

# Estudo histomorfométrico seqüencial da artéria torácica interna esquerda

## *Sequential histomorphometric study of the left internal thoracic artery*

Maximiliano C. KNEUBIL<sup>1</sup>, Walter J. GOMES<sup>2</sup>, Marcelo S. AQUINO<sup>1</sup>, Paulo MAZZILLI<sup>1</sup>, Guiomar N. GOMES<sup>3</sup>, Maria Flavia L. RIBEIRO<sup>4</sup>, Camille D. BENATTI<sup>4</sup>, Enio BUFFOLO<sup>5</sup>

RBCCV 44205-844

### **Resumo**

**Objetivo:** O uso de enxertos de artéria torácica interna esquerda (ATIE) é atualmente reconhecido como a melhor opção na cirurgia de revascularização miocárdica, proporcionando menor incidência de eventos cardiovasculares e maior sobrevida. Entretanto, com a expansão do uso dos enxertos arteriais, faz-se necessário melhor entendimento da estrutura histológica da ATIE. Portanto, o objetivo deste trabalho foi estudar a estrutura histológica da ATIE e a análise histomorfométrica seqüencial e comparativa entre os diferentes segmentos.

**Método:** Foram estudados espécimes de ATIE retirados de 18 cadáveres, divididos em nove segmentos proporcionais. Cortes de cada segmento foram corados com técnica de Verhoeff-Van Gieson. Foram analisados os seguintes parâmetros: perímetro da luz arterial, espessura da íntima, espessura da camada média, número de fibras elásticas da camada média e a densidade de fibras elásticas.

**Resultados:** Os dados obtidos mostraram que perímetro da ATIE mostra tendência a diminuir ao longo de sua extensão, a espessura da íntima é aumentada nos segmentos proximais, a espessura da camada média diminui ao longo de sua extensão, o número de lâminas elásticas se concentra nos segmentos intermediários, a densidade de lâminas elásticas é diminuída nos segmentos proximais e distais.

**Conclusão:** Portanto, os achados do presente estudo confirmam a heterogeneidade da estrutura histológica seqüencial da ATIE.

**Descritores:** Artéria torácica interna. Revascularização miocárdica. Histologia comparada.

### **Abstract**

**Objective:** The use of left internal thoracic artery (LITA) in coronary artery bypass surgery is currently recognized as the best option, providing lower incidences of cardiovascular events and superior long-term survival. Now, incremental utilization of these grafts makes a reassessment of its histological structure necessary. Therefore, the purpose of this study was to examine and compare the sequential histological structure of LITA.

**Method:** Specimens of LITA harvested from 18 cadavers, divided into nine proportional segments, were studied. Cuts of each segment were stained by the Verhoeff-Van Gieson technique. The following parameters were analyzed: perimeter of the arterial lumen, thickness of the intima, thickness of the media layer, amount of elastic fiber in the media layer and the elastic fiber density.

- 1 - Médico Residente
- 2 - Professor Adjunto Livre-Docente
- 3 - Professora Adjunta
- 4 - Aluna do Curso de Medicina
- 5 - Professor Titular

Trabalho realizado na Escola Paulista de Medicina - Universidade Federal de São Paulo

Trabalho realizado pelo Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica - PIBIC/CNPq-UNIFESP/EPM. Aluno: Maximiliano C. Kneubil. Orientador: Walter J. Gomes.

### Endereço para correspondência:

Walter J. Gomes. Disciplina de Cirurgia Cardiovascular. Escola Paulista de Medicina - Universidade Federal de São Paulo - Rua Botucatu 740 - 04023-900 - São Paulo SP Brasil. Telefone: (11) 5571-2719. E-mail: wjgomes.dcir@epm.br

Artigo recebido em setembro de 2006  
Artigo aprovado em novembro de 2006

**Results:** The collected data showed that perimeter of the LITA decreases downstream on its course, the thickness of the intima is increased in the proximal segments, the thickness of the media layer diminishes throughout its extension, the number of elastic fibers is concentrated in the intermediate segments and the density of elastic fibers is reduced in the proximal and distal segments.

**Conclusion:** Therefore, the findings of the present study validate the heterogeneity of the LITA sequential histological structure.

**Descriptors:** Mammary arteries. Myocardial revascularization. Histology, comparative.

## INTRODUÇÃO

A utilização do enxerto de artéria torácica interna esquerda (ATIE) na cirurgia de revascularização miocárdica tem demonstrado prover melhores resultados tardios, com índices de perviedade superior em longo prazo quando comparada com outros condutos, resultando em menor incidência de eventos cardiovasculares e maior sobrevivência [1,2]. Portanto, o uso de enxertos de ATIE é, atualmente, reconhecido como a melhor opção na cirurgia de revascularização miocárdica.

Os excelentes resultados obtidos com a ATIE são atribuídos em grande parte à estrutura de sua parede. Contribuem para esta superioridade a relativa imunidade da ATIE à aterosclerose [3,4], assim como fatores específicos da parede, como a composição histológica [5,6], ultra-estrutural [5] e histoquímica [7,8].

Estudos histológicos anteriores mostraram que a ATIE não apresenta estrutura uniforme ao longo de seu trajeto. Isto poderia acarretar possíveis implicações quanto à forma de utilização e, conseqüentemente, interferir nos resultados cirúrgicos [6,9,10].

Atualmente, com a expansão do uso dos enxertos arteriais na cirurgia de revascularização miocárdica, faz-se necessário melhor conhecimento da estrutura histológica da ATIE. Portanto, o objetivo deste trabalho foi estudar a estrutura histológica da ATIE e a análise histomorfométrica seqüencial e comparativa entre os diferentes segmentos.

## MÉTODO

Foram estudadas 18 amostras de ATIE retiradas de cadáveres frescos do Serviço de Verificação de Óbitos da Cidade de São Paulo. As disseções consistiram de remoção cuidadosa da ATIE, desde sua origem na artéria subclávia até sua bifurcação, dando origem às artérias epigástrica superior e músculo-frênica. Em cada amostra, o comprimento total da ATIE, da sua origem até a bifurcação, foi dividido em nove segmentos proporcionais (Figura 1).

Os segmentos, numerados de 1 a 9, foram fixados em formalina neutra tamponada a 10%. A seguir, os segmentos foram desidratados, diafanizados e incluídos em parafina. Foram feitos cortes histológicos com espessura de 5 µm, orientados transversalmente, da porção média de cada

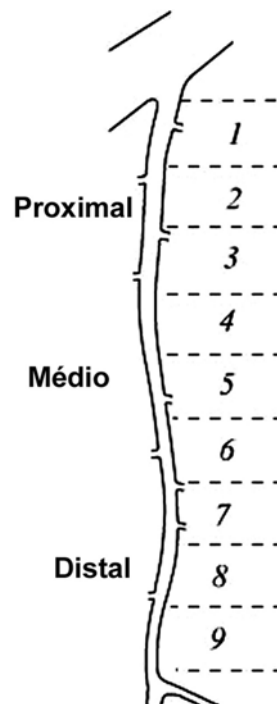


Fig. 1 - O comprimento total da artéria torácica interna esquerda, da sua origem até a bifurcação, foi dividido em nove segmentos proporcionais

segmento. Os cortes foram corados com técnica de Verhoeff-Van Gieson e preparados para microscopia ótica e histomorfometria (Figura 2).

As imagens foram capturadas num microscópio ótico Zeiss acoplado a um computador equipado com monitor de alta resolução, onde as imagens foram processadas e digitalizadas. A análise histomorfométrica foi realizada usando o programa de imagens Image-Pro Plus 4 (Media Cybernetics, Inc., Silver Spring, USA).

### Parâmetros analisados

Foram analisados os seguintes parâmetros: perímetro da luz arterial, espessura da íntima, espessura da camada média, número de fibras elásticas da camada média e a densidade de fibras elásticas.

A análise direta do perímetro da luz arterial foi realizada em magnificação de 50x, enquanto a análise da

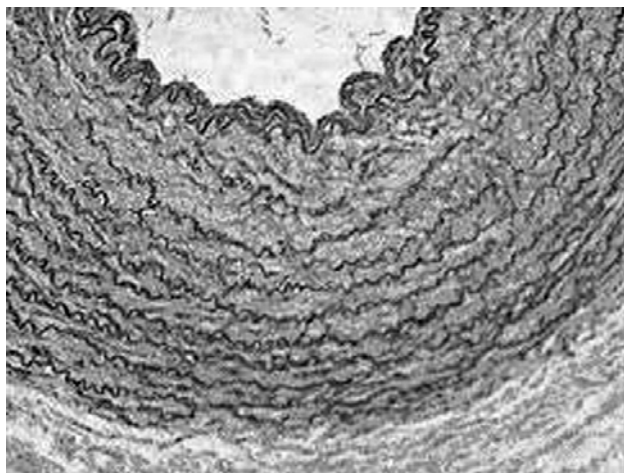


Fig. 2 - Fotomicrografia ilustrativa de segmento da ATIE corado com a técnica de Verhoeff-Van Gieson (magnificação de 200x)

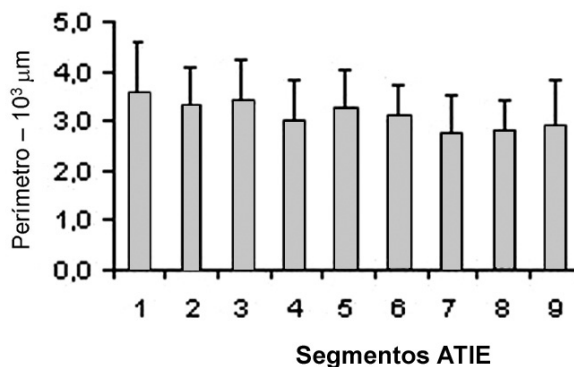


Fig. 3 - O perímetro interno da ATIE tende a diminuir ao longo de sua extensão

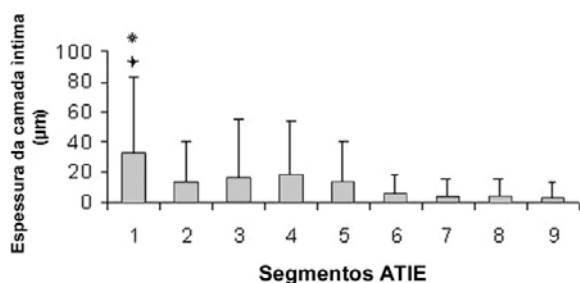


Fig. 4 - A espessura da íntima é aumentada nos segmentos proximal quando comparada aos distais

✦ Diferente dos segmentos 2,5,6,7,8,9;  $p < 0,001$   
 ✨ Diferente do segmento 3;  $p < 0,05$

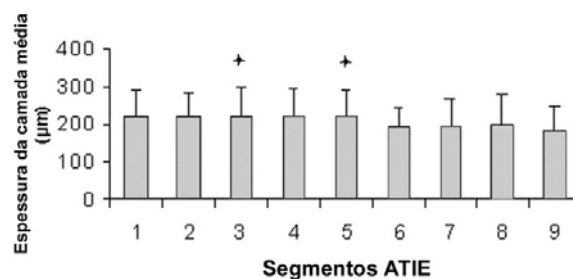


Fig. 5 - A espessura da camada média diminui ao longo de sua extensão proximal para distal

✦ Diferente do seg. 9;  $p < 0,05$

espessura da íntima, da camada média e do número de fibras elásticas da camada média em aumento de 200x. A densidade de fibras elásticas foi calculada dividindo o número de fibras encontradas pela espessura da camada média. Foram analisadas quatro regiões diferentes de um mesmo corte diametralmente opostas para maior precisão do estudo.

Os dados morfométricos estão apresentados como média  $\pm$  desvio-padrão. Na comparação das médias entre os segmentos foi utilizada análise de variância (ANOVA), seguida pelo método de Bonferroni para comparações múltiplas. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos. Os cálculos estatísticos foram feitos usando o programa GraphPad Prism Software (GraphPad Software, Inc, San Diego, CA).

## RESULTADOS

Os resultados obtidos revelaram que o perímetro interno da ATIE mostra tendência a diminuir ao longo de sua extensão, como pode ser observado na Tabela 1. A Figura 3

mostra os dados dos perímetros dos segmentos estudados da ATIE, entretanto, não se observando diferença estatisticamente significativa quando os segmentos foram comparados entre si.

Nos segmentos proximais, a espessura da íntima apresenta-se aumentada em relação aos segmentos distais (Tabela 1). Na análise intersegmentos, o segmento 1 é significativamente maior quando comparado com os segmentos 2,5,6,7,8,9 com  $p < 0,01$  e  $p < 0,05$  com o segmento 3 (Figura 4).

A espessura da camada média diminui ao longo de sua extensão proximal para distal (Tabela 1). Os segmentos 3 e 5 são significativamente maiores quando comparados com o segmento 9 ( $p < 0,05$ ) - Figura 5.

O número de lâminas elásticas apresenta maior concentração nos segmentos intermediários (Figura 6), assim como a densidade de lâminas elásticas é diminuída nos segmentos proximais e distais, mostrando-se maior nos segmentos 6 e 7 (Tabela 1).

Tabela 1. Médias dos parâmetros estudados  $\pm$  desvio padrão (em micrômetros) para cada segmento da artéria torácica interna esquerda. Mp=média do perímetro interno; Mi=média da espessura da íntima; Mm=média da espessura da camada média; Mnf=média do número de fibras elásticas da camada média; Mnf/Mm=Relação da média no número de fibras elásticas pela média da espessura da camada média em micrômetros; DP=desvio-padrão.

Segmento	Mp $\pm$ DP ( $\mu$ m)	Mi $\pm$ DP( $\mu$ m)	Mm $\pm$ DP( $\mu$ m)	Mnf $\pm$ DP	DensidadeMnf/Mm
1	3.579,4 $\pm$ 970,8	33,9 $\pm$ 50,5	219,4 $\pm$ 71,2	13,1 $\pm$ 5,2	0,060
2	3.308,3 $\pm$ 772,7	14,4 $\pm$ 25,8	219,1 $\pm$ 67,1	15,2 $\pm$ 4,7	0,069
3	3.397,6 $\pm$ 824,8	16,7 $\pm$ 38,6	223,8 $\pm$ 79,4	17,2 $\pm$ 5,5	0,077
4	3.026,9 $\pm$ 753,3	18,5 $\pm$ 35,4	218,6 $\pm$ 75,1	19,1 $\pm$ 6,5	0,087
5	3.272,9 $\pm$ 793,5	13,4 $\pm$ 27,5	221,2 $\pm$ 68,3	18,2 $\pm$ 3,6	0,082
6	3.098,0 $\pm$ 608,1	4,8 $\pm$ 13,7	192,3 $\pm$ 50,4	18,8 $\pm$ 3,7	0,098
7	2.747,2 $\pm$ 781,0	4,2 $\pm$ 11,8	197,4 $\pm$ 71,1	20,4 $\pm$ 6,8	0,104
8	2.817,1 $\pm$ 608,5	4,0 $\pm$ 12,0	199,4 $\pm$ 77,8	17,9 $\pm$ 5,6	0,090
9	2.940,7 $\pm$ 885,5	3,3 $\pm$ 10,1	185,5 $\pm$ 60,1	14,2 $\pm$ 4,1	0,077

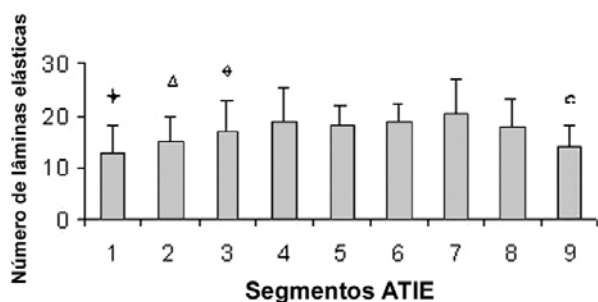


Fig. 6 - O número de lâminas elásticas apresenta maior concentração nos segmentos intermediários

✦ Diferente dos segmentos 3,4,5,6,7,8;  $p < 0,01$

△ Diferente dos segmentos 4,6,7;  $p < 0,01$

◇ Diferente dos segmentos 7,9;  $p < 0,01$

⊠ Diferente dos segmentos 4,5,6,7,8;  $p < 0,01$

## DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo demonstraram que a estrutura histológica da parede da ATIE não é uniforme ao longo de seu trajeto. Assim, o perímetro da ATIE diminui ao longo de sua extensão, a espessura da íntima é maior nos segmentos proximais, a espessura da camada média diminui ao longo de sua extensão, o maior número de lâminas elásticas se concentra nos segmentos intermediários e a densidade de lâminas elásticas é diminuída nos segmentos proximais e distais.

Indubitavelmente, os excelentes resultados com o uso da ATIE na cirurgia de RM devem-se em grande parte à sua estrutura histológica. Evidências clínicas e experimentais mostram que o enxerto de ATI não é somente um simples conduto de transporte de sangue para o miocárdio. Ele possui várias atividades biológicas, como a relativa imunidade à aterosclerose, vasodilatação ativa com

remodelação da parede arterial, grande capacidade de secreção de óxido nítrico e outros fatores endoteliais, regulação do tônus vasomotor e a propriedade de auto-reparação [11,12].

Tem sido demonstrado que as propriedades do endotélio da ATI contribuem para este resultado. Os enxertos de ATI promovem maior liberação de óxido nítrico que os enxertos de artéria radial (AR) e veia safena (VS) [13]. Isto torna a ATI um “conduto vivo”, capaz de dilatar-se (adaptação do calibre) e, conseqüentemente, aumentar o fluxo sanguíneo, respondendo à demanda do leito coronário e área de miocárdio suprido. Ademais, a produção aumentada de óxido nítrico pelo endotélio da ATI tem a capacidade de reduzir e prevenir o processo aterosclerótico do leito distal da artéria coronária revascularizada com este enxerto [11]

Devido aos excelentes resultados clínicos obtidos com o uso da ATIE, atualmente vem ocorrendo a extensão de seu uso, objetivando revascularizar um número maior de artérias coronárias. O aumento da gravidade dos pacientes e acometimento mais difuso da artéria coronária também tem conduzido à necessidade de realização da anastomose da ATI em segmentos mais distais da artéria coronária. De acordo com Cosgrove e Loop [14], os principais obstáculos para revascularização de um número maior de artérias coronárias com enxertos de ATI são a disponibilidade limitada e comprimento desses enxertos, além de fluxo sanguíneo adequado.

Estudos anteriores que examinaram a estrutura histológica da ATIE mostraram resultados inconsistentes. Van Son et al. [9] estudaram a histologia comparada de vários condutos arteriais usados em cirurgia de revascularização miocárdica, mas consideraram a ATI como apresentando estrutura uniforme ao longo de seu trajeto. Em estudo posterior, reparando a incorreção do trabalho precedente, mostraram a variabilidade da composição histológica da ATI em seus diferentes segmentos [6]. Este estudo confirmou

que há maior predominância de fibras elásticas no segmento médio da ATI do que nos segmentos proximal e distal. Por outro lado, a ATIE é farmacologicamente reativa [15,16]. He [16] relatou que diferentes segmentos da ATIE exibiram variações de respostas de contratilidade quando testadas com distintas substâncias vasoativas e concluiu que o segmento médio é um “conduto passivo”, mas que o segmento distal (3 a 4 cm próximos a bifurcação) é farmacologicamente reativo. O uso do terço distal da ATI na confecção da anastomose com a artéria coronária foi questionado, devido à possibilidade de maior espasmo.

Entretanto, Nakayama et al. [17], estudando angiograficamente resultados tardios de diferentes segmentos de ATIE anastomosados à artéria coronária descendente anterior (DA), mostraram que não há diferença no aumento de diâmetro entre o segmento distal e médio. Ou seja, todos esses segmentos da ATIE foram capazes de aumentar proporcionalmente diâmetro e fluxo, adequando-se à demanda da artéria coronária revascularizada.

Em estudos prévios determinando fatores relacionados com a perviedade tardia da ATIE, o uso do segmento distal da ATIE não consistiu em fator de risco. Outros fatores estiveram presentes, como o achado de fluxo competitivo pelo leito coronariano nativo, qualidade do leito coronariano, presença de ramos laterais ocasionando roubo de fluxo, dislipidemia, diabetes mellitus, hipertensão arterial sistêmica, progressão da doença aterosclerótica e problemas de técnica cirúrgica [18-20]

Marx et al. [21], estudando a estrutura do segmento distal da ATI em 100 pacientes, encontraram grande variação da composição da camada média. A composição da camada média nesse segmento estudado pôde ser classificada em três tipos: elástica, muscular e média. Em 52% predominou o tipo elástico, em 26% o padrão muscular e em 22% o padrão híbrido. Portanto, mesmo entre espécimes do segmento distal da ATI há grande variabilidade histológica, tornando extrapolações anteriores passíveis de questionamentos.

Nasu et al. [22] examinaram o padrão de velocidade de fluxo da ATIE anastomosada à DA, comparando os segmentos proximal, médio e distal da ATIE. Não houve diferença de fluxo total entre os segmentos médio e distal. Também não houve diferença no fluxo diastólico da ATIE entre os três pontos estudados. O enxerto de ATI, quando anastomosado à artéria coronária passa a ser submetido ao padrão de fluxo diastólico, ocorrendo modulação dos componentes celulares e humorais do enxerto. Assim, com a influência das forças de cisalhamento (“shear stress”) sobre a parede do enxerto, há modificação crônica de sua estrutura e calibre, o chamado remodelamento arterial [23]. Essa condição propicia ao enxerto alterar seu diâmetro para adaptar-se à nova condição de fluxo e demanda do leito coronariano.

A porção mais utilizada da ATI para anastomose com a artéria coronária é a porção distal, geralmente próxima a bifurcação. O uso da porção mais distal da ATIE proporciona maior comprimento, podendo revascularizar segmentos de artérias coronárias com lesões mais distais. A técnica de esqueletonização permite obter comprimento adicional. Isto permite que a ATIE seja mantida in situ, já que o uso como enxerto livre, necessitando anastomose adicional na aorta ascendente, pode determinar redução de perviedade do enxerto [24].

Adicionalmente, estudos demonstram que o diâmetro e local do segmento de ATI utilizado na anastomose coronária não constituíram fatores de aumento da taxa de oclusão de enxertos [20,23].

## CONCLUSÃO

Portanto, os dados do presente estudo confirmam a heterogeneidade da estrutura histológica seqüencial da ATIE. As possíveis implicações desses achados na perviedade do enxerto e resultados clínicos permanecem por serem devidamente elucidados.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Prof. Dr. Oswaldo Giannotti-Filho (*in memoriam*) pela valiosa colaboração na montagem e leitura das lâminas.

Também agradecemos aos doutores Diego Gaia e Rafael Loduca, pela ajuda na coleta dos espécimes e preparação das lâminas.

## REFERÊNCIAS

1. Cameron A, Davis KB, Green G, Schaff HV. Coronary bypass surgery with internal-thoracic artery grafts-effects on survival over a 15-year period. *N Engl J Med.* 1996;334:216-9.
2. Lytle BW, Blackstone EH, Sabik JF, Houghtaling P, Loop FD, Cosgrove DM. The effect of bilateral internal thoracic artery grafting on survival during 20 postoperative years. *Ann Thorac Surg* 2004;78(6):2005-14.
3. Kay HR, Korn ME, Flemma RJ, Tector AJ, Lepley D. Atherosclerosis of the internal mammary artery. *Ann Thorac Surg.* 1976;21(6):504-7.
4. Sims FH, Gavin JB. The early development of intimal thickening of human coronary arteries. *Coronary Artery Dis.* 1990;1; 205-13.
5. Sims FH. The internal elastic lamina in normal and abnormal human arteries. A barrier to the diffusion of macromolecules from the lumen. *Artery* 1989;16(3):159-73.

6. van Son JA, Smedts F, de Wilde PC, Pijls NH, Wong-Alcala L, Kubat K et al. Histological study of the internal mammary artery with emphasis on its suitability as a coronary artery bypass graft. *Ann Thorac Surg.* 1993;55(1):106-13.
7. Chaikhouni A, Crawford FA, Kochel PJ, Olanoff LS, Halushka PV. Human internal mammary artery produces more prostacyclin than saphenous vein. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986;92(1):88-91.
8. Lüscher TF, Diederich D, Siebenmann R, Lehmann K, Stultz P, von Segesser et al. Difference between endothelium-dependent relaxation in arterial and in venous coronary bypass grafts. *N Engl J Med* 1988;319(8):462-7.
9. Van Son JAM, Smedts F, Vincent JG, van Lier HJJ, Kubat K. Comparative anatomic studies of various arterial conduits for myocardial revascularization. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1990;99(4):703-7.
10. He GW, Buxton B, Rosenfeldt F, Angus JA. Reactivity of human isolated internal mammary artery to constrictor and dilator agents: implications for treatment of internal mammary artery spasm. *Circulation* 1989;80(3 pt 1):1141-50.
11. Kitamura S. Does the internal thoracic artery graft have self-reparative ability? *J. Thorac. Cardiovasc. Surg* 2005;130(6):1494-5
12. Izumi C, Hayashi H, Ueda Y, Matsumoto M, Himura Y, Gen H et al. Late regression of left internal mammary artery graft stenosis at the anastomotic site without intervention therapy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005;130(6):1661-7.
13. He G-W, Liu Z-G. Comparison of nitric oxide release and endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated hyperpolarization between human radial and internal mammary arteries. *Circulation* 2001;104(12 suppl.1):I344-9.
14. Cosgrove DM, Loop FD. Techniques to maximize mammary artery length. *Ann Thorac Surg* 1985;40(1):78-9.
15. Evora PR, Pearson PJ, Discigil B, Oeltjen MR, Schaff HV. Pharmacological studies on internal mammary artery bypass grafts. Action of endogenous and exogenous vasodilators and vasoconstrictors. *J Cardiovasc Surg.* 2002;43(6):761-71
16. He GW. Contractility of the human internal mammary artery at the distal section increases toward the end. Emphasis on not using the end of the internal mammary artery for grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;106(3):406-11.
17. Nakayama Y, Sakata R, Ura M. Growth potential of left internal thoracic artery grafts: analysis of angiographic findings. *Ann Thorac Surg* 2001;71(1):142-147.
18. Huddleston CB, Stoney WS, Alford WC Jr, Burrus GR, Glassford DM Jr, Lea JW et al. Internal mammary artery grafts: technical factors influencing patency. *Ann Thorac Surg.* 1986;42(5):543-9.
19. Dion R, Glineur D, Derouck D, Verhelst R, Noirhomme P, El Khoury G et al. Long-term clinical and angiographic follow-up of sequential internal thoracic artery grafting. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2000;17(4):407-14.
20. Sabik JF, Lytle BW, Blackstone EH, Khan M, Houghtaling PL, Cosgrove DM. Does competitive flow reduce internal thoracic artery graft patency? *Ann Thorac Surg.* 2003; 76(5):1490-7.
21. Marx R, Clahsen H, Schneider R, Sons H, Klein RM, Gulker H. Histomorphological studies of the distal internal thoracic artery which support its use for coronary artery bypass grafting. *Atherosclerosis* 2001;159(1):43-8.
22. Nasu M, Akasaka T, Okazaki T, Shinkai M, Fujiwara H, Sono J et al. Postoperative flow characteristics of left internal thoracic artery grafts. *Ann Thorac Surg* 1995;59(1):154-62.
23. Rocha BC. Remodelamento tardio da artéria torácica interna bilateral na revascularização do miocárdio: influência do leito coronariano esquerdo [Tese de doutorado]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2006. 81p.
24. Castro GP, Dussin LH, Wender OB, Barbosa GV, Saadi EK. Comparative analysis of the flows of left internal thoracic artery grafts dissected in the pedicled versus skeletonized manner for myocardial revascularization surgery. *Arq Bras Cardiol.* 2005;84(3):261-6.