

ANDRÉA CORLETO HOELZL

**SUBSTITUIÇÃO DA AORTA ABDOMINAL DE CÃES POR HOMOENXERTO
CRIOPRESERVADO: ANÁLISE HISTÓLOGICA**

Dissertação apresentada como requisito parcial à
obtenção do grau acadêmico de Mestre. Programa de
Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica, Setor de Ciências
da Saúde da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Diniz Affonso da Costa

Coordenador: Prof. Dr. Antonio Carlos Ligoeki Campos

CURITIBA

2000

Ao meu querido esposo George, pelo carinho e incentivo durante as etapas deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À PUC e ao Prof. Dr. Fernando Hintz Greca, por acreditar em meu projeto e pela oportunidade de utilizar o Laboratório de Cirurgia experimental da Disciplina de Técnica Operatória da PUC-PR; para a realização deste estudo.

Ao Prof. Dr. Francisco Diniz Affonso da Costa, orientador, meu agradecimento pelas orientações criteriosas e pelas minuciosas correções deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Iseu de Santo Elias Affonso da Costa, pelas valiosas sugestões que contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Ligocki Campos, coordenador do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da UFPR, meu agradecimento pela oportunidade do aprendizado e evolução em minha carreira universitária.

Ao Dr. George Ronald Soncini da Rosa pelo precioso auxílio na execução deste trabalho.

Ao Dr. Fernando Silveira Picheth pelo apoio e estímulo constantes.

Aos Drs. Marco Antônio Lourenço, Nicolau Malluf Dabul, Nelson Castro Jr., pelo harmônico convívio profissional.

Ao Dr. Emerson Ribas e Dra. Renata Pullig, pela importante participação nos procedimentos cirúrgicos deste trabalho.

A Dra. Lismari Mesquita, patologista, pelas análises histológicas e participações na interpretações dos seus dados.

À Sra. Marise Brenner Affonso da Costa, pela preparação dos homoenxertos.

Às funcionárias do Banco de Homoenxertos da Santa Casa, Srta. Júlia Affonso da Costa, Sra. Angela Maria Peruzzo, srta. Marlene Tomen, Srta. Cristina Ciniava, Srta. Caroline Wendler, pelo meticoloso trabalho no processamento dos homoenxertos.

Ao médico veterinário , Dr. Indalécio Mainardes Sutil, pela colaboração neste trabalho.

Aos funcionários do Laboratório de Cirurgia Experimental da Disciplina de Técnica Operatória da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Sr. Daniel Fiedler, Sr. Álvaro Roberto Gonçalves Machado, Sr. Alaércio Zeglan, Sr. Charles Pires Melo, Sr. Fernando Ubirajara Pires e Sr^a. Rosana Nunes Ferreira, pela inestimável colaboração na realização das cirurgias experimentais e cuidados pós-operatórios.

À Sr^a. Edlaine Araújo dos Santos, pela normatização de trabalho.

À Srta. Adriane Suzarte da Silva, pela datilografia das referências bibliográficas.

SUMÁRIO

	LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
	LISTA DE FIGURAS.....	viii
	LISTA DE TABELAS.....	ix
	RESUMO.....	x
	ABSTRACT.....	xi
1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	OBJETIVO.....	2
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	3
3	MATERIAL E MÉTODO.....	7
3.1	MODELO EXPERIMENTAL.....	7
3.2	PREPARO PRÉ-OPERATÓRIO.....	8
3.3	ANESTESIA.....	8
3.4	ATO OPERATÓRIO.....	9
3.4.1	Grupo A.....	9
3.4.2	Grupo B.....	10
3.5	OBSERVAÇÃO PÓS-OPERATÓRIA.....	11
3.6	PREPARO DOS HOMOENXERTOS CRIOPRESERVADOS.....	12
3.6.1	Retirada dos homoenxertos.....	12
3.6.2	Técnica de criopreservação.....	12
3.6.3	Descongelamento dos homoenxertos.....	14
3.7	ANÁLISE MORFOLÓGICA.....	15
3.7.1	Análise macroscópica.....	15
3.7.2	Análise microscópica.....	15
3.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	17
4	RESULTADOS.....	18
4.1	ANÁLISE MACROSCÓPICA.....	18
4.2	ANÁLISE MICROSCÓPICA	18
4.2.1	Análise das células endoteliais.....	18
4.2.2	Análise da espessura da camada íntima.....	19

4.2.3	Análise da membrana interna elástica.....	23
4.2.4	Análise das células musculares.....	24
4.2.5	Análise das fibras elásticas.....	26
4.2.6	Análise da hialinização.....	27
4.2.7	Análise da calcificação.....	29
4.2.8	Análise do infiltrado inflamatório.....	31
4.2.9	Análise da trombose.....	33
4.2.10	Análise da necrose.....	34
4.2.11	Análise da adventícia.....	34
5	DISCUSSÃO.....	36
6	CONCLUSÕES.....	40
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
	ANEXOS.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS

C.E	corpo estranho
DMSO	dimetilsulfóxido
F	fêmea
h	hora
H&E	hematoxilina e eosina
kg	kilogramas
M	macho
µc	micra
mg	miligramas
ml	mililitros
°C	graus Celsius
PUCPR	Pontifícia Universidade Católica do Paraná
RPMI	Royal Park Memorial Institute
s	segundos

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Preparo da aorta abdominal infrarenal para secção do autoenxerto.....	10
Figura 2	Homoenxerto aórtico criopreservado implantado em posição ortotópica....	11
Figura 3	Freezer Computadorizado (modelo Planer Cryo-10 series III) utilizado no presente estudo.....	13
Figura 4	Freezer de estocagem (modelo Sanyo MDF-1155 free ultra-low – 152°C)...	13
Figura 5	Detalhe do computador gráfico do freezer de congelamento.....	14
Figura 6	Fotomicrografia mostrando o endotélio focal após 180 dias de observação..	19
Figura 7	Fotomicrografia mostrando o espessamento da camada íntima após 15 dias de observação.....	21
Figura 8	Fotomicrografia mostrando espessamento da camada íntima após 180 dias de observação.....	22
Figura 9	Fotomicrografia de membrana elástica interna após 180 dias de observação	23
Figura 10	Fotomicrografia mostrando a presença total das células musculares.....	25
Figura 11	Fotomicrografia mostrando a perda de células musculares após 180 dias.....	25
Figura 12	Fotomicrografia da presença total das fibras elásticas.....	27
Figura 13	Fotomicrografia da presença de hialinização da camada média após 180 dias de observação.....	28
Figura 14	Fotomicrografia da presença da calcificação no local da sutura após 180 dias de observação.....	30
Figura 15	Fotomicrografia da presença de calcificação entre as camadas íntima e média após 180 dias de observação.....	30
Figura 16	Fotomicrografia mostrando presença de infiltrado inflamatório discreto e crônico após 15 dias de observação.....	32
Figura 17	Fotomicrografia mostrando presença de infiltrado inflamatório do tipo granulomatoso após 180 dias de observação.....	33
Figura 18	Fotomicrografia mostrando a presença de trombose após 180 dias de observação.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Distribuição de grupos e subgrupos.....	8
Tabela 2	Análise dos resultados histológicos da camada endotelial.....	19
Tabela 3	Análise estatística dos resultados histológicos da camada endotelial.....	20
Tabela 4	Análise dos resultados histológicos da espessura da camada íntima.....	21
Tabela 5	Análise dos resultados histológicos da membrana elástica interna.....	23
Tabela 6	Análise estatística dos resultados histológicos das células musculares.....	24
Tabela 7	Análise estatística dos resultados histológicos das fibras elásticas.....	25
Tabela 8	Análise estatística dos resultados histológicos de hialinização.....	26
Tabela 9	Análise estatística dos resultados histológicos da calcificação.....	29
Tabela 10	Análise estatística dos resultados histológicos do infiltrado inflamatório.	31
Tabela 11	Análise dos resultados histológicos de trombose.....	33
Tabela 12	Análise dos resultados histológicos da presença do infiltrado inflamatório na adventícia.....	35

RESUMO

O presente estudo analisou os achados histológicos dos homoenxertos criopreservados, utilizados na substituição da aorta abdominal de cães, tendo como controle autoenxertos. Foram utilizados 40 cães, adultos, distribuídos em 2 grupos contendo 20 animais cada. Os cães do grupo denominado **A**, foram submetidos a autoenxertos e os cães do grupo **B**, a implante de homoenxertos criopreservados na aorta abdominal infrarenal. Os cães de cada grupo foram subdivididos em 4 subgrupos, de 5 animais cada, analisados após 15; 30; 90 e 180 dias. As análises histológicas foram realizadas em relação ao endotélio; membrana elástica interna; espessura da camada íntima; células musculares; fibras elásticas; adventícia; hialinização; calcificação; infiltrado inflamatório; trombose; necrose e fibrose, de acordo com protocolo pré-estabelecido. Os aspectos macroscópicos dos homoenxertos criopreservados foram muito satisfatórios e com alto índice de perviedade. Concluiu-se que no endotélio houve uma perda de celularidade com endotelização no final do período de observação. Houve espessamento intimal importante e perda progressiva das células musculares e fibras elásticas, com subsequente hialinização. A reação inflamatória foi principalmente encontrada na camada adventícia. A incidência de calcificação foi baixa e não foram observados casos de necrose nos enxertos, fibrose da camada média ou na adventícia. Não houve alterações histológicas que permitissem afirmar se houve rejeição dos homoenxertos criopreservados.

ABSTRACT

This study analyzed the histological findings of cryopreserved allografts used to replace the abdominal aorta in dogs, using autologous grafts as controls. Forty adult dogs were distributed in two groups of twenty animals each. Dogs in group **A** received autologous grafts, and those in group **B** received cryopreserved allografts in the abdominal aorta. The dogs in each group were divided into four subgroups, analyzed after 15, 30, 90 and 180 days. Histological analyses were made concerning the endothelium, internal elastic lamina, width of the tunica intima, muscle cells, elastic fibers, tunica adventitia, hyalinization, calcification, inflammatory infiltrate, thrombosis, necrosis, and fibrosis, according to a pre-established protocol. The macroscopic aspects of the cryopreserved allografts were very satisfactory, with a high perviousness rate. We concluded that, within the endothelium, there was cellular loss, and endothelization by the end of the observation period. There was significant thickening of the intima, and progressive loss of muscle cells and elastic fibers followed by hyalinization. The inflammatory reaction was found mainly in the adventitia. The incidence of calcification was low, and there was no necrosis in the grafts, or fibrosis in either the tunica media or the adventitia. There were no histological changes that might indicate that the cryopreservad allografts have been rejected.