

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS

TESE

**UTILIZAÇÃO DO PERICÁRDIO DE AVESTRUZ NA AORTOPLASTIA EM
COELHOS: AVALIAÇÃO DOPPLERFLUXOMÉTRICA E ESTRUTURAL.**

Marcelo Salvador Gomes

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS

**UTILIZAÇÃO DO PERICÁRDIO DE AVESTRUZ NA AORTOPLASTIA EM
COELHOS: AVALIAÇÃO DOPPLERFLUXOMÉTRICA E ESTRUTURAL.**

MARCELO SALVADOR GOMES

Sob a Orientação do Professor

Dr. Marcelo Abidu Figueiredo

E Co- orientação da Professora

Dra. Lycia de Brito Gitirana

Tese submetida como requisito parcial para
obtenção do grau de **Doutor em Medicina
Vetreinária**, no programa de Pós-graduação
Medicina Veterinária, área de concentração
Ciências Clínicas.

Seropédica, RJ

Outubro de 2017

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada com
os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

GM314u Gomes, Marcelo Salvador Gomes, 1970-
UTILIZAÇÃO DO PERICÁRDIO DE AVESTRUZ NA
AORTOPLASTIA EM COELHOS: AVALIAÇÃO DOPPLERFLUXOMÉTRICA
E ESTRUTURAL. / Marcelo Salvador Gomes Gomes. - 2017.
70 f.

Orientador: Marcelo Abidu Figueiredo Abidu.
Coorientador: Lycia de Brito Gitirana Gitirana.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro, PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM MEDICINA
VETERINÁRIA PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS, 2017.

1. Cirurgia vascular. 2. Pericárdio de avestruz.
3 . Implante vascular. 4. vascular. 5. Perica rio de
avestruz em coelho. I. Abidu, Marcelo Abidu
Figueiredo, 11021968-, orient. II. Gitirana, Lycia de
Brito Gitirana, 1960-, coorient. III Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro. PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA PATOLOGIA E
CIÊNCIAS CLÍNICAS. IV. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS

MARCELO SALVADOR GOMES

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Medicina Veterinária**, no programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, área de Concentração Ciências Clínicas.

TESE APROVADA EM 06 /10/2017

Marcelo Abidu Figueiredo (Prof. Dr.) UFRRJ
(Orientador)

Clarice Machado dos Santos (Profa. Dra.) UFF

Helcimar Barbosa Palhano (Prof. Dr.) UFRRJ

Mauro Roberto Rodrigues (Prof. Dr.) UFF

Luciano da Silva Alonso (Prof. Dr.) UFRRJ

AGRADECIMENTO

Ao meu orientador; professor Doutor Marcelo Abidu Figueiredo, que durante toda trajetória se mostrou um verdadeiro mestre que o difere do professor e do homem onde respectivamente o professor se respeita o homem se ouve e ao mestre se segue.

A minha estimada co-orientadora professora Doutora Lycia, de Brito Gitirana pela intransponível contribuição técnica.

Ao professor Doutor Mauro Roberto Rodrigues por seu estímulo e esclarecimentos em momentos de fraqueza pessoal.

A estimada professora Doutora Clarice Machado dos Santos pela valorosa contribuição na área do conhecimento da histologia.

Ao professor Doutor Helcimar Palhano que neste percurso abriu mão de seu tempo para aconselhar-me e passar muito de suas experiências de vida acadêmica e sua amizade.

Ao professor Doutor Paulo Scherer pelos momentos de dificuldade por mim passados estendeu suas mãos em gesto de amizade.

A todos os professores da área de anatomia pelas oportunidades, respeito e incentivo.

Aos técnicos da área de anatomia por sua paciência, respeito e amizade.

A minha filha Marcella pelo tempo de convívio subtraído.

A Luciane minha querida esposa pelos momentos subtraídos do nosso convívio e em ter sido o porto seguro durante esse caminhar.

Ao estimado irmão professor Carlos Augusto dos Santos Sousa por sua ajuda técnica e amizade incondicional.

Aos meus saudosos pais José Salvador Gomes e Cherubiana Soares Gomes que tornaram em vários aspectos exequível esse trabalho.

A Tayana Tamancoldi pela inestimável colaboração técnica e seu comprometimento com a pesquisa.

Ao professor Orlando por sua amizade e seu elevado espírito de colaboração, se tornado assim peça chave na realização dessa caminhada.

Ao professor Alexandre Fagundes por sua colaboração técnica e física tornando esse trabalho possível.

Agradecimento a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Agradecimento pela viabilidade financeira deste estudo a Fundação de Amparo à Pesquisa do estado do Rio de Janeiro (FAPERJ).

Dedico este estudo aos meus saudosos pais José, Cherubiana e minha estimável filha Marcella e a todos os espíritos de luz que estiveram ao meu lado durante essa jornada. O que fazemos em vida ecoa na eternidade.

RESUMO

A utilização de membranas biológicas em cirurgia vascular vem sendo utilizada em larga escala na medicina veterinária e na medicina humana. Os objetivos desse estudo foram avaliar os padrões Dopplefluxométrico e estrutural da região da aorta abdominal dos coelhos do grupo controle e do grupo onde fora implantado o pericárdio de avestruz. Nesse experimento foram utilizados fragmentos de pericárdio de avestruz tratado e conservado em solução de gluteraldeído a 0,5 % e implantado na porção abdominal da aorta de coelhos. Foram estabelecidos dois grupos: Grupo I (controle), Grupo II (pericárdio de avestruz) que foi subdividido em três grupos de sete, 14 e 21 dias. Os coelhos do Grupo II foram submetidos a protocolo anestésico padrão e celiotomia para acesso a porção abdominal da aorta onde foi feita a aortoplastia usando fragmento de pericárdio de avestruz com cola cirúrgica. Os animais dos dois grupos também foram avaliados pelo Doppler para caracterização de parâmetros Dopplefluxométrico e estrutural arteriais. Foi utilizado um aparelho Sonosite Titan, com transdutor linear multifrequencial de 4,0-7,0MHz. Com os diferentes tempos de cicatrização (7,14 e 21 dias) os animais do grupo II e do grupo controle foram submetidos a eutanásia por meio de overdose de thiopental sódico endovenoso e necropsiados para a coleta de fragmentos da aorta. Os fragmentos foram clivados transversalmente e fixados em solução de formol a 10% tamponado. Todos os cortes foram processados para inclusão em parafina seguindo a técnica histológica de rotina e corados pelas técnicas histológicas, histoquímicas e observados em microscopia de luz. A aorta dos animais submetidos ao implante com o pericárdio de avestruz ao 7º dia mostrou-se com forte reação inflamatória na porção voltada para o lúmen do vaso, assim como uma desorganização das camadas íntima e média. Além disso, observou-se que o pericárdio se manteve íntegro sem haver extravasamento de sangue. Aos 14 dias foi observado a reorganização da camada íntima e média. O pericárdio manteve-se íntegro. Aos 21º dias a aorta já apresentava suas camadas consolidadas. Na aorta abdominal foi visualizado um perfil de fluxo laminar. A média e o desvio padrão do diâmetro da aorta foi de $0,431\pm 0,030$ cm no grupo controle, $0,404\pm 0,100$ no grupo sete dias, $0,408\pm 0,008$ no grupo 14 dias e $0,431\pm 0,006$ no grupo 21 dias ($p=0,2095$). A média e desvio padrão da espessura da aorta foi de $0,107\pm 0,011$ cm no grupo controle, $0,105\pm 0,007$ cm no grupo sete dias, $0,108\pm 0,008$ cm no grupo 14 dias e $0,121\pm 0,006$ cm no grupo 21 dias ($p<0,0105$). A média e desvio padrão da velocidade do pico sistólico foi de $49,44\pm 2,260$ cm/s no grupo controle, $67,49\pm 3,128$ cm/s no grupo sete dias, $35,07 \pm 0,657$ no grupo 14 dias e $31,50\pm 1,190$ cm/s no grupo 21 dia ($p<0,0001$). A média e desvio padrão da velocidade do fluxo diastólico final de $8,264 \pm 0,292$ cm/s no grupo controle, $16,07\pm 0,680$ cm/s no grupo sete dias, $7,090\pm 0,171$ no grupo 14 dias e $10,37\pm 0,427$ cm/s no grupo 21 dias ($p<0,0001$). A média e desvio padrão da relação sístole diástole foi de $4,263\pm 1,042$ no grupo controle $2,854\pm 1,153$ no grupo sete dias, $3,890\pm 1,017$ no grupo 14 dias e $3,201\pm 0,171$ no grupo 21 dias ($p=0,0376$). A média e desvio padrão do índice de resistividade foi de $0,742\pm 0,061$ no grupo controle, $0,612\pm 0,131$ no grupo sete dias, $0,620\pm 0,100$ no grupo 14 dias e $0,635\pm 0,033$ no grupo 21 dias ($p=0,0416$). A média e desvio padrão do índice de pulsatilidade foi de $1,289\pm 0,159$ no grupo controle, $1,159\pm 0,029$ no grupo sete dias II, $1,311\pm 0,026$ no grupo 14 dias e $1,333\pm 0,014$ no grupo 21 dias ($p=0,0025$). A aortoplastia utilizando pericárdio de avestruz com fixação por cola cirúrgica mostrou-se totalmente exequível e segura. O enxerto de pericárdio de avestruz com cola cirúrgica promoveu ótima fixação do implante de pericárdio, não apresentou deformação de sua estrutura, não resultando em dilatação aneurismática, nem hemorragia em sítio do enxerto

Palavras chave: Biomaterial, aorta e cirurgia

ABSTRACT

The use of biological membranes in vascular surgery has been used on a large scale in veterinary and human medicine. The objectives of this study were to evaluate the hemodynamic, morphometric and ultrastructural patterns of the abdominal aorta region of rabbits, where the pericardium of ostrich was implanted. The replacement of tissues or organs in animals or in humans is a great challenge to be overcome by the current surgery. This replacement is indicated when loss of anatomical structure occurs. Many materials have been tested and are used for this purpose, whether synthetic or biological. The bovine pericardium is the most researched and employed material in implants and to make prosthesis due to its features: easy acquisition, low cost and by possessing a thick resistant layer of collagen and elastic fibers that intersect at various angles. In this project, fragments of ostrich pericardium, treated and preserved in a 0.5% glutaraldehyde solution will be used and implanted in the abdominal portion of rabbits' aorta. Two groups will be established: Group I (control), group II (ostrich pericardium). The rabbits of Group II will be submitted to standard anesthetic Protocol and celiotomy to aorta where an incision of about 1 cm and aortoplasty using ostrich pericardium fragment with adhesive or surgical suture thread will be made. The animals were also evaluated by Doppler for characterization of morphometric and arterial hemodynamic parameters. We used a Sonosite Titan, with linear multifrequency transducer. After completing the different healing times (7, 14 and 21 days) the animals from Group I and II were submitted to assisted death through overdose of intravenous thiopental sodium and necropsied to collect fragments of aorta (in Group II, where the implants were made). The fragments were cleaved across and fixed in a 10% buffered formaldehyde solution. All incisions will be processed to be included into paraffin following the histological technique routine, stained by histological and histochemical techniques and. The aorta of animals submitted to the implant with the pericardium of ostrich had a strong inflammatory reaction in the portion facing the vessel lumen on the 7th day, as well as a disorganization of inner and median layers. In addition, the pericardium remained healthy without blood extravasation. On the 14th day, the reorganization of inner and median layer was observed and there were still regions with inflammatory cells. The pericardium has remained healthy. On the 21st day, the aorta had its layers already consolidated. In the abdominal aortic artery was seen a laminar flow profile. The diameter of the aorta varied between 0.31 and 0.54 centimeters. The mean 0.431 ± 0.030 in group I, 0.404 ± 0.100 in group II, 0.408 ± 0.008 in group III, in group IV was 0.431 ± 0.006 ($p = 0.2095$). The thickness of the aorta varied between 0,10 and 0,29 centimeters. The mean and standard deviation were the 0.107 ± 0.011 in group I, 0.105 ± 0.007 in group II, 0.108 ± 0.008 in group III and 0.121 ± 0.006 in group IV ($p < 0.0105$). The velocity of the systolic peak varied between 32.5 and 71.4 centimeters per second. The mean and standard deviation 49.44 ± 2.260 in group I, 67.49 ± 3.128 in group II, 35.07 ± 0.657 in group III and 31.50 ± 1.190 group IV ($p < 0.0001$). The velocity of the diastolic peak ranged from 7.21 to 17.3 centimeters per second, mean and standard deviation 8.264 ± 0.292 in group I, 16.07 ± 0.680 in group II, 7.090 ± 0.1712 in group III and 10.37 ± 0.427 group IV ($p < 0.0001$). The systole diastole ratio varied between 2.0 and 4.90 the mean and the standard deviation 4.263 ± 1.042 in group I, 2.854 ± 1.153 in group II, 3.890 ± 1.017 in group III and $3,201 \pm 0,171$ group IV ($p = 0.0376$). The resistivity index ranged from 0.43 to 0.80 the mean and the standard deviation 0.742 ± 0.061 in group I, 0.612 ± 0.131 in group II, 0.620 ± 0.100 in group III and 0.635 ± 0.033 in group IV ($p = 0.0416$). The pulsatility index ranged from 1.15 to 1.32 and the mean and standard deviation 1.289 ± 0.159 in group I, 1.159 ± 0.029 in group II 1.311 ± 0.026 in , group III and 1.333 ± 0.014 in group IV ($p = 0.0025$). Aortoplasty using ostrich pericardium with fixation by surgical glue was totally feasible and safe. The ostrich pericardium graft with surgical glue promoted optimal fixation of the pericardium implant, did not present deformation of its structure, not resulting in aneurysmal dilatation, nor hemorrhage at the site of the graft.

Palavras chave: Biomaterial, aorta e cirurgia

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fotografia do procedimento cirúrgico	16
Figura 2: Fotografia do sistema de Baraka	17
Figura 3: Fotografia tricotomia e degermação	18
Figura 4: Fotografia celiotomia	18
Figura 5: Fotografia local da retirada do segmento da artéria	19
Figura 6: Fotografia mostrando Pinça de Bulldog	19
Figura 7: Fotografia retirada do seguimento da Aorta	20
Figura 8: Fotografia implante com pericárdio de avestruz	20
Figura 9: Fotografia com preparo do implante	21
Figura 10: Fotografia da cola cirúrgica	21
Figura 11: Fotografia do aparelho de Doppler	26
Figura 12: Fotografia da Aorta do coelho	27
Figura 13: Fotomicrografia da Aorta com implante	28
Figura 14: Fotomicrografia da Aorta corada com Tricomo de Mallory	30
Figura 15: Fotomicrografia da região do implante Picro sirus red	31
Figura 16: Fotomicrografia da região do implante Orceína	32
Figura 17: Fotografia Doppler da altura da região da Aorta	33
Figura 18: Fotografia avaliação Dopplerfluxométrica	34
Figura 19: Fotografia Índice de resistividade e pulsatilidade	35
Figura 20: Fotomicrografia espessura da parede da Aorta abdominal	37

LISTAS DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Espessura da túnica e íntima da Aorta	29
Gráfico 2: Espessura da adventícia	29
Gráfico 3: Altura da Aorta	34
Gráfico 4: Índice de resistividade	36
Gráfico 5: Índice de pulsatilidade	36
Gráfico 6: Espessura da Aorta	38
Gráfico 7: Pico sistólico	38
Gráfico 8: velocidade do fluxo diastólico	39
Gráfico 9: Relação sístole diástole	39

LISTA DE ABREVIATURAS

PTFE	Politetrafluroetileno expansivo
VPS	Velocidade de pico sistólico
VDF	Velocidade diastólica final
IR	Índice de resistividade
AR	Artérias renais
AO	Aorta
CRL	Crown-Rump Lenght
AOD	Aorta diafragmática
AOR	Aorta caudal as artérias renais
AOT	Aorta cranial a bifurcação artérias Ilíacas
CM	Camada Média
CA	Camada Adventícia
TI	Túnica intermediária
TM	Túnica média
LEI	Lâmina elástica interna

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	01
2	REVISÃO DE LITERATURA	04
2.1	Morfologia do pericárdio e da aorta	04
2.1.1	Pericárdio	04
2.1.2	Aorta	04
2.2	Aortoplastia	05
2.3	Ultrassonografia Doppler	11
3	MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1	Comitê de Ética	13
3.2	Seleção dos animais	13
3.3	Coleta e preparo do pericárdio	14
3.4	Cirurgia dos animais	15
3.4.1	Procedimento anestésico	16
3.4.2	Procedimento cirúrgico	17
3.4.3	Pós operatório mediato	22
3.5	Coleta do material	22
3.5.1	Processamento histológico	23
3.5.2	Análise estrutural em microscopia de luz	23
3.5.3	Tricômico de Masson	23
3.5.4	Técnica de Orceína	23
3.5.5	Pricosirius Red	23
3.5.6	Morfometrias das túnicas da porção abdominal da aorta	24
3.6	Ultrassonografia Doppler	24
3.7	Análise estatística	26
4	RESULTADOS	27
4.1	Análise histológica e morfométrica da porção da aorta abdominal	27
4.2	Análise Dopplefluxométrica	33
5	DISCUSSÃO	40
5.1	Aortoplastia	40
5.2	Análise estrutural em microscopia de luz	47
5.3	Ultrassonografia Doppler	52
6	CONCLUSÃO	56
7	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	57

1 INTRODUÇÃO

A substituição de tecidos no organismo é um dos principais desafios em cirurgia. Essa substituição é necessária nas perdas de estrutura anatômica, seja por defeitos congênitos, sequelas de trauma ou cirurgia oncológica (ANDREWS, 1988). Muitos materiais foram utilizados para este fim, sejam sintéticos ou biológicos (MARQUES 1984, MARQUES et al 1989).

O estudo aprofundado em Biomateriais tem trazido à ciência reflexos positivos em relação às várias transformações que a humanidade atravessa quando se depara com situações comuns e que é ao mesmo tempo de grande complexidade na evolução das espécies. A biocompatibilidade de materiais, como, polímeros, regeneração tecidual, alimentos funcionais, abre uma grande oportunidade de crescimento na área de biomateriais e biomodulação, quando próteses, implantes, transplantes e sistema imune, estão sendo mais requisitados pela humanidade atual (MAURO et al 2012).

Aspectos relacionados com a biocompatibilidade de produtos de uso médico têm sido intensamente estudados nos últimos anos (WALLIN & UPMAN 1991), especialmente em relação ao material destinado à área cardiovascular e os problemas detectados relacionam-se com o contato do sangue com a superfície de materiais naturais ou artificiais (LINDON et al 1978).

A vantagem do material de origem biológica está justamente na menor propensão às complicações trombóticas, além das boas características hemodinâmicas (BAJPAI, 1985). O aspecto inerente à compatibilidade sanguínea implica série de características intrínsecas ao material do implante, ou seja, não destruir ou sensibilizar os elementos celulares do sangue, não alterar as proteínas plasmáticas, não causar respostas imunes diversas, não induzir à carcinogenicidade ou mutagenicidade, não produzir reações tóxicas ou alérgicas, não depletar eletrólitos, não ser adversamente afetado pela esterilização, apresentar estabilidade no ambiente fisiológico e não provocar calcificação (BRUCK 1981; STARK 1991). Vários tipos de biomateriais foram testados, com o objetivo de encontrar um material adequado e que possa ser fabricado na forma desejada, poder ser submetido à esterilização, existir em diferentes tamanhos e não necessitar de preparo (SCALES, 1953).

Muitos estudos têm sido desenvolvidos com o intuito de alcançar o biomaterial ideal, seja para a reconstituição de órgãos, servindo como suporte para a regeneração ou substituição de tecidos e órgãos por meio de células tronco ou como importante ferramenta da bioengenharia tecidual. Com o evoluir das pesquisas, muitos destes materiais foram abandonados devido à dificuldade de obtenção, preparo, armazenamento, estabilização e conservação. Sendo assim, os biomateriais e membranas biológicas preservadas demonstraram vantagens, por ser de fácil armazenamento, obtenção, manutenção e aplicação cirúrgica.

Quanto aos materiais biológicos, de procedência animal, muita importância se tem dado ao pericárdio bovino. Esse tecido é utilizado principalmente na cirurgia cardiovascular, inclusive nas construções das próteses valvulares cardíacas, visto sua alta resistência e fácil aquisição (BARTEK et al 1974). Os materiais mais utilizados são: o pericárdio, a fásia lata, o peritônio, a dura máter, a cápsula renal, a submucosa de intestino delgado, o músculo diafragma e bexiga de diferentes espécies animais. Estes já foram empregados em urologia (PIECHOTA et al, 1998; ZHANG et al, 2006), cirurgia geral (NETO ET al, 1999; BRUN et al, 2002; MAZZANTI et al, 2003; BRUN et al, 2004), neurocirurgia (PIGOSSI, 1967; PIGOSSI et al, 1971).

O pericárdio, por possuir uma espessa camada resistente de feixes colágenos e fibras elásticas que se cruzam em diversos ângulos, foi também empregado experimentalmente na substituição parcial da parede de bexiga de cão (BARROS, 2007), na correção cirúrgica de lesões diafragmáticas (RANZANI et al, 1990; PINTO FILHO et al, 2003), nas reparações lamelares da córnea de cães (BARROS et al, 1999) e na reparação do músculo reto abdominal (BRUN et al, 2002).

A utilização dos implantes de biomaterial no sistema cardiovascular pode ser feito por meio de rafia com fio cirúrgico apropriado ou através de um adesivo.

Os adesivos biológico são substâncias com propriedades químicas de polimerização que formam precipitado sólido após interagir com tecidos vivos. Estes produtos têm sido cada vez mais utilizados em diversas especialidades sendo que suas indicações podem ser divididas em três categorias: como agente hemostático, selante e como meio de transporte de substâncias exógenas (medicamentos, quimioterápicos, fatores de crescimento) a determinadas regiões e órgãos (REECE et al, 2001; HABER, 2004). Os adesivos podem ser classificados como sintéticos ou naturais (biológicos); os primeiros incluem o cianoacrilato e

a associação gelatinaresorcinol- formaldeído. Entre os biológicos incluem-se os selantes à base de fibrina, o colágeno associado à trombina e os polímeros de polietilenoglicol (hidrogel). Estes compostos naturais se utilizam das mesmas propriedades que os tecidos vivos para causar hemostasia e adesão, são menos tóxicos e induzem menor reação inflamatória (HABER, 2004; REECE et al., 2001).

Na Medicina Veterinária vários artigos relacionam o uso do pericárdio de diferentes espécies e outras membranas em reparo vascular com a utilização de fios de sutura, principalmente no que diz respeito às propriedades tensiométricas dos biomateriais. Entretanto poucos são os resultados abordando o uso de adesivos e a interação do implante e tecidos adjacentes através de uma análise estrutural. Desta forma pesquisas que valorizam o processo de cicatrização vascular através do uso de diferentes materiais em tempos diferenciados, contribuem para a melhor compreensão do processo do reparo vascular.

Sendo assim, os objetivos do estudo foram: avaliar o comportamento do implante de pericárdio de avestruz através de técnica histológicas e Dopplerfluxométricas na aortoplastia; a aplicabilidade da cola cirúrgica; medir a área total e a espessura das túnicas da porção abdominal aorta, bem como a quantidade de lâminas elásticas em cada camada no grupo controle e nos que foram submetidos ao implante; estabelecer valores da fluxometria na porção abdominal aorta de coelhos do grupo controle e dos que foram submetidos ao implante através da ultrassonografia Doppler.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Morfologia do pericárdio e da aorta

2.1.1 Pericárdio

O pericárdio envolve externamente o coração e contém uma espessa camada de tecido adiposo sobre o pericárdio fibroso e sob a lâmina visceral do pericárdio seroso (epicárdio), ocultando os ramos das artérias coronárias, principalmente no seio coronário (SOARES et al., 2010).

Assim como o pericárdio de bovinos que é amplamente utilizado como remendo no sistema cardiovascular, o pericárdio do avestruz é constituído de um tecido conjuntivo fibroelástico denso e modelado com as fibras dispostas paralelamente em arranjo compacto.

2.1.2. Aorta

A artéria aorta no coelho é classificada, assim como a humana, como uma artéria elástica típica ou de grosso calibre (Figura 12). Esta semelhança estrutural faz deste animal um bom modelo experimental para estudo de aterosclerose em humanos (PHINIKARIDOU, et al, 2009).

Do ponto de vista funcional, as artérias elásticas servem principalmente como tubo condutor e também facilitam o movimento contínuo e uniforme do sangue ao longo do tubo. Durante a fase de relaxamento (diástole) do ciclo cardíaco, quando o coração não gera nenhuma pressão, o rebote elástico das artérias elásticas distendidas serve para manter a pressão arterial e o fluxo de sangue nos vasos (ROSS, 2008).

A artéria elástica caracteriza-se histologicamente pela presença de uma túnica íntima, onde se observa o revestimento endotelial e sua lâmina basal, uma delgada camada de tecido conjuntivo subendotelial contendo tanto colágeno como fibras elásticas, tecido conjuntivo subendotelial e uma lâmina elástica interna (LEI), que na artéria elástica não é distinguível por ser uma de muitas camadas elásticas na parede do vaso, porem importantes para separação da túnica íntima da média. A ruptura desta LEI é uma das lesões identificadas na aterosclerose (PHINIKARIDOU et al, 2009). A túnica média é composta principalmente por múltiplas camadas de fibras e lâminas elásticas, cuja média de unidades lamelares em animais saudáveis consiste geralmente de $16 \pm 1,5$. Assim como, células musculares lisas dispostas entre as

lamelas elásticas. A túnica adventícia é formada por uma camada de tecido conjuntivo relativamente fino (PHINIKARIDOU et al, 2009).

2.2 Aortoplastia

O pericárdio bovino foi utilizado para conter sangramento pós-cirúrgico em aorta ascendente de um doente humano. Esse procedimento foi realizado através de sutura com fio cirúrgico de Polipropileno 4-0 com agulha não cortante. O material de pericárdio bovino foi de primeira escolha frente a outros tipos de técnicas no qual se tornou relevante o local da intervenção (SURESH KESHAVAMURTHY et al, 2015).

O uso do pericárdio bovino em cirurgia urológica foi relatado em doentes humanos, dos quais três para veia cava inferior, um no sistema venoso Ilíaco, dois para substituir a veia renal esquerda e um para autotransplante. A venoplastia da cava inferior assim como do sistema venoso Ilíaco e da veia renal foram realizadas através de sutura contínua por fios de Polipropileno. Nenhum doente foi mantido com anticoagulação. Esse relato de caso concluiu que o enxerto de pericárdio bovino apresentou aplicabilidade, quando é necessária a reconstrução venosa durante a cirurgia urológica (SARAH COLEMAN et al, 2014).

Um homem de 77 anos foi submetido a uma ressecção da aorta ascendente e teve como procedimento cirúrgico uma aortoplastia com enxerto de pericárdio equino, realizou-se sua anastomose com sutura contínua e fio de Polipropileno 4-0 e para reforçar a sutura colocou-se cola biológica com rifamicina. A substituição com o enxerto plano de pericárdio equino sem omentopexia para tratar aorta infectada e pseudoaneurisma é um procedimento simples, que demonstrou vantagens deste material como uma opção de tratamento para aneurisma da aorta (HIROSHI KUBOTA et al, 2012).

Na criação de um modelo experimental de aneurisma na aorta torácica descendente usando enxerto de pericárdio autólogo, foram usados 11 cães adultos sem raça definida, nesses animais não foram usadas drogas anticoagulante. Foi feito a obstrução parcial da aorta torácica descendente com uma clampe vascular onde realizou-se uma incisão longitudinal de aproximadamente três centímetros e em seguida foi feita a fixação do pericárdio autólogo de o de 6 centímetros com fio polipropileno 5-0. Após quatro meses os animais foram submetidos a eutanásia; fragmentos contendo aorta e pericárdio foram fixados em formaldeído e processados seguindo a técnica de rotina. O enxerto de pericárdio em sua superfície interna foi coberto por endotélio e fibra de colágeno e na linha de sutura com tecido conjuntivo. O modelo criado mostrou-se adequado, seguro e eficiente. (WEIXIAO LI et al, 2012).

No estudo experimental com 14 leitões da raça Large White, foi utilizado pericárdio de bovino comercial na aorta abdominal um justaposto ao peritônio com a face lisa e outro justaposto ao peritônio com a face áspera. Os animais foram divididos em dois grupos no pós-operatório, em animais entre quatro a oito meses. Após completados diferentes tempos os animais foram submetidos a eutanásia. Os seguimentos da aorta nos quais estavam os implantes foram removidos e posteriormente fixados a uma solução de formaldeído a 10% e processados pela técnica histológica de rotina. Todos os animais progrediram bem no imediato e tardio pós-operatório, todos permaneceram assintomáticos com crescimento e peso adequado para sua idade, apenas um dos animais desenvolveu infecção na ferida, os implantes foram bem incorporados e observado dilatação na maioria dos animais no sítio do implante (SAPORITO et al, 2011).

O pericárdio bovino conservado em glutaraldeído liofilizado foi utilizado para o fechamento experimental de defeito no septo atrial em cães. Foi criado um defeito no septo atrial de três centímetros de diâmetro; os animais foram divididos em dois grupos de oito: Dracon e pericárdio bovino. O Dracon teve sua superfície rugosa direcionada para o átrio direito e em ambos a sutura foi realizada por um padrão contínuo simples com fio de polipropileno 4-0. Os cães foram submetidos a eutanásia após seis meses de cirurgia, e fragmentos da área de implante foram retirados e fixados em formaldeído a 10% e processados segundo a técnica histológica de rotina. Todos os animais do grupo que usou o implante de pericárdio foram observados a presença de células endoteliais, projeções de músculo atrial e a face atrial esquerda coberta por colágeno bem organizado, tecido adiposo como também área de metaplasia cartilaginosa. No grupo que utilizou o implante de Dracon mostrou o implante encapsulado por colágeno bem organizado e metaplasia cartilaginosa (SANTIBÁÑEZ-SALGADO et al, 2010).

A arterioplastia femoral em cães com remendo de membrana de biopolímero de cana-de-açúcar com avaliação hemodinâmica e histopatológica foi realizada em oito cães adultos sem raça definida. Foram estabelecidos dois grupos de forma aleatória: Grupo I remendos arteriais com o biopolímero, Grupo II remendos arteriais com PTFE. A velocimetria Doppler percutânea das artérias femorais direita e esquerda foi realizada para controle pré-operatório. Os cães foram submetidos a arterioplastia femoral bilateral com remendos da membrana de biopolímero de cana-de-açúcar no lado esquerdo e de PTFE no lado direito. A fixação do implante foi feita através de sutura contínuo com fio de polipropileno cardiovascular 7.0. Após 180 dias os animais foram submetidos ao exame de velocimetria Doppler percutânea

das artérias femorais e submetidos a eutanásia para coleta de fragmento artérias contendo o implante. Os fragmentos foram fixados em formaldeído a 10% e processado de acordo com a técnica histológica de rotina. A avaliação histológica demonstrou a presença em todos os remendos dos dois grupos uma reação inflamatória crônica mediada por linfócitos, neutrófilos além de fibrose na sua superfície externa. Na superfície interna ocorreu a formação de uma nova camada íntima contínua com a íntima da artéria receptora, constituída de fibrose. As novas camadas adventícia e íntima estavam firmemente aderidas às paredes dos remendos. Nos dois grupos não foi possível confirmar a presença de células endoteliais na superfície interna, pois não foi utilizado o teste imunohistológico. Nos dois grupos não foram encontrados focos de processo degenerativo ou áreas de calcificação. (BARROS MARQUES et al, 2007).

No estudo comparativo da biocompatibilidade da submucosa suína e pericárdio bovino usado como enxerto, foram na veia cava caudal de cães. Foram estabelecidos dois grupos: pericárdio bovino e submucosa suína. A fixação de ambos os implantes foi realizada através de sutura simples contínua com fio de Polipropileno 5-0. Para conservação dos implantes foi utilizado glutaraldeído e neomicina a 10%. No 30º dia de pós-operatório, todos os animais foram submetidos a exame ultrassonográfico do abdômen. No 40º dia de pós-operatório todos os animais foram submetidos a eutanásia para retirada do segmento da veia cava com o implante e estes foram fixados em formaldeído a 5% e processados pela técnica histológica de rotina. As análises macroscópicas não foram observadas presença de calcificações, estenoses, dilatações por aneurismas, trombos e circulação colateral. Observou-se estenose na veia cava de uma com do grupo com implante de submucosa de suíno. Já em contrapartida no grupo com implante de pericárdio bovino foi observado aumento da circulação colateral em dois cães. Estenose foi observada em três cães do grupo com pericárdio bovino. Na análise microscópica nos segmentos distal e proximal ao local enxertado foram observados 100% de presença de endotélio e de músculo liso. No grupo de submucosa de suíno a regeneração endotelial esteve presente na área do enxerto em 75% dos casos e no grupo de pericárdio bovino este valor foi de 62,5%. O colágeno esteve presente em 100% no local enxertado em ambos os grupos. O grupo com enxerto de submucosa de suíno, no local enxertado, apresentou 74,67% de músculo e 25,40% de colágeno. Já no grupo que foi utilizado pericárdio de bovino para a realização do implante, na mesma região, demonstrou 32,93% de colágeno e 67,08% de músculo (GRECA et al, 2005).

No estudo de padrões de pericárdio bovino acelular implantado em cães sem raça definida como remendo vascular, os animais foram separados em dois grupos: retalho de pericárdio bovino um preservado em glutaraldeído e outro em genipina, ambos implantados no tronco pulmonar do mesmo animal. Em todos os animais foi criado um defeito no tronco pulmonar por incisão para fixação dos implantes, que foi fixado por um padrão de sutura simples contínua com fio de polipropileno 7-0. Ambos os enxertos tiveram sua superfície lisa direcionada para o lúmen do tronco pulmonar. As amostras foram retiradas em um intervalo de sete dias, 30 dias e 180 dias de pós-operatório. As amostras foram fixadas em fosfato tamponado a 10%, e processadas pela técnica histológica de rotina. Na análise histológica observou-se que o local do implante de pericárdio bovino preservado com genipina com uma semana apresentou um grau menor de inflamação em relação ao enxerto de pericárdio bovino conservado em glutaraldeído, porém houve infiltrado de células inflamatórias em ambos os enxertos. Nas amostras com um mês foi observada migração do tecido do hospedeiro juntamente com colágena e fibrina nas camadas interna e externa nos dois grupos de enxertos estudados. No grupo de enxerto de pericárdio conservado em glutaraldeído apresentou uma quantidade mais expressiva de fibroblasto em relação ao grupo preservado por genipina. Nas amostras com um mês de pós-operatório observou-se que o enxerto preservado por genipina teve sua superfície toda coberta por células endoteliais o que não ocorreu nos implantes preservados por glutaraldeído e células musculares lisas foram observadas em ambos os enxertos. As amostras retiradas com seis meses apresentaram áreas de metaplasia cartilaginosa com presença de condrócitos, osteoclasto, trabéculas ósseas e medula óssea. No enxerto de pericárdio preservado por genipina foi observado uma área maior de metaplasia cartilaginosa em relação ao enxerto de pericárdio preservado em glutaraldeído (YEN CHANG et al, 2004).

O pericárdio bovino preservado em glutaraldeído foi utilizado com remendo no sistema cardiovascular em cães adultos sem raça definida. Os retalhos foram implantados para substituir parcialmente as paredes do átrio esquerdo, da aorta torácica e do pericárdio. A incisão resultante foi fechada com o retalho padronizado suturado às bordas da incisão com sutura contínua de Polipropileno 5-0, com a superfície lisa voltada para o interior do átrio esquerdo. O mesmo procedimento foi realizado na aorta torácica. O pericárdio foi fechado com pontos separados de algodão 2-0. Os cães foram subdivididos em três grupos

dependendo da época da reoperação e submetidos a eutanásia: grupo um, cães entre 33 e 43 dias, grupo dois cães entre 120 e 165 dias e grupo três cães entre 225 e 305 dias de pós-operatório. As áreas dos remendos atriais mostraram-se menores do que as dos remendos aórticos e pericárdicos para todos os grupos e que os remendos atriais diminuíram, enquanto os aórticos e pericárdicos mantiveram-se inalterados com o tempo. Dois cães apresentaram grandes trombos aderidos à face lisa dos retalhos atriais. O exame anatomohistopatológico não evidenciou, em nenhuma das amostras, alterações da estrutura do retalho de pericárdio bovino. Não foram observadas alterações degenerativas, inflamatórias ou metaplasia. Na aorta apresentou neoformação de tecido elástico característico, que não foi observado no átrio esquerdo. Tanto a calcificação como a neoformação elástica apresentaram nítida relação com o tempo de implante (PIRES et al, 1997).

Em um estudo que se realizou o aumento do lúmen da artéria femoral em cães por arteriotomia e circundada com pericárdio de bezerro preservado em glutaraldeído, em cães sem raça definida. O pericárdio foi suturado entorno da artéria femoral antes de sua oclusão em ambas as extremidades com um padrão de sutura simples contínuo com fio monofilamento de nylon 3-0 seguido de um clampeamento da artéria para o procedimento de arteriotomia longitudinal. As bordas longitudinais foram fixadas ao enxerto de pericárdio de bezerro por sutura simples separada. Foram feitas avaliações clínicas que mostraram um pulso arterial normal na perna operada, e nenhuma anormalidade circulatória foi observada. Um ano após a arteriotomia, foi realizado Doppler bilateral realizado nas artérias operadas de cada cão, seguindo a eutanásia e a perfusão com uma solução a 10% de formaldeído. Artéria no local do implante foi retirada e utilizado as técnicas histológicas de rotina. A artéria femoral contralateral foi retirada no mesmo segmento para controle. No estudo histológico após um ano de arteriotomia não foi observado processo inflamatório, observou-se o enxerto estreitamente integrado ao tecido cicatricial endógeno, que uniu firmemente a parede externa da artéria com o pericárdio de bezerro implantado e também a uma camada completa de endotélio no local da arteriotomia. Uma ponte de tecido cicatricial de suporte cresceu debaixo do endotélio vascular. (SOTELO et al, 1997).

Em um estudo com 32 pacientes humanos, que foram submetidos a reconstruções vasculares foi utilizado condutos de pericárdio bovino corrugado preservado em glutaraldeído. Tubos de pericárdio bovino corrugado valvulado foram utilizados para

substituição total da aorta ascendente, incluindo a valva aórtica. Conduitos avalvulados foram utilizados para substituição da aorta ascendente. Nas dissecções aórticas, o falso lume foi obliterado na porção proximal e na distal com o uso da cola biológica e por pontos separados em U. Foi, também, feita cerclagem da anastomose distal. Os procedimentos sobre a aorta torácica descendente e aorta abdominal foram realizados com clampes vasculares e administrado heparina sistêmica. As anastomoses foram realizadas com fio de Polipropileno 4-0. Não ocorreu óbito nem complicações pós-operatórias significativas entre os pacientes e também nenhuma complicação tardia que pudesse ser relacionada ao tipo de conduto utilizado (SALLES, C. A. et al, 1992).

Estudo utilizando 10 ovelhas adultas para analisar a formação espontânea de endotélio em enxerto de pericárdio bovino preservado em glutaraldeído e enxertos de politetrafluoretileno expandido (PTFE), todos implantados em artéria carótida. Em quatro ovelhas, o enxerto de pericárdio bovino e seis ovelhas com (PTFE). Utilizando uma sutura de polipropileno 7-0. Na primeira e segunda semana pós-operatória verificou-se fluxo sanguíneo através do exame de Doppler e foi repetido após um e dois meses. Três meses após a cirurgia os animais foram submetidos a eutanásia para a retirada dos enxertos. Os enxertos foram processados para microscopia de luz e eletrônica. Nos achados microscópicos em todos os grupos, as anastomoses e as áreas de enxerto foram cobertas com células endoteliais. Isso foi composto por miofibroblastos, fibras de colágeno e fibra de elastina. Os enxertos de (PTFE) apresentaram uma camada endotelial descontínua. Os enxertos de pericárdio preservado em glutaraldeído apresentaram uma camada endotelial descontínua. (MORITZ et al, 1991).

Em uma experiência com pericárdio bovino para reconstrução arterial em doentes humanos. O pericárdio utilizado nesse trabalho foi preservado em glutaraldeído e em forma tubular corrugado. Foram utilizados pericárdio bovinos corrugado para substituição total da aorta ascendente com Válvula aórtica. O falso lúmen foi obliterado Proximalmente e distalmente usando uma cola biológica (gelatin-resortin®). Cola polimerizada pelo formaldeído) e suturas colchoeiro interrompido e reforçadas com tiras de pericárdio bovino de ambos os lados Aorta. Uma cerclagem na anastomose distal da aorta foi realizada utilizando uma tira de pericárdio bovino não corrugado. As anastomoses aórticas foram realizadas utilizando uma sutura de polipropileno 4-0. Não houve presença de sangramento após a retirada dos clampes vasculares. Três pacientes apresentaram complicações pós-operatórias precoces. Apesar destas complicações, todos os 8 sobreviventes recuperaram completamente.

Não havendo complicações relacionadas ao enxerto de pericárdio bovino corrugado preservado em glutaraldeído (SALLES, C. A. et al, 1991).

Zhang Bengu & Chen Xiafeng (1982) estudaram, em cães uma forma de reconstrução da aorta abdominal utilizando tubo de pericárdio bovino. Foram usados 16 cães sem raça definida. Os tubos de pericárdio bovino foram todos tratados com glutaraldeído. Em 13 animais a aorta abdominal recebeu um implante tubular reto de pericárdio bovino. A sutura foi realizada com fio de dracon 3-0 em todas as anastomoses. Após as cirurgias não foi administrado anticoagulante. Os 16 animais foram observados de um a 190 dias com uma média de 63 dias. No exame macroscópico não foi observado em nem um animal implantado a formação de dilatação aneurismática ou sinal de estenose mas havia a presença de tecido conjuntivo aderido em toda a superfície do enxerto. No exame histopatológico foi observada a extensão da camada íntima do enxerto. Em seguida o implante foi processado pela técnica histológica de rotina. O exame microscópico revelou uma camada íntima neoformada semelhante a íntima da aorta submetida ao implante também mostrou uma estrutura com três camadas. Uma camada interna formada por endotélio, uma camada média formada por pericárdio bovino e uma camada externa formada por um tecido de conectividade.

2.3 Ultrassonografias Doppler

Foi realizado um estudo prospectivo dos parâmetros Doppler velocimétricos das artérias renais e da aorta abdominal em gatos da raça persa. Foram utilizadas nesse estudo 50 unidades renais de gatos adultos jovens da raça persa, sendo 13 fêmeas e 12 machos, as quais foram examinadas ao ultrassom Doppler. Foram mensurados os seguintes parâmetros: a velocidade de pico sistólico máximo (VPS), a velocidade diastólica mínima (VDF) e os índices de resistividade (IR) das artérias renais (AR) e da aorta (AO). O exame foi realizado na seguinte sequência: ultrassonografia modo-B, Doppler colorido e Doppler pulsado. Os valores médios da VPS e VDF do fluxo sanguíneo e do diâmetro da artéria aorta abdominal em sua porção caudal à origem das artérias renais. Para aorta, foram obtidos VPS $53,17 \pm 13,46 \text{ cm s}^{-1}$ e média de diâmetro de $0,38 \pm 0,04 \text{ cm}$ (CARVALHO et al, 2009).

Lilian Kamikawa e Pedro Primo Bombonato (2007) observaram em um estudo morfométricos da aorta abdominal e seus ramos em cães. Para o estudo hemodinâmico da

aorta abdominal. Todos os vasos foram visibilizados durante a fase diastólica, quando o vaso apresentava o seu maior diâmetro. A aorta abdominal foi mensurada nas regiões diafragmática (AOD) caudalmente às artérias renais, direita e esquerda (AOR) e cranialmente à bifurcação (AOT).

Nos aspectos hemodinâmicos os cães examinados; apresentaram uma forma trifásica na onda da aorta abdominal em seu segmento caudal. Foram realizadas as seguintes avaliações; morfométrica e hemodinâmica. A morfometria avaliou diâmetro dos vasos no momento pré-prandial. A hemodinâmica avaliou parâmetros velocimétricos do fluxo; velocidade de pico sistólico (VPS) pré-prandial, velocidade diastólica final pré-prandial e índices de hemodinâmicos de impedância: índice de resistividade (RI). Na aorta foi observado um fluxo do tipo laminar achatado e morfologia da onda apresentou características de onda de alta resistência. Verificou-se a presença de pico sistólico afilados com janela espectral larga, bem definida, e distribuição de velocidade estreita. O pico sistólico apresentou-se seguido de uma onda de fluxo retrógrado, em seguida uma onda de fluxo anterógrada. O diâmetro da aorta variou entre 0,43 centímetros e 0,92 centímetros. A média do diâmetro encontrado foi de 0,65 mais ou menos 0,17 centímetros. A velocidade do pico sistólico (VPS) da aorta variou entre 44,00 centímetros por segundo e 135,18 centímetros por segundo. A média de velocidade foi 95,49 mais ou menos 35,43 centímetros por segundo. A velocidade diastólica final (VDF) variou entre 76,20 centímetros pre segundo e 84,40 centímetros por segundo. A média foi 80,82 mais ou menos 3,81 centímetros por segundo (CARVALHO et al, 2007).

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 Comitês de Ética

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética na Pesquisa em Uso de Animais da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro sob o número. 23083.003342/2012-56

3.2 Seleção dos Animais

Foram utilizados 28 coelhos machos da raça Nova Zelândia provenientes do Setor de Cunicultura do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro separados em quatro grupos de acordo com o quadro abaixo. Todos os animais foram submetidos a exames clínicos durante o processo seletivo para o experimento, durante a tutela semanalmente em antes do procedimento cirúrgico. Com o objetivo de estratificar os animais hígidos dos doentes.

Pericárdio de avestruz
Cola cirúrgica
Grupo 1 controle: (n=7)
Grupo 2: 07 dias (n=7)
Grupo 3: 14dias (n=7)
Grupo 4: 21dias (n=7)
Total: n = 28

Os animais foram mantidos no Colégio técnico da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no setor de Cunicultura. Estes permaneceram em gaiolas individuais, mantidos em temperatura ambiente, e receberam água e ração à vontade (ração comercial peletizada, para

coelhos em reprodução e crescimento). Onde também foi realizado o controle sanitário, e de ectoparasitas e endoparasitas.

3.3 Coleta e preparo do pericárdio

O material utilizado foi o pericárdio de avestruz coletados em abatedouros inspecionados pelo Serviço de Inspeção Federal.

Preparo do pericárdio

Etapa um: Imediatamente após o abate, o pericárdio foi selecionado e imerso em solução fisiológica a pH 7,4 e mantido a 10°C. Esta condição foi respeitada durante o transporte do material até o laboratório.

Etapa dois: Após o processo de eliminação da gordura e seleção ao microscópio, o material foi mantido em banho de solução fisiológica e conservado até o momento do preparo das amostras.

Etapa três: No momento do preparo, o pericárdio foi imerso numa solução de gluteraldeído a 0,5% em tampão fosfato pH 7,4, previamente esterilizada. No primeiro dia foram realizadas trocas a intervalos de 3h. A manutenção posterior por período mínimo de 15 dias foi efetuada nesse líquido e no refrigerador.

Etapa quatro: Parte do material processado conforme a etapa três foi imerso numa solução aquosa de formaldeído a 4%, tamponada com acetato de sódio a 0,2M. A manutenção do pericárdio nesta solução obedeceu às condições da Etapa Três.

3.4 Cirurgias dos animais.

Todo procedimento experimental foi realizado no Laboratório de ensino e pesquisa em animais domésticos e selvagens do departamento de anatomia animal e humana da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (Figura1). Os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico como se segue:

Os animais foram contidos obedecendo às regras de bem-estar animal para espécie usada como modelo neste estudo e a exames clínicos. Para administração da medicação pré-anestésica foi realizada a antisepsia da área com iodopovidona tópico 10 mg (correspondente a 1% de iodo ativo), utilizadas seringas plásticas descartáveis estéreis de cinco mililitros com agulha hipodérmicas 25 x 7 descartável e por via intramuscular foi administrado Midazolam 1mg/Kg por peso vivo seguindo a indução com administração também por via intramuscular de cloridrato de cetamina 30mg/Kg por peso vivo, xilazina 0,5mg/Kg por peso vivo, depois da contensão química realizou-se a tricotomia do dorso da aurícula, seguida de uma antisepsia e efetuando uma venoclise com cateter vascular periférico descartável número 27 na veia auricular medial, que se localiza paralelamente ao margo rostromedial do trago com o objetivo de manter uma via venosa periférica e a realização de fluidoterapia com solução cloreto de sódio à 0,9%, uma ampola de ácido ascórbico de dois mililitros e uma ampola de glicose 50% de dez mililitros, colocado diretamente no frasco através do acesso lateral para inocular medicação e teve o frasco isolado da luz devido a fotossensibilidade da vitamina C, realizado esse procedimento. Para o acompanhamento dos sinais vitais do animal foi realizado a utilização do monitor multiparamétrico Digicare® modelo LW9x onde observou-se os parâmetros eletrocardiográficos, saturação de oxigênio, saturação de gás carbônico, pressão arterial através do método invasivo, onde utilizamos como acesso a artéria auricular medial localizada no dorso da orelha externa. Os eletrodos tipo serrilhado do eletrocardiograma foram colocados um na região axilar no antímero direito, outro no antímero esquerdo e um na região xifóidea. Esse protocolo foi realizado criteriosamente com todos os animais submetidos a cirurgia nesse presente estudo.



Figura 1: Fotografia do procedimento cirúrgicos.

3.4.1 Procedimento Anestésico.

A anestesia foi realizada após aplicação da medicação pré-anestésica em um intervalo de dez a quinze minutos com solução inalatória de Isoflurano e oxigênio a 100%, que foi administrada com aparelho conjunto anestesia set KTK® modelo KT-15, vaporizador universal modelo Mini-Piomatic® modelo 1001 e máscara laríngea de número um Well lead®, através do sistema de Baraka (Figura 2).



Figura 2: Fotografia do sistema de Baraka.

3.4.2 Procedimentos cirúrgicos

Os animais após protocolo anestésico foram submetidos a uma tricotomia na porção ventral do abdome e degermação da área previamente tricotomizada com iodopovidona tópico 10 mg (correspondente a 1% de iodo ativo) (figura 3). Foi realizada a celiotomia mediana pré retro umbilical para acesso a porção intra-abdominal da aorta através da cavidade peritoneal (Figura 4). O limite para aortoplastia, se deu entre o hiato aórtico e a emergência da artéria Íliaca interna, onde foi feita a retirada de um fragmento da artéria em elipse de aproximadamente 0,5cm (Figura 5). Nessa técnica foram utilizadas pinças do tipo Bulldog (clampe vascular) (figura 6) uma na porção cranial e outra na porção caudal a incisão com uma tesoura de microcirurgia de Castroviejo reta de onze centímetros (Figura 7). No local da incisão foi fixado o fragmento de pericárdio de avestruz de forma circular (Figura 8) cortado com Punch dermatológico de 5 mm (Figura 9) e cola cirúrgica Glubran 2® (Figura 10), danado a sequência a rafia da cavidade peritoneal e abdominal por meio de sutura. Ambas as cavidades foram suturadas com a utilização de fio absorvível de Poligalactina 910 (Vicryl®) com agulha não cortante de 3/8 de círculo 30 mm por pontos separados simples, a aproximação do tecido celular subcutâneo foi realizada através de sutura simples continua com o mesmo fio, o tecido cutâneo sua rafia deu-se por meio de pontos separados simples em U com a utilização de fio 3-0 de nylon, agulha cortante 3/8 de círculo 30mm. A ferida

cirúrgica foi cuidada com rifamicina SV sódica e penso com compressa de gaze 11 fios no pós-operatório imediato.



Figura 3: Fotografia da região tricotomizada e degermada.

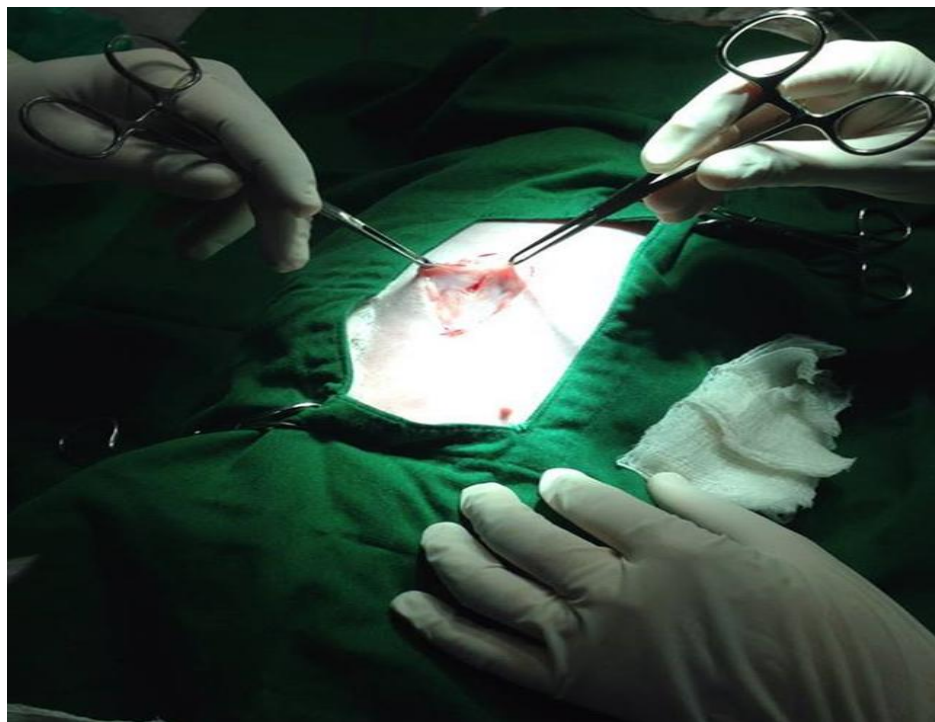


Figura 4: Fotografia do sítio da celiotomia.



Figura 5: Fotografia do local de dissecção e retirada do segmento da aorta.

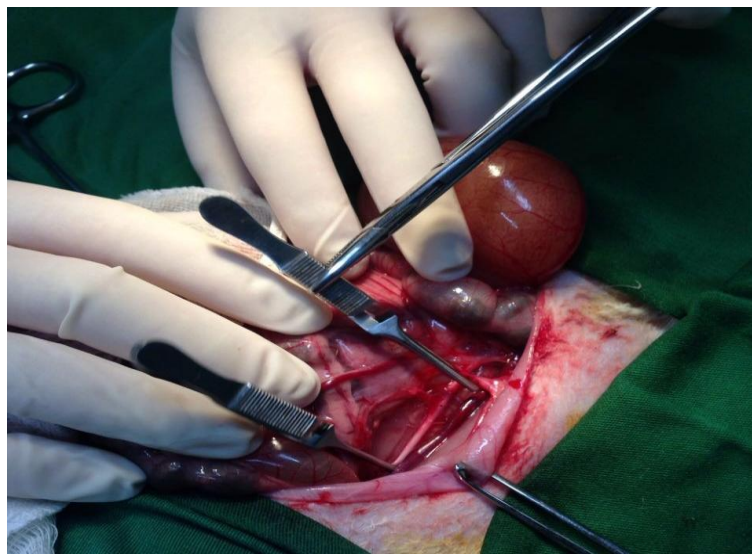


Figura 6: Fotografia do clampeamento da aorta com pinças de Bulldog.

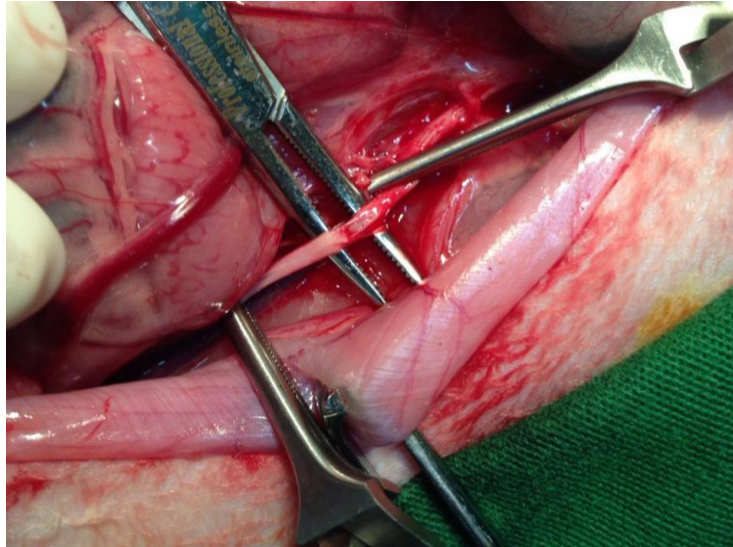


Figura 7: Fotografia após a retirada do segmento da aorta abdominal para o implante.

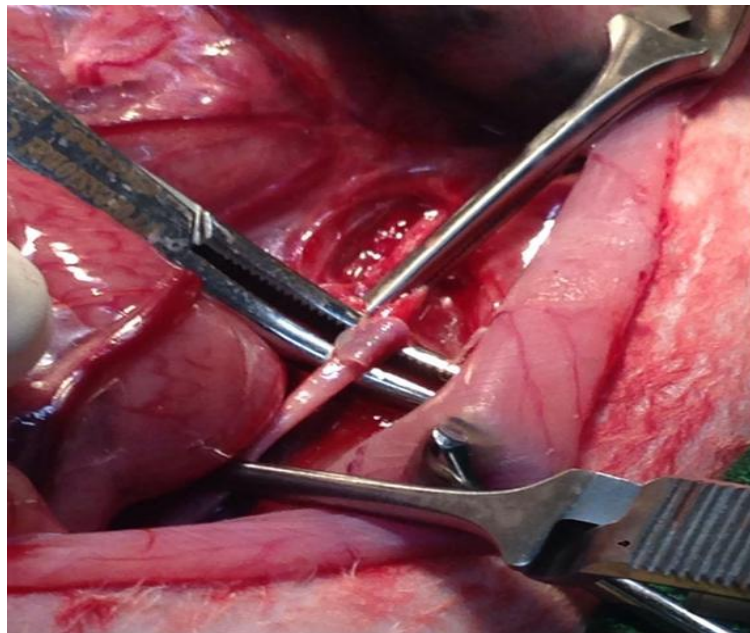


Figura 8: Fotografia do implante de pericárdio de avestruz fixado na aorta abdominal.



Figura 9: Fotografia do preparo do implante de pericárdio de avestruz com Punch dermatológico.



Figura 10: Fotografia da cola cirúrgica Glubran 2® utilizada para fixação do implante. [www.google.com.br/search?q=imagem+da+cola+glubran+2:](http://www.google.com.br/search?q=imagem+da+cola+glubran+2)

3.7 Pós-operatório mediato

A ferida cirúrgica foi tratada diariamente com rifamicina SV sódica de aplicação tópica duas vezes ao dia até a retirada dos pontos que, ocorreu no sétimo dia do pós-operatório mediato.

Antibioticoterapia foi administrada por via subcutânea com seringas plásticas estéril de um mililitro com agulha hipodérmica ultrafina contendo Enrofloxacin na posologia de 10mg /Kg por peso vivo em vinte e quatro em vinte e quatro horas durante cinco dias.

Para o controle da dor foi administrado Meloxicam® 5mg/Kg de peso vivo por via subcutânea e Dipirona sódica 300mg/Kg por peso vivo em doze em doze horas durante três dias. Protocolo seguido em todos os animais.

Na profilaxia da agregação plaquetária foi utilizado bissulfato de clopidogrel 75mg, em uma posologia em que no primeiro dia foi administrado comprimido em vinte em vinte e quatro horas e a partir do segundo um quarto do comprimido em vinte em vinte e quatro horas.

3.5 Coleta do material

Depois de completado os diferentes tempos de cicatrização (ver quadros), os animais dos diferentes grupos foram submetidos ao óbito assistido por meio de overdose de thiopental sódico endovenoso associado cloreto de potássio administrado em bolos lentos endovenoso através de venoclise da veia auricular medial com cateter vascular periférico descartável número 27, momento que obedeceu aos critérios de antisepsia. Os animais tiveram suas funções vitais acompanhadas por monitores multiparamétrico até ser identificado assistolia para dar início a necropsia e coleta de fragmentos da porção intra-abdominal da aorta. Foi realizada uma incisão mediana pré retro umbilical na pele para abertura das cavidades abdominal e peritoneal para a localização e retirada de um segmento da Aorta no local do implante que foi retirado com a margem de aproximadamente um centímetro cranial e caudal ao implante. Esse material coletado foi colocado em recipientes plásticos individuais com solução de formol a 10% para o processamento histológico.

3.5.1 Processamento Histológico

Todo processamento histológico das amostras foi realizado no Laboratório de Histologia Integrativa da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

3.5.2 Análises estrutural em Microscopia de Luz

Os fragmentos da porção abdominal da aorta do grupo controle e dos grupos que foram submetidos ao implante com pericárdio de avestruz foram clivados transversalmente e fixados em solução de formol a 10% tamponada por 48 horas. Todos os cortes foram processados para inclusão em parafina seguindo a técnica histológica de rotina. Cortes de 5 µm de espessura foram obtidos e posteriormente corados pelas técnicas histológicas e histoquímicas.

3.5.3 Tricrômico de Masson

Corante ou coloração tricrômico ou tricrômica de Masson é uma combinação de corantes usados em um protocolo de coloração de três cores em histologia. As formulações desta coloração envolvem a formulação original de Masson para diferentes aplicações, mas todas têm como finalidade distinguir células do tecido conjuntivo circundante.

É uma técnica histológica de rotina que permite evidenciar o colágeno em azul e as fibras musculares lisas em vermelho (BANCROFT et al, 1994).

3.5.4 Técnica de Orceína

Orceína é um corante feito de orcinol por oxidação do peróxido de hidrogênio com a amônia presente. É um corante padrão para a demonstração de fibras elástica, quando este é aplicado em uma solução ácida, alcoólica.

3.5.5 Picosirius Red

A técnica do Picosirius red seguida de microscopia de polarização pode demonstrar de maneira seletiva os tipos de colágeno. A diferença de cor observada após a polarização é o resultado da espessura das fibras assim como do arranjo do colágeno. A coloração pelo

método do Picrosirius faz com que grande quantidade de moléculas de sirius red, de caráter ácido e alongadas, disponham-se paralelamente às moléculas do colágeno, o que provoca aumento considerável da birrefringência das fibras que contêm colágeno quando observadas a luz polarizada. Assim, o método do Picrosirius associado à microscopia de polarização é um método histoquímico específico para detecção de colágeno (JUNQUEIRA et al, 1979).

3.5.6 Morfometrias das Túnicas da Porção abdominal da aorta

Também foi aferida a espessura das túnicas íntima/ média e adventícia. Foram selecionadas cinco lâminas de cada animal. Em cada corte foi medida a espessura das túnicas em quatro pontos: dorsal, ventral e dois laterais, utilizando-se o software Image J versão 1.4 (NIH, Bethesda, USA), carregado com seu próprio “plugin” (<http://rsb.info.nih.gov/ij/plugins>).

3.6 Ultrassonografia Doppler

Todos os animais do presente estudo foram contidos mecanicamente sobre uma mesa de exame clínico e colocados em decúbito dorsal. Foi utilizado o aparelho da marca Sonosite®, modelo Titan, com transdutor linear multifrequencial de 4,0-7,0 MHz (Figura 11). Em todos os animais foi realizada ampla tricotomia abdominal, cranialmente ao processo xifoide, região hipocondríaca direita e esquerda, região lateral direita e esquerda do abdome, região púbica. Foi necessário à utilização de gel para contato em toda a região a ser examinada. Os animais não foram submetidos ao prévio preparo intestinal de jejum de sólidos para a realização dos exames ultrassonográficos devido à capacidade do espécime estudado de promover hipoglicemia e estresse. Todos os exames foram realizados pelo mesmo operador com os animais em decúbito lateral direito.

Com o transdutor na parede lateral esquerda do abdome, próximo à borda caudal da 13^o costela localizou-se o rim esquerdo e posicionando o transdutor médio e cranialmente identificou-se a aorta abdominal e veia cava caudal. Foi realizado a ultrassonografia modo-B, Doppler colorido e Doppler pulsado sequencialmente. Na ultrassonografia modo-B, posicionou-se os calipers nas superfícies internas da parede dorsal e ventral ou latero-lateral do vaso para mensuração do lúmen dos mesmos e posteriormente foi mensurada a parede dorsal e a ventral do vaso. Foi realizada a medida e avaliação Doppler da aorta abdominal até

região da bifurcação. Todos os dados foram protocolados e dispostos em quadros para análise estatística.

Para avaliação das ondas e a hemodinâmica dos vasos analisados utilizou-se os seguintes parâmetros:

Parâmetros morfométricos para diâmetro do vaso, parâmetros velocimétricos do fluxo para velocidade do pico sistólico (VPS) e velocidade diastólica final (VDF), e o índice hemodinâmico de impedância, para análise do índice de resistividade (RI). Após o exame ultrassonográfico do abdome total onde foram descartadas quaisquer alterações, foi realizado a morfometria bidimensional e parâmetros hemodinâmicos através do Doppler da porção intra-abdominal da aorta.

Para obtermos uma fidedigna avaliação dos parâmetros hemodinâmicos, que foram submetidos a uma inspeção sistemática do mesmo até conseguir paralelismo do vaso em relação ao transdutor associado a um ângulo de insonação menor que 60°. O filtro foi ajustado até a melhor caracterização de amplitude do sinal sem que houvesse artefato de ambiguidade. Usou-se o modo colorido para auxiliar na identificação dos vasos e para determinar a presença ou ausência de fluxo sanguíneo nos mesmo. Os parâmetros coloridos foram ajustados para que o lume do vaso estivesse preenchido somente com uma cor (sem ambiguidade de sinal detectado) e a informação colorida não ultrapasse o lume vascular, mas que o mesmo estivesse preenchido com cor. O volume de amostra foi fixado em um milímetro, colocado na porção central do vaso e acionado o Doppler pulsado. Dessa forma foi obtido um traçado nesta região. Quando o traçado se apresentou livre de artefatos, corrigiu-se o ângulo de insonação e congelou-se a imagem para análise da forma das ondas.



Figura 11: Fotografia do aparelho usado para Dopplerfluxometria. Sonosite®, modelo Titan. <http://www.assistenciaultrassom.com.br>

3.7 Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi realizada através do Software Grafpad Prism. Para comparação da média e desvio padrão das variáveis entre os grupos foi utilizado o teste de ANOVA com pós teste de Tukey considerando $p < 0,05$ como significativo.

4 RESULTADOS

4.1 Análise histológica e morfometria da porção abdominal da aorta

A aorta no coelho é classificada, assim como em outros mamíferos, como uma artéria elástica típica. Caracteriza-se pela presença de uma delgada túnica íntima, onde se observa o endotélio, tecido conjuntivo subendotelial e uma lâmina elástica interna; uma camada média composta principalmente por fibras e lâminas elásticas. Ao longo do nosso estudo devido a espessura da camada íntima ser pequena, esta foi medida junto a camada média. A camada ou túnica adventícia apresenta-se bem visível e composta basicamente por tecido conjuntivo propriamente dito (Figura 12).

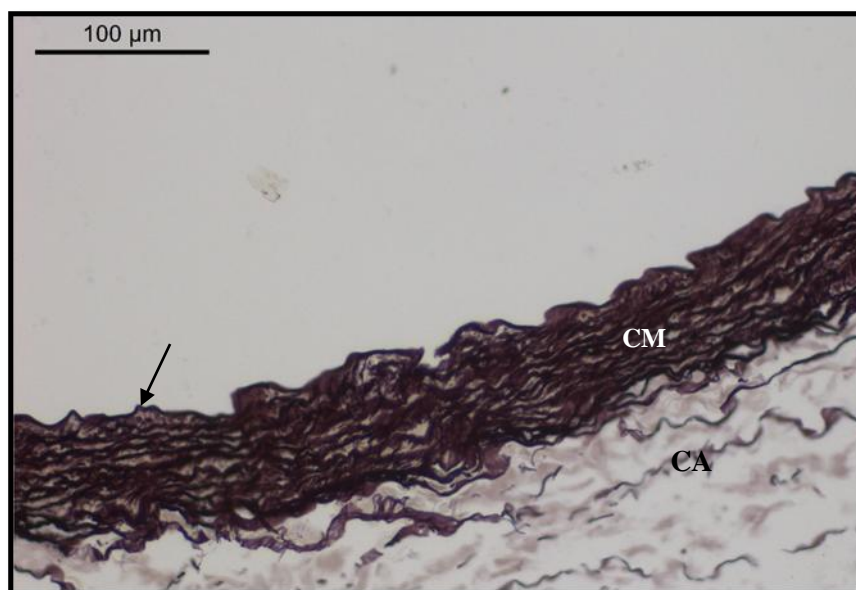


Figura 12: Fotomicrografia da aorta abdominal de coelho. Na qual se visualiza a estrutura da aorta de coelho. Grupo controle. Camada íntima (seta), camada média com fibras e lâminas elásticas (CM) e camada adventícia (CA). Orceína.

A aorta dos animais submetidos ao implante com o pericárdio de avestruz ao 7º dia mostrou-se com forte reação inflamatória na porção voltada para o lúmen do vaso, assim como uma desorganização das camadas íntima e média (Figura 2A e 3A). Além disso, pode se observar que o pericárdio se manteve íntegro e que suas fibras colagenosas foram resistentes o suficiente para impedir extravasamento de sangue.

Aos 14 dias foi observado o início da reorganização da camada íntima e média, ainda com regiões de células inflamatórias (Figura 2B). O pericárdio manteve-se íntegro.

Aos 21 dias foi observada uma organização de todas as camadas arteriais (Figura 2C e 3B).

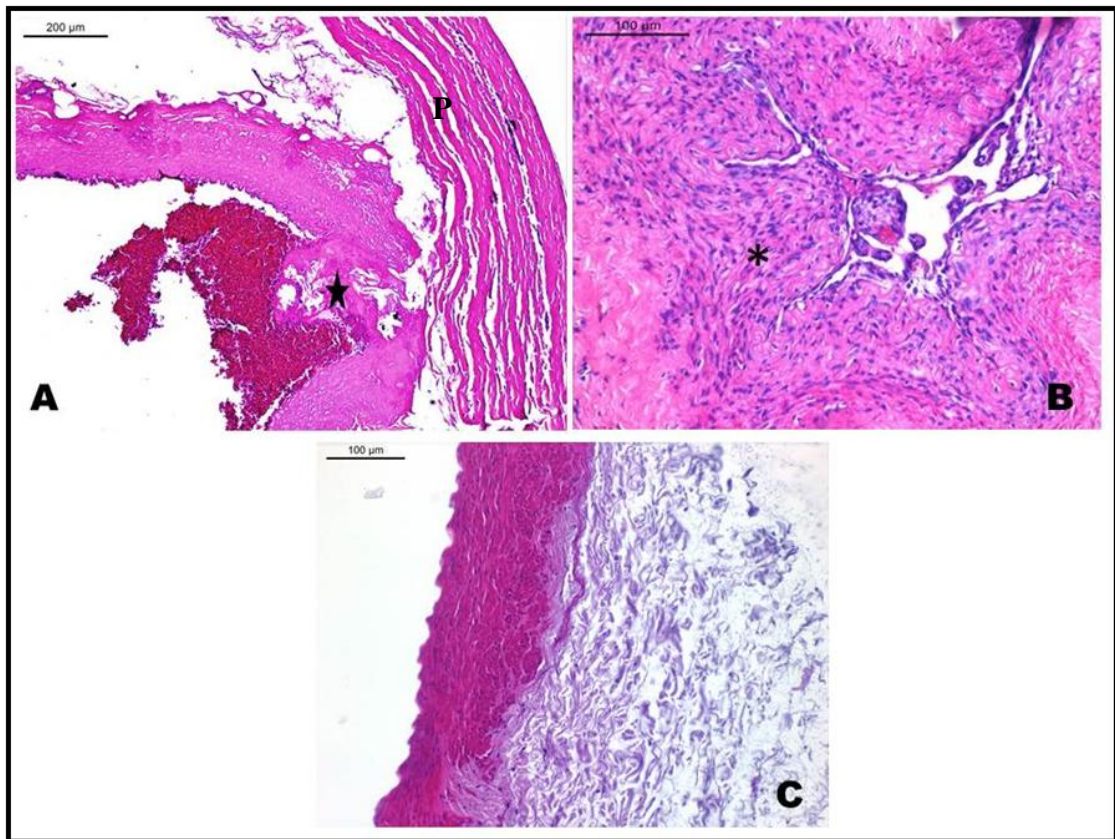


Figura 13: Fotomicrografia na qual se observa estrutura arterial dos animais submetidos ao implante no dia 7 (A), 14 (B) e 21 (C). Hematoxilina e eosina.

No gráfico abaixo estão representadas a média e desvio padrão da espessura das túnica íntima e média dos coelhos do grupo controle e dos coelhos submetidos ao implante.

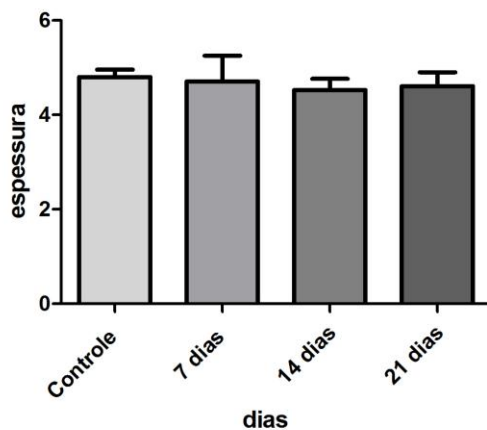


Gráfico 1: Espessura das túnica média e íntima da aorta dos grupos controle, sete, 14 e 21 dias.

No gráfico abaixo estão representadas a média e desvio padrão da espessura da túnica adventícia dos coelhos do grupo controle e dos coelhos submetidos ao implante.

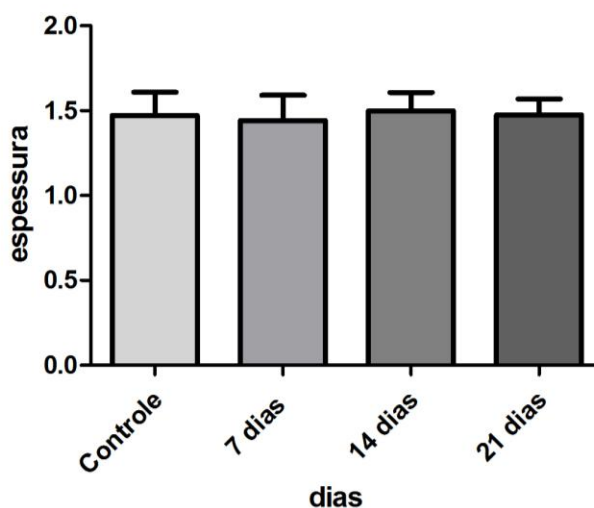


Gráfico 2: Espessura da túnica adventícia da aorta dos grupos controle 7, 14 e 21 dias.

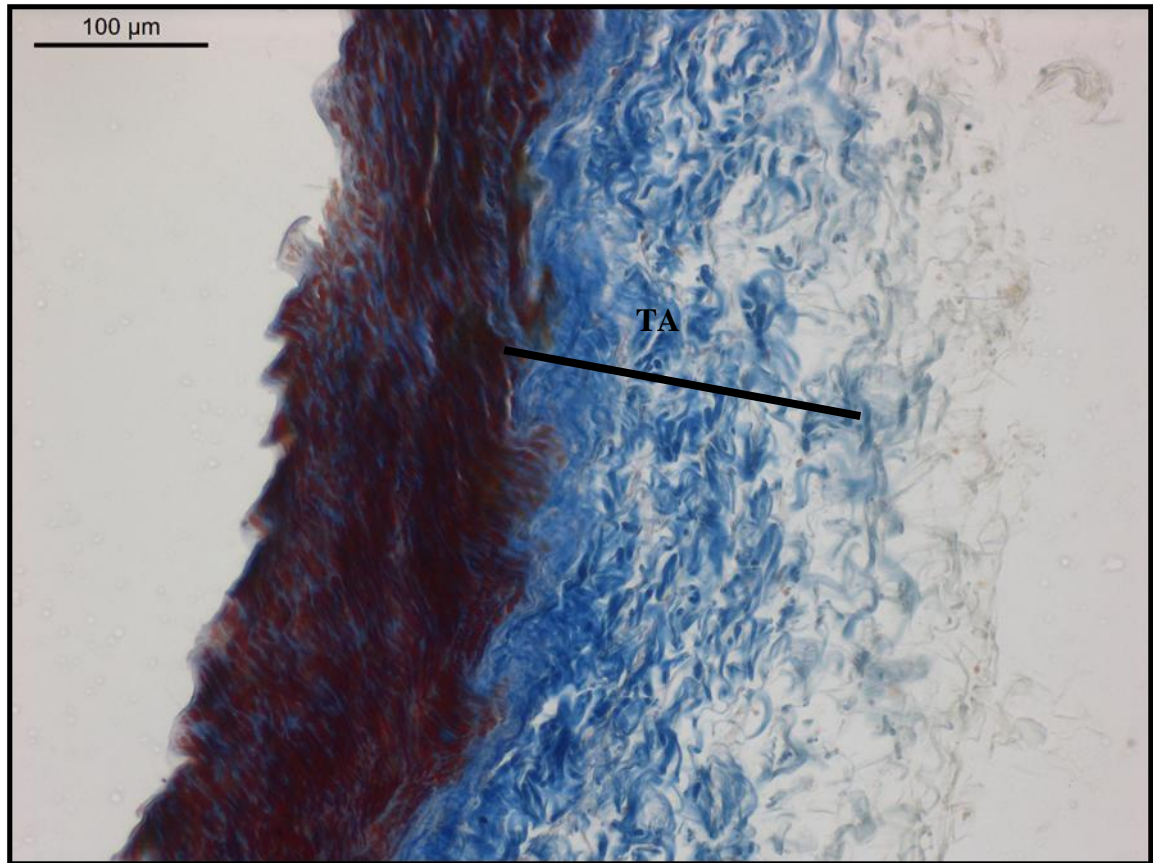


Figura14: Fotomicrografia da aorta abdominal de coelho. A reta indica a medida da espessura da camada adventícia. Grupo controle. Tricrômico de Mallory.

A espessura da túnica íntima e da túnica média, nos diferentes grupos foi obtida através do programa image J utilizando as lâminas coradas pelo picro sirius sem luz polarizada (Figura 15).

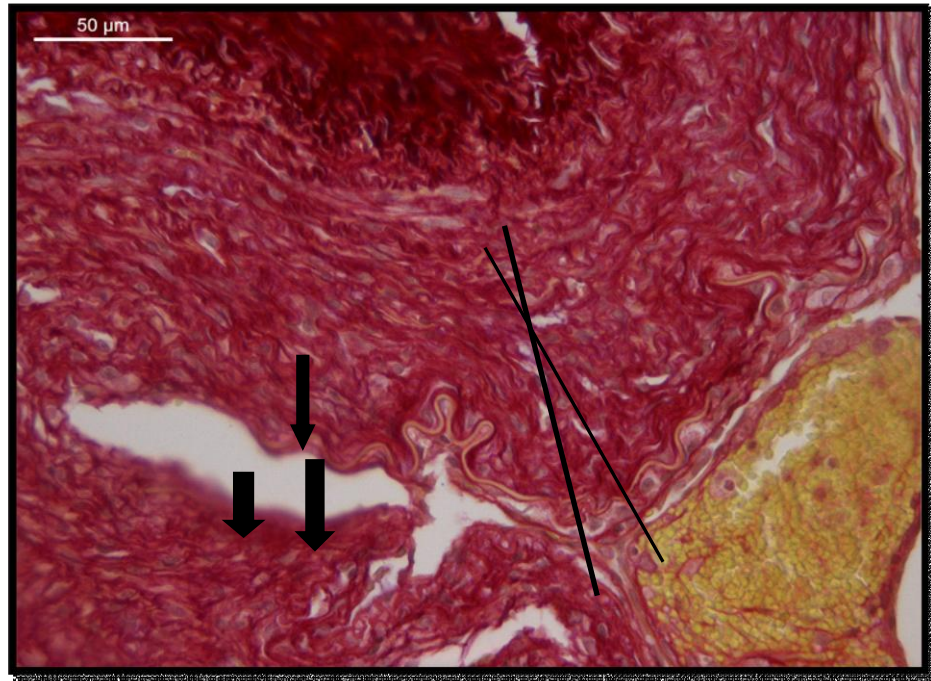


Figura 15: Fotomicrografia da região do implante. Animal submetido ao implante na aorta após 7 dias. Observar a descontinuidade da Lâmina elástica interna (seta). Picro sirius red.

Para a observação de lâminas elásticas, na camada média a aorta, foram utilizadas lâminas coradas pela técnica da orceína (Figura 16).

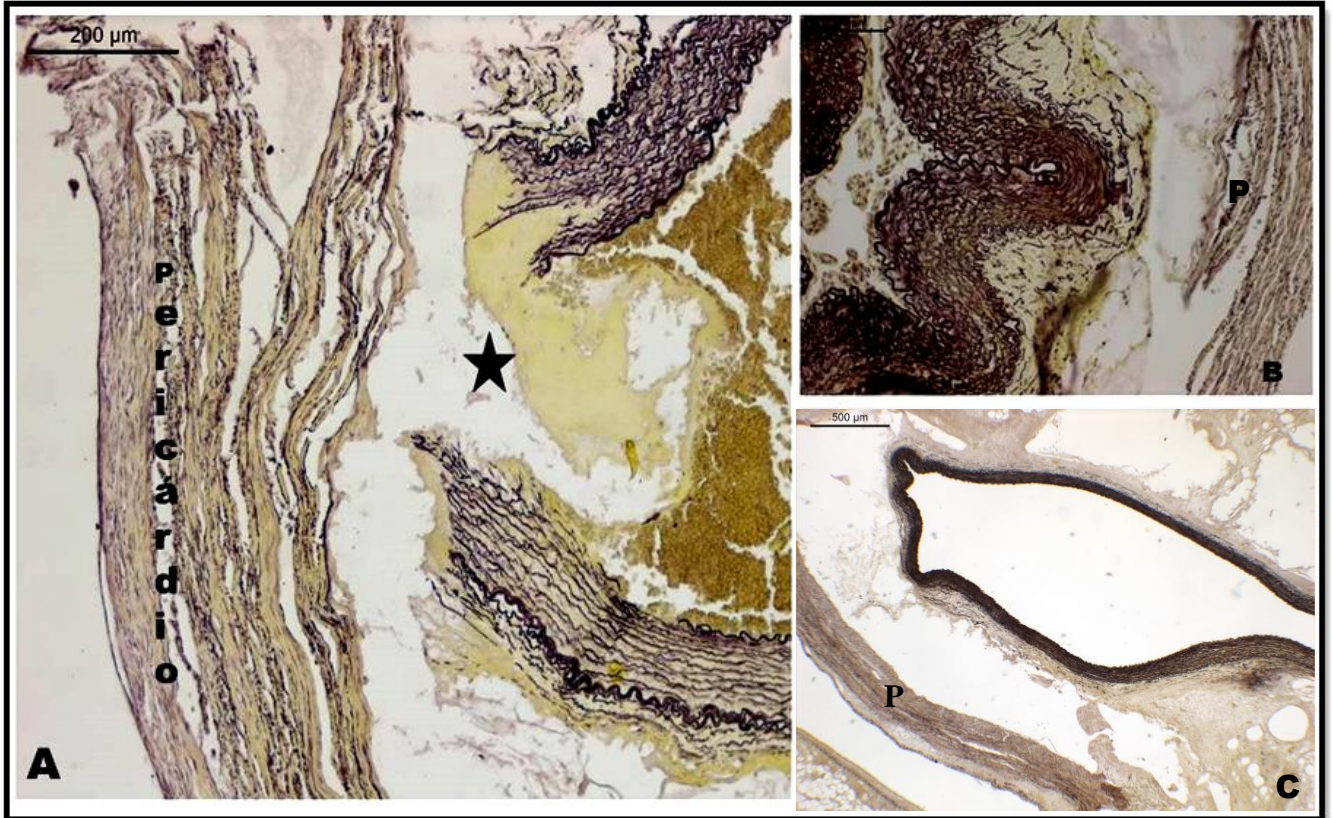


Figura 16: Fotomicrografia da região do implante. A- Implante 7 dias. Notar o pericárdio e a área da incisão com o adesivo. B- Implante 14 dias. Túnica média com abundância de fibras e lâminas elásticas. P- Pericárdio. C- Implante com 21 dias. Orceína.

4.2 Análise Dopplerfluxométrica

A altura da aorta abdominal foi obtida através de ultrassonografia (Figura 17).

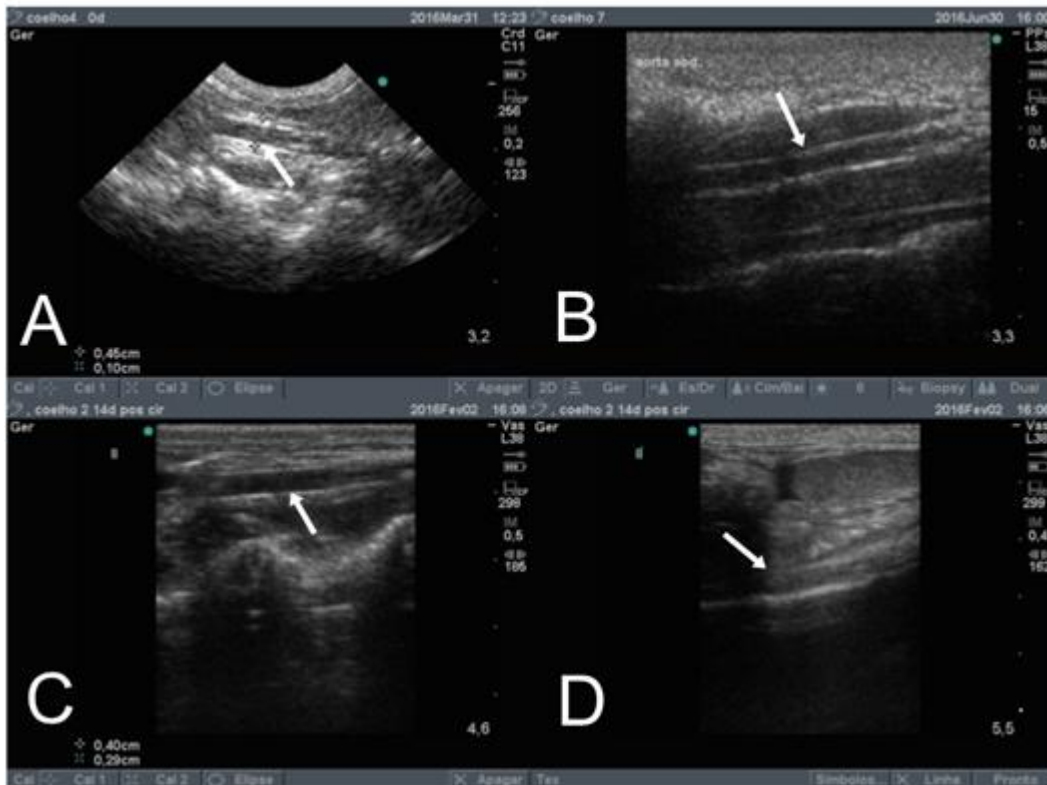


Figura 17: Fotografia da mensuração altura da aorta. A- Grupo controle, B- Grupo I, C- Grupo III e D- grupo IV.

No gráfico abaixo estão representadas a média e desvio padrão da altura da aorta abdominal dos coelhos do grupo controle e dos coelhos submetidos ao implante. O grupo I com média e desvio padrão $0,431 \pm 0,030$, grupo II com média e desvio padrão de $0,404 \pm 0,100$, grupo III com média e desvio padrão de $0,408 \pm 0,008$ e grupo IV com média e desvio padrão de $0,431 \pm 0,006$ ($p= 2,095$).

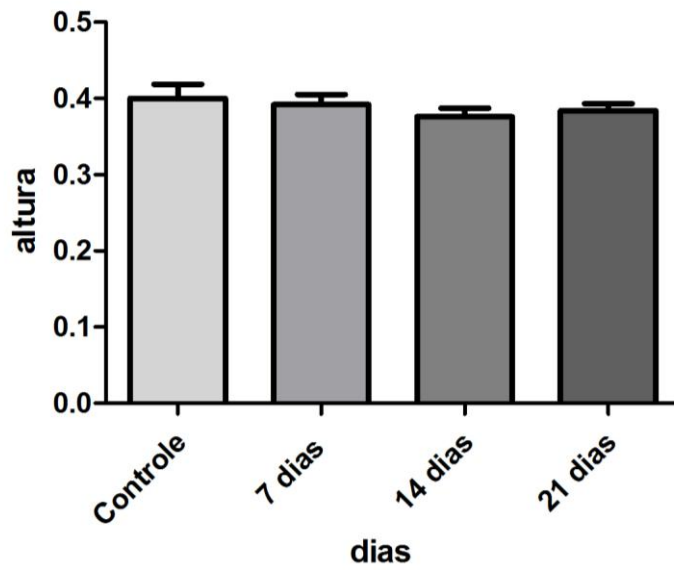


Gráfico 3: Representa a altura da aorta dos grupos controle, sete, 14 e 21 dias.

O fluxo de sangue da aorta abdominal por meio de Dopplerfluxometria (Figura18).

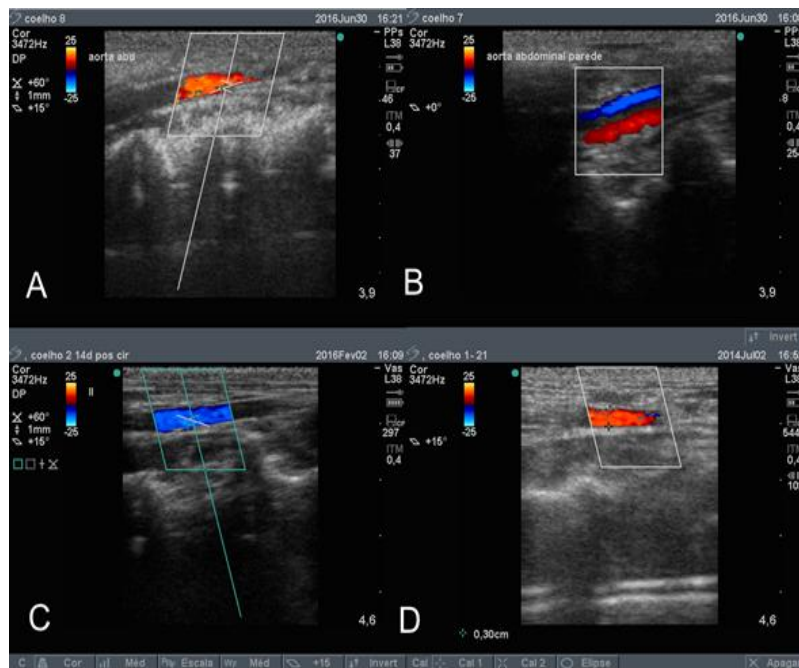


Figura 18: Fotografia da avaliação do fluxo de sangue através da Dopplerfluxometria.

A- Grupo controle, B- implante sete dias, C- implante 14 dias e D-implante 21 dias.

Índice de resistividade e índice de pulsatilidade (Figura 19).

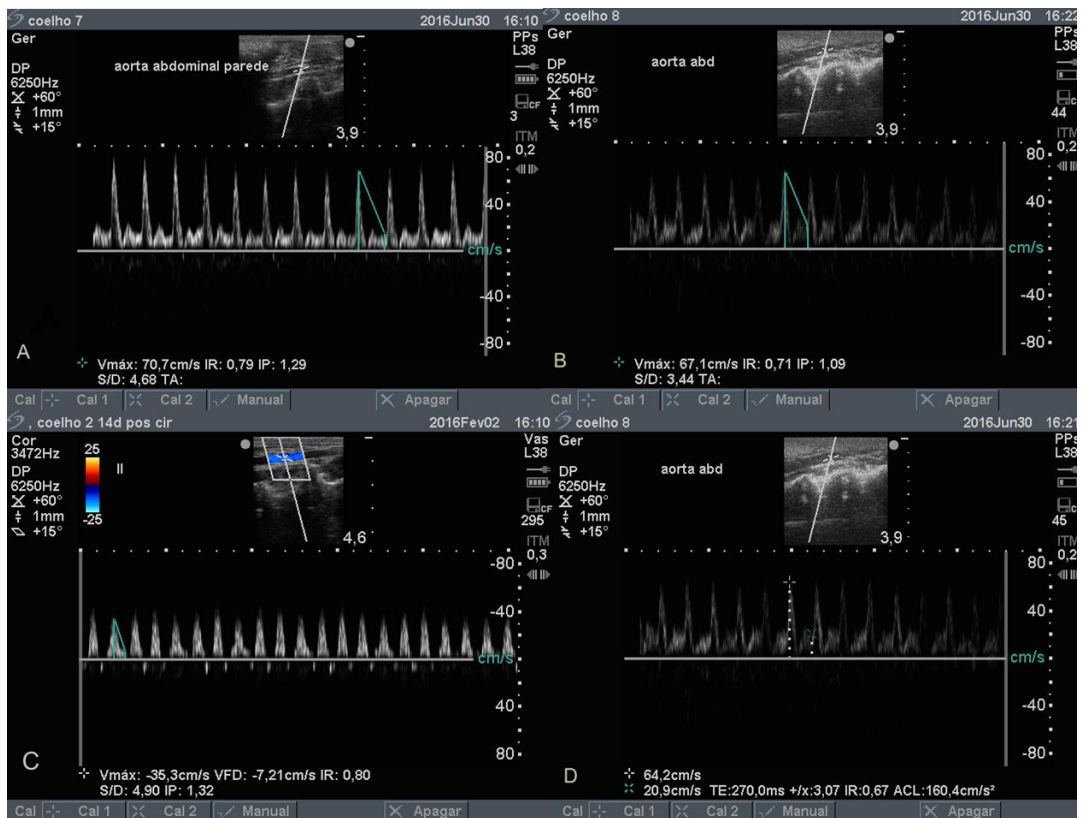


Figura 19: Fotografia mostrando índice de resistividade e índice de pulsatilidade, A- grupo controle, B- animais operados com sete dias, C- animais com 14 dias de operados e D- animais com 21 dias de operado.

No gráfico abaixo estão representadas a média e desvio padrão do índice de resistividade dos coelhos do grupo controle e dos coelhos submetidos ao implante. O grupo I com média e desvio padrão $0,742\pm 0,061$, grupo II com média e desvio padrão de $0,612\pm 0,131$, grupo III com média e desvio padrão de $0,620\pm 0,100$ e grupo IV com média e desvio padrão de $0,635\pm 0,033$ ($p=0,0416$).

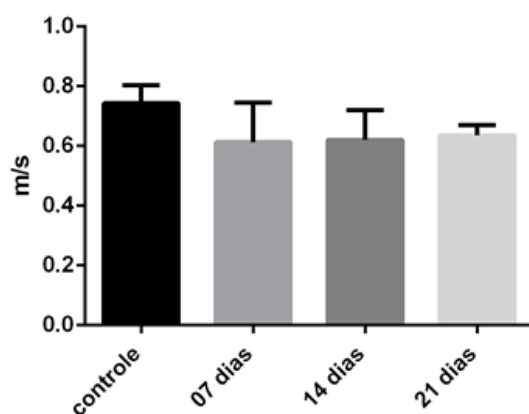


Gráfico 4: Representa o índice de resistividade dos grupos controle, sete, 14 e 21 dias.

No gráfico abaixo estão representadas a média e desvio padrão do índice de pulsatilidade dos coelhos do grupo controle e dos coelhos submetidos ao implante. O grupo I com média e desvio padrão $1,289\pm 0,159$, grupo II com média e desvio padrão de $1,150\pm 0,029$, grupo III com média e desvio padrão de $1,311\pm 0,026$ e grupo IV com média e desvio padrão de $1,333\pm 0,014$ ($p=0,0025$).

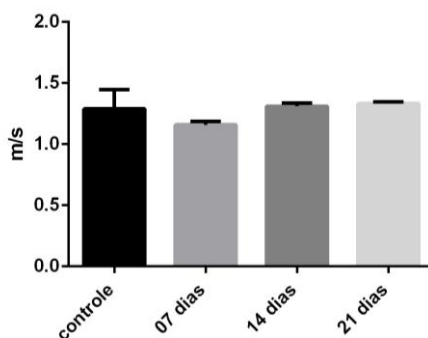


Gráfico 5: Representa o índice de pulsatilidade dos grupos controle, sete, 14 e 21 dias.

Espessura da parede da aorta do grupo controle e dos animais submetidos ao implante (Figura 20).

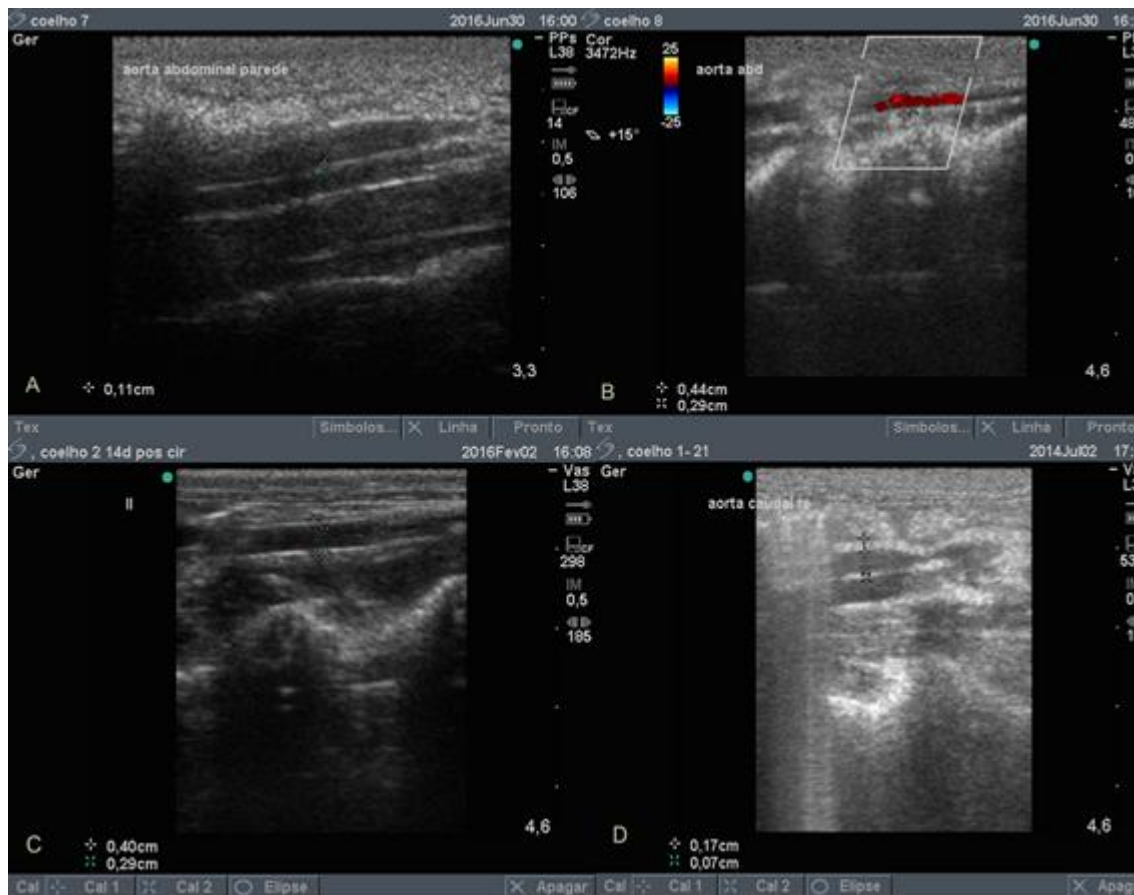


Figura 20: Fotomacrografia da ultrassonografia com Doppler mostrando a espessura da parede da aorta. A- Grupo controle, B- grupo com implante com sete dias, C- grupo com 14 dias e D- grupo com 21 dias.

No gráfico abaixo estão representadas a média e desvio padrão da espessura aorta abdominal dos coelhos do grupo controle e dos coelhos submetidos ao implante. O grupo I com média e desvio padrão $0,107 \pm 0,011$, grupo II com média e desvio padrão de $0,105 \pm 0,007$, grupo III com média e desvio padrão de $0,108 \pm 0,008$ e grupo IV com média e desvio padrão de $0,121 \pm 0,006$ ($p < 0,0105$).

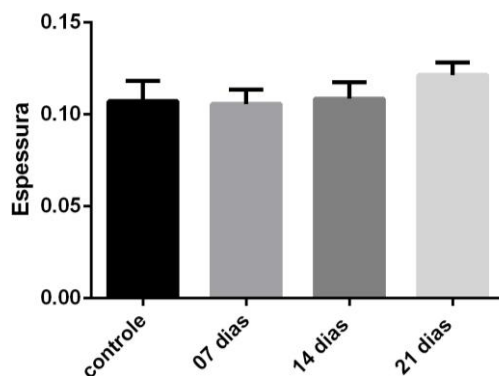


Gráfico 6: Representa a espessura da aorta dos grupos controle, sete, 14 e 21 dias.

No gráfico abaixo estão representadas a média e desvio padrão da velocidade do pico sistólico dos coelhos do grupo controle e dos coelhos submetidos ao implante. O grupo I com média e desvio padrão $49,44 \pm 2,260$, grupo II com média e desvio padrão de $67,49 \pm 3,128$, grupo III com média e desvio padrão de $35,07 \pm 0,65$ e grupo IV com média e desvio padrão de $31,50 \pm 1,190$ ($p < 0,0001$).

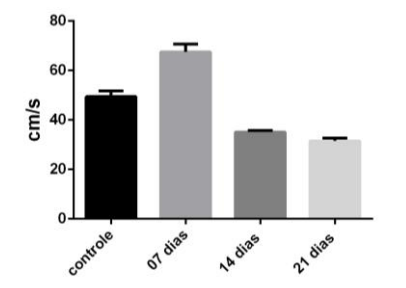


Gráfico 7: Representa a do pico sistólico dos grupos controle, sete, 14 e 21 dias.

No gráfico abaixo estão representadas a média e desvio padrão da velocidade do pico diastólico dos coelhos do grupo controle e dos coelhos submetidos ao implante. O grupo I com média e desvio padrão $8,264 \pm 0,292$, grupo II com média e desvio padrão de $16,07 \pm 0,680$, grupo III com média e desvio padrão de $7,090 \pm 0,171$ e grupo IV com média e desvio padrão de $10,37 \pm 0,427$ ($p < 0,0001$).

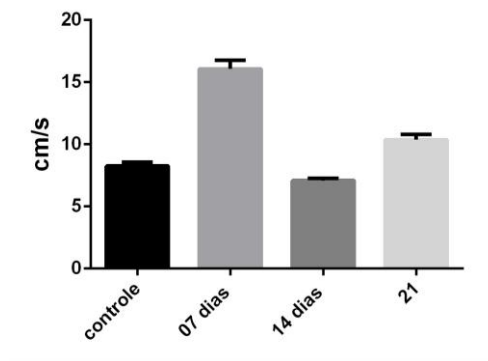


Gráfico 8: Representa a velocidade diastólica final dos grupos controle, sete, 14 e 21 dias.

No gráfico abaixo estão representadas a média e desvio padrão da relação sístole diástole dos coelhos do grupo controle e dos coelhos submetidos ao implante. O grupo I com média e desvio padrão $4,263 \pm 1,042$, grupo II com média e desvio padrão de $2,854 \pm 1,153$, grupo III com média e desvio padrão de $3,890 \pm 1,017$ e grupo IV com média e desvio padrão de $3,201 \pm 0,171$ ($p = 0,0376$).

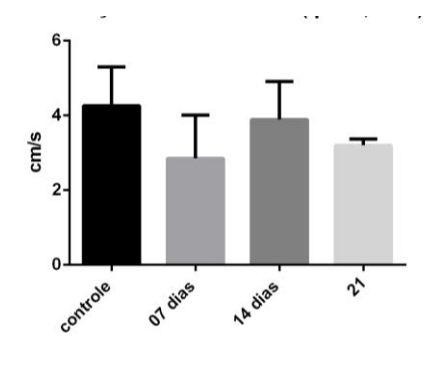


Gráfico 9: Representa a relação sístole diástole dos grupos controle, sete, 14 e 21 dias.

5 DISCUSSÃO

5.1 Aortoplastia

O pericárdio bovino vem sendo utilizado como mais uma opção para implantes em cirurgias vasculares e tornando-se muitas vezes primeira opção de biomaterial em medicina, medicina veterinária ou em estudos experimentais.

Keshavamurthy et al, (2015) utilizaram o pericárdio bovino para conter sangramento pós cirúrgico em aorta ascendente de um doente humano, onde foi realizado implante no seguimento proximal dessa artéria. Esse procedimento foi realizado por meio de sutura com fio cirúrgico de Polipropileno 4-0 com agulha de pequeno porte para não comprometer o local da sutura com sangramentos, e também utilizou hemostáticos de borracha. O material de pericárdio bovino foi de primeira escolha em confronto com outros tipos de técnicas, levando em consideração local da intervenção. O retalho de pericárdio bovino está tecnicamente pronto é facilmente aplicável, o que o torna uma ferramenta no repertório do cirurgião.

No presente estudo observou-se que a fixação do enxerto de pericárdio de avestruz com cola cirúrgica Glubran 2® na aorta abdominal de coelhos, foi exequível não apresentando hemorragia no sítio da enxertia, não havendo necessidade de sutura ou de adesivos hemostáticos. A cola mostrou-se eficaz como método de fixação de enxerto biológico, comparando com sutura que aumenta o tempo de clampeamento da aorta, tornando essa técnica recomendável para possíveis cirurgias em aorta ou outras artérias com menor diâmetro.

Sarah Coleman et al, (2014) observaram o uso do pericárdio bovino em cirurgia urológica, dos quais três para veia cava inferior, um no sistema venoso Ilíaco, dois para substituir a veia renal esquerda e um para autotransplante sendo quatro como enxerto tubular e três enxertos plano. A venoplastia da veia cava inferior foi realizada através de sutura contínua por fios de Polipropileno 4-0, no sistema venoso ilíaco com fio de Polipropileno 5-0 com sutura contínua e a veia renal com fio de Polipropileno 6-0 de forma contínua. Nenhum doente foi mantido com anticoagulação, e apenas dois apresentaram trombose venosa. Esse relato de caso concluiu que o enxerto de pericárdio bovino tubular e o plano apresentam aplicabilidade, quando é necessário a reconstrução venosa durante a cirurgia urológica.

Na presente pesquisa foram utilizados coelhos nos quais aplicou-se enxertos de pericárdio avestruz circular em aorta abdominal. A fixação foi realizada apenas por meio de

cola cirúrgica para finalização da aortoplastia sem utilização de fios cirúrgicos para fixar o implante ou controlar qualquer tipo de hemorragia. Os animais foram submetidos a uma terapêutica com medicação anticoagulante. O Doppler não revelou presença de trombose na região do enxerto ou em todo seguimento da aorta examinado em todos os grupos. O pericárdio de avestruz como enxerto para aortoplastia fixado com cola cirúrgica mostrou uma excelente aplicabilidade.

Kubota H et al, (2012) em um relato de caso de um homem de 77 anos que foi submetido a gastrectomia parcial e omentomia para tratar câncer gástrico precoce. A tomografia computadorizada do tórax revelou crescente pseudoaneurisma e formação de abscessos depois de um mês do procedimento cirúrgico. Este homem foi submetido a uma ressecção da aorta ascendente por uma esternotomia mediana e a utilização de circulação extracorpórea; teve como procedimento cirúrgico uma aortoplastia com enxerto de pericárdio equino sem omentopexia, realizou-se sua anastomose com sutura contínua e fio de Polipropileno 4-0 e para reforçar a sutura colocou-se cola biológica com rifamicina. Uma tomografia pós-operatória de 2 semanas mostrar fluídos no local do enxerto, desapareceu 24 meses depois da cirurgia sem mais intercorrências. A substituição com o enxerto plano de pericárdio equino sem omentopexia para tratar aorta infectada e pseudoaneurisma é um procedimento simples na qual sua durabilidade a longo prazo e confirmada, pode demonstrar as vantagens deste material como uma opção de tratamento para aneurisma da aorta.

No presente estudo, cujo modelo foi coelhos adultos e machos, foram utilizados pericárdio de avestruz preservado em glutaraldeído e fixado por cola cirúrgica sem a utilização de técnicas de suporte para fixação do enxerto com tecidos adjacentes. Os animais foram avaliados por exames de Doppler no pré-operatório, com sete dias, 14 dias e 21 dias; nesses animais não foi observado presença de fluído, trombose no local do enxerto ou em regiões próxima ao implante. A aortoplastia com a técnica de implante de pericárdio de avestruz mostrou ser um procedimento aplicável e promissor para a execução de manobras cirúrgicas que envolvam a aorta abdominal.

Weixiao li et al, (2012) criaram um modelo experimental de aneurisma na aorta torácica descendente usando enxerto autólogo. Os animais tiveram o mesmo pós-operatório e sem a utilização de drogas anticoagulante, através de obstrução parcial da aorta torácica descendente com uma clampe vascular, a fixação do enxerto autólogo de pericárdio por um padrão de sutura contínua com fio polipropileno 5-0. Os animais foram submetidos a tomografia computadorizada mensalmente. O enxerto autólogo de pericárdio em sua

superfície interna foi coberto por endotélio e fibra de colágeno e a linha de sutura com tecido conjuntivo. O modelo criado mostrou-se adequado, seguro e eficiente. Esse passo é relevante para criar e estudar novos enxertos aplicados ao arco aórtico.

Em nosso estudo experimental com coelhos no qual foi utilizado um enxerto heterólogo com pericárdio de avestruz para o procedimento de aortoplastia abdominal, fixado por meio de cola cirúrgica e terapêutica com anticoagulante, não apresentou problemas de sangramento no local de enxertia com isso mostrou uma possibilidade de um novo material biológico seguro e eficiente para intervenções cirúrgicas vasculares.

Saporito WF et al, (2011) realizaram um estudo experimental em suínos, para avaliar o comportamento do retalho pericárdio bovino para remendo vascular, na aorta abdominal um justaposto ao peritônio com a face lisa e outro justaposto ao peritônio com a face áspera. Os segmentos da aorta no quais estavam os implantes foram removidos e seccionados longitudinalmente. As amostras sofreram avaliação macroscópica sendo avaliado a deformação do retalho através de um corte longitudinal em seu eixo maior e deposição de cálcio entorno do implante e no tecido da aorta, essa calcificação foi classificada em primeiro com um foco de calcificação, segundo com dois focos de calcificação e terceiro grau com mais de três focos de calcificação. Os implantes foram bem incorporados e observando-se dilatação na maioria dos animais no sítio do implante.

Em nosso estudo a fixação dos enxertos se deu por meio de cola cirúrgica. Não foi observada dilatação aneurismática em nem um indivíduo desse estudo. O grupo que foi submetido ao abate com sete dias não apresentou aderência a tecidos ou órgãos adjacentes, nos animais abatidos com 14 dias foi observado uma aderência moderada em tecidos adjacentes e os animais abatidos com 21 dias apresentaram uma aderência mais complexa a tecidos adjacentes. Não foi observado pontos de calcificação no local do implante nem dilatação. O enxerto foi bem incorporado ao seu sítio de implante dando provas de aplicabilidade da técnica e do material.

Santibáñez-Salgado JA1 et al, (2010) usaram cães sem raça definida hípidos com dois anos idade e criaram um defeito no septo atrial. Os animais foram divididos em dois grupos dos quais oito foram utilizados Dracon e oito pericárdios bovino preservado por Glutaraldeído liofilizado em ambos foi realizada sutura padrão contínuo simples com fio de polipropileno 4-0. Os cães foram mortos após seis meses de cirurgia para observação macroscópica e microscópica. Na macroscopia observou-se o comportamento de ambos os implantes e sutura dos dois lados atriais; no implante de pericárdio bovino preservado por Glutaraldeído

lioofilizado, teve sua análise macroscópica feita através de rastreamento da área do implante e comparado com a área basal antes do implante na qual não foi observado decência de sutura, formação de coágulo e vegetação e toda a superfície estava coberta por tecido que era indistinguível do normal atrial. No grupo de implante de Dracon não foi observado decência de sutura, coágulo e vegetação, mas ficou bem visível a linha de sutura não estando recoberta por tecido muscular atrial.

No presente trabalho foi utilizado pericárdio de avestruz também preservado em Glutaraldeído como implante único e na observação macroscópica não foi observado coágulo, dilatação aneurismática. O implante apresentou boas características de fixação e bem incorporado ao seu sítio tornando a técnica exequível.

Barros et al, (2007) pesquisaram arterioplastia femoral em cães com remendo de membrana de biopolímero de cana-de-açúcar com avaliação hemodinâmica e histopatológica. Os animais foram distribuídos em dois grupos estabelecidos de forma aleatória: Grupo I, oito remendos arteriais com o biopolímero, Grupo II, oito remendos arteriais com PTFE. A velocimetria Doppler percutânea das artérias femorais, direita e esquerda foi realizada para controle pré-operatório. A avaliação clínica consistiu no exame dos pulsos femorais, na avaliação da marcha e na observação da presença de tumor pulsátil, hematoma ou hemorragia e infecção da ferida operatória. Não foram encontrados casos de infecção, dilatação ou aneurisma, ruptura ou falso-aneurisma e trombose em nenhum dos grupos. Não foram detectados dilatação ou falsos aneurismas nos dois grupos. Foi também observado fibrose na sua superfície externa.

No trabalho presente não foi encontrado dilatação aneurismática, infecção, trombose e fibrose foi observada nos animais mortos com 14 e 21 dias. A avaliação clínica consistiu no exame do pulso femoral bilateral no pós-operatório e na região retro implante no transoperatório. A enxertia com pericárdio de avestruz mostrou estabilidade na fixação possibilitando o pericárdio de avestruz uma nova escolha de biomaterial para implante vascular.

Greca et al, (2005) estudaram a biocompatibilidade da submucosa suína e pericárdio bovino usado como enxerto em veia cava de cães sem raça definida, a fixação de ambos os implantes foi realizada através de sutura simples contínua com fio de Polipropileno 5-0. Para conservação dos implantes foi utilizado glutaraldeído e neomicina a 10%. No 40º dia de pós-operatório os cães foram submetidos a eutanásia e as peças cirúrgicas foram removidas e analisadas. A análise macroscópica consistiu na avaliação da presença de calcificações,

estenoses, dilatações por aneurismas, trombos e circulação. Na análise macroscópica não foram observadas calcificações nem dilatações aneurismáticas. Observou-se estenose da veia cava em um cão do grupo com implante de submucosa de suíno. Já em contrapartida no grupo com implante de pericárdio bovino foi observado aumento da circulação colateral em dois cães. Estenose foi observada em três cães do grupo com pericárdio bovino.

No presente estudo de aortoplastia abdominal com pericárdio de avestruz fixado com cola cirúrgica também não foi observado dilatação aneurismática, trombose, circulação colateral ou estenose, provando a aplicabilidade desse modelo de enxerto de pericárdio de avestruz.

Yen chang et al, (2004) utilizaram dois tipos de retalho de pericárdio bovino um preservado por Glutaraldeído e outro por genipina em cães sem raça definida aplicado como remendo vascular tronco pulmonar. As amostras foram retiradas em intervalo de uma semana, um mês e seis meses de pós-operatório e macroscopicamente mostrou presença de trombo na área do enxerto de implante de pericárdio bovino preservado com Glutaraldeído e no preservado por genipina. Não foi observado a presença de dilatação aneurismática em todas as amostras.

Na presente pesquisa na observação macroscópica não foram visualizados trombos ou dilatações aneurismáticas na região do implante.

Pires et al, (1997) realizaram estudo com pericárdio bovino preservados em Glutaraldeído para substituir parcialmente as paredes do átrio esquerdo, da aorta torácica e do pericárdio em cães adultos utilizando sutura contínua de Polipropileno 5-0. O mesmo procedimento foi realizado na aorta torácica. O exame anatomopatológico não evidenciou, em nenhuma das peças alterações da estrutura do retalho de pericárdio bovino.

No trabalho presente, foram implantados, enxertos de pericárdio de avestruz na técnica de aortoplastia abdominal com fixação por meio de cola cirúrgica. Não foram não houve observação dos limites do enxerto devido a aderência a tecidos adjacentes, porém o implante apresentou estabilidade em sua fixação e ausência de alterações estruturais e uma notável aplicabilidade.

Sotelo et al, (1997) estudaram o aumento do lúmen da artéria femoral em cães por arteriotomia e circundada com pericárdio de bezerro preservado em Glutaraldeído. O procedimento cirúrgico foi realizado na artéria femoral. Um segmento da artéria femoral

direita de aproximadamente seis centímetros foi exposto abaixo do canal inguinal; o pericárdio de bezerro foi suturado entorno da artéria femoral em ambas as extremidades com cinco milímetros de área suturada com um padrão de sutura simples contínuo com fio monofilamento de nylon 3-0 seguido de um clampeamento da artéria através de clampes vasculares para o procedimento de arteriotomia longitudinal de três centímetros. Foram feitas avaliações clínicas mostraram um pulso arterial normal na perna operada, e nenhuma anormalidade circulatória foi observado. Um ano após a arteriotomia e ao implante do enxerto, foi realizado Doppler bilateral realizado nas artérias femorais de cada cão. Clinicamente, todos os quatro cães apresentaram circulação sanguínea normal no membro operado que exibida atividade e a cicatrização da área operada. A Um no após a cirurgia, um estudo Doppler demonstrou permeabilidade das artérias femorais.

Na aortoplastia realizada na presente pesquisa, Todos os animais foram submetidos ao exame de Doppler. No pós-operatório os animais apresentaram mobilidade dos membros posteriores. Os animais apresentaram pulso normocinético no transoperatório. O enxerto de pericárdio de avestruz se mostrou uma boa opção como material biológico para cirurgias vasculares.

Moritz et al, (1991) fizeram um estudo com ovelhas adultas para analisar a formação espontânea de endotélio em enxerto de pericárdio bovino preservado em glutaraldeído, enxertos tratados após fixação por glutaraldeído, com solução de aminoácidos e de baixo pH e enxerto de politetrafluoretileno expandido (PTFE), todos implantados em artéria carótida. Na primeira e segunda semana pós-operatória verificou-se fluxo sanguíneo através do exame de Doppler e foi repetido após um e dois meses. Três meses após a cirurgia os animais foram mortos para a retirada de ambos os enxertos. Em duas fêmeas prenhas, todos os enxertos foram ocluídos dois de enxerto tratado após a fixação, um enxerto de pericárdio preservado por glutaraldeído e um enxerto de (PTFE). Um enxerto de pericárdio preservado por glutaraldeído apresentou uma oclusão após seis semanas de operado. Neste momento o enxerto tratado após a fixação apresentou trombos e ocluídos no último mês de experiência, no restante dos animais, um enxerto de (PTFE) foi ocluído. Dois enxertos de (PTFE) e um tratado após a fixação apresentaram obstrução trombótica. Os enxertos tratados após a fixação apresentavam uma superfície menor coberta por trombos que os enxertos preservados por glutaraldeído e enxertos de (PTFE).

No presente estudo com enxerto de pericárdio de avestruz. Não houve comparação com outro tipo de material. Foi administrado anticoagulante em todos os animais no pós-operatório. Todos os animais foram submetidos ao exame de Doppler. Não foi observado trombo ou oclusão da aorta no sítio do implante em nem um grupo, foi observado aderência em todos os animais dos grupos de 14 e 21 dias. O pericárdio de avestruz se mostrou relevante para essa técnica de aortoplastia.

Zhang Bengu & Chen Xiaofeng (1982) estudaram a reconstrução da aorta abdominal utilizando tubo de pericárdio bovino em cães. Os tubos de pericárdio bovino foram todos tratados com glutaraldeído. A aorta abdominal foi ocluída por clampes vasculares em extremidade cranial e extremidade caudal junto com dois pares de artérias lombares e a mesentérica caudal para ressecção da aorta e o implante tubular reto de pericárdio bovino; o tubo de pericárdio escolhido foi ligeiramente menor que o diâmetro da aorta os enxertos foram embebidos em solução salina e em solução salina heparinizada sucessivamente, a sutura foi realizada com fio de dracon 3-0 em todas as anastomoses; as anastomoses desses 13 cães foram do padrão termino-terminal, durante esse procedimento foram injetados 10 miligramas de heparina para prevenção de trombo na extremidade caudal. Três cães foram submetidos a um enxerto com um padrão de anastomose termino-lateral uma na extremidade cranial e outra na extremidade caudal, nesse procedimento a aorta foi parcialmente obstruída por pinças vasculares e não foi utilizado heparina. Após as cirurgias não foi administrado anticoagulante. Os 16 animais foram observados de um a 190 dias com uma média de 63 dias. No exame macroscópico não foi observado em nem um animal implantado a formação de dilatação aneurismática ou sinal de estenose mas havia a presença de tecido conjuntivo aderido em toda a superfície do enxerto.

Na pesquisa em questão, sobre aortoplastia. Nesse procedimento realizou-se a fixação de um enxerto de pericárdio de avestruz com dois milímetros superfície lisa e plana, através da utilização de cola cirúrgica. No exame macroscópico não foi observado em nem um animal a presença de estenose ou dilatação aneurismática. Houve presença de tecido conjuntivo aderido em todos os animais dos grupos de 14 e 21 dias. O enxerto de pericárdio de avestruz se mostrou aplicável em aorta abdominal de coelhos.

5.2 Análise estrutural em Microscopia de Luz

Weixiao et al, (2012) estudaram a criação de um modelo experimental de aneurisma na aorta torácica descendente usando enxerto autólogo em cães adultos sem raça definida, com um padrão de sutura contínua com fio polipropileno 5-0. No quarto mês os animais foram mortos, para a retirada do seguimento da aorta torácica desce onde fora implantado o enxerto autólogo, fixado em solução de formaldeído a 10% e analisado em microscopia de luz após coloração com hematoxilina e eosina. O enxerto autólogo de pericárdio em sua superfície interna foi coberto por endotélio e fibras colagenosas e a linha de sutura com tecido conjuntivo. O modelo criado mostrou-se adequado, seguro e eficiente.

Na presente pesquisa empregando-se pericárdio de avestruz. Nos animais mortos com sete dias foi observado a aorta com forte reação inflamatória, assim como uma desorganização das camadas íntima e média; o pericárdio se manteve íntegro e suas fibras colagenosas foram resistentes o suficiente para impedir extravasamento de sangue. Nas amostras coradas por Picrosirius red observou-se que no sétimo dia o colágeno da camada adventícia não se organizou e o vaso se encontra em íntima relação com o pericárdio implantado. No 14º dia observa-se uma reestruturação da camada adventícia. Ao 21º dia a aorta já se apresenta com suas camadas consolidadas. O implante de pericárdio de avestruz revelou-se uma excelente opção de biomaterial para aortoplastia em coelhos.

Saporito WF et al, (2011) em estudo experimental com suínos jovens da raça Large White, para avaliar o comportamento do retalho pericárdio bovino preservado em Glutaraldeído para remendo vascular na aorta abdominal, observaram a presença de tecido conjuntivo fibroso na área de integração do pericárdio com a aorta na face interna do implante e metaplasia óssea cartilaginosa na camada interna. Todos os implantes foram bem incorporados e foi observado dilatação no sítio do implante em grande parte dos animais.

No presente trabalho foram implantados enxerto de pericárdio de avestruz em aorta abdominal com cola cirúrgica. Nos implantes não foi observado metaplasia óssea cartilaginosa, foi observado aderência do sítio do implante a tecidos adjacentes nos grupos de 14 e 21 dias sem dilatação em todos os grupos. A técnica de aortoplastia com uso de pericárdio de avestruz se mostrou exequível e com um comportamento tecidual adequado.

Santibáñez-Salgado et al, (2010) usaram cães sem raça definida com adultos e criaram um defeito no septo atrial. Os animais foram divididos em dois grupos dos quais o foram utilizados Dracon e pericárdios bovino preservado por Glutaraldeído liofilizado, ambos foi

realizada sutura padrão contínuo simples com fio de polipropileno 4-0. Os cães foram mortos após seis meses de cirurgia para observação macroscópica e microscópica. Foi observado a presença de células endoteliais, projeções de músculo atrial e a face atrial esquerda coberta por colágeno bem organizado, tecido adiposo como também área de metaplasia cartilaginosa. No grupo que utilizou o implante de Dracon mostrou o implante encapsulado por colágeno bem organizado e metaplasia cartilaginosa.

Na presente pesquisa a realização de aortoplastia com de pericárdio de avestruz foi observado. Nos implantes não ocorreu metaplasia óssea cartilaginosa, foi observado aderência do sítio do implante a tecidos adjacentes nos grupos de 14 e 21 dias. A técnica de aortoplastia com uso de pericárdio de avestruz se se mostrou viável.

Barros Marques et al, (2007) pesquisaram arterioplastia femoral em cães com remendo de membrana de biopolímero de cana-de-açúcar com avaliação hemodinâmica e histopatológica. A avaliação histológica demonstrou a presença em todos os remendos dos dois grupos de uma reação inflamatória crônica mediada por linfócitos, neutrófilos sem diferenças estatísticas significativas entre os grupos, além de fibrose na sua superfície externa. Na superfície interna ocorreu a formação de uma nova camada íntima contínua com a íntima da artéria receptora, constituída de fibrose. Nos dois grupos não foi possível confirmar a presença de células endoteliais na superfície interna, pois não foi utilizado o teste imunohistológico. Nos dois grupos não foram encontrados focos de processo degenerativo e áreas de calcificação. No grupo controle com os remendos de PTFE, ocorreu em todos casos a invasão dos remendos por fibroblastos.

Foram utilizados na presente pesquisa enxerto com pericárdio de avestruz. Não foram encontrados processo degenerativos ou áreas de calcificação, em nem uma das amostras analisadas observou-se metaplasia cartilaginosa e ou invasão por fibroblasto no enxerto. O uso de pericárdio de avestruz como implantes em aorta abdominal de coelhos apresentou reações teciduais adequadas para o presente trabalho.

Greca et al, (2005) estudaram a biocompatibilidade da submucosa suína e pericárdio bovino usado como enxerto em veia cava de cães sem raça definida, a fixação de ambos os implantes foi realizada através de sutura simples contínua com fio de Polipropileno. Na análise microscópica subjetiva em ambos os grupos, nos segmentos distal e proximal ao local enxertado foi observado 100% de presença de endotélio e de músculo liso. No grupo de submucosa de suíno regeneração endotelial esteve presente na área do enxerto em 75% dos casos e no grupo de pericárdio bovino este valor foi de 62,5%. O colágeno esteve presente

em 100% no local enxertado em ambos os grupos. O grupo com enxerto de submucosa de suíno, no local enxertado, apresentou 74,67% de músculo e 25,40% de colágeno. Já no grupo que foi utilizado pericárdio de bovino para a realização do implante, na mesma região, demonstrou 32,93% de colágeno e 67,08% de músculo. Desta forma, podemos dizer que não foram encontradas diferenças significativas entre as duas estruturas de enxerto, em relação ao percentual de músculo e percentual de colágeno, no local do enxerto.

No presente trabalho observou-se nos animais mortos uma forte reação inflamatória na porção voltada para o lúmen do vaso, assim como uma desorganização das camadas íntima e média e o pericárdio se manteve íntegro e suas fibras colagenosas foram resistentes o suficiente para impedir extravasamento de sangue. As lâminas coradas por Picrosirius red nos mostrou em tempos diferente a organização do colágeno. Além disso, pode se observar que o pericárdio se manteve íntegro e que suas fibras colagenosas foram resistentes o suficiente para impedir extravasamento de sangue. Essas observações nos indicaram uma boa adequação da técnica de aortoplastia com utilização de cola cirúrgica como fixador do enxerto.

Yen Chang et al, (2004) utilizaram dois tipos de retalho de pericárdio bovino um preservado por Glutaraldeído e outro por genipina em cães sem raça definida aplicado como remendo vascular tronco pulmonar. Na análise histológica observou-se que o local do implante de pericárdio bovino preservado com genipina, com uma semana apresentou um grau menor de inflamação em relação ao enxerto de pericárdio bovino conservado em glutaraldeído, porém houve infiltrado de células inflamatórias em ambos os enxertos. Nas amostras com um mês foi observado migração do tecido do hospedeiro juntamente com colágeno e fibrinas nas camadas interna e externa nos dois grupos de enxertos estudados.

Nas amostras com um mês de pós-operatório observou-se que o enxerto preservado por genipina teve sua superfície toda coberta por células endoteliais o que não ocorreu nos implantes preservados por glutaraldeído e células musculares lisas foram observadas em ambos os enxertos. As amostras retiradas com seis meses apresentaram áreas de metaplasia cartilaginosa com presença de condrócitos, osteoclasto, trabéculas ósseas e medula óssea. No enxerto de pericárdio preservado por genipina foi observado uma área maior de metaplasia cartilaginosa em relação ao enxerto de pericárdio preservado em glutaraldeído.

Na presente pesquisa não foi observado metaplasia cartilaginosa em nem uma amostra com presença de condrócitos. O grau do processo inflamatório, foi mais forte no grupo morto com sete dias. O pericárdio de avestruz implantado mostrou uma reação inflamatória adequada tornando esse material uma boa opção para aortoplastia em coelhos.

Pires et al, (1997) realizaram estudo com pericárdio bovino preservados em Glutaraldeído para substituir parcialmente as paredes do átrio esquerdo, da aorta torácica e do pericárdio em cães adultos utilizando sutura contínua de Polipropileno 5-0. O mesmo procedimento foi realizado na aorta torácica. O exame anatomopatológico não evidenciou, em nenhuma das 63 peças, alterações da estrutura do retalho de pericárdio bovino. Mostrava-se constituído de tecido conjuntivo colágeno fibroelástico. Não foram observados fenômenos degenerativos, inflamatórios ou metaplásticos. Os retalhos de pericárdio bovino implantados no átrio esquerdo e na aorta apresentaram um comportamento distinto do implantado no pericárdio. Apresentaram na superfície lisa, em contato com a corrente circulatória, a deposição de tecido conjuntivo fibroso. Este tecido, aqui denominado de fibrose de aposição interna mostrou, por sua vez, um comportamento diferenciado entre o átrio esquerdo e a aorta. Mostrou-se mais espesso no átrio esquerdo do que na aorta. Na fibrose de aposição interna foi observada calcificação. Esta ocorreu de forma mais grosseira no átrio esquerdo. Na aorta apresentou neoformação de tecido elástico característico, que não foi observado no átrio esquerdo. Tanto a calcificação como a neoformação elástica apresentaram nítida relação com o tempo de implante.

No estudo por nós desenvolvido foram utilizados implante com enxerto de pericárdio de avestruz para aortoplastia. O grau do processo inflamatório mostrou sua variância de acordo com o tempo de cicatrização observado. A neoformação da fibra elástica foi observada nos animais abatidos com 14 e 21 dias; as amostras com 21 dias já apresentava organização completa. Essas informações obtidas reforçam a excelente qualificação do enxerto de pericárdio de avestruz como implante vascular.

Sotelo et al, (1997) estudaram o aumento do lúmen da artéria femoral em cães por arteriotomia e circundada com pericárdio de bezerro preservado em Glutaraldeído. O procedimento cirúrgico foi realizado na artéria femoral. Foi suturado entorno da artéria femoral com um padrão de sutura simples contínuo com fio monofilamento de nylon 3-0 seguido de um clampeamento da artéria através de clampes vasculares. Artéria femoral no local do implante foi retirada, e seccionada transversalmente para um estudo histológico. A artéria femoral contralateral foi retirada no mesmo segmento para controle. O estudo histológico das artérias submetidas à cirurgia demonstrou aumento do lúmen arterial. Uma característica interessante observada nas artérias foi a forma circular da artéria aumentada no lúmen dentro do cilindro, que era de um diâmetro similar em todas as quatro arteriotomias; após um ano de arteriotomia não foi observado processo inflamatório, observou-se o enxerto

estritamente integrado ao tecido cicatricial endógeno que uniu firmemente a parede externa da artéria com o pericárdio de bezerro implantado e uma camada completa de endotélio no local da arteriotomia. Uma ponte de tecido cicatricial de suporte cresceu debaixo do endotélio vascular.

Em nosso trabalho realizou-se implantes com enxerto em aorta. Em nosso experimento não se observou uma relação firme do enxerto com a parede externa da artéria, mais foi observado esse tipo de relação entre o enxerto e a adventícia no local da fixação com a cola cirúrgica. Em 100% da nossa amostra o enxerto de pericárdio implantado em aorta abdominal em coelhos se mostrou eficaz e intervenções em cirurgias vasculares.

Moritz et al, (1991) fizeram um estudo com ovelhas adultas para analisar a formação espontânea de endotélio em enxerto de pericárdio bovino preservado em Glutaraldeído, enxertos tratados após fixação por Glutaraldeído, com solução de aminoácidos e de baixo pH e enxerto de politetrafluoretileno expandido (PTFE), todos implantados em artéria carótida. Os enxertos foram fotografados e processados para microscopia de luz e eletrônica. Em todos os grupos experimentais, as anastomoses e as áreas de enxerto foram cobertas com células endoteliais. Isso foi composto por miofibroblastos, fibras de colágeno e fibra de elastina. Os pericárdios tratados após a fixação mostraram uma cobertura quase completa com células de endotélio. Os enxertos de (PTFE) apresentaram uma camada endotelial descontínua devido a presença de macrófagos observados na microscopia eletrônica. Os enxertos de pericárdio preservado em glutaraldeído apresentaram uma camada endotelial descontínua também pela presença de macrófagos. O enxerto de pericárdio tratado após a fixação por glutaraldeído apresentou uma melhor formação da camada endotelial espontânea.

Na presente pesquisa foram utilizados pericárdio de avestruz para realização de aortoplastia. Foi observado a camada de endotélio se organizando com os animais abatidos com 14 dias e completamente organizada nos animais abatidos com 21 dias. Essas observações nos mostrou a aplicabilidade e estabilidade do implante em aorta abdominal de coelhos.

Zhang Bengu & Chen Xiaofeng (1982) realizaram uma pesquisa sobre reconstrução da aorta abdominal utilizando tubo de pericárdio bovino em cães sem raça definida. Os tubos de pericárdio bovino foram todos tratados com glutaraldeído. A sutura foi realizada com fio de dracon 3-0 em todas as anastomoses. No exame histopatológico foi observado a extensão da camada íntima do enxerto. O exame microscópico revelou uma camada íntima neoformada semelhante a íntima da aorta submetida ao implante. O exame microscópico mostrou uma

estrutura com três camadas. Uma camada interna formada por endotélio, uma camada média formada por pericárdio bovino e uma camada externa formada por um tecido conjuntivo.

No presente estudo foram utilizados pericárdio de avestruz para realização de aortoplastia. Foi observado a camada de endotélio se organizando com os animais abatidos com 14 dias e completamente organizada nos animais abatidos com 21 dias. Essas observações nos mostrou a aplicabilidade e estabilidade do implante em aorta abdominal de coelhos.

5.3 Ultrassonografia Doppler

Carvalho et al, (2009) realizaram um estudo prospectivo dos parâmetros Doppler velocimétricos das artérias renais e da aorta abdominal em gatos da raça persa. Foram utilizadas nesse estudo 50 unidades renais de gatos adultos jovens, sendo 13 fêmeas e 12 machos, as quais foram examinadas ao ultrassom Doppler. Foram mensurados os seguintes parâmetros: a velocidade de pico sistólico máximo (VPS), a velocidade diastólica mínima (VDF) e os índices de resistividade (IR) das artérias renais (AR) e da aorta (AO). Os valores médios da VPS e VDF do fluxo sanguíneo e do diâmetro da artéria aorta abdominal em sua porção caudal à origem das artérias renais. Para aorta, foram obtidos VPS $53,17 \pm 13,46 \text{ cm s}^{-1}$ e média de diâmetro de $0,38 \pm 0,04 \text{ cm}$.

Na presente pesquisa de aortoplastia todos os animais foram submetidos ao exame de Doppler. Na artéria aorta abdominal foi observado um perfil de fluxo laminar. Esse presente estudo mostrou os parâmetros ultrassom Doppler de coelhos com implante e sem implante em aorta abdominal e nos mostrou a aplicabilidade do implante e seu método de fixação.

Lilian & Bombonato (2007) realizaram estudo morfométricos da aorta abdominal e seus ramos em 131 cães todos hígidos. O diâmetro da aorta abdominal da amostra geral em seu segmento diafragmático (AOD) variou de 0,60 a 1,10 centímetros, com média de 0,80 centímetros e desvio padrão de 0,15. Para o segmento caudal às artérias (AOR), o seu diâmetro variou de 0,48 a 1,30cm, com média de 0,74cm e desvio padrão de 0,20. Para o segmento cranial à sua bifurcação (AOT), o seu diâmetro variou de 0,30 a 1,40 centímetros, com média de 0,69 centímetros e desvio padrão de 0,18. Nos aspectos hemodinâmicos os cães examinados; apresentaram uma forma trifásica na onda da aorta abdominal em seu

seguimento caudal. A velocidade de pico sistólico para o segmento caudal às artérias renais (AOR) variou de 77,50 a 150,00 centímetros s-1, com média de 104,18cm/s e desvio padrão de 22,04. Para o segmento da aorta abdominal cranial à bifurcação foram observados valores de velocidade de pico sistólico entre 76,00 a 130,00 centímetros s-1, com média de 99,61 centímetros s-1 e desvio padrão de 15,46.

Todos os animais da presente pesquisa foram submetidos ao exame de Doppler no pré-operatório e no pós-operatório seguindo os intervalos de sete, 14 e 21 dias. Esse presente estudo mostrou os parâmetros de ultrassom Doppler com ondas trifásicas, que mostrou um comportamento fisiológico esperado em artérias.

Carvalho et al, (2007) fizeram uma avaliação morfológica e hemodinâmica da aorta e mesentérica em cães utilizando ultrassonografia dúplex-Doppler. A morfometria avaliou diâmetro dos vasos no momento pré-prandial. A hemodinâmica avaliou parâmetros velocimétricos do fluxo; velocidade de pico sistólico (VPS) pré-prandial, velocidade diastólica final pré-prandial e índices de hemodinâmicos de impedância: índice de resistividade (RI). Na aorta foi observado um fluxo do tipo laminar achatado e morfologia da onda apresentou características de onda de alta resistência. Verificou-se a presença de pico sistólico afilados com janela espectral larga, bem definida, e distribuição de velocidade estreita.

O pico sistólico apresentou-se seguido de uma onda de fluxo retrógrado, em seguida uma onda de fluxo anterógrada. Considerando-se os cães examinados, do porte do animal a amostra geral indicou que o diâmetro da aorta variou entre 0,43 centímetros e 0,92 centímetros. A média do diâmetro encontrado foi de 0,65 mais ou menos 0,17 centímetros. A velocidade do pico sistólico (VPS) da aorta variou entre 44,00 centímetros por segundo e 135,18 centímetros por segundo. A média de velocidade foi 95,49 mais ou menos 35,43 centímetros por segundo. A velocidade diastólica final (VDF) variou entre 76,20 centímetros por segundo e 84,40 centímetros por segundo. A média foi 80,82 mais ou menos 3,81 centímetros por segundo.

No presente estudo observou-se que a artéria aorta abdominal apresentou um perfil de fluxo laminar. A altura da aorta abdominal dos grupos controle e dos submetidos ao implante, teve os seguintes resultados. O diâmetro da aorta abdominal variou entre 0,31 e 0,54 centímetros e a velocidade do pico sistólico variou entre 32,5 e 71,4 centímetros por segundos, com medida $49,44 \pm 2,260$ no grupo I, $67,49 \pm 3,128$ no grupo II, $35,07 \pm 0,657$ no grupo III e $31,50 \pm 1,190$ no

grupo IV ($p < 0,0001$) mantendo padrão fisiológico com isso mostrou a eficácia da técnica de implante realizada no presente estudo.

Barros Marques et al, (2007) pesquisaram arterioplastia femoral em cães com remendo de membrana de biopolímero de cana-de-açúcar com avaliação hemodinâmica. Os animais foram distribuídos em dois grupos estabelecidos de forma aleatória: Grupo I, oito remendos arteriais com o biopolímero, Grupo II, oito remendos arteriais com PTFE. Procedeu-se velocimetria Doppler percutânea das artérias femorais e foram feitas incisões inguinais para exposição das artérias femorais, sendo então realizada velocimetria Doppler intra-operatória das artérias femorais em pontos proximal e distal à arterioplastia e repetidas as medidas do diâmetro arterial com paquímetro manual. O sinal Doppler nas artérias femorais direita e esquerda esteve presente e apresentou onda de fluxo trifásica. O fluxo arterial principal ocorreu através destes vasos, não sendo observado desenvolvimento de padrão anômalo de circulação colateral.

No presente estudo na aorta abdominal foi visualizado um perfil de fluxo laminar. Não foi observado padrão anômalo de fluxo em circulação colateral. Não foi visualizado trombo no sítio do implante em 100% das amostras examinadas pelo Doppler.

Greca et al, (2005) estudaram a biocompatibilidade da submucosa suína e pericárdio bovino usado como enxerto em veia cava de cães sem raça definida, a fixação de ambos os implantes foi realizada através de sutura simples contínua com fio de Polipropileno 5-0. Todos os animais foram submetidos a exame ultrassonográfico do abdômen. Através desse exame, realizou-se uma análise clínica objetiva mediante a mensuração dos diâmetros da veia cava cranial ao rim. Observou-se estenose da veia cava em um cão do grupo com implante de submucosa de suíno. Já em contrapartida no grupo com implante de pericárdio bovino foi observado aumento da circulação colateral em dois cães. Estenose foi observada em três cães do grupo com pericárdio bovino.

Na aorta abdominal dos coelhos avaliados no presente experimento foi observado um perfil de fluxo laminar. Não foi observado dilatações aneurismática, trombos e circulação colateral. O diâmetro da aorta variou entre 0,31 e 0,54 centímetros, com média de $0,431 \pm 0,030$ no grupo I, $0,404 \pm 0,100$ no grupo II, $0,408 \pm 0,008$ no grupo III e $0,431 \pm 0,006$ no grupo IV ($p = 0,2095$). Todas essas variações ratificaram a aplicabilidade do enxerto e seu método de fixação.

Sotelo et al, (1997) pesquisaram o aumento do lúmen da artéria femoral em cães por arteriotomia e circundada com pericárdio de bezerro preservado em glutaraldeído. O

procedimento cirúrgico foi realizado na artéria femoral de cães sem raça definida. Um ano após a arteriotomia e do implante do enxerto, foi realizado Doppler bilateral realizado nas artérias femorais. Clinicamente, todos os quatro cães apresentaram circulação sanguínea normal no membro operado. O Doppler demonstrou permeabilidade das artérias femorais. O diâmetro da artéria femoral operada mostrou um leve aumento em relação a artéria do membro não operado.

No presente trabalho os animais foram submetidos ao exame de Doppler no pré-operatório e no pós-operatório seguindo os intervalos de sete, 14 e 21 dias, para avaliações de diâmetro, espessura e hemodinâmica. Na aorta abdominal foi observado um perfil de fluxo laminar. Em todos os animais operado foi observado uma variação clínica significativa no diâmetro da aorta. Os coelhos submetidos a aortoplastia apresentaram atividade normal de fluxo sanguíneo no sítio do enxerto.

Moritz et al, (1991) fizeram um estudo com ovelhas adultas para analisar a formação espontânea de endotélio em enxerto de pericárdio bovino preservado em Glutaraldeído, enxertos tratados após fixação por Glutaraldeído, com solução de aminoácidos e de baixo pH e enxerto de politetrafluoretileno expandido (PTFE), todos implantados em artéria carótida. Na primeira e segunda semana pós-operatória verificou-se fluxo sanguíneo através do exame de Doppler e foi repetido após um e dois meses. Neste momento o enxerto tratado após a fixação apresentou trombos e ocluídos no último mês de experiência, no restante dos animais, um enxerto de (PTFE) foi ocluído. Dois enxertos de (PTFE) e um tratado após a fixação apresentaram obstrução trombótica.

Na presente pesquisa o implante de pericárdio (aortoplastia) Todos os animais foram submetidos ao exame de Doppler no pré-operatório e no pós-operatório seguindo os intervalos de sete, 14 e 21 dias, Todos os animais implantados com pericárdio de avestruz não apresentam trombo ou obstrução parcial ou oclusiva na região do implante, mostrando assim uma hemodinâmica fisiológica.

6 CONCLUSÃO

A técnica de aortoplastia utilizando pericárdio de avestruz com fixação por cola cirúrgica Glubran 2® em coelhos mostrou-se totalmente exequível e segura.

O enxerto de pericárdio de avestruz com cola cirúrgica Glubran 2® promoveu ótima fixação do implante de pericárdio, não apresentou deformação de sua estrutura, não resultando em dilatação aneurismática, nem hemorragia em sítio do enxerto

O índice de resistividade foi maior no grupo controle.

O índice de pulsatilidade foi maior nos grupos 14 e 21.

A espessura da aorta foi maior no grupo de 21 dias.

Tanto o pique sistólico quanto diastólico foram maiores no grupo sete dias.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDREWS JM. **Cirurgia plástica reparadora e estética** .3ed. Rio de Janeiro, p.111-8,1988.
- BAJPAI, P. K. Immunological aspects of treated natural tissue prostheses. In: Williams, D. F. ed. **Biocompatibility of tissue analogs**, Boca Raton, CRC Press, 1 p.5-25,1985.
- BANCROFT, J.D.; COOK H.C. 1994 **Manual of Histological Techniques and Their Diagnostic Application**, p.69.
- BARROS et al. M. Experimental lamellar corneal graft in dogs using preserved equine pericardium. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 36 (6): p.1-9, 1999.
- BARROS MARQUES et al. Um novo substituto vascular: arterioplastia femoral em cães com remendo de membrana de biopolímero de cana-de-açúcar – avaliação hemodinâmica e histopatológica. **J Vasc Bras**. 6(4): p.309-315, 2007.
- BARTEK et al. Framemounted tissue heart valves techniques of construction. **Thorax**, (29): p.51-5, 1974.
- BENGU Z & XIAFENG. Experimental Studies on Arterial reconstruction with Bovine Pericardial Tube. **Acta Academiae Medicinae Wuhan**, p.108-113, 1982.
- BRUCK, S. D. Possible causes for the calcification of glutaraldehyde - treated tissue heart valves and blood contacting elastomers during prolonged use in medical devices: **a physico-chemical view**. (2): p.14-8,1981.
- BRUN et al. Solução hiperstaurada de sal como conservante de pericárdio canino utilizado na reparação do músculo reto abdominal de ratos Wistar. **Ciência Rural**, 32 (6): p.1019-1025, 2002.
- BRUN et al. Solução hipersaturada de sal ou de glicerina a 98% como conservantes de centro frênicos caninos utilizados na reparação de defeitos musculares em ratos Wistar. **Ciência Rural**. 34, (1), p.147-153,2004.
- CARVALHO, C.F et al. Parâmetros Doppler velocimétricos das artérias renais e da aorta abdominal em gatos da raça persa. **Cienc. Rural**, 39 (4), 2009.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782009005000095>.
- CARVALHO, C.F et al. Ultra-sonografia-Doppler na avaliação morfológica e hemodinâmica das artérias aorta e mesentérica cranial em cães. **Braz, j. vet**. 5(1): p.24-31, 2007.
- CUNHA et al. Solução hipersaturada de sal ou de glicerina a 98% como conservantes de centro frênicos caninos utilizados na reparação de defeitos musculares em ratos Wistar. **Ciência Rural**, 34(1) p.147-153, 2004.

GRECA et al. Estudo comparativo da biocompatibilidade da submucosa intestinal porcina e pericárdio bovino usados como enxertos na veia cava de cães. **Acta Cirúrgica Brasileira**. 20 (4): p.317, 2005.

HABER, G.B. Tissue glue for pancreatic fistula. **Gastrointest. Endosc**, 59(4): p.535-537, 2004.

KUBOTA H et al Equine pericardial roll graft replacement of infected pseudoaneurysm of the ascending aorta. **Journal of Cardiothoracic Surgery**. (7):54, 2012.
<http://www.cardiothoracicsurgery.org/content/7/1/54>.

KESHAVAMURTHY S et al. Bovine Pericardial Wrap for Intractable bleeding After Graft Replacement of the Ascending. **Aorta. Ann Thorac Surg**, (100): p.735–7, 2015.
<https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2015.03.042>

LINDA & PEDRO BOMBONATO. Ultra-sonografia da aorta abdominal e de seus ramos em cães. **Ciencia rural**. 37 (2): p.412-417, 2007.

LINDON, J et al. Interaction of human platelets with heparinized agarose gel. **J. Lab. Clin. Med.** (91): p.47-59, 1978.

MARQUES AF. **Pericárdio bovino na reparação da parede abdominal de cães** [dissertação Mestrado]. Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina, 1984.

MARQUES et al. Biomateriais na substituição de tecidos moles. **Acta Cir Bras**. (4): p.158-67, 1989.

MAURO et al. Biomateriais e sua biocompatibilidade numa abordagem multidisciplinar na área de saúde, alimentos funcionais e medicina regenerativa. **Revista Eletrônica da Univar**. 8(1): p.87-90, 2012.

MORITZ et al. Improved spontaneous endothelialization by postfixation treatment of bovine pericardium. **J Cardio-thorac Surg**, (1Y91) (5): p.155-160, 1991.

MAZZANTI et al. Hernioplastia diafragmática em cão com pericárdio bovino conservado em solução supersaturada de açúcar. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**. 55, (6): p.677-684, 2003.

NETO J.M.C et al. Tenoplastia experimental do Calcâneo em Cães com Peritônio Bovino Conservado em Glicerina. **Ciência Rural**, 29, (4): p.697-703, 1999.

PHINIKARIDOU et al. A robust rabbit model of human atherosclerosis and atherothrombosis. **J.Lipid Res**, 50(5): p.787–797, 2009.

PIECHOTA et al. Functional Rat Bladder Regeneration through Xenotransplantation of the Bladder Acellular Matrix Graft. **British Journal of Urology**, 81, p.548-559, 1998.

PIGOSSI N. **A Glicerina na Conservação de dura-Máter. Estudo Experimental**. Tese (Livre-Docência) São Paulo - SP - Faculdade de Medicina de Universidade de São Paulo-USP, 1967.

PIGOSSI et al. Estudo Experimental e Clínico sobre o Emprego, como implante, da Dura-Máter Homógena Conservada em Glicerina à Temperatura ambiente. **Revista de Associação Médica Brasileira**. 17, (8): p.263-278, 1971.

PINTO FILHO et al. Restauração do diafragma de felino com enxerto autólogo de pericárdio. **Acta Cirúrgica Brasileira**, 18, (5) p.471-477, 2003.

PIRES et al. Pericárdio bovino utilizado como remendo no sistema cardiovascular. **Rev Bras Cir Cardiovasc** .12 (2), 1997. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-76381997000200012>.

RANZANI et al. Implante de pericárdio de equino preservado em solução de continuidade do diafragma de cão. **Brazilian Journal of Veterinary Research And Animal Science**. 27, (1), p. 65-73, 1990.

REECE et al. A prospectus on tissue adhesives. **Am. J. Surg.** 182, (2), p.40S-44S, 2001.

ROSS, M.H. WOJCIECH. **Histologia. Texto e Atlas**. 6ª ed. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 524p, 2008.

SALLES et al. Early experience with crimped bovine pericardial conduit for arterial reconstruction. **Cardio-thoracic Surgery**. (5): p.273- 279, 1991.

SALLES, C. A et al. Reconstrução arterial com tubo de pericárdio bovino corrugado. **Rev. Bras. Cir. Csrdiovasc**. 7(2): p.88-95, 1992.

SARAH COLEMAN et al. The Use of Bovine Pericardium for Complex Urologic Venous Reconstruction. **Urology, Elsevier Inc.**, (83): p.495-497, 2014.

SANTIBÁÑEZ-SALGADO et al. lyophilized glutaraldehyde-preserved bovine pericardium for experimental atrial septal defect closure. **European cells and materials**. 19, p.158-165,2010.

SAPORITO WF et al. Bovine pericardium retail preserved in glutaraldehyde and used as a vascular patch. **BMC Surgery**, (11):37, 2011.

SCALES J. Tissue reaction to suybthetic materials. **Proc R Soc Med**. (46): p.647, 1953.

SOARES et al. Aspectos da anatomia do coração do avestruz. **Ars veterinária**. 26, (1), 2010: 038-042, 2010. ISSN: 2175-0106.

STARK. How to organize a biocompatibility-testing program: a case study. **Med. Device Diagn. Ind.** (13): p.68-79, 1991.

SOTELO et al. Increase in the lumen of the femoral artery in dogs with na arteriotomy encircled by glutaraldehyde-tanned calf pericardium. **Heart Vessels**. (11): p.318-321, 1997.

WALLIN & UPMAN. How to sample materials for biocompatibility testing. **Med. Device Diagn. Ind.** (13): p.76-79, 1991.

WEIBEL et al. Practical stereological methods for morphometric. *Cytology. J. Cell Biol.* (30): p.23-38, 1966.

WEIXIAO LI et al. A Canine Model of Proximal Descending Thoracic Aortic Aneurysm Created with an Autologous Pericardial Patch. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*, (19): p.131–135, 2012. doi: 10.5761/atcs.oa.12.01948.

ZHANG et al. Challenges in a Larger Bladder Replacement with Cell-Seeded and Unseeded Small Intestinal Submucosa Grafts in a Subtotal Cystectomy Model. *Brazilian Journal of Urology International* 98, p.1100-1105, 2006.

YEN CHANG et al. Tissue regeneration patterns in acellular bovine pericardia implanted in a canine model as a vascular patch. *Wiley InterScience*. (69): p.323–333, 2004. (www.interscience.wiley.com). DOI: 10.1002/jbm.a.30003.