

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**SUBSTITUIÇÃO VALVAR EM OVINOS – DESCRIÇÃO DA TÉCNICA
OPERATÓRIA E ANÁLISE DOS RESULTADOS.**

CURITIBA
2007


PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS




PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada **"SUBSTITUIÇÃO VALVAR EM OVINOS: DESCRIÇÃO DA TÉCNICA OPERATÓRIA E ANÁLISE DOS RESULTADOS"** apresentada pelo Mestrando THIAGO SILLAS, declara ante os méritos demonstrados pelo Candidato, e de acordo com o Art. 78 da Resolução nº 62/03-CEPE/UFPR, que considerou o candidato APROVADO para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Patologia Veterinária.

Curitiba, 26 de fevereiro de 2007.


Prof. Dr. Antonio Felipe Paulino de Figueiredo Wouk
Presidente/Orientador


Prof. Dr. Francisco Diniz Affonso da Costa
Membro


Profa. Dra. Rosana Keller Richter
Membro

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

SUBSTITUIÇÃO VALVAR EM OVINOS – DESCRIÇÃO DA TÉCNICA
OPERATÓRIA E ANÁLISE DOS RESULTADOS.

THIAGO SILLAS

CURITIBA

2007

THIAGO SILLAS

**SUBSTITUIÇÃO VALVAR EM OVINOS – DESCRIÇÃO DA TÉCNICA
OPERATÓRIA E ANÁLISE DOS RESULTADOS.**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias, Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Setor de Ciências Agrária e Ambientais, Universidade Federal do Paraná

Orientador: Prof. Dr. Antônio Felipe Paulino de Figueiredo Wouk

**CURITIBA
2007**

*À minha mãe e meu pai, Sônia e Edson, com muito amor;
À minha irmã Raquel, com toda alegria;
À Polyanne, o amor da minha vida.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Antônio Paulino de Figueiredo Wouk, por sua orientação, confiança, cobrança e amizade, dignas de um pai. À todos os ensinamentos transmitidos no âmbito pessoal e profissional, minha eterna gratidão.

Aos professores da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, que desde a graduação e durante minha residência, contribuíram com minha formação. Em especial ao Professor Marconi Rodrigues de Faria, pelo exemplo e amizade.

Aos professores da Universidade Federal do Paraná que participaram da minha formação de pós-graduação, em especial à Professora Tilde Froes Paiva e à Professora Rosana de Moraes, pelo inestimável auxílio desempenhado na banca de qualificação de mestrado.

Aos professores componentes da banca de defesa desta dissertação; Professor Doutor Francisco Diniz Affonso da Costa, cirurgião cardíaco e pesquisador chefe da Santa Casa de Misericórdia de Curitiba, e a Professora Doutora Rosana Keller Richter, cirurgiã e professora, decano do *Campus* de Toledo da PUCPR.

AGRADECIMENTOS (Continuação)

Ao decano Alberto Accioly Veiga do CCBS da Pontifícia Universidade Católica do Paraná e a todos os integrantes do grupo de pesquisa, que tornaram esta pesquisa viável, estabelecendo interação entre pesquisadores da medicina e medicina veterinária.

Um agradecimento especial aos meus familiares que compartilharam momentos de cansaço e dividiram noites mal dormidas na conclusão desta dissertação, especialmente minha namorada, Polyanne Cramer Schmidlin, companheira de todas as horas. Ao meu Pai e minha mãe, Edson Paes Sillas e Sônia Regina Botta Sillas e minha querida irmã, Raquel Sillas

*Pouco conhecimento faz com que as criaturas se sintam orgulhosas.
Muito conhecimento, que se sintam humildes. É assim que as
espigas sem grãos se erguem desdenhosamente para o céu,
enquanto que as cheias abaixam para a terra, sua mãe.*

Leonardo Da Vinci

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	Viii
LISTA DE TABELAS	xii
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	xiii
RESUMO	Xiv
ABSTRACT	Xv
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 MODELO EXPERIMENTAL.....	6
2.2 PESQUISA COM PRÓTESES VALVARES.....	8
3 MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1 ANIMAIS.....	12
3.2 EQUIPE CIRÚRGICA.....	12
3.3 BIOPRÓTESES VALVARES.....	13
3.4 PROCEDIMENTO PRÉ-OPERATÓRIO E ANESTÉSICO.....	14
3.5 TORACOTOMIA INTERCORTAL ESQUERDA.....	20
3.6 PERICARDIOTOMIA E “BERÇO PERICÁRDICO”.....	22
3.7 POSIÇÃO DAS CÂNULAS PARA CIRCULAÇÃO EXTRA CORPÓREA.....	24
3.8 CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA.....	26
3.9 IMPLANTE VALVAR PULMONAR.....	28
3.10 IMPLANTE VALVAR AÓRTICO.....	30
3.11 IMPLANTE VALVAR MITRAL.....	31
3.12 TORACORRAFIA.....	33
3.13 PÓS-OPERATÓRIO.....	34

SUMÁRIO (continuação)

4 RESULTADOS	36
4.1 PROCEDIMENTOS PRÉ-OPERATÓRIOS.....	36
4.2 PROCEDIMENTOS OPERATÓRIOS.....	37
4.3 CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA.....	37
4.4 BIOPRÓTESES VALVARES.....	33
4.5 IMPLANTE VALVAR PULMONAR.....	39
4.6 IMPLANTE VALVAR AÓRTICO.....	41
4.7 IMPLANTE VALVAR MITRAL.....	42
4.8 PROCEDIMENTOS PÓS-OPERATÓRIOS.....	43
4.9 MORTALIDADE GERAL.....	44
5 DISCUSSÃO	46
5.1 PROCEDIMENTOS PRÉ-OPERATÓRIOS.....	46
5.2 PROCEDIMENTOS OPERATÓRIOS.....	50
5.3 CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA.....	53
5.4 IMPLANTE VALVAR PULMONAR.....	57
5.5 IMPLANTE VALVAR AÓRTICO.....	59
5.6 IMPLANTE VALVAR MITRAL.....	61
5.7 PROCEDIMENTOS PÓS-OPERATÓRIOS.....	62
5.8 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	63
6 CONCLUSÃO	64
REFERÊNCIAS	65

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO A PUNÇÃO VENOSA BILATERAL DAS VEIAS CEFÁLICAS EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA.....15
- FIGURA 2 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO A ÁREA DE DEPILAÇÃO DO HEMITÓRAX ESQUERDO EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA.....16
- FIGURA 3 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO A SONDAGEM OROTRAQUEAL EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA.....17
- FIGURA 4 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO PUNÇÃO DA ARTÉRIA AURICULAR CAUDAL EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA.....18
- FIGURA 5 - FOTOGRAFIA DOS MONITORES MULTIPARAMÉTRICOS UTILIZADOS DURANTE AS OPERAÇÕES DE SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA EM OVINOS.....18
- FIGURA 6 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO BLOQUEIO ANESTÉSICO INTERCOSTAL PRÉ-OPERATÓRIO EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA.....19
- FIGURA 7 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO DECÚBITO LATERAL DIREITO PARA TORACOTOMIA INTER-COSTAL EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA.....20

LISTA DE FIGURAS (continuação)

FIGURA 8 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO A UTILIZAÇÃO DO BISTURI ELÉTRICO NA TORACOTOMIA LATERAL ESQUERDA DE OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA.....	21
FIGURA 9 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO A LIGADURA DA ARTÉRIA MAMÁRIA EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA.....	22
FIGURA 10 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO A PERICARDIOTOMIA EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA.....	23
FIGURA 11 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO O “BERÇO PERICÁRDICO” EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA.....	23
FIGURA 12 – FOTOGRAFIA DA “BOLSA” VASCULAR NA AORTA DESCENDENTE PARA CANULAÇÃO ARTERIAL DE OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR.....	25
FIGURA 13 – FOTOGRAFIA DA REALIZAÇÃO DA “BOLSA” VASCULAR PARA CANULAÇÃO AURICULAR DIREITA EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR.....	25
FIGURA 14 - FOTOGRAFIA DA MÁQUINA DE CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA UTILIZADA DURANTE AS OPERAÇÕES DE SUBSTITUIÇÃO VALVAR EM OVINOS.....	27

LISTA DE FIGURAS (continuação)

FIGURA 15 – ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DO MÉTODO UTILIZADO PARA O IMPLANTE PULMONAR EM OVINOS.....	29
FIGURA 16 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO O ASPECTO FINAL DO IMPLANTE VALVAR PULMONAR EM OVINO COM PRÓTESE DE PERICÁRDIO BOVINO.....	29
FIGURA 17 - FOTOGRAFIA DE AURICULOTOMIA EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR MITRAL.....	31
FIGURA 18 – FOTOGRAFIA DO ASPECTO FINAL DO IMPLANTE VALVAR MITRAL EM OVINO.....	32
FIGURA 19 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO ASPECTO FINAL DA TORACORRAFIA E DRENAGEM TORÁCICA EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA.....	33
FIGURA 20 - FOTOGRAFIA DE OVINO DURANTE A RECUPERAÇÃO ANESTÉSICA APÓS SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA.....	34
FIGURA 21 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO SANGRAMENTO RESIDUAL DO PLANO ANTERIOR DA ANASTOMOSE VALVAR PULMONAR EM OVINO	40
FIGURA 22 – FOTOGRAFIA DE NECROPSIA DEMOSNTRANDO RUPTURA DA SUTURA EM IMPLANTE MITRAL EM OVINO.....	42

LISTA DE FIGURAS (continuação)

- FIGURA 23 - FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO A PEQUENA AMPLITUDE DE ABERTURA BUCAL DE OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR.....49
- FIGURA 24 – FOTOGRAFIAS DEMONSTRANDO AS ETAPAS DA ANTI-SEPSIA DE PELE UTILIZADA NOS 58 OVINOS SUBMETIDOS A SUBSTITUIÇÃO VALVAR.....50
- FIGURA 25 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO A INCISÃO MÍNIMA PARA A TORACOTOMIA LATERAL ESQUERDA EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA.....52

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – RELAÇÃO ENTRE A POSIÇÃO DO IMPLANTE, NÚMERO DE OPERAÇÕES, MODELOS DE PRÓTESES VALVARES E A OCORRÊNCIA EM 58 OVINOS.....	14
TABELA 2 - RELAÇÃO DAS COMPLICAÇÕES NA CANULAÇÃO PARA CEC E OCORRÊNCIA NOS 58 OVINOS.....	38
TABELA 3 – RELAÇÃO DAS COMPLICAÇÕES ASSOCIADAS AS TÉCNICAS DE SUBSTITUIÇÃO VALVAR EM OVINOS.....	43
TABELA 4 - RELAÇÃO DA MORTALIDADE INTRA-OPERATÓRIA, MORTALIDADE GERAL E AS TRÊS TÉCNICAS OPERATÓRIAS DE SUBSTITUIÇÃO VALVAR NOS OVINOS.....	44
TABELA 5 – RELAÇÃO DAS CAUSAS DE MORTE COM AS TRÊS TÉCNICAS OPERATÓRIAS DE SUBSTITUIÇÃO VALVAR EM OVINOS.....	45
TABELA 6 – RELAÇÃO ENTRE A TÉCNICA DE IMPLANTE VALVAR, TEMPO MÉDIO DE CEC (MIMUTOS), NÚMERO DE CARDIOPLEGIAS E MORTALIDADE (%) EM 58 OVINOS.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS

Fr	-	French
G	-	Gauge
iv	-	Intra-venoso
Kg	-	Kilogramas
L	-	Litro
mg	-	Miligramas
ml	-	Mililitros
mm	-	Milímetros

LISTA DE SIGLAS

CEC	-	Circulação Extra Corpórea
CIOMS	-	Conselho da Organização Internacional de Ciências Médicas
COBEA	-	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
EIC	-	Espaço inter-costal
OMS	-	Organização Mundial de Saúde
PAS	-	Pressão arterial sistólica
PAM	-	Pressão arterial média
PAD	-	Pressão arterial diastólica
PR	-	Paraná
PUC	-	Pontifícia Universidade Católica
SPO2	-	Saturação Parcial de Oxigênio
UNESCO	-	Organização das Nações Unidas para Educação, Ciência e Cultura
VSVD	-	Via de Saída do Ventrículo Direito
VSVE	-	Via de Saída do Ventrículo Esquerdo

LISTA DE SÍMBOLOS

®	-	Marca registrada
%	-	Por cento
°C	-	Graus Celsius
Hg	-	Mercúrio
±	-	Mais ou menos
NaCl	-	Cloreto de sódio
KCL	-	Cloreto de potássio

RESUMO

SUBSTITUIÇÃO VALVAR EM OVINOS – DESCRIÇÃO DA TÉCNICA OPERATÓRIA E ANÁLISE DOS RESULTADOS.

No intuito de melhorar as condições e o aproveitamento dos ovinos em cirurgia experimental, foram avaliadas as técnicas operatórias para a substituição valvar pulmonar, aórtica e mitral. As técnicas operatórias de toracotomia, pericardiotomia e das substituições valvares em ovinos não se encontram detalhadamente descritos na literatura, assim sendo, o presente estudo objetivou descrever e avaliar sua aplicação na pesquisa de próteses cardiovasculares. Por meio de procedimentos padronizados pré-operatórios, trans-operatórios e pós-operatórios, 58 ovinos jovens (idade 18 ± 7 semanas e o peso 30 ± 9.9 kg) foram submetidos ao implante de seis modelos de próteses valvares biológicas mediante circulação extracorpórea em normotermia (CEC). Quarenta animais receberam implante valvar pulmonar, 14 animais receberam implantes valvares aórticos e quatro animais receberam implantes mitrais. Todos os procedimentos relacionados à preparação operatória foram considerados adequados, incluindo o jejum e a anestesia. A canulação da artéria auricular caudal da orelha foi o melhor método para a aferição da pressão arterial invasiva trans-operatória. O quarto espaço inter-costal (EIC) foi considerado de eleição para realização das três operações avaliadas. O método da canulação arterial e venosa da aorta descendente e átrio direito foi considerado seguro e rápido. Durante a substituição valvar pulmonar houve 92,5% de sangramento residual da anastomose, o tempo de CEC foi de 34 ± 14 minutos, e a mortalidade 7,5%. A substituição valvar aórtica, com implante subcoronariano, foi associada a um elevado tempo de CEC 119 ± 5 minutos e mortalidade de 57%. Durante a substituição valvar mitral ocorreu sangramento atrial em 25% dos casos, tempo de CEC foi de 74 ± 22 minutos e mortalidade 50%. Foi utilizado cardioplegia sanguínea normotérmica a cada 15 minutos. A mortalidade geral foi de 25,8%. Houve baixa mortalidade associada à técnica de implante valvar pulmonar. A mortalidade das técnicas de implante valvar aórtico e mitral foi associada a maior complexidade cirúrgica e elevado tempo de CEC. Dentre as técnicas avaliadas, a substituição valvar pulmonar foi considerada mais fácil para avaliação de próteses valvares cardíacas em ovelhas, devido ao bom aproveitamento experimental, menor morbidade e mortalidade dos animais.

Palavras chave: Cirurgia experimental, técnica operatória, próteses valvares, ovino.

ABSTRACT

CARDIAC VALVAR REPLACEMENT IN SHEEP – DESCRIPTION OF SURGICAL TECHNIQUE AND OUTCOME

To improve the conditions and knowledge for the best use of the sheep in cardiac valve prosthesis experimental research, the surgical techniques for pulmonic, aortic and mitral valve substitution were evaluated. There are no detailed description on the current literature of the applied techniques for thoracotomy, pericardiotomy and cardiac valve replacements in sheep. The objective of this study is to describe and evaluate their utilizations for cardiovascular prosthetic research. Under standard pre-operative, trans-operative and post-operative protocols and normothermic cardiopulmonary bypass, 58 juvenile sheep (age 18 ± 7 months and body weigh 30 ± 9.9 kg) were implanted with six models of valve bioprosthesis. Forty animals received pulmonic prosthesis; fourteen animals received aortic prosthesis and four animals were implanted with mitral valve prosthesis. All pre operative procedures related with preparation for the surgery, including fasting and anesthesia were satisfactory. The arterial line for measurement of continuous invasive arterial pressures was better done trough puncture of the ear caudal artery. The fourth intercostal space were considered de best for all operative techniques. The placement of arterial and venous canulas trough descending aorta and right atrial were considered fast end secure. During de pulmonic valve substitution there was 92,5% of residual bleeding through the anastomosis, bypass time was 34 ± 14 minutes, and mortality rate was 7,5%. The subcoronary aortic valve implantation was associated with a elevated bypass time (119 ± 5) and high mortality rate (57%). In mitral substitution there was bleeding in 25%, bypass time was 74 ± 22 minutes and mortality was 50%. Sanguineous normothermic cardioplegia was done with 15 minutes interval. The general mortality was 25,8%. There was low mortality rate in pulmonic valve implantation. The mortality rate of both aortic and mitral valve surgery was associated with the highly surgical technical complexity and elevated bypass time. The pulmonic valve implantation was considered the best between the evaluated surgical techniques for testing cardiac valve bioprosthesis in the sheep, due to lower morbidity and mortality of the animals and research results improvements. **Key words:** Experimental surgery, operative technique, valve prosthesis, ovine.

1 INTRODUÇÃO

A pesquisa em animais é fundamental para a compreensão da saúde e doença. (HARRISON, 1995). A pesquisa em animais é fundamental para as ciências biomédicas, não apenas para o desenvolvimento do entendimento humano sobre a vida e os mecanismos específicos de processos vitais, mas também para o avanço na prevenção, diagnóstico e tratamento de doenças em seres humanos e nos animais. Na medicina e medicina veterinária, utilizam-se animais na pesquisa em diversas áreas tais como, comportamento, fisiologia, patologia, toxicologia, terapêutica e cirurgia experimental. A experimentação animal tem se expandido qualitativamente em decorrência de avanços técnicos e estruturais e em função do aumento progressivo do conhecimento aplicado ao manejo laboratorial dos animais.

Igualmente crescente ao longo da história, as questões bioéticas, filosóficas e religiosas incidiram diretamente sobre a pesquisa com animais, acompanhando as mudanças do comportamento social em relação aos animais. O tema foi ressaltado por pensadores e personalidades influentes no decorrer da história, que alertaram quanto à necessidade de cuidados e respeito aos animais e, ao mesmo tempo, demonstraram a importância da experimentação animal antes dos ensaios clínicos em seres humanos. (SCHANAIDER, 2004)

A partir da aceitação do código de Nuremberg (1949), que reafirmava algo previamente aplicado por cientistas pioneiros e dizia “O experimento com humanos deve ser baseado em resultados de experimentação com animais...”, surgiram inúmeras tentativas locais e mundiais de legislar a pesquisa nos animais. O guia internacional de

princípios para pesquisa biomédica envolvendo animais foi desenvolvido pelo Conselho da Organização Internacional das Ciências Médicas (CIOMS), uma organização não-governamental, sem fins lucrativos, estabelecida conjuntamente pela OMS e a UNESCO em 1949, como resultado de um estudo internacional e interdisciplinar durante o período entre 1982-1984. Este foi aceito internacionalmente e serviu como base para governos, instituições acadêmicas e indústria para o desenvolvimento de pesquisa nos animais. (SCHANAIDER, 2004)

A partir de então alguns princípios foram ressaltados: (1) a importância da justificativa científica; (2) a busca de modelos alternativos, (3) a relevância do experimento, (4) a utilização de um número mínimo de animais, (5) preferência por espécies filogenicamente inferiores e (6) o compromisso com o conforto, alívio da dor e anestesia. Devido a particularidades legais e culturais existem condutas variáveis para a pesquisa, testes e treinamento em animais nos diferentes países, apesar de todos acordarem sobre a obrigatoriedade da aplicação de princípios humanitários aos animais de pesquisa. No Brasil, o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) determinou os Princípios Éticos de Pesquisa em 1988, acatando a tendência mundial de legislação. (PETROIANU, 1996)

Ao longo da história, cientistas pioneiros utilizaram animais em experimentos que resultaram em conhecimentos utilizados na atualidade. Desde a realização da primeira intervenção cirúrgica com valva cardíaca aberta bem sucedida, entre 1926 e 1937, o cientista russo Nikolai Terebinski, na tentativa de induzir e depois corrigir estenose e insuficiência das valvas mitral e tricúspide, operou pioneiramente o coração de cães com auxílio de um aparelho de circulação extracorpórea. Nesta época Terebinski determinou os princípios técnicos, que ao longo do tempo foram aperfeiçoadas, e continuam sendo utilizados nas cirurgias cardíacas atualmente. (ALEXI-MESKISHVILLI et al, 1998)

Apesar dos dados disponíveis, a substituição das valvas cardíacas ainda representa um desafio da cirurgia cardiovascular devido a limitações das próteses disponíveis. Para tanto, a experimentação animal é indispensável, sobretudo na fase final do estudo pré-clínico, que envolve a avaliação hemodinâmica das próteses valvares em animais com características anatomo-fisiológicas próximas às humanas. A utilização de cães em pesquisas, devido a mudanças do comportamento social em relação aos animais de companhia, é ostensivamente combatida por grupos “antivivisseccionistas” e precipitou a procura por modelos alternativos.

As ovelhas estão sendo recentemente consideradas uma alternativa interessante para cirurgia cardiovascular experimental e já são utilizadas em cirurgias valvares com sucesso. Entretanto, particularidades fisiológicas dos ovinos não permitem que técnicas operatórias empregadas em seres humanos sejam transferidas para ovinos, sem as devidas adaptações.

A falta de dados disponíveis na literatura sobre o manejo pré, trans e pós-operatório dos animais para implante de próteses valvares em ovinos, ressalta a necessidade de uma análise descritiva detalhada da operação cardíaca em ovelhas. Visando melhorar as condições e o aproveitamento dos ovinos em protocolos de cirurgia experimental de avaliação de bioprótese valvares, o presente estudo objetivou descrever detalhadamente e avaliar as técnicas operatórias para implantes valvares cardíacos, incluindo a toracotomia, pericardiotomia, os procedimentos de circulação extracorpórea e substituição valvar pulmonar, aórtica e mitral em ovinos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Anormalidades congênitas e degenerativas da valva pulmonar, aórtica e mitral representam grande importância na cardiologia humana. (BODNAR e ROSS, 1981) Devido a sua estrutura complexa, a possibilidade de sucesso com o tratamento cirúrgico conservativo (plastias) das valvas semilunares é mínima, portanto seu tratamento paliativo constitui em sua substituição. (COSGROVE, 1987; SANTOS et al., 2002) Já as anormalidades da valva mitral podem sofrer plastias bem sucedidas, porém podem requerer igualmente sua substituição. (BODNAR e ROSS, 1981)

A substituição das valvas cardíacas por próteses valvares implica em limitações permanentes e potenciais complicações aos pacientes receptores. Dois tipos de substitutos das valvas cardíacas estão disponíveis: as próteses mecânicas e as biológicas. As próteses mecânicas, por um lado, exigem anticoagulação definitiva do paciente, e as biológicas tem pouca durabilidade, exigindo reoperações precoces para sua substituição. (COSGROVE, 1987; GOTT et al., 1992)

O primeiro relato da utilização clínica de um substituto valvar biológico foi descrito por Ross em 1962 com o transplante de uma valva aórtica humana. Atualmente as biopróteses valvares heterólogas são manufaturadas com pericárdio bovino ou cúspides porcinas com ou sem o segmento da parede da aorta. (SCHOEN e LEVY, 1999)

A utilização das biopróteses valvares representa aproximadamente 40% dos procedimentos de substituição valvar em todo o mundo. (SCHOEN e LEVY, 1999) Complicações da utilização de substitutos valvares biológicos decorrentes da falência das próteses ocorrem em aproximadamente 10% a 20% em seres humanos adultos e 40% a 50% em crianças. (CARPENTIER et al., 1984)

A calcificação é a principal causa de falha do emprego de enxertos heterólogos (valvas porcinas ou pericárdio bovino) em seres humanos, ocorrendo pela deposição de fosfato de cálcio no material bioprotético. (SCHOEN et al., 1992; LEE et al., 1998) Esta calcificação distrófica da matriz colágena dos enxertos biológicos é responsável pela deterioração progressiva das próteses, prejudicando sua biointegração. (PATHAK et al., 2004)

Assim como os tecidos biológicos, as soluções de tratamento e conservação das biopróteses valvares recebem amplo interesse científico, uma vez que estes podem induzir a redução da antigenicidade dos tecidos heterólogos. (CARPENTIER et al., 1968)

As etapas da pesquisa com próteses cardiovasculares incluem inicialmente experimentos na escolha da composição material das próteses e a aplicação destes, a testes de resistência e reatividade orgânica. A implantação destes materiais originais no tecido subcutâneo de pequenos animais é o método utilizado na fase inicial da pesquisa. Por mais evoluídos que se tornem os métodos de avaliação *in vitro*, como os testes de fadiga e os duplicadores de pulso (que imitam aquilo que acontece na circulação), estes não farão desnecessário o processo de avaliação *in vivo*. Nesta fase será avaliada a técnica de implante, performance funcional da prótese, durabilidade e complicações secundárias a substituição valvar, em posição que mimetiza as condições circulatórias de seres humanos. (ALI, et al., 1996)

2.1 Modelo experimental

A definição do modelo deve respeitar os princípios de experimentação e bem estar animal e atender os objetivos da pesquisa. Quanto mais próxima às características anatômicas e fisiológicas do animal ao ser humano, maior aplicabilidade dos resultados obtidos. (SCHANAIDER, 2004)

Assim como os roedores, cães, bugios, caprinos, suínos e bovinos, os ovinos tem sido utilizados como modelos experimentais para as cirurgias cardiovasculares (BJÖRK e STERNLIEB, 1986; HAZEKAMP, et al., 1993; WALTHER, et al., 1999; DAVID et. al., 1988).

Domesticados no período neolítico, os ovinos são mamíferos poligástricos biungulados, originalmente provenientes da Europa e Ásia. Seu peso aproximado na idade adulta varia entre 80 a 100 quilogramas. Sua diversidade racial possibilita à espécie uma enorme adaptabilidade ambiental, sendo esta atualmente explorada zootecnicamente em praticamente todo mundo. Taxonomicamente, os ovinos são enquadrados na classe *mammalia*, subclasse *theria*, infraclasse *eutheria*, ordem *artiodactyla*, subordem *ruminantia*, infra-ordem *pecora*, família *bovidae*, subfamília *capridae*, gênero *ovis*, espécie *aries*. (GETTY, 1975)

A partir de um estômago complexo, que ocupa cerca de 75% da cavidade abdominal, os ovinos são capazes de digerir fibras vegetais graças a fermentação bacteriana da celulose. Seu estômago de ruminante divide-se em quatro compartimentos incluindo o rumem, retículo, omaso e o abomaso. A capacidade do estômago ovino varia na

dependência da idade, tendo no indivíduo adulto capacidade de aproximadamente 2,5 litros. (GETTY, 1975)

Pesquisas atuais vêm demonstrando que a utilização de ovinos jovens é amplamente aplicável à cirurgia cardiovascular experimental. Os ovinos são considerados bons modelos para cirurgia cardiovascular por estes guardarem grandes similaridades anatômicas cardiovasculares com seres humanos. (SHOFTI et al., 2004) Topograficamente, a relação do coração, grandes vasos e nervos torácicos ocorrem de maneira muito próxima aos demais mamíferos domésticos, sendo perfeitamente exequível a adaptação de técnicas operatórias cardiovasculares a esta espécie. Seus lobos pulmonares são dispostos em parte cranial e caudal do lobo cranial e lobo caudal esquerdos e, contralateralmente, parte cranial e caudal do lobo cranial, lobo médio, lobo caudal e lobo acessório direito. (ASHDOWN e DONE, 1996) Possuem treze pares de costelas, sendo possível a existência anômala de quatorze pares. (GETTY, 1975)

Sendo animais de grande porte, os ovinos apresentam particularidades em seu manejo e confinamento, que exigem ambiente estruturalmente adaptado, como abrigos, piquetes com pastagem, local para armazenamento de alimentação concentrada e silagem e tratadores especializados, elevando seu custo de manutenção.

Os ovinos estão sendo avaliados por diversos pesquisadores e são atualmente os animais de grande porte mais utilizados na fase final no teste de próteses cardiovasculares. (SANTOS et al., 2002) Os ovinos são aparentemente mais resistentes às alterações produzidas pela CEC em comparação com outros animais, como os suínos e cães, apresentando maior taxa de sobrevivência. (HAZEKAMP et al., 1993; FREITAS, 2004)

2.2 Pesquisa com próteses valvares

Motivando inúmeros estudos *in vitro* e *in vivo*, a calcificação segue sendo a maior causa de falha de biopróteses cardiovasculares. (MAVRILAS et al., 2004) Na avaliação da durabilidade de biopróteses valvares e a eficiência de tratamentos anti-calcificação, os ovinos são considerados modelos estabelecido. Em ovinos jovens, o processo de calcificação de implantes biológicos cardiovasculares ocorre precocemente, por isso estes são considerados modelos experimentais de desafio para avaliação destes materiais. Apesar de seguir um padrão de calcificação um pouco diferente, o grau de calcificação observado três meses após o implante em ovelhas jovens é semelhante ao observado após 10 anos em pacientes humanos idosos. (OZAKI et al., 2004)

Meuris et al. (2003) puderam concluir que o contato com o sangue aumenta significativamente a calcificação das biopróteses vasculares xeno-implantes em ovelhas. Adicionalmente, o rápido desenvolvimento dos ovinos jovens, permite ainda avaliar a curto prazo o efeito do seu crescimento sobre as próteses. (SANTOS et al, 2002)

A avaliação circulatória das próteses valvares, os métodos de tratamento anti-calcificação e conservação, a criopreservação e os processos de descelularização e endotelização de heteroenxertos, assim como a resposta imunitária sobre os implantes já vem sendo testados em ovinos com muito êxito. (BOBRY SHEV et al., 2001)

Os materiais biológicos e os implantes cardiovasculares têm sido testados em diferentes posições anatômicas. (DOHMEN, et al, 2003) Sucesso vem sendo obtido nas avaliações hemodinâmicas e biomecânicas a longo prazo de próteses nas posições pulmonar ou aórtica de ovinos. (OUYANG et al., 1998; DAVID et al., 1988)

Diferentes tratamentos anti-mineralizantes vêm sendo investigados com sucesso por diversos autores em ovinos jovens, na tentativa de minimizar a calcificação das próteses cardiovasculares biológicas. Thiene et al. (1986) testaram o pré-tratamento com substâncias contra a calcificação de valvas suínas implantadas no tronco pulmonar de ovinos jovens. Testando diferentes substâncias anti-mineralizantes, Flameng et al. (2001) avaliaram a longo prazo a calcificação de valvas suínas na artéria pulmonar de ovinos jovens.

Ozaki et al. (2003) avaliaram biopróteses valvares modificadas em ovinos jovens, na tentativa de facilitar o implante de tubos valvulares “*stentless*” e observaram que a modificação acarretou na aceleração da calcificação das válvulas, enfatizando a importância da correta técnica de implantação das válvulas na prevenção de sua degeneração precoce.

Ouyang et al. (1998) demonstraram ser prático avaliar biopróteses valvares “*stentless*” em ovelhas jovens e consideraram vantajosa a similaridade do tamanho da raiz aórtica de ovelhas em crescimento, que permitem a implantação e avaliação de próteses do tamanho das utilizadas em humanos (19 mm). Outros pesquisadores tornaram a produzir resultados importantes na avaliação de biopróteses de tubos valvares em ovinos jovens, confirmando a exequibilidade do estudo de modelos valvares nestes animais. (SANTOS et al, 2002; DOHMEN, et al, 2003)

A avaliação das técnicas cirúrgicas nos animais foi importante para a cirurgia experimental. Wouk (1980) estudou técnicas de toracotomia e pericardiotomia em eqüinos, desmistificando a cirurgia torácica nesta espécie animal (WOUK e PIPPI, 1986). Conforme demonstrado por Shofti et al. (2004), pequenas adaptações técnicas e procedimentos adequados à fisiologia podem minimizar consideravelmente a mortalidade e a morbidade de ovinos em protocolo

experimental cardiovascular, melhorando o aproveitamento destes em pesquisa.

A cirurgia de substituição valvar em seres humanos progrediu significativamente graças ao estudo de biopróteses descelularizadas e reendotelizadas em ovinos. (COSTA et al, 2004; DOHMEN et al, 2003) Estas pesquisas resultaram na aprovação do uso de homoenxertos reendotelizados em pacientes humanos, operação que já beneficia cinco indivíduos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de uma pesquisa descritiva com análise qualitativa de resultados. Utilizou-se a Nomina Anatômica Veterinária¹ determinada pelo *International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature* (1983) para descrição das técnicas operatórias.

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) - protocolo número 016/03 aprovado dia 27 de novembro de 2003 - em consonância com a Declaração de Helsinki² e as normas estabelecidas no "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals"³ e os princípios éticos de experimentação animal, conforme preconizado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA, 2000).

Todos os animais foram operados no centro cirúrgico da Unidade Hospitalar de Animais de Companhia, campus de São José dos Pinhais e mantidos na Unidade Hospitalar de Animais de Produção na Fazenda Experimental Galha Azul, município de Fazenda Rio Grande, ambos componentes do Hospital Veterinário da PUCPR.

Todos os procedimentos foram padronizados, desde a preparação pré-operatória até a recuperação pós-operatória dos animais.

¹International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature. Nomina anatomica veterinaria. 3rd ed. New York:ITHACA;1983

²Assembléia Médica Mundial, Helsinki, Finlândia (1964), alterada na 29a. Assembléia, em Tóquio, Japão (1975), 35a. em Veneza, Itália (1983), 41a. em Hong Kong (1989) e 48a. Sommerset West/África do Sul

³ Institute of Laboratory Animal Resources, National Academy of Sciences, Washington, D.C., 1996

3.1 Animais

Os animais, ovinos lanados mestiços (*Ovis aries*) provenientes de criatórios particulares, foram avaliados clinicamente quanto à presença de anomalias congênitas, doenças cardio-respiratórias e infecciosas, que viessem comprometer o propósito deste estudo. Os ovinos, todos em idade juvenil (cerca de três meses de idade), permaneceram por 30 dias em quarentena e receberam ivermectina⁴ na dose de 0,2 mg/kg/IM, para controle de endo e ectoparasitas. Todos os animais foram identificados por brincos numerados e mantidos em piquetes específicos, com água, pasto e ração balanceada, *ad libitum*.

Foram operados 58 ovinos, nos quais se implantaram 40 biopróteses valvares pulmonares, 14 biopróteses valvares aórticas e quatro biopróteses valvares atrioventriculares esquerdas (mitrais). A idade dos animais variou de 18 ± 7 semanas e o peso de 30 ± 9.9 kg.

3.2. Equipe de pesquisa

O experimento foi realizado por uma equipe de cinco cirurgiões cardiovasculares, auxiliados por três cirurgiões e dois anestesiólogos veterinários e uma equipe especializada no tratamento de pequenos ruminantes. Para as operações estavam disponíveis três perfusionistas, que se revezavam durante o estudo, e uma equipe de enfermagem especializada.

⁴ Ivomec®, Merial Saúde Animal, Campinas, Brasil

Dentre os cinco cirurgiões que realizaram as operações, dois eram cirurgiões chefes que foram responsáveis pela supervisão e orientação dos demais. A equipe de médicos veterinários deu suporte aos animais durante todo o período experimental, cuidando diretamente da seleção e preparação destes para as cirurgias, durante as operações cirúrgicas como anestesiólogistas, como cirurgiões auxiliares e no tratamento pós-operatório dos animais.

3.3 Biopróteses valvares

Foram utilizados seis modelos de biopróteses valvares. O tubo valvado de aorta suína descelularizada foi o mesmo para todos os implantes valvares aórticos e a bioprótese valvar mitral manufaturada porcina⁵ a mesma para todos os implantes atrioventriculares esquerdos.

Quatro modelos de próteses foram utilizados na substituição das valvas pulmonares; as próteses valvares pulmonares porcinas descelularizados, as próteses valvares pulmonares porcinas com suporte de pericárdio bovino, as próteses valvares manufaturadas com pericárdio bovino⁶ e os homoenxertos valvares pulmonares criopreservados. (tabela 1) As biopróteses chegaram prontas para o implante nos tamanhos 19, 21 e 23 mm.

⁵ Hancock porcine valve. Medtronic ®Heart Valve Division.

⁶ Cardioprótese, Laboratório de Valvas Cardíacas

TABELA 1 – RELAÇÃO ENTRE A POSIÇÃO DO IMPLANTE, NÚMERO DE OPERAÇÕES, MODELOS DE PRÓTESES VALVARES E A OCORRÊNCIA EM 58 OVINOS

LOCAL	TOTAL	TIPOS DE PRÓTESES	%	No.
VSVD	40	Heteroenxerto pulmonar porcino descelularizado	70	28
		Homoenxerto pulmonar ovino criopreservado	10	4
		Heteroenxerto manufaturado com pulmonar porcina e pericárdio bovino	10	4
		Heteroenxerto manufaturado com pericárdio bovino	10	4
VSVE	14	Heteroenxerto aórtico porcino descelularizado	100	14
Mitral	04	Bioprótese valvar mitral porcina	100	4
TOTAL GERAL				58

Legenda: VSVD- via de saída do ventrículo direito; VSVE- via de saída do ventrículo esquerdo; %- porcentagem dos casos; No.- número de casos

3.4 Procedimento pré-operatório e anestésico.

Os ovinos foram privados de alimentos sólidos durante 30-36 horas e de água por 12 horas antes da operação. Os animais foram mantidos em recintos individuais e receberam terapia antibiótica profilática com gentamicina⁷ na dosagem de 1mg/kg e ceftiofur⁸ na dose de 4,4mg/kg aplicados por via intramuscular e mantidos diariamente até

⁷ Gentocin®, Schering-Plough, São Paulo, Brasil

⁸ Excenel®, Pfizer, São Paulo, Brasil

o sétimo dias de pós-operatório. Os animais foram sedados com diazepam⁹ na dose 0,5mg/kg e tartarato de butorfanol¹⁰ na dose de 0,4mg/kg por via intravenosa 15 minutos antes da indução anestésica.

Foram estabelecidos assepticamente dois acessos intravenosos para manutenção fluidica e anestésica pós punção das veias cefálicas direita e esquerda com cateteres¹¹ de tamanhos 16-18 G, mantidos com infusão lenta com solução de NaCl a 0,9%. (figura1)

FIGURA 1: FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO A PUNÇÃO VENOSA BILATERAL DAS VEIAS CEFÁLICAS EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA



FONTE: Thiago Sillas

Os animais foram submetidos à depilação da área operatória no lado esquerdo do tórax, com auxílio de uma máquina de depilação elétrica¹², abrangendo desde a espinha da escápula, o epicôndilo lateral do úmero, o processo transverso da primeira vértebra lombar, até o arco costal (figura 2), pontos de referência de proeminências ósseas estabelecidos por Ashdown e Done (1996).

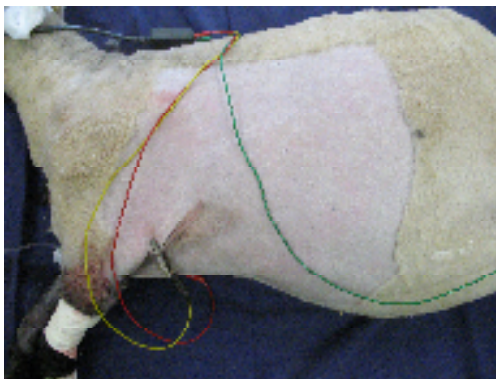
⁹ Valium®, Roche Quim. e Farm. S/A, São Paulo, Brasil

¹⁰ Torbugesic®, Fort Dodge Saúde Animal Ltda., Campinas, Brasil

¹¹ Angiocath®, Becton Dickinson Vascular Acess, Estados Unidos da América

¹² Golden A5 Oster® Professional Products, Estados Unidos da América

FIGURA 2 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO A ÁREA DE DEPILAÇÃO DO HEMITÓRAX ESQUERDO EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA



FONTE: Thiago Sillas

A indução anestésica foi feita com infusão intravenosa de cloridrato de cetamina¹³ na dose de 10 mg/kg. Os animais foram entubados com tubo endotraqueal¹⁴ com 7 e 8 mm de diâmetro e ventilados por meio de aparelho de anestesia inalatória¹⁵ e mantidos com mistura de halotano a 3%¹⁶ ou com infusão contínua de propofol¹⁷ na dose de 0,6 mg/kg/minuto em plano anestésico adequado para manutenção de apnéia com respiração mecânica controlada a uma frequência respiratória de 12 – 16 movimentos por minuto (tempo inspiração e expiração de 1:2, volume tidal entre 800 – 1200 ml e pressão inspiratória 25 – 30 mmHg) em oxigênio a 100% em circuito fechado. (figura 3)

¹³ Vetaset®, Fort Dodge Saúde Animal, Campinas, Brasil

¹⁴ Rüschi, Alemanha

¹⁵ Oxigel®, 1722 Mat. Hosp. Ind. e Com. Ltda, São Paulo, Brasil

¹⁶ Halothano, Cristália Produtos Químicos farmacêuticos Ltda., São Paulo, Brasil

¹⁷ Diprivan® 1%, Astrazeneca do Brasil Ltda., São Paulo, Brasil

FIGURA 3 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO A SONDAGEM OROTRAQUEAL EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA



FONTE: Thiago Sillas

Na seqüência foi estabelecida uma via arterial para mensuração da pressão arterial sistólica (PAS), média (PAM) e diastólica (PAD) (figura 4) por meio de transdutor de pressão DTX Plus 4812¹⁸ e monitor Datascope® 3000¹⁹. A punção e implantação de cateter arterial para mensuração da pressão arterial invasiva, foi inicialmente realizada por meio de dissecação cirúrgica da artéria radial, método utilizado em 18/58 animais. Posteriormente, o acesso arterial foi realizado através da punção per cutânea da artéria auricular caudal, método utilizado 40/58 animais. Foram utilizados cateteres arteriais 19-22G de acordo com o peso dos animais.

¹⁸ Bencton Dickinson Medical, Estados Unidos da América

¹⁹ Soma Technology Inc., Estados Unidos da América

FIGURA 4 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO PUNÇÃO DA ARTÉRIA AURICULAR CAUDAL EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA



FONTE: Thiago Sillas

Os animais foram monitorados mediante eletrocardiografia, oximetria de pulso, termometria nasofaríngea com monitor cardíaco DIXTAL DX-2010²⁰ e gasometria arterial com um gasômetro AGS12 DRAKE²¹. (figura 5)

FIGURA 5 – FOTOGRAFIA DOS MONITORES MULTIPARAMÉTRICOS UTILIZADOS DURANTE AS OPERAÇÕES DE SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA EM OVINOS



FONTE: Thiago Sillas

²⁰ Dixtal Biomedica Ind. E Com. Ltda., Manaus, Brasil

²¹ Drake Electronic Com. Ltda, São Paulo, Brasil

O bloqueio regional de nervos intercostais com injeção de 60mg de solução a 0,5% de bupivacaína²² divididos entre o terceiro, quarto, e quinto espaços intercostais foi realizado na proximidade do tubérculo costal. (figura 6)

FIGURA 6 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO BLOQUEIO ANESTÉSICO INTERCOSTAL PRÉ-OPERATÓRIO EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA



FONTE: Thiago Sillas

Medicações vasoativas, anti-arrítmicas e diuréticas foram empregadas no período trans-operatório conforme a necessidade para manutenção da pressão sistólica, controle da volemia, frequência e ritmo cardíaco. O volume da fluidoterapia intravenosa foi de 4 – 6 ml/kg/hora calculado com base no volume de manutenção ajustado às necessidades hemodinâmicas do animal durante o período trans-operatório, prevenindo perdas relativas à ventilação e toracotomia.

²² Marcaína® sem vasoconstritor, AstraZeneca do Brasil Ltda, São Paulo, Brasil

3.5 Toracotomia intercostal esquerda

O acesso cirúrgico para todas as substituições valvares foi a toracotomia antero-lateral esquerda. Os animais foram posicionados na mesa cirúrgica em decúbito lateral direito, com a área da incisão elevada por coxins de areia. (Figura 7) Uma limpeza prévia da pele foi realizada com álcool 70%. A área depilada passou por duas etapas de antissepsia com solução de polivinilpirrolidona-iodo.

FIGURA 7 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO DECÚBITO LATERAL DIREITO PARA TORACOTOMIA INTER-COSTAL EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA



FONTE: Thiago Sillas

Após a colocação dos campos operatórios estéreis, foi procedida incisão cutânea paracostal, que se estendeu do ponto médio do arco costal até a proximidade do esterno, entre o terceiro e quarto espaço inter-costal (EIC).

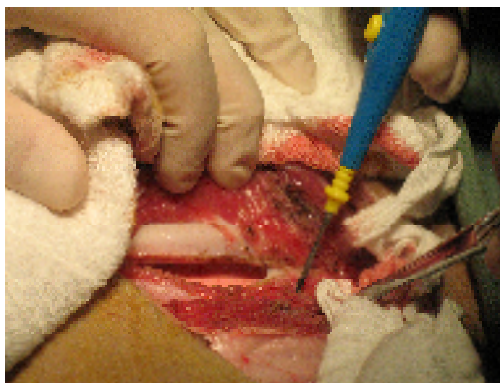
Com auxílio de eletrobisturi²³, o sangramento dermo-subcutâneo foi controlado. Incisou-se o músculo cutâneo do tronco e a porção ventral do músculo grande dorsal até o ponto médio do arco costal. Logo

²³ B-6600 SM, Deltronix®

após foi incisado o músculo escaleno e a porção dorsal do músculo peitoral.

Na contagem dos espaços inter-costais foi utilizado o primeiro EIC como referência. Em seguida, a incisão do músculo serrátil ventral e dos músculos inter-costais externo e interno, no terceiro ou quarto EIC, permitiu o acesso à cavidade pleural. A incisão muscular e a hemostasia foi realizada com auxílio do eletrobisturi. (figura 8)

FIGURA 8 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO A UTILIZAÇÃO DO BISTURI ELÉTRICO NA TORACOTOMIA LATERAL ESQUERDA DE OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA



FONTE: Thiago Sillas

Logo após a ligadura e secção da artéria e veia mamária esquerda (torácica interna), com auxílio de afastador de Finochietto, foram colocados os segundos campos operatórios. (figura 9) A parte caudal do lobo pulmonar cranial e o lobo pulmonar caudal esquerdo foram afastados, quando necessário, com auxílio de uma compressa cirúrgica umedecida em solução fisiológica.

FIGURA 9 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO A LIGADURA DA ARTÉRIA MAMÁRIA EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA



FONTE: Thiago Sillas

3.6 Pericardiotomia

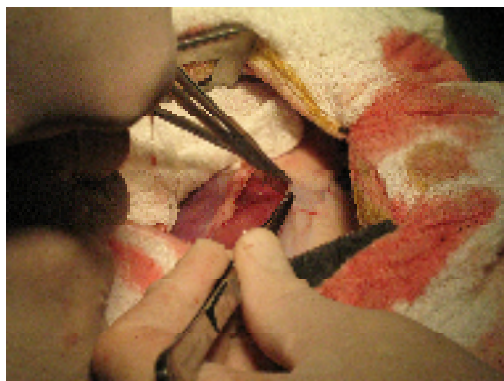
Previamente à pericardiotomia foi administrado 1 mg/kg/iv de cloridrato de lidocaína²⁴ e 250 U/kg/iv de heparina²⁵. O pericárdio foi incisado em forma de “T”, adaptada de técnica descrita por Wouk, (1980), com seu eixo longo longitudinalmente desde a base em direção ao ápice cardíaco, até permitir a completa exposição do tronco da artéria pulmonar, e acima paralelamente ao nervo frênico, fazendo-se hemostasia por eletrocoagulação. (figura 10)

A técnica de pericardiotomia foi a mesma para todas as técnicas de substituição valvar.

²⁴ Xylocaina®, Astra Quím. E Farm. Ltda., São Paulo - Brasil

²⁵ Liquemine®, Roche Quím. E Farm. S/A, São Paulo - Brasil

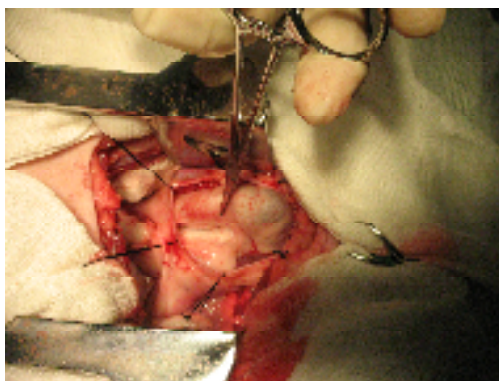
FIGURA 10 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO A PERICARDIOTOMIA EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA



FONTE: Thiago Sillas

O pericardio foi reparado ao segundo campo operatório com cerca de cinco pontos em “U” com fio de seda 0²⁶, dispostos de maneira a expor e elevar a base do coração. Os dois pontos de fixação dorsais do pericárdio, próximos ao nervo frênico, foram reparados ao segundo campo para estarem móveis durante a canulação da aorta descendente. (FIGURA 11)

FIGURA 11 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO O “BERÇO PERICÁRDICO” EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA



FONTE: Thiago Sillas

²⁶ Mersilene®, Ethicom S/A, São Paulo - Brasil

3.7 Posição das cânulas para circulação extra corpórea (CEC)

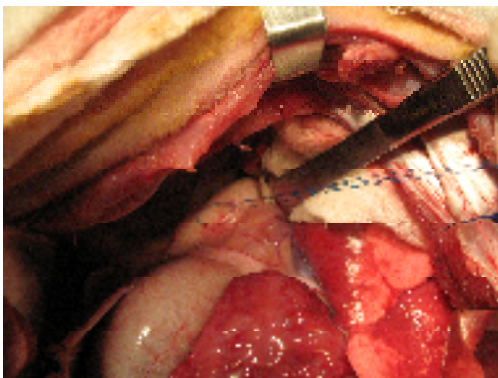
O método de colocação das cânulas arterial e venosa para a CEC foi o mesmo para todos os animais, para as três técnicas operatórias avaliadas.

Os tubos da máquina de CEC foram assepticamente posicionados junto à mesa de operação e fixados ao campo operatório. Os pontos dorsais móveis do berço pericárdico foram rebatidos ventralmente para aumentar o campo visual para canulação arterial. Foi realizada dupla “bolsa de tabaco”, sutura com fio de polipropileno 4-0²⁷, envolvendo em profundidade a camada adventícia e média da aorta, e preparado os torniquetes vasculares. (figura 12) A punção transfixante da aorta foi realizada no ponto central da bolsa com bisturi lâmina 11 e a introdução imediata da cânula arterial 14-16 Fr²⁸. Em seguida os torniquetes das bolsas foram fechados sob pressão e estabelecida a conexão da cânula arterial ao tubo arterial da máquina de CEC, confirmando-se o sucesso da posição da cânula pela forte pressão de drenagem. As bolhas de ar foram completamente evacuadas antes da conexão. Pontos adicionais foram atados fixando a cânula e tubo arterial ao campo operatório com fio de seda 0.

²⁷ Prolene®, Ethicom S/A, São Paulo - Brasil

²⁸ DLP® Cânula arterial pediátrica reta, Medtronic, EUA

FIGURA 12 – FOTOGRAFIA DA “BOLSA” VASCULAR NA AORTA DESCENDENTE PARA CANULAÇÃO ARTERIAL DE OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR



FONTE: Thiago Sillas

A canulação venosa foi realizada mediante a bolsa vascular única no apêndice auricular do átrio direito, por meio de leve retração do tronco pulmonar, com fio de polipropileno 4-0. Um orifício transfixante foi feito no ponto central da bolsa, utilizando-se tesoura de Metzembaum ou bisturi lâmina 11. A cânula venosa de tamanho 34Fr²⁹ foi inserida no orifício até alcançar o átrio direito. O torniquete foi ocluído sob pressão e a cânula foi conectada ao tubo venoso e fixada ao segundo campo com pontos de fio de seda 0.

FIGURA 13 – FOTOGRAFIA DA REALIZAÇÃO DA “BOLSA” VASCULAR PARA CANULAÇÃO AURICULAR DIREITA EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR



FONTE: Thiago Sillas

²⁹ DLP® Cânula venosa aramada de estágio único, Medtronic, EUA

3.8 Circulação Extracorpórea

O método de CEC foi o mesmo para todos os animais, para as três técnicas operatórias avaliadas e foi iniciado com um fluxo de 50 a 70 ml/kg/min (2-2,5 L/min) e normotermia. Durante a CEC a pressão arterial média foi mantida próxima de 60 mmHg.

A CEC foi realizada com uma máquina com sistema de rolete, composta por uma bomba de cabeça arterial, três aspiradores³⁰ com um oxigenador de membrana pediátrico e reservatório para cardiectomia³⁰, preenchidos com solução inicial (“prime”) de cloreto de sódio a 0,9% e perfundidos com oxigênio a 100%. (figura 14)

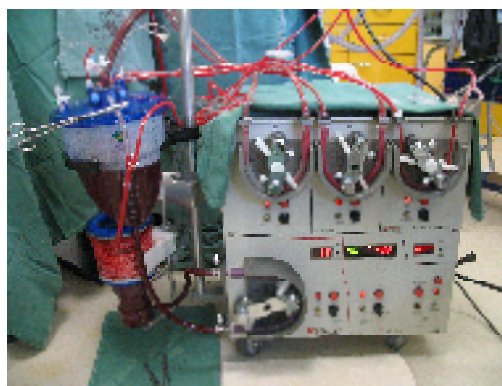
O tamanho da cânula arterial variou de acordo com o tamanho dos animais (14-16 Fr). O tamanho da cânula venosa (34 Fr), o volume do “prime” (900 ml), o reservatório de cardiectomia (máximo 3,7 L), o oxigenador pediátrico, e diâmetros dos tubos arterial (9 mm) e venoso (12 mm) foram os mesmos independente do peso dos animais. Não foi utilizado filtro arterial.

A temperatura dos animais foi mantida entre 34 e 35°C durante as intervenções cirúrgicas. Antes do final da CEC os animais foram aquecidos até recuperarem temperatura corporal de 37,5°C. A boa contratilidade e ritmo miocárdico, estabilidade hemodinâmica (pressão sistólica acima de 60 mmHg) e ausência de distúrbios metabólicos, determinaram o término da CEC. No intuito de desfazer atelectasias, resultantes da manutenção da apnéia durante a CEC, ao término da mesma, os pulmões foram hiperinsuflados manualmente até que todos os lobos pulmonares fossem visivelmente expandidos.

³⁰ Braille Biomédica, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil

A retirada das cânulas venosa e arterial, consecutivamente, ocorreu com o fechamento das bolsas com pontos com mais de sete sobre nós. Todo o sangue retido nos tubos ao final da CEC foi reinfundido no animais durante o período de retorno anestésico. Não foi administrado protamina para reversão dos efeitos da heparina.

FIGURA 14 – FOTOGRAFIA DA MÁQUINA DE CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA UTILIZADA DURANTE AS OPERAÇÕES DE SUBSTITUIÇÃO VALVAR EM OVINOS



FONTE: Thiago Sillas

A cardioplegia sanguínea normotérmica anterógrada foi utilizada na substituição valvar aórtica e mitral para perfusão coronariana, proteção miocárdica e a parada cardíaca, realizada a partir de cânula de cardioplegia de raiz de aorta³¹ ou diretamente nos óstios coronarianos³² a cada 15 minutos na dose de 15 ml/kg. Utilizou-se filtro de cardioplegia pediátrico³⁰ para infusão. A solução para cardioplegia de indução foi preparada com 500 ml de solução glicosada a 5%, 30 ml de solução de cloreto de potássio a 19,1%, 10 ml de Sulfato de Magnésio 10%. A solução de manutenção foi composta por 500 ml de solução glicosada 5%, 10 ml de solução de cloreto de potássio 19,1% e 10 ml de solução de Sulfato de Magnésio 10%. Ambas utilizadas na proporção de quatro

³¹ DLP® Standard Aortic Root Cannulae, Medtronic, EUA

³² DLP®, Medtronic, EUA

partes de sangue para uma parte de solução (4:1) que foi Durante a parada cardíaca nos implantes aórticos e mitrais, foi procedida a drenagem contínua do ventrículo esquerdo com sonda de sucção para cardiectomia de 6 mm³³.

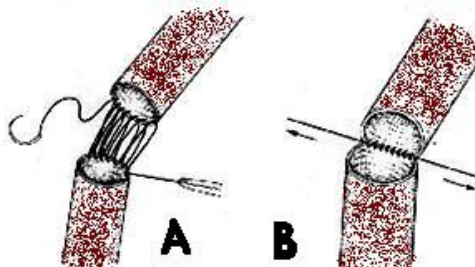
3.9 Implante valvar pulmonar

O implante da prótese pulmonar foi iniciado com a dissecação do tronco pulmonar e tecidos adjacentes. Duas pinças de aorta de Morris foram posicionadas clampeando o tronco pulmonar, logo acima do plano valvar e este foi seccionado transversalmente. Foi então excisada uma pequena porção em cunha da artéria pulmonar. As válvulas semilunares nativas foram removidas com auxílio de tesoura de Metzemaum, pinça DeBackey e sucção.

A anastomose distal foi iniciada com sutura de polipropileno 4-0 em padrão contínuo simples pela parede vascular posterior, com a prótese suspensa em relação à base cardíaca. A prótese foi aproximada junto da superfície vascular e a linha de sutura tensionada até atingir adequada justaposição termino-terminal da parede posterior. Seguiu-se a sutura da parede anterior, que foi finalizada por um ponto com mais de sete sobre nós. (figura 15) A anastomose proximal foi procedida da mesma maneira, mas antes da finalização da sutura distal os pulmões foram inflados para proporcionar a drenagem do ar do lume vascular. O pericárdio não foi suturado. (figura 16)

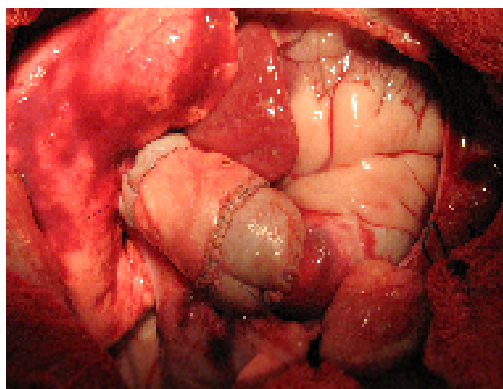
³³ DLP® Vents, Medtronic, EUA

FIGURA 15 - ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DO MÉTODO UTILIZADO PARA O IMPLANTE VALVAR PULMONAR EM OVINOS. **A.** O PLANO POSTERIOR DA ANASTOMOSE REALIZADO COM A PRÓTESE SUSPensa. **B.** A PROTESE É TRAZIDA EM CONTATO COM A ARTÉRIA PULMONAR PELA TRAÇÃO DA LINHA DE SUTURA, PARA DAR CONTINUIDADE AO PLANO ANTERIOR DA ANASTOMOSE.



Fonte: Thiago Sillas

FIGURA 16 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO O ASPECTO FINAL DO IMPLANTE VALVAR PULMONAR EM OVINO COM PRÓTESE DE PERICÁRDIO BOVINO



FONTE: Thiago Sillas

3.10 Implante Valvar Aórtico

O tronco pulmonar foi seccionado por completo, para permitir a exposição do plano valvar da aorta e reparado com fios de sutura de poliéster cardiovascular³⁴. A aorta ascendente foi dissecada e clampeada com um clampe de Morris.

Imediatamente após, realizou-se a primeira cardioplegia sanguínea normotérmica anterógrada da raiz da aorta. Seguiu-se a secção transversal da raiz aórtica, logo acima do plano valvar, já com parada cardíaca, e a colocação de uma sonda de sucção “de ponta” de cardiectomia (“*Vent*”) para prevenir a distensão ventricular esquerda. As cúspides “nativas” foram excisadas e os óstios coronarianos isolados. Durante o período de implante valvar a cardioplegia foi realizada em ambos os óstios coronarianos a cada 15 minutos.

A parede da prótese valvar foi seccionada em sua porção supra-comissural para o implante subcoronariano. Realizou-se previamente a sutura contínua da porção muscular (proximal) da prótese no lúmen da via de saída do ventrículo esquerdo (VSVE) com fio de polipropileno 5-0³⁵.

Realizou-se a sutura distal da prótese circundando os óstios coronários direito e esquerdo em padrão de sutura contínua com fio de polipropileno 5-0. Procedeu-se a anastomose da raiz da aorta e do tronco pulmonar conforme descrito anteriormente. Todas as anastomoses foram finalizadas por pontos com mais de sete sobre nós. O ar das cavidades cardíacas foi drenado e restabelecido o fluxo sanguíneo da aorta. Um desfibrilador³⁶ cirúrgico foi utilizado para cardioversão e

³⁴ Ethibond* Excel®, Ethicom S/A, São Paulo - Brasil

³⁵ Prolene®, Ethicom S/A, São Paulo – Brasil

³⁶ Marquette Hellige®

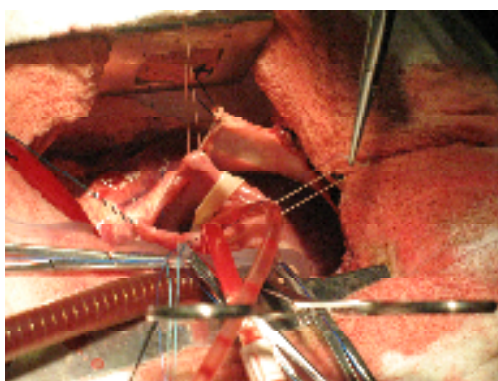
restabelecimento do ritmo cardíaco. A carga utilizada foi de 10-30 joules conforme a necessidade. Realizou-se a revisão da hemostasia. Não foi realizado sutura do saco pericárdico.

3.11 Implante valvar mitral

Imediatamente após o clampeamento da aorta com *clampe* de Morris, realizou-se a primeira cardioplegia anterógrada na raiz, que foi repetida a cada 15 minutos durante o implante da valva mitral.

O acesso cirúrgico foi realizado por meio de incisão longitudinal da aurícula do átrio esquerdo que, depois de incisado, foi reparada em quatro pontos ao segundo campo operatório com fio de sutura de poliéster cardiovascular. A sonda de sucção “de ponta” para cardiectomia (“*Vent*”) foi posicionada para drenagem contínua do ventrículo esquerdo durante o implante valvar. (figura 17)

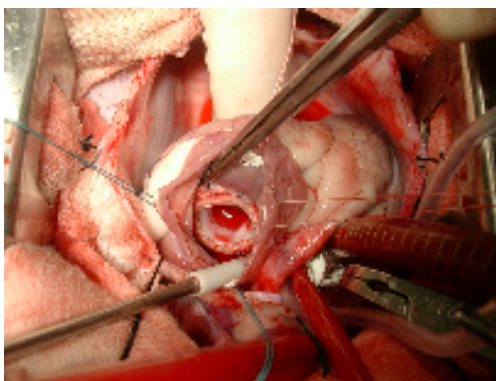
FIGURA 17 – FOTOGRAFIA DE AURICULOTOMIA EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR MITRAL



FONTE: Thiago Sillas

Duas técnicas de implante valvar mitral foram utilizadas. Na primeira, o implante foi iniciado pela fixação de três pontos de sutura com fio de polipropileno 5-0 e destes partiam três linhas de sutura contínua simples que completaram a sutura de implante. A sutura foi finalizada por três pontos com mais de sete sobre nós. (figura 18) A segunda técnica utilizada foi realizada com pontos isolados simples, transpassados com a prótese suspensa em relação à câmara atrial e, ao final, a prótese foi baixada e os nós foram atados independentemente. Ao término da implantação o átrio esquerdo foi suturado com fio de polipropileno 6-0³⁷. O ar no interior do átrio foi drenado por meio de punção antes da retirada do clampe aórtico. A cardiversão foi realizada com carga de 10-30 joules. Realizou-se a revisão da hemostasia. Não foi realizado sutura do saco pericárdico.

FIGURA 18 – FOTOGRAFIA DO ASPECTO FINAL DO IMPLANTE VALVAR MITRAL EM OVINO



FONTE: Thiago Sillas

³⁷ Prolene®, Ethicom S/A, São Paulo - Brasil

3.12 Toracorráfia

A CEC foi encerrada após revisão da hemostasia, recuperação do *status* cardiocirculatório e equilíbrio metabólico e a ventilação mecânica foi reiniciada. Um dreno torácico foi colocado previamente à oclusão do gradil costal para sucção contínua da cavidade pleural. A aproximação do espaço intercostal foi feita com três pontos com fio de polipropileno 1³⁸ em padrão de sutura de Sultan. A síntese muscular foi realizada em dois planos e a síntese do tecido subcutâneo completando o terceiro plano de sutura em padrão contínuo simples com fio de poligalactina 310 número 2-0 ou 0³⁹. A pele foi suturada com fio de náilon 2-0⁴⁰ no mesmo padrão contínuo de sutura. (figura 19)

FIGURA 19 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO ASPECTO FINAL DA TORACORRAFIA E DRENAGEM TORÁCICA EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA



FONTE: Thiago Sillas

³⁸ Prolene®, Ethicom S/A, São Paulo - Brasil

³⁹ Vicryl®, Ethicom S/A, São Paulo - Brasil

⁴⁰ Nylon®, Ethicom S/A, São Paulo - Brasil

Assim que o reflexo laríngeo foi recuperado, o tubo traqueal foi removido. O dreno torácico foi retirado ainda dentro do centro cirúrgico, quando o animal começou a se movimentar e a drenagem pleural cessou, por meio de rápida tração do tubo e fechamento concomitante do ponto de abertura da pele. Com a pressão arterial e o padrão respiratório estáveis, os animais foram então encaminhados para uma sala de recuperação anestésica. (figura 20)

FIGURA 20 – FOTOGRAFIA DE OVINO DURANTE A RECUPERAÇÃO ANESTÉSICA APÓS SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA.



FONTE: Thiago Sillas

3.13 Pós-operatório

Os animais permaneceram na sala de recuperação pós-operatória até que a temperatura corpórea retornasse ao normal e fossem capazes de se manter em estação e posteriormente foram monitorados em piquetes com acesso a pastagem.

Todos os animais receberam terapia antiinflamatória e analgésica, com aplicação de flunixin meglumine⁴¹ (0,5 mg/kg/IM) ao dia e trataram de butorfanol (0,5mg/kg/IM) duas vezes ao dia, ambos por três dias, e antibiótica, com aplicação de ceftiofur (4,4 mg/kg/IM) associado à gentamicina (1mg/kg/IM) uma vez ao dia por sete dias. Limpeza diária

⁴¹ Banamine® injetável, Schering-Plough, Cotia, São Paulo, Brasil

da ferida cirúrgica foi procedida com solução de polivinilpirrolidona-iodo tópica e os pontos da pele foram removidos de acordo com a cicatrização individual entre o sétimo e décimo dia do período pós-operatório.

Os animais foram submetidos a exames clínicos diários até o décimo quinto dia do período pós-operatório, incluindo avaliação dos parâmetros vitais; frequência respiratória, cardíaca, qualidade do pulso, temperatura retal, coloração de mucosas e tempo de perfusão capilar. As observações pertinentes a este estudo foram completadas no 30º. dia de pós-operatório. Os ovinos foram mantidos por diferentes períodos para pesquisas comparativas entre as biopróteses valvares.

4 RESULTADOS

Devido à natureza deste estudo, optou-se pela apresentação dos resultados de acordo com as etapas operatórias.

4.1 Procedimentos pré-operatórios

O jejum pré-operatório foi suficiente para a maioria dos animais, porem a sondagem gástrica trans-operatória devido ao refluxo do conteúdo ruminal ou timpanismo foi necessária em 5,2% dos animais (3/58). Tal procedimento foi realizado através de tubo nasogástrico de silicone (calibre 16 mm) para esvaziamento das secreções e gases ruminais e alívio da compressão diafragmática. Nenhum dos animais acometidos apresentou complicações adicionais após o procedimento de sondagem. A distensão gástrica foi manifestada por regurgitação do conteúdo ruminal em 66,6% dos casos (2/3) e por queda na saturação parcial de oxigênio (SPO₂) em 33,3% (1/3), devido compressão diafragmática pelo timpanismo gástrico.

O protocolo de indução anestésica permitiu a realização da depilação, assim como o estabelecimento do acesso venoso e arterial, sem necessidade de contenção física dos animais. Não houve complicações relativas ao protocolo de indução anestésica, no estabelecimento das vias de acesso venoso e intubação orotraqueal.

4.2 Procedimentos operatórios

Não houve problema relacionado ao protocolo de manutenção anestésica, sendo este adequado para indução da apnéia a CEC sem a utilização de bloqueadores neuro-musculares. Anormalidades eletrocardiográficas foram observadas durante a manipulação cardíaca em todos os ovinos, mas foram auto-limitantes e não requereram tratamento específico.

A técnica de toracotomia foi satisfatória na exposição do campo operatório, envolvendo o saco pericárdico e os vasos da base cardíaca. Dois espaços intercostais foram acessados para toracotomia e realização dos procedimentos cirúrgicos. O 3º espaço intercostal (EIC) foi utilizado em 17,2% dos animais (10/58), permitindo uma exposição da base cardíaca levemente descentralizada caudalmente. Apesar de possível a realização de substituição pulmonar, este acesso tornou menos confortável aos cirurgiões a colocação da cânula arterial e a realização das técnicas de substituição da valva aórtica e mitral. O acesso através do 4º EIC foi utilizado em 82,7% dos animais (48/58) e permitiu excelente exposição para todas as técnicas operatórias avaliadas.

4.3 Circulação extra corpórea

A hemodiluição excessiva por sobrecarga do volume de solução cristalóide foi uma constante preocupação. A fluidoterapia foi calculada para manutenção do acesso venoso na dose de 4 – 6 ml/kg/hora durante o período trans-operatório, prevenindo perdas relativas à ventilação e toracotomia. O volume do “prime” utilizado no reservatório não variou

entre os animais, sendo utilizado 900 ml de solução fisiológica a 0,9%, independentemente do peso corporal. Não foi utilizado filtro arterial para redução do volume fluídico. O hematócrito dos animais avaliados (n=5) diminuiu $25 \pm 5\%$ durante a CEC, apesar das medidas tomadas contra a hemodiluição. Nenhum animal recebeu transfusão sanguínea nem administração de colóides no presente estudo

Os transtornos operatórios relacionados à CEC foram a infiltração de sangue entre as túnicas vasculares da parede da aorta (A dissecação acidental da aorta), perfuração atrial e a interrupção ou insuficiência da drenagem venosa. (tabela 2) Dentre os transtornos de drenagem venosa, 5.1% (3/58) dos casos ocorreram devido à entrada de ar no sistema durante a abertura do tronco pulmonar e 3,4% (2/58) dos casos pelo mau posicionamento da cânula no átrio direito.

TABELA 2 – RELAÇÃO DAS COMPLICAÇÕES NA CANULAÇÃO PARA CEC E OCORRÊNCIA NOS 58 OVINOS.

COMPLICAÇÃO	CANULAÇÃO	
	ARTERIAL	VENOSA
Sangramento	34,4%	6,8%
A dissecação acidental da aorta	1,7%	-----
Perfuração atrial	-----	1,7%
Drenagem insuficiente	-----	8,6%
TOTAL	36,2%	17,2%

Queda da pressão arterial foi observada em todos os ovinos durante a CEC e foi tratada com a cloridrato de etilefrina⁴² (4 µg/kg) conforme a necessidade. A dopamina⁴³ foi utilizada após o término da CEC para estímulo da perfusão renal na dose de 2,5 µg/kg/min ao final da CEC.

4.5 Implante valvar pulmonar

A técnica operatória utilizada permitiu a substituição das valvas pulmonares em todos os animais. O padrão de sutura contínua simples na anastomose proximal e distal do implante foi considerado rápido e seguro. Atenção foi tomada para que fosse respeitado o sentido de passagem da agulha (dentro-fora / fora dentro do lume vascular) durante a fase inicial da anastomose, enquanto a prótese encontrava-se suspensa. Quando este sentido foi desrespeitado a sutura tinha que ser desfeita, ocasionando atraso técnico. Devido à espessura larga do tecido muscular das próteses valvares homólogas ovinas, este teve que ser recortado para facilitar a passagem da agulha durante a anastomose proximal.

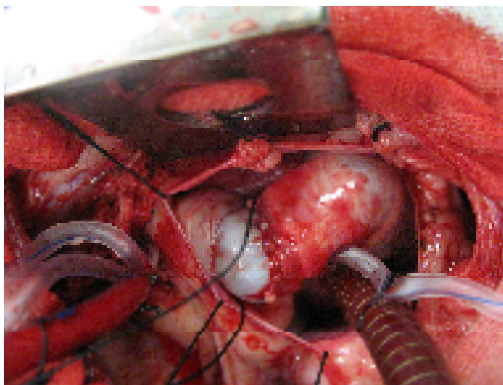
As principais complicações foram os sangramentos residuais ao final das anastomoses proximal e distal, que ocorreram em 92,5% dos implantes da VSVD (37/40). O sangramento foi corrigido pela realização de pontos isolados simples adicionais nos locais de sangramento. (figura 21) Em 64,8% dos casos (24/37) o sangramento foi proveniente do plano posterior da linha de anastomose, o que tornou o controle do sangramento tecnicamente mais difícil, pois exigia a exposição do plano posterior da anastomose através da cuidadosa tração do tronco pulmonar para não haver danos à prótese implantada. Em

⁴² Efortil®, Boehringer Ingelheim, Itapetecica da Serra, São Paulo, Brasil

⁴³ Revivan® Zambon Laboratórios Farmacêuticos Ltda, São Paulo, Brasil

7,5% dos animais (3/40) o controle do sangramento aumentou o tempo de cirurgia em aproximadamente 15 minutos e em 2,5% dos casos (1/40) houve sangramento incontrolável.

FIGURA 21 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO SANGRAMENTO RESIDUAL DO PLANO ANTERIOR DA ANASTOMOSE VALVAR PULMONAR EM OVINO



Fonte: Thiago Sillas

O tempo de CEC para o implante pulmonar foi de 34 ± 14 minutos. A depressão cardíaca e hipotensão persistente ao final da CEC foram à causa da morte de 5% dos animais (2/40). Um animal veio a óbito por hemorragia incontrolável, proveniente de vários pontos das anastomoses após reperfusão pulmonar, e representou 2,5% dos casos (1/40). A mortalidade geral associada à técnica de implante valvar pulmonar foi de 7,5% (3/40).

4.6 Implante valvar aórtico

A técnica operatória utilizada permitiu o implante valvar aórtico em todos os animais. A realização da anastomose proximal foi dificultada pelo campo visual limitado da região comissural através do lúmen da raiz da aorta. A síntese distal da prótese, contornando os óstios coronarianos, foi igualmente trabalhosa. O extremo cuidado na realização da sutura no intuito de preservar os óstios coronários e a restrita visualização foram os motivos principais que refletiram no tempo prolongado de implantação da prótese valvar aórtica. A anastomose final da raiz da aorta e do tronco pulmonar foram tecnicamente simples e rápidos.

Em uma das substituições da valva aórtica ocorreu problema com a fixação da cânula de cardioplegia na raiz da aorta que representou fator de atraso durante a cardioplegia de indução. A distensão ventricular devido ao mau posicionamento da sonda de sucção de cardiectomia (“*Vent*”) ocorreu em 14,2% dos animais (2/14) durante o implante valvar.

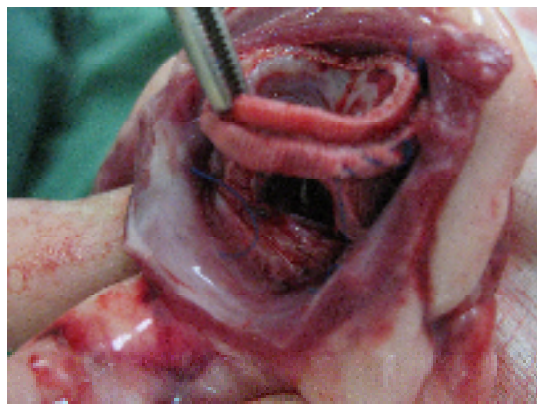
O tempo de CEC para o implante foi de 119 ± 5 minutos e o tempo de oclusão da aorta foi 80 ± 11 minutos. Foram realizadas de 5-6 cardioplegias durante o implante. A mortalidade intra-operatória foi 57% (8/14) e ocorreu por fibrilação ventricular irreversível e assistolia em 50% destes (4/8) e depressão cardíaca e pressão arterial persistentemente baixa nos outros 50% (4/8).

4.7 Implante valvar mitral

As duas técnicas operatórias utilizadas permitiram o implante valvar mitral em todos os animais. A técnica realizada com as três linhas de sutura contínuas foi mais rápida (49 ± 6 minutos) em comparação com a sutura com pontos isolados (57 ± 5 minutos) porém houve falha que causou a morte de um animal por ruptura da linha de sutura.

O sangramento na sutura da síntese do átrio esquerdo ocorreu em 25% dos animais (1/4) e foi corrigida pela realização de pontos isolados adicionais. A depressão cardíaca e baixa pressão arterial ocorreram em 25% dos animais (1/4). O tempo de CEC para o implante foi de 74 ± 22 minutos e o tempo de oclusão da aorta de 59 ± 13 minutos. Um total de 3 ou 4 cardioplegias foram realizadas durante os implantes. A mortalidade intra-operatória foi de 50% dos animais (2/4), sendo causada por ruptura da linha de sutura e insuficiência cardíaca esquerda em 25% dos animais (1/4) e assistolia em 25% dos animais (1/4). (figura 22)

FIGURA 22 – FOTOGRAFIA DE NECROPSIA DEMONSTRANDO RUPTURA DA SUTURA EM IMPLANTE MITRAL EM OVINO



FONTE: Thiago Sillas

As complicações observadas durante a realização das três técnicas operatórias estão referidas na tabela 3.

TABELA 3 – RELAÇÃO DAS COMPLICAÇÕES ASSOCIADAS E AS TÉCNICAS DE SUBSTITUIÇÃO VALVAR EM OVINOS

PULMONAR	AÓRTICO	MITRAL
Sangramento residual 92,5% (37/40)	Ruptura fixação cânula de cardioplegia 7,1% (1/14)	Sangramento atrial 25% (1/4)
Hemorragia incontrolável 2,5% (1/40)	Drenagem insuficiente do “Vent” 14,2% (2/14)	Ruptura linha de sutura 25% (1/4)

4.8 Procedimentos Pós-operatórios

A drenagem torácica, realizada durante a recuperação anestésica e interrompida após o animal recuperar a movimentação dos membros, foi efetiva em 96,5% dos casos (56/58). O conteúdo sanguíneo drenado pelo tubo torácico foi 50 ± 10 ml. Houve pneumotórax em 3,4% dos animais (2/58), sendo a causa da morte em 1,7% dos casos (1/58).

A maior parte dos animais se recuperou rapidamente da anestesia, mantendo-se em estação e pastando algumas horas após o término dos atos cirúrgicos.

Nenhum animal apresentou paraparesia por isquemia da medula espinhal, sinais de trombose ou sangramento. Apesar da utilização das medicações antibióticas nos primeiros sete dias do período pós-operatório, houve endocardite em 10% (6/58), em cinco próteses

pulmonares e uma prótese aórtica, causando insuficiência cardíaca e morte dos animais no período pós-operatório.

4.9 Mortalidade geral

A mortalidade geral (intra-operatória e pós-operatória) relacionada às três técnicas operatórias foi de 25,8% (15/58). (tabela 4)

TABELA 4 - RELAÇÃO DA MORTALIDADE INTRA-OPERATÓRIA, MORTALIDADE GERAL E AS TRÊS TÉCNICAS OPERATÓRIAS DE SUBSTITUIÇÃO VALVAR NOS OVINOS

TÉCNICA	ÓBITOS/ OPERAÇÕES	OCORRÊNCIA (%)
Implante pulmonar	3/40	7,5
Implante aórtico	8/14	57
Implante mitral	2/4	50
MORTALIDADE GERAL*	15/58	25,8

* NOTA: A mortalidade geral acrescenta duas mortes não relacionadas diretamente às técnicas de substituição valvar. As mortes por endocardites não foram comprovadamente relacionadas a técnica operatória e foram aqui desconsideradas.

Duas mortes ocorreram por causas não relacionadas diretamente com as técnicas de implante valvar. A dissecação da aorta, relacionada à canulação arterial para CEC, foi a causa da morte de 1,7% dos animais (1/58). O pneumotórax, relacionado à drenagem pleural pós-operatória, causou a morte de 1,7% dos animais (1/58).

As causas de óbito relacionadas às técnicas operatórias foram: sangramento incontrolável e a depressão cardíaca fibrilação ventricular

irreversível e assistolia, ruptura da sutura de implante, estão relacionadas na tabela 5.

TABELA 5 – RELAÇÃO DAS CAUSAS DE MORTE COM AS TRÊS TÉCNICAS OPERATÓRIAS DE SUBSTITUIÇÃO VALVAR EM OVINOS

<i>CAUSA MORTIS</i>	TÉCNICA ESPECÍFICA	OCORRÊNCIA
Dissecção da aorta	Canulação arterial	
Sangramento	Implante pulmonar	1,7% (1/58)
Ruptura da sutura	Implante mitral	2,5% (1/40)
Depressão miocárdica e pressão arterial baixa	Implante pulmonar	25% (1/4)
	Implante aórtico	5% (2/40)
Fibrilação ventricular e assistolia	Implante aórtico	28% (4/14)
	Implante mitral	28% (4/14)
Pneumotórax		25% (1/4)
	Drenagem pleural	
		1,7% (1/58)

A relação entre a técnica de implante valvar, o tempo de CEC, o número de cardioplegias e a mortalidade geral encontra-se na tabela 6.

TABELA 6 - RELAÇÃO ENTRE A TÉCNICA DE IMPLANTE VALVAR, TEMPO MÉDIO DE CEC (MINUTOS), NÚMERO DE CARDIOPLEGIAS E MORTALIDADE (%) EM 58 OVINOS

IMPLANTE VALVAR	TEMPO DE CEC (MINUTOS)	NÚMERO DE CARDIOPLEGIAS	MORTALIDADE (%)
pulmonar	34 ± 14	----	7,5%
aórtico	119 ± 5	5-6	57%
mitral	74 ± 22	3-4	50%

5 DISCUSSÃO

A interação entre os pesquisadores médicos e veterinários trouxe enormes benefícios à finalidade da pesquisa e aos animais. Os representantes médicos agregaram conhecimentos avançados e disponibilizaram todo o aparato tecnológico para a pesquisa de ponta que se distanciam da realidade veterinária. Por outro lado, os conhecimentos veterinários da fisiologia animal e a experiência no manejo, terapêutica, técnicas anestésiológicas e cirúrgicas foram imprescindíveis no melhor aproveitamento e respeito às condições e cuidados dos animais.

A utilização dos ovinos no presente estudo atendeu uma tendência mundial, que descobriu nos ovinos o modelo desafio para teste das biopróteses valvares. Devido ao rápido processo de calcificação das próteses desencadeado nos ovinos durante sua fase de crescimento, utilizou-se animais com idade entre dois e cinco meses de idade. O rápido ganho de peso nesta fase de crescimento permite avaliar as influências da adaptação das biopróteses ao crescimento. O peso corporal dos animais estudados refletiu o rápido crescimento, (o peso dobrou de 20 para 40 kg) permanecendo ainda equivalente ao porte de uma criança ou um adolescente.

5.1 Procedimentos pré-operatórios

O jejum alimentar de 30-36 horas e hídrico de 12 horas precedentes às cirurgias, foi suficiente na maioria absoluta dos animais, havendo transtornos intra-operatórios caracterizados por regurgitação e

timpanismo em 5,2% dos animais (3/58). Outros autores descreveram jejum de 12 horas associado a lavagem gástrica pré-operatória como alternativa para prevenir o refluxo ruminal, justificando que o conteúdo ruminal não pode ser completamente esvaziado pelo jejum e que o jejum prolongado aumenta o volume líquido do rumem. (ALI, et al., 1996) Santos et al. (2002) utilizaram jejum de apenas 12 horas sem descreverem complicações associadas a refluxo ou timpanismo. Com os resultados obtidos neste estudo não se indica a utilização de lavagem gástrica. Entretanto, o sucesso obtido por outros autores pode sugerir que a utilização de tempos menores (até 12 horas) de jejum, sem a lavagem gástrica pré-operatória, não influenciem na ocorrência na ocorrência de refluxo.

O protocolo de indução anestésica utilizado no presente estudo foi considerado seguro para a contenção química. O acesso venoso mantido através da punção bilateral das veias cefálicas possibilitou a infusão fluidica e acesso imediato para a administração de anestésicos e outras drogas durante todo o período operatório. A punção bilateral conferiu segurança, uma vez que, frente à perda de um dos acessos, recorria-se prontamente ao acesso contra lateral.

A punção da artéria radial foi considerada tecnicamente trabalhosa, devido a sua profundidade em relação à pele, dificultando a sua punção. Sua dissecação foi demorada e atrasou o início da operação de substituição valvar em 31% dos casos. Outros pesquisadores monitorizaram a pressão arterial através da dissecação e canulação de ramos da artéria femoral ou da artéria carótida. (ALI, et al., 1996)

Como alternativa à dissecação cirúrgica, o acesso arterial foi posteriormente viabilizado por meio de punção da artéria auricular caudal. Os ovinos têm orelhas pendulares e longas e sua vascularização auricular é proeminente e o pulso arterial é mais nítido ao toque nesta

região. Em 69% dos casos, esta técnica possibilitou menor tempo pré-operatório, menor custo (relativo ao instrumental cirúrgico estéril para dissecação local) e, acima de tudo, poupou desconforto pós-operatório aos animais, gerado pela manipulação cirúrgica adicional.

O procedimento de colocação da sonda oro-traqueal exigiu treinamento e a utilização de um laringoscópio com lâmina laríngea reta tipo *Miller* tamanho 2 devido à pequena amplitude de abertura bucal dos ovinos e o restrito campo visual. Quando jovens, a distância inter-dental dos ovinos situa-se abaixo de 30 mm. (figura 23) Apesar da maior dificuldade inicial na colocação do tubo traqueal, esta foi possível em todos os animais após abolição do reflexo faríngeo.

FIGURA 23 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO A PEQUENA AMPLITUDE DE ABERTURA BUCAL DE OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR

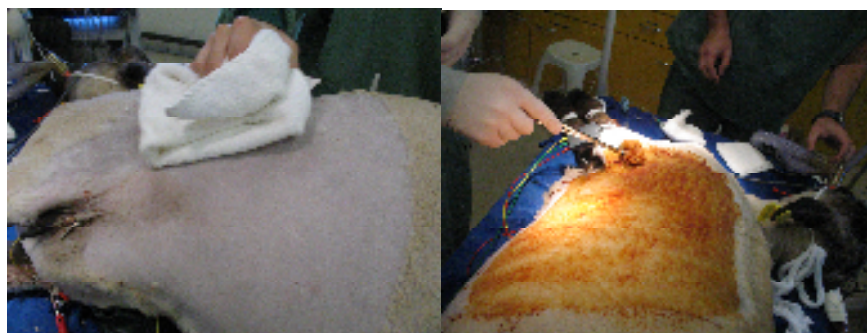


FONTE: Thiago Sillas

A limpeza prévia da pele do hemitórax esquerdo, realizada com álcool 70% logo após a depilação, foi importante na remoção de sujidades. Além da ação anti-séptica, o seu efeito adstringente minimizou a grande oleosidade da pele dos ovinos, melhorando a superfície tegumentar para ação da solução degermante hidrossolúvel de poli-vinil-pirrolidona iodo. (figura 24) O procedimento de anti-sepsia foi

considerado adequado, uma vez que, não houve caso de piotórax ou contaminação pós-operatória da camada muscular ou subcutânea (abscesso ou flegmão). Por serem as próteses valvares altamente susceptíveis à aderência de microorganismos, o segundo campo operatório, utilizado para prevenir o contato com a pele, foi empregado a partir da ocorrência de endocardites pós-operatórias em 25% dos animais (4/16) no início deste estudo, e diminuiu consideravelmente esta ocorrência para 4% dos animais (2/42). Estes dados indicam a pele como possível fonte de contaminação, apesar da realização da anti-sepsia em três etapas. Entretanto, a participação da infecção hematógena das próteses não pode ser descartada.

FIGURA 24 – FOTOGRAFIAS DEMONSTRANDO AS ETAPAS DA ANTI-SEPSIA DE PELE UTILIZADA NOS 58 OVINOS SUBMETIDOS A SUBSTITUIÇÃO VALVAR



FONTE: Thiago Sillas

5.2 Procedimentos operatórios

A manutenção anestésica com anestesia balanceada com halotano e propofol mostrou-se segura assim como demonstrado por outros pesquisadores. (CHEUNG et al., 1999) A utilização dos bloqueadores neuromusculares não foi necessária neste estudo, porém outros pesquisadores utilizaram o pancurônio para induzir a parada respiratória. (CHANDA et al., 1997)

A comprovada sensibilização miocárdica às arritmias causada pelo halotano pode ter influenciado na ocorrência das fibrilações irreversíveis e assistolia, ocorrida em 8,62% (5/58) dos animais. A utilização do pancurônio (0,1mg/kg) e do fentanil *in bolus* durante a anestesia pode reduzir a dose anestésica e assim diminuir a ocorrência de arritmias irreversíveis. O uso de outro anestésico halogenado menos arritmogênico como o isoflurano, ou de anestesia intravenosa total, descrita previamente por outros autores, também é uma alternativa. (HERIJGERS et al., 2002; CHEUNG, et al., 1999) As fibrilações ventriculares intratáveis foram também descritas por Shofti et al. (2004) que preconizaram a utilização profilática de anti-arrítmicos e mencionou alta taxa de mortalidade associada à isquemia miocárdica.

A utilização de um protocolo anestésico refinado foi descrita por Schauvliege, et al. (2006) para substituição pulmonar em ovinos, incluindo o midazolam e metadona como pré-medicações anestésicas, indução com propofol e manutenção com isoflurano e infusão contínua com propofol e fentanyl. Os mesmos autores utilizaram o cisatracurônio como bloqueador neuro-muscular.

A extensão dorsal da toracotomia foi reduzida em cerca de 30%, envolvendo apenas a porção ventral do tórax, desde o ponto médio do arco costal até próximo ao esterno. Na toracotomia padrão a incisão é

iniciada logo abaixo dos corpos vertebrais até próximo ao esterno. Conforme demonstrado, a toracotomia lateral mínima permitiu exposição cirúrgica ao coração e vasos da base em todos os animais operados. Em trabalho prévio publicado por este grupo de pesquisa, este método de toracotomia foi mencionado como *minitoracotomia lateral*. (DOHMEN, et. al., 2005) Sua menor extensão foi considerada menos traumática e presumivelmente menos dolorosa aos animais. Sua eficácia ficou demonstrada, não comprometendo a visualização do campo operatório e não influenciando negativamente a segurança dos procedimentos cirúrgicos. Dois procedimentos contribuíram para o sucesso da toracotomia mínima e foram considerados complementares; (1) a posição de coxins de areia sob o tórax do animal, elevando a área cirúrgica e (2) o berço pericárdico. (figura 25)

FIGURA 25 – FOTOGRAFIA DEMONSTRANDO A INCISÃO MÍNIMA PARA A TORACOTOMIA LATERAL ESQUERDA EM OVINO SUBMETIDO À SUBSTITUIÇÃO VALVAR CARDÍACA



FONTE: Thiago Sillas

A utilização da toracotomia lateral no presente estudo deveu-se a profundidade da base cardíaca, a dificuldade na incisão e síntese do esterno e a alta incidência de deiscência associada à esternotomia nos ovinos. (ALI, et al., 1996; SHOFTI et al., 2004) Nenhum animal

apresentou problema intra-operatório ou pós-operatório associado à toracotomia intercostal no presente estudo.

A toracotomia pelo 4º EIC revelou melhor centralização do campo operatório para realização das três técnicas avaliadas em todos os animais operados (82,75%). O 3º EIC foi aceitável para todos os casos utilizados (17,25%), porém foi considerado pior em centralização que o 4º EIC, dificultando algumas manobras cirúrgicas.

O 5º EIC foi acessado erroneamente em um animal (1/58) e, por deixar a base cardíaca descentralizada cranialmente sob o gradil costal e tornar inviável a realização das operações, foi necessário novo acesso a partir do 4º EIC para continuação da operação. Apenas com este caso não se poderia contra-indicar seguramente a utilização do 5º EIC para as três técnicas operatórias avaliadas na presente pesquisa. Porém, a literatura cita a utilização do 5º EIC para cirurgia cardíaca experimental em ovelhas apenas em implantes de próteses na aorta descendente, realizados após a artéria subclávia, o que corresponde topograficamente com o encontrado neste estudo. (CHANDA et. al., 1997)

Não foi encontrada variação individual que pudesse sugerir a utilização de outros espaços inter-costais em detrimento do 4º EIC para as técnicas cirúrgicas estudadas. A contagem dos espaços inter-costais, tendo como o primeiro EIC como referência, anulou a influência de possíveis anomalias congênitas do número de costelas descrita em ovinos, sobre o local de acesso cirúrgico da toracotomia. (Getty, 1975)

Outros autores utilizaram o 4º EIC para cirurgias cardíacas de ovinos. Cheung et. Al., (1999) e Juthier et al. (2006) utilizaram o acesso no 4º EIC esquerdo para realização de 14 e 17 implantes, respectivamente, na aorta descendente de ovelhas jovens, assim como Nina et. al., (2004) que utilizaram o 4º EIC esquerdo para implantes valvares mitrais. Shinoka, et. al. (1995) também citaram a utilização do

3º EIC para substituição pulmonar nos ovinos. O 2º EIC esquerdo foi utilizado por Herijgers et al., (2002) para implantes pulmonares em nove ovelhas jovens da raça Lovenaar, justificando-se, talvez, uma variação anatômica inter-racial.

A utilização do eletrobisturi no presente estudo, durante a incisão e eletrocoagulação subcutânea e muscular possibilitou acesso intercostal rápido e seguro. Estima-se que o tempo pôde ser reduzido em 20% comparado ao método de direse e hemostasia tradicional, com perda mínima de sangue. A utilização do eletrobisturi na incisão e eletrocoagulação muscular não gerou complicação cicatricial.

O segundo campo operatório serviu para o completo isolamento da pele dos animais. Conforme mencionado previamente, a incidência de endocardites foi consideravelmente reduzida por meio da sua utilização, indicando a pele como fonte de contaminação protética.

5.3 Circulação extra corpórea

O método de colocação das cânulas arterial e venosa para a CEC foi considerado satisfatório. Apesar da elevada pressão arterial e ocorrência de 34,4% de sangramento após punção aórtica, este deveu-se a dificuldade na introdução da cânula e todos os casos foram contornados pelo alargamento do orifício de punção com auxílio de um pinça mosquito de Halsted seguido pela reintrodução da cânula e oclusão das “bolsas” vasculares.

A dissecação acidental da aorta ocorre quando o sangue infiltra pelas camadas vasculares, devido à alta pressão arterial. Esta complicação fatal pode ocorrer durante introdução da cânula arterial ou durante a realização das bolsas vasculares, quando a agulha transfixa

completamente a parede arterial e atinge o lúmen vascular. Um animal veio a óbito devido à dissecação acidental da aorta durante a introdução da cânula aórtica.

Todos os casos de sangramento (6,8%) durante a canulação venosa sangramento ocorreram devido à dificuldade de introdução da cânula venosa, e foram corrigidos pelo alargamento do orifício de punção, reintrodução da cânula e fechamento da “bolsa de tabaco”. Entretanto, a dificuldade de introdução e excessiva pressão da cânula venosa frente à drenagem venosa insuficiente, foram causa de uma perfuração atrial direita 1,7% dos animais, que foi prontamente corrigida por sutura de reparo.

Outros métodos de canulação foram descritos por outros pesquisadores. Shinoka, et. al. (1995) utilizaram a canulação da artéria femoral e do átrio direito, método que exige a dissecação cirúrgica da arterial femoral, e por este fato considera-se mais traumático que o método utilizado no presente estudo. Outros pesquisadores utilizaram o sistema pneumático de assistência ventricular direita como alternativa à CEC para o implante valvar pulmonar. (HERIJGERS et al., 2002). Outros autores descreveram a utilização de *shunts* entre segmentos da aorta, entre o ventrículo esquerdo e a aorta e artéria femoral, como alternativas à CEC para implantes aórticos. (CHANDA, et al., 1997; CHEUNG 1999; JUTHIER, et al, 2006). Frente ao elevado tempo de implante aórtico e as alterações relacionadas ao tempo prolongado de CEC, a utilização dos “shunts” pode ser uma melhor alternativa ao método de CEC utilizado neste estudo e assim diminuir a mortalidade relacionada aos implantes aórticos. Sua utilização, porém inviabiliza o implante na raiz da aorta, fazendo-se necessário operar a aorta descendente.

As medidas contra a hemodiluição excessiva por sobrecarga do volume de solução cristalóide foram consideradas adequadas, induzindo a uma hemodiluição mediana. Nenhum animal recebeu transfusão sanguínea nem administração de colóides no presente estudo. Ali, et al. (1996) utilizaram volumes de “*prime*” maiores e variáveis com o peso dos ovinos e observaram queda mais acentuada do hematócrito dos animais, chegando a 50% de queda ao final da CEC. O hematócrito dos animais avaliados no presente estudo diminuiu $25 \pm 5\%$ durante a CEC, fazendo concluir que a utilização de “*prime*” fixo e reduzido permite melhor controle sobre a hemodiluição dos ovinos durante a CEC. Durante a fase de “desmame” da CEC, Schauvliege, et al. (2006), descreveram a infusão de nitratos para evitar sobrecarga de volume, composto não utilizado no presente estudo.

Ambos os métodos utilizados para cardioplegia, na raiz da aorta e nos óstios coronários, foram considerados bem sucedidos para proteção miocárdica e parada cardíaca. A solução de cardioplegia de indução, com o dobro concentração de KCl (40mEq), ocasionou parada cardíaca em todos os animais e a solução de manutenção, com um terço da concentração de KCl (20mEq), foi efetiva na manutenção da assistolia e na proteção miocárdica, na proporção de 1:4 com sangue arterial. Outros autores descreveram outras doses (20 ml/kg) e intervalos de aplicação da cardioplegia com a solução resfriada (hipotérmica), com intervalos mais longos de aplicação, chegando até 30-40 minutos. (ALI et al., 1996) A dose de solução cardioplégica inicial de 15 ml/kg de solução cristalóide resfriada a 4°C a cada 25 minutos, foi descrita por Santos et al. (2002). Intervalos maiores da cardioplegia com a hipotermia, descritos por outros autores, podem ser melhores que o método de cardioplegia utilizado no presente estudo, por diminuir as interrupções durante o implante aórtico e influenciar indiretamente na diminuição do tempo de CEC.

Apesar da CEC e a cardioplegia em normotermia, a temperatura dos animais baixou durante as cirurgias, devido à infusão do volume do prime, exposição da cavidade torácica à temperatura ambiente e perda de calor durante a anestesia.

Conforme observado no presente estudo, outros autores mencionaram queda na pressão arterial durante a CEC. Segundo Schauvliege et al. (2006) a queda na pressão arterial de ovinos durante a CEC deve ser esperada e tratada conforme a necessidade. Os mesmos autores descreveram a utilização de fenilefrina, efedrina, nitroglicerina e succinato de metoprolol para controle da pressão arterial em ovinos sob CEC e também observaram queda da pressão arterial em todos os animais avaliados durante o início da CEC (n=7).

No presente estudo não houve caso de paralisia de membros, como complicação da CEC. Outros autores relataram paralisia como complicação isquêmica da CEC, utilizando métodos diferentes de CEC. (Ali, et al. 1996) Entretanto, utilizando método de canulação arterial e venosa e CEC semelhantes, Santos, et al. (2002) relataram problemas com paralisias em ovinos, indicando que estas complicações possam não ser totalmente relacionadas a estas técnicas.

Reações hemodinâmicas adversas à neutralização da heparina com a protamina não são frequentes, porém constituem problema clínico importante em seres humanos. A hipertensão e vasoconstrição pulmonar, produzida pela liberação de tromboxanos induzida por complexos heparina-protamina foram reconhecidas em seres humanos, primatas, ovinos, suínos e caprinos, provocando expressão de respostas distintas entre as diferentes espécies animais. (HORIGUCHI et al., 1995; NUTTALL et al. 199; SCHUMACHER et al, 1990) Estudos em ovinos revelaram a hipertensão pulmonar, aumento da resistência vascular pulmonar e sistêmica, diminuição do débito cardíaco, leucopenia e

hipoxemia, que foram minizados com a administração lenta da protamina após heparinização. (MOREL et al, 1990)

A opção de não reverter o efeito anticoagulante da heparina, por meio da utilização da protamina não gerou complicações clinicamente detectáveis em nenhum dos ovinos operados. Não foi mensurado o tempo de coagulação ativado no presente estudo. Cheung et al. (1999) e Santos et al, 2002, utilizaram protamina sem relatar complicações relacionadas, porém houve descrição de óbito por hipoxia refratária e depressão miocárdica, que poderia estar associado ao efeito da liberação de tromboxanos por complexos heparina-protamina.

A relação de proporcionalidade entre o tempo de CEC, número de cardioplegias (refletindo o tempo de parada cardíaca) e a mortalidade observada no presente estudo, podem indicar uma sensibilidade dos ovinos a tempos prolongados de CEC e a isquemia miocárdica. Esta hipótese não pode ser confirmada com os dados deste estudo. Outros autores fizeram a mesma associação entre a mortalidade e o tempo de CEC, assim como a sensibilidade dos ovinos à isquemia miocárdica. (SHOFTI, 2004; SANTOS, et al, 2002)

5.4 Implante valvar pulmonar

Apesar da variação das próteses, a técnica de implante valvar pulmonar foi a mesma em todos os animais. Houve diferença na facilidade de implante de acordo com a composição e estrutura das biopróteses. As próteses pulmonares heterólogas, apesar de não terem suporte (*stentless*), são modelos protéticos estruturalmente mais firmes, o que facilitou a transcorrência da síntese nas anastomoses proximal e distal durante a implantação. As próteses manufaturadas apresentam a

flacidez estrutural como desvantagem marcante, gerando maior dificuldade para realização das anastomoses. As valvas homólogas de aorta ovina, apesar de estruturalmente firmes, apresentavam como desvantagem uma espessa camada de miocárdio, que exigia ajustes e dificultava a realização da anastomose proximal.

Apesar das diferenças entre as próteses, nenhuma destas inviabilizou a substituição valvar ou influenciou na técnica de implante. Apesar da abertura do tronco pulmonar para destruição das válvulas “nativas” ter sido realizada com aspiração da raiz do tronco pulmonar para prevenir entrada do ar nas câmaras direitas, os transtornos de drenagem venosa pela entrada de ar no tronco pulmonar ocorreram em 5.1% dos animais.

Apesar da efetividade da sutura contínua nas anastomoses término-terminais do tronco pulmonar, pontos adicionais foram realizados na maior parte dos animais devido à existência de pontos de sangramento residual.

O sangramento na anastomose dos implantes valvares pulmonares foi considerado freqüente, com ocorrência de 92,5%. Aparentemente a acomodação da sutura não promoveu justaposição adequada entre os materiais protéticos e a parede arterial para o selamento perfeito e assim contribuiu para ocorrência de sangramento residual entre os pontos. O que faz sugerir esta hipótese foi a ausência de sangramento observada nas anastomoses vasculares que não envolviam as próteses, ou seja, na síntese da raiz da aorta e do tronco pulmonar durante o implante aórtico. Nestes casos, apesar da elevada pressão circulatória da aorta, a anastomose envolveu apenas as paredes vasculares e ocorrência de sangramento residual foi zero.

5.5 Implante valvar aórtico

A técnica de implante subcoronariano é muito mais complexa que o implante pulmonar e mitral. Vários fatores contribuem para tal, incluindo à necessidade de transecção do tronco pulmonar para acesso à raiz da aorta, a extrema precisão exigida na realização da síntese do plano comissural (proximal) e na síntese do plano distal, ao redor dos óstios coronários. Adicionalmente, a sonda de sucção do “Vent”, que foi posicionada através da raiz aórtica até atingir o ventrículo esquerdo, limitou ainda mais o campo visual para o implante intraluminal. As cardioplegias, realizadas a cada 15 minutos, exigiram a interrupção das suturas para dar suporte de oxigênio e nutrientes ao miocárdio isquêmico. Por todos estes motivos, durante o implante valvar aórtico, o tempo foi sempre considerado um fator de superação.

Todos os fatores de atraso, assim como os problemas com o “Vent” (14,2%), com a cardioplegia (7,1%), e as intercorrências durante as suturas do implante valvar aórtico, acarretaram um aumento do tempo de CEC e contribuíram para o óbito. O compromisso com a velocidade na realização de todas as etapas até o final da CEC foi da maior importância.

Outros autores ressaltaram da dificuldade na visualização do ânulo para implante valvar aórtico, após o posicionamento da prótese dentro da raiz da aorta de ovinos. (JOURDINAUD, et al, 2007)

Tempos cirúrgicos semelhantes foram descritos por outros pesquisadores durante a substituição aórtica em ovinos, com tempo médio de CEC com 97.1 ± 24.3 minutos e o tempo de pinçamento aórtico médio de 71.8 minutos. (SANTOS, et al 2002)

Salermo et al., 1998 avaliaram próteses mecânicas em posição aórtica ortotópica em três ovinos adultos, por meio de aortotomia transversa e com tempo de CEC de 58 minutos, não tiveram nenhuma mortalidade.

Ouyang et al. (1998) desenvolveram um modelo experimental para o implante de prótese aórtica "stentless", em posição ortotópica para troca de valva aórtica, para isso, operaram 27 carneiros juvenís com uma taxa de mortalidade de 48%. A operação foi feita de maneira convencional, sem reimplante dos óstios coronarianos e um tempo de CEC médio de 73 minutos.

A baixa incidência de sangramento na substituição da valva aórtica deste experimento deve-se provavelmente à técnica de implantação subcoronariana. A anastomose final do implante término-terminal envolvendo apenas a parede da aorta garantiu melhor justaposição dos folhetos vasculares. Outros pesquisadores obtiveram maior incidência de sangramentos com reimplante dos óstios coronários e hemorragia incontrolável em dois animais (2/30) (Santos et al.,2002)

Apesar de Ali et al, (1996) julgarem impossível o clampeamento da aorta ascendente, o presente estudo demonstrou ser viável a dissecação e clampeamento da aorta proximal ao tronco braquicefálico para realização do implante valvar aórtico. Com isso, não houve necessidade de canulação adicional da artéria torácica interna para perfusão da circulação carotídea devido ao clampeio conjunto da aorta e tronco braquicefálico conforme descrito por estes pesquisadores.

A mortalidade associada à substituição da aorta foi considerada alta, provavelmente associada ao elevado tempo de CEC ocorrido em alguns animais. Santos, et al (2002) descreveram mortalidade de 35,4% (11/31) dos animais operados no implante de bioprótese "stentless" de

aorta porcina na VSVE, com sangramento incontrolável na linha de sutura da anastomose proximal da aorta (2/8 óbitos intra-operatórios), hipóxia refratária (2/8), infarto agudo de miocárdio (1/8). Estas duas causas não foram observadas no presente estudo. DAVID et al.⁽¹⁰⁾ foram os primeiros a implantar próteses "stentless", em posição aórtica em carneiros velhos, obtiveram uma taxa de mortalidade operatória de 25% e global de 50%.

5.6 Implante valvar mitral

A incisão vertical da aurícula esquerda e os reparos com fios de sutura possibilitaram um excelente acesso ao átrio esquerdo. Como ficaram evidenciadas neste estudo, as duas técnicas utilizadas foram viáveis no implante das biopróteses mitrais, porém a técnica de sutura contínua possibilitou maior rapidez, o que sob condições de CEC e parada cardíaca é extremamente vantajoso. A segurança desta técnica foi menor conforme ficou demonstrado. Devido ao pequeno número de animais operados ficou impossível estabelecer conclusões definitivas com relação às vantagens e desvantagens de cada técnica, e sim registrar a viabilidade de ambas.

Provavelmente o pequeno número de animais operados também influenciou a alta taxa de mortalidade encontrada, uma vez que a complexidade técnica do implante de mitral é menor que o de implante valvar aórtico. Outro fator de influência associado à mortalidade foi o tempo de CEC, que foi considerado alto.

Ali, et al. (1996) realizaram implantes valvares mitrais com o coração batendo e obtiveram taxa de mortalidade consideravelmente menor. Este dado indica que a condição de isquemia miocárdica possa

ter influenciado a mortalidade. Bjork e Sternlieb (1986) implantaram próteses na posição de mitral de cabras (mesma subfamília dos ovinos) mediante à técnica sutura com pontos isolados simples, normotermia e sem parada cardíaca, obtendo taxa de mortalidade inferior.

Muitos outros autores realizaram implante de mitral em ovinos, porém com limitada descrição relacionada a técnica cirúrgica de implante.

5.7 Pós-operatório

O método de drenagem pleural ativa durante o pós-operatório imediato foi utilizado por vários pesquisadores. (CHEUNG, et al., 1999; JUTHIER, et al., 2006) Os casos de pneumotórax ocorridos no pós-operatório foram associados à entrada de ar no momento de retirada do tubo torácico. A falha deste procedimento causou pneumotórax em 2,8% dos casos. Na vigência do pneumotórax, realizou-se punção pleural, com *scalp* tipo *butterfly* número 21 (até restabelecimento da pressão negativa do tórax).

5.8 Considerações finais

O protocolo utilizado no período pré-operatório, na anestesia e no pós-operatório são seguros para pesquisa em ovinos.

As técnicas para toracotomia e pericardiotomia descritas permitiram a realização das três substituições valvares avaliadas, sendo o acesso pelo o 4º. EIC o mais adequado. O método de canulação arterial e venosa e a técnica de CEC utilizada foram considerados adequados para operações cardíacas em ovinos.

A substituição valvar pulmonar, que foi a operação mais rápida dentre as técnicas avaliadas, possibilitou taxa de mortalidade consideravelmente menor em comparação à substituição aórtica e mitral. A complexidade técnica do implante valvar aórtico e, em menor escala, o implante valvar mitral, acarretou em um aproveitamento experimental muito inferior, devido à alta mortalidade encontrada.

A rápida recuperação anestésica e a baixa necessidade de terapia intensiva, reforçam a tolerância dos ovinos aos procedimentos de operação cardíaca e CEC. Entretanto, a relação entre a mortalidade, tempo de CEC e de parada cardíaca pode sugerir que os ovinos não sejam resistentes a elevados períodos em CEC e isquemia miocárdica em normotermia. A “resistência” dos ovinos às alterações hemodinâmicas da CEC é provavelmente limitada, ainda que seja superior a de outras espécies animais utilizadas em pesquisa, (FREITAS, 2004; WALTHER, et al., 1999; HAZEKAMP, et al., 1993; BJÖRK e STERNLIEB, 1986; DAVID et. al., 1988).

6 CONCLUSÃO

O ovino é modelo experimental adequado para a pesquisa de próteses valvares cardíacas.

A técnica operatória do cirurgião é determinante ao sucesso das cirurgias. A utilização de técnicas mais rápidas contribui diretamente para diminuição da mortalidade.

As três técnicas de substituição valvar foram consideradas exequíveis para a avaliação hemodinâmica de biopróteses valvares em ovinos, porém a técnica de implante valvar pulmonar é considerada a mais fácil para a avaliação experimental de biopróteses valvares. Quando a avaliação protética depender do seu implante na posição mitral ou na raiz da aorta (VSVE), para avaliação hemodinâmica em alta pressão circulatória, as operações devem ser realizadas pelo cirurgião mais experiente e habilidoso do centro de pesquisa em questão.

REFERENCIAS

ALI, M.L.; KUMAR, S. P.; BJORNSTAD K.; DURAN, C. M. G. **The sheep as an animal model for heart valve research.** Cardiovascular Surgery. v.4, n.4, p.543-549, 1996.

ALEXI-MESKISHVILLI V. V.; POTAPOV V. E.; BEYER E. A.; HETZER R. **Nikolai Terebinski: a pioneer of the open valve operation.** Ann Thorac Surg. v.66, p.1440-3, 1998.

ASHDOWN R. R.; DONE S. **Color Atlas of Veterinary Anatomy. The Ruminants.** Mosby-Wolfe. Vol. 1, fig. 4.1 - 4.26, 1996.

BARRATT-BOYES B.G. **Homograft aortic valve replacement in aortic incompetence and stenosis.** Thorax. v.19, p.131-50, 1964.

BIANCO R. W.S.T.; CYR J. A.; SCHNEIDER J. R. et al. - **Canine model for long-term evaluation of prosthetic mitral valves.** J. Surg. Res. v.41, p.134-40, 1986.

BODNAR E.; ROSS D. **Valvular homografts.** In: Bodnar E, Frate R. Replacement cardiac valves. New York: Pergamon Press. p.287-306, 1981.

BOBRY SHEV, Y. V.; INDER, S. J.; CHERIAN, S. M.; LORD, R. S. A.; AO, HAWTHORNE P. Y. W. J.; FLETCHER, J. P. **Colonisation of prosthetic grafts by immunocompetent cells in a sheep model.** Cardiovascular Surgery, Volume 9, Issue 2, April 2001, Pages 166-176

BJÖRK V. O.; & STERNLIEB J. **Artificial heart valve testing in goats.** Scand J Thorac Cardiovasc Surg. v.20, p.97-102, 1986.

CARPENTIER A. ; BLONDEAU P. ; LAURENS P. ; MANCEL P. ; LAURENT D. ; DUBOST C. **Remplacment des valvules mitraes et ki cuspides per le'tirogreffes.** Ann Chir Thorac Cardiovasc. v.7, n.1, p.33-8, 1968.

CARPENTIER A.; NASHEF A.; CARPENTIER S.; AHMED A.; GOUSSEF N. **Techniques for prevention of calcification of valvular bioprostheses.** *Circulation*.v.70, p.165-8, 1984.

CHANDA, J.;KURIBAYASHI, R.; ABE, T. **New-Generation Valved Conduit.** Experimental study. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg*; v. 114, p.218-23, 1997.

CHEUNG D.T.; CHOO S. J.; GROBE A. C.; MARCHION D. C; LUO H. H.; DAVID C. PANG, BLAISE E. FAVARA, JAMES H. OURY, CARLOS M. G. DURAN. **Behavior of vital and killed autologous pericardium in the.** *J Thorac Cardiovasc Surg.* v. 118, p.998-1005, 1999.

COLÉGIO BRASILEIRO DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL.

Legislação e Ética. Disponível em:

<<http://www.cobea.org.br/etica.htm>> Acesso em: 10/11/2006.

COSGROVE D. M. **Valve reconstruction versus valve replacement: current heart valve prostheses.** In: Crawford FA, editor. *Cardiac surgery.* 1987.

COSTA, F.D.A.Da.: DOHMEN, P.; LOPES, S.V.; *et al.* **Experimental study with decellularized porcine heterografts: the prosthesis of the future.** *Braz. j. cardiovasc. surg.* v.19, n.1, p.74-82, 2004.

DAVID T. E.; ROPCHAN G. C.; BUTANY J. W. **Aortic valve replacement with stentless porcine bioprostheses.** *J Card Surg.* v. 3, p.501-5, 1988.

DOHMEN, P. M.; DA COSTA, F.; LOPES, S.V.YOSHI, S.; SOUZA, F. P.;VILANI, R.; DA COSTA, M. B.; KORNERTZ, W. **Results of a Decellularized Porcine Heart Valve Implanted ino the Juvenile Sheep Model.** *The Heart Surgery Forum* 2004. v.8, n.2, p.1140, 2005.

DOHMEN, P. H.; DA COSTA, F.; LOPES, S. V.; POHL, F.; DE OLIVEIRA, G. L.; VILANI, R.; WOUK, F.; KONERTZ, W. **The**

Juvenile Sheep Model for Evaluation of tissue engineered cardiovascular grafts. LA Arch Cardiovasc Sci; v.4, n.2, p.45, 2003.

FLAMENG W. J.; OZAKI S.; YPERMAN J. - **Calcification characteristics of porcine stented valves in a juvenile sheep model.** Ann Thorac Surg. v. 71, p.401-5, 2001.

FREITAS, R.R. **Avaliação de alterações ocasionadas pela circulação extracorpórea em cães.** São Paulo, 2004 152j. Tese (doutorado). Universidade de São Paulo.

GETTY, R. **Sisson&Grossman Anatomia dos Animais Domésticos.** 5°. Ed. Guanabara Koogan, p. 690-1134, 1975.

GOTT, J.P.; PAN-CHIC; DORSEY, L.M.; JAY, J.L.; JETT, G.K.; SCHOEN, F.J. **Calcification of porcine valves: a successful new method of antimineralization.** Ann Thorac Surg. v.53, n.2, p.207-16, 1992.

GUIDE FOR THE CARE AND USE OF LABORATORY ANIMALS. Institute of Laboratory Animal Resources, National Academy of Sciences, Washington, D.C., 1996. Disponível em: <<http://www.nap.edu/readingroom/books/labrats/contents.html>>

acesso em: 10/11/2006

HARRISON, 1995 **Surgical Techniques in Experimental Farm Animals.** Oxford Science Publications. p. 1-20, 1995.

HAZEKAMP, M. G.; GOFFIN, Y. A.; HUYSMANS, H. Á. **The value of the stentless biovalve prosthesis: an experimental study.** Eur J Cardiothorac Surg. v.7, p.514-9, 1993.

HERIJGERS P.; OZAKI O.; VERBEKEN E.; LOMMEL A.V.; MEURIS B.; LESAFFRE E.; DAENEN W.; FLAMENG W. **Valved jugular vein segments for righttract reconstruction in young.** The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. v.124, n.4, 2002.

HORIGUCHI, T.; ENZAN, K.; MITSUHATA, H.; MURATA, M.; SUZUKI, M. **Heparin-protamine complexes cause pulmonary hypertension in goats.** *Anesthesiology*. v. 83, n.4, p.786-91. 1995

INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE. **Nomina anatomica veterinaria.** 3rd ed. New York:ITHACA;1983.

JOUDINAUD, T.M.; FLECHER, E.M.; CURRY, J.W; KEGEL, C.L.; WEBER, P.A., DURAN, C.M. **Sutureless stented aortic valve implantation under direct vision: lessons from a negative experience in sheep.** *J Card Surg*. v.22, n. 1, p.13-7, 2007.

JUTHIER F.; VINCENTELLI A.; GAUDRIC J.; CORSEAUX D.; FOUQUET O.; CALET C.; LE TOURNEAU T.; SOENEN V.;

LEE, C.H.; VYAVAHARE, N.; ZAND, R.; KRUTH, H.; SCHOEN, F.J.; BIANCO, R. **Inhibition of aortic wall calcification in bioprosthetic heart valves by ethanol pretreatment: biochemical and biophysical mechanisms.** *J Biomed Mater Res*. v.42, n.1, p.30-7, 1998.

MAVRILAS, D.; KAPOLOS, J.; KOUTSOUKOS, P.G; DOUGENIS, D. **Screening biomaterials with a new in vitro method for potential calcification: porcine aortic valves and bovine pericardium.** *J Mater Sci Mater Med*. v. 15, n.6, p.699-704, 2004.

MEURIS B, OZAKI S, HERIJGERS P, VERBEKEN E, FLAMENG W. **Bioprosthetic tissue calcification: influence of blood contact and arterial pressure. an experimental study in rats and sheep.** *J Heart Valve Dis. May*. v.12, n.3, p.392-9, 2003.

MOREL D.R.; COSTABELLA P.M.; PITTET, J.F. **Adverse cardiopulmonary effects and increased plasma thromboxane concentrations following the neutralization of heparin with protamine in awake sheep are infusion rate-dependent.** *Anesthesiology*. v. 73, n.3, p.415-24, 1990.

NINA V.J.S.; POMERANTZEFF P. M. A.; CASAGRANDE I.S.J.; CHUNG D.; BRANDÃO C.M.A.; NASCIMENTO S.A.B.;

BENVENUTI L.A.; OLIVEIRA S.A. **In vivo endothelialization of cardiac bioprostheses: conventional versus non-aldehyde preservation.** Rev Bras Cir Cardiovasc. v.19, n.2, p. 144-151, 2004.

NUTTALL, G.A.; MURRAY, M.J.; BOWIE, E.J. **Protamine-heparin-induced pulmonary hypertension in pigs: effects of treatment with a thromboxane receptor antagonist on hemodynamics and coagulation.** Anesthesiology. v. 74, n.1, p.138-45. 1991

OUYANG, D. W.; SALERNO, C. T.; PEDERSON, T. S.; BOLMAN, R. M. 3RD.; BIANCO, R. W. **Long-term evaluation of orthotopically implanted stentless bioprosthetic aortic valves in juvenile sheep.** J Invest Surg. v.11, p.175-83, 1998.

OZAKI, S.; HERIJGERS, P.; FLAMENG, W. **A new model to test the calcification characteristics of bioprosthetic heart valves.** Ann Thorac Cardiovasc Surg. v.10, n.1, p.23-8, 2004.

OZAKI, S.; VAN NOOTEN, G.; HERIJGERS, P.; VAN BELLEGHEM, Y.; FLAMENG, W. **Modified stentless porcine valve enhances accelerated cuspal calcification in the juvenile sheep model.** Jpn J Thorac Cardiovasc Surg. v.51, n.9, p.420-6, 2003.

PATHAK, C.P.; ADAMS, A.K.; SIMPSON, T.; PHILLIPS, R.E.JR.; MOORE, M.A. **Treatment of bioprosthetic heart valve tissue with long chain alcohol solution to lower calcification potential.** J Biomed Mater Res. v.69, n.1, p.140-4, 2004.

PETROIANU, A. ASPECTOS ÉTICOS NA PESQUISA EM ANIMAIS. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 11, n. 3, p. 157-164, 1996.

ROSS DN. **Homograft replacement of the aortic valve.** Lancet. v.2, p. 487, 1962.

SANTOS, P.C. ; GEROLA, L.R. ; PESSA, C.J.N. ; BRANCO, J.N.R. ; CASAGRANDE, I. ; BUFFOLO, E. **A juvenile sheep model for the stentless bioprostheses implanted as aortic root replacements.** Rev Bras Cir Cardiovasc. v.17, n.1, p.90-8, 2002.

SALERNO C. T. ; PEDERSON T. S. ; OUYANG D. W., BOLMAN R. M. 3rd, BIANCO R. W. **Chronic evaluation of orthotopically implanted bileaflet mechanical aortic valves in adult domestic sheep.** *J Invest Surg*; v.11, p.341-7, 1998.

SCHANAIDER, A.; SILVA, P.C.; **Uso de Animais em Cirurgia Experimental.** *Acta Cirurgica Brasileira*. v. 19, p. 441-447, 2004.

SCHAUVLIEGE, S.; NARINE, K.; BOUCHEZ, S.; DESMET, D.; VAN PARYS, V.; VAN NOOTEN, G.; GASTHUYS, F. **Refined anaesthesia for implantation of engineered experimental aortic valves in the pulmonary artery using a right heart bypass in sheep.** *Lab Anim*. v.40, n.4, p.341-52, 2006.

SCHOEN, F.J.; LEVY, R.J. Founder's Award, 25th Annual Meeting of the Society for Biomaterials, perspectives. Providence, RI, April 28-May 2, 1999. **Tissue heart valves: current challenges and future research perspectives.** *J Biomed Mater Res*. v.47, n.4, p.439-65, 1999.

SCHOEN, F.J.; LEVY, R.J.; PIEHLER, H.R. **Pathological considerations in replacement cardiac valves.** *Cardiovasc Pathol*. v.1, n.29, p.52, 1992.

SCHUMACHER, W.A.; HERAN, C.L.; OGLETREE, M.L. **Protamine-induced pulmonary hypertension in heparinized monkeys and pigs is inhibited by the thromboxane receptor antagonist SQ 30,741.** *Eicosanoids*. 1990;3(2):87-93.

SHINOKA, C.K.; BREUER, R.E.; TANEL, G.; ZUND, T.; MIURA P.X. MA. **Tissue engineering heart valves valve leaflet replacement study in a lamb model,** *Ann Thorac Surg*. v. 60, p.513-516, 1995.

SHOFTI, R.; ZARETZKI, A.; COHEN, E.; ENGEL, A.; BAR-EL, Y. **The sheep as a model for coronary artery bypass surgery.** *Laboratory Animals*. v.38, n.2, p.149-157(9), 2004.

THIENE, G.; LABORDE, F.; VALENTE, M. **Experimental evaluation of porcine-valved conduits processed with a calcium-retarding agent (T6).** *J Thorac Cardiovasc Surg*. v.91, p.215-24, 1986.

WALTHER, T.; FALK, A.; DIEGELER, A. **Effectiveness of different anticalcification treatments for stentless aortic bioprostheses.** Thorac Cardiovasc Surg. v.47, p.23-5, 1999.

WOUK, A.F.P.F. Toracotomia em Equinos. Santa Maria, 1980 152j. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Maria.

WOUK, A.F.P.F; PIPPI, N.L. **Toracotomia em Equinos.** Rev. Centro de Ciências Rurais. v.16, n.3, p.251-72, 1986

ZAWADZKI C.; FABRE O.; SUSEN S.; PRAT A.; JUDE B. **Decellularized heart valve as a scaffold for in vivo recellularization: Deleterious effects of granulocyte colony-stimulating factor** J Thorac Cardiovasc Surg. v.131, p.843-852, 2006.