

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS CIRÚRGICAS

**ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS SECUNDÁRIAS À INTERRUPÇÃO
DOS *VASA VASORUM* NA AORTA DESCENDENTE: IMPLICAÇÕES
NA PATOGÊNESE DA DISSECÇÃO AÓRTICA**

Almondi Fagundes

Porto Alegre

2010

**ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS SECUNDÁRIAS À INTERRUPTÃO
DOS *VASA VASORUM* NA AORTA DESCENDENTE: IMPLICAÇÕES
NA PATOGÊNESE DA DISSECÇÃO AÓRTICA**

Almondi Fagundes

A apresentação desta dissertação é exigência do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Cirúrgicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para a obtenção do título de Mestre, área de concentração: Cirurgia Vascular.

Orientador: Prof. Dr. Adamastor Humberto Pereira

Porto Alegre

2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Reitor: Prof. Dr. Carlos Alexandre Netto

Vice-Reitor: Prof. Dr. Rui Vicente Oppermann

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor: Prof. Mauro Antônio Czepielewski

Vice-diretor: Prof. José Geraldo Lopes Ramos

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS CIRÚRGICAS

Chefe: Prof. Milton Berger

Chefe Substituto: Prof. José Carlos Soares de Fraga

COMISSÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS CIRÚRGICAS

Coordenador: Walter José Koff

Coordenador substituto: Cleber Dario Pinto Kruehl

F181e **Fagundes, Almondi**

Alterações histológicas secundárias à interrupção dos *vasa vasorum* na aorta descendente: implicações na patogênese da dissecção aórtica/ Almondi Fagundes ; orient. Adamastor Humberto Pereira – 2010.

98 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Cirúrgicas, Porto Alegre, BR-RS, 2010.

1. Aorta 2. Vasa Vasorum 3. Microcirculação 4. Isquemia e 5.

Dissecção I. Pereira, Adamastor Humberto II. Título.

NLM: WH 380

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

Departamento de Ciências Cirúrgicas

Rua Ramiro Barcelos, nº. 2400

Campus Saúde

Bairro Santa Cecília

CEP: 90035-003

Porto Alegre/RS

Fone: (51) 3308.5161 - 3308.5117

Fax: 3308.5232

Almondi Fagundes

ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS SECUNDÁRIAS À INTERRUÇÃO DOS *VASA VASORUM* NA AORTA DESCENDENTE: IMPLICAÇÕES NA PATOGÊNESE DA DISSECÇÃO AÓRTICA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Cirurgia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para a obtenção do título de Mestre, área de concentração: Cirurgia Vasculuar.

Aprovado em: ___/___/_____.

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação/Tese, ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS SECUNDÁRIAS À INTERRUÇÃO DOS *VASA VASORUM* NA AORTA DESCENDENTE: IMPLICAÇÕES NA PATOGÊNESE DA DISSECÇÃO AÓRTICA elaborada por Almondi Fagundes, como requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre em Cirurgia Vasculuar.

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Guilherme Benjamin Brandão Pitta
Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas

Prof. Dr. Luiz Francisco Machado Costa
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Orlando Wender
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dr. Gilberto Gonçalves de Souza
Hospital de Clínicas de Porto Alegre

*À minha esposa Arthiese,
pelo seu amor, carinho e dedicação.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Adamastor Humberto Pereira, orientador desta dissertação, pela disponibilidade, estímulo e apoio permanentes.

Ao Prof. Clebes Fagundes, pela formação profissional e acadêmica, pelo espírito crítico e pela dedicação associativa.

Ao Prof. Rubens Rodriguez, pela inestimável contribuição na área de Patologia.

Aos Prof. Dr. Eduardo Santiago Ventura de Aguiar, por propiciar a realização de parte desse trabalho no Hospital Veterinário da Universidade de Passo Fundo.

Ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pela avaliação do projeto e pelas pertinentes considerações.

Especialmente às Médicas Veterinárias Rose Karina Corrêa e Marília Teresa de Oliveira, pela importante contribuição e apoio, fundamentais à viabilização desse trabalho.

Aos meus queridos pais, Alfredo e Seny, pelo amor e apoio incondicionais.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Introdução: Existem vários fatores a serem considerados na fisiopatologia da dissecação aórtica tais como: distúrbios hemodinâmicos e os fatores relacionados às propriedades mecânicas e geométricas da parede aórtica. Os *Vasa Vasorum* (VV) parecem ter um importante papel em várias doenças, pois o fluxo sanguíneo insuficiente através dos VV aórticos está envolvido na fisiopatologia da aterosclerose e pode contribuir para a necrose da túnica média da aorta. **Objetivo:** O objetivo era demonstrar pela primeira vez as alterações histológicas que ocorrem na parede aórtica a longo prazo, ou seja, além das 2 semanas de interrupção do fluxo sanguíneo através do VV da aorta descendente em modelo suíno. **Método:** O experimento foi conduzido com 8 suínos jovens, idade média de 8 semanas resultantes do cruzamento das raças Landrace e Large White, pesando em média 25 Kg (21 – 27Kg) e todos os animais eram fêmeas. Por meio de uma incisão tóraco-lateral à esquerda no 6º espaço intercostal, a camada adventícia era incisada transversalmente em cerca de 1/3 da circunferência da aorta. Era então realizada a ligadura das artérias intercostais e a retirada da camada adventícia, por cerca de 5cm na porção média da aorta descendente. Após a retirada da camada adventícia a aorta era envolvida com o pericárdio bovino ao redor da área sem adventícia e então era realizado o fechamento da cavidade torácica. Após a eutanásia em duas, quatro, seis e oito semanas era realizada a retirada do segmento aórtico envolvido por pericárdio e cerca de 5 cm de aorta proximal e distal. A seguir, uma lâmina de cada segmento (proximal, médio e distal) das aortas foi corada pela Hematoxilina e Eosina e uma pelo método de *Weigert – van Gieson*, para coloração das fibras elásticas. **Resultados:** Após duas semanas observamos fibrose subendotelial com preservação da lâmina elástica interna, assim como da camada média nos seus 2/3 internos. Havia um moderado desarranjo das fibras elásticas no 1/3 externo da camada média com um leve infiltrado de linfócitos e neutrófilos. Identificaram-se também focos de angiogênese no 1/3 externo da camada média. Nos animais sacrificados após quatro semanas persistia a fibrose subendotelial com a lâmina elástica interna preservada, assim como a camada média no seu 1/3 interno. Foi identificado um desarranjo estrutural das fibras elásticas e colágenas nos 2/3 externos da camada média. Em relação à inflamação foi observado um infiltrado de linfócitos, histiócitos e neutrófilos nos 2/3 externos da camada média. Quanto à angiogênese foram observados focos nos 2/3 externos da camada média. Após seis semanas os seguintes achados foram identificados: necrose da parede da aorta com fibrose subendotelial. Em relação à inflamação foi identificada necrose com infiltrado linfocítico, histiocitário e neutrofilico em toda a camada média. Quanto à angiogênese observaram-se focos em toda a camada média e na porção subendotelial. Finalmente, após oito semanas havia fibrose de toda a parede da aorta com destruição da lâmina elástica interna. Observamos uma área de inflamação moderada próxima ao endotélio. Havia focos de angiogênese em toda a camada média e na porção subendotelial. **Conclusão:** O nosso estudo confirma que a isquemia induzida pela interrupção total do fluxo sanguíneo através dos vasa vasorum adventíciais leva à degenerações da túnica média, determinando perda da estrutura normal da parede aórtica que é variável em sua localização, intensidade e forma, dependendo do tempo de evolução da lesão. Em resumo, estudamos as alterações histológicas decorrentes da interrupção dos VV da aorta descendente em suínos desde a segunda semana da lesão, até que ocorresse a fibrose completa da parede. Este estudo pode contribuir para um melhor entendimento do papel dos VV na degeneração da parede aórtica e dos mecanismos envolvidos na dissecação.

Palavras-chave: Aorta, Vasa Vasorum, Microcirculação, Isquemia e Dissecação.

ABSTRACT

Introduction: There are several factors to consider in the pathophysiology of aortic dissection, including: hemodynamic disorders and factors related to the mechanical properties and geometry of the aortic wall. The *Vasa Vasorum* (VV) seems to have an important role in various diseases, since insufficient blood flow through VV is involved in the pathophysiology of atherosclerosis and may contribute to necrosis of the media. **Objective:** To demonstrate the histological alterations that occur in aortic wall over the long term, i.e. more than two weeks after the interruption of blood flow through the VV of the descending aorta in a porcine model. **Method:** The experiment was conducted with eight young female pigs, resulting from the crossing of two breeds, Landrace and Large White, with a mean age of 8 weeks, weighing on average 25 kg (21 - 27 kg). Through a left thoracoabdominal incision through the 6th intercostal space, the adventitia was incised transversely in about one third of the circumference of the aorta. The intercostal arteries were then ligated and an area of the adventitia about 5 cm in length was removed from the middle portion of the descending aorta. Then, the area from which the tunica adventitia had been removed, was wrapped in bovine pericardium, after which the chest cavity was closed. Following euthanasia, at two, four, six and eight weeks, the aortic segment wrapped in pericardium was removed together with portions about 5 cm long of proximal and distal aorta. Next, slices from each segment (proximal, middle and distal) of the aorta were stained with hematoxylin and eosin (HE) and *Weigert - Van Gieson* method for elastic fiber staining. **Results:** After two weeks, subendothelial fibrosis was observed with preservation of the internal elastic lamina and the inner 2/3 of the tunica media. There was a slight cellular breakdown in the outer 1/3 of the media with some lymphocyte and neutrophil infiltration. In addition, foci of angiogenesis were identified in the outer 1/3 of the tunica media. In animals sacrificed at four weeks, persisted a subendothelial fibrosis with preservation of the internal elastic lamina and of inner 1/3 of the tunica media. There was structural breakdown of elastic fibers and collagen fibers in the outer 2/3 of the tunica media. Regarding inflammation, lymphocyte and neutrophil infiltration was observed in the outer 2/3 of the tunica media. Foci of angiogenesis were observed in the outer 2/3 of the tunica media. After six weeks, there was necrosis of the aortic wall with subendothelial fibrosis. Regarding inflammation, there was lymphocytic, histiocytic and neutrophil infiltration with necrosis throughout the media. Foci of angiogenesis were observed throughout the tunica media and in the subendothelial portion. Finally, after eight weeks, there was fibrosis of the entire wall of the aorta with destruction of the internal elastic lamina. We observed an area of moderate inflammation near the endothelium. In relation to angiogenesis, foci were observed throughout the tunica media and in the subendothelial portion. **Conclusion:** Our study confirms that the ischemia induced by complete interruption of blood flow through the vasa vasorum (VV) leads to degeneration of the media, determining loss of normal structure of the aortic wall that is variable in its location, intensity and shape, depending on the length and duration of the ischemic insult. In summary, we studied the histological changes caused by the interruption of the VV of the descending aorta in pigs from the second week of the injury until the occurrence of complete fibrosis of the wall at eight weeks. This study may contribute to a better understanding of the role of VV in the degeneration of the aortic wall and the mechanisms involved in aortic dissection.

Keywords: Aorta, Vasa Vasorum, Microcirculation, Ischemia and Dissection.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	55
Gráfico 2	55
Gráfico 3	56
Gráfico 4	56
Gráfico 5	57
Gráfico 6	57
Gráfico 7	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Animal sob anestesia geral e com acesso venoso através da veia marginal da orelha esquerda	36
Figura 2: Acesso cirúrgico através de toracotomia ântero-lateral esquerda	38
Figura 3: Aorta torácica descendente distalmente à origem da artéria subclávia esquerda.....	38
Figura 4: Incisão transversal na parede aórtica para retirada da camada adventícia	39
Figura 5: Aorta torácica descendente sem a camada adventícia.....	40
Figura 6: Colocação do revestimento de pericárdio bovino na aorta.....	40
Figura 7: Coloração de Hematoxilina e Eosina (HE) com aumento original de 25X do segmento sem lesão da aorta torácica	42
Figura 8: Coloração de <i>Weigert – van Gieson</i> com aumento original de 25X do segmento com lesão da aorta torácica.....	43
Figura 9: Peça cirúrgica – aorta torácica descendente.....	48
Figura 10: Coloração de <i>Weigert – van Gieson</i> com aumento original de 50X demonstrando um grau de lesão 1	49
Figura 11: Coloração de Hematoxilina e Eosina (HE) com aumento original de 50X demonstrando um grau de angiogênese 1	49
Figura 12: Coloração de <i>Weigert – van Gieson</i> com aumento original de 100X demonstrando um grau de injúria 2	50
Figura 13: Coloração de Hematoxilina e Eosina (HE) com aumento original de 100X demonstrando um grau de angiogênese e de inflamação 2.....	51
Figura 14: Coloração de <i>Weigert – van Gieson</i> com aumento original de 100X demonstrando um grau de injúria 3	52
Figura 15: Coloração de Hematoxilina e Eosina (HE) com aumento original de 100X demonstrando um grau de angiogênese 3	52

Figura 16: Coloração de <i>Weigert – van Gieson</i> com aumento original de 25X demonstrando um grau de injúria 4 com fibrose da parede aórtica.....	53
Figura 17: Coloração de <i>Weigert – van Gieson</i> com aumento original de 100X demonstrando um grau de injúria 4 com fibrose da parede aórtica.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS

VV	Vasa Vasorum
AAA	Aneurisma de aorta abdominal
IRAD	Registro Internacional de Dissecção Aórtica
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
Kg	Quilogramas
mg	Miligramas
SF	Solução fisiológico
ml	Mililitros
Fig	Figura
h	Hora
n°	Número
min	Minuto
mcg	Microgramas
IV	Intravenosa
NPO	Nada por via oral
HE	Hematoxilina e Eosina
X	Vezes

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. MODELO EXPERIMENTAL.....	19
2.1 Princípios éticos em experimentação animal.....	21
3. MODELO EXPERIMENTAL DE DISSECÇÃO AÓRTICA	244
4. O EFEITO E A DINÂMICA DOS VASA VASORUM.....	27
5. OS VASA VASORUM E A AORTA	30
6. OBJETIVOS	33
7. MATERIAL E MÉTODOS	35
7.1 Modelo Animal	35
7.2 Técnica Cirúrgica.....	37
7.3 Análise Histológica.....	41
8. RESULTADOS	47
9. DISCUSSÃO	60
10. CONCLUSÃO.....	66
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68
ARTIGO ORIGINAL EM PORTUGUÊS	74
ARTIGO ORIGINAL EM INGLÊS.....	87

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A dissecção aórtica aguda é a catástrofe mais comum que afeta a aorta, com uma incidência excedendo o aneurisma de aorta abdominal (AAA) (1). Anualmente morrem nos Estados Unidos da América (EUA) entre 43.000 e 47.000 pessoas por doenças da aorta e seus ramos. A taxa de mortalidade da fase aguda da doença tem sido tradicionalmente considerada como 1% a cada hora na ausência de tratamento. Estudos mais antigos confirmam a mortalidade de 75% em 2 semanas após o início dos sintomas se não tratada (2). Apesar dos avanços no diagnóstico e no manejo clínico, cirúrgico e endovascular da dissecção aórtica, a morbidade e a mortalidade permanecem significativas, com uma mortalidade geral de 27% conforme relato no Registro Internacional de Dissecção Aórtica (IRAD) (3).

Antes de determinarmos a terapêutica mais adequada, tais como: cirurgia, tratamento endovascular com implante de endoprótese ou clínico, devemos entender a história natural da doença e a sua fisiopatologia. Na aorta torácica descendente, uma dilatação aneurismática é usualmente definida como um aumento de duas vezes o diâmetro normal do vaso. Dessa forma, um homem idoso tem como diâmetro máximo normal do arco aórtico distal 2.8cm. Assim uma dilatação da aorta torácica descendente medindo 5.6cm ou mais é definida como sendo um aneurisma (4).

A lesão característica da dissecção aórtica começa com uma ruptura na íntima da aorta por onde a coluna de sangue penetra para criar um espaço intramural aórtico. Histologicamente, esta área da parede aórtica revelará deterioração do colágeno da média e das fibras elásticas, embora seja importante enfatizar que a dissecção aórtica possa ocorrer em uma aorta histologicamente normal. O rompimento típico é transversal e não envolve toda a circunferência da aorta. A camada íntima medial é dissecada

longitudinal e circunferencialmente por uma distância variável (5). O fluxo sanguíneo é usualmente anterógrado, mas pode ser retrógrado na parede aórtica. Entretanto, fluxo retrógrado e dissecação podem ocorrer.

Dependendo do envolvimento circunferencial da parede aórtica, a dilatação do falso lúmen pode diminuir o lúmen verdadeiro. Fenestrações com um flap intimal a jusante ocorrem tipicamente nos troncos ostiais envolvidos na dissecação, levando a lugares de re-entrada do fluxo para o lúmen verdadeiro, mantendo, desta forma, a patência do falso lúmen (5).

O plano usual de dissecação aórtica é descendente póstero-lateral esquerdo. O tronco celíaco, a artéria mesentérica superior e a artéria renal direita tipicamente são nutridas pelo lúmen verdadeiro, e a artéria renal esquerda deriva do falso lúmen, mas variações neste padrão são encontradas com frequência (6).

Anatomicamente, existem três classificações para dissecação aórtica com base na região de ruptura de entrada da íntima e no envolvimento proximal ou distal. Sessenta e cinco por cento das rupturas intimais ocorrem na aorta ascendente, 20%, na aorta descendente, 10%, no arco aórtico e 5%, na aorta abdominal. (7). A classificação proposta por Dailey et al (8) simplifica a dissecação aórtica denominando como Stanford tipo A, aquelas que envolvem a aorta ascendente independente da origem do local de entrada, e de tipo B aquelas que se originam e estão confinadas à aorta descendente. A classificação mais recente para simplificar em categorias anatômicas é: “proximal” e “distal”, são equivalentes à Stanford A e B, respectivamente.

A rápida classificação é essencial para o manejo da dissecação aórtica. Dissecações proximais usualmente requerem reparo cirúrgico de emergência devido ao alto risco de complicações cardioráscicas. Dissecações distais atualmente são manejadas de forma

clínica, a menos que complicações como a síndrome de má perfusão visceral ou de membros inferiores ocorram.

Estima-se que a incidência da dissecção aórtica é de 14 a 20 milhões a cada ano (9). Homens são mais freqüentemente afetados, com um índice de homem: mulher de 5:1 (9). O pico de incidência está entre 50 e 60 anos de idade para dissecção proximal, e de 60 a 70 anos de idade para a dissecção distal (7). Cerca de 2/3 das dissecções são proximais (Stanford A), e os 1/3 restantes são dissecções distais (Stanford B) (10).

Quando avaliamos apenas a dissecção tipo Stanford B, a taxa de mortalidade precoce é de quase 20% após tratamento clínico e de 14% a 39% com o tratamento cirúrgico (11). A sobrevida em 10 anos é de 25% a 50% após tratamento clínico (12) e de 50% a 65% após o tratamento cirúrgico (12). Portanto, há necessidade de se desenvolver um método terapêutico menos invasivo e mais efetivo para o tratamento da dissecção aórtica.

Recentemente, o tratamento endovascular com a colocação de endoprótese tem sido desenvolvido como tratamento menos invasivo para o tratamento da dissecção aórtica (em especial o tipo Stanford B), mas o método ainda não foi estabelecido como a terapêutica padrão (13).

O modelo de tratamento para a dissecção aórtica aguda provavelmente mudará em um futuro próximo com a emergência de novas técnicas endovasculares e de endopróteses especialmente desenhadas para este fim.

MODELO EXPERIMENTAL

2. MODELO EXPERIMENTAL

O objetivo do modelo experimental é imitar as condições fisiopatológicas da dissecção aórtica em humanos: deterioração do colágeno da média e das fibras elásticas, embora seja importante enfatizar que a dissecção aórtica possa ocorrer em aorta histologicamente normal. A camada média de muitos pacientes com dissecção aórtica mostra várias alterações histológicas que poderiam enfraquecer a parede; no entanto não se tem certeza quanto à especificidade dessas lesões e de seu papel em causar a dissecção espontânea. Essas alterações degenerativas variam de uma fragmentação apenas leve do tecido elástico (a anormalidade mais facilmente reconhecida) até uma visível degeneração cística da média (14).

A escolha do animal experimental é de crucial importância. Além das características inerentes às espécies, no que diz respeito ao manejo, ganho ponderal, tamanho e custo, também é necessário atentar para as características de resposta vascular à lesão, sistema de fibrinólise e coagulação. A comparação de uma dessas variáveis, que eventualmente tenha comportamento muito distinto ao observado em humanos, pode gerar um viés importante no estudo. Estudos comparativos demonstraram que o sistema fibrinolítico e de coagulação de primatas não-humanos tem mais similaridade com o humano quando comparado com o de cães e suínos (15). Os animais utilizados com maior frequência para a criação de modelos de dissecção aórtica são os suínos, cães e ratos.

Existem várias diferenças entre os animais, entre os quais o camundongo, coelho, cão, primatas e suínos. O modelo suíno teria como desvantagens o rápido aumento de peso, o gasto com a manutenção e a suscetibilidade à fibrilação ventricular

quando da realização de oclusão coronária durante um procedimento de angioplastia. Como vantagens, teríamos o fácil manejo com os animais, o metabolismo lipídico e o perfil lipoprotéico e também a agregação plaquetária por ser semelhantes aos humanos. Após a lesão endotelial, ocorre formação de trombo e deposição de fibrina, e há similaridade histológica da neointima com a de humanos. Os cães, além dos aspectos éticos e legais existentes no Brasil, por serem um animal doméstico, apresentam diferenças do sistema de coagulação em relação aos seres humanos.

Outros animais, como os primatas, apresentam características semelhantes aos humanos conforme os citados acima. Além disso, as lesões provocadas apresentam remodelamento geométrico nas artérias. Como desvantagens, apresentam muita sensibilidade, a dieta varia, e, conforme a espécie, é de difícil manuseio, além de os estudos apresentarem custo muito elevado, tornando-se inviáveis como modelo de experimentação. Por esses motivos, o suíno foi escolhido como modelo experimental.

Embora os suínos e ovinos não sejam adequados para medições repetidas, seu custo é mais competitivo que o dos cães. Os modelos ovinos são menos utilizados, muito embora suas artérias sejam relativamente grandes e seu sistema de coagulação similar ao humano. A morfologia arterial dos suínos é muito similar à humana; apresentam tendência à hipercoagulabilidade e seu sistema fibrinolítico não é tão eficiente quanto o dos cães. Assim como nos cães, os suínos apresentam artérias periféricas com tamanho adequado para introdução de dispositivos endovasculares. Em suínos da raça Landrace, entre 10 e 12 semanas, a artéria femoral comum varia de 3 a 5 mm de diâmetro; a aorta abdominal apresenta diâmetro aproximado de 6 a 12 mm e a aorta torácica tem em média 14 mm. A manipulação das artérias dos suínos deve ser cuidadosa porque apresentam paredes delicadas, além de, na região inguinal, serem mais profundas, e a manipulação deve ser cuidadosa (16). A estrutura da neointima é muito similar em

humanos, cães e suínos. Tanto o número de células como a composição e matrizes de proteoglicanos são essencialmente as mesmas. Entretanto, a resposta à lesão vascular é drasticamente diferente (17-18). Como já foi mencionado antes, a resposta endotelial dos modelos caninos é mais branda, enquanto que em modelos suínos, a tendência à hipercoagulabilidade e a exagerada hiperplasia podem levar a resultados menos encorajadores (15). A escolha do animal mais apropriado deve, portanto, levar em conta não só as características do mesmo, mas também os objetivos do experimento e as condições do local de sua realização (19).

2.1 Princípios éticos em experimentação animal

A experimentação animal se reveste de uma importância crucial nas pesquisas científicas, contribuindo sobremaneira para o desenvolvimento da Ciência e Tecnologia. Sua vasta contribuição nos diferentes campos científicos vem promovendo, ao longo dos anos, a descoberta de medidas profiláticas e tratamentos de inúmeras enfermidades que acometem os seres vivos. Graças ao bom senso e à conscientização de grande parte dos nossos pesquisadores e professores, foram adotados alguns princípios éticos fundamentais e imprescindíveis, e buscou-se obter recomendações em nível internacional. São estas recomendações que norteiam as boas práticas do bioterismo nacional.

A evolução contínua das áreas de conhecimento humano, com especial ênfase àquelas de biologia, medicina humana e veterinária, e a obtenção de recursos de origem animal para atender necessidades humanas básicas, como a nutrição, trabalho e vestuário, repercutem no desenvolvimento de ações na experimentação animal, razão pela qual se preconizam posturas éticas concernentes aos diferentes momentos de

desenvolvimento de estudos com animais de experimentação (20). O Colégio Brasileiro de Experimentação Animal - COBEA, em 1991, cria os Princípios Éticos na Experimentação Animal (20), postulando doze Artigos que passam a nortear a conduta dos professores e dos pesquisadores na prática do uso de animais.

Com base nestes 12 artigos, pretendemos desenvolver e garantir o pleno respeito à saúde, ao bem-estar, à ética e ao futuro da experimentação animal.

***MODELO EXPERIMENTAL DE DISSECÇÃO
AÓRTICA***

3. MODELO EXPERIMENTAL DE DISSECÇÃO AÓRTICA

Os vasos sanguíneos são compostos por três estruturas básicas: o endotélio, o músculo liso e o tecido conjuntivo, incluindo elementos elásticos. Estes componentes dispõem-se em camadas concêntricas (ou túnicas) – a íntima, a média e a adventícia. A quantidade relativa e a configuração dos componentes estruturais básicos variam em todo o sistema circulatório. Em alguns pontos, adaptações locais às necessidades mecânicas ou metabólicas podem exigir acréscimo, reforço, diminuição ou omissão de alguns componentes.

As artérias são divididas em três tipos, com base em seu tamanho e em alguns aspectos histológicos: 1) artérias elásticas – aorta e seus ramos; 2) artérias musculares – coronárias e renais; 3) artérias pequenas que passam, em sua maioria, dentro da substância dos tecidos e do parênquima dos órgãos.

Nas artérias normais, a camada íntima é composta de células endoteliais de revestimento, com uma quantidade mínima de tecido conjuntivo subendotelial. A íntima é separada da camada média por uma membrana elástica densa (lâmina elástica interna) que é interrompida por fenestrações através das quais as células do músculo liso podem migrar da camada média para a íntima. O limite externo da camada média de muitas artérias é marcado por uma lâmina elástica externa bem definida que, de maneira geral, é um pouco menos bem desenvolvida e delineada do que a membrana interna. Nas artérias grandes e médias, as camadas de músculo liso da túnica média que ficam perto da luz do vaso dependem muito da difusão direta de nutrientes a partir da luz do vaso. A difusão de oxigênio da luz para as camadas mais externas da média é insuficiente nos vasos mais calibrosos e, por isso, pequenas arteríolas originárias na adventícia a partir dos ramos

que saem atravessam esta última camada e enviam brotos para a metade ou dois terços externos da média, uma região que não é nutrida a partir da luz. Estes vasos que perfundem as paredes vasculares são chamados vasa vasorum (VV), o que significa “vaso dos vasos”. Além da camada média, fica a camada adventícia, uma camada pouco definida de tecido conjuntivo no qual existem fibras nervosas e vasa vasorum dispersos. (14).

O EFEITO E A DINÂMICA DOS VASA VASORUM

4. O EFEITO E A DINÂMICA DOS VASA VASORUM

O Vasa Vasorum (VV) são pequenas artérias que entram na parede vascular pela superfície externa (VV externos) ou superfície luminal (VV internos), e ramificam para irrigar a túnica média. Os VV são dinâmicos e podem transitoriamente ser comprimidos pela parede arterial subjacente e/ou dilatar ou se contrair por diferentes estímulos. Estas várias capacidades dos VV desempenham um importante papel na regulação da perfusão da parede arterial (21).

Os VV circundam e penetram a camada adventícia e a camada externa das grandes artérias e veias: aorta, veia cava, artérias coronárias, femorais, carótidas e algumas artérias intracerebrais (22). Os VV externos consistem-se de uma rede de pequenas artérias acompanhadas de duas veias, originando-se de diferentes locais: aorta ascendente e arco (coronárias e tronco supra-aórticos), aorta descendente (intercostais) e aorta abdominal (lombares e mesentéricas). A parede dos VV consiste de uma camada de musculatura lisa que envolve uma camada simples de endotélio, indicando que esses vasos tem capacidade de regulação do tônus (23).

A função dos VV está relacionada à nutrição da parede arterial. A aorta abdominal humana apresenta um menor número de VV e é também a área mais propensa ao desenvolvimento da aterosclerose e aneurismas (24). A tensão de oxigênio e a espessura da parede do vaso sanguíneo parecem ser importantes determinantes da presença de VV, desempenhando um importante papel nas doenças que levam a um espessamento da parede ou a hipóxia. As presenças de várias camadas de células musculares lisas implicam em que os VV regulem ativamente o seu tônus, ao invés de servirem como canais passivos de transporte do fluxo sanguíneo (25-36). A presença dos

VV na parede arterial dos vasos sanguíneos é considerada fundamental para a manutenção saudável e fisiológica do vaso (37).

OS VASA VASORUM E AORTA

5. OS VASA VASORUM E A AORTA

A nutrição das camadas externas, ou seja, dos 2/3 externos da camada média da aorta torácica se dá pelos VV. Sabe-se que a diminuição do aporte de fluxo sanguíneo para a parede aórtica produz uma degeneração e necrose da camada média (38).

Os VV são mais abundantes na aorta ascendente e no arco aórtico, justamente os segmentos mais suscetíveis ao desenvolvimento da dissecação de aorta. A isquemia aórtica é limitada às camadas externas provavelmente porque as camadas internas se nutrem por difusão diretamente do lúmen e pelos VV internos (3-4, 38).

Os VV têm um importante papel em várias doenças, pois o fluxo sanguíneo insuficiente através dos VV aórticos pode contribuir para a necrose da camada média da aorta e na aterosclerose aórtica (28).

A remoção da gordura periaórtica que contém os VV da aorta ascendente de cães resultou em uma extensa necrose da camada média e uma diminuição na distensibilidade da aorta. Estudos prévios em aorta de caninos indicam que a redução do fluxo pelos VV produz mudanças agudas na distensibilidade e em mudanças estruturais na parede aórtica (33, 37).

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) crônica é indiscutivelmente o principal fator predisponente para a dissecação de aorta e é responsável pela hipertrofia e hiperplasia das células musculares lisas da aorta (15-16, 18, 38).

Nas crises hipertensivas, a isquemia é agravada devido ao aumento da demanda metabólica e à vasoconstrição dos VV (4, 8, 38). Alguns autores sugerem que a diminuição no fluxo dos VV aórticos durante a hipertensão pode resultar na distensão

aórtica e no colapamento dos VV. A deformação e o estiramento da parede da aorta torácica podem comprimir os VV durante uma crise hipertensiva. Esse aumento na tensão transmitido para as células musculares lisas da aorta, assim como para as fibras de colágeno e elastina, pode distorcer ou comprimir os VV, resultando em um aumento da resistência vascular, devido ao aumento da tensão circunferencial, diminuindo assim a pressão de perfusão dos VV (28).

A aorta torácica de pacientes hipertensos de longa data desenvolve uma região interna com elasticidade normal e uma camada externa isquêmica com aumento da rigidez. Estas diferenças de elasticidade entre as duas regiões levam a uma força de cisalhamento interlaminar, podendo levar ao descolamento delas e, conseqüentemente, à dissecação aórtica (38).

OBJETIVOS

6. OBJETIVOS

Por ser a dissecção aórtica uma patologia que incide em um grande número de pessoas e por apresentar uma alta taxa de mortalidade com os tratamentos atuais, urge a necessidade de se desenvolver um método terapêutico menos invasivo e mais efetivo para o tratamento desta patologia, e, para esse desenvolvimento, necessitamos entender melhor a gênese desta patologia.

- Avaliar as mudanças histológicas da aorta torácica após a remoção dos Vasa Vasorum num modelo experimental porcino.
- Analisar os seguintes parâmetros histológicos: grau de injúria, grau de angiogênese e grau de inflamação.
- Comparar as alterações histológicas em lesões agudas (até 2 semanas) com lesões crônicas (>2 semanas).

MATERIAL E MÉTODOS

7. MATERIAL E MÉTODOS

7.1 Modelo Animal

O estudo foi aprovado pelo Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), projeto 06548, e o experimento foi realizado de acordo com o protocolo de anestesia animal do Hospital Veterinário da Universidade de Passo Fundo (UPF).

O experimento foi conduzido com 8 suínos jovens, idade média de 8 semanas, resultantes do cruzamento das raças Landrace e Large White, pesando em média 25 Kg (21 – 27Kg) e todos os animais eram fêmeas. Um animal foi excluído da análise devido ao óbito no transoperatório por ruptura da aorta torácica e choque hipovolêmico durante a retirada da camada adventícia da aorta torácica descendente. Os sete animais restantes foram divididos em grupos de 2 semanas após a lesão (3 animais), 4 semanas (2 animais), 6 semanas (1 animal) e 8 semanas (1 animal) da lesão. Todas as intervenções foram realizadas com o animal sob anestesia geral.

Os suínos ficaram em jejum alimentar de 12 horas - dieta sólida; 4 horas - dieta líquida. Os animais foram pesados após a indução pré-anestésica. A via de acesso venoso utilizada para infusão de líquidos e drogas foi a veia marginal da orelha, obtida por meio de um cateter de teflon (ABBOCATH®). Os suínos foram pré-medicados com Acepran (0.1mg/kg), Midazolam (0,3mg/kg) e Morfina (0,5mg/kg) por via intramuscular. Após 10 minutos, foi realizado o acesso venoso na veia marginal da

orelha para administração de fluidoterapia, SF 0,9% (5ml/kg/h), conforme demonstrado na Figura 1.



Figura 1: Animal sob anestesia geral e com acesso venoso através da veia marginal da orelha esquerda.

A indução tem como parâmetros o desaparecimento do reflexo laringotraqueal e/ou discreto desaparecimento do reflexo óculo palpebral, seguindo-se de intubação por via orotraqueal com lâmina longa.

Os animais foram ventilados com oxigênio por meio de ambú, e a posição do tubo nº 7-7.5 certificada pela ausculta pulmonar. A reposição hídrica foi com solução fisiológica a 0,9% 20 ml/kg/hora.

Os animais foram pré-oxigenados durante 5 minutos, antes da indução anestésica, realizada com propofol (1mg/kg). A manutenção da anestesia geral foi realizada com infusão de propofol (0,8mg/kg/min). Para analgesia no transoperatório, foi utilizado fentanil (50 mcg/kg) e bupivacaína como anestésico local (1mg/kg). No pós-

operatório imediato, foi aplicado cetoprofeno (2mg/kg) por via intramuscular. Após a intubação endotraqueal, os animais foram mantidos sob ventilação mecânica e propofol, com monitorização eletrocardiográfica e hemodinâmica contínua durante o procedimento.

7.2 Técnica Cirúrgica

Foi utilizado antibioticoterapia com cefazolina 1g IV na indução anestésica.

O tórax foi preparado por degermação e escovação com sabão anti-séptico, assepsia com álcool iodado a 2% e colocação de campos cirúrgicos fixados com pinças de Backaus.

É feita uma incisão tóraco-lateral à esquerda no 6º espaço intercostal, divulsão muscular e entrada na cavidade pleural e realizado o descolamento com dissecação roma da aorta torácica, com cuidado para evitar lesão das artérias intercostais e prevenir paraplegia pós-operatória, até a visualização da artéria subclávia esquerda cranialmente, e por mais 5cm caudalmente, conforme demonstrado nas Figuras 2 e 3.



Figura 2: Acesso cirúrgico através de toracotomia ântero-lateral esquerda.

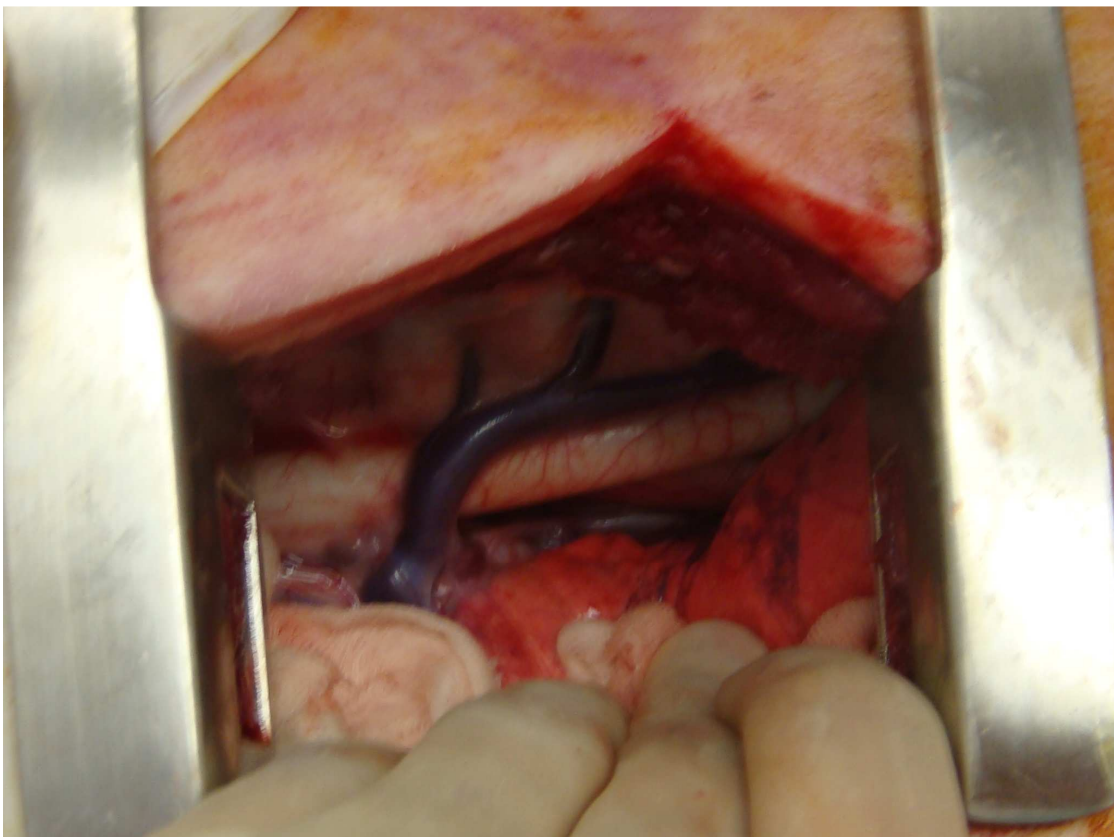


Figura 3: Aorta torácica descendente distalmente à origem da artéria subclávia esquerda.

Para criação do ponto de isquemia da aorta, retiramos apenas a camada adventícia que é incisada transversalmente em cerca de 1/3 da circunferência da aorta. Realizamos então a ligadura das artérias intercostais e a retirada da camada adventícia, por cerca de 5cm caudalmente à artéria subclávia. Após a retirada da camada adventícia, envolve-se a aorta com o pericárdio bovino ao redor da área sem adventícia para a prevenção de uma neovascularização por meio dos tecidos adjacentes, conforme Figuras 4, 5 e 6.

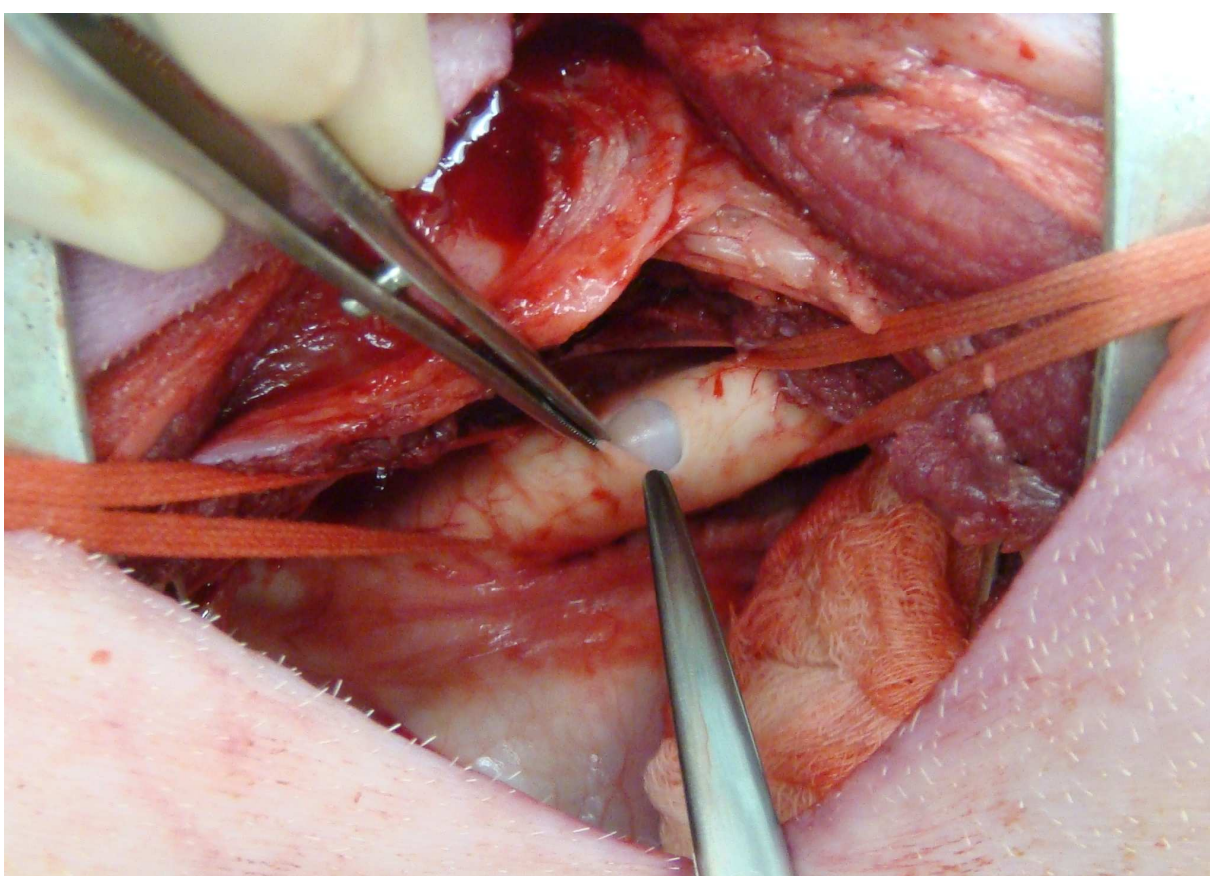


Figura 4: Incisão transversal na parede aórtica para retirada da camada adventícia.

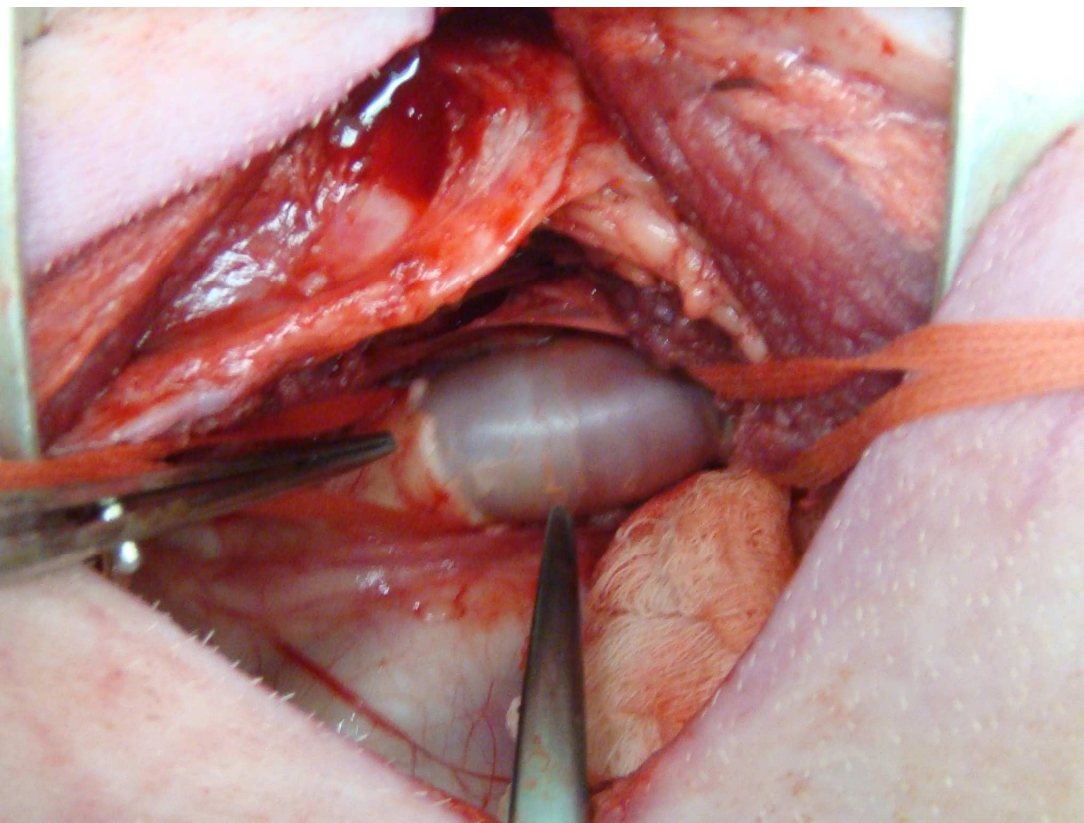


Figura 5: Aorta torácica descendente sem a camada adventícia.

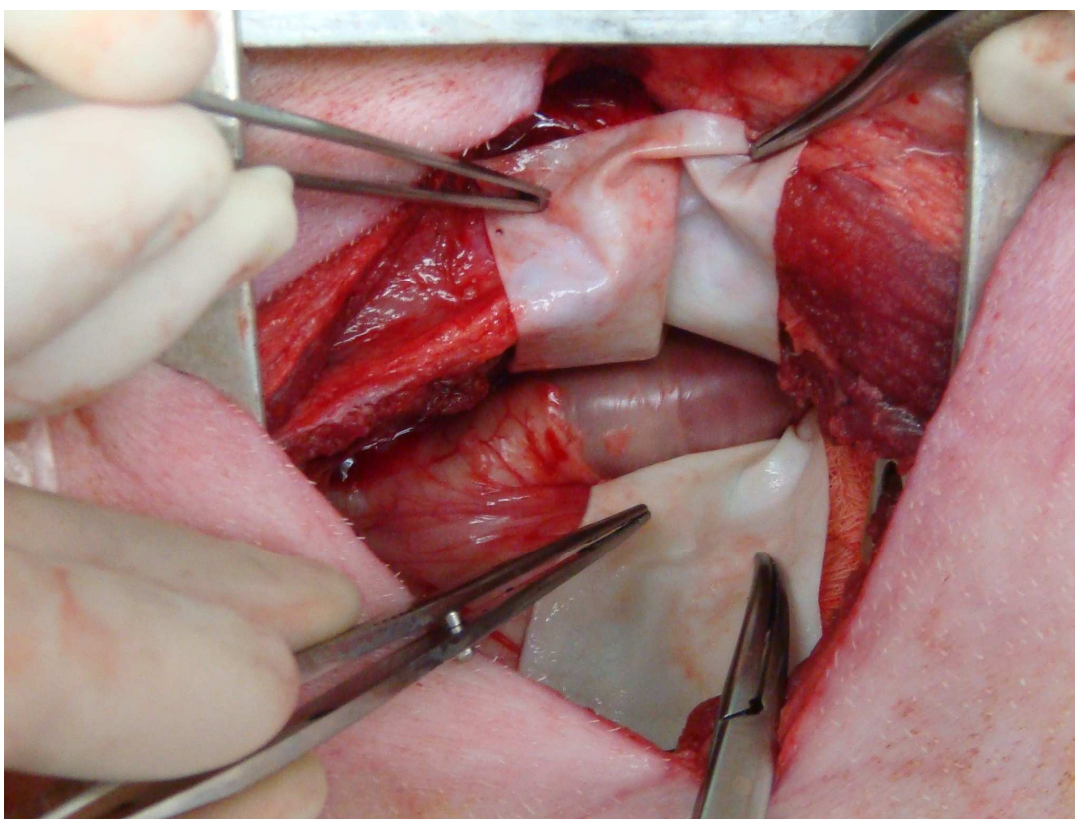


Figura 6: Colocação do revestimento de pericárdio bovino na aorta.

Após o controle da hemostasia e a revisão do espaço pleural, coloca-se um dreno torácico com aspiração contínua para realização de pressão negativa até o término do fechamento da parede torácica que é suturada com fio de Mononylon número 0 e a síntese da pele com fio de Mononylon 2-0.

No pós-operatório, os animais ficaram alojados em baias, monitorados e tomados as seguintes providências:

1. Quanto a sinais de dor, desconforto, dispnéia, fraqueza de membros e palidez de membranas.
2. Analgesia conforme a necessidade.
3. Liberado NPO 24h após a cirurgia.
4. Um grupo de animais permanece 2 semanas e o outro grupo de 4-8 semanas alojados nas baias e recebendo os cuidados.

7.3 Análise Histológica

A eutanásia foi realizada com o animal ainda anestesiado, conforme o protocolo prévio já descrito. Após a eutanásia, foi realizada a retirada do segmento aórtico, sendo retirada, além do segmento lesionado, uma porção proximal e uma porção distal à lesão. A peça é colocada em formol tamponado 10% e enviada para o laboratório de patologia. A seguir, uma lâmina de cada segmento (proximal, médio e distal) das aortas foi corada pela Hematoxilina e Eosina (HE) (Figura 7) e uma pelo método de Weigert – van Gieson, para destaque do sistema elástico e, portanto, melhor visualização das três camadas arteriais. Weigert - van Gieson cora fibras elásticas em negro pelo corante de

Weigert (fucsina básica/resorcina), e as fibras colágenas em vermelho pelo corante de van Gieson (fucsina ácida). O tecido de fundo, independente do tipo, fica corado em amarelo pelo ácido pícrico, que serve de corante de fundo. Os núcleos são corados pela hematoxilina férrica de Weigert. (Figura 8).

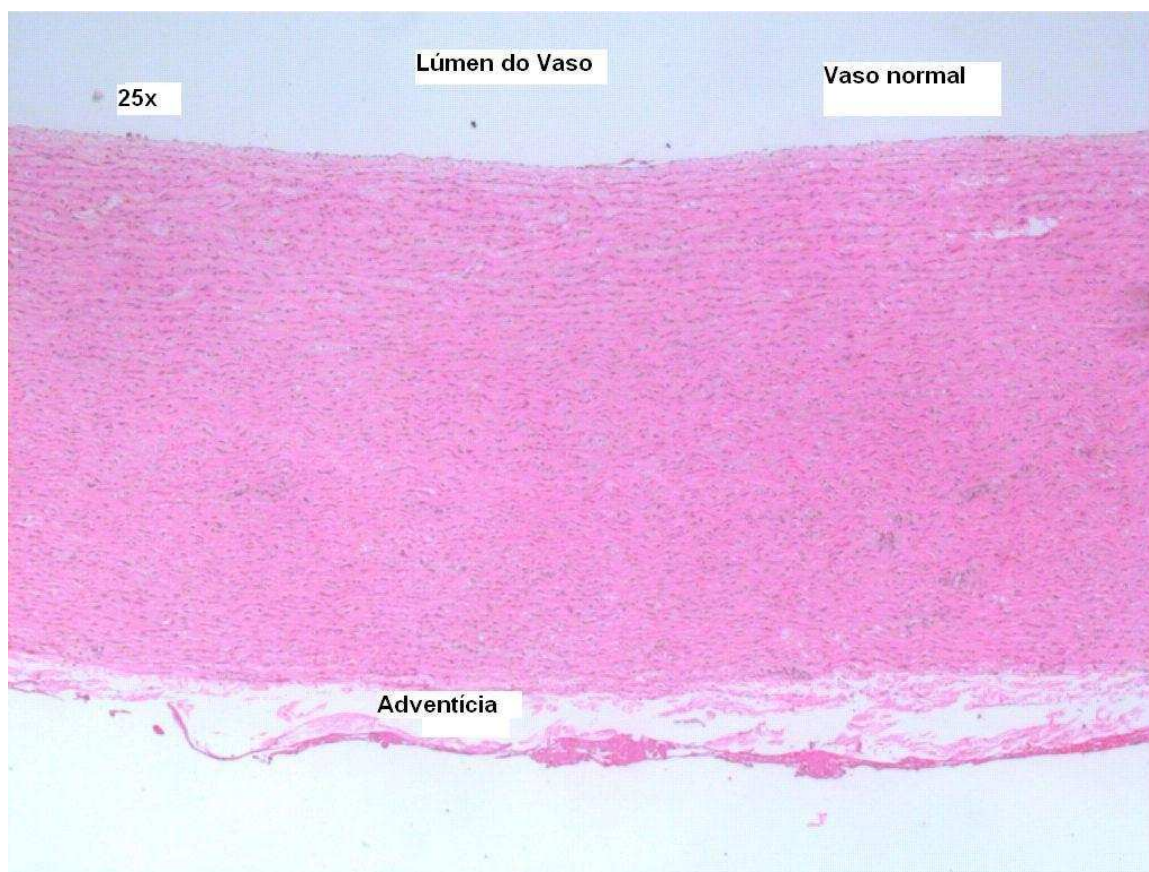


Figura 7: Coloração de Hematoxilina e Eosina (HE) com aumento original de 25X do segmento sem lesão da aorta torácica.

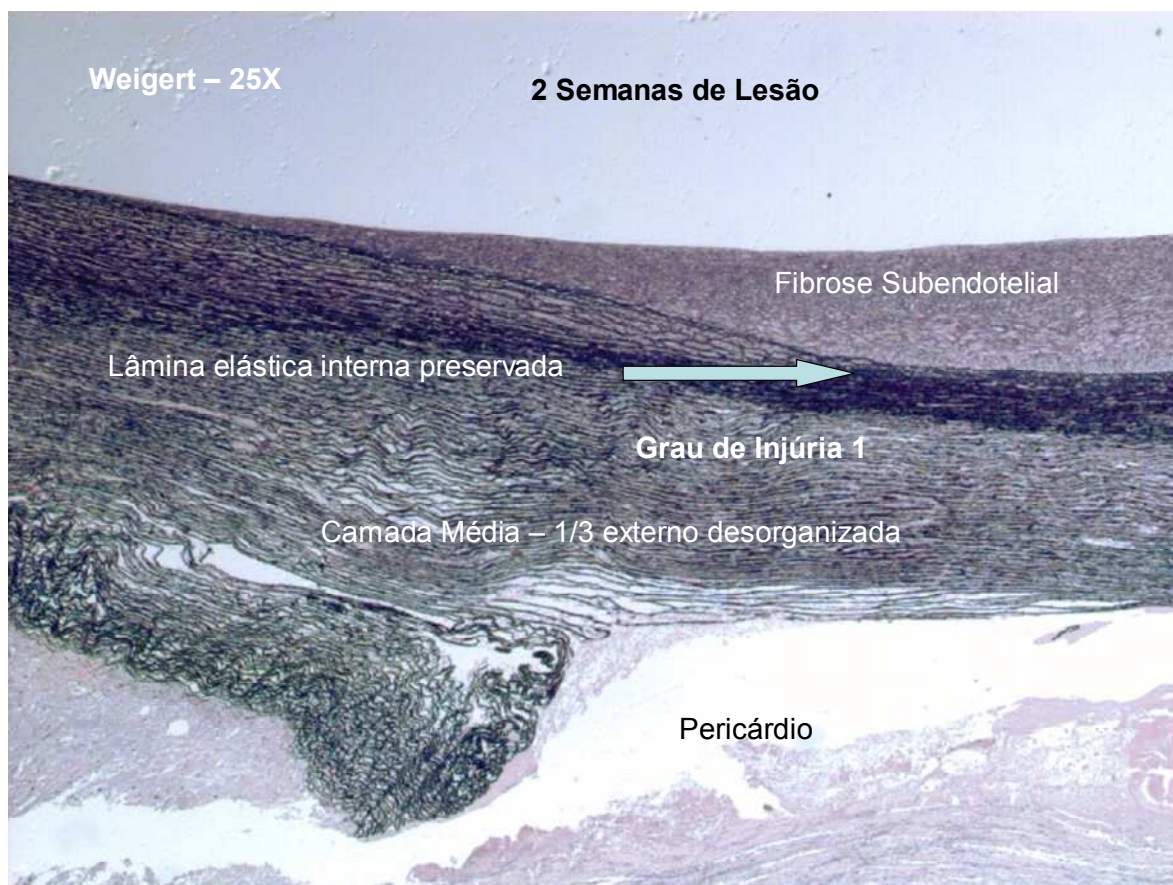


Figura 8: Coloração de *Weigert - van Gieson* com aumento original de 25X do segmento com lesão da aorta torácica.

As lâminas coradas pela hematoxilina e eosina foram usadas para avaliação qualitativa dos fragmentos. O conteúdo de células musculares lisas foi graduado de acordo com a descrição de Suzuki et al (39). O grau de angiogênese foi adaptado a partir de um consenso publicado por Schwartz e Edelman (40). O grau de injúria da parede vascular foi determinado por dois métodos descritos por Schwartz e Edelman (40) e Gunn et al (41). As lâminas coradas pelo método de Weigert foram utilizadas para as medidas morfométricas, que foram feitas com a câmera Pixelink PL-A662 acoplada ao microscópio Axiothotz Zeiss, com objetiva de 25x, 50x e 100x.

A avaliação dos parâmetros histológicos e as medidas morfométricas dos cortes histológicos foram realizadas por um médico patologista com experiência em patologias arteriais, independente e cego para o tempo de lesão.

A análise histológica baseou-se nos seguintes parâmetros de avaliação publicados previamente em estudos experimentais em coronárias:

Angiogênese (40).

Grau 0: Ausente.

Grau 1: Angiogênese envolvendo o 1/3 externo da camada média da artéria.

Grau 2: Angiogênese moderada envolvendo de 1/3 até 2/3 da camada média da artéria.

Grau 3: Angiogênese acentuada envolvendo >2/3 da camada média da artéria.

Grau de injúria (40)

Grau 0: Lâmina elástica interna intacta; camada média preservada em sua totalidade.

Grau 1: Lâmina elástica interna intacta; camada média desorganizada em seu 1/3 externo.

Grau 2: Lâmina elástica interna intacta; camada média desorganizada nos 2/3 externos.

Grau 3: Lâmina elástica interna intacta; camada média desorganizada na sua totalidade.

Grau 4: Lâmina elástica interna lacerada; camada média desorganizada na sua totalidade.

Grau de inflamação (42)

Grau 0: ausência de células inflamatórias.

Grau 1: Infiltrado celular leve localizado no 1/3 externo da camada média.

Grau 2: Infiltrado celular moderado localizado nos 2/3 externos da camada média.

Grau 3: Infiltrado celular denso localizado em toda a camada média.

O grau de cada secção histológica corresponde a uma média considerando a análise de todo os as cortes individuais.

RESULTADOS

8. RESULTADOS

Oito animais foram submetidos à retirada da camada adventícia da aorta torácica descendente. Sete animais sem dificuldade técnica, não se observando nenhuma intercorrência como sangramento e paraplegia em decorrência da ligadura de artérias intercostais.

Um animal foi excluído da análise devido ao óbito no transoperatório por ruptura da aorta torácica e choque hipovolêmico durante a retirada da camada adventícia da aorta torácica descendente.

Os sete animais utilizados para o experimento foram divididos da seguinte maneira: 3 animais foram submetidos à eutanásia para retirada da peça com 2 semanas de pós-operatório, 2 animais foram submetidos à eutanásia para retirada da peça com 4 semanas de pós-operatório, 1 animal foi submetido à eutanásia para retirada da peça com 6 semanas de pós-operatório e 1 animal foi submetido à eutanásia para retirada da peça com 8 semanas de pós-operatório. Todos os animais estavam saudáveis, com ganho ponderal adequado para a idade e sem evidência de paraplegia.

Durante a retirada das peças observamos uma intensa bainha fibrótica ao redor do segmento lesionado, porém, graças ao uso do pericárdio bovino, não houve aderência dos tecidos adjacentes ao segmento lesionado (Figura 9).

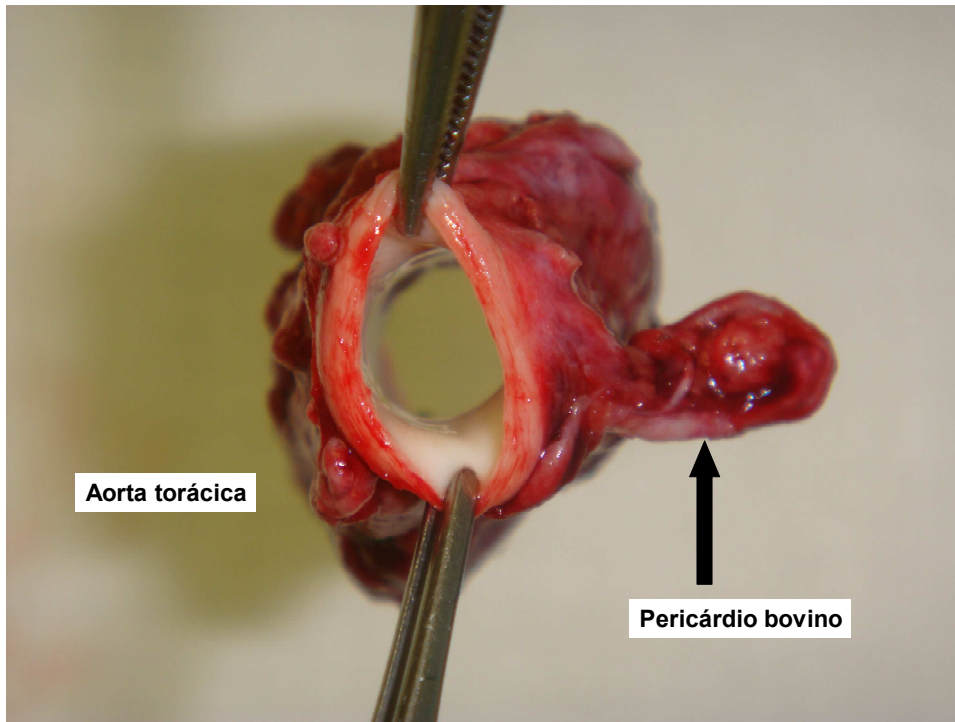


Figura 9: Peça cirúrgica – aorta torácica descendente.

Após duas semanas, observamos fibrose subendotelial com a lâmina elástica interna preservada, assim como a camada média nos seus 2/3 internos. Havia um leve desarranjo das fibras colágenas e elásticas no 1/3 externo da camada média (Grau de injúria 1 – Figura 10) com um leve infiltrado de linfócitos e neutrófilos (Grau de inflamação 1). Identificaram-se também focos de angiogênese no 1/3 externo da camada média (Grau de angiogênese 1 – Figura 11).

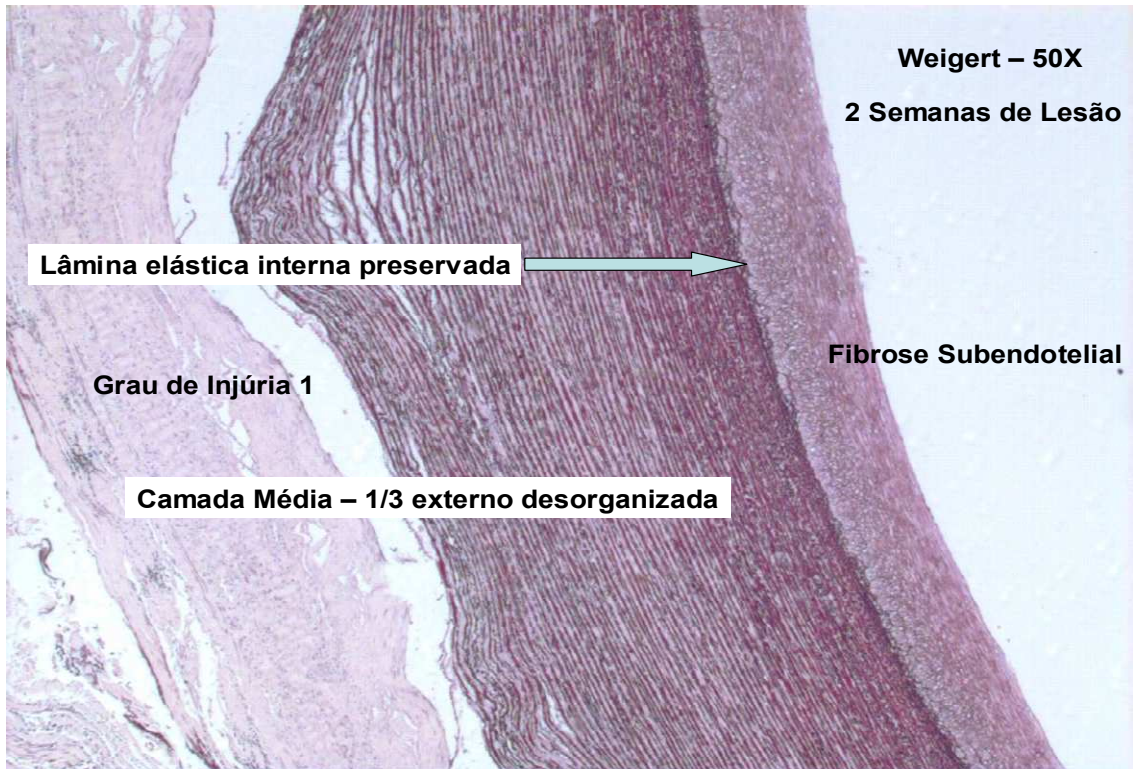


Figura 10: Coloração de *Weigert - van Gieson* com aumento original de 50X demonstrando um grau de lesão 1.



Figura 11: Coloração de Hematoxilina e Eosina (HE) com aumento original de 50X demonstrando um grau de angiogênese 1.

Nos animais sacrificados, após quatro semanas persistia a fibrose subendotelial com a lâmina elástica interna preservada, assim como da camada média no seu 1/3 interno. Foi identificado um desarranjo estrutural das fibras elásticas e colágenas nos 2/3 externos da camada média (Grau de injúria 2 – Figura 12). Em relação à inflamação, foi observado um infiltrado de linfócitos, histiócitos e neutrófilos nos 2/3 externos da camada média (Grau de inflamação 2). Com relação à angiogênese, foram observados focos nos 2/3 externos da camada média (Grau de angiogênese 2 – Figura 13).

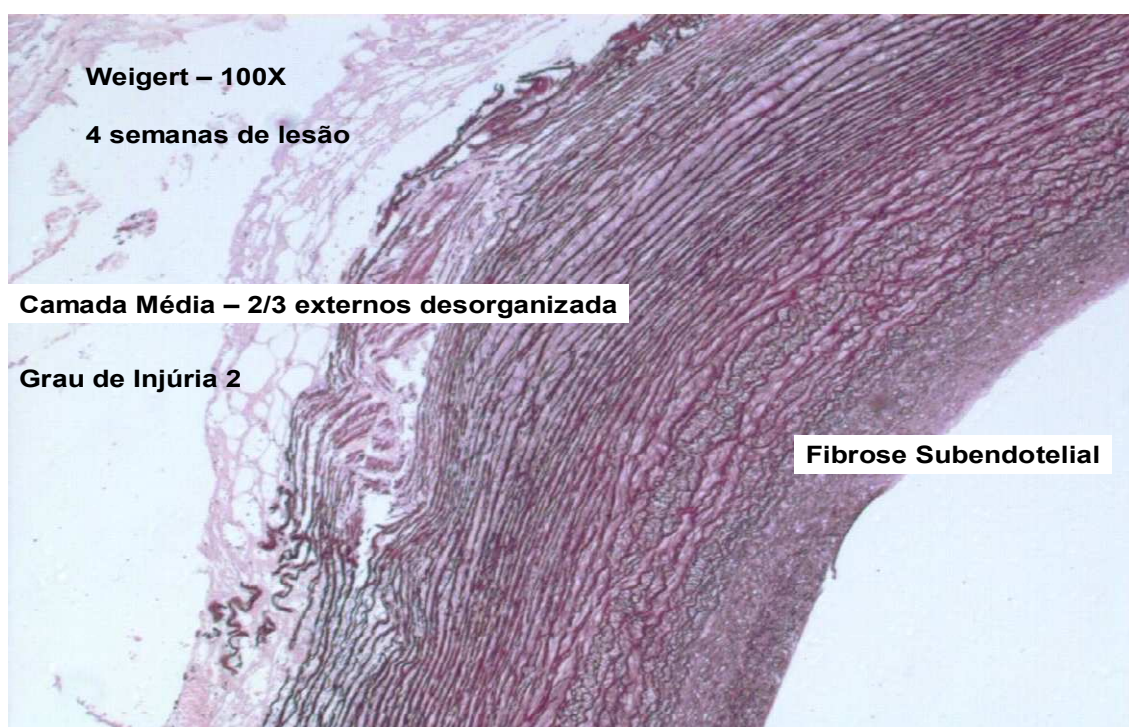


Figura 12: Coloração de *Weigert – van Gieson* com aumento original de 100X demonstrando um grau de injúria 2.

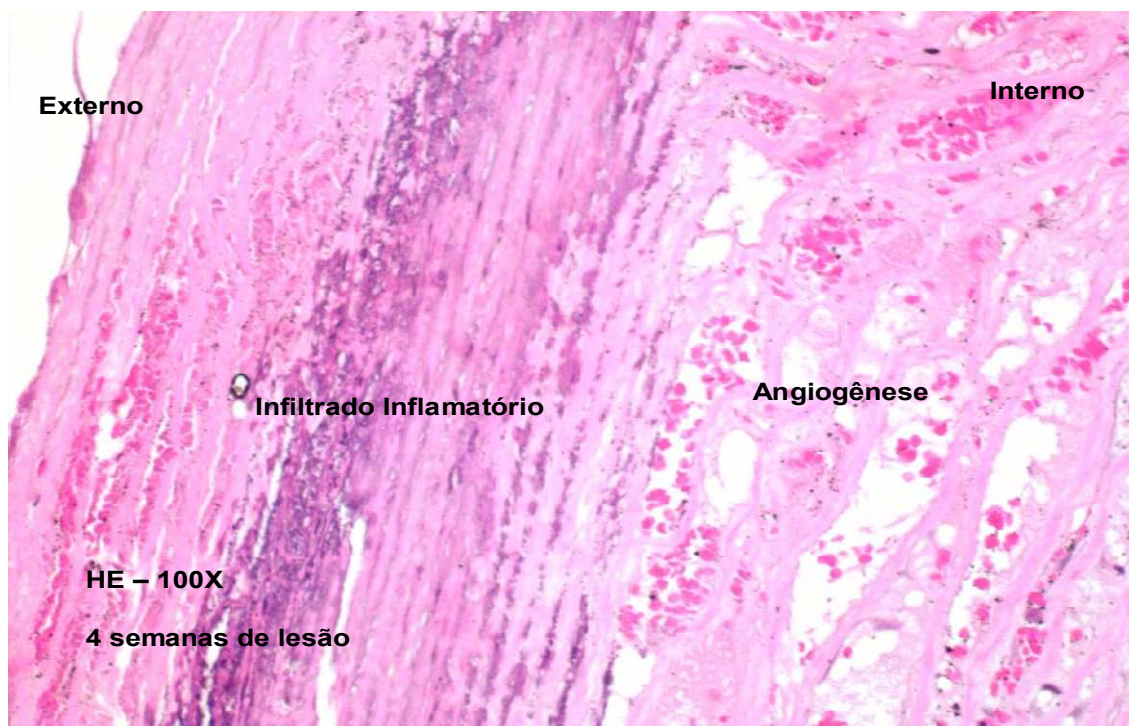


Figura 13: Coloração de Hematoxilina e Eosina (HE) com aumento original de 100X demonstrando um grau de angiogênese e de inflamação 2.

Após seis semanas, os seguintes achados foram identificados: necrose da parede da aorta com fibrose subendotelial com preservação da lâmina elástica interna (Grau de injúria 3 – Figura 14). Com relação à inflamação, foi identificada uma necrose com infiltrado linfocítico, histiocitário e neutrofílico em toda a camada média (Grau de inflamação 3). Com relação à angiogênese, observaram-se focos em toda a camada média e na porção subendotelial (Grau de angiogênese 3 – Figura 15).

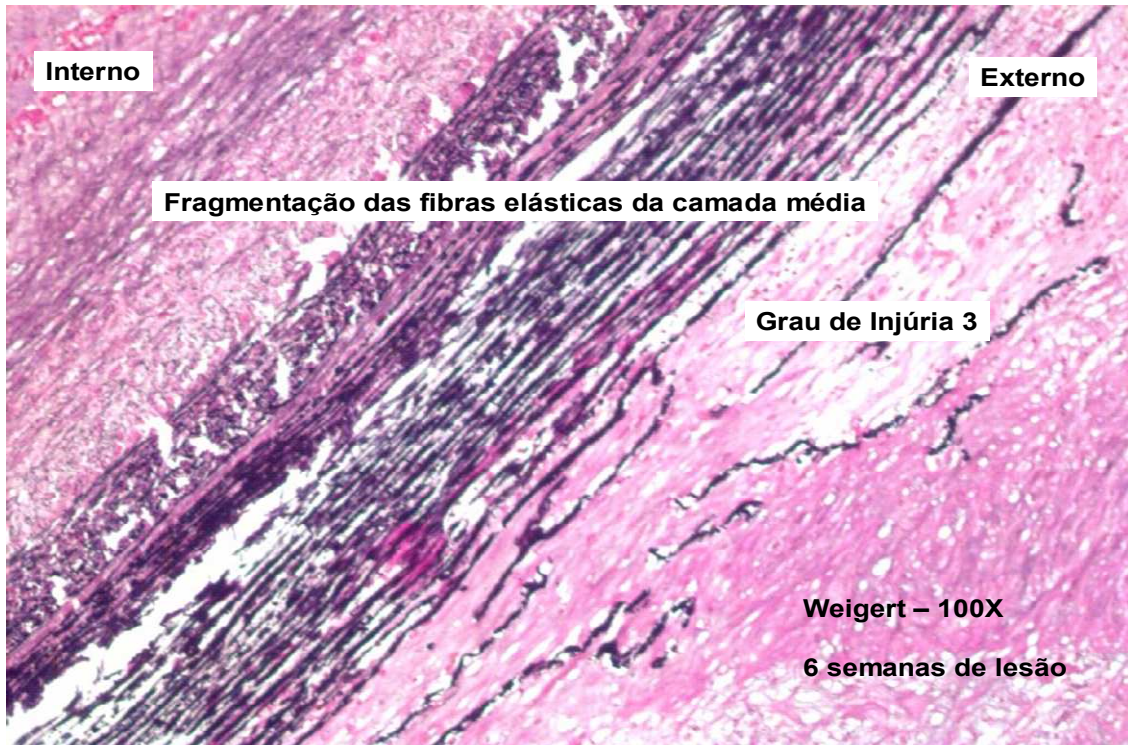


Figura 14: Coloração de *Weigert - van Gieson* com aumento original de 100X demonstrando um grau de injúria 3.

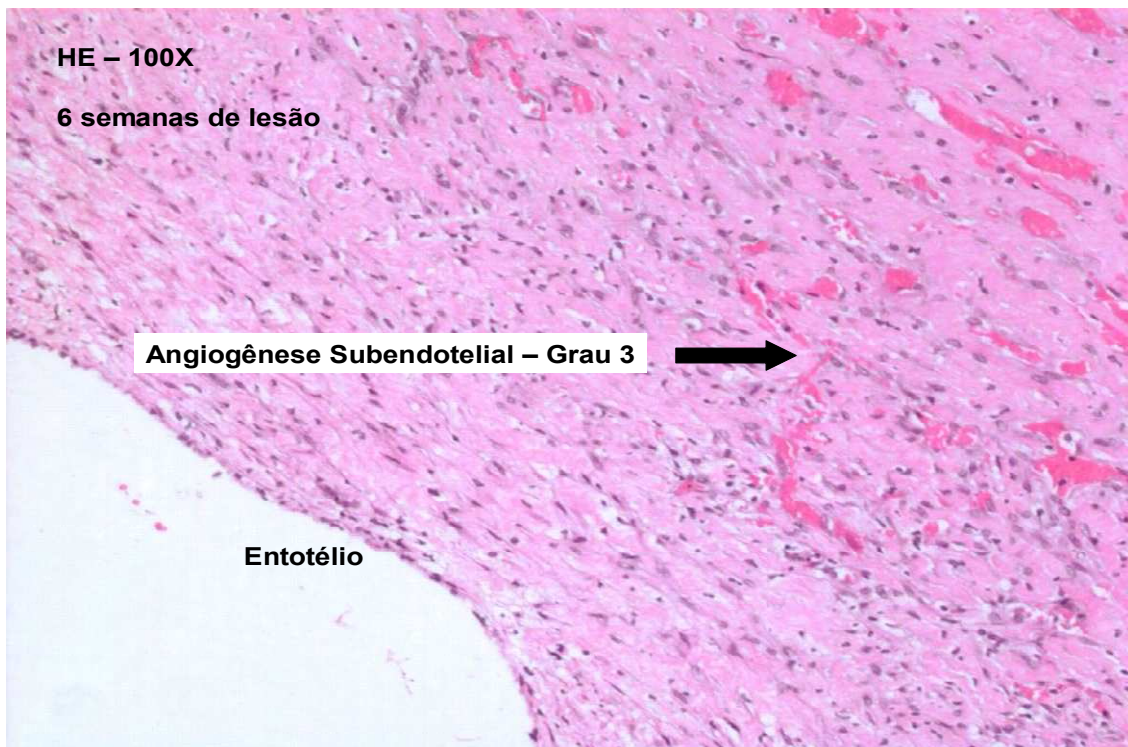


Figura 15: Coloração de Hematoxilina e Eosina (HE) com aumento original de 100X demonstrando um grau de angiogênese 3.

Finalmente, após oito semanas havia fibrose de toda a parede da aorta com destruição da lâmina elástica interna (Grau de injúria 4 – Figuras 16 e 17). Observamos uma área de inflamação moderada próxima ao endotélio (Grau de inflamação 3). Com relação à angiogênese, foram observados focos em toda a camada média e na porção subendotelial (Grau de angiogênese 3).

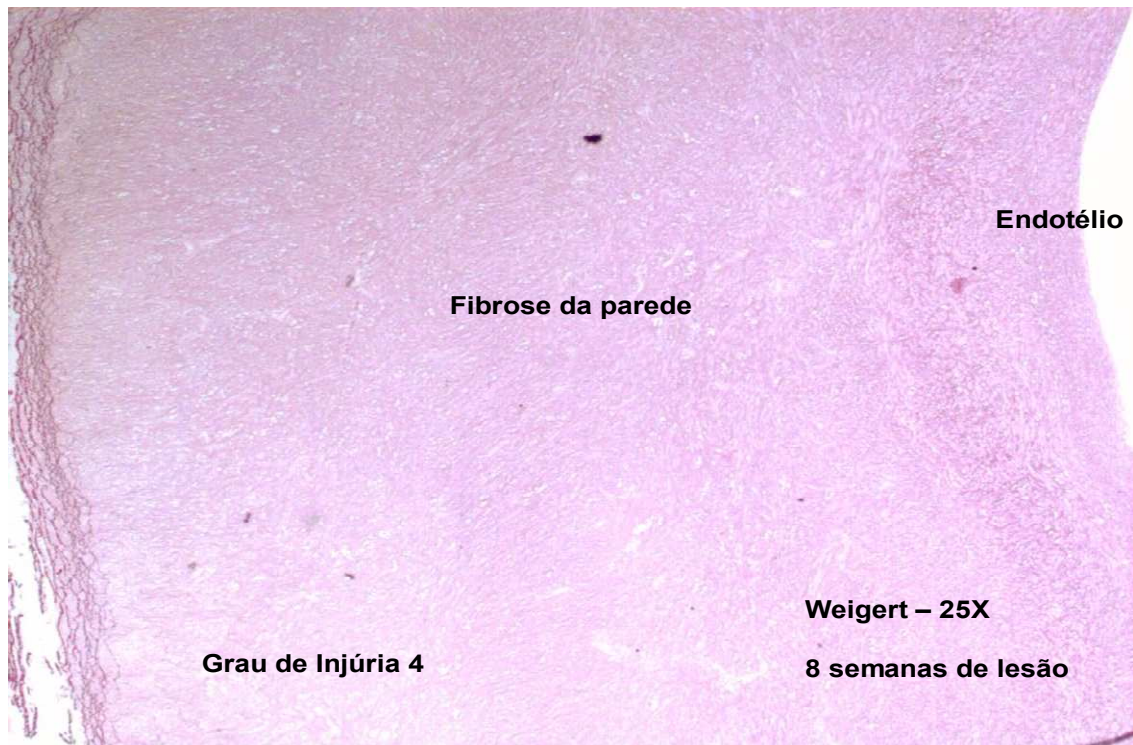


Figura 16: Coloração de *Weigert – van Gieson* com aumento original de 25X demonstrando um grau de injúria 4 com fibrose da parede aórtica.

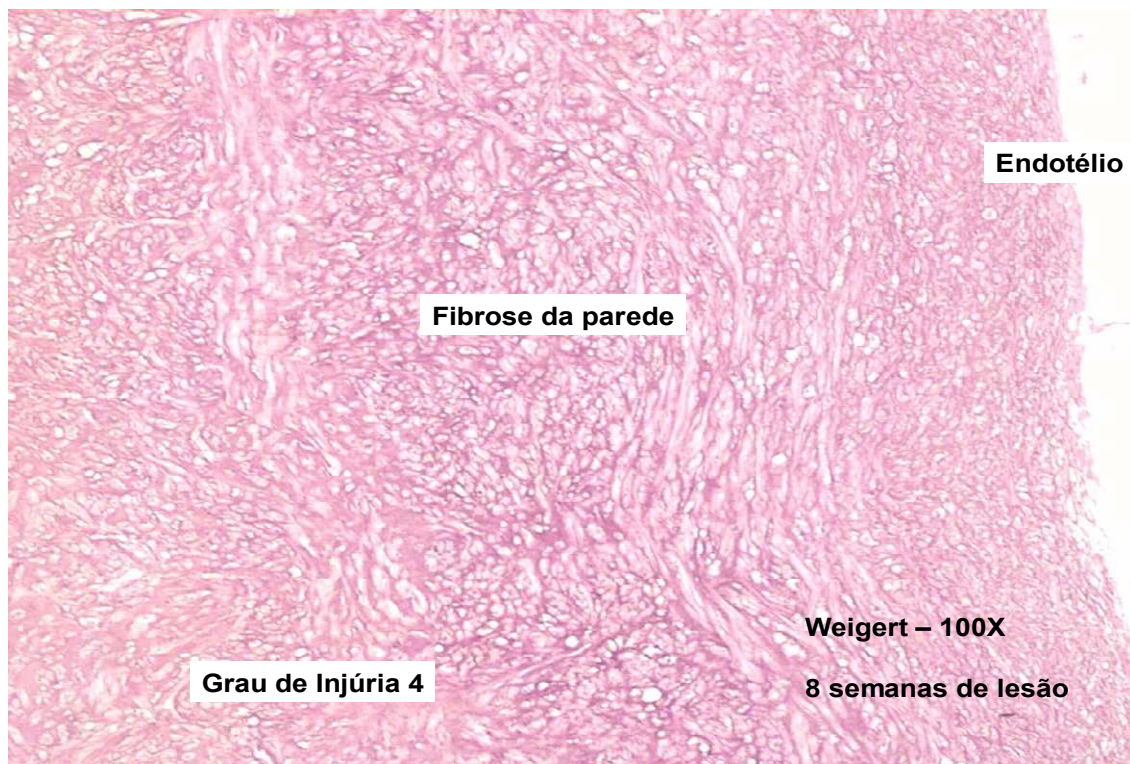


Figura 17: Coloração de *Weigert – van Gieson* com aumento original de 100X demonstrando um grau de injúria 4 com fibrose da parede aórtica.

Portanto, pudemos evidenciar um aumento progressivo nos graus de lesão: grau de injúria, grau de inflamação e grau de angiogênese. Os graus de lesão aumentaram progressivamente com o tempo de exposição à isquemia por interrupção do fluxo sanguíneo por meio dos VV da camada adventícia, como podemos observar nos Gráficos (01, 02, 03, 04, 05, 06 e 07).

Gráfico 1. Demonstrando o aumento progressivo dos graus de angiogênese, inflamação e injúria conforme aumenta o tempo de lesão.

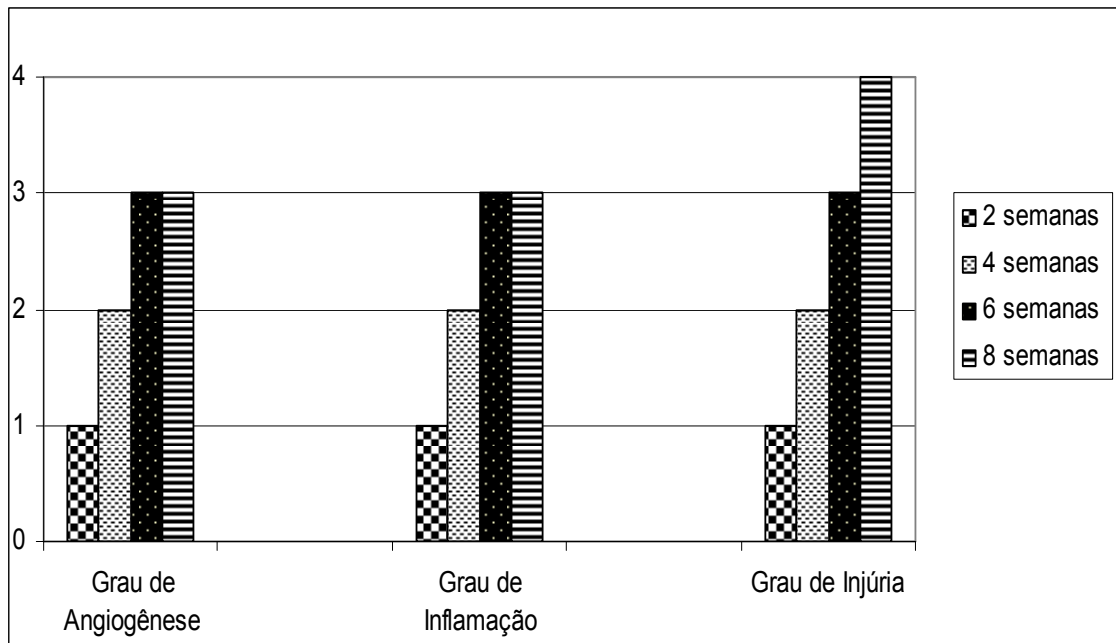


Gráfico 2. Demonstrando o aumento progressivo do grau de inflamação conforme aumenta o tempo de lesão.

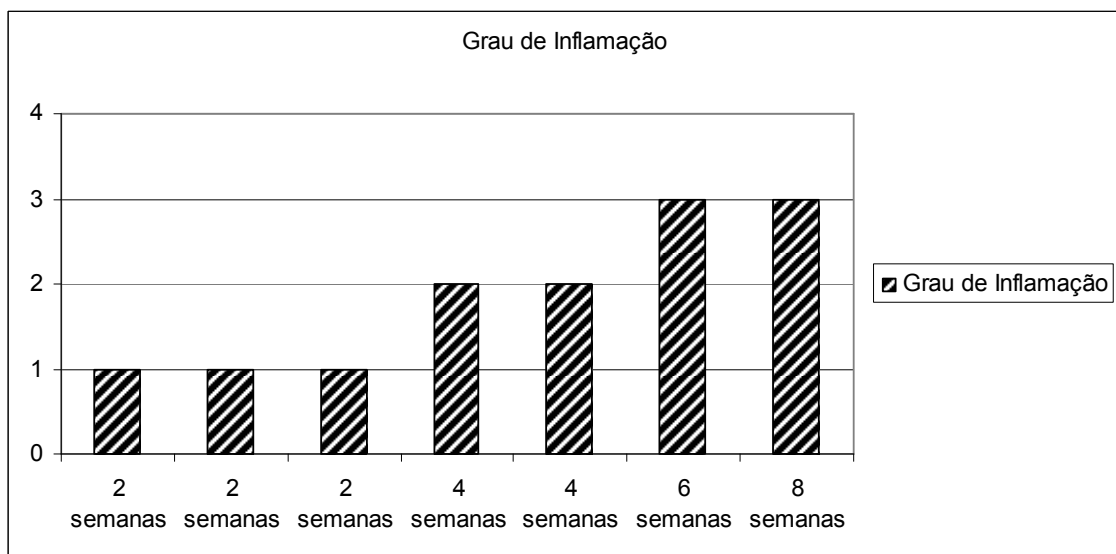


Gráfico 3. Demonstrando o aumento progressivo do grau de inflamação conforme aumenta o tempo de lesão.

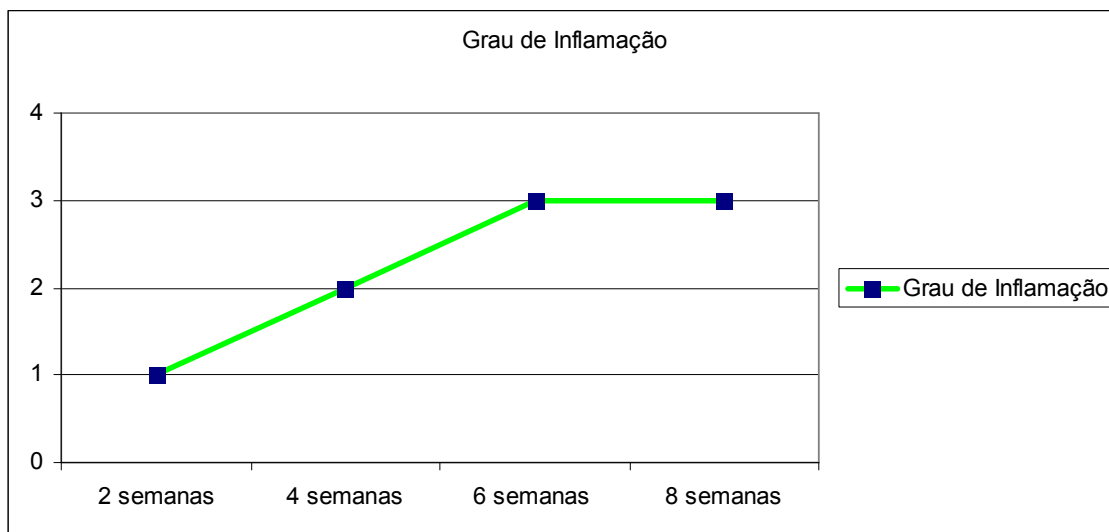


Gráfico 4. Demonstrando o aumento progressivo do grau de angiogênese conforme aumenta o tempo de lesão.

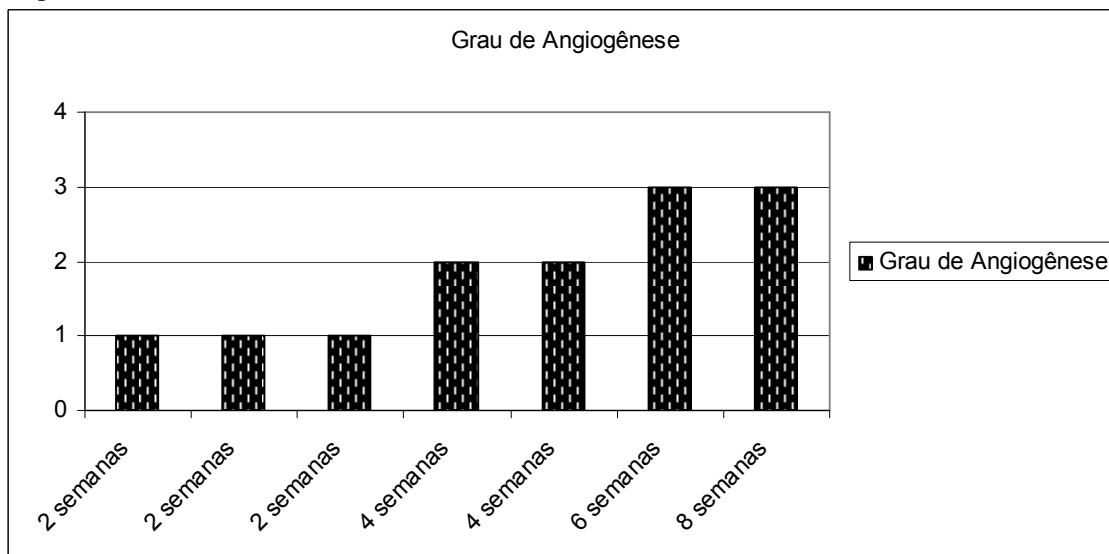


Gráfico 5. Demonstrando o aumento progressivo do grau de angiogênese conforme aumenta o tempo de lesão.

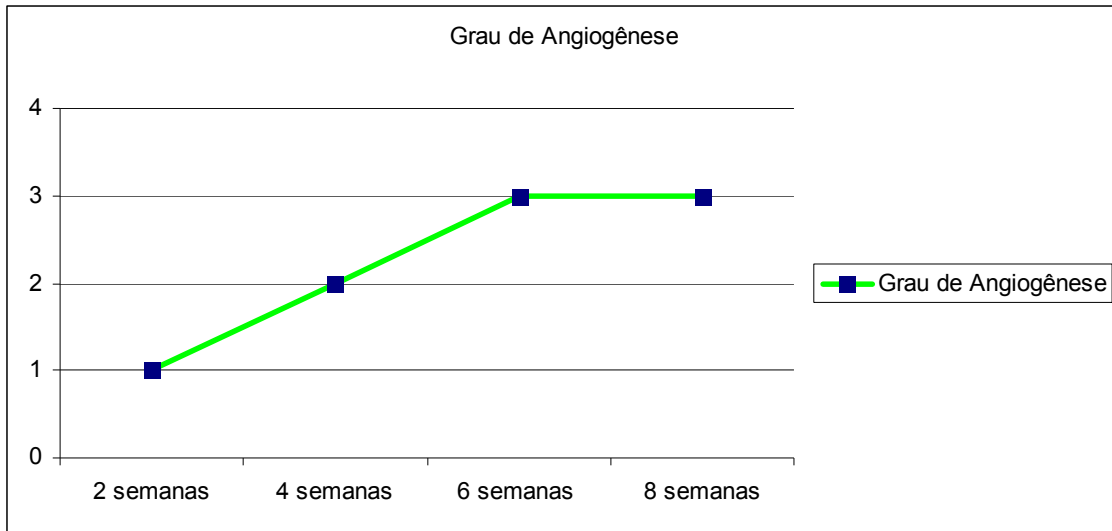


Gráfico 6. Demonstrando o aumento progressivo do grau de injúria conforme aumenta o tempo de lesão.

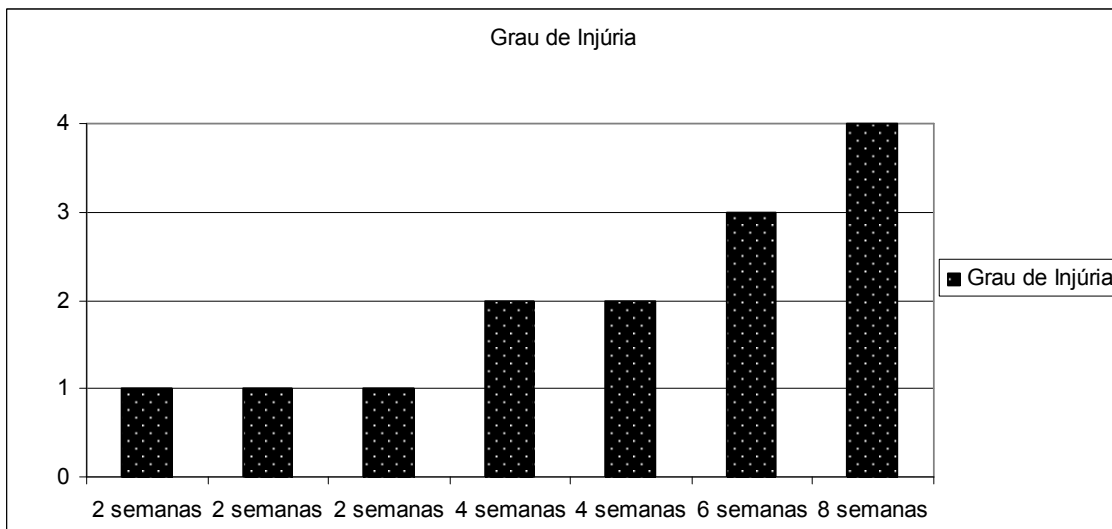
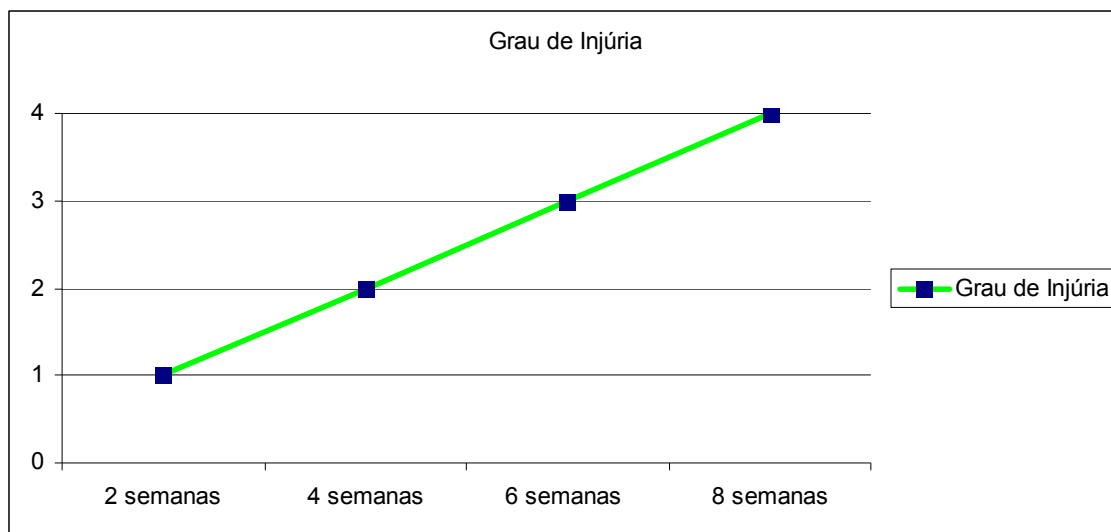


Gráfico 7. Demonstrando o aumento progressivo do grau de injúria conforme aumenta o tempo de lesão.



DISCUSSÃO

9. DISCUSSÃO

A inflamação vascular é um processo complexo que envolve a migração, extravasamento e ativação local de leucócitos mononucleares na parede do vaso (43). O infiltrado celular de macrófagos e linfócitos representa os principais tipos celulares nos aneurismas humanos, e localizam-se principalmente na camada adventícia (44).

Além da infiltração leucocitária e da produção de citocinas, a camada adventícia é altamente reativa no processo de formação dos aneurismas, onde se identifica uma marcante proliferação de fibroblastos. Acredita-se que a camada adventícia tem um papel chave na gênese e na manutenção da inflamação vascular vista nos aneurismas e na doença vascular aterosclerótica (21, 45).

A dissecação da aorta é a catástrofe mais devastadora das doenças cardiovasculares. O mecanismo pelo qual ocorre a dissecação ainda não é totalmente entendido. Existem vários fatores a serem considerados na sua gênese tais como: distúrbios hemodinâmicos e os fatores relacionados às propriedades mecânicas e geométricas da aorta (anisotropia e a organização estrutural da parede aórtica) (46).

O primeiro estudo dos fatores hemodinâmicos implicados na dissecação aórtica foi realizado por Prokop et al (47) onde um segmento aórtico foi lesado e perfundido ex-vivo sob fluxo pulsátil e pressão constante. Neste estudo, entretanto, a dissecação aórtica não progrediu em aortas com fluxo e pressão constante. Em outro estudo experimental em caninos, Carney et al (48) demonstraram que a redução da pressão aórtica correlacionou-se com a diminuição da propagação da dissecação aórtica. O'Gara (49) demonstrou que a propagação da dissecação da aorta não está apenas relacionada à pressão aórtica sistólica máxima, mas também está relacionada com a pressão de pulso e

com a frequência cardíaca. D'Andrea et al (50), concluíram que o tempo de ejeção sistólica, assim como a frequência cardíaca podem resultar em mudanças na fração de ejeção sistólica. Tiessen and Roach, em 1993 (51), determinaram que o início da dissecação aórtica se correlaciona principalmente com a pressão aórtica sistólica máxima. Entretanto, estes estudos examinaram aortas ex-vivo sem fluxo sanguíneo transaórtico e onde as pressões aórticas máximas associadas com o início da dissecação são maiores do que os limites superiores do pico sistólico aórtico in-vivo.

Existem dois fatores mecânicos principais que influenciam na dissecação aórtica: a anisotropia (as diferenças de pressão em diferentes pontos da parede da aorta) e a organização estrutural da parede da aorta normal que é composta por diferentes camadas, isto é, a parede não tem homogeneidade.

A anisotropia, com subsequente descolamento das camadas da aorta, é o principal mecanismo na dissecação aórtica. A consequência imediata dessa anisotropia é a diferença nos campos de estresse na parede aórtica. A lesão de entrada ocorre comumente na interface das camadas, especialmente se existir a perda da sua integridade estrutural.

Com base nestes princípios mecânicos da parede aórtica Stefanadis et al (52) desenvolveram um modelo experimental de isquemia da parede por interrupção dos vasos, retirando a gordura periaórtica da aorta ascendente de caninos, e avaliaram as alterações na elasticidade da parede aórtica. Este estudo, que avaliou as alterações com 2 semanas de isquemia da parede aórtica, demonstrou a diminuição da elasticidade da parede aórtica, necrose isquêmica da túnica média da aorta acompanhada de desarranjo e fragmentação local das fibras elásticas da túnica média. Estes resultados corroboram com achados de estudos prévios (53-54). Investigações anteriores também sugerem que

a diminuição do fluxo sanguíneo na parede aórtica durante a crise hipertensiva pode contribuir para a necrose da camada média da aorta (27). Stefanadis et al (52) também demonstraram, além do desarranjo das fibras de colágeno e elastina, o aumento da rigidez da aorta ascendente na aorta de cães após 2 semanas da remoção dos vasa vasorum (VV). Estes resultados foram confirmados pelo estudo de Angouras et al (38), que estudou as alterações morfológicas secundárias à interrupção dos VV da aorta torácica em suínos. Após duas semanas, a isquemia da parede aórtica levou a alterações morfológicas no conteúdo do colágeno e da elastina do 1/3 externo da camada média da aorta descendente, resultando em enrijecimento desta região.

Neste estudo, ao contrário do estudo de Stefanadis et al (52), foi colocado um material sintético (cloreto de polivinil) para o revestimento da aorta em seu segmento lesionado, com o objetivo de evitar aderência por fibrose com os tecidos adjacentes. Em nosso estudo, também com o objetivo de evitar fibrose e neovascularização da parede arterial a partir de tecidos vizinhos, optamos pela colocação do pericárdio bovino, por se tratar de um material mais biocompatível e que teria o mesmo efeito.

As propriedades elásticas da aorta são determinadas principalmente pelos componentes da camada média da aorta. A razão elastina-colágeno, as células musculares lisas, a composição da matriz extracelular, assim como o espessamento da parede e o diâmetro aórtico desempenham um importante papel nas propriedades elásticas da parede aórtica.

Em nosso estudo, foi possível demonstrar, pela primeira vez, as alterações histológicas que ocorrem na parede aórtica em longo prazo. Nenhum outro estudo avaliou as alterações isquêmicas da parede aórtica além de 2 semanas de isquemia. Pudemos evidenciar que, com a interrupção do fluxo sanguíneo através dos VV na

parede aórtica, ocorreu um desarranjo estrutural com perda das fibras elásticas da camada média que se iniciaram nas porções mais externas (2 semanas), e que, com um maior tempo de lesão (4, 6 e 8 semanas), levaram a um progressivo desarranjo das camadas mais internas da camada média, até que houvesse laceração completa da lâmina elástica interna e fibrose de toda a parede da aorta com destruição quase completa das fibras elásticas.

Ao contrário dos achados encontrados no estudo de Angouras et al (38) e Stefanadis et al (52), nosso estudo demonstrou a presença de fibrose subendotelial, com um leve infiltrado inflamatório de linfócitos e neutrófilos ao nível da camada mais externa da camada média, assim como leves focos de angiogênese na camada externa nos animais com 2 semanas de lesão.

Nos animais com 4, 6 e 8 semanas, observamos um desarranjo progressivo das fibras elásticas da camada média, das porções mais externas em direção as porções mais internas. No animal com 6 semanas, identificou-se um desarranjo de toda a camada média, com focos de necrose, porém a lâmina elástica interna ainda permanecia intacta. Finalmente, no animal com 8 semanas de lesão, identificou-se uma fibrose completa da parede da aorta com laceração da lâmina elástica interna. Estes achados corroboram com a hipótese de estudos prévios (38, 52) que, com o desarranjo, a parede aórtica perde a sua elasticidade normal.

Com relação à inflamação, observa-se que a partir da quarta semana de lesão, além do infiltrado de linfócitos e neutrófilos na camada média identifica-se, também, uma infiltração histiocitária que se inicia nas camadas externas da camada média e que progride em direção ao endotélio. Após oito semanas de lesão, identificam-se focos de inflamação na camada subendotelial. Estes achados demonstram que a isquemia da

parede aórtica por meio da interrupção do fluxo sanguíneo pelos VV tem um papel chave na gênese e na manutenção da inflamação vascular.

Com relação à angiogênese, identificam-se focos desde a segunda semana de lesão nas camadas mais externas da camada média e um aumento progressivo destes focos em direção às camadas mais internas da parede arterial, sendo que já com 6 semanas de lesão, identificam-se focos na porção subendotelial, representando, provavelmente, um mecanismo compensatório em resposta à isquemia da parede aórtica.

CONCLUSÃO

10. CONCLUSÃO

O nosso estudo confirma que a isquemia induzida pela interrupção total do fluxo sanguíneo por meio dos vasa vasorum (VV) leva à degenerações da túnica média, determinando perda da estrutura normal da parede aórtica que é variável em sua localização, intensidade e forma, dependendo do tempo de evolução da lesão. Neste estudo, observamos que havia fibrose subendotelial que já aparecia com duas semanas de lesão e que persistia relativamente inalterada até a oitava semana. A neoformação vascular na parede representada pela angiogênese ocorria desde a segunda semana e aumentava progressivamente até a oitava semana; o mecanismo desta proliferação de neo vasos não está bem esclarecido, mas certamente não tem como origem os tecidos periaórticos que foram isolados pelo pericárdio bovino.

Em resumo, estudamos as alterações histológicas decorrentes da interrupção dos VV da aorta descendente em suínos desde a segunda semana da lesão até que ocorresse a fibrose completa da parede. Este estudo pode contribuir para um melhor entendimento do papel dos VV na degeneração da parede aórtica e dos mecanismos envolvidos na dissecação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kouchoukos NT, Dougenis D. Surgery of the thoracic aorta. *N Engl J Med*. 1997 Jun 26;336(26):1876-88.
2. Hirst AE, Jr., Johns VJ, Jr., Kime SW, Jr. Dissecting aneurysm of the aorta: a review of 505 cases. *Medicine (Baltimore)*. 1958 Sep;37(3):217-79.
3. Svensson LG, Crawford ES. Cardiovascular and vascular disease of the aorta. Philadelphia: WB Saunders; 1997.
4. Khan IA, Nair CK. Clinical, diagnostic, and management perspectives of aortic dissection. *Chest*. 2002 Jul;122(1):311-28.
5. Marvin D, Atkins JR, Black JH, Cambria RP. Aortic dissection: perspectives in the era of stent-graft repair. *J Vasc Surg*. 2006 Feb;43 Suppl A:30A-43A.
6. Williams DM. Pathophysiology of aortic dissection. In: Ernst CB, editor. *Current therapy in vascular surgery*. St Louis: Mosby-Year Book, Inc; 1997. p. 211-5.
7. Hagan PG, Nienaber CA, Isselbacher EM, Bruckman D, Karavite DJ, Russman PL, et al. The International Registry of Acute Aortic Dissection (IRAD): new insights into an old disease. *JAMA*. 2000 Feb 16;283(7):897-903.
8. Auer J, Berent R. Aortic dissection: incidence, natural history, and impact of surgery. *J Clin Basic Cardiol* 2000;3:151-4.
9. Lauterbach SR, Cambria RP, Brewster DC, Gertler JP, Lamuraglia GM, Isselbacher EM, et al. Contemporary management of aortic branch compromise resulting from acute aortic dissection. *J Vasc Surg*. 2001 Jun;33(6):1185-92.
10. Cambria RP, Brewster DC, Gertler J, Moncure AC, Gusberg R, Tilson MD, et al. Vascular complications associated with spontaneous aortic dissection. *J Vasc Surg*. 1988 Feb;7(2):199-209.
11. Gysi J, Schaffner T, Mohacsi P, Aeschbacher B, Althaus U, Carrel T. Early and late outcome of operated and non-operated acute dissection of the descending aorta. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1997 Jun;11(6):1163-9; discussion 9-70.
12. Glower DD, Fann JI, Speier RH, Morrison L, White WD, Smith LR, et al. Comparison of medical and surgical therapy for uncomplicated descending aortic dissection. *Circulation*. 1990 Nov;82(5 Suppl):IV39-46.
13. Terai H, Tamura N, Yuasa S, Nakamura T, Shimizu Y, Komeda M. An experimental model of Stanford type B aortic dissection. *J Vasc Interv Radiol*. 2005 Apr;16(4):515-9.
14. Robbins SL. *Patologia estrutural e funcional* 5ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 1994.

15. Mason RG, Read MS. Some species differences in fibrinolysis and blood coagulation. *J Biomed Mater Res.* 1971;5:121-8.
16. Marty B. Endovascular aneurysm repair: from bench to bed. Darmstadt: Steinkopff Verlag; 2005.
17. Schwartz RS. Neointima and arterial injury: dogs, rats, pigs, and more. *Lab Invest.* 1994 Dec;71(6):789-91.
18. Schwartz RS, Huber KC, Murphy JG, Edwards WD, Camrud AR, Vlietstra RE, et al. Restenosis and the proportional neointimal response to coronary artery injury: results in a porcine model. *J Am Coll Cardiol.* 1992 Feb;19(2):267-74.
19. Argenta R, Pereira AH. Modelos animais de aneurismas periféricos. *J Vasc Bras.* 2009;8(2).
20. Cardoso CVP, Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Leis Referentes à Experimentação Animal no Brasil – Situação Atual. Rio de Janeiro: Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).Disponível em: www.cobea.org.br/etica.
21. Maiellaro K, Taylor WR. The role of the adventitia in vascular inflammation. *Cardiovasc Res.* 2007 Sep 1;75(4):640-8.
22. Woerner CA. Vasa vasorum of arteries, their demonstration and distribution. The arterial wall. Baltimore: Williams and Wilkins; 1959. p. 1–14.
23. Scotland R, Vallance P, Ahluwalia A. On the regulation of tone in vasa vasorum. *Cardiovasc Res.* 1999 Jan;41(1):237-45.
24. Wolinsky H, Glagov S. Nature of species differences in the medial distribution of aortic vasa vasorum in mammals. *Circ Res.* 1967 Apr;20(4):409-21.
25. Awane-Igata Y, Ikeda S, Watanabe T. Inhibitory effects of TAK-044 on endothelin induced vasoconstriction in various canine arteries and porcine coronary arteries: a comparison with selective ETA and ETB receptor antagonists. *Br J Pharmacol.* 1997 Feb;120(3):516-22.
26. Haynes WG, Webb DJ. Contribution of endogenous generation of endothelin-1 to basal vascular tone. *Lancet.* 1994 Sep 24;344(8926):852-4.
27. Heistad DD, Marcus ML, Law EG, Armstrong ML, Ehrhardt JC, Abboud FM. Regulation of blood flow to the aortic media in dogs. *J Clin Invest.* 1978 Jul;62(1):133-40.
28. Ohhira A, Ohhashi T. Effects of aortic pressure and vasoactive agents on the vascular resistance of the vasa vasorum in canine isolated thoracic aorta. *J Physiol.* 1992;453:233-45.
29. Okatani Y, Taniguchi K, Sagara Y. Amplifying effect of endothelin-1 on serotonin-induced vasoconstriction of human umbilical artery. *Am J Obstet Gynecol.* 1995 Apr;172(4 Pt 1):1240-5.

30. Pierre LN, Davenport AP. Endothelin receptor subtypes and their functional relevance in human small coronary arteries. *Br J Pharmacol.* 1998 Jun;124(3):499-506.
31. Scotland R, Vallance P, Ahluwalia A. Endothelin alters the reactivity of vasa vasorum: mechanisms and implications for conduit vessel physiology and pathophysiology. *Br J Pharmacol.* 1999 Nov;128(6):1229-34.
32. Tabuchi Y, Nakamaru M, Rakugi H, Nagano M, Ogihara T. Endothelin enhances adrenergic vasoconstriction in perfused rat mesenteric arteries. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989 Mar 31;159(3):1304-8.
33. Tabuchi Y, Shi SJ, Mikami H, Ogihara T. Endothelin modulates L-NG-nitroarginine-induced enhancement of vasoconstriction evoked by norepinephrine. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1991;17 Suppl 7:S203-5.
34. Williams JK, Armstrong ML, Heistad DD. Vasa vasorum in atherosclerotic coronary arteries: responses to vasoactive stimuli and regression of atherosclerosis. *Circ Res.* 1988 Mar;62(3):515-23.
35. Yang ZH, Richard V, von Segesser L, Bauer E, Stulz P, Turina M, et al. Threshold concentrations of endothelin-1 potentiate contractions to norepinephrine and serotonin in human arteries. A new mechanism of vasospasm? *Circulation.* 1990 Jul;82(1):188-95.
36. Zhang JX, Okamura T, Toda N. Pre- and postjunctional modulation by endothelin-1 of the adrenergic neurogenic response in canine mesenteric arteries. *Eur J Pharmacol.* 1996 Sep 12;311(2-3):169-76.
37. Scotland RS, Vallance PJ, Ahluwalia A. Endogenous factors involved in regulation of tone of arterial vasa vasorum: implications for conduit vessel physiology. *Cardiovasc Res.* 2000 Jun;46(3):403-11.
38. Angouras D, Sokolis DP, Dosios T, Kostomitsopoulos N, Boudoulas H, Skalkas G, et al. Effect of impaired vasa vasorum flow on the structure and mechanics of the thoracic aorta: implications for the pathogenesis of aortic dissection. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2000 Apr;17(4):468-73.
39. Suzuki T, Kopia G, Hayashi S, Bailey LR, Llanos G, Wilensky R, et al. Stent-based delivery of sirolimus reduces neointimal formation in a porcine coronary model. *Circulation.* 2001 Sep 4;104(10):1188-93.
40. Schwartz RS, Edelman ER, Carter A, Chronos N, Rogers C, Robinson KA, et al. Drug-eluting stents in preclinical studies: recommended evaluation from a consensus group. *Circulation.* 2002 Oct 1;106(14):1867-73.
41. Gunn J, Arnold N, Chan KH, Shepherd L, Cumberland DC, Crossman DC. Coronary artery stretch versus deep injury in the development of in-stent neointima. *Heart.* 2002 Oct;88(4):401-5.
42. Kornowski R, Hong MK, Tio FO, Bramwell O, Wu H, Leon MB. In-stent restenosis: contributions of inflammatory responses and arterial injury to neointimal hyperplasia. *J Am Coll Cardiol.* 1998 Jan;31(1):224-30.

43. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999 Jan 14;340(2):115-26.
44. Kuivaniemi H, Platsoucas CD, Tilson MD, 3rd. Aortic aneurysms: an immune disease with a strong genetic component. *Circulation.* 2008 Jan 15;117(2):242-52.
45. Moreno PR, Purushothaman KR, Fuster V, O'Connor WN. Intimomedial interface damage and adventitial inflammation is increased beneath disrupted atherosclerosis in the aorta: implications for plaque vulnerability. *Circulation.* 2002 May 28;105(21):2504-11.
46. Rajagopal K, Bridges C, Rajagopal KR. Towards an understanding of the mechanics underlying aortic dissection. *Biomech Model Mechanobiol.* 2007 Sep;6(5):345-59.
47. Prokop EK, Palmer RF, Wheat MW, Jr. Hydrodynamic forces in dissecting aneurysms. In-vitro studies in a Tygon model and in dog aortas. *Circ Res.* 1970 Jul;27(1):121-7.
48. Carney WI, Jr., Rheinlander HF, Cleveland RJ. Control of acute aortic dissection. *Surgery.* 1975 Jul;78(1):114-20.
49. O'Gara PT. Acute Aortic Dissection. *Curr Treat Options Cardiovasc Med.* 1999 Jun;1(1):11-8.
50. D'Andrea A, Ducceschi V, Caso P, Galderisi M, Mercurio B, Liccardo B, et al. Usefulness of Doppler tissue imaging for the assessment of right and left ventricular myocardial function in patients with dual-chamber pacing. *Int J Cardiol.* 2001 Nov;81(1):75-83.
51. Tiessen IM, Roach MR. Factors in the initiation and propagation of aortic dissections in human autopsy aortas. *J Biomech Eng.* 1993 Feb;115(1):123-5.
52. Stefanadis C, Vlachopoulos C, Karayannacos P, Boudoulas H, Stratos C, Filippides T, et al. Effect of vasa vasorum flow on structure and function of the aorta in experimental animals. *Circulation.* 1995 May 15;91(10):2669-78.
53. Wilens SL, Malcolm JA, Vazquez JM. Experimental infarction (medial necrosis) of the dog's aorta. *Am J Pathol.* 1965 Oct;47(4):695-711.
54. Wolinsky H, Glagov S. Comparison of abdominal and thoracic aortic medial structure in mammals. Deviation of man from the usual pattern. *Circ Res.* 1969 Dec;25(6):677-86.

ARTIGO ORIGINAL EM PORTUGUÊS

ARTIGO ORIGINAL EM PORTUGUÊS

Fagundes A¹, Pereira AH², Corrêa, RK³, De Oliveira, MT⁴, Rodriguez R⁵.

ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS SECUNDÁRIAS À INTERRUPTÃO DOS *VASA VASORUM* NA AORTA DESCENDENTE: IMPLICAÇÕES NA PATOGÊNESE DA DISSECÇÃO AÓRTICA.

Endereço para correspondência: almondifagundes@gmail.com

¹ Cirurgião Vascular, mestrando do Programa de Pós-graduação em Medicina : Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

² Professor Assistente de Cirurgia Vascular Periférica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

³ Médica Veterinária Residente em Cirurgia do Hospital Veterinário da Universidade de Passo Fundo.

⁴ Médica Veterinária Residente em Anestesiologia do Hospital Veterinário da Universidade de Passo Fundo.

⁵ Médico Patologista do Instituto de Patologia de Passo Fundo e Professor Adjunto de Patologia da Universidade de Passo Fundo.

1. Introdução:

A dissecação da aorta é a catástrofe mais devastadora das doenças cardiovasculares, mas o mecanismo pelo qual a dissecação ocorre ainda não é totalmente entendido. Existem vários fatores a serem considerados na sua gênese tais como: distúrbios hemodinâmicos e os fatores relacionados às propriedades mecânicas e geométricas da aorta (anisotropia e a organização estrutural da parede aórtica) (1). Os *Vasa Vasorum* (VV) têm um importante papel em várias doenças, pois o fluxo sanguíneo insuficiente através dos VV aórticos está envolvido na fisiopatologia da aterosclerose, e pode contribuir para a necrose da camada média da aorta. Este estudo tem como objetivo demonstrar, pela primeira vez, as alterações histológicas que ocorrem na parede aórtica a longo prazo, ou seja, além das 2 semanas de interrupção do fluxo sanguíneo através do VV da aorta descendente em modelo suíno. Os VV são pequenas artérias que penetram na parede arterial por meio do endotélio (*vasa vasorum* interno) e da camada adventícia (*vasa vasorum* externo). Os VV da camada adventícia ramificam-se em vasos menores que irrigam as camadas mais externas da túnica média (2-3).

2. Material e Métodos:

O experimento foi conduzido com 8 suínos jovens, idade média de 8 semanas, resultantes do cruzamento das raças Landrace e Large White, pesando em média 25 Kg (21 – 27Kg) e todos os animais eram fêmeas. Um animal foi excluído da análise devido ao óbito no transoperatório por ruptura da aorta torácica e choque hipovolêmico durante a retirada da camada adventícia da aorta torácica descendente. Os sete animais restantes foram divididos em grupos de 2 semanas após a lesão (3 animais), 4 semanas (2 animais), 6 semanas (1 animal) e 8 semanas (1 animal) semanas da lesão.

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

2.1 Técnica cirúrgica:

Os suínos foram pré-medicados com Acepran (0.1mg/kg) e Midazolam (0,3mg/kg) e Morfina (0,5mg/kg) por via intramuscular. O acesso venoso foi obtido na veia marginal da orelha para administração de medicação e fluidos, (SF 0,9% 5ml/kg/h). Os animais foram pré-oxigenados durante 5 minutos antes da indução anestésica, realizada com propofol (1mg/kg). A seguir, foram ventilados sob intubação orotraqueal com oxigênio e a posição do tubo nº 7-7.5 certificada pela ausculta pulmonar. A manutenção da anestesia geral foi realizada com infusão de propofol (0,8mg/kg/min), e monitorada com eletrocardiograma e oximetria. O tórax foi preparado com degermação e escovação com sabão anti-séptico, assepsia com álcool iodado a 2% e colocação de campos cirúrgicos. A seguir, procedeu-se a uma incisão tóraco-lateral à esquerda no 6º espaço intercostal, divulsão muscular e entrada na cavidade pleural. Após, fez-se o descolamento com dissecação roma da aorta torácica, com cuidado para evitar lesão das artérias intercostais e prevenir paraplegia pós-operatória, até a visualização da artéria subclávia esquerda cranialmente, e por mais 5cm caudalmente. Para remoção dos VV, retiramos a camada adventícia que era incisada transversalmente em cerca de 1/3 da circunferência da aorta. Foi então realizada a ligadura das artérias intercostais e a retirada da camada adventícia, por cerca de 5cm na porção média da aorta descendente. Após a retirada da camada adventícia a aorta foi envolvida com o pericárdio bovino ao redor da área sem adventícia (Figura 01). Após o controle da hemostasia e a revisão do espaço pleural, colocou-se um dreno torácico com aspiração contínua para realização de pressão negativa até o término do fechamento da parede torácica.

2.2 Análise histológica:

A eutanásia foi realizada com o animal ainda anestesiado, conforme o protocolo prévio já descrito. Após a eutanásia, foi realizada a retirada do segmento aórtico envolvido por pericárdio e cerca de 5 cm de aorta proximal e distal. A peça foi, então, imersa em formol tamponado 10%, e enviada para o laboratório de patologia. A seguir, uma lâmina de cada segmento (proximal, médio e distal) das aortas foi corada pela Hematoxilina e Eosina (HE) e uma pelo método de *Weigert – van Gieson*, para coloração das fibras elásticas, portanto, melhor visualização das três camadas arteriais. *Weigert - van Gieson* cora fibras elásticas em negro pelo corante de *Weigert* (fucsina básica/resorcina), e as fibras colágenas em vermelho pelo corante de *van Gieson* (fucsina ácida). O tecido de fundo, independente do tipo, fica corado em amarelo pelo ácido pícrico, que serve de corante de fundo. Os núcleos são corados pela hematoxilina férrica de *Weigert*.

As lâminas coradas foram analisadas pela câmera *Pixelink PL-A662* acoplada ao microscópio *Axiotech Zeiss*, com objetiva de 25x, 50x e 100x. A avaliação dos parâmetros histológicos e as medidas morfométricas dos cortes histológicos foram realizadas por um médico patologista com experiência em patologias arteriais e cegado para os grupos selecionados.

3. Resultados:

Durante a retirada das peças, observamos uma intensa bainha fibrótica ao redor do segmento lesionado, porém, graças ao uso do pericárdio bovino, não havia aderência dos tecidos adjacentes ao segmento lesionado.

Após duas semanas, observamos fibrose subendotelial com a lâmina elástica interna preservada, assim como a camada média nos seus 2/3 internos e um leve desarranjo no 1/3 externo da camada média com um leve infiltrado de linfócitos e neutrófilos. Identificaram-se também focos de angiogênese no 1/3 externo da camada média.

Nos animais sacrificados após quatro semanas, persistia a fibrose subendotelial com a lâmina elástica interna preservada, assim como a camada média no seu 1/3 interno. Foi identificado um desarranjo estrutural das fibras elásticas e colágenas nos 2/3 externos da camada média. Com relação à inflamação, foi observado um infiltrado de linfócitos, histiócitos e neutrófilos nos 2/3 externos da camada média. Com relação à angiogênese, foram observados focos nos 2/3 externos da camada média (Figura 02).

Após seis semanas, os seguintes achados foram identificados: necrose da parede da aorta com fibrose subendotelial. Com relação à inflamação, foi identificada uma necrose com infiltrado linfocítico, histiocitário e neutrofilico em toda a camada média. Com relação à angiogênese, observaram-se focos em toda a camada média e na porção subendotelial.

Finalmente, após oito semanas, havia fibrose de toda a parede da aorta com destruição da lâmina elástica interna. Observamos uma área de inflamação moderada próxima ao endotélio. Com relação à angiogênese, foram observados focos em toda a camada média e na porção subendotelial (Figura 03).

Em resumo, pode-se evidenciar um aumento progressivo nos graus de lesão que se iniciaram na porção externa da camada média e progrediram em direção às camadas mais internas conforme aumentava o tempo de exposição à isquemia.

4. Discussão:

A inflamação vascular é um processo complexo que envolve a migração, extravasamento e ativação local de leucócitos mononucleares na parede do vaso (4). O infiltrado celular de macrófagos e linfócitos representa os principais tipos celulares nos aneurismas humanos, e são localizados principalmente na camada adventícia (5). Além da infiltração leucocitária e da produção de citocinas, a camada adventícia é altamente reativa no processo de formação dos aneurismas, onde se identifica uma marcante proliferação de fibroblastos. Acredita-se que a camada adventícia tem um papel chave na gênese e na manutenção da inflamação vascular vista nos aneurismas e na doença vascular aterosclerótica (6-7). O estudo tridimensional dos VV foi possível por meio de estudos de micro – tomografia computadorizada (8-9), assim como para o melhor entendimento da anatomia e da distribuição por meio da micro-arteriografia. Os VV da camada adventícia comunicam-se por meio de um plexo. A embolização dos VV reduz a densidade desses vasos no ponto de embolização, e aumenta o número de ramos em áreas previamente menos irrigadas (10). Estes achados demonstram um impacto na distribuição da perfusão e da drenagem na parede arterial.

O mecanismo pelo qual ocorre a dissecação ainda não é totalmente entendido. Existem vários fatores a serem considerados na sua gênese tais como: distúrbios hemodinâmicos e os fatores relacionados às propriedades mecânicas e geométricas da aorta (anisotropia e a organização estrutural da parede aórtica) (1).

Existem dois fatores mecânicos principais que influenciam na dissecação aórtica: a anisotropia (as diferenças de pressão em diferentes pontos da parede da aorta) e a organização estrutural da parede da aorta normal que é composta por diferentes camadas, isto é, a parede não tem homogeneidade.

A anisotropia com subsequente disrupção das camadas da aorta é o principal mecanismo na dissecção aórtica. A consequência imediata dessa anisotropia é a diferença nos locais de estresse na parede aórtica que é mais intenso sobre a camada média. A lesão de entrada ocorre comumente na interface das camadas, em especial se existir a perda da sua integridade estrutural.

Com base nestes princípios mecânicos da parede aórtica Stefanadis et al. (11), desenvolveram um modelo experimental de isquemia da parede por interrupção dos *vasa vasorum*, retirando a gordura periaórtica da aorta ascendente de caninos, e avaliaram as alterações na elasticidade da parede aórtica.

Neste estudo, que avaliou as alterações com 2 semanas de isquemia da parede aórtica, demonstrou-se a diminuição da elasticidade da parede aórtica, necrose da camada média, alterações nas fibras elásticas e na relação de colágeno e elastina na camada externa da parede aórtica. Este estudo demonstrou uma necrose isquêmica da túnica média da aorta acompanhada de alterações no tecido elástico com desarranjo e fragmentação local das fibras elásticas da camada média. Estes resultados corroboram com achados de estudos prévios (12-13). Investigações anteriores também sugerem que a diminuição do fluxo sanguíneo na parede aórtica durante a crise hipertensiva pode contribuir para a necrose da camada média da aorta (14). Stefanadis et al (11) também demonstraram, além do desarranjo das fibras de colágeno e elastina, o aumento da rigidez da aorta ascendente na aorta de cães após 2 semanas de remoção dos *vasa vasorum* (VV). Estes resultados foram confirmados pelo estudo de Angouras et al (15), que estudaram as alterações morfológicas secundárias à interrupção dos VV da aorta torácica em suínos. Após duas semanas, a isquemia da parede aórtica levou a alterações morfológicas no conteúdo do colágeno e da elastina do 1/3 externo da camada média da aorta descendente, resultando em enrijecimento desta região. Neste último estudo, ao

contrário daquele de Stefanadis et al. (11), foi colocado um material sintético (polivinil) para o revestimento da aorta em seu segmento , estudo, também com o objetivo de evitar uma neovascularização através dos tecidos vizinhos. Optamos pela colocação do patch de pericárdio bovino por se tratar de um material mais biocompatível e que teria a mesma função.

Ao contrário dos achados encontrados no estudo de Angouras et al (15) e Stefanadis et al. (11), nosso estudo demonstrou a presença de fibrose subendotelial, com um leve infiltrado inflamatório de linfócitos e neutrófilos no nível da camada mais externa da camada média, assim como leves focos de angiogênese na camada externa nos animais com 2 semanas de lesão.

As propriedades elásticas da aorta são determinadas principalmente pelos componentes da camada média da aorta. A razão elastina-colágeno, as células musculares lisas, a composição da matriz extracelular, assim como o espessamento da parede e o diâmetro aórtico desempenham um importante papel nas propriedades elásticas da parede aórtica.

Em nosso estudo, foi possível demonstrar, pela primeira vez, as alterações histológicas que ocorrem na parede aórtica a mais longo prazo. Nenhum outro estudo avaliou as alterações isquêmicas da parede aórtica além de 2 semanas de isquemia. Pudemos evidenciar que, com a interrupção do fluxo sanguíneo através dos VV na parede aórtica, ocorreu um desarranjo estrutural com perda das fibras elásticas da camada média que se iniciaram nas porções mais externas (2 semanas) e que com um maior tempo de lesão (4, 6 e 8 semanas) levaram a um progressivo desarranjo das camadas mais internas da camada média arterial, até haver laceração completa da lâmina elástica interna e uma fibrose de toda a parede da aorta com destruição quase completa das fibras elásticas.

5. Conclusão:

O nosso estudo confirma que a isquemia induzida pela interrupção total do fluxo sanguíneo através dos *vasa vasorum* (VV) leva à degenerações da túnica média, determinando perda da estrutura normal da parede aórtica que é variável em sua localização, intensidade e forma, dependendo do tempo de evolução da lesão. Neste estudo, observamos que havia fibrose subendotelial que já aparecia com duas semanas de lesão e que persistia relativamente inalterada até a oitava semana. A neoformação vascular na parede, representada pela angiogênese, ocorria desde a segunda semana e aumentava progressivamente até a oitava semana. O mecanismo desta proliferação de neo vasos não está bem esclarecido, mas certamente não tem como origem os tecidos periaórticos que foram isolados pelo pericárdio bovino.

Em resumo, estudamos as alterações histológicas decorrentes da interrupção dos VV da aorta descendente em suínos desde a segunda semana da lesão até que ocorresse a fibrose completa da parede. Este estudo pode contribuir para um melhor entendimento do papel dos VV na degeneração da parede aórtica e dos mecanismos envolvidos na dissecação.

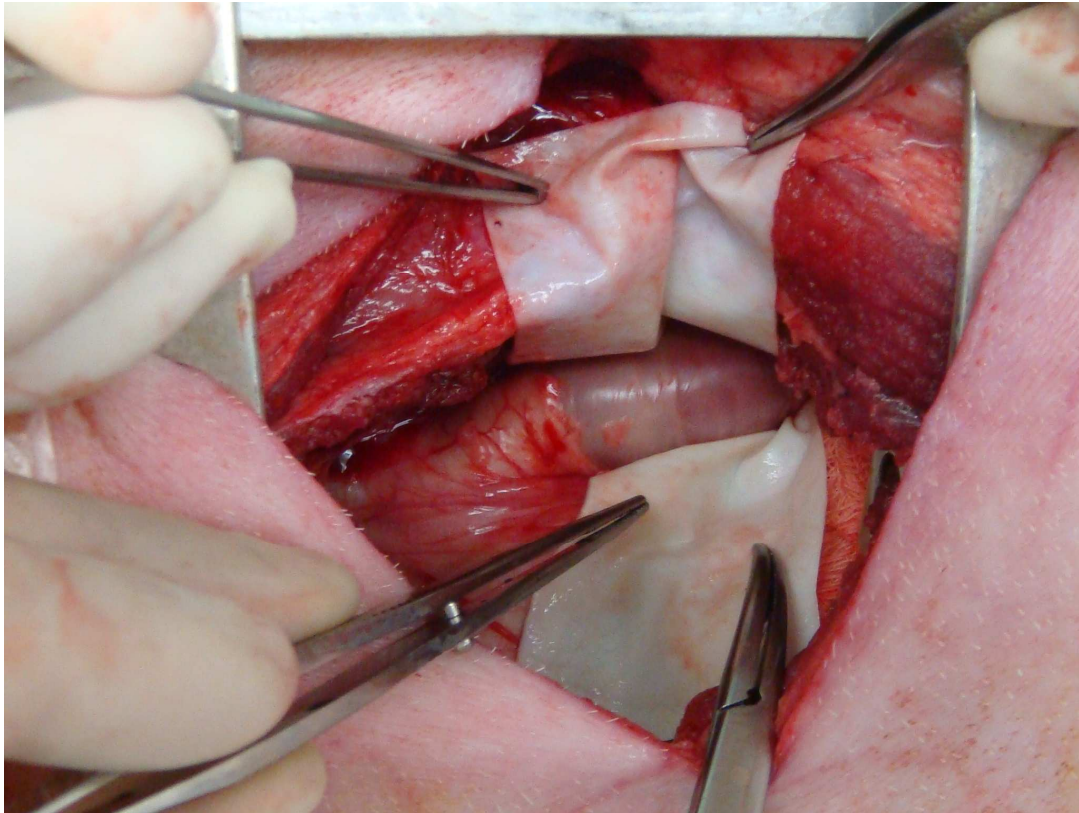


Figura 01. Aorta torácica descendente sem a camada adventícia e sendo revestida pelo pericárdio bovino.

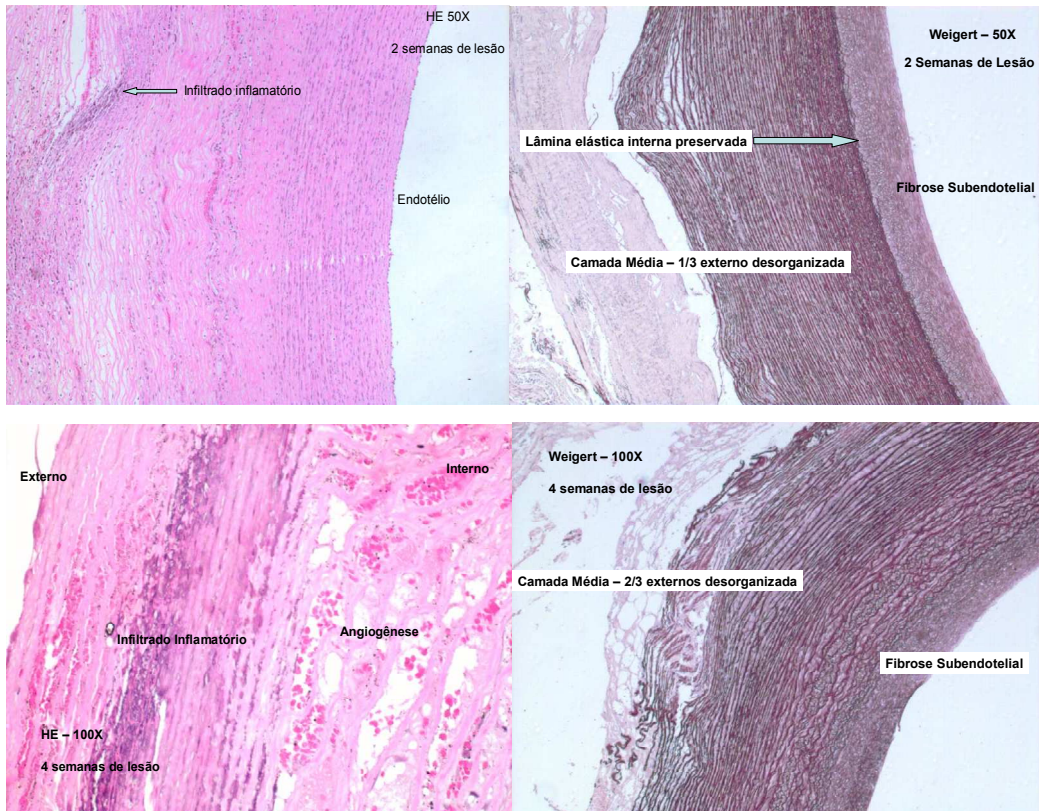


Figura 02. **Acima à esquerda e à direita:** após 2 semanas de lesão observamos uma fibrose subendotelial com preservação da lâmina elástica interna e dos 2/3 internos da túnica média. Focos de angiogênese são identificados no 1/3 externo da túnica média. *Weigert-van Gieson* (acima à direita) observamos a desorganização das fibras elásticas e do colágeno no 1/3 externo da túnica média. **Abaixo à esquerda e à direita:** achados após 4 semanas de lesão com fibrose subendotelial e desorganização dos 2/3 externos da túnica média.

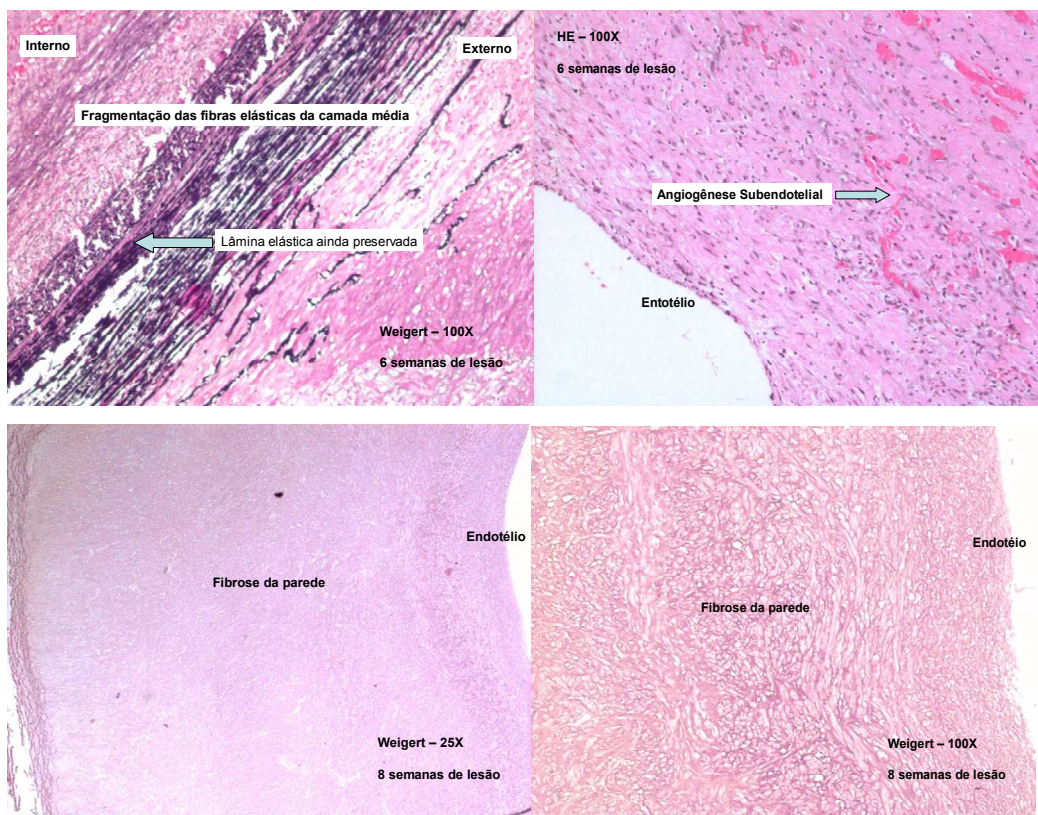


Figura 03. **Acima à esquerda e à direita:** achados após 6 semanas de lesão. Focos difusos de necrose na parede aórtica com fibrose subendotelial. Infiltrado linfocítico, histiocitário e neutrofílico em toda a túnica média. Focos de angiogênese são visualizados na túnica média e na porção subendotelial. **Abaixo à esquerda e à direita:** achados após 8 semanas de lesão. Fibrose de toda a parede aórtica com destruição da lâmina elástica interna.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rajagopal K, Bridges C, Rajagopal KR. Towards an understanding of the mechanics underlying aortic dissection. *Biomech Model Mechanobiol.* 2007 Sep;6(5):345-59.
2. Okuyama K, Yaginuma G, Takahashi T, Sasaki H, Mori S. The development of vasa vasorum of the human aorta in various conditions. A morphometric study. *Arch Pathol Lab Med.* 1988 Jul;112(7):721-5.
3. Wolinsky H, Glagov S. Nature of species differences in the medial distribution of aortic vasa vasorum in mammals. *Circ Res.* 1967 Apr;20(4):409-21.
4. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999 Jan 14;340(2):115-26.
5. Kuivaniemi H, Platsoucas CD, Tilson MD, 3rd. Aortic aneurysms: an immune disease with a strong genetic component. *Circulation.* 2008 Jan 15;117(2):242-52.
6. Maiellaro K, Taylor WR. The role of the adventitia in vascular inflammation. *Cardiovasc Res.* 2007 Sep 1;75(4):640-8.
7. Moreno PR, Purushothaman KR, Fuster V, O'Connor WN. Intimomedial interface damage and adventitial inflammation is increased beneath disrupted atherosclerosis in the aorta: implications for plaque vulnerability. *Circulation.* 2002 May 28;105(21):2504-11.
8. Barger AC, Beeuwkes R, 3rd, Lainey LL, Silverman KJ. Hypothesis: vasa vasorum and neovascularization of human coronary arteries. A possible role in the pathophysiology of atherosclerosis. *N Engl J Med.* 1984 Jan 19;310(3):175-7.
9. Gossel M, Malyar NM, Rosol M, Beighley PE, Ritman EL. Impact of coronary vasa vasorum functional structure on coronary vessel wall perfusion distribution. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003 Nov;285(5):H2019-26.
10. Ritman EL, Lerman A. The dynamic vasa vasorum. *Cardiovasc Res.* 2007 Sep 1;75(4):649-58.
11. Stefanadis C, Vlachopoulos C, Karayannacos P, Boudoulas H, Stratos C, Filippides T, et al. Effect of vasa vasorum flow on structure and function of the aorta in experimental animals. *Circulation.* 1995 May 15;91(10):2669-78.
12. Wilens SL, Malcolm JA, Vazquez JM. Experimental infarction (medial necrosis) of the dog's aorta. *Am J Pathol.* 1965 Oct;47(4):695-711.
13. Wolinsky H, Glagov S. Comparison of abdominal and thoracic aortic medial structure in mammals. Deviation of man from the usual pattern. *Circ Res.* 1969 Dec;25(6):677-86.

14. Heistad DD, Marcus ML, Law EG, Armstrong ML, Ehrhardt JC, Abboud FM. Regulation of blood flow to the aortic media in dogs. *J Clin Invest.* 1978 Jul;62(1):133-40.
15. Angouras D, Sokolis DP, Dosios T, Kostomitsopoulos N, Boudoulas H, Skalkeas G, et al. Effect of impaired vasa vasorum flow on the structure and mechanics of the thoracic aorta: implications for the pathogenesis of aortic dissection. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2000 Apr;17(4):468-73.

ARTIGO ORIGINAL EM INGLÊS

ARTIGO ORIGINAL EM INGLÊS

Fagundes A¹, Pereira AH², Corrêa, RK³, De Oliveira, MT⁴, Rodriguez R⁵.

Histological alterations secondary to interruption of the *vasa vasorum* in the descending aorta: implications for the pathogenesis of aortic dissection.

¹ Vascular Surgeon, on the Master's Degree Program of the Medical Postgraduate Program: Surgery, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

² Assistant Professor - Vascular Surgery , Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

³ Veterinary Doctor, Resident in Surgery at the Hospital Veterinário –Universidade de Passo Fundo.

⁴ Veterinary Doctor, Resident in Anesthesiology-Hospital Veterinário –Universidade de Passo Fundo.

⁵ Medical Pathologist at the Passo Fundo Institute of Pathology and Assistant Professor of Pathology at the Universidade de Passo Fundo.

1. Introduction:

Aortic dissection is the most devastating catastrophe among cardiovascular diseases, but the mechanism by which the dissection occurs is not fully understood. There are several factors to be considered such as hemodynamic disorders and factors related to mechanical and geometrical properties of the aorta (1). The *Vasa Vasorum* (VV) have an important role in various diseases because insufficient blood flow through the aortic wall is involved in the pathophysiology of atherosclerosis and may contribute to necrosis of the aortic media. This study aims to demonstrate, the histological alterations that occur in the aortic wall over time, after the interruption of blood flow through the VV in the descending aorta in a porcine model.

The VV are small arteries that penetrate the arterial wall both from the luminal surface (*vasa vasorum interna*) and by the adventitia (*vasa vasorum externa*). The VV from the adventitia branch into smaller vessels that supply the outer layers of the tunica media (2, 3).

2. Material and Methods:

The experiment was conducted with eight young female Landrace-Large White pigs, with a mean age of 8 weeks, weighing on average 25 kg (21 - 27 kg). One animal was excluded from the analysis due to death secondary to rupture of the thoracic aorta and hypovolemic shock during removal of the adventitia of the descending aorta. The seven remaining animals were divided into four groups accordingly with the timing of

euthanasia: two weeks after lesion (three animals), four weeks (2 animals), 6 weeks (one animal) and eight weeks (1 animal).

The experiment was approved by the ethics committee of the Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS) and the Hospital de Clinicas de Porto Alegre (HCPA).

2.1 Surgical technique:

The pigs were pre medicated with Acepran (0.1mg/Kg), midazolam (0.3 mg / kg) and morphine (0.5 mg / kg). Venous access was obtained in the marginal vein of the ear for administration of medication and fluids. The animals were pre-oxygenated for 5 minutes before induction of anesthesia with propofol (1mg/kg). They were then ventilated with oxygen via endotracheal intubation. General anesthesia was maintained by the infusion of propofol (0.8 mg / kg / min) and monitored by means of electrocardiogram and oximetry. A left lateral thoracic incision was made into the left 6th intercostal space, and the pleural cavity was entered. After dissection of the mid portion of the descending thoracic aorta, the adventitia was removed for 5 cms and the intercostal arteries ligated. After removal of the adventitia, the aorta was wrapped with bovine pericardium. (Figure 01). A drain with continuous aspiration was put into place before closure of the chest wall.

2.2 Histological analysis:

Euthanasia was performed with the animal anesthetized according to the previously above protocol. After euthanasia, the aortic segment wrapped in pericardium was removed together with about 5 cm of the proximal and distal aorta. The piece was then immersed in 10% buffered formalin and sent to the pathology laboratory. Next, a

slice of each segment (proximal, middle and distal) of the aortas was stained with hematoxylin and eosin (HE) and Weigert - Van Gieson (to highlight collagen and elastic fibers).

The stained slides were analyzed using a PL-A662 Pixelink camera coupled to Axiothotz Zeiss lens with 25x, 50x and 100x magnification. Assessment of the histological parameters and morphometric measurement of the histological sections were performed by a pathologist with expertise in arterial pathology and blinded to the selected groups.

3. Results:

During the removal of the aorta we observed an intense fibrotic sheath around the injured segment, but thanks to the use of the bovine pericardium there was little adherence to adjacent tissues.

After two weeks, subendothelial fibrosis was observed but the internal elastic lamina was preserved, as were the inner 2/3 of the media. There was a slight cellular breakdown in the outer 1/3 of the media with some lymphocytes and neutrophils. In addition, foci of angiogenesis were identified in the outer 1/3 of the media.

In animals sacrificed after four weeks, the subendothelial fibrosis with internal elastic lamina remained unchanged and the inner 1/3 of the tunica media was still preserved. There was structural breakdown of elastic and collagen fibers in the outer 2/3 of the tunica media. Lymphocyte and neutrophil infiltration and foci of angiogenesis were observed in the outer 2/3 of the media (Figure 02).

After six weeks, the following findings were identified: diffuse foci of necrosis of the aortic wall with subendothelial fibrosis. Regarding inflammation, there was lymphocytic histiocytic and neutrophilic infiltration with necrosis throughout all the tunica media. Foci of angiogenesis were observed throughout the tunica media and in the subendothelial portion.

Finally, after eight weeks, there was fibrosis of the entire wall of the aorta with disruption of the internal elastic lamina. We observed an area of moderate inflammation near the endothelium. In relation to angiogenesis, foci were observed throughout the tunica media and in subendothelial portion (Figure 03).

In summary, we observed a progressive increase in the degree of injury, which started in the outer portion of the media and progressed toward the inner layers with time.

4. Discussion:

Vascular inflammation is a complex process that involves migration, extravasation and local activation of mononuclear leukocytes in the vessel wall (4). The cellular infiltrate of macrophages and lymphocytes represents the major cell types in human aneurysms and are located mainly in the tunica adventitia (5). Besides leukocyte infiltration and cytokine production in adventitial layer is highly reactive in the formation of aneurysms, which identifies a marked proliferation of fibroblasts. It is believed that the adventitial layer has a key role in the genesis and maintenance of vascular inflammation seen in aneurysms and atherosclerotic vascular disease (6, 7).

The three-dimensional study of VV was made possible by micro-computed tomography studies (8, 9), as well as better understanding of the anatomy and distribution by micro-arteriography . The adventitial VV connect to each other by means of a plexus, but behave like terminal arteries. Embolization of VV reduces the density of these vessels at that point and increases the number of branches in areas previously less irrigated (10). This feature may impact the spatial distribution of perfusion and drainage of the arterial wall.

The mechanism by which the dissection occurs is not yet fully understood. There are several factors to be considered, such as hemodynamic disorders and factors related to the mechanical and geometrical properties of the aorta (anisotropy and the structural organization of the aortic wall (1).

There are two main mechanical factors that have influence in aortic dissection: anisotropy (the variation in pressure at different points of the aortic wall) and the structural organization of normal aorta wall that, is composed of different layers, i.e., the wall is not homogeneous.

Anisotropy with subsequent disruption of layers in the aortic wall is the main mechanism of aortic dissection. The immediate consequence of this anisotropy is modification of local stress in the aortic wall that is more intense on the media.. The entry injury commonly occurs at the interface of layers, especially if there is loss of structural integrity at that point. The elastic properties of the aortic wall are determined mainly by the components of the aortic media. The elastin-collagen ratio, smooth muscle cells, the composition of the extracellular matrix, as well as wall thickening , all play an important role in the elastic properties of the aortic wall.

Based on these mechanical principles of the aortic wall, Stefanadis et al (11), developed an experimental model of ischemia of the arterial wall by the interruption of the VV, removing the periaortic fat from the ascending aorta of dogs, and assessed the changes in elasticity of the aortic wall. This study, which evaluated the changes with two weeks of ischemia, showed a decrease in the elasticity of the aortic wall, necrosis of the tunica media accompanied by disarrangement and fragmentation of elastic fibers and of the ratio of collagen to elastin. These results confirm findings from previous studies (12, 13). Previous investigations also suggest that the decreased blood flow in the aortic wall during a hypertensive crisis may contribute to necrosis of the tunica media in the aortic (14). Stefanadis et al (11) also demonstrated, besides the breakdown of collagen and elastin fibers, an increase in the stiffness of the ascending aorta in dogs after 2 weeks of removal of the VV. These results were confirmed by the study of Angouras et al (15), who studied the morphological alterations secondary to interruption of VV of the descending thoracic aorta in pigs. After two weeks, ischemia of the aortic wall led to morphological alterations in the content of collagen and elastin in the outer 1/3 of the media, resulting in stiffening in this region. In this latter study, a non porous and inert material (polyvinyl chloride) was used to cover the injured segment of the aorta in order to avoid neovascularization through adjacent tissues. In our study, we chose to rap the aorta with bovine pericardium, because it is a more biocompatible and still non porous graft.

In our study, to better analyze elastic and collagen fibers we used the *Weigert - van Gieson* method. Elastic fibers are stained in black by *Weigert's* stain (basic fuchsin / resorcinol), and collagen fibers in red by *van Gieson's* stain (acid fuchsin). The background tissue, regardless of type, is stained yellow by the picric acid, which serves as the background color. Nuclei are stained in red by *Weigert's* iron hematoxylin.

Unlike the findings reported in the study by Angouras et al (15) and Stefanadis et al (11), our study demonstrated the presence of subendothelial fibrosis with a mild inflammatory infiltrate of lymphocytes and neutrophils at the outermost part of the media, as well as sparse foci of angiogenesis in the outer layer, since 2 weeks after injury.

In our study, the histological alterations that occur in the aortic wall in a longer term were demonstrated. To our knowledge no other study has evaluated the ischemic alterations in the aortic wall beyond 2 weeks of ischemia. We could see that the interruption of blood flow through the VV in the aortic wall led to structural disarrangement with loss of elastic fibers in the tunica media that began in the outer portions (two weeks) and that, over time (4, 6 and 8 weeks), the ischemic insult led to a progressive disarrangement of the inner layers of the arterial tunica media, until there was complete laceration of the internal elastic lamina and fibrosis of the entire wall of the aorta, with almost complete destruction of elastic fibers. Probably the role of the VV *internae* (from the luminal surface) in irrigating the inner 1/3 of the media is less important than was expected.

5. Conclusion:

Our study confirms that the ischemia induced by complete interruption of blood flow through the VV leads to degeneration of the media, determining loss of normal structure of the aortic wall that is variable in its location, intensity and shape, depending on the length and duration of the ischemic insult. In this study, we observed that subendothelial fibrosis had already appeared at two weeks and persisted relatively unchanged until eighth weeks after removal of VV. Vascular neoformation in the wall,

represented by angiogenesis, occurred from the second week and progressively increased over time .The mechanism behind this proliferation of neo-vessels is not clear, but it certainly does not originate from the periaortic tissues that were isolated by the bovine pericardium.

In summary, we studied the histological changes caused by the interruption of the VV of the descending aorta in pigs from the second week of the injury until the occurrence of complete fibrosis of the wall at eight weeks. This study may contribute to a better understanding of the role of VV in the degeneration of the aortic wall and the mechanisms involved in aortic dissection.

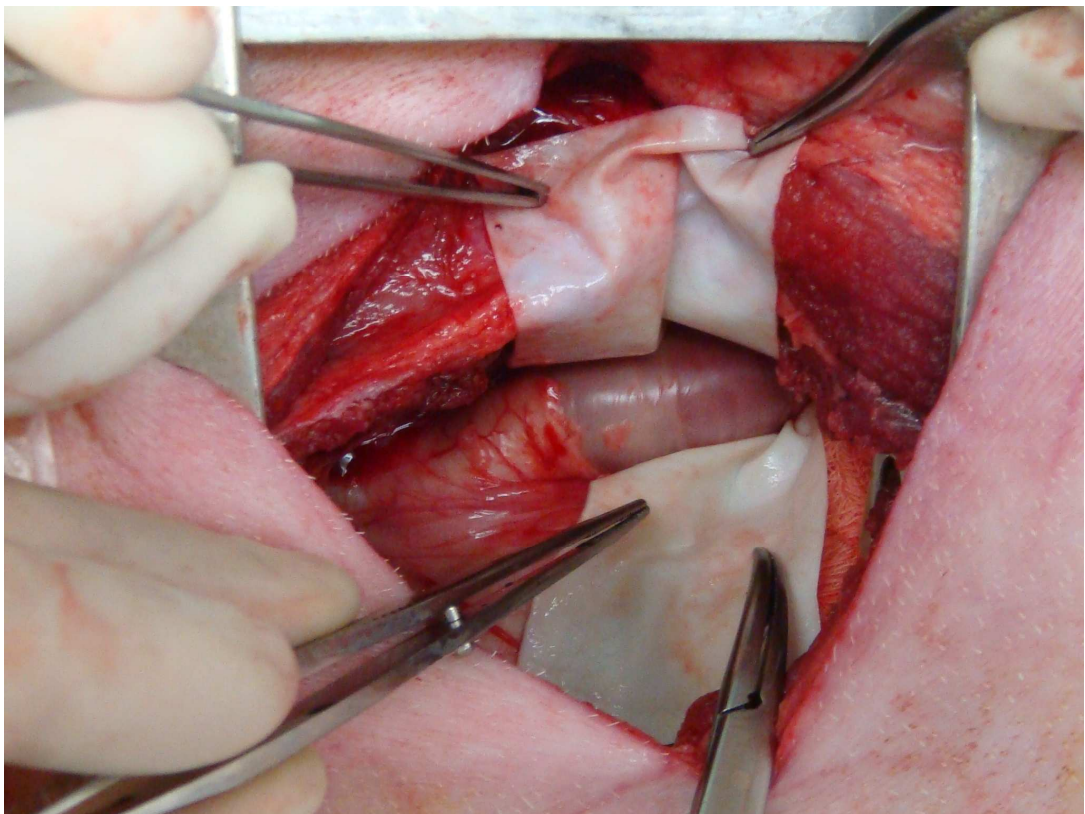


Figure 01. Descending thoracic aorta after removal of the adventitia and being covered by bovine pericardium.

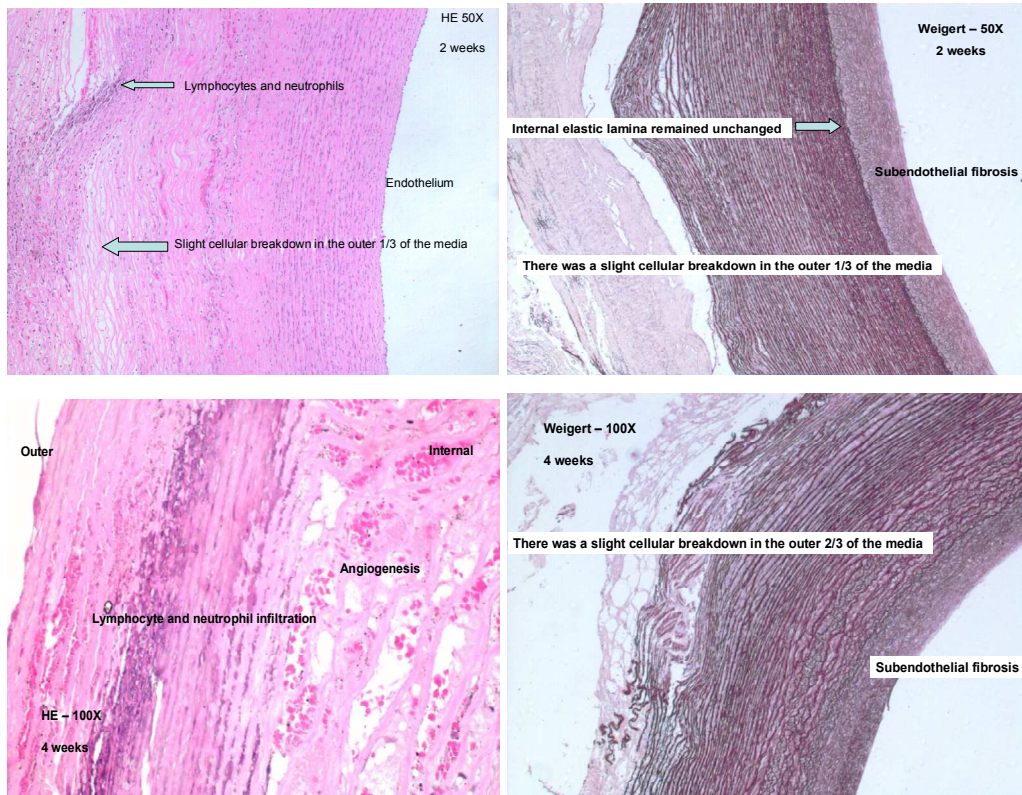


Figure 02. **Upper left and right:** after two weeks there was subendothelial fibrosis and preservation of the internal elastic lamina and of the inner 2/3 of the media. Foci of angiogenesis were identified in the outer 1/3 of the media. Weigert - Van Gieson staining (top right) highlights collagen and elastic fibers disruption in the outer 1/3 of the media. **Bottom left and right:** findings after four weeks with subendothelial fibrosis and breakdown of elastic and collagen fibers in the outer 2/3 of the tunica media.

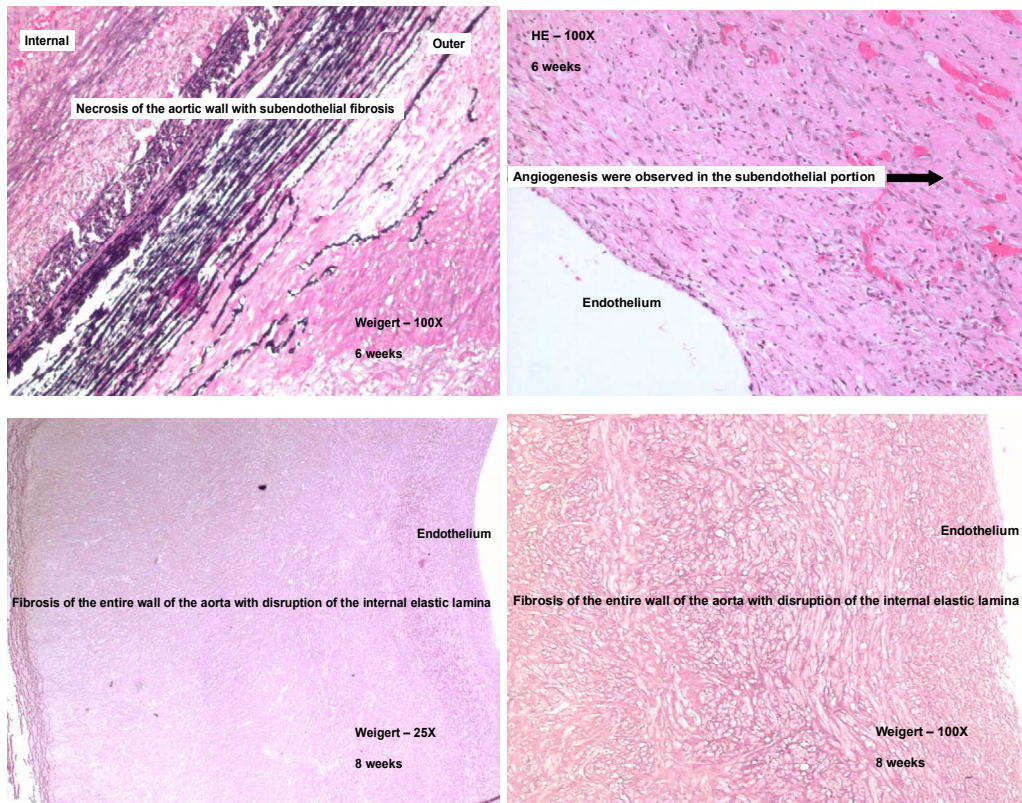


Figure 03. **Upper left and right:** findings after six weeks. Diffuse foci of necrosis of the aortic wall with subendothelial fibrosis. Lymphocytic, histiocytic and neutrophilic infiltration with necrosis throughout all the tunica media. Foci of angiogenesis were observed throughout the tunica media and in the subendothelial portion. **Bottom left and right:** findings after eight weeks. Fibrosis of the entire wall, with disruption of the internal elastic lamina.

References

1. Rajagopal K, Bridges C, Rajagopal KR. Towards an understanding of the mechanics underlying aortic dissection. *Biomech Model Mechanobiol*. 2007 Sep;6(5):345-59.
2. Okuyama K, Yaginuma G, Takahashi T, Sasaki H, Mori S. The development of vasa vasorum of the human aorta in various conditions. A morphometric study. *Arch Pathol Lab Med*. 1988 Jul;112(7):721-5.
3. Wolinsky H, Glagov S. Nature of species differences in the medial distribution of aortic vasa vasorum in mammals. *Circ Res*. 1967 Apr;20(4):409-21.
4. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999 Jan 14;340(2):115-26.
5. Kuivaniemi H, Platsoucas CD, Tilson MD, 3rd. Aortic aneurysms: an immune disease with a strong genetic component. *Circulation*. 2008 Jan 15;117(2):242-52.
6. Maiellaro K, Taylor WR. The role of the adventitia in vascular inflammation. *Cardiovasc Res*. 2007 Sep 1;75(4):640-8.
7. Moreno PR, Purushothaman KR, Fuster V, O'Connor WN. Intimomedial interface damage and adventitial inflammation is increased beneath disrupted atherosclerosis in the aorta: implications for plaque vulnerability. *Circulation*. 2002 May 28;105(21):2504-11.
8. Barger AC, Beeuwkes R, 3rd, Lainey LL, Silverman KJ. Hypothesis: vasa vasorum and neovascularization of human coronary arteries. A possible role in the pathophysiology of atherosclerosis. *N Engl J Med*. 1984 Jan 19;310(3):175-7.
9. Gossel M, Malyar NM, Rosol M, Beighley PE, Ritman EL. Impact of coronary vasa vasorum functional structure on coronary vessel wall perfusion distribution. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003 Nov;285(5):H2019-26.
10. Ritman EL, Lerman A. The dynamic vasa vasorum. *Cardiovasc Res*. 2007 Sep 1;75(4):649-58.
11. Stefanadis C, Vlachopoulos C, Karayannacos P, Boudoulas H, Stratos C, Filippides T, et al. Effect of vasa vasorum flow on structure and function of the aorta in experimental animals. *Circulation*. 1995 May 15;91(10):2669-78.
12. Wilens SL, Malcolm JA, Vazquez JM. Experimental infarction (medial necrosis) of the dog's aorta. *Am J Pathol*. 1965 Oct;47(4):695-711.
13. Wolinsky H, Glagov S. Comparison of abdominal and thoracic aortic medial structure in mammals. Deviation of man from the usual pattern. *Circ Res*. 1969 Dec;25(6):677-86.

14. Heistad DD, Marcus ML, Law EG, Armstrong ML, Ehrhardt JC, Abboud FM. Regulation of blood flow to the aortic media in dogs. *J Clin Invest.* 1978 Jul;62(1):133-40.
15. Angouras D, Sokolis DP, Dosios T, Kostomitsopoulos N, Boudoulas H, Skalkeas G, et al. Effect of impaired vasa vasorum flow on the structure and mechanics of the thoracic aorta: implications for the pathogenesis of aortic dissection. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2000 Apr;17(4):468-73.