

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS CIRÚRGICAS**

**ALEXANDRE BUENO DA SILVA**

**MODELO EXPERIMENTAL DE INFLUÊNCIA DOS *VASA VASORUM* NA  
ESTRUTURA DA PAREDE DE AORTA ABDOMINAL EM SUÍNOS**

**ORIENTADOR: PROF. DR. ADAMASTOR HUMBERTO PEREIRA**

**PORTO ALEGRE  
2012**

### CIP - Catalogação na Publicação

Buenoda Silva, Alexandre

Modelo Experimental de Influência dos vasa vasorum na estrutura da parede de Aorta Abdominal de Suínos / Alexandre Buenoda Silva. -- 2012. 45 f.

Orientador: Adamastor Humberto Pereira.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Cirúrgicas, Porto Alegre, BR-RS, 2012.

1. vasa vasorum. 2. adventícia . 3. dissecação de aorta. 4. aneurisma de aorta. 5. aterosclerose. I. Humberto Pereira, Adamastor, orient. II. Título.

**MODELO EXPERIMENTAL DE INFLUÊNCIA DOS VASA VASORUM NA  
ESTRUTURA DA PAREDE DE AORTA ABDOMINAL EM SUÍNOS**

**ALEXANDRE BUENO DA SILVA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Cirúrgicas como pré-requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Cirúrgicas, área de concentração: Cirurgia Vascular  
Orientador: Prof. Dr. Adamastor Humberto Pereira

**PORTO ALEGRE  
2012**

***À minha esposa Carla, pelo seu amor,  
carinho, paciência e luz na minha vida.  
Ao meu pai Gilberto, pelo seu  
inestimável auxílio, amor e dedicação***

## **AGRADECIMENTOS**

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

Ao Prof. Gilberto Tubino da Silva, pela formação e apoio profissional e acadêmico, pelo espírito crítico e dedicação associativa.

Ao Prof. Dr. Rubens Rodriguez, pela amizade e inestimável contribuição na área da Patologia.

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

Ao Prof. Dr. Sérgio Aladin Messina, por propiciar a realização de parte deste trabalho no Hospital Veterinário da Universidade de Passo Fundo.

Aos médicos veterinários Dr. João Pedro Scussel Feranti e Dr. Renan Idalêncio, pelo inestimável auxílio, amizade criada, contribuição e o apoio fundamental para viabilização deste trabalho.

Ao administrador Hector Eduardo Garate Garate, pelo inestimável apoio para que pesquisa se realizasse.

À equipe do Hospital Veterinário, que auxiliou no cuidado e nas medicações e alimentações dos suínos .

À minha família e a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho.

## LISTA DE FIGURAS

|   |  |
|---|--|
| Figura 1: Cicatriz cirurgica mostrando a localizacao da abordagem retroperitoneal em suinos.<br>.....   | 21                                     |
| Figura 2: Abordagem da aorta abdominal retroperitoneal .....  | 21                                     |
| Figura 3: Dissecacao do tecido periaortico com partes da adventicia. ....   | 22                                     |
| Figura 4: Colocacao do pericardio em torno da aorta do suino .....  | 23                                     |
| Figura 5: Cortes macroscopicos da aorta do suino .....  | 24                                     |
| Figura 6: Corte histológico do tecido conjuntivo periaortico com a presença do <i>vasa vasorum</i> .<br>.....   | <b>Erro! Indicador não definido.</b> 5 |
| Figura 7: corte histológico do tecido periaortico com a presença do <i>vasa vasorum</i> .<br>.....  | 30                                     |
| Figura 8: corte histológico com a presença do pericárdio bovino e o processo inflamatório<br>.....  | 31                                     |
| Figura 9: Grupo P4. Neovascularizacao .....   | <b>Erro! Indicador não definido.</b> 8 |
| Figura 10: Grupo P4. Presença de neovascularização e infiltrado inflamatório <b>Erro! Indicador não definido.</b> 9   |  |
| Figura 11: Presença de processo inflamatório e neovascularização de grau 3 com desestruturação da camada média e formação de um pseudodivertículo à nível endotelial. Grupo P8<br>..... | 30                                     |
| Figura 12: Grupo P8. Fibrose subendotelial subendotelial .....  | 32                                     |
| Figura 13: Grupo P8. Duplicação da camada elástica interna e desestruturação da camada média<br>.....   | 36                                     |
| Figura 14: : Grupo P8. Presença de fibrose subendotelial focal... <b>Erro! Indicador não definido.</b> 4  |  |
| Figura 15: Grupo P8. Desestruturação da camada média .<br>.....   | <b>Erro! Indicador não definido.</b> 5 |

Figura 16: Grupo P8. Desestruturação da camada média .....376

Figura 17: Grupo P8. Presença de fibrose entre as camadas elásticas  
.....387

## LISTA DE ABREVIATURAS

|        |                              |
|--------|------------------------------|
| AAA    | Aneurisma de aorta abdominal |
| ET-1 – | Endotelina-1                 |
| HE     | Hematoxilina/eosina          |
| Kg     | Quilograma                   |
| mg     | Miligrama                    |
| mL     | Mililitro                    |
| NPO    | Nada por via oral            |
| TC     | Tomografia computadorizada   |
| US     | Ultrassom                    |
| VV     | <i>Vasa vasorum</i>          |
| VVE    | <i>Vasa vasorum externo</i>  |
| VVI    | <i>Vasa vasorum interno</i>  |
| VVV    | <i>Vasa vasorum venoso</i>   |



## RESUMO

**Introdução** A visão tradicional afirma que as células miointimais responsáveis pela hiperplasia intimal derivam das células musculares lisas da média e que, através da mudança de seu fenótipo para um estado proliferativo, migram para a região intimal. Esta visão tem sido contestada em algumas publicações que tem demonstrado o importante papel da adventícia na fisiopatologia da hiperplasia intimal. **Objetivo:** Analisar as alterações da estrutura da parede da aorta abdominal de suínos secundária a ressecção dos VV presentes na adventícia e no tecido conetivo Peri aórtico e avaliar se estas alterações se modificam com um período mais prolongado de isquemia da parede arterial. **Material e método:** Trata-se de um estudo experimental com uma série de dez suínos da raça Landrace, com idade entre 8 e 12 semanas, pesando em torno de 20Kg. A aorta abdominal foi abordada por incisão retro peritoneal, o tecido Peri - aórtico contendo os vasa vasorum e tecido gorduroso foi ressecado e este segmento de 1 cm envolvido por pericárdio bovino. Um grupo de animais foi sacrificado após 4 semanas e outro após 8 semanas. Os cortes histológicos foram corados com hematoxilina e coloração Weigert para identificar melhor as fibras elásticas. Foram analisados o processo inflamatório, neovascularização e a degeneração da camada média assim como a presença de hiperplasia e fibrose subendotelial. **Resultado:** Em ambas as cortes havia espessamento importante de todo o tecido Peri aórtico e do endotélio. Na coloração com H/E se identificava processo inflamatório moderado a intenso junto ao pericárdio em todos os casos. No grupo de 04 semanas o processo inflamatório e a neovascularização envolvia apenas o 1/3 externo da média e não se observava hiperplasia endotelial ou fibrose subendotelial evidentes. Já no grupo de 8 semanas havia uma progressão do grau de inflamação e neovascularização acentuada envolvendo mais de 2/3 da camada média da artéria. Neste grupo de 08 semanas observa-se hiperplasia endotelial focal, fibrose subendotelial e desestruturação da camada média e duplicação da lamina elástica interna. **Conclusão:** em nosso estudo, confirmamos que a isquemia da parede vascular secundária a interrupção do fluxo pelos VV mesmo sem lesão da adventícia gerou uma desestruturação da camada média, neovascularização acentuada, fibrose subendotelial e hiperplasia intimal que progride ao longo das 8 semanas. Estes resultados tem implicações práticas para o cirurgião vascular e endovascular, podendo contribuir para um melhor entendimento das re-estenoses secundárias à dissecação arterial nas cirurgias abertas e lesão por estiramento da parede nos procedimentos endovasculares.

**Palavras – chave:** vasa vasorum, adventícia, aterosclerose, aneurismas de aorta abdominal e dissecação aórtica.

# SUMÁRIO

|   |                                      |
|---|--------------------------------------|
| <b>1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA.....</b>     | <b>10</b>                            |
| 1.1 VASA VASORUM E ADVENTÍCIA EM GRANDES VASOS .....  | 12                                   |
| <b>2. OBJETIVOS .....</b>                             | <b>17</b>                            |
| <b>3. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>                   | <b>18</b>                            |
| 3.1 PRINCÍPIOS ÉTICOS EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL: ..... | 18                                   |
| 3.2 METODOLOGIA.....                                  | 19                                   |
| 3.3.1. <i>Técnica Cirúrgica:</i> .....                | 20                                   |
| <b>4. RESULTADOS .....</b>                            | <b>26</b>                            |
| <b>5. DISCUSSÃO .....</b>                             | <b>40</b>                            |
| <b>6. CONCLUSÃO.....</b>                              | <b>ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.</b> |
| <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>               | <b>ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.</b> |
| <b>ARTIGO ORIGINAL EM PORTUGUÊS.....</b>              | <b>ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.</b> |

## 1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

Recentemente, estão emergindo sugestões a respeito de participação mais ativa da adventícia e dos VV nas doenças cardiovasculares. Os VV formam uma rede microvascular que estão presentes na camada adventícia (*vasa vasorum externo*) com a função de auxiliar no suprimento de oxigênio e de nutrientes para as camadas mais externas e também podem estar presentes na superfície luminal (*vasa vasorum internos*) das artérias de grandes animais (1). Há evidências de que os VV se desenvolvem durante as primeiras semanas de gestação e continuam a se expandir durante o crescimento fetal (1). A parede dos VV consiste-se de células musculares lisas que envolvem uma camada simples de endotélio, indicando que esses vasos têm uma capacidade de regulação de tônus de forma a se tornarem dinâmicos, e que podem, transitoriamente, serem comprimidos pelas paredes subjacentes, ou se dilatarem conforme os estímulos.(2). A origem dos VVE pode diferir nos segmentos aórticos torácicos e abdominais. Neste, por exemplo podem se originar a partir das artérias lombares e mesentéricas.

O processo inflamatório em resposta aos fatores de risco cardiovasculares estimula e acumula células inflamatórias na íntima e progride em direção às camadas mais externas. Esse paradigma ficou conhecido como “*inside-out*” (3). Entretanto, evidências atuais suportam um novo paradigma o “*outside-in*”, onde processo inflamatório iniciaria na adventícia e progrediria pela média em direção à íntima (3). Essas alterações fisiopatológicas que emergem da adventícia aumentam a permeabilidade dos VV, podendo, por exemplo, levar ou precipitar as doenças cardiovasculares. A hipertensão e a

dislipidemia são outros exemplos de fatores de risco na formação inflamatória da placa de ateroma que podem ter participação nas alterações dos VV presentes na adventícia.

A idéia a respeito da função da adventícia, de proteger e cercar grandes vasos, tem mudado nos últimos anos, e a sua relação com os VV e suas respostas aos estímulos têm levado a novos horizontes na pesquisa a respeito das alterações da parede dos grandes vasos e a etiologia das doenças que neles acontecem.

No estudo realizado por Fagundes e cols. (2) a respeito das alterações histológicas secundárias à interrupção dos VV na aorta descendente de suínos através da retirada do tecido periaórtico com adventícia e o isolamento através da utilização do pericárdio, foi demonstrado um processo inflamatório com neovascularização e fibrose subendotelial acompanhado de desestruturação da camada elástica.

Seguindo esse mesmo delineamento de pesquisa, procuramos avaliar se a aorta abdominal de suínos irá apresentar tais alterações ressecando, apenas, a gordura periadventicial e parte da adventícia. O conhecimento das alterações estruturais na parede arterial secundárias à ressecção dos VV tem importância para o melhor entendimento da fisiopatologia das doenças arteriais como também tem implicações na cirurgia vascular onde, muitas vezes, a dissecação dos vasos leva a lesões da adventícia.

## 1.1 Vasa vasorum e Adventícia em grandes vasos

As grandes artérias elásticas, como a aorta e seus ramos, compõem-se das três camadas: a túnica íntima, formada pelas células endoteliais com seu tecido conjuntivo subendotelial subjacente; a túnica média é rica em tecido elástico, e está disposta em camadas fenestradas bastante compactas separadas por camadas alternantes de células musculares lisas, sendo, via de regra, mal vascularizada. Já a túnica adventícia é uma camada mal definida de tecido conjuntivo no qual estão dispersas fibras nervosas e elásticas e pequenos vasos nutritivos, os VV. Esses vasos fazem, na aorta, um percurso de forma retrógrada, ou seja, para dentro da parede, e podem ser identificados no terço externo da camada média (4), o que ocorre devido à localização anatômica e às características de ramificação dos VV que impedem que fluxo sanguíneo consiga alcançar as camadas mais internas da média devido à força de compressão dentro da parede arterial, como descreve a Lei de Lamé, (a força de compressão no interior da parede arterial é igual à pressão luminal na região subendotelial (5, 6)). Como consequência, se a força radial compressiva dentro do lúmen do vaso exceder a pressão arterial presente no VV, (como ocorre na hipertensão arterial), pode levar à oclusão ou alteração estrutural deste, ocasionando uma redução da perfusão da parede do vaso (conforme a Lei de Poiseuille) (5).

Os VV podem ser divididos em dois tipos: os VV que se originam longitudinalmente em grandes vasos e penetram entre a adventícia e a média; e os VV circunferências, ao redor da parede dos vasos (1).

Os VV possuem uma estrutura histológica similar a pequenas artérias com células endoteliais, células musculares lisas e tecido conectivo na camada mais externa, apresentando formas de regular seu tônus, e, por consequência, a perfusão e podem implicar na remoção ou na entrega de substâncias lipídicas e de agentes neurohumorais (7) . A perfusão da parede dos vasos pelos VV pode ser subestimada em função de que a impulsão sistólica progride com atraso em relação à pressão sistólica que se propaga na artéria nativa (6).

Recentes evidências sugerem que a adventícia é um produtor de substâncias reacionais ao oxigênio com resposta distinta, resultando em um remodelamento na parede arterial. Os fibroblastos presentes na camada podem produzir endotelina (ET – 1) e fatores de crescimento regulando a estrutura vascular e a sua função por mecanismos autocrinos e paracrinos (8). A ET -1, bradicinina altera a reatividade dos VV implicando na fisiopatologia de algumas doenças (9). Outros estudos evidenciaram a presença de células progenitoras na adventícia e sua participação no reparo e formação celular na íntima. Em situações patológicas inflamatórias, a adventícia pode liberar citocinas como fator – 1 e fator de necrose tumoral entre outros, podendo levar as células progenitoras à diferenciação e mobilização (10).

Os VV isolados na aorta abdominal de suínos apresentaram, em alguns estudos experimentais, uma importante reatividade à endotelina , bradicina e substância P (5).

As alterações nos VV podem acontecer diante de diversas situações como crise hipertensiva, choque cardiogênico, insuficiência cardíaca, vaso constricção e vaso dilatação devido a respostas humorais, administração de

fármacos, hipercolesterolêmia, tabagismo, hipertensão, hiperglicemia que são fatores de riscos para doenças cardiovasculares, podendo iniciar ou desencadear um processo inflamatório na adventícia, com progressão para a camada média e íntima. A hipóxia e a ausência de nutrientes provenientes dos VV da adventícia estimulariam a neovascularização que serviria de entrada para macrófagos e fatores inflamatório (3).

Durante muitos anos as artérias foram consideradas meros condutos amorfos, de fato; somente há pouco tempo é que se passou a ter a idéia de que os vasos seriam estruturas dinâmicas. O patologista alemão Virchow desenvolveu a teoria de que aterosclerose surgiria por um afrouxamento do tecido conjuntivo da íntima e a infiltração dos elementos vindos do sangue, ocasionando uma reação inflamatória a que chamava de endarteritis deformantes (Teoria da insudação). Rokitsky acreditava em sua teoria que a aterosclerose seria derivada de injúrias no endotélio com depósitos de fibrina e uma resposta patológica (chamada teoria da incrustação).

Na aterogênese, então, sucedem-se uma série de desordens nas camadas da parede vascular com aumento da permeabilidade vascular, com infiltração de monócitos, proliferação de células musculares lisas adjacentes, agregação plaquetária e acúmulo de lipídeos, cálcio e componentes da matriz extracelular, como resposta a uma injúria, podendo ser desencadeada pela hipercolesterolêmia, por ativação imunológica, pela hipertensão arterial sistêmica e por qualquer outro fator que provoque hipoxia.

Desta forma, alguns estudos em laboratório demonstraram que a presença de doença aterosclerótica em coronárias poderia desencadear dano nos VV nutridores da aorta ascendente, diminuindo sua complacência (11) e

que os VV danificados da adventícia podem potencializar também o crescimento e a progressão, a densidade e o tamanho da placa de ateroma com redução do diâmetro do vaso.

A participação das lipoproteínas de baixa densidade produz uma oxidação, com alteração na distribuição de oxigênio. Esse processo pode ter um papel decisivo na formação da placa de ateroma e, por conseqüência, a degeneração da parede da aorta abdominal e formação de aneurismas.

No estudo realizado por Wolinski e cols. (12), foi demonstrada a diferença estrutural na camada média dos mamíferos, sendo a de humanos com uma quantidade menor de unidades lamelares (28 mais ou menos)(13, 14) e com um número menor de VV, o que facilitaria a formação da placa de ateroma.

A injúria causada pelo aumento da pressão arterial sistêmica pode levar a vaso constrição com redução do fornecimento de oxigênio e nutrientes assim como ruptura dos VV com extravasamento de sangue na parede do vaso, implicando na patogêneses do hematoma intramural, úlcera aórtica e a dissecação aórtica (4, 15). Nos casos de dissecação da aorta torácica, a camada média mostra uma variedade de alterações histológicas, sendo a lesão mais amplamente conhecida como necrose cística (que se trata da separação focal dos elementos elásticos e fibromuscular da túnica média por fendas pequenas ou espaços císticos, focais e aleatórios) , acompanhado de fragmentação da camada elástica em 95% dos casos e fibrose da média em 60% (4).

Os achados histológicos dos AAA não somente apresentam fragmentação da elastina , mas também uma redução do seu teor e a presença de um processo inflamatório crônico na média e na adventícia, diferentemente



do observado na doença obstrutiva aórtica, onde a reação inflamatória localiza-se predominantemente na placa e no seu crescimento ([16](#)) .

## **2. OBJETIVOS**

Analisar as alterações da estrutura da parede da aorta abdominal de suínos secundária a ressecção dos VV presentes na adventícia e no tecido conectivo periaórtico e avaliar se estas alterações se modificam com um período prolongado de isquemia da parede arterial.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital Veterinário da Universidade de Passo Fundo, de acordo com seu protocolo e foi analisado pelo Comitê de Ética em experimentos em animais da Universidade de Passo Fundo.

#### **3.1 Princípios éticos em experimentação animal:**

A experimentação animal reveste-se de uma importância imensurável 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, e são elas que, hoje, 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 nutrição, trabalho e vestuário, repercutem no desenvolvimento de ações de experimentação animal, razão pela qual se preconizam posturas éticas

concernentes aos diferentes momentos de desenvolvimento de estudos com animais de experimentação (17). O Colégio Brasileiro de Experimentação Animal - COBEA, em 1991, cria os *Princípios Éticos na Experimentação Animal*, postulando 12 artigos que passam a nortear a conduta dos professores e pesquisadores na prática do uso de animais.

### 3.2 Metodologia

Estudo experimental com uma série de dez suínos da raça Landrace, com idade de 8-12 semanas, pesando em torno de 20Kg . Os animais serão alojados em baias no Hospital Veterinário. Utilizou-se também de material o pericárdio bovino. O número de animais selecionados para o estudo baseou-se no trabalho de Fujii e cols (18).

#### **Para a anestesia, foram determinados os seguintes procedimentos:**

Jejum alimentar de 12 horas - dieta sólida; 4 horas - dieta líquida. Os animais serão pesados, e realiza-se a indução pré-anestésica. A via de acesso venosa utilizada para infusão de líquidos e drogas será a veia marginal da orelha, obtida através de um cateter de teflon (ABBOCATH®). Foram utilizadas para anestesia geral as seguintes drogas: midazolam IV, 0,1 mg/Kg, ketamina IM, 5mg/Kg, propofol, 2mg/Kg e isoflurano, 1.5%-3%.

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

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

Após a anestesia, os animais foram marcados através de raspagem dos pelos da cabeça daqueles que seriam analisados em quatro semanas, e aqueles com oito foram marcados com uma pequena cicatriz próxima à punção na orelha.

### **3.3.1. Técnica Cirúrgica:**

Realizou-se degermação e escovação com sabão antisséptico, assepsia com álcool iodado a 2%, e colocação de campos cirúrgicos fixados com pinças de Backaus.

O suíno foi colocado em decúbito lateral esquerdo, e a incisão foi realizada próxima ao abdômen, em flanco, junto da coluna (Figura 1). O tecido celular subcutâneo foi dissecado com deslocamento do peritônio de forma cuidadosa com uma gaze para não rompê-lo até a identificação da aorta abdominal (Figura 2).



Figura 1: Cicatriz cirúrgica mostrando a localização da abordagem retroperitoneal em suínos.



Figura 2: Abordagem da aorta abdominal retroperitoneal

Após o reparo da aorta, procedeu-se a identificação de uma área em torno de um centímetro ( cm) que foi o ponto de entrada na adventícia, e dissecando com cuidado foi retirada em torno da circunferência da aorta ,

junto com tecido conjuntivo periaórtico. (Figura 3) . Após, foi passado um pericárdio bovino através do espaço aberto para isolar e para ter uma reação inflamatória mais ativa com menor interação dos tecidos vizinhos. (Figura 4) Após o controle da hemostasia e a revisão do espaço retroperitoneal, a parede abdominal foi suturada com fio de Vicryl número 0 e a síntese da pele com fio de Mononylon 3.

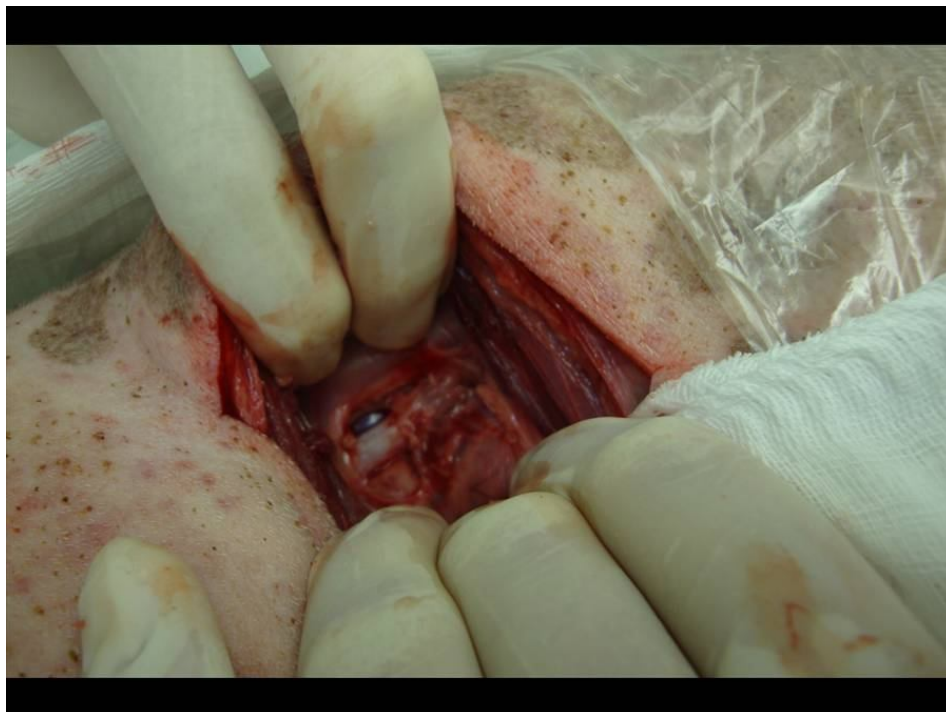


Figura 3: Dissecção do tecido periaortico com partes da adventícia.

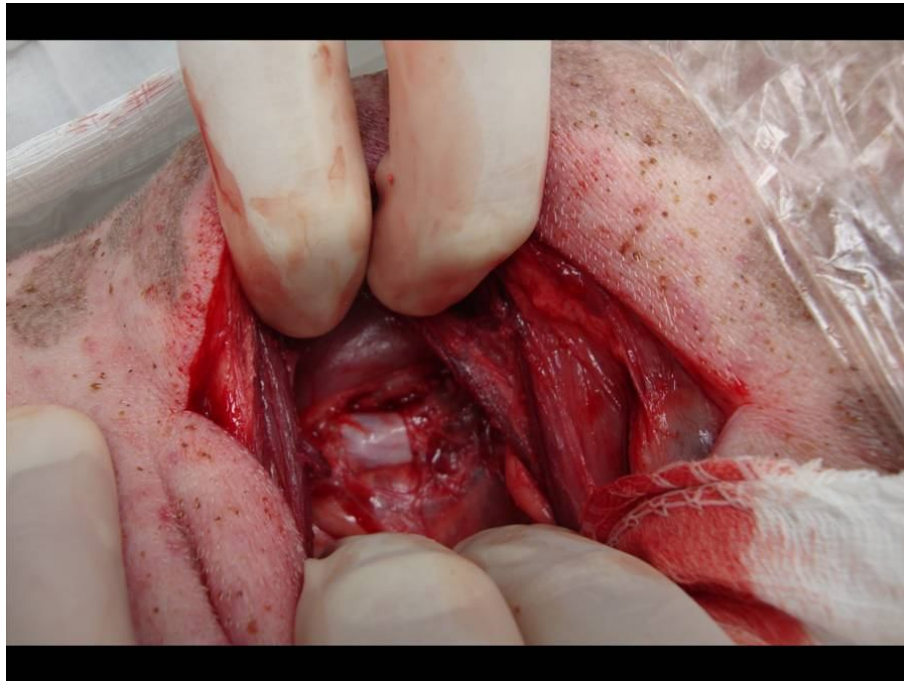


Figura 4: Colocação do pericárdio em torno da aorta do suíno

No pós-operatório, após a recuperação anestésica, os animais foram levados ao refúgio animal, onde ficaram alojados em baias.

Após a cirurgia, os animais foram observados em relação a: sinais de dor, desconforto, dispnéia, fraqueza de membros e palidez de membranas. Conforme a necessidade, foram administrados medicamentos analgésicos e a dieta foi liberada duas horas após o procedimento.

Na quarta e na oitava semanas, respectivamente, quatro suínos foram submetidos à eutanásia com o animal anestesiado. Após, foi realizada a retirada do segmento aórtico com a porção proximal da aorta sem pericárdio, com pericárdio bovino e a porção distal sem pericárdio. Foram colocados em formol, levados à patologia, e foram confeccionados cortes macroscópicos que foram identificados para confecção das lâminas para o estudo histológico (Figura 5). Para os suínos de 4 semanas, na preparação



das lâminas, foram utilizadas as siglas P4, e para os de 8 semanas, P8; para a localização do segmento na aorta, a letra, A; para o segmento com pericárdio, B; para segmento proximal e C para o segmento distal. Então, foram feitos os blocos de parafina com a confecção das lâminas para o estudo histológico pela coloração HE (hematoxilina e eosina) e pela coloração de Weigert.



Figura 5: Cortes macroscópicos da aorta do suíno

Na análise histológica, quantificou - se o grau de inflamação leve quando envolve o 1/3 externo da camada média, moderado quando envolve 1/3 a 2/3 da camada média e intenso quando acomete mais de 2/3. Analisou - se , também, o grau de neovascularização em: grau 0: ausente. Grau 1: neovascularização envolvendo o terço ( 1/3) externo da camada média .

Grau 2 : neovascularização moderada envolvendo de um terço ( $1/3$ ) a dois terços ( $2/3$ ) da camada média. Grau 3 : neovascularização envolvendo mais de dois terços da camada média. Observamos a presença ou ausência de alterações estruturais da camada média, lamina elástica interna e a nível do endotélio.

#### 4. RESULTADOS

Foram utilizados dez suínos; um suíno piloto, para testar a técnica cirúrgica, um suíno para identificar qual o tecido histologicamente retirado (figura 6 e 7); ambos os suínos foram submetidos à eutanásia e não foram misturados aos outros suínos. Os demais suínos foram divididos em duas baias, identificados e submetidos a eutanásia com quatro (P4) e oito (P8) semanas. Todos os animais foram bem tratados, alimentados, hidratados e não houve doença durante todo o período do estudo. Durante a retirada das peças, observou-se um importante processo inflamatório no segmento aórtico abdominal operado, sendo que, muitas vezes, houve a necessidade da retirada em bloco juntamente com a veia cava. Os segmentos aórticos estudados foram divididos em três, o primeiro segmento (A) é o segmento com o pericárdio, foco do estudo e os outros dois segmentos (B) porção proximal a área com pericárdio e segmento (C) porção distal a área com pericárdio. Ambos os segmentos B e C foram utilizados como controles na análise histológicas. Macroscopicamente, nos cortes preparatórios, já se visualiza um espessamento de todo o tecido periaórtico e do endotélio. Histologicamente, identificamos um processo inflamatório muito intenso na porção interna e externa ao pericárdio, formado por plasmócitos, macrófagos e com a presença neutrófilos (figura 8), podendo tal inflamação ter interferido nos achados descritos abaixo.

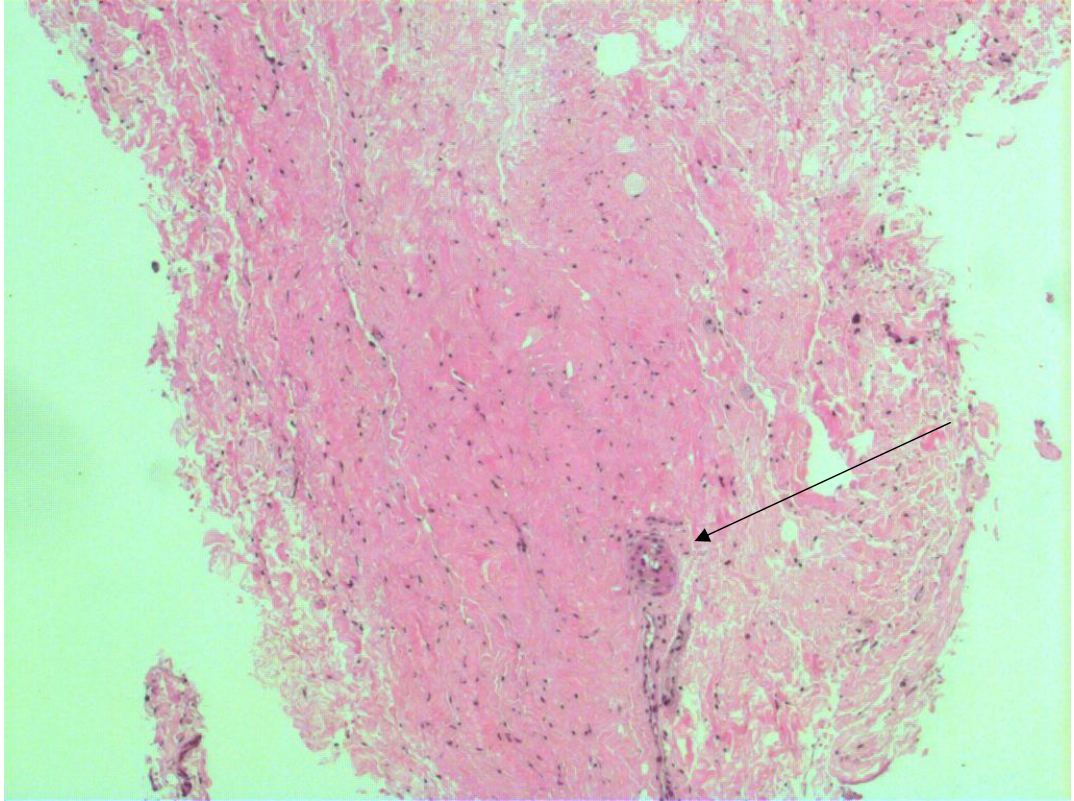


Figura 6: Corte histológico do tecido conjuntivo periaortico com a presença do *vasa vasorum*. 25X. H/E.

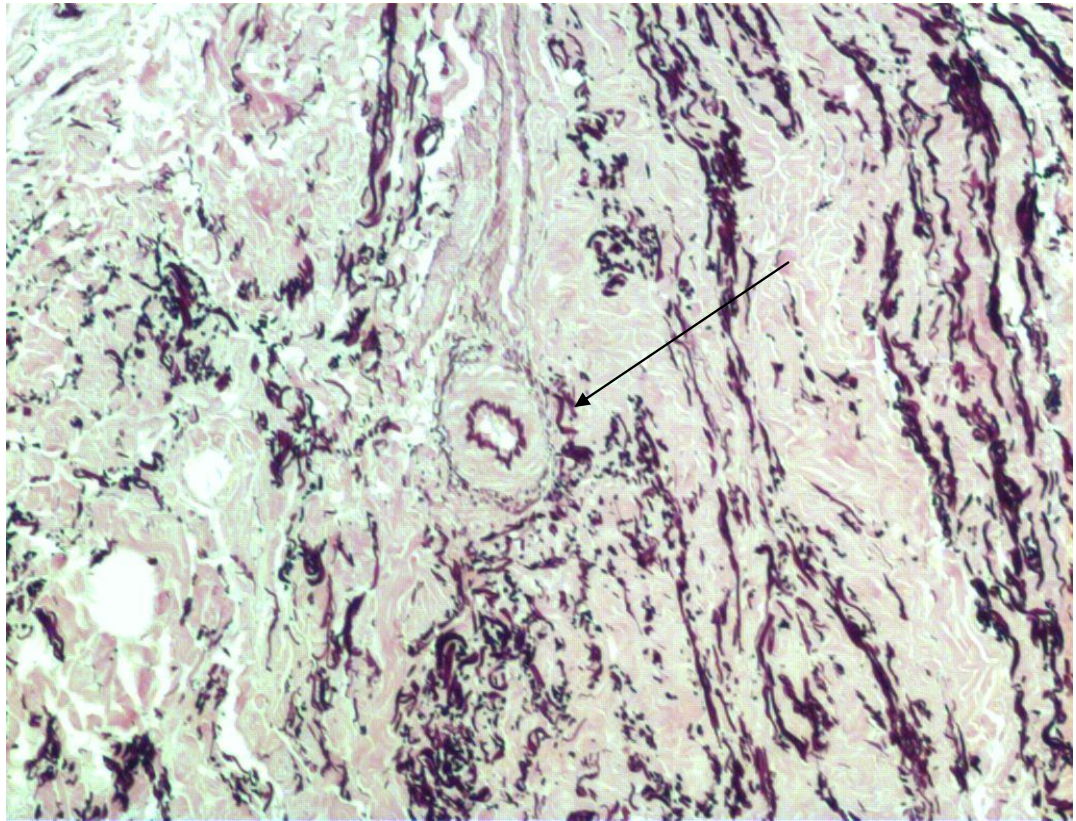


Figura 7: corte histológico do tecido periaortico com a presença do *vasa vasorum*. Aumento 50 x. Weigert

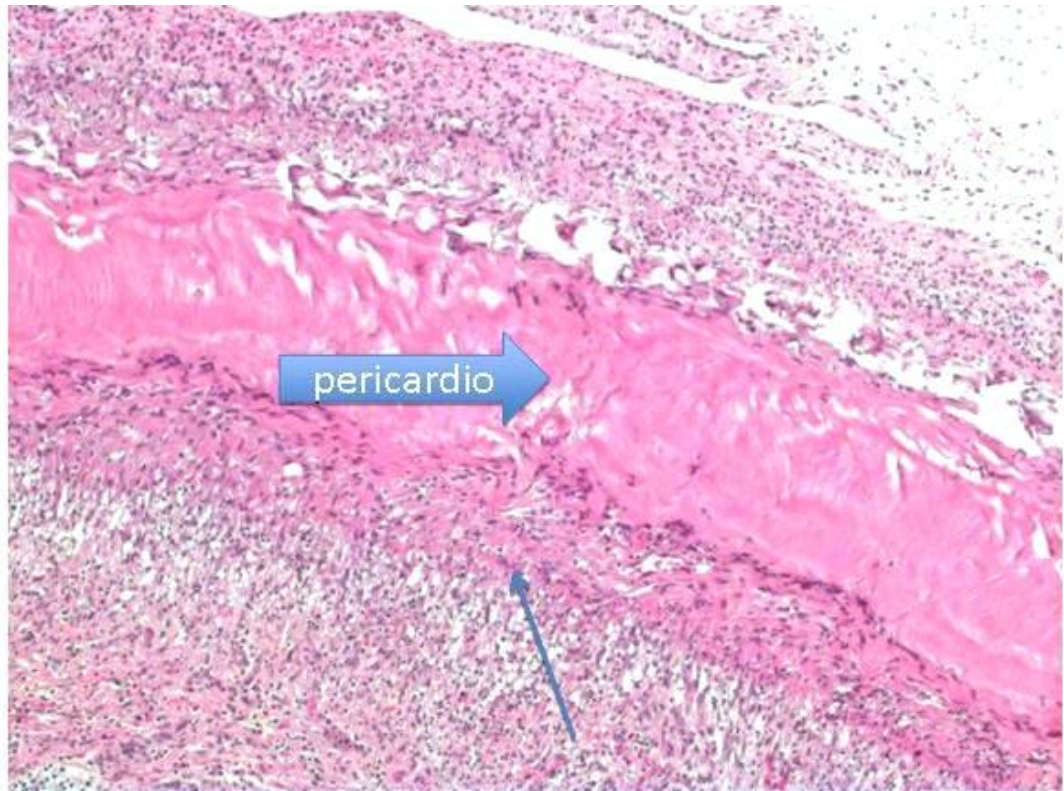


Figura 8: corte histológico com a presença do pericárdio bovino e o processo inflamatório. 50x H/E

Na análise histológica em H/E do grupo P4 evidenciamos que todas as laminas mostraram a presença de um processo inflamatório e de um processo de neovascularização, sendo 75% destas de grau 1 e 25% de grau 2 ( figuras 9 e 10). Não se visualizou nenhuma alteração de grau 3.

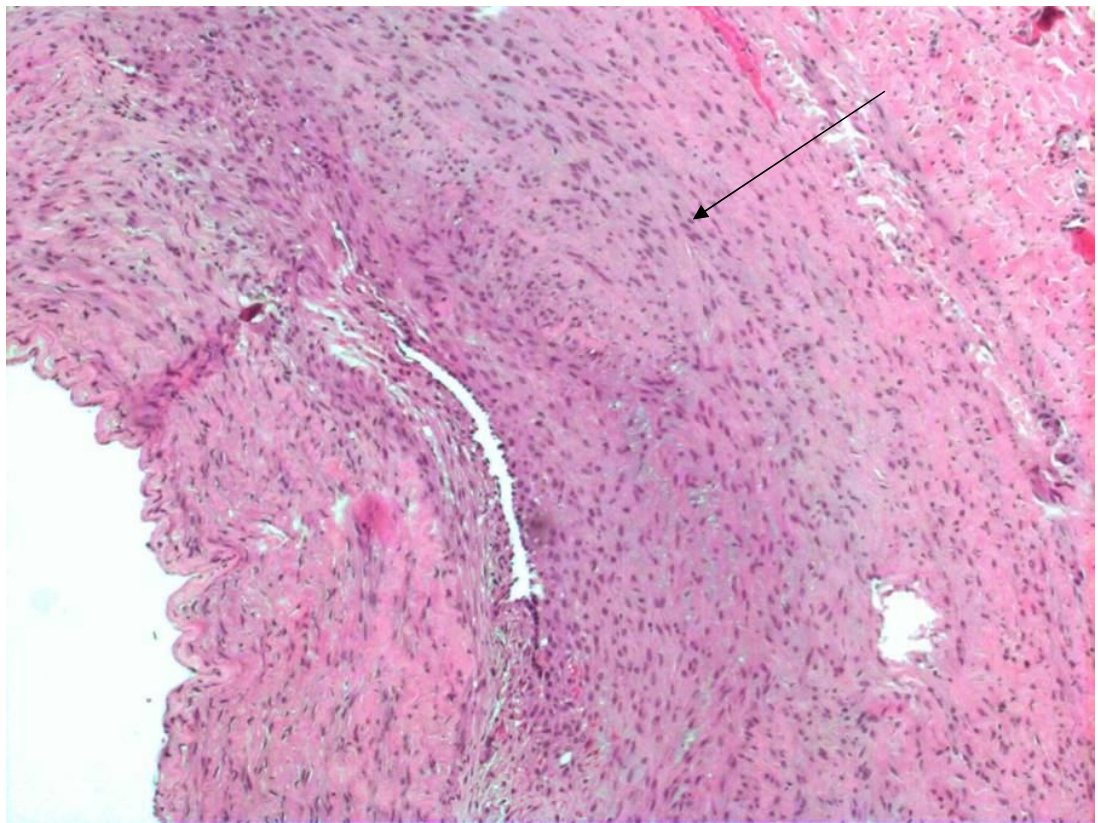


Figura 9:Grupo P4. Neovascularizacao . 50x H/E

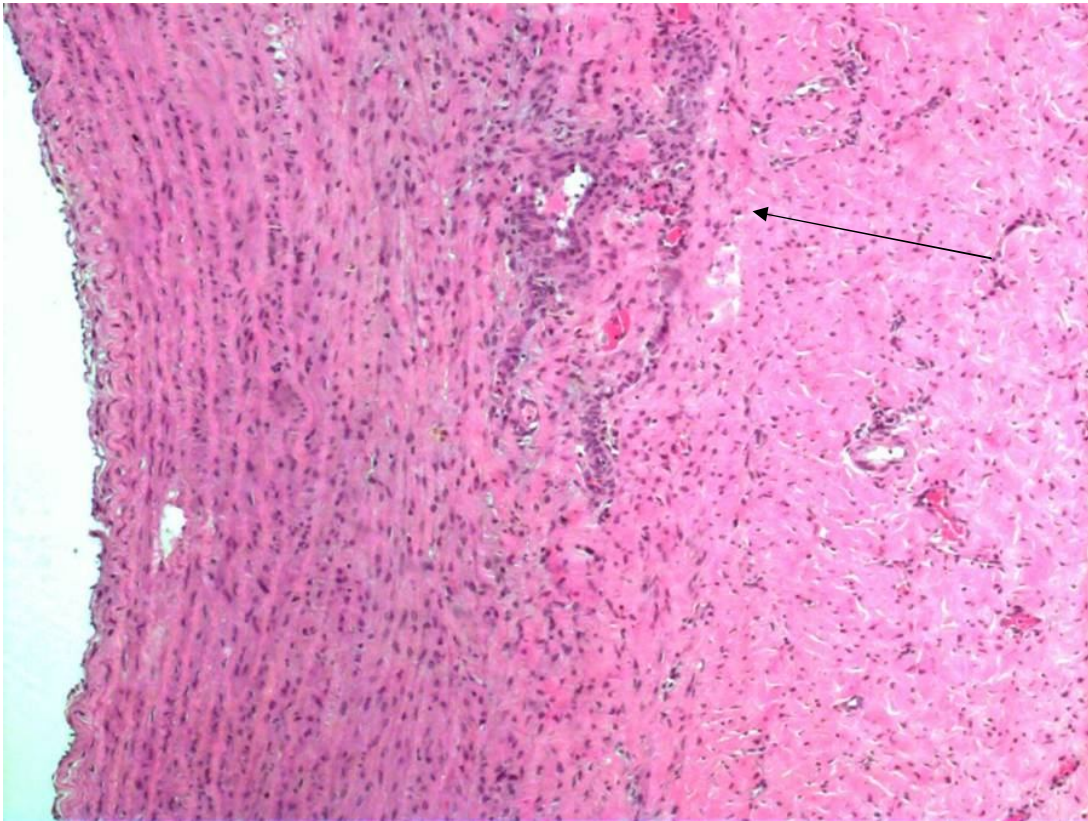


Figura 10: Grupo P4. Presença de neovascularização e infiltrado inflamatório. 25 X H/E



No Grupo P8, podemos observar que houve uma progressão da neovascularização e do processo inflamatório, sendo que 75% dos casos de grau 2 e 25% evoluindo para grau 3 ( figura 11).

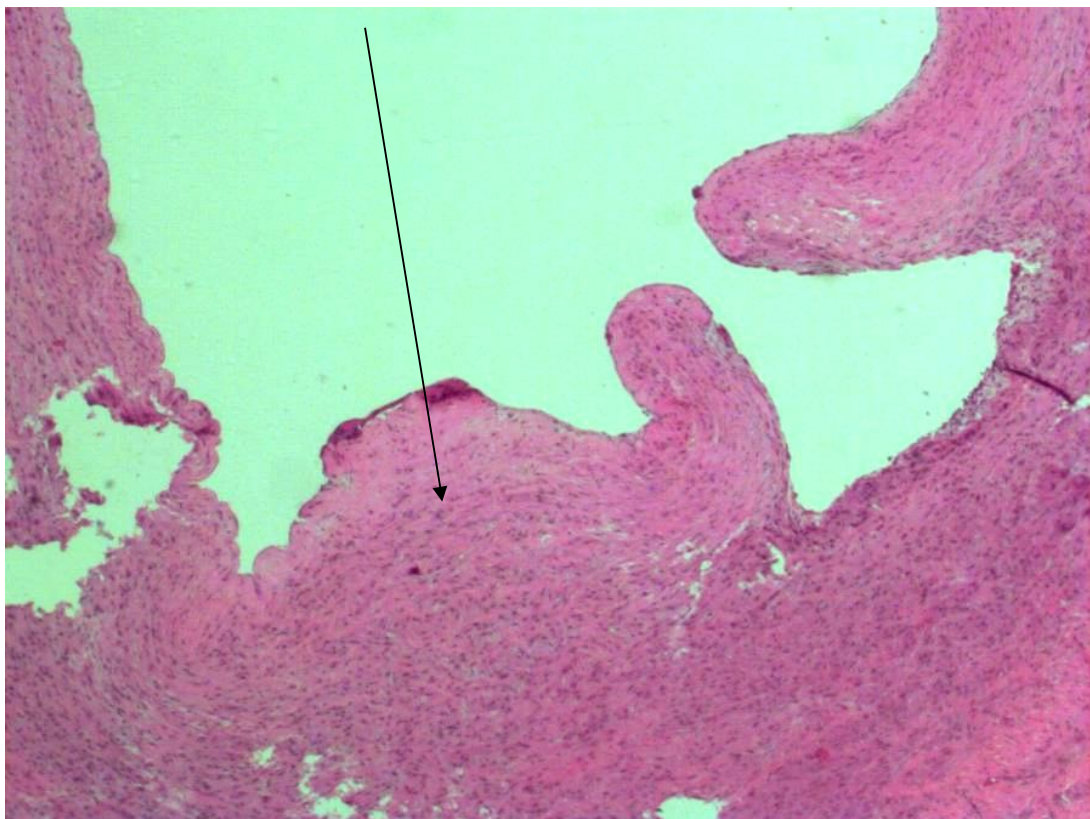


Figura 11: Presença de processo inflamatório e neovascularização de grau 3 com desestruturação da camada média e formação de um pseudodivertículo à nível endotelial. Grupo P8 H/E 25x

Observamos que o tanto o processo inflamatório como o processo de neovascularização estiveram presentes de forma proporcional entre os suínos do mesmo grupo e que houve uma progressão no grau tanto quanto maior foi o período de isquemia analisado. ( gráfico 1)

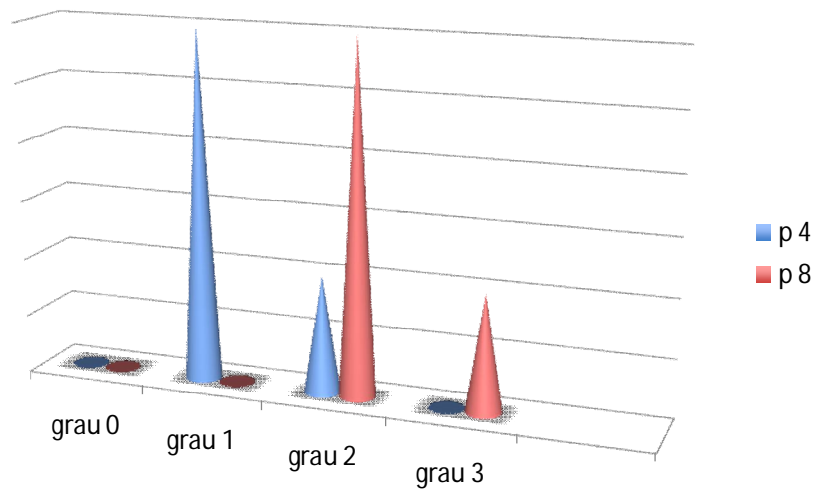


Gráfico 1: comparação do processo inflamatório e de neovascularização entre os grupos.

No grupo P4 na análise através da coloração de Weigert não se observou nenhuma desestruturação da camada média, lâmina elástica e nenhuma alteração a nível endotelial. Em compensação, no grupo P8 podemos observar a presença de desestruturação da camada média, duplicação da lâmina elástica e a presença de importante fibrose subendotelial. (figura 4).

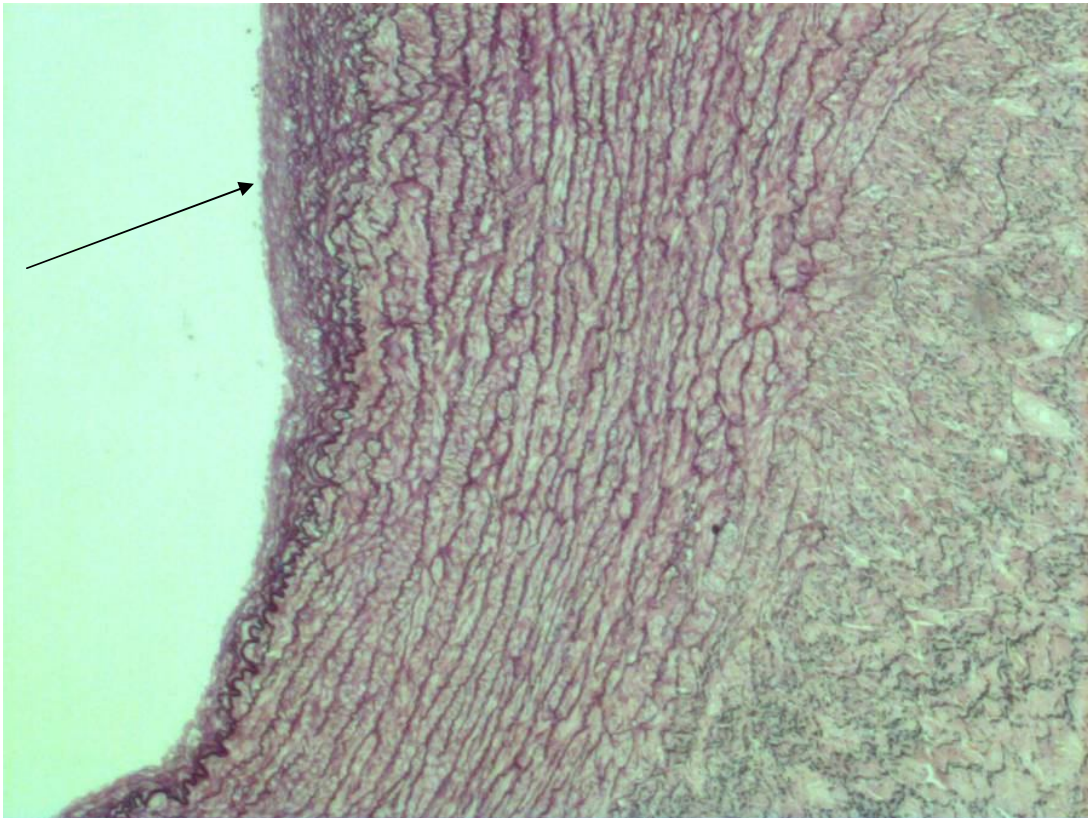


Figura 62: Grupo P8. Fibrose subendotelial subendotelial. Aumento 50X W

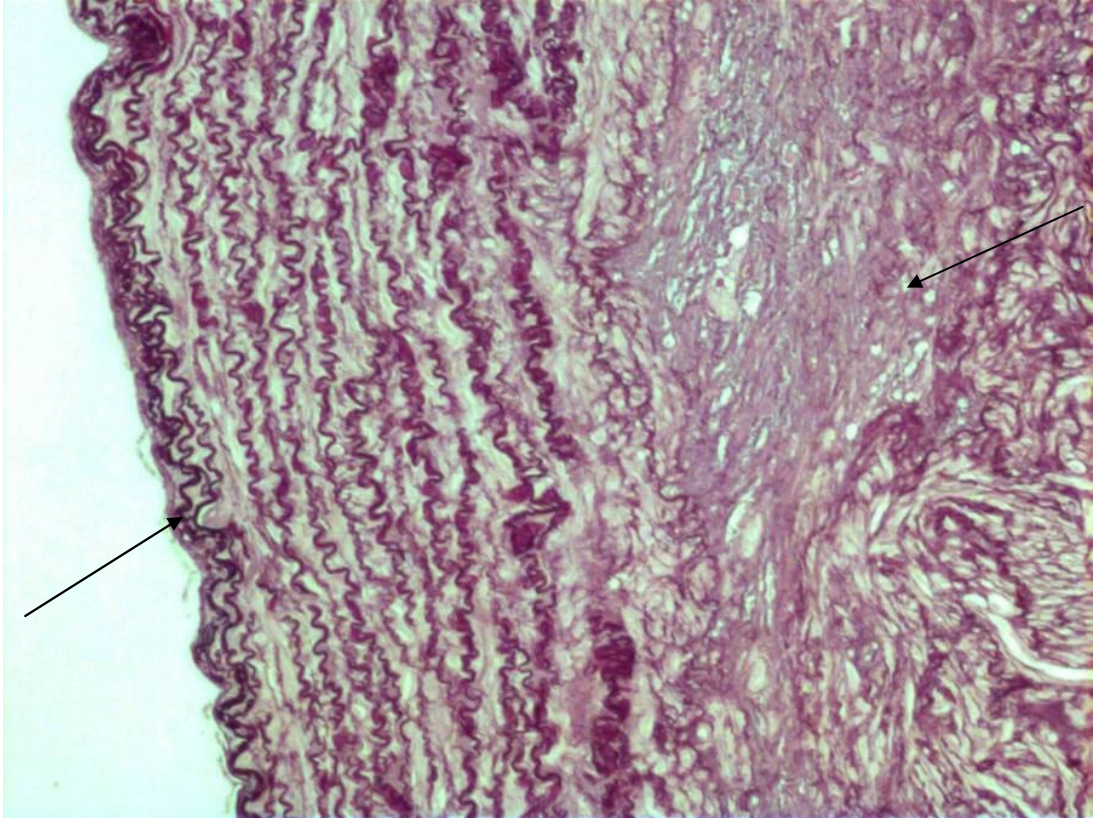


Figura 73: Grupo P8. Duplicação da camada elástica interna e desestruturação da camada média . Aumento 100X W.

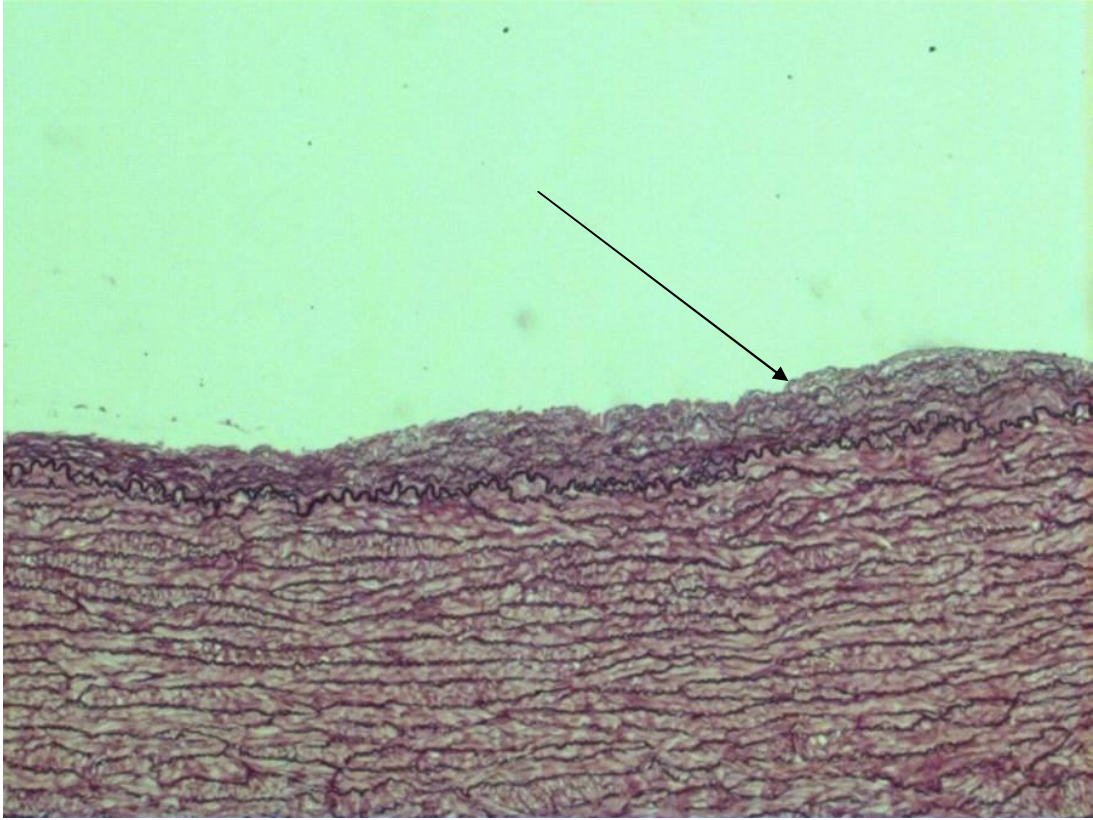


Figura 84: Grupo P8. Presença de fibrose subendotelial focal.  
50X. W

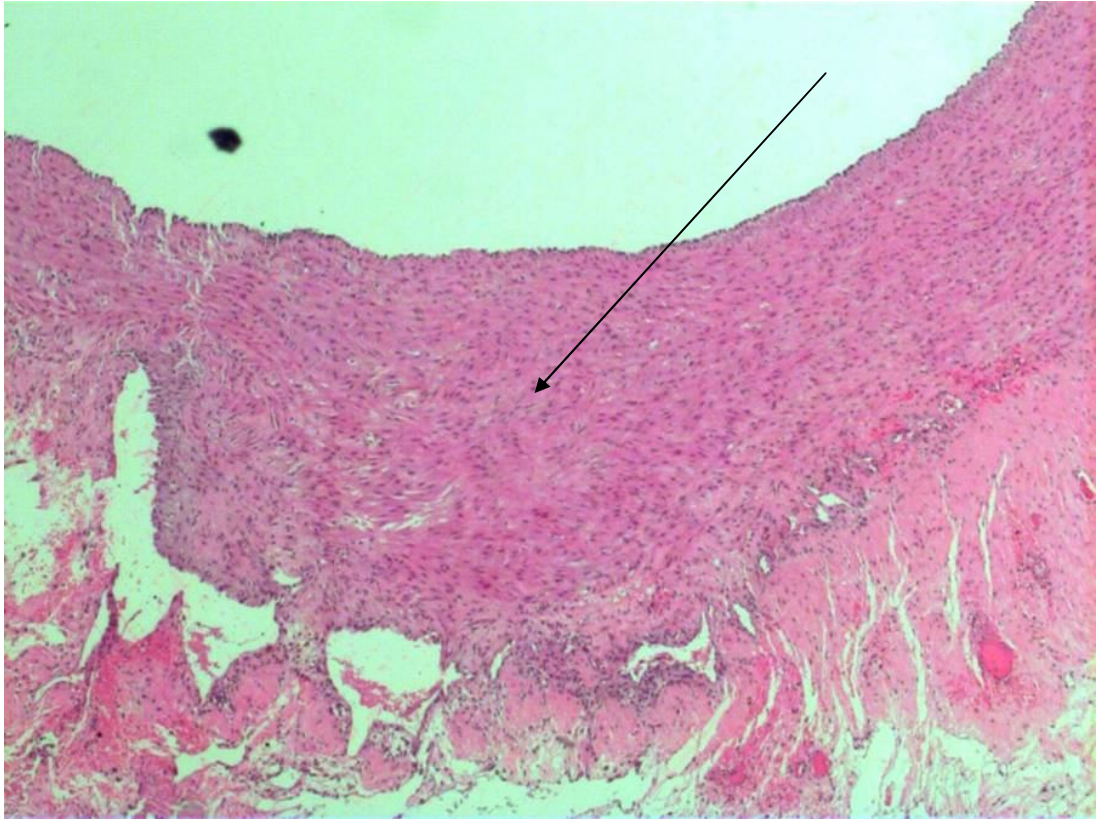


Figura 9: Grupo P8. Desestruturação da camada média . 25x H/E

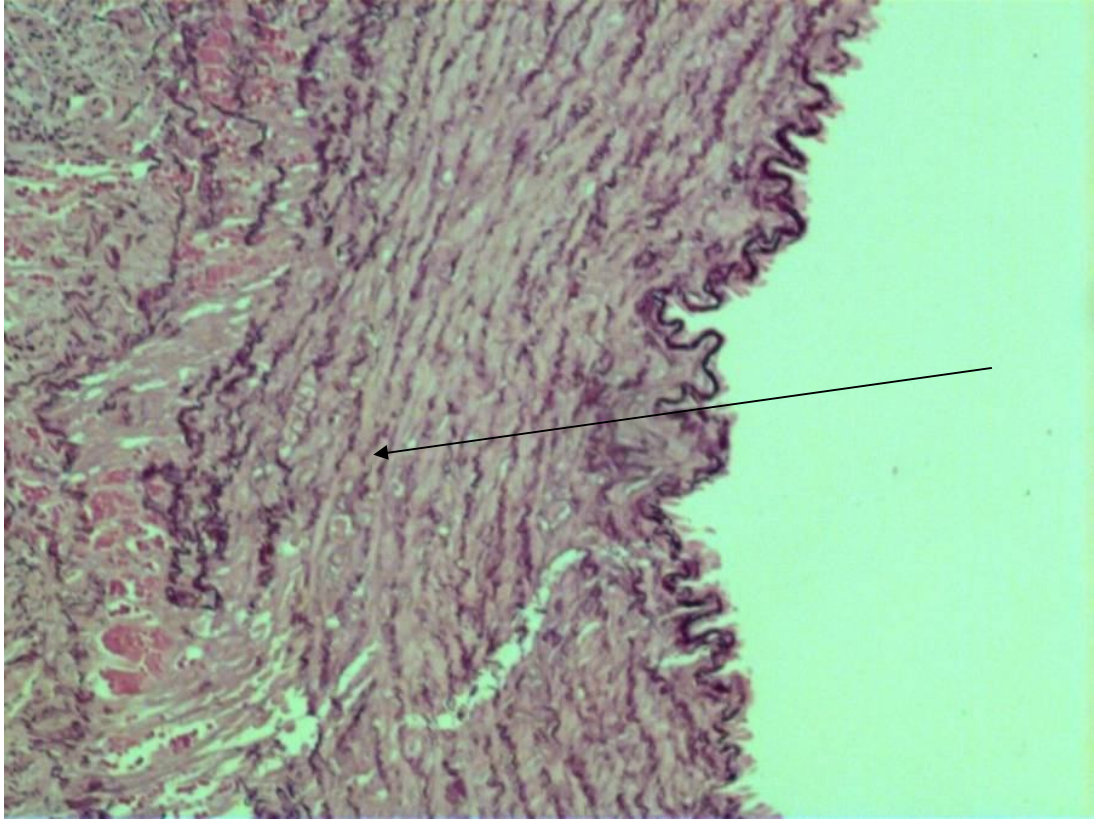


Figura 106: Grupo P8. Desestruturação da camada média . 50x W

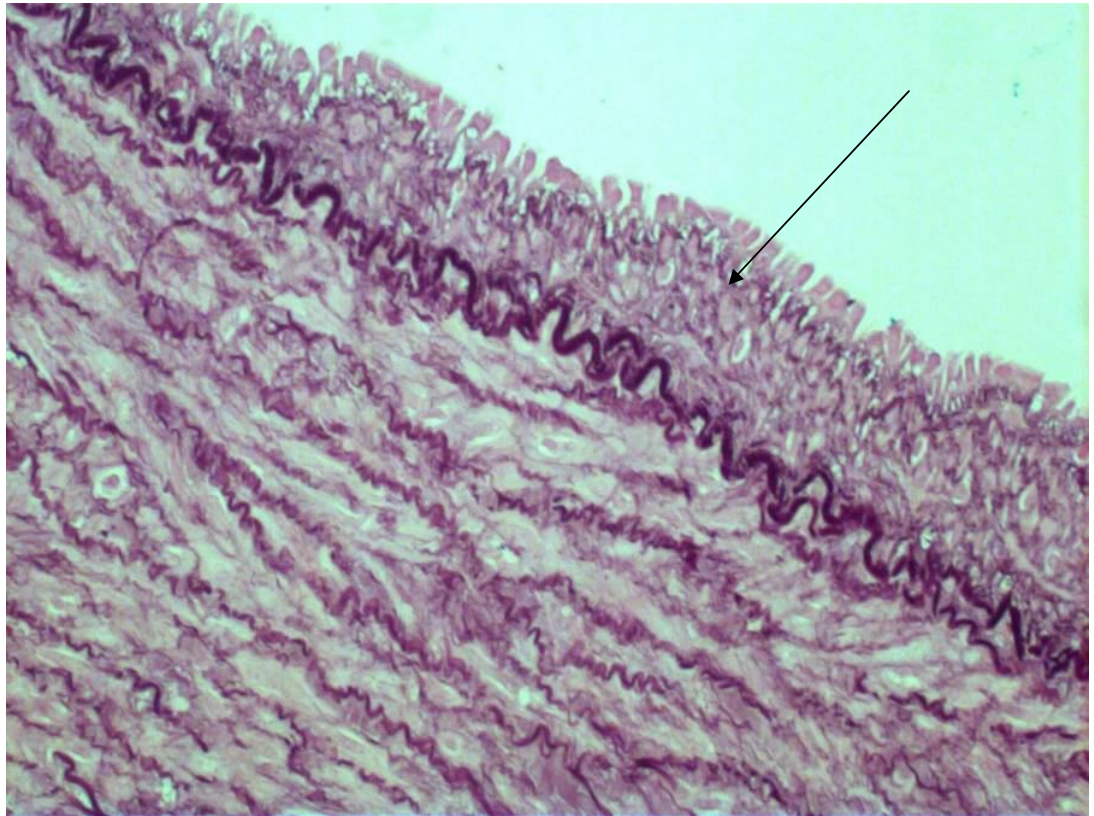


Figura 117: Grupo P8. Presença de fibrose subendotelial . 200 x.  
W.

Nos segmentos controles ( B e C) tanto do grupos P4 e do Grupo P8 o processo de neovascularização e inflamação ficou restrito ao grau 1 e não se visualizou - se nenhuma alteração na camada média, na lamina elástica ou no endotélio.



## 5. DISCUSSÃO

Informações básicas sobre a estrutura da parede arterial tem sido negligenciadas na literatura médica. A maioria das publicações e livros texto que tratam da hiperplasia intimal, descrevem a íntima normal como composta por uma camada monocelular. Entretanto, já na infância a íntima é composta por múltiplas camadas celulares e descrita por alguns autores como “hiperplasia benigna”. Esta estrutura da íntima se constitui no padrão nos mamíferos com placenta, incluindo humanos e é histologicamente idêntica a hiperplasia dita patológica(32,33,34,35).

Esta “hiperplasia benigna” se constitui em processo controlado da alteração fenotípica das células para um estado proliferativo. Infelizmente pouco se conhece sobre a modulação da hiperplasia benigna e porque no estado patológico se constitui em processo de difícil controle. A hiperplasia intimal é sem dúvida o processo patológico mais grave na remodelação arterial após cirurgias de derivação com próteses ou veias e angioplastias com ou sem o implante de stents (36,37,38,39).

Além da camada intimal as grandes artérias apresentam outras duas camadas: a túnica média, rica em fibras elásticas dispostas em camadas fenestradas bastante compactas separadas e células musculares lisas e a túnica adventícia descrita como uma camada mal definida de tecido conjuntivo e adiposo no qual estão dispersas fibras nervosas e elásticas e pequenos vasos nutritivos, os VV. Estes vasos adventiciais se diferenciam dos VV que se originam a partir da porção luminal (vasa vasorum interna) e cuja

participação na nutrição da parede é muito limitada especialmente quando existem alterações ateroscleróticas da parede arterial.

A visão tradicional afirma que as células miointimais da HI derivam das células musculares lisas da média e, através da mudança de seu fenótipo para um estado proliferativo, migram para a região intimal (40). Esta visão tem sido contestada e nas últimas duas décadas uma série de publicações tem demonstrado o importante papel da adventícia na fisiopatologia da hiperplasia intimal.

Os VV possuem uma estrutura histológica similar a pequenas artérias com células endoteliais, células musculares lisas e tecido conectivo na camada mais externa, apresentando formas de regular seu tônus, e, por consequência, a perfusão e podem estar implicados na remoção ou na entrega de substâncias lipídicas e de agentes neuro-humorais (7).

Os VV adventíciais podem ser divididos em dois tipos: os VV que se originam longitudinalmente em grandes vasos e penetram entre a adventícia e a média; e os VV circunferenciais, dispostos ao redor da parede dos vasos (1).

Os VV adventíciais são abundantes no terço externo da camada média mas são observados em menor número nas camadas mais internas.(4) A distribuição anatômica e as características de ramificação dos VV impedem que o fluxo sanguíneo consiga alcançar as camadas mais internas da média devido à força de compressão dentro da parede arterial, como descreve a Lei de Lamé, (a força de compressão no interior da parede arterial é igual à pressão luminal na região subendotelial) (5, 6)). Como consequência, se a força radial compressiva dentro do lúmen do vaso exceder a pressão arterial presente no VV, (como ocorre na hipertensão arterial), pode levar à oclusão ou

alteração estrutural deste, ocasionando uma redução da perfusão da parede do vaso (conforme a Lei de Poiseuille) (5).

Os VV isolados na aorta abdominal de suínos apresentaram, em alguns estudos experimentais, uma importante reatividade à endotelina , bradicina e substância P (5).

As alterações nos VV podem acontecer diante de diversas situações como crise hipertensiva, choque cardiogênico, insuficiência cardíaca, vaso constricção e vaso dilatação devido a respostas humorais, administração de fármacos, hipercolesterolemia, tabagismo, hipertensão, hiperglicemia que são fatores de riscos para doenças cardiovasculares, podendo iniciar ou desencadear um processo inflamatório na adventícia, com progressão para a camada média e íntima. A hipóxia e a ausência de nutrientes provenientes dos VV da adventícia estimulariam a neovascularização que serviria de entrada para macrófagos e fatores inflamatórios (3) .

Os VV reagem ainda ao estiramento da parede arterial como demonstrou Kwon et al. (25). O objetivo em seu estudo experimental era avaliar quantitativamente a resposta adventicial após a lesão causada por balão de angioplastia em artérias coronárias de suínos . A avaliação pela angiotomografia tridimensional após quatro semanas evidenciou uma neovascularização advencial e aumento do número dos VV que se correlacionava com o grau de hiperplasia intimal e re-estenose.

A hipótese de que células endotelial dos VV podem originar pontes celulares que penetram a túnica media e levam a formação de uma neoíntima na luz vascular de artérias ocluídas foi confirmada por Diaz-Flores e Dominguez em 1985.(41)

Além disso, as células miointimais originárias das vênulas pós-capilares (pericitos) ou de células progenitoras circulantes como os chamados fibrócitos podem participar da formação da hiperplasia intimal (42,43,44). Mas a adventícia apresenta ainda uma celularidade específica além dos VV. A literatura aponta várias evidências diretas que confirmam a capacidade das células da adventícia de migrar para a túnica media e íntima (45,46,47,48).

A adventícia também interage com os tecidos perivasculares. O tecido adiposo adventicial, assim como os VV, se constitui em fonte de células progenitoras mesenquimais que produzem células semelhantes aos pericitos. O tecido adiposo participa na formação e regressão da rede microvascular da adventícia e região perivascular (49).

As células adiposas da adventícia são também fonte de fatores parácrinos que regulam as respostas contráteis das células musculares lisas induzidas por agonistas vasoativos e podem enviar sinais que estimulam a proliferação e migração tanto de células musculares lisas da media como de miofibroblastos da adventícia (50).

A hipóxia da parede arterial é importante indutora de hiperplasia intimal. A perfusão da parede dos vasos pelos VV pode ser subestimada já que a impulsão sistólica progride com atraso em relação à pressão sistólica que se propaga na artéria nativa (6). Recentes evidências sugerem que a adventícia é um produtor de substâncias reacionais ao oxigênio, resultando em um remodelamento na parede arterial. Os fibroblastos presentes na adventícia podem produzir endotelina (ET-1) e fatores de crescimento, regulando a estrutura vascular e a sua função por mecanismos autócrinos e parácrinos (8). A ET-1, bradicinina altera a reatividade dos VV implicando na fisiopatologia de

algumas doenças (9). A injúria perivascular pode induzir adventícia pode liberar citocinas e desencadear diferenciação e mobilização de células progenitoras (10).

Vários estudos experimentais comprovam a relação entre hipóxia da parede arterial e hiperplasia intimal. Heistad e cols estudaram os efeitos da hipóxia após ligadura dos vasos que originam os VV na aorta de cães e observaram necrose focal da média em alguns casos associada a hiperplasia intimal. Nakata e Shionoya ocluíram os VV com uma mistura de gelatina e trombina e identificaram exuberante hiperplasia intimal.(51,52)

Stefanadis e cols. (11) desenvolveram um modelo experimental de isquemia da parede dos grandes vasos por interrupção dos VV, retirando a gordura Peri aórtica da aorta ascendente de caninos e isolando o segmento dos tecidos vizinhos com material sintético; após duas semanas, ficou evidenciada a diminuição da elasticidade da parede arterial . Este estudo, entretanto, não avaliou especificamente as alterações intimais.

Angouras e cols. (20), estudaram as alterações morfológicas secundárias à interrupção dos VV torácicos em suínos e observaram uma perda do conteúdo do colágeno e elastina nas camadas mais externas da media com endurecimento desta área após duas semanas da isquemia. Desta maneira a túnica media isquêmica passou a apresentar duas porções com características elasto-mecânicas diferentes com uma interface dividindo uma porção rígida externa e outra próxima ao normal mais interna. Mais uma vez as alterações intimais não foram avaliadas adequadamente.

Barker e cols. (21) evidenciaram em seu estudo experimental com quatro suínos Yucatans, as alterações secundárias à ressecção dos VV das

artérias femorais superficiais; mesmo sem qualquer manipulação luminal havia a formação de hiperplasia intimal focal.

Fagundes e cols (2), em modelo similar ao de Angouras , estudaram as alterações isquêmicas a mais longo prazo na aorta torácica de suínos . Após a ressecção da adventícia e VV ocorreu degeneração progressiva da túnica media até que, após 8 semanas havia completa substituição das fibras elásticas por fibroblastos. Estas alterações eram acompanhadas por lesão da membrana elástica interna e exuberante hiperplasia intimal.

A intenção principal do presente método experimental, com uma abordagem diferente em relação aos modelos propostos anteriormente, foi avaliar as alterações secundárias à hipóxia derivados dos VV e dos tecidos periadventíciais, obtendo alterações similares aos descritos na literatura , porém com um período mais longo de isquemia e sem a interferência dos mecanismos indutores de hiperplasia intimal

## **6. CONCLUSÃO**

A hipóxia induzida pela ressecção dos VV levou a alterações estruturais na media e na íntima caracterizadas por degradação de fibras elásticas, neovascularização e espessamento intimal. Estas alterações foram mais pronunciadas após oito semanas. Outros estudos experimentais similares não estudaram o efeito da hipóxia da parede após várias semanas da ressecção dos VV. Os achados histológicos evidenciaram uma precoce e uma exuberante angiogênese. A angiogênese foi especialmente abundante após oito semanas da remoção do tecido areolar periadventicial contendo os VV. Esta observação parece surpreender já que estes vasos neoformados derivam dos VV. Podemos apenas inferir que a hipóxia por si ou o processo inflamatório (induzido ou exacerbado pelo pericárdio bovino) são os fatores mediadores da angiogênese e do espessamento intimal; células circulante e ou da medula óssea podem ter participação no processo da angiogênese já que no presente modelo a participação da adventícia e dos tecidos foi abolida ou minimizada.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mulligan-Kehoe MJ. The vasa vasorum in diseased and nondiseased arteries. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. 2010;298(2):H295-H305.
2. Fagundes A. Alterações histológicas secundárias à interrupção dos vasa vasorum na aorta descendente : implicações na patogênese da dissecação aórtica. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2010.
3. Csányi G, Taylor WR, Pagano PJ. NOX and inflammation in the vascular adventitia. *Free Radical Biology and Medicine*. 2009;47(9):1254-66.
4. Robins A. Vasos Sanguíneos. *Pathologic Basis of Disease*1989. p. 474 - 81.
5. Ritman EL, Lerman A. The dynamic vasa vasorum. *Cardiovasc Res*. 2007;75(4):649-58. Epub 2007/07/17.
6. Pereira AH. Ruptura dos vasa vasorum e hematoma intramural da aorta: um paradigma em mudança. *Jornal Vascular Brasileiro*. 2010;9:57-60.



7. Williams JK, Heistad DD. [The vasa vasorum of the arteries]. *Journal des maladies vasculaires*. 1996;21 Suppl C:266-9. Epub 1996/01/01. Les vasa vasorum des arteres.
8. Wang HD, Rätsep MT, Chapman A, Boyd R. Adventitial fibroblasts in vascular structure and function: the role of oxidative stress and beyond. This review is one of a selection of papers published in a Special Issue on Oxidative Stress in Health and Disease. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2010;88(3):177-86.
9. Scotland R, Vallance P, Ahluwalia A. Endothelin alters the reactivity of vasa vasorum: mechanisms and implications for conduit vessel physiology and pathophysiology. *British Journal of Pharmacology*. 1999;128(6):1229-34.
10. Hu Y, Xu Q. Adventitial Biology: Differentiation and Function. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2011;31(7):1523-9.
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. WOLINSKY H, GLAGOV S. Nature of Species Differences in the Medial Distribution of Aortic Vasa Vasorum in Mammals. *Circulation Research*. 1967;20(4):409-21.
13. Buck RC. Electron microscopic observations on capillaries of atherosclerotic aorta. *AMA archives of pathology*. 1959;67(6):656-9. Epub 1959/06/01.
14. Wolinsky H, Glagov S. Comparison of Abdominal and Thoracic Aortic Medial Structure in Mammals. *Circulation Research*. 1969;25(6):677-86.
15. Baikoussis NG, Apostolakis EE, Papakonstantinou NA, Siminelakis SN, Arnaoutoglou H, Papadopoulos G, et al. The implication of vasa vasorum in surgical diseases of the aorta. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2011;40(2):412-7.

16. Schermerhorn ML, Cronenwett JL. Aneurismas Aorticos Abdominais e Iliacos. *Vascular Surgery*. 6th ed 2005. p. 1408-51.
17. Cardoso CVP. Criação e uso de animais para a pesquisa e o ensino. Leis e regulamentos locais. *Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (Cobea)*
18. Fujii H, Tanigawa N, Okuda Y, Komemushi A, Sawada S, Imamura H. Creation of aortic dissection model in swine. *Japanese circulation journal*. 2000;64(9):736-7. Epub 2000/09/12.
19. Argenta R, Pereira AH. Modelos animais de aneurisma de aorta. *Jornal Vascular Brasileiro*. 2009;8:148-53.
20. 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. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2000;17(4):468-73.
21. Barker SG, Talbert A, Cottam S, Baskerville PA, Martin JF. Arterial intimal hyperplasia after occlusion of the adventitial vasa vasorum in the pig. *Arteriosclerosis and thrombosis : a journal of vascular biology / American Heart Association*. 1993;13(1):70-7. Epub 1993/01/01.
22. Bayer I, Caniggia I, Adamson L, Langille L. Experimental angiogenesis of arterial vasa vasorum. *Cell and Tissue Research*. 2002;307(3):303-13.
23. Crotty TP. The role of vasa vasorum in atherosclerosis. *Medical Hypotheses*. 1989;28(4):233-43.
24. Wilcox JN, Scott NA. Potential role of the adventitia in arteritis and atherosclerosis. *International journal of cardiology*. 1996;54 Suppl:S21-35. Epub 1997/08/01.

25. Diaz-Flores L, Valladares F, Gutierrez R, Varela H. The role of the pericytes of the adventitial microcirculation in the arterial intimal thickening. *Histology and histopathology*. 1990;5(2):145-53. Epub 1990/04/01.
26. Galili O, Sattler KJ, Herrmann J, Woodrum J, Olson M, Lerman LO, et al. Experimental hypercholesterolemia differentially affects adventitial vasa vasorum and vessel structure of the left internal thoracic and coronary arteries. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2005;129(4):767-72.
27. Langheinrich AC, Michniewicz A, Sedding DG, Walker G, Beighley PE, Rau WS, et al. Correlation of Vasa Vasorum Neovascularization and Plaque Progression in Aortas of Apolipoprotein E<sup>-/-</sup>/Low-Density Lipoprotein<sup>-/-</sup> Double Knockout Mice. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2006;26(2):347-52.
28. Kampschulte M, Brinkmann A, Stieger P, Sedding DG, Dierkes C, Bohle RM, et al. Quantitative CT imaging of the spatio-temporal distribution patterns of vasa vasorum in aortas of apoE<sup>-/-</sup>/LDL<sup>-/-</sup> double knockout mice. *Atherosclerosis*. 2005;181(2):205-12. Barker A, Talbert S, Cottam P, Baskerville A, Martin JF.
29. Arterial intimal hyperplasia after occlusion of the adventitial vasa vasorum in the pig. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 1993;13:70-77. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2010;212(2):444-50.
30. Kwon HM, Sangiorgi G, Ritman EL, Lerman A, McKenna C, Virmani R, Edwards WD, Holmes DR, Schwartz RS. Adventitial vasa vasorum in balloon-injured coronary arteries: visualization and quantitation by a microscopic three-dimensional computed tomography technique. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:2072-2079.
31. Sartore S, Chiavegato A, Faggini E, Franch R, Puato M, Ausoni S, Pauletto P. Contribution of adventitial fibroblasts to neointima formation and vascular remodeling: from innocent bystander to active participant. *Circ Res*. 2001;89:1111-1121.
32. Wilcox JN, Okamoto EI, Nakahara KI, Vinten-Johansen J. Perivascular responses after angioplasty: which may contribute to postangioplasty restenosis: a role

for circulating myofibroblast precursors? *Ann N Y Acad Sci* 2001;947:68 –90; discussion 90 – 62. )

33. Thoma R: Ueber die Abhängigkeit der Bindegewebsneubildung in der Arterienintima von den mechanischen Bedingungen des Blutumlaufes. Erste Mittheilung. Die Rückwirkung des Verschlusses der Nabelarterien und des arteriellen Ganges auf die Structur der Aortenwand.*Archiv fur pathologische Anatomie und Physiologie und fur klinische Medicin (Virchows Archiv)* 1883, 93:443

34. Greenwald SE, Berry CL: Improving vascular grafts: the importance of mechanical and haemodynamic properties.*J Pathol* 2000, 190:292.

35. Gallagher PJ: Blood Vessels. Chapter 33. In *Histology for Pathologists*. 2nd edition. Edited by Sternberg SS. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1997:763-786.

36. Stehbens WE: General features, structures, topography and adaptation of the circulatory systems. In *Vascular pathology*. Edited by Stehbens WE, Lie JT. London: Chapman & Hall Medical; 1995:1-20.

37. Luo H, Nishioka T, Eigler NL, Forrester JS, Fishbein MC, Berglund H, Siegel RJ: Coronary artery restenosis after balloon angioplasty in humans is associated with circumferential coronary constriction.*Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996, 16:1393-1398.

38. Kipshidze N, Dangas G, Tsapenko M, Moses J, Leon MB, Kutryk M, Serruys P: Role of the endothelium in modulating neointimal formation: vasculoprotective approaches to attenuate restenosis after percutaneous coronary interventions.*J Am Coll Cardiol* 2004, 44:733-739.

39. Callow AD: Intimal Hyperplasia: The Clinical problem. In *IntimalHyperplasia*. Edited by Dobrin PB. Austin: R.G. Landes Co; 1994:3-12.

40. Subbotin V analysis of arterial intimal hyperplasia: review and hypothesis*Theoretical Biology and Medical Modelling* 2007:10.1186/1742-4682-4Ross

- R., Glomset J. and Harker L. (1977). Response to injury and atherogenesis. *Am. J. Pathol.* 86, 675-684).
41. Díaz-Flores L. and Dominguez C. (1985). Relation between arterial intimal thickening and the vasa-vasorum. *Virchows Arch. (A)* (406, 165-177).
42. Abe R., Donnelly S.C., Peng T., Bucala R. and Metz C.N. (2001). Peripheral blood fibrocytes: differentiation pathway and migration to wound sites. *J. Immunol.* 166, 7556-7562.
43. Khurana R., Zhuang Z., Bhardwaj S., Murakami M., De Muinck E., Yla-Herttuala S., Ferrara N., Martin J.F., Zachary I. and Simons M. (2004). Angiogenesis-dependent and independent phases of intimal hyperplasia. *Circulation* 110, 2436-2443.
44. Varcoe R.L., Mikhail M., Guiffre A.K., Pennings G., Vicaretti M., Hawthorne W.J., Fletcher J.P. and Medbury H.J. (2006). The role of the fibrocyte in intimal hyperplasia. *J. Thromb. Haemost.* 4, 1125- 1133.
45. Hu Y, Zhang Z, Torsney E, Afzal AR, Davison F, Metzler B, Xu Q. Abundant progenitor cells in the adventitia contribute to atherosclerosis of vein grafts in ApoE-deficient mice. *J Clin Invest.* 2004;113:1258–1265.
46. Mason DP, Kenagy RD, Hasenstab D, Bowen-Pope DF, Seifert RA, Coats S, Hawkins SM, Clowes AW. Matrix metalloproteinase-9-overexpression enhances vascular smooth muscle cells migration and alters remodeling in the injured rat carotid artery. *Circ Res.* 1999;85:1179–1185.
47. Rodriguez-Menocal L, St-Pierre M, Wei Y, Khan S, Mateu S, Calfa M, Rahnemai-Azar AA, Striker G, Pham SM, Vazquez-Padron RI. The origin of post-injury neointimal cells in the rat balloon injury model. *Cardiovasc Res.* 2009;81:46–53.
48. Mallawaarachchi CM, Weissberg PL, Siow RCM. Smad7 gene transfer attenuates adventitial cell migration and vascular remodeling after balloon injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:1381–1387

49. Traktuev DO, Merfeld-Clauss S, Li J, Kolonin M, Arap W, Pasqualini R, Johnstone BA, March KL. A population of multipotent CD34-positive adipose stromal cells share pericyte mesenchymal surface markers, reside in a periendothelial location, and stabilize endothelial networks. *Circ Res.* 2008;102:77–85).
50. Lu C, Su LY, Lee RM, Gao YJ. Alterations in perivascular adipose tissue structure and function in hypertension. *Eur J Pharmacol.* 2011;656:68–73. E Ruan CC, Zhu DL, Chen QZ, Chen J, Guo SJ, Li XD, Gao PJ. Perivascular adipose tissue-derived complement 3 is required for adventitial fibroblast functions and adventitial remodeling in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30:2568–2574).
51. Heistad DD, Marcus ML, Larsen GE, Armstrong ML: Role of vasa vasorum in nourishment of the aortic wall. *Am J Physiol* 1981;240: H781-H787.
52. Nakata Y, Shionoya S: Vascular lesions due to obstruction of the vasa vasorum. *Nature* 1966;212:1258-1259 .

