

Hiperplasia em tûnicas de artérias coronárias de beijupirás criados em sistema *offshore*

[*Hyperplasia in tunics of coronary arteries in beijupirás farmed in offshore system*]

V.F. Pedrosa¹, L.A. Romano², F.L. dos Santos³, J.M. Guimar es¹,
A.D.R. da Silva¹, E.S. Mendes³

¹Aluno de p s-gradua o – Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE – Recife, PE

²Universidade Federal do Rio Grande – FURG – Rio Grande, RS

³Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE – Recife, PE

RESUMO

As lesões coronarianas já foram relatadas em espécies de peixes an dromos, com características semelhantes às observadas em aterosclerose humana, mas não em peixes cultivados sem interferência de padrões reprodutivos. Objetivou-se descrever lesões coronarianas em beijupirá (*Rachycentron canadum*) criado em sistema *offshore*, em 54 exemplares coletados ao longo do cultivo de oito meses. Amostras de tecido cardíaco de alevinos e juvenis foram submetidas à análise histopatológica e   microscopia eletrônica de transmissão (MET), para visualiza o de lesões coronarianas, sendo as lâminas histológicas coradas pela técnica de hematoxilina-eosina, ácido periódico de Schiff, alcian blue e reticulina de Gomori. Exames realizados pela fotomicroscopia de luz evidenciaram lesões arteriais caracterizadas por hiperplasia das t nicas ótima e média de artérias coronárias em, respectivamente, 29,63% e 79,63% dos animais, com redu o do lúmen arterial. Na MET, foram observadas altera es na estrutura das coronárias com espessamento do endotélio e membrana basal, prolifera o de fibroblastos e fibras colágenas, com acúmulo de material lipídico subendotelial, resíduos celulares aderidos à membrana basal e vesículas pinocitóticas com presença de lisossomos isolados. Constatou-se que os peixes da espécie *Rachycentron canadum* criados em cativeiro desenvolvem lesão arterial do tipo cr nica degenerativa inflamatória.

Palavras-chave: aterosclerose, hiperplasia, histopatologia, microscopia eletrônica de transmissão, *Rachycentron canadum*

ABSTRACT

The coronary lesions have been reported in species of anadromous fish with similar characteristics as those observed in human atherosclerosis, but not in farmed fish without interference of reproductive patterns. This study aimed to describe coronary lesions in beijupirá (Rachycentron canadum) farmed in an offshore system, in 54 specimens collected along an eight month cultivation period. Samples of heart tissue of fry and juveniles were subjected to histopathological analysis and transmission electron microscopy (TEM) for visualization of coronary lesions, the histology slides were stained using hematoxylin-eosin, periodic acid Schiff, alcian blue, and reticulin of Gomori. Examinations performed by light microscopy showed arterial lesions characterized by hyperplasia of the intima and media tunics, respectively in 29.63% and 79.63 % of the animals, with reduced lumen. In TEM changes in the structure of the coronary endothelium and thickening of the basement membrane, proliferation of fibroblasts and collagen fibers, with subendothelial accumulation of lipid material, cellular debris adhering to the basement membrane and presence of pinocytotic vesicles and isolated lysosomes were observed. It has been found that the Rachycentron canadum fish species farmed in captivity develop arterial lesion of the chronic inflammatory degenerative type.

Keywords: atherosclerosis, hyperplasia, histopathology, transmission electron microscopy, Rachycentron canadum

Recebido em 24 de março de 2014

Aceito em 27 de março de 2015

E-mail: vikavet@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Os processos degenerativos arteriais podem ser classificados em arterioscleróticos e ateroscleróticos, sendo a aterosclerose uma variante morfológica da arteriosclerose. O termo “arteriosclerose” designa o endurecimento das artérias e é relacionado a uma gama de processos que englobam o espessamento arterial e a perda de elasticidade das artérias (Robbins, 2000).

Existe uma série de alterações da parede vascular que precedem o surgimento da aterosclerose, tais como hiperplasia da íntima, aparecimento de células espumosas/macrófagos, acúmulo de colesterol, agregação plaquetária, trombogênese e inflamação tecidual, levando a uma hipertrofia nas túnicas arteriais (Daoud *et al.*, 1964; Sary *et al.*, 1995; Subbotin, 2007).

As túnicas arteriais podem apresentar alterações, como o aumento das células que formam uma multicamada entre a membrana elástica interna e a muscular e o aumento do tamanho das fibras musculares lisas que formam a túnica média da parede arterial, gerando hiperplasia. Com o espessamento da túnica média arterial, ocorre a expressão da alfa-actina no músculo liso, permanente ou transitoriamente, progredindo para uma lesão aterosclerótica (Sary *et al.*, 1995).

Em peixes teleósteos, as patologias relacionadas ao sistema cardiovascular não possuem ainda uma etiopatogenia definida por serem pouco pesquisadas. Em alguns estudos, as alterações coronarianas em peixes teleósteos foram associadas à maturação sexual e à desova em salmão (Robertson e Wexler, 1962) e em truta arco-íris (Schmidt e House, 1979).

Em humanos, verificou-se que, quando o endotélio vascular perde a capacidade de manter um equilíbrio entre as túnicas, a camada íntima fica exposta e a aterosclerose evolui, provocando um espessamento da camada média. O estresse é um dos principais responsáveis por esse espessamento das camadas arteriais (Willis, 1953).

Na aterosclerose, doença inflamatória crônica, tem sido defendida a ideia de que a atividade inflamatória persistente em pacientes com doenças autoimunes representa o principal

mecanismo que promove a aterogênese, causando lesão ao endotélio e alterando o metabolismo de lipoproteínas envolvidas no processo, o que indica ainda um relevante papel da imunidade na progressão da doença (Narshi *et al.*, 2011).

Em alguns estudos, a aterosclerose foi caracterizada como processo inflamatório, em que os leucócitos contribuem para a estenose arterial e o conseqüente espessamento neointimal da túnica, devido ao seu volume no interior da camada íntima (Moreno *et al.*, 1996).

Apesar de vários autores terem se referido a sinais de lesão coronariana em algumas espécies de peixes, com características semelhantes às observadas na aterosclerose em humanos, é desconhecida a ocorrência de tais lesões em peixes cultivados, em diferentes estágios de crescimento, com ou sem interferência de diferentes padrões reprodutivos, o que foi relatado por tais autores como sendo um fator relevante no surgimento das lesões (Robertson e Wexler, 1962; House *et al.*, 1979; Schmidt e House, 1979; Eaton *et al.*, 1984). O estresse proveniente de mecanismos fisiológicos ou até mesmo aquele resultante de falhas no manejo, como nutrição inadequada, surgem como possíveis fatores que interferem no surgimento de desordens nos animais.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar beijupirás cultivados em sistema *offshore*, no tocante às lesões cardiovasculares, mais precisamente nas artérias coronárias.

MATERIAL E MÉTODOS

Os exemplares de beijupirás foram obtidos de cultivo *offshore*, situado a cinco quilômetros da costa, no estado de Pernambuco/Brasil. Durante oito meses de cultivo, foram alimentados duas vezes ao dia com ração comercial de produção nacional, com concentrações de proteína bruta (PB) e lipídios totais de 41,76% e 7,93%, respectivamente.

Os 54 peixes coletados, sendo 15 alevinos e 39 juvenis, foram eutanasiados por imersão em cloridrato de benzocaína (éster etílico do ácido para-aminobenzoico) e, posteriormente, submetidos à necrópsia, seguindo-se as recomendações de Reimschuessel *et al.* (1988). Amostras de tecido cardíaco foram fixadas em

Hiperplasia em túnicas...

formalina tamponada a 10% para análise histopatológica. Os tecidos foram desidratados em séries crescentes de etanol, embebidos em parafina e seccionados em micrótomo a cinco micra.

As lâminas histológicas foram coradas por hematoxilina-eosina (HE), ácido periódico de Schiff (PAS), alcian blue e pela técnica de reticulina de Gomori, sendo posteriormente examinadas em microscópio óptico.

As amostras de tecido cardíaco também foram avaliadas em microscopia eletrônica de transmissão (MET). Após fixação em 10% de formalina tamponada, os tecidos foram cortados em blocos milimétricos de 1mm, em seguida imersos em fixador de Carson com cerca de 15 vezes seu volume, sendo posteriormente armazenados a 4°C até sua manipulação. A formulação da formalina tampão fosfato Millonig modificada seguiu o protocolo: 186g de di-hidrogenofosfato de ortofosfato de sódio ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) e 4,2g de hidróxido de sódio (NaOH) adicionados e dissolvidos em 800mL de água destilada, sendo o volume final ajustado para 900mL com água destilada, e, por fim, foram adicionados 100mL de solução de formaldeído a 36%. O pH do fixador apresentava valores entre 7,2 e 7,4, e a osmolaridade do veículo tampão estava com 290mmol/kg-1 (Carson *et al.*, 1973). Depois de fixadas, todas as amostras de tecido cardíaco foram lavadas por um total de três horas, fracionadas em três lavagens em tampão fosfato 0,12M de Millonig, pH 7,2, com 3% de sacarose. Os tecidos foram

submetidos à pós-fixação durante 90 minutos em tampão fosfato a 1% de tetróxido de ósmio de Millonig, seguida de séries crescentes de desidratação em etanol, e embebidos em resina araldite. Os tecidos foram seccionados com ultramicrótomo e corados com acetato de uranila e citrato de chumbo para posterior exame em microscópio eletrônico (JEOL, JEM- T8, Japão).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os peixes analisados foram cultivados por oito meses em sistema *offshore*, com temperatura variando entre 26,1 e 29,9°C, salinidade de 31,0 a 37,3, oxigênio dissolvido de 5,2 a 8,0mg/L e transparência entre 6,0 e 17,5m, com peso final médio de 347g.

Foram observadas lesões coronarianas arteriais, principalmente do tipo hiperplásica das túnicas íntima e média dos vasos no exame histopatológico, as quais se mostraram presentes independentemente do tempo de cultivo. A hiperplasia da túnica íntima ocorreu em 29,63% dos animais coletados, e da túnica média em 79,63%.

Nas lâminas coradas pelo método da hematoxilina-eosina foram observados hiperplasia de células endoteliais da túnica íntima, aumento de tecido subendotelial e infiltração de “células espumosas” na parede do vaso, que são características de início de lesão vascular, cujo desfecho poderia ser o estabelecimento da aterosclerose (Fig. 1 e 2).

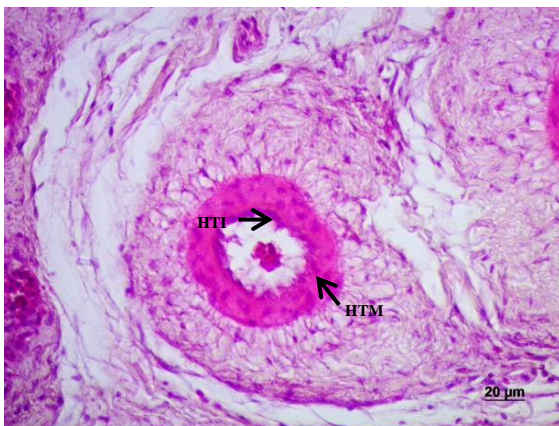


Figura 1. Hiperplasia de túnica íntima (HTI) e túnica média (HTM) em artérias coronárias; Lúmen vascular (LV). HE-coloração, Bar = 20, 51x37mm (600 x 600 DPI).

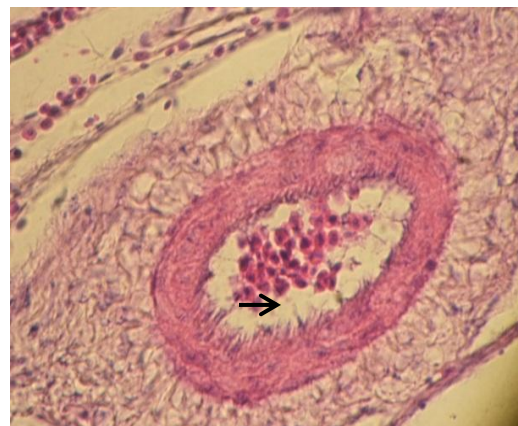


Figura 2. Hiperplasia de túnica média e presença de “células espumosas” (seta) em artérias coronárias. HE-coloração, Bar = 20, 51x37mm (600 x 600 DPI).

As células espumosas visualizadas na parede vascular de beijupirás (Fig. 2) representam componentes essenciais da placa aterosclerótica (Masuda e Ross, 1990), o que ainda pode ser agravado com a formação de placas fibrosas, as quais causam a interrupção do fluxo sanguíneo, com consequente necrose isquêmica (Libby e Hansson, 1991). A ocorrência de células espumosas na lesão já foi evidenciada por Koppang *et al.* (2007), fato que demonstra ocorrer em salmonídeos uma forma similar da aterosclerose humana clássica.

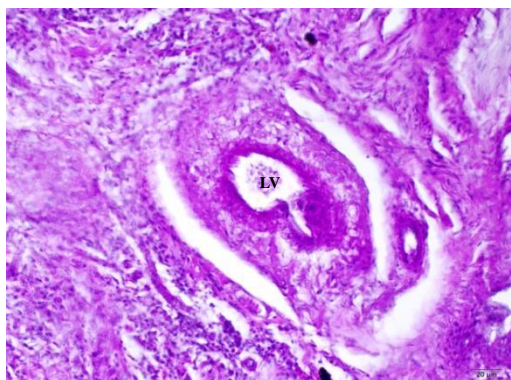


Figura 3. Lesões na artéria coronária com estreitamento do lúmen vascular (LV). Coloração PAS, Bar = 20, 51x37mm (600 x 600 DPI).

As alterações histológicas em artérias coronárias foram descritas em teleósteos anádromos, com hábito migratório, sendo a hiperplasia miointimal e os sinais de arteriosclerose coronária associados aos períodos de desova e maturação sexual (House *et al.*, 1979; Eaton *et al.*, 1984). Esses fatores não devem ter interferido no desenvolvimento das lesões coronarianas dos beijupirás, por eles não realizarem migração para fins reprodutivos. Além disso, os animais do experimento foram coletados antes de completarem um ano de idade, sendo uma parte coletada inclusive durante a fase de alevinos, que apresentaram o mesmo tipo de lesão.

Após a primeira descrição de ocorrência de alterações em vasos coronários de salmonídeos (Robertson *et al.*, 1961), houve grande interesse em se definir os componentes responsáveis pelo surgimento das lesões. Porém, não foi possível identificar a etiologia da lesão aqui descrita em beijupirás, semelhantemente aos relatos de Prior *et al.* (1968), que não conseguiram apresentar as etiologias das alterações coronarianas observadas em truta da Nova Zelândia, uma vez que se

A oclusão luminal é bem identificada nos tecidos submetidos à coloração com PAS (Fig. 3) e alcian blue (Fig. 4), onde é possível visualizar sinais de estenose luminal. As artérias coronárias analisadas evidenciaram alterações na estrutura das túnicas, com sinais de hiperplasia e obstrução luminal, com acúmulo de proteoglicanos na análise histopatológica com coloração alcian blue, o que demonstra a presença de alterações na composição da matriz extracelular (França e França, 2001).

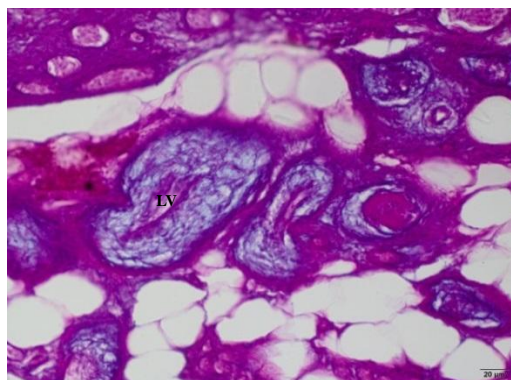


Figura 4. Lesões na artéria coronária com estreitamento do lúmen vascular (LV). Coloração alcian blue, Bar = 20, 51x37mm (600 x 600 DPI).

tratava de uma doença cardíaca mais avançada e calcificante, caracterizada por lesões que progrediram para dilatação vascular e formação de placas calcificadas no bulbo arterial, demonstrando semelhança com a arteriosclerose em humanos.

Uma possível relação da arteriosclerose coronária com a maturação sexual foi encontrada em truta arco-íris e na prateada, em indivíduos sexualmente maduros e que apresentavam hiperplasia miointimal. Na ocasião, foi verificada que a integridade de artérias coronárias dependia do equilíbrio de hormônios sexuais, como gonadotrofinas, estradiol, testosterona, cortisol e ACTH, que podem desempenhar um importante papel na indução ou na regressão de degeneração vascular (Mckenzie *et al.*, 1978), o que também não se aplica para o caso relatado neste trabalho, por não envolver animais sexualmente maduros.

No coração dos animais analisados nesta pesquisa, placas de ateromas foram encontradas em alguns vasos, caracterizando a gravidade da lesão, com possível evolução para isquemia e

Hiperplasia em tûnicas...

infarto do miocárdio, por oclusão luminal (Fig. 5). A hipertrofia da camada muscular arterial observada é compatível com o aumento da resistência da circulação periférica, o que faz o conjunto de alterações encontradas ser classificado como lesão vascular crônica degenerativa inflamatória. Acredita-se ainda que a hiperplasia da tûnica média com oclusão do lûmen vascular, observada nas artérias coronárias, possibilite a ocorrência de uma isquemia miocárdica.



Figura 5. Formação de placa de ateroma em artérias coronárias (seta). HE-coloração, Bar = 20, 51x37mm (600 x 600 DPI).

Nas artérias de beijupirá foi verificado, por meio de MET, além de espessamento endotelial e de membrana basal, proliferação de fibroblastos e

de fibras colágenas (Fig. 6), igualmente ao observado em pesquisa que utilizou a cabra (*Capra hircus*) como modelo de estudo de aterosclerose em humanos, em que foi relatada a presença de colágeno e de fibras elásticas na lâmina interna de artérias coronárias (Ogeng'o *et al.* 2010).

A infiltração de vesículas pinocitóticas com presença de lisossomos isolados, também visualizada no lûmen por meio de MET (Fig. 6), caracteriza o processo de pinocitose, que ocorre em macrófagos quando macromoléculas aderem à membrana celular. Após o surgimento da vesícula pinocitótica, os lisossomos ligam-se à vesícula, transformando-se em um órgão digestivo da célula, que, entre suas funções, está a de hidrólise de proteínas, carboidratos e lipídios no interior da célula (Guyton e Hall, 2011).

Na hiperplasia da tûnica íntima, ocorre uma resposta secundária da parede arterial, em consequência dos esforços mecânicos e do estresse de cisalhamento, levando à doença arterial oclusiva (Stary *et al.*, 1992), pela migração e proliferação anormal de células de músculo liso associada à deposição de matriz extracelular de tecido conjuntivo na parede (Daves e Hagen, 1994).

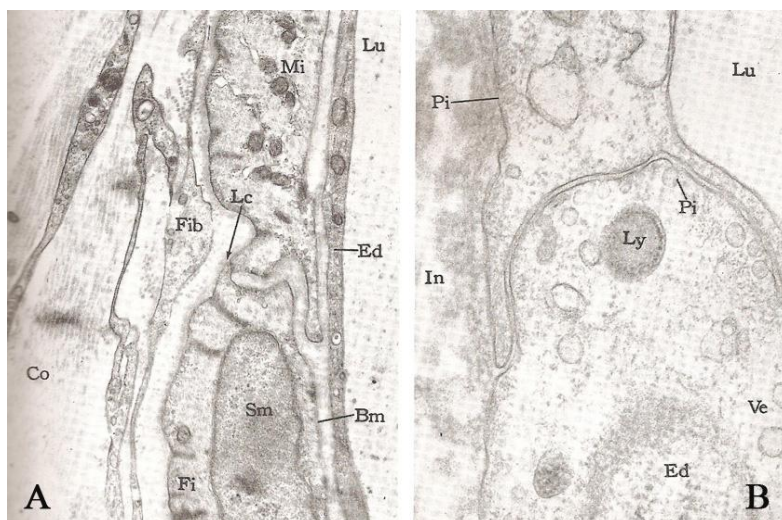


Figura 6. A: Alterações na estrutura de artérias coronárias. Lûmen arterial (Lu), endotélio (Ed), espessamento de membrana basal (Bm), células musculares lisas (Sm) com mitocôndrias abundantes (Mi) e proliferação de fibroblastos (Fib) e fibras colágenas (Co). Aderências laterais nas células musculares lisas (Lc), 15.000x. B: Células endoteliais da artéria (Ed), abundantes vesículas pinocitóticas (Pi) e lisossomos isolados (Ly); membrana elástica interna (In). 50.000x.

A progressão da lesão foi observada com maior espessamento do endotélio e da membrana basal, com acúmulo de material amorfo lipídico subendotelial e resíduos celulares aderidos à membrana basal (Fig. 7), o que representa bem a lesão aterosclerótica descrita em humanos, que consiste de depósitos lipídicos e acúmulo de macrófagos, com proliferação de células espumosas na túnica íntima (Stary et al., 1992).



Figura 7. Parede arterial coronária com lesões avançadas. Espessamento do endotélio (En) e da membrana basal (Mb), com acúmulo de material amorfo de aspecto lipídico subendotelial (AM). Observam-se resíduos celulares aderidos à membrana basal (CR). 15.400x.

Farrell (2002) mencionou a rápida taxa de crescimento como indutor de estresse, o que contribui para o início da lesão coronariana. Isso ressalta a importância de pesquisas sobre o real envolvimento de fatores dietéticos, especialmente ácidos graxos poli-insaturados, na proliferação de células musculares lisas em artérias coronárias, com consequente desenvolvimento de lesões ateroscleróticas em salmonídeos.

Os lipídios apresentam um papel essencial na vida reprodutora de salmonídeos, ao fornecerem energia para atividade reprodutora e serem consumidos durante a migração sexual (McVeigh et al., 2007). Dietas com maior teor lipídico do

que proteico ainda têm efeito positivo na maturação precoce, provavelmente devido ao aumento da quantidade de energia de reserva (Jonsson et al., 2013). Uma vez que outros autores descreveram as lesões em salmonídeos associadas a períodos reprodutivos, a mobilização de gordura necessária para essa fase aparece como um possível desencadeador no surgimento das lesões, o que não se aplica nos animais aqui analisados e identificados com lesão por serem ainda muito jovens.

A espécie aqui em estudo é bem conhecida por seu rápido ganho de peso (Liao e Leño, 2007), embora seu cultivo ainda se encontre incipiente em relação à qualidade de alimento ofertado e à real necessidade nutricional, no que se refere a níveis adequados dos elementos que compõem a ração.

Considerando-se o hábito das espécies dos beijupirás, o sistema cardiovascular é adequado para o meio aquático, e adaptações estratégicas ambientais e de estilo de vida podem resultar em variações interespecíficas na fisiologia cardiovascular (Baldisserotto, 2009), não se excluindo, portanto, o efeito do estresse nas lesões ateromatosas.

O papel do estresse no início da doença aterosclerótica já foi bem evidenciado em humanos. Quando o endotélio vascular perde a capacidade de manter um equilíbrio entre as túnicas, a camada íntima fica exposta e a aterosclerose evolui, provocando um espessamento da camada média (Willis, 1953). Sendo o beijupirá uma espécie com hábito solitário, o adensamento que ocorre nos cultivos pode contribuir para uma situação desfavorável ao animal, desencadeando uma série de alterações fisiológicas que podem refletir em lesões vasculares, com possível aumento de pressão arterial.

Ainda em relação ao estresse como um fator importante no surgimento das lesões arteriais em beijupirá, há uma elevação nos níveis de cortisol devido à exposição a situações estressantes, ocorrendo respostas que ameaçam o bem-estar e a saúde, com respostas endócrinas referentes ao nível de catecolaminas e corticosteroides e respostas secundárias relacionadas ao metabolismo, aos equilíbrios hidromineral, cardiovascular respiratório e às funções

imunológicas. A ação isolada ou combinada de respostas primárias e secundárias resulta em alterações na concentração de componentes sanguíneos e em nível celular (Barton, 2002).

CONCLUSÃO

Os peixes da espécie *Rachycentron canadum* (beijupirá) criados em cativeiro desenvolvem alterações cardiovasculares, com lesão arterial do tipo crônica degenerativa inflamatória.

AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos ao apoio financeiro do Ministério da Pesca e Aquicultura – MPA no "Projeto Cação de Escama".

REFERÊNCIAS

- BALDISSEROTTO, B. *Fisiologia de peixes aplicada à aquicultura*. 2.ed. Santa Maria: UFSM, 2009. 352 p.
- BARTON, B.A. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integr. Comp. Biol.*, v.42, p.517-525, 2002.
- CARSON, F.L.; MARTIN, J.H.; LYNN, J.A. Formalin fixation for electron microscopy: a reevaluation. *Am. J. Clin. Pathol.*, v.59, p.365-373 1973.
- DAOUD, A.; JARMOLYCH, J.; ZUMBO, A.; FANI, K. Preatheroma phase of coronary atherosclerosis man. *Exp. Mol. Pathol.*, v.90, p.475-484, 1964.
- DAVES, M.G.; HAGEN, P-O. Pathobiology of intimal hyperplasia *Br. J. Surg.*, v. 81, p.1254-1269, 1994.
- EATON, R.P.; MCCONNELL, T.; HNATH, J. *et al.* Coronary myointimal hyperplasia in freshwater lake Michigan salmon (Genus *Oncorhynchus*). Evidence for lipoprotein-related atherosclerosis. *Am. J. Pathol.*, v.116, p.311-8, 1984.
- FARREL, A.P. Coronary arteriosclerosis in salmon: growing old or growing fast?. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.*, v.132, p.723-35, 2002.
- FRANÇA, T.A.; FRANÇA, N.A.A.C. de. Aspectos morfológicos e citopatológicos das lesões ateroscleróticas em crianças e adolescentes e sua aterogênese. *Pediatrics* (São Paulo) v.1, p.10-16, 2001.
- GUYTON, A.C.; HALL, J.E. *Tratado de fisiologia médica*. 12.ed., Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. 1216p.
- HOUSE, B.W.; DOMAUER, R.J.; VANLENTEN, B.J. Production of coronary arteriosclerosis with sex hormones and HCG in juvenile steelhead and rainbow trout, *Salmo gairdneri*, *Atherosclerosis*, v.34, p.197, 1979.
- JONSSON, B.; JONSSON, N; FINSTAD, A.G. Effects of temperature and food quality on age and size at maturity in ectotherms: an experimental test with *Atlantic salmon*. *J. Anim. Ecol.*, v. 82, p.201-210, 2013.
- KOPPANG, E.O.; FISCHER, U.; SATOH, M.; JIRILLO, E. Inflammation in fish as seen from a morphological point of view with special reference to the vascular compartment. *Curr. Pharm. Design*, v.13, p.3649-3655, 2007.
- LIAO, I.C.; LEAÑO, E.M. *Cobia aquaculture: research, development and commercial production*. Taiwan: Asian Fisheries Society, 2007. 178p.
- LIBBY, P.; HANSSON, G.K. Involvement of the immune system in human atherogenesis: current knowledge and unanswered questions. *Lab Invest.*, v.64, p.5-15, 1991.
- MASUDA, J.; ROSS, R. Atherogenesis during low level hypercholesterolemia in the nonhuman primate. II. Fatty streak conversion of fibrous plaque. *Arteriosclerosis*, v.10, p.178-87, 1990.
- MCVEIGH, B.R.; HEALEY, M.C.; WOLFE, F. Energy expenditures during spawning by chum salmon *Oncorhynchus keta* (Walbaum) in British Columbia. *J. Fish Biol.*, v.71, p.1696-1713, 2007.
- MCKENZIE, J.E.; HOUSE, E.W.; MCWILLIAM, J.G.; JOHNSON, D.W. Coronary degeneration in sexually mature rainbow and steelhead trout, *Salmo gairdneri*. *Atherosclerosis*, v.29, p.431-437, 1978.
- MORENO, H.J.R.; METZE, K.; BENTO, A.C. *et al.* Chronic nitric oxide inhibition as a model of hypertensive heart muscle disease. *Basic Res Cardiol.*, v.91, p.248-55, 1996.

- NARSHI, C.B.; GILES, I.P.; RAHMAN, A. The endothelium: an interface between autoimmunity and atherosclerosis in systemic lupus erythematosus? *Lupus*, v.20, p.5-13, 2011.
- OGENG'O, J.A.; MALEK, A.A.; KIAMA, S.G. Structural organization of tunica intima in the aorta of the goat. *Folia Morphol.*, v.69, p.164-169, 2010.
- PRIOR, I.A.M.; WEBBER, W.L.; ALEXANDER, W.S.; BARCLAY, S. de C. Calcific heart disease in New Zealand brown trout. *Nature*, v.220, p.261-262, 1968.
- REIMSCHUESSEL, R.; MAY, E.B.; BENNETT, R.O.; LIPSKY, M.M. Tropical fish medicine. Necropsy examination of fish. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, v.18, p.427-33, 1988.
- ROBBINS, S.L. *Patologia estrutural e funcional*. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 1251p.
- ROBERTSON, O.H.; WEXLER, B.C.; MILLER, B.F. Degenerative changes in the cardiovascular system of the spawning pacific salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Circ. Res.*, v.9, p.826-272, 1961.
- ROBERTSON, O.H.; WEXLER, B.C. Histological changes in the organs and tissues of senile castrated kokanee salmon (*Oncorhynchus nerka kennerlyi*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, v.2, p.458-472, 1962.
- SCHMIDT, S.P.; HOUSE, E.W. Time study of coronary myointimal hyperplasia in precocious male steelhead trout, *Salmo gairdneri*. *Atherosclerosis*, v.34, p.375-381, 1979.
- STARY, H.C.; BLANKENHORN, D.H.; CHANDLER, A.B. *et al.* A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis-prone regions. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*, v.85, p.391-405, 1992.
- STARY, H.C.; CHANDLER, A.B.; DINSMORE, R.E. *et al.* A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*, v.92, p.1355-1374, 1995.
- SUBBOTIN, V.M. Analysis of arterial intimal hyperplasia: review and hypothesis. *Theor. Biol. Med. Model.*, v.4, p.41, 2007.
- WILLIS, G.C.S. Intimal ground substance in atherosclerosis. *Can. Med. Assoc. J.*, v.69, p.17-22, 1953.