

# Efeitos da remoção da túnica adventícia da aorta descendente em suínos

## *Effects of removal of the adventitia of the descending aorta and structural alterations in the tunica media in pigs*

ALMONDI FAGUNDES<sup>1</sup>; ADAMASTOR HUMBERTO PEREIRA, TCBC-RS<sup>2</sup>; ROSE KARINA CORRÊA<sup>3</sup>; MARÍLIA TERESA DE OLIVEIRA<sup>4</sup>; RUBENS RODRIGUEZ<sup>5</sup>

### R E S U M O

**Objetivo:** Investigar os efeitos da remoção da adventícia da aorta em suínos. **Métodos:** O experimento foi realizado com oito suínos. Removeu-se a camada adventícia da aorta descendente. Após a eutanásia com duas, quatro, seis e oito semanas, o segmento aórtico era removido. Após, eram feitos cortes histológicos com a coloração de hematoxilina e eosina (HE) e pelo método de Weigert – Van Gieson. **Resultados:** Após duas semanas identificou-se um leve desarranjo do terço externo da túnica média. Nos animais sacrificados após quatro semanas observou-se um desarranjo estrutural dos terços externos da túnica média. Após seis semanas observou-se necrose da parede aórtica. Finalmente, após oito semanas além da fibrose da parede aórtica identificou-se a destruição da lâmina elástica interna. **Conclusão:** A remoção da adventícia da aorta em suínos levou à alterações degenerativas da média, determinando perda da estrutura da parede aórtica que é variável em sua localização, intensidade e forma, dependendo do tempo a partir do qual se estabeleceu a lesão isquêmica.

**Descritores:** Aorta. Vasa vasorum. Microcirculação. Isquemia. Dissecção.

### INTRODUÇÃO

A dissecção da aorta é a catástrofe mais devastadora das doenças cardiovasculares, mas o mecanismo pelo qual a dissecção 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)<sup>1</sup>. 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.

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<sup>2,3</sup>.

Este estudo tem como objetivo demonstrar, pela primeira vez, as alterações histológicas que ocorrem na parede aórtica em longo prazo, ou seja, além das duas

semanas de interrupção do fluxo sanguíneo através do VV da aorta descendente em modelo suíno.

### MÉTODOS

O experimento foi conduzido com oito suínos jovens, média de idade de oito semanas, resultantes do cruzamento das raças Landrace e Large White, pesando em média 25Kg (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 distribuídos em grupos de duas semanas após a lesão (três animais), quatro semanas (dois animais), seis semanas (um animal) e oito semanas (um animal).

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) – Protocolo 06548.

Trabalho realizado no Programa de Pós-Graduação em Medicina: Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

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. Médico Assistente do Departamento 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, Professor Assistente do Departamento de Patologia, Universidade de Passo Fundo.

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 solução salina 0,9% (5ml/kg/h). Os animais foram pré-oxigenados durante cinco minutos antes da indução anestésica, realizada com propofol (1mg/kg). A seguir, foram ventilados sob entubação endotraqueal com oxigênio e a posição do tubo, nº 7 ou 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 antisséptico, assepsia com álcool iodado a 2% e colocação de campos cirúrgicos. A seguir, procedeu-se a uma incisão tóraco-lateral à esquerda no sexto 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 um terço 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. 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.

Após a eutanásia, realizada com o animal ainda anestesiado, foi realizada a retirada do segmento aórtico envolvido por pericárdio e cerca de 5cm de aorta proximal e distal. A peça foi, então, imersa em formol tamponado a 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 doenças arteriais e cegado para os grupos selecionados.

## RESULTADOS

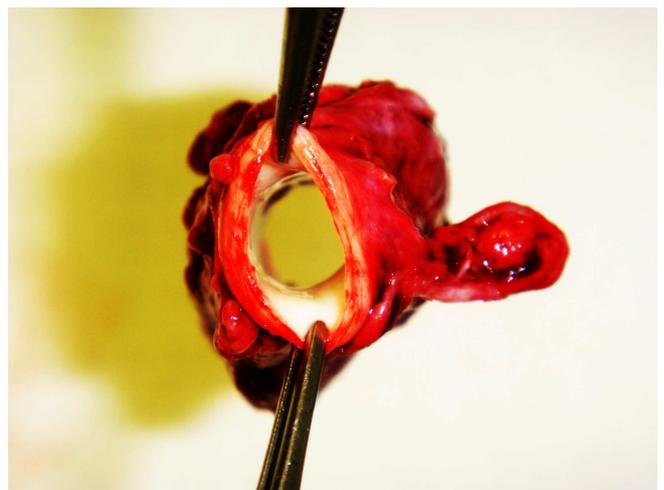
Durante a retirada das peças, observamos uma intensa bainha fibrótica ao redor do segmento lesionado, porém, graças ao uso do pericárdio bovino, não havia aderência dos tecidos adjacentes ao segmento lesionado (Figura 1).

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 terço externo da camada média com um leve infiltrado de linfócitos e neutrófilos. Identificaram-se também focos de angiogênese no terço externo da camada média (Figuras 2A, 2B).

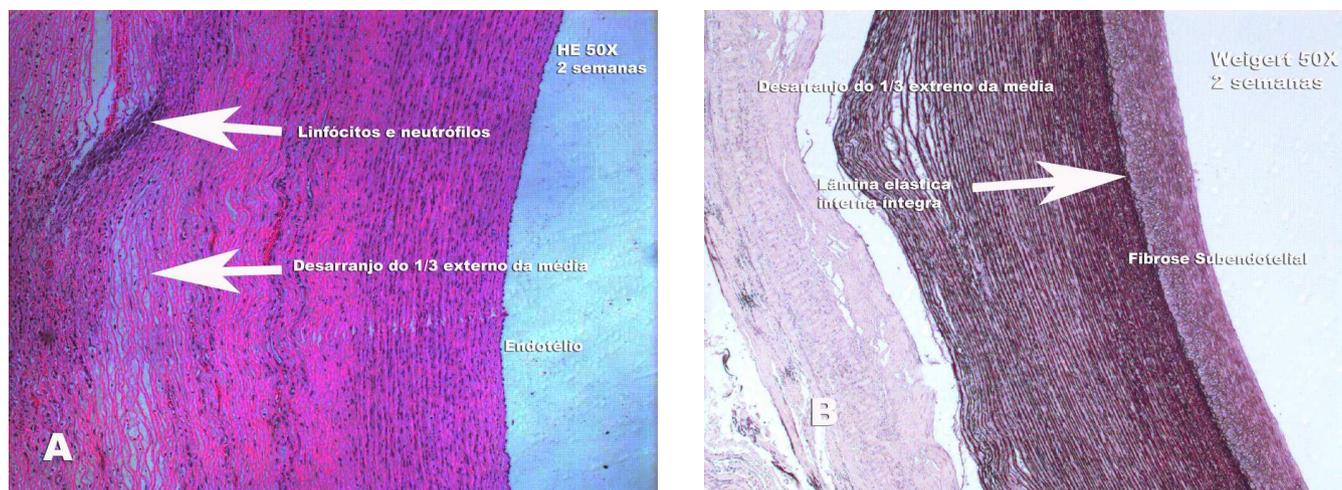
Nos animais sacrificados após quatro semanas, persistia a fibrose subendotelial com a lâmina elástica interna preservada, assim como a camada média no seu terço interno. Foi identificado um desarranjo estrutural das fibras, elásticas e colágenas, nos 2/3 externos da camada média. Com relação à inflamação, 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 (Figuras 3A, 3B).

Após seis semanas, foi identificada 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 (Figuras 4A, 4B).

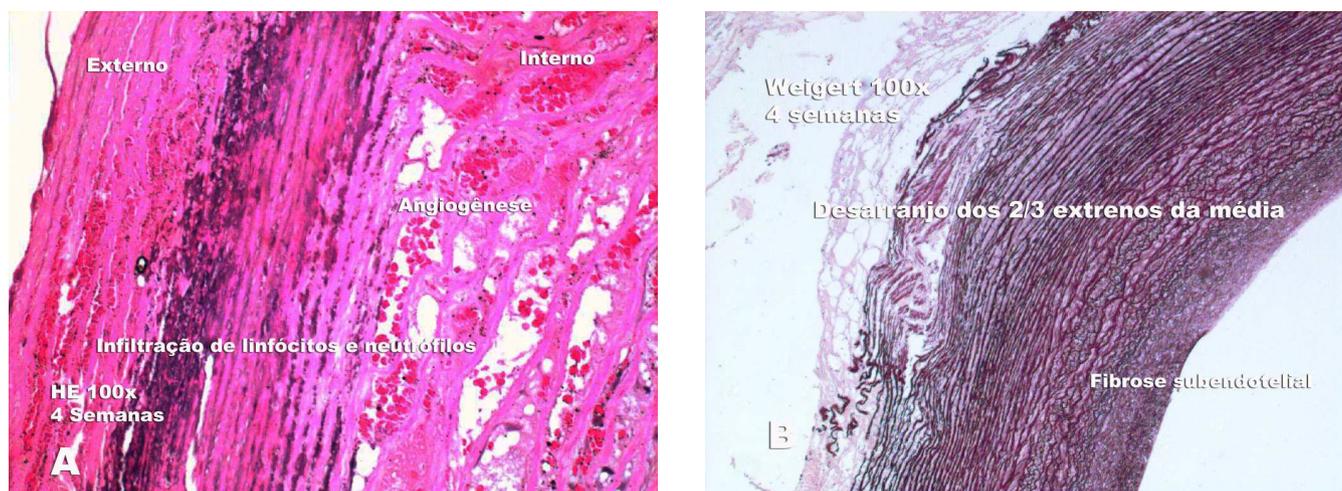
Após oito semanas, havia fibrose de toda a parede da aorta com destruição da lâmina elástica interna. Observamos uma área de inflamação moderada próxima ao endotélio. Com relação à angiogênese, foram observados focos em toda a camada média e na porção subendotelial (5A, 5B).



**Figura 1** - Aorta torácica descendente após a remoção da adventícia e coberta pelo pericárdio bovino.



**Figura 2** - Após duas semanas, A – Desarranjo leve do terço externo da camada média e com a presença de linfócitos e neutrófilos. B – Fibrose subendotelial, mas com lâmina elástica interna preservada, assim como os 2/3 internos da média.



**Figura 3** - Achados após quatro semanas, A – Infiltração de linfócitos e neutrófilos, assim como focos de angiogênese observados nos 2/3 externos da média. B – Fibrose subendotelial com preservação da lâmina elástica interna e do terço interno da média. Desarranjo estrutural das fibras elásticas e de colágeno nos 2/3 externos da média.

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.

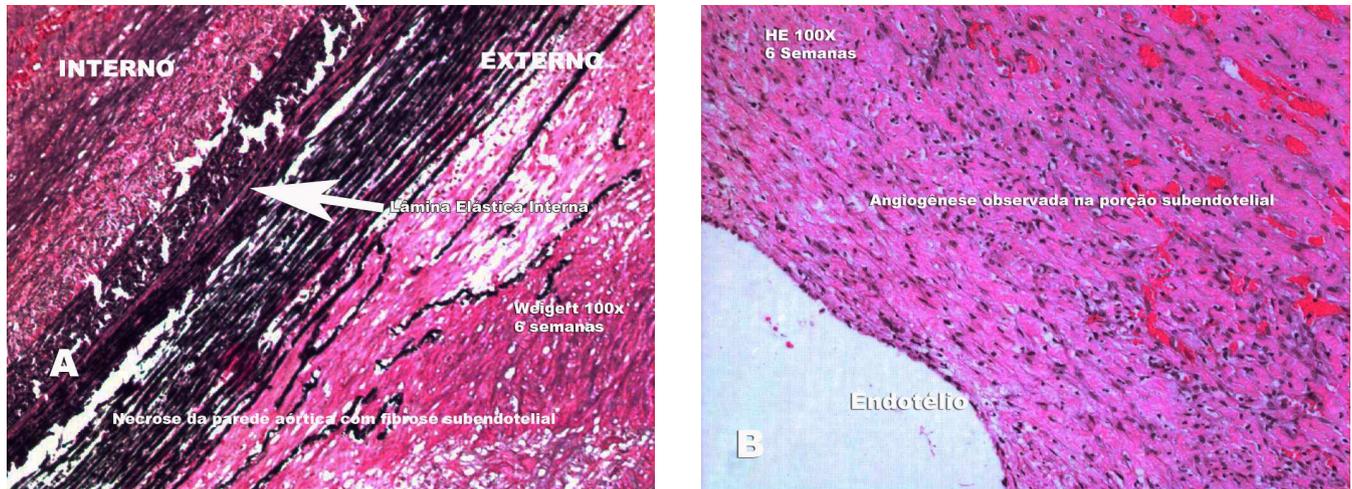
## DISCUSSÃO

A inflamação vascular é um processo complexo que envolve a migração, extravasamento e ativação local de leucócitos mononucleares na parede do vaso<sup>4</sup>. O infiltrado celular de macrófagos e linfócitos representa os principais tipos celulares nos aneurismas humanos, e são localizados principalmente na camada adventícia<sup>5</sup>. 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

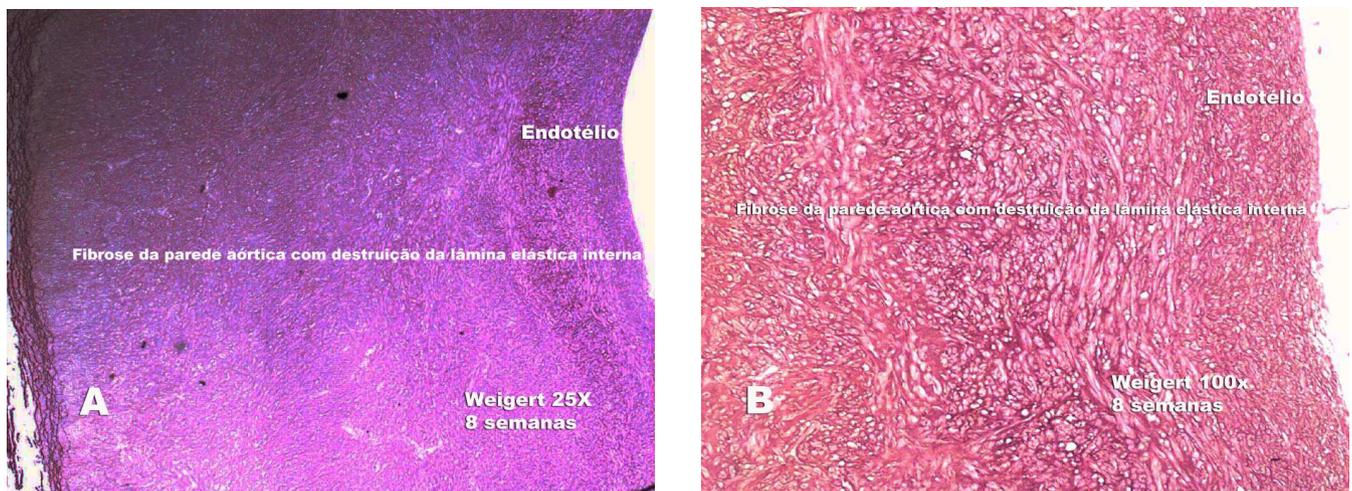
proliferação de fibroblastos. Acredita-se que a camada adventícia tem um papel chave na gênese e na manutenção da inflamação vascular vista nos aneurismas e na doença vascular aterosclerótica<sup>6,7</sup>.

O estudo tridimensional dos VV foi possível por meio de estudos de microtomografia computadorizada<sup>8,9</sup>, assim como para o melhor entendimento da anatomia e da distribuição por meio da microarteriografia. 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<sup>10</sup>. 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



**Figura 4** - Achados após seis semanas, A – Focos de necrose na parede aórtica e fibrose subendotelial. B – Focos de angiogênese foram observados em toda a camada média e na porção subendotelial.



**Figura 5** - Achados após oito semanas, A e B – o insulto isquêmico levou a uma necrose de toda a parede aórtica com destruição da lâmina elástica interna.

mecânicas e geométricas da aorta (anisotropia e a organização estrutural da parede aórtica)<sup>1</sup>.

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 ruptura das camadas da aorta é o principal mecanismo na dissecação 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.*<sup>11</sup>, desenvolveram um modelo experimental de isquemia da parede por interrupção dos *vasa vasorum*, retirando a gordura periaórtica da aorta as-

cedente de caninos, e avaliaram as alterações na elasticidade da parede aórtica. Neste estudo, que avaliou as alterações com duas 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<sup>12,13</sup>. 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<sup>14</sup>. Stefanadis *et al.*<sup>11</sup> também demonstraram, além do desarranjo das fibras de colágeno e elastina, o aumento da rigidez da aorta ascendente na aorta de cães após duas semanas de remoção dos *vasa vasorum*. Estes resultados foram confirmados pelo estudo

de Angouras *et al.*<sup>15</sup>, que estudaram as alterações morfológicas secundárias à interrupção dos VV da aorta torácica em suínos. Após duas semanas, a isquemia da parede aórtica levou à alterações morfológicas no conteúdo do colágeno e da elastina do terço externo da camada média da aorta descendente, resultando em enrijecimento desta região. Neste último estudo, ao contrário daquele de Stefanadis *et al.*<sup>11</sup>, 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.*<sup>15</sup> e Stefanadis *et al.*<sup>11</sup>, 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 duas 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 desempe-

nam 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 com tempo mais longo de isquemia. Nenhum outro estudo avaliou as alterações isquêmicas da parede aórtica além de duas 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 (duas semanas) e que, com um maior tempo de lesão (quatro, seis e oito 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. Provavelmente o papel dos VV *internae* (da superfície luminal) na irrigação do terço interno da camada média seja menos importante do que se esperava.

A remoção da adventícia da aorta em suínos ocasionou alterações degenerativas da média, determinando perda da estrutura da parede aórtica que é variável em sua localização, intensidade e forma, dependendo do tempo a partir do qual se estabeleceu a lesão isquêmica.

## A B S T R A C T

**Objective:** To investigate the effects of removal of the adventitia on the tunica media in a pig model. **Methods:** The experiment was performed in eight pigs. The adventitia of the descending aorta was removed. Following euthanasia, at two, four, six and eight weeks, the aortic segment was removed. Next, slices of the aorta were stained with hematoxylin and eosin (HE) and Weigert - Van Gieson. **Results:** After two weeks there was a slight cellular breakdown in the outer third of the media. After four weeks structural breakdown of elastic fibers was observed in the outer two thirds of the same layer. In six weeks, several areas of necrosis and almost complete disruption of elastic fibers were identified. Finally, after eight weeks, there was fibrosis of the entire wall with disruption of the internal elastic lamina. **Conclusion:** The removal of the adventitia leads to degeneration of the media, determining loss of the 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.

**Key words:** Aorta. Vasa vasorum. Microcirculation. Ischemia. Dissection.

## REFERÊNCIAS

- Rajagopal K, Bridges C, Rajagopal KR. Towards an understanding of the mechanics underlying aortic dissection. *Biomech Model Mechanobiol.* 2007;6(5):345-59.
- 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;112(7):721-5.
- Wolinsky H, Glagov S. Nature of species differences in the medial distribution of aortic vasa vasorum in mammals. *Circ Res.* 1967;20(4):409-21.
- Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999;340(2):115-26.
- Kuivaniemi H, Platsoucas CD, Tilson MD 3rd. Aortic aneurysms: an immune disease with a strong genetic component. *Circulation.* 2008;117(2):242-52.
- Maiellaro K, Taylor WR. The role of the adventitia in vascular inflammation. *Cardiovasc Res.* 2007;75(4):640-8.
- 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;105(21):2504-11.
- 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;310(3):175-7.
- Gössl 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;285(5):H2019-26.

10. Ritman EL, Lerman A. The dynamic vasa vasorum. *Cardiovasc Res.* 2007;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;91(10):2669-78.
12. Wilens SL, Malcolm JA, Vazquez JM. Experimental infarction (medial necrosis) of the dog's aorta. *Am J Pathol.* 1965;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;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;62(1):133-40.
15. 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;17(4):468-73.

Recebido em 25/07/2011

Aceito para publicação em 19/09/2011

Conflito de interesse: nenhum

Fonte de financiamento: nenhum

**Como citar este artigo:**

Fagundes A, Pereira AH, Corrêa RK, Oliveira MT, Rodriguez R. Efeitos da remoção da túnica adventícia da aorta descendente em suínos. *Rev Col Bras Cir.* [periódico na Internet] 2012; 39(1). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/rcbc>

**Endereço para correspondência:**

Almondi Fagundes

E-mail: [almondifagundes@gmail.com](mailto:almondifagundes@gmail.com)