflammatory elements (arrowhead).

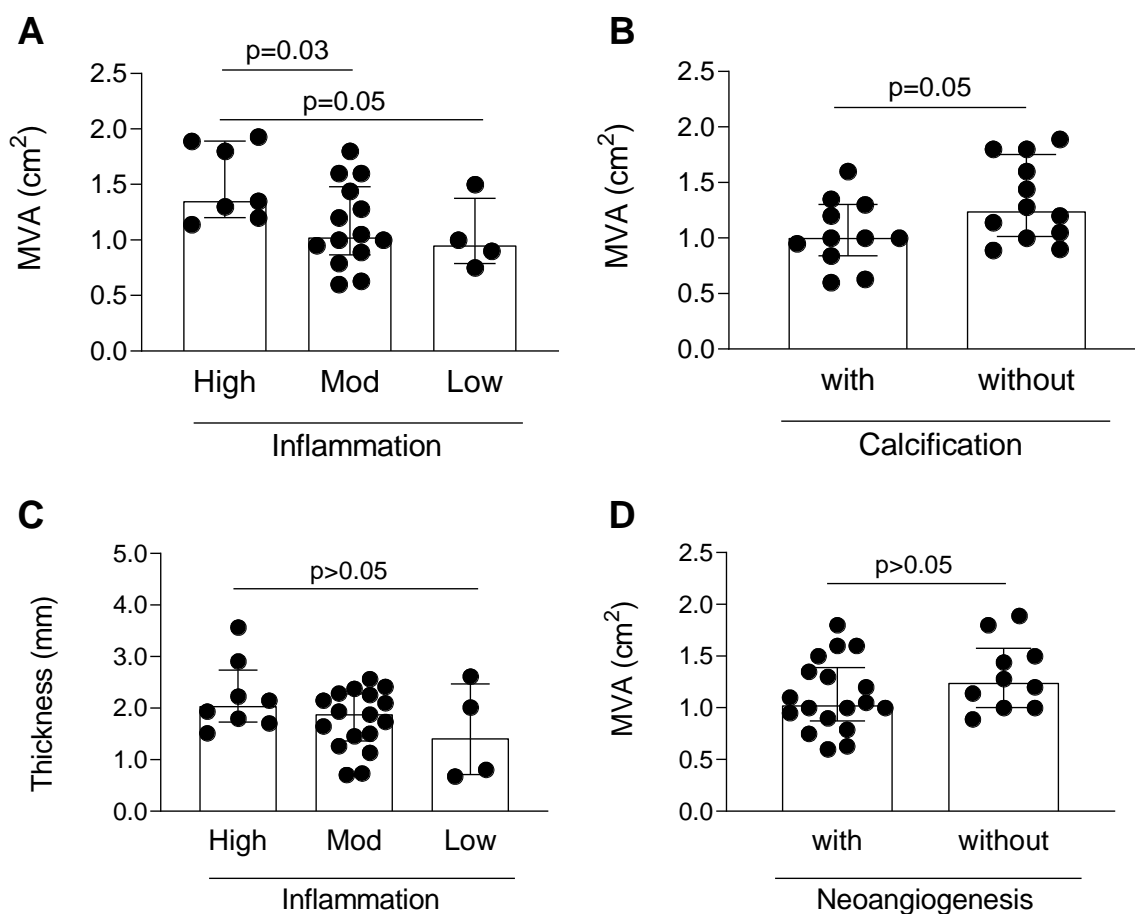


Figure 3: Associations between histologic findings and mitral valve area and leaflet thickness.

A. Mitral valve with high and moderate degree of inflammation show higher valve area compared with valves with low degree of inflammation.

B. Calcification was associated with mitral valve area, indicating mitral stenosis as a predominant lesion in more calcified valves.

C. Association between leaflet thickness and intensity of inflammation.

D. Association between neoangiogenesis and mitral valve area

TABLES**Table 1:** Demographic, clinical and echocardiographic data of the patients who underwent mitral valve replacement due to rheumatic heart disease

Variables	Values
Age (years)	53 ± 13.2
Female gender	36 (90)
Right-sided heart failure	12 (30)
Previous mitral valvuloplasty	22 (55)
Previous history of acute rheumatic fever	27 (68)
Use of antibiotic prophylaxis	13 (33)
Atrial fibrillation	24 (60)
Previous stroke	12 (30)
Previous hospitalization for heart failure	17 (43)
Echocardiographic parameters	
Left ventricular end-diastolic diameter (mm)	51.7 ± 10.9
Left ventricular end-systolic diameter (mm)	35.8 ± 8.6
Left ventricular ejection fraction (%)	60.6 ± 10.5
Mitral valve area (cm ²)	1.18 ± 0.37
Left atrial diameter (mm)	55.1 ± 10.5
Pulmonary artery systolic pressure (mmHg)	46.5 ± 18.3
Right ventricular dysfunction	16 (40)

Data are expressed as the mean value ± SD or number (percentage) of patients.

Table 2: Histological data of the rheumatic mitral valves and controls

Variable*		Rheumatic mitral valves (n=40)	Controls (n=20)	p value
Endocardium				
Thickness (mm)		1.3 ± 0.5	0.9 ± 0.4	0.003
Intensity of inflammation	of Absent or mild	38 (95)	20 (100)	0.375
	Moderate or severe	2 (5)	0	
Pattern of inflammation	of Focal	31 (78)	7 (36)	0.004
Intensity of fibrosis	Absent or mild	17 (43)	19 (95)	0.001
	Moderate or severe	23 (57)	1 (5)	
Pattern of fibrosis	Even	23 (57)	0	< 0.001
	Uneven	17 (43)	7 (35)	
Neoangiogenesis		11 (28)	0	0.030
Interstitium				
Intensity of inflammation	of Absent or mild	33 (83)	14 (72)	0.320
	Moderate or severe	7 (18)	6 (28)	
Pattern of inflammation	of Focal	37 (92)	7 (36)	< 0.001
Intensity of fibrosis	Absent or mild	0	14 (71)	< 0.001
	Moderate or severe	40 (100)	6 (29)	
Pattern of fibrosis	Even	4 (10)	0	0.200
	Uneven	36 (90)	20 (100)	
Neoangiogenesis		24 (60)	7 (35)	0.130
Calcification		14 (35)	0	0.010
Adipose metaplasia		4 (11)	4 (21)	0.320

*Data are expressed as mean ± SD or number (percentage) of patients.

Table 3: Histological findings according to the predominant mitral valve lesion

Variable		Pure stenosis (n=18)	Regurgitation and combined lesions (n=22)	p value
Inflammation	Absent or mild	15 (83)	18 (82)	0.900
	Moderate or severe	3 (17)	4 (18)	
Neoangiogenesis		11 (61)	13 (59)	0.897
Calcification		10 (56)	4 (18)	0.014
Adipose metaplasia		1 (6)	4 (18)	0.230

Data are expressed as number (percentage) of patients.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O processo patológico envolvido na cardiopatia reumática é complexo e ainda não está totalmente esclarecido. A identificação de um processo inflamatório ativo no endocárdio valvar, provavelmente o responsável pela manutenção da resposta imune e da progressão da lesão valvar, fornece subsidio para pesquisas adicionais. Nossa perspectiva é prosseguir a avaliação das valvas mitraes reumáticas, associando a identificação das células presentes no infiltrado inflamatório e a dosagem de citocinas no sangue periférico, visando definir estratégias que possam interromper a progressão da valvopatia e suas consequências.

7 REFERÊNCIAS

1. Carapetis JR, Beaton A, Cunningham MW, Guilherme L, Karthikeyan G, Mayosi BM, et al. Acute rheumatic fever and rheumatic heart disease. *Nature Reviews Disease Primers*. 2016;15084.
2. Kim L, Kim DK, Yang WI, Shin DH, Jung IM, Park HK, et al. Overexpression of Transforming Growth Factor- β 1 in the Valvular Fibrosis of Chronic Rheumatic Heart Disease. *Journal of Korean Medical Science*. 2008;23(1):41.
3. Meira ZMA. Long term follow up of rheumatic fever and predictors of severe rheumatic valvar disease in Brazilian children and adolescents. *Heart*. 2005;91(8):1019-22.
4. Massell BF, Chute CG, Walker AM, Kurland GS. Penicillin and the marked decrease in morbidity and mortality from rheumatic fever in the United States. *N Engl J Med* 1988; 318: 280-6.
5. Rothenbühler M, O'Sullivan CJ, Stortecky S, Stefanini GG, Spitzer E, Estill J, et al. Active surveillance for rheumatic heart disease in endemic regions: a systematic review and meta-analysis of prevalence among children and adolescents. *The Lancet Global Health*. 2014;2(12):e717-e26.
6. Ellis NMJ, Li Y, Hildebrand W, Fischetti VA, Cunningham MW. T Cell Mimicry and Epitope Specificity of Cross-Reactive T Cell Clones from Rheumatic Heart Disease. *The Journal of Immunology*. 2005;175(8):5448-56.
7. Harb SC, Griffin BP. Mitral Valve Disease: a Comprehensive Review. *Current Cardiology Reports*. 2017;19(8).
8. Levine RA, Hagège AA, Judge DP, Padala M, Dal-Bianco JP, Aikawa E, et al. Mitral valve disease—morphology and mechanisms. *Nature Reviews Cardiology*. 2015;12(12):689-710.
9. OVALLE, William K.; NAHIRNEY, Patrick C.; NETTER, Frank Henry. *Netter bases da histologia*. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.
10. Luxereau P, Dorent R, De Gevigney G, Bruneval P, Chomette G, Delahaye G. Aetiology of surgically treated mitral regurgitation. *Eur Heart J*. 1991;12(Suppl B):2–4.

11. Tarasoutchi F, Montera MW, Grinberg M, Barbosa MR, Piñeiro DJ, Sánchez CRM, Barbosa MM, Barbosa GV et al. Diretriz Brasileira de Valvopatias - SBC 2011 / I Diretriz Interamericana de Valvopatias - SIAC 2011. *Arq Bras Cardiol* 2011; 97(5 supl. 1): 1-67.
12. Lawrence JG, Carapetis JR, Griffiths K, Edwards K, Condon JR. Acute Rheumatic Fever and Rheumatic Heart Disease: Incidence and Progression in the Northern Territory of Australia, 1997 to 2010. *Circulation*. 2013;128(5):492-501.
13. Carapetis JR, Steer AC, Mulholland EK, Weber M. The global burden of group A streptococcal diseases. *The Lancet Infectious Diseases*. 2005;5(11):685-94.
14. Zühlke LJ, Beaton A, Engel ME, Hugo-Hamman CT, Karthikeyan G, Katzenellenbogen JM, et al. Group A Streptococcus, Acute Rheumatic Fever and Rheumatic Heart Disease: Epidemiology and Clinical Considerations. *Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine*. 2017;19(2).
15. Edwards WD, Peterson K, Edwards JE. Active valvulitis associated with chronic rheumatic valvular disease and active myocarditis. *Circulation*. 1978;57:181–5.
16. Tubridy-Clark M, Carapetis JR. Subclinical carditis in rheumatic fever: A systematic review. *International Journal of Cardiology*. 2007;119(1):54-8.
17. Veasy LG. Myocardial dysfunction in active rheumatic carditis. *J Am Coll Cardiol*. 1994;24:581–2.
18. Barbosa PJB, Müller RE, Latado AL, Achutti AC, Ramos AIO, Weksler C, et al. Diretrizes Brasileiras para Diagnóstico, Tratamento e Prevenção da Febre Reumática da Sociedade Brasileira de Cardiologia, da Sociedade Brasileira de Pediatria e da Sociedade Brasileira de Reumatologia. *Arq Bras Cardiol*.2009;93(3 supl.4):1-18
19. Chin TK, et al. Pediatric Rheumatic Heart Disease. <https://emedicine.medscape.com/article/891897-overview>
20. Baysal E, Burak C, Cay S, Aksu T, Altintas B, Yaylak B, et al. The neutrophil to lymphocyte ratio is associated with severity of rheumatic mitral valve stenosis. *Journal of Blood Medicine*. 2015:151.

21. Watkins DA, Johnson CO, Colquhoun SM, Karthikeyan G, Beaton A, Bukhman G, et al. Global, Regional, and National Burden of Rheumatic Heart Disease, 1990–2015. *New England Journal of Medicine*. 2017;377(8):713-22.
22. Muller RE. Estudo longitudinal de pacientes portadores de cardiopatia reumática no Rio de Janeiro [Dissertação de Mestrado]. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde/FIOCRUZ; 2008.
23. Nascimento BR, Beaton AZ, Nunes MCP, Diamantino AC, Carmo GAL, Oliveira KKB, et al. Echocardiographic prevalence of rheumatic heart disease in Brazilian schoolchildren: Data from the PROVAR study. *International Journal of Cardiology*. 2016;219:439-45.
24. Pato MF, Gelape CL, Cassiano TJM, Carvalho A, Cintra PR, Passaglia LG, et al. Determinants of prolonged length of hospital stay after cardiac surgery: impact of rheumatic heart disease. *Medical Express*. 2015;2(3).
25. Spina GS. Doença reumática: negligenciada, mas ainda presente e mortal *Rev Med (São Paulo)*. 2008 abr.-jun.;87(2):128-41.
26. Martin WJ, Steer AC, Smeesters PR, Keeble J, Inouye M, Carapetis J, et al. Post-infectious group A streptococcal autoimmune syndromes and the heart. *Autoimmunity Reviews*. 2015;14(8):710-25.
27. Williams RC. Host Factors in Rheumatic Fever and Heart Disease. *Hospital Practice*. 2016;17(8):125-38.
28. Ellis Nadia MJ, Kurahara David K, Vohra H, Mascaro-Blanco A, Erdem G, Adderson Elisabeth E, et al. Priming the Immune System for Heart Disease: A Perspective on Group A Streptococci. *The Journal of Infectious Diseases*. 2010;202(7):1059-67.
29. Kemeny E, Grieve T, Marcus R et al. Identification of mononuclear cells and T cell subsets in rheumatic valvulitis. *Clin Immunol Immunopathol*. 1989;52:225-37.
30. Raizada V, Williams RC JR, Chopra P et al. Tissue distribution of lymphocytes in rheumatic heart valves as defined by monoclonal anti-T cells antibodies. *Am J Med*. 1983;74:225-37

31. Bryant PA, Robins-Browne R, Carapetis JR, Curtis N. Some of the People, Some of the Time: Susceptibility to Acute Rheumatic Fever. *Circulation*. 2009;119(5):742-53.
32. Fae, KC, da Silva, DD, Oshiro, SE, et al. Mimicry in recognition of cardiac myosin peptides by heart-intralesional T cell clones from rheumatic heart disease. *J Immunol* 2006;176:5662-70.
33. Cunningham, MW. Pathogenesis of group A streptococcal infections. *Clin Microbiol Rev* 2000;13:470-511.
34. Guilherme L, Ramasawmy R, Kalil J. Rheumatic Fever and Rheumatic Heart Disease: Genetics and Pathogenesis. *Scandinavian Journal of Immunology*. 2007;66(2-3):199-207.
35. Yutzey K, Martins CdO, Demarchi L, Ferreira FM, Pomerantzeff PMA, Brandao C, et al. Rheumatic Heart Disease and Myxomatous Degeneration: Differences and Similarities of Valve Damage Resulting from Autoimmune Reactions and Matrix Disorganization. *Plos One*. 2017;12(1):e0170191.
36. BRASILEIRO, Filho G: Bogliolo: Patologia. 7. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 1472 p.
37. Rajamannan NM. Calcified Rheumatic Valve Neoangiogenesis Is Associated With Vascular Endothelial Growth Factor Expression and Osteoblast-Like Bone Formation. *Circulation*. 2005;111(24):3296-301.
38. Gewitz MH, Baltimore RS, Tani LY, Sable CA, Shulman ST, Carapetis J, et al. Revision of the Jones Criteria for the Diagnosis of Acute Rheumatic Fever in the Era of Doppler Echocardiography: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2015;131(20):1806-18.
39. Roberts K, Maguire G, Brown A et al. Prevalence of rheumatic heart disease in high-risk children in northern Australia: Application of the 2012 World Heart Federation criteria: abstract no 815. *SA Heart* 2013;10:270.
40. Caldas ÁM, Terreri MTRA, Moises VA, Silva CMC, Len CA, Carvalho AC, et al. What is the True Frequency of Carditis in Acute Rheumatic Fever? A Prospective Clinical and Doppler Blind Study of 56 Children with up to 60 Months of Follow-Up Evaluation. *Pediatric Cardiology*. 2008;29(6):1048-53.

41. He VYF, Condon JR, Ralph AP, Zhao Y, Roberts K, de Dassel JL, et al. Long-Term Outcomes From Acute Rheumatic Fever and Rheumatic Heart Disease Clinical Perspective. *Circulation*. 2016;134(3):222-32.
42. Zhang W, Mondo C, Okello E, Musoke C, Kakande B, Nyakoojo W, et al. Presenting features of newly diagnosed rheumatic heart disease patients in Mulago Hospital : a pilot study : cardiovascular topics. *Cardiovascular Journal Of Africa*. 2013;24(2):28-33.
43. Magalhães LP, Figueiredo MJO, Cintra FD, Saad EB, Kuniyishi RR, Teixeira RA, et al. II Diretrizes Brasileiras de Fibrilação Atrial. *Arq Bras Cardiol* 2016; 106(4Supl.2):1-22
44. Kirchhof P, Benussi S, Kotecha D, Ahlsson A, Atar D, Casadei B, et al. 2016 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS. *European Heart Journal*. 2016;37(38):2893-962.
45. Robertson KA, Volmink JA, Mayosi BM. Antibiotics for the primary prevention of acute rheumatic fever: a meta-analysis. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2005;5(1).
46. Wilkins GT, Weyman AE, Abascal VM, Block PC, Palacios IF. Percutaneous balloon dilatation of the mitral valve: an analysis of echocardiographic variables related to outcome and the mechanism of dilatation. *Br Heart J*. 1988;60:299–308.
47. Farhat M, Ayari M, Maatouk F, et al. Percutaneous balloon versus surgical closed and open mitral commissurotomy: seven-year follow-up results of a randomized trial. *Circulation*. 1998;97:245–50.
48. Nishimura RA, Otto CM, Bonow RO, Carabello BA, Erwin JP III, Guyton RA, O’Gara PT, Ruiz CE, Skubas NJ, Sorajja P, Sundt TM III, Thomas JD. 2014 AHA/ACC guideline for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2014; 129.
49. Shenthar J, Kalpana SR, Prabhu MA, Rai MK, Nagashetty RK, Kamlapurkar G. Histopathological Study of Left and Right Atria in Isolated Rheumatic Mitral Stenosis With and Without Atrial Fibrillation. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. 2016;27(9):1047-54.

50. Galli D, Manuguerra R, Monaco R, Manotti L, Goldoni M, Becchi G, et al. Understanding the structural features of symptomatic calcific aortic valve stenosis: A broad-spectrum clinico-pathologic study in 236 consecutive surgical cases. *International Journal of Cardiology*. 2017;228:364-74.

8 ANEXOS

8.1 Anexo 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TÍTULO: Estudo anatomopatológico da valva mitral acometida pela doença reumática

INTRODUÇÃO:

Antes de aceitar para participar desta pesquisa, é necessário que você leia e compreenda a seguinte explicação sobre o procedimento proposto. Esta declaração descreve o objetivo, procedimentos, benefícios, riscos, desconforto e precauções do estudo.

OBJETIVO:

Avaliar a lesão na valva mitral causada pela doença reumática.

RESUMO:

A doença reumática é uma complicação decorrente de amigdalite causada por uma bactéria denominada estreptococo. Apesar do mecanismo não estar bem esclarecido, os pacientes que apresentam a infecção de garganta pelo estreptococo podem ter uma resposta inflamatória intensa e causar problemas nas valvas do coração. A valva mais acometida pelo processo patológico reumático é a valva mitral, que inflamada vai levando a redução da sua abertura ou dificuldade no seu fechamento. Com o funcionamento da valva alterado por essa doença, começam os sintomas de falta de ar, cansaço exagerado, palpitações, além de inchaço nas pernas e outras manifestações menos frequentes. Quando a valva está muito comprometida, está indicada a cirurgia para retirada da valva e colocação de uma valva substituta (prótese valvar). A pesquisa visa analisar a valva mitral doente que foi retirada na cirurgia para estudar vários aspectos da inflamação da valva.

PROCEDIMENTO:

A sua participação neste estudo requer que você concorde que sua valva será analisada para fins de pesquisa, autorizando a utilização de seus dados clínicos e de

fragmentos de sua valva mitral no estudo. A pesquisa não determinará nenhuma interferência na cirurgia ou no seu tratamento.

DESCONFORTO:

As cirurgias serão realizadas no bloco cirúrgico do Hospital das Clínicas da UFMG e as valvas serão encaminhadas ao Setor de Biópsias do Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da UFMG, conforme rotina estabelecida pelo Serviço de Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular. Você não terá nenhum desconforto adicional pela pesquisa.

BENEFÍCIOS:

A sua participação poderá contribuir para uma melhor compreensão da sua doença e possivelmente para uma melhora no seu tratamento, podendo você também beneficiar-se disto no futuro. Além disto, vale dizer que todos os procedimentos serão realizados por profissionais treinados e sem custo para você.

CONFIDENCIALIDADE:

Os resultados de seus exames serão analisados em sigilo até onde é permitido pela lei. No entanto, o pesquisador, o orientador da pesquisa e, sob certas circunstâncias, o Comitê de Ética em Pesquisa UFMG, poderão ter acesso aos dados confidenciais que o identificam pelo nome. Qualquer publicação dos dados não o identificará. Ao assinar este formulário de consentimento, você autoriza a pesquisadora a fornecer seus registros para o pesquisador e para o comitê de Ética em Pesquisa da UFMG.

DESLIGAMENTO:

A sua participação neste estudo é voluntária e sua recusa em participar ou seu desligamento do estudo não acarretará penalidades ou perda de benefícios aos quais você tem direito. Você poderá cessar sua participação a qualquer momento, sem prejuízo para a continuidade de seu tratamento.

CONTATO COM PESQUISADOR:

Pode ser feito pelo telefone 34099438 (Setor de cardiologia Hospital das Clínicas da UFMG) com o pesquisador principal (Dra. Maria do Carmo Pereira

Nunes). Também poderá ser feito o contato com o Comitê de Ética e Pesquisa Humana, Av. Pres. Antônio Carlos, 6627- Unidade Administrativa II – 2º andar – Sala 2005, CEP: 31.270-901 – BH-MG, Telefax (31) 34094592-email: coep@prpq.ufmg.br

CONSENTIMENTO:

Li e entendi as informações precedentes. Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas as minhas dúvidas foram respondidas a contento. Este formulário está sendo assinado voluntariamente por mim, indicando o meu consentimento para que eu próprio participe do estudo, até que eu decida o contrário. Confirmando que recebi uma segunda via desse documento.

Belo Horizonte, _____ de _____ de _____

Ass. do paciente ou responsável: _____

Ass. do pesquisador: _____

8.2 Anexo 2 – Protocolo Clínico

IDENTIFICAÇÃO

Nome:		Prontuário HC:		Nº do estudo: MV _____		
Data de Nascimento: __/__/____		Idade:		Sexo: 1- M <input type="checkbox"/> ; 2 - F <input type="checkbox"/> []		
Endereço	Logradouro:			Telefones	1 - Fixo:	
	Bairro:				2 - Celular:	
	Cidade:				3 - Parente:	
Escolaridade	1. Analfabeto; 2. 1º grau; 3. 2º grau; 4. 3º grau <input type="checkbox"/> []			Profissão:		
Cor	1. Preta; 2. Parda; 3. Indígena; 4. Amarela; 5. Branca <input type="checkbox"/> []			Peso (kg):	Altura (cm):	SC(m²):

HISTÓRIA CLÍNICA ATUAL

Indicação cirúrgica	1. DfVE	2. Sintomas IC	3. Complicações pós VMPB	4. Complicação de EI	5. Outro	[]	
Classe funcional	1. Classe I		2. Classe II	3. Classe III	4. Classe IV	[]	
Sintomas de IVD	1. Sim			2. Não		[]	
Fibrilação / Flutter atrial	1. Sim			2. Não		[]	
Anticoagulação	1. Sim			2. Não		[]	
Co-morbidades	1. Não	2. DAC	3. DM	4. HAS	5. DPOC	6. DRC	[]
Medicamentos em uso	Inibidores da ECA		1. Sim		2. Não		[]
	Antagonistas AT2		1. Sim		2. Não		[]
	β-bloqueadores		1. Sim		2. Não		[]
	Diuréticos de alça		1. Sim		2. Não		[]
	Antagonistas de Aldosterona		1. Sim		2. Não		[]
	Digitálicos		1. Sim		2. Não		[]
	Amiodarona		1. Sim		2. Não		[]
Outros:		1. Sim		2. Não		[]	

HISTÓRIA PREGRESSA

Internações por IC	1. Sim		2. Não		[]	
Endocardite infecciosa	1. Sim		2. Não		[]	
Febre reumática	1. Sim		2. Não		[]	
	Idade do 1º surto:		2. Não		[]	
	Idade do último surto:					
Crítérios maiores: cardite, artrite, poliartralgia, coreia, nódulos, eritema	1. Um		2. Dois ou mais		[]	
Crítérios menores: febre, monoartralgia, VHS, PCR, PR no ECG	1. Nenhum ou um		2. Dois ou mais		[]	
Evidência de Infecção Streptocócica	1. Sim		2. Não		[]	
Manifestações cardíacas ao diagnóstico	1. Dispneia	2. Arritmias	3. Tromboembolias	4. Não	[]	
Antibioticoprofilaxia	1. Sim		2. Não		[]	
Valvoplastia Mitral Prévia	1. Sim		2. Não		[]	
	Tipo:	1. Percutânea com balão		2. Transtorácica		[]
	Nº intervenções:	1. Uma	2. Duas	3. Três ou mais		[]
	Data:	1ª: __/__/____	2ª: __/__/____	3ª: __/__/____		
AVE prévio	1. Sim		2. Não		[]	
	Tipo:	1. AIT	2. AVC	3. AIT e AVC		[]
	Nº de eventos:	1. Um	2. Dois	3. Três ou mais		[]
	Data:	1ª: __/__/____	2ª: __/__/____	3ª: __/__/____		
HF de febre reumática	1. Sim		2. Não		[]	
HF cardiopatia reumática	1. Sim		2. Não		[]	
	Nº membros:	1. Um	2. Dois	3. Três ou mais		[]
	Sexo(s):	1. Feminino(s)	2. Masculino(s)	3. Ambos		[]
	Idade 1º surto:					

EXAME FÍSICO CARDIOVASCULAR

<u>FC (bpm):</u>	<u>SatO₂ (%):</u>	<u>PAS (mmHg):</u>	<u>PAD (mmHg):</u>		
Amplitude do pulso arterial	1. Normal		2. Amplitude reduzida	[]	
Ritmo do pulso arterial	1. Normal		2. Irregular	[]	
Pulso venoso jugular	1. Normal	2. Onda A proeminente	3. Distendido	[]	
Impulso <u>paraesternal VD</u>	1. Ausente		2. Presente	[]	
B1	1. Normal	2. <u>Hiperfonética</u>	3. <u>Hipofonética</u>	[]	
B2	1. Normal	2. <u>Hiperfonética</u>	3. <u>Hipofonética</u>	[]	
B3	1. Ausente		2. Presente	[]	
Sopro sistólico	1. Ausente	2. Ápice	3. BEE	4. Ambos	[]
Sopro diastólico	1. Ausente	2. <u>Protodiastólico</u>	3. <u>Holodiastólico</u>	[]	

8.3 Anexo 3 – Protocolo Ecocardiográfico

ECOCARDIOGRAMA

Data:	Imagem 3D:	1. Sim	2. Não	[]	
Lesão valvar predominante	Mitral	1. estenose	2. insuficiência	3. Dupla lesão	[]
	Aórtica	1. estenose	2. insuficiência	3. dupla lesão	4. ausente
Regurgitação mitral	1. Ausente	2. Leve	3. Moderada	4. Grave	[]
Regurgitação tricúspide	1. Ausente	2. Leve	3. Moderada	4. Grave	[]
Disfunção do VD	1. Ausente	2. Leve	3. Moderada	4. Grave	[]
VEd (mm):	VEs (mm):	FE (%):	AE (mm):		
Área MV (cm²):	Grad. Máximo (mmHg):	Grad. Médio (mmHg):	PSAP (mmHg):		
Provável mecanismo de regurgitação mitral (ECO):					

8.4 Anexo 4 – Protocolo Histológico

ENDOCÁRDIO	ESPESSURA (MM)					
	INFLAMAÇÃO	INTENSIDADE	0 (ausente)	1 (leve)	2 (moderado)	3 (acentuado)
		DISTRIBUICAO	0 (ausente)	1 (focal)	2 (difuso)	
	FIBROSE	TIPO CELULAR	0 (ausente)	1 (mononucleares)	2 (polimorfonucleares)	
		INTENSIDADE	0 (ausente)	1 (leve)	2 (moderado)	3 (acentuado)
		DISTRIBUICAO	0 (ausente)	1 (regular)	2 (irregular)	
	NEOANGIOGÊNESE	0 (ausente)	1 (leve)	2 (moderado)	3 (acentuado)	
INTERSTÍCIO	FIBROSE	INTENSIDADE	0 (ausente)	1 (leve)	2 (moderado)	3 (acentuado)
		DISTRIBUICAO	0 (ausente)	1 (regular)	2 (irregular)	
	CALCIFICAÇÃO		0 (ausente)	1 (leve)	2 (moderado)	3 (acentuado)
	INFLAMAÇÃO	INTENSIDADE	0 (ausente)	1 (leve)	2 (moderado)	3 (acentuado)
		DISTRIBUICAO	0 (ausente)	1 (focal)	2 (difuso)	
		TIPO CELULAR	0 (ausente)	1 (mononucleares)	2 (polimorfonucleares)	
		NEOANGIOGÊNESE	0 (ausente)	1 (leve)	2 (moderado)	3 (acentuado)
		SANGRAMENTO	0 (ausente)	1 (antigo)	2 (novo)	
	METAPLASIA	ADIPOSA	0 (ausente)	1 (presente)		

8.5 Anexo 5 – Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Projeto: CAAE - 32715214.9.0000.5149

Interessado(a): Prof.^a Maria do Carmo Pereira Nunes
Departamento de Clínica Médica
Faculdade de Medicina- UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 27 de janeiro de 2015, o projeto de pesquisa intitulado "**Estudo anatomopatológico e imunológico da valva mitral acometida pela doença reumática**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O projeto será encaminhado, com o devido parecer, à CONEP, para avaliação final. O pesquisador deverá aguardar esta aprovação final para iniciar a pesquisa.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

Prof.^a Dr.^a Telma Campos Medeiros Lorentz
Coordenadora do COEP-UFMG