

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARCOS PIAZZOLO

BIOCOMPATIBILIDADE DE IMPLANTE DE POLIAMIDA EM TRAQUEIA DE
COELHO (*Oryctolagus cuniculus*)



PALOTINA

2021

MARCOS PIAZZOLO

BIOCOMPATIBILIDADE DE IMPLANTE DE POLIAMIDA EM TRAQUEIA DE
COELHO (*Oryctolagus cuniculus*)

Dissertação apresentada como requisito parcial a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal, no Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Setor Palotina, na linha de pesquisa Patologia Animal, da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Olicies da Cunha

PALOTINA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

P695 Piazzolo, Marcos
Biocompatibilidade de implante de poliamida em traqueia de coelho (*Oryctolagus cuniculus*) / Marcos Piazzolo – Palotina, 2021.
38f.

Orientador: Olicies da Cunha
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal.

1. Colapso traqueal. 2. Prótese de traqueia. 3. Impressão 3D.
I. Cunha, Olicies da. II. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

CDU 636.5



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR PALOTINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIA ANIMAL -
40001016077P6

ATA Nº100

**ATA DE SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE MESTRADO PARA A OBTENÇÃO DO
GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIA ANIMAL**

No dia trinta de julho de dois mil e vinte e um às 13:30 horas, na sala online: <https://meet.google.com/rvd-xkon-njt>, da Plataforma Google Meet, foram instaladas as atividades pertinentes ao rito de defesa de dissertação do mestrando **MARCOS PIAZZOLO**, intitulada: **BIOCOMPATIBILIDADE DE IMPLANTE DE POLIAMIDA EM TRAQUEIA DE COELHO (*Oryctolagus cuniculus*)**, sob orientação do Prof. Dr. OLICIES DA CUNHA. A Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL da Universidade Federal do Paraná, foi constituída pelos seguintes Membros: OLICIES DA CUNHA (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ), RENATO HERDINA ERDMANN (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ), FABIOLA BONO FUKUSHIMA (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ). A presidência iniciou os ritos definidos pelo Colegiado do Programa e, após exarados os pareceres dos membros do comitê examinador e da respectiva contra argumentação, ocorreu a leitura do parecer final da banca examinadora, que decidiu pela APROVAÇÃO. Este resultado deverá ser homologado pelo Colegiado do programa, mediante o atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca dentro dos prazos regimentais definidos pelo programa. A outorga de título de mestre está condicionada ao atendimento de todos os requisitos e prazos determinados no regimento do Programa de Pós-Graduação. Nada mais havendo a tratar a presidência deu por encerrada a sessão, da qual eu, OLICIES DA CUNHA, lavrei a presente ata, que vai assinada por mim e pelos demais membros da Comissão Examinadora.

PALOTINA, 30 de Julho de 2021.

Assinatura Eletrônica
02/08/2021 21:05:15.0
OLICIES DA CUNHA
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica
11/08/2021 13:23:05.0
RENATO HERDINA ERDMANN
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica
02/08/2021 16:36:39.0
FABIOLA BONO FUKUSHIMA
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR PALOTINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIA ANIMAL -
40001016077P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **MARCOS PIAZZOLO** intitulada: **BIOCOMPATIBILIDADE DE IMPLANTE DE POLIAMIDA EM TRAQUEIA DE COELHO (*Oryctolagus cuniculus*)**, sob orientação do Prof. Dr. OLICIES DA CUNHA, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

PALOTINA, 30 de Julho de 2021.

Assinatura Eletrônica

02/08/2021 21:05:15.0

OLICIES DA CUNHA

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

11/08/2021 13:23:05.0

RENATO HERDINA ERDMANN

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

02/08/2021 16:36:39.0

FABIOLA BONO FUKUSHIMA

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela dádiva da vida.

Aos meus pais, Inez e Aldoir, por me incentivar em todos os meus planos mesmo que, na maioria das vezes, não façam ideia do que eles significam.

À minha namorada, Marina Cid, que se tornou esposa durante o período do mestrado, por toda ajuda e compreensão.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Olicies da Cunha, agradeço a liberdade de trabalhar assuntos fora do contexto da maioria de suas pesquisas e pela confiança de me deixar decidir os pontos mais relevantes do trabalho, também agradeço pela paciência e compreensão em tempos incertos e sombrios de pandemia.

À Profa. Fabíola Fukushima e Profa. Aline Viott, pela ajuda em momentos cruciais do trabalho.

Aos meus colegas Luciana, Maripá, Rafael, Paulinha e Ronaldo, a quem recorri sempre que precisei e me ajudaram com maior e sincera boa vontade.

Ao grande profissional da anestesia veterinária, Allan Macedo e sua estagiária Vanessa de Souza, que foram fundamentais e sem eles esse trabalho não sairia do papel.

Ao Centro Universitário Univel e Paulo Figueira pela disponibilidade das instalações e apoio ao projeto.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos animais, deles tudo tenho e a eles tudo devo.

"Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes."

Issac Newton

RESUMO

O colapso traqueal é uma desordem comum quando se trata de alterações respiratórias de cães de raças pequenas e miniaturas. A afecção apresenta caráter progressivo e pode ser congênita ou adquirida. Para graus de colapso severos o implante de prótese que sustente o formato tubular da traqueia é o tratamento mais indicado. Atualmente o implante de prótese traqueal helicoidal extraluminal de nitinol é o tratamento de melhor resultado, porém o alto custo da prótese ainda é um empecilho na aplicação da técnica. O objetivo do trabalho foi averiguar a biocompatibilidade em modelo experimental (coelho) de prótese helicoidal extraluminal de poliamida modelada em impressora 3D. Para isso foram estudados 40 coelhos distribuídos em dois grupos e 4 blocos de tempos experimentais de 7, 14, 21 e 30 dias com 10 pacientes agrupados em cada bloco, sendo cinco para tratamento e cinco para controle em cada bloco. Vinte coelhos passaram por todo o processo cirúrgico sem receber a prótese (grupo controle - 7, 14, 21 e 30 dias) e outros 20 coelhos receberam a prótese (grupo tratamento - 7, 14, 21 e 30 dias). Após o período de acompanhamento as amostras de traqueia de cada grupo foram colhidas para exame histopatológico quanto a alterações de congestão, edema, fibrose, hemorragia, inflamação e necrose; Apenas um coelho apresentou deiscência. A maioria das amostras traqueais analisadas microscopicamente apresentaram alterações leves a moderadas quanto aos aspectos de biocompatibilidade, no entanto não houve diferença entre os grupos que receberam a prótese dos grupos que não receberam. Com base nos resultados obtidos conclui-se que a prótese traqueal helicoidal extraluminal confeccionada em poliamida por meio da impressão em três dimensões nas características utilizadas nesse trabalho provoca leve a moderada reação tecidual sendo considerada biocompatível.

Palavras-chave: Colapso traqueal. Prótese de traqueia. Impressão 3D. Sinterização seletiva a *laser*.

ABSTRACT

Tracheal collapse is a common disorder when it comes to respiratory disorders in small and miniature breed dogs. The condition has a progressive character and can be congenital or acquired. For severe degrees of collapse, the implantation of a prosthesis that supports the tubular shape of the trachea is the most indicated treatment. Currently, the implant of nitinol extraluminal helical tracheal prosthesis is the treatment with the best results, but the high cost of the prosthesis is still an obstacle in the application of the technique. The objective of this work was to investigate the biocompatibility in an experimental model (rabbit) of an extraluminal helical polyamide prosthesis modeled on a 3D printer. For this, 40 rabbits were studied, divided into two groups and 4 blocks of experimental times of 7, 14, 21 and 30 days with 10 patients grouped in each block, being five for treatment and five for control in each block. Twenty rabbits underwent the entire surgical process without receiving the prosthesis (control group - 7, 14, 21 and 30 days) and another 20 rabbits received the prosthesis (treatment group - 7, 14, 21 and 30 days). After the follow-up period, trachea samples from each group were collected for histopathological examination for changes in congestion, edema, fibrosis, hemorrhage, inflammation and necrosis; Only one rabbit showed dehiscence. Most of the microscopically analyzed tracheal samples showed mild to moderate changes regarding biocompatibility aspects, however there was no difference between the groups that received the prosthesis and the groups that did not. Based on the results obtained, it is concluded that the extraluminal helical tracheal prosthesis made of polyamide by means of three-dimensional printing in the characteristics used in this work causes mild to moderate tissue reaction and is considered biocompatible.

Keywords: Tracheal collapse. Tracheal prosthesis. 3D printing. Selective laser sintering.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3D	– Três Dimensões
°C	– Graus Celsius
CAD	– <i>Computer-aided design</i> - Desenho Assistido por Computador
CEUA	– Comissão de Ética no Uso de Animais
cm	– Centímetros
HE	– Hematoxilina-eosina
IGF	– Fator de crescimento <i>insuline-like</i>
IL-1	– Interleucina 1
Kg	– Quilogramas
LASER	– <i>Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation</i> - Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de Radiação
µg	– Microgramas
µm	– Micrometros
MPA	– Medicação Pré-Anestésica
PA12	– Poliamida 12
PDGF	– Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas
RP	– <i>Rapid Prototyping</i> , Prototipagem Rápida
SFF	– <i>Solid Freeform Fabrication</i> - Fabricação de Formas Tridimensionais Livres
SPF	– <i>Specific Pathogen Free</i> - Livre de Patógenos Específicos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1 COLAPSO TRAQUEAL EM CÃES.....	11
2.2 ETIOLOGIA DO COLAPSO TRAQUEAL.....	11
2.3 DIAGNÓSTICO	11
2.4 TRATAMENTO.....	12
2.5 IMPRESSÃO 3D APLICADA À SAÚDE.....	14
3 OBJETIVOS	19
4 BIOCOMPATIBILIDADE DE IMPLANTE DE POLIAMIDA EM TRAQUEIA DE COELHO (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	20
RESUMO	20
INTRODUÇÃO	21
MATERIAL E MÉTODOS	22
RESULTADOS	27
DISCUSSÃO	33
CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS	35
ANEXO 1 – COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	38

1 INTRODUÇÃO GERAL

O colapso traqueal é uma das principais causas de desordens respiratórias em cães de raças pequenas e miniaturas. Ela é caracterizada pelo enfraquecimento dos anéis traqueais e músculo traqueal dorsal. Essa condição leva ao achatamento dorsoventral da traqueia e, conseqüentemente, à diminuição da luz desse órgão, causando desde sinais leves como tosse até a insuficiência respiratória grave e óbito do paciente acometido, dependendo da severidade do colapso (TAPPIN, 2016; DEWEESE & TOBIAS, 2014).

O diagnóstico do colapso traqueal leva em consideração sinais clínicos e exames de imagem. Radiografia, fluoroscopia e traqueoscopia são alguns dos exames de eleição tanto para diagnosticar quanto para determinar o grau de comprometimento da luz traqueal (CULP & O'DONNELL, 2016). O tratamento para o colapso é definido pela proporção da luz traqueal obstruída pelo achatamento traqueal. O tratamento conservativo medicamentoso é recomendado nos casos mais brandos de colapso (até 50% de obstrução da luz do órgão) e tratamento cirúrgico para os graus mais severos (obstrução maior que 50%) e também casos refratários ao tratamento clínico (JOHNSON & POLLARD, 2010).

O implante cirúrgico de próteses extraluminais em liga de níquel-titânio (nitinol) em cães tem demonstrado bons resultado a longo prazo no tratamento de graus elevados de colapso traqueal (SUEMATSU et al., 2019), no entanto seu elevado custo ainda é fator limitante no uso desse material e, conseqüentemente inviabilizando a popularização dessa técnica (MICHELON, 2016).

A tecnologia de manufatura aditiva, popularmente conhecida por impressão 3D, está se revelando uma importante ferramenta no meio médico-cirúrgico tanto para o planejamento pré-cirúrgico quanto para a fabricação de próteses e órteses personalizadas e precisas. Essa tecnologia tem motivado estudos de diversos materiais quanto à sua biocompatibilidade para poder oferecer dispositivos cirúrgicos com menor custo, maior grau de customização/adaptação ao paciente e rapidez na fabricação (AZEVEDO et al., 2018).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 COLAPSO TRAQUEAL EM CÃES

A traqueia é formada por 35 a 45 anéis de cartilagem hialina incompletos em forma de “C” unidos por ligamentos anulares nas regiões ventrais e laterais, na região dorsal encontra-se a membrana traqueal dorsal formada por tecido conjuntivo fibroso e pelo músculo traqueal, compondo um órgão flexível e semirrígido estendendo-se da cartilagem cricoide até a bifurcação dos brônquios pulmonares principais direito e esquerdo (ETTINGER, KANTROWITZ, FELDMAN, 2004; FOSSUM, 2013). O colapso desse órgão é causa comum na disfunção respiratória de cães de raças miniaturas e de pequeno porte, principalmente poodle, yorkshire terrier, spitz e outros, sem predisposição sexual. A severidade dos sinais clínicos depende da proporção colapsada que dificulta ou impede a passagem do ar, podendo causar tosse, inflamação da mucosa traqueal, variados graus de dificuldade respiratória, taquipneia, intolerância a exercícios, angústia respiratória, síncope, entre outras desordens que trazem que diminuem a qualidade de vida e, em casos extremos, causam a morte desses animais (MAGGIORE, 2014; YOON, 2017).

2.2 ETIOLOGIA DO COLAPSO TRAQUEAL

O colapso traqueal resulta do enfraquecimento dos anéis de cartilagem pela diminuição de glicosaminoglicanos, condroitina e glicoproteínas componentes da matriz cartilaginosa. Essa afecção tem caráter multifatorial e progressiva, podendo ser congênita ou adquirida. O colapso está associado à flacidez da membrana traqueal dorsal, que cede às pressões oscilatórias durante o ciclo respiratório e achata o lúmen traqueal tanto na região cervical quanto torácica, no sentido dorso ventral (FERIAN, 2009; MAGGIORE, 2014; TAPPIN, 2016).

2.3 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico do colapso traqueal pode ser feito por meio do histórico do paciente, sinais clínicos, exame físico e levar em consideração a predisposição racial. Para confirmação do diagnóstico, localização e gravidade da doença são necessários exames de imagem como: radiografias cervicais e torácicas,

fluoroscopia, ultrassonografia, traqueoscopia e tomografia computadorizada, sendo a traqueoscopia o método com maior grau de sensibilidade no diagnóstico e na determinação da gravidade do colapso (MACREADY et al., 2007).

Conforme a proporção do lúmen traqueal obstruído o colapso pode ser classificado de I a IV. O grau I corresponde a uma redução de até 25% do lúmen traqueal, com os anéis traqueais ainda em formato circular e o músculo traqueal dorsal pouco pendular. O grau II corresponde à obstrução de 25 a 50% da luz do órgão, nesse caso os anéis traqueais já se encontram levemente achatados e o músculo traqueal torna-se pendular. Com 75% de obstrução, grau III de colapso, o músculo está mais pendular que no grau II e os anéis mais achatados. No grau IV os anéis traqueais se mostram achatados, podendo estar invertidos com sua porção ventral entrando em contato com o músculo traqueal e a luz do órgão pode estar quase completamente obstruída (JOHNSON & POLLARD, 2010; PADRID, 2011).

2.4 TRATAMENTO

O tratamento para essa desordem depende do grau de obstrução diagnosticada, no entanto, pacientes em angústia respiratória devem ser atendidos em regime de urgência com auxílio de oxigenoterapia, local calmo e com baixa temperatura. Casos mais graves sugere-se sedação e intubação endotraqueal para estabilização ventilatória antes de qualquer exame diagnóstico (TAPPIN, 2016). Para os graus I e II o tratamento recomendado é conservativo e consiste em administração de medicamentos que visam a restauração das desordens de cartilagens dos anéis traqueais como: antitussígenos, anti-inflamatórios não esteroidais e esteroidais, antibioticoterapia, sedativos, exercícios leves e adequação da dieta para os pacientes acima do peso (HAWKINS, 2009; TAPPIN, 2016).

Pacientes com elevado grau de colapso traqueal (graus III e IV) e pacientes refratários ao tratamento clínico são elegíveis ao tratamento cirúrgico visando reestabelecer o diâmetro natural da traqueia. Diversas técnicas cirúrgicas têm sido empregadas na tentativa de restaurar a patência e a redução da resistência traqueal à passagem do ar, dentre essas técnicas estão a condrotomia de anel traqueal, ressecção e anastomose de segmentos traqueais, plicatura da membrana traqueal dorsal e, mais recentemente, aplicação de *stents* intraluminiais e próteses de suporte extraluminal (DURANT et al, 2012).

A aplicação de *stent* intraluminal de liga metálica de níquel-titânio (nitinol) é uma técnica efetiva no reestabelecimento do diâmetro em qualquer região traqueal, pouco invasiva, de curto tempo cirúrgico e anestésico, no entanto tem a desvantagem da necessidade de equipamento de imagem em tempo real para sua aplicação (fluoroscópio), além de diversos efeitos colaterais relatados como: traqueíte bacteriana ou inflamatória, persistência da tosse, obstrução de fluxo mucociliar, estenose traqueal por exacerbada produção de tecido de granulação devido ao íntimo contato do *stent* com a mucosa traqueal, fratura do *stent* e perfuração traqueal, migração, problemas relacionados ao comprimento e diâmetro dos *stents* implantados (BROWN et al, 2008; RASKE et al, 2018).

Apesar do menor grau invasivo e tempo operatório na colocação dos *stents* intraluminais, seus efeitos colaterais pós-operatório são limitadores na sua utilização e o desenvolvimento de novas técnicas e materiais são necessários. Uma das alternativas são as próteses extraluminais, algumas delas utilizadas desde os anos 1990 (KIRBY et al, 1991), feitas comercialmente de polipropileno em formato de anel ou então confeccionadas a partir da secção de seringas. Tinga et al (2015) em trabalho retrospectivo comparativo entre anéis extraluminais e *stents* intraluminais não encontrou diferença entre as técnicas à respeito das complicações gerais pós-operatórias, no entanto, quando comparados os dois tratamentos a longo prazo o grupo que recebeu anéis extraluminais teve menor taxa de complicações e com maior tempo de sobrevida, assim, o desenvolvimento de prótese helicoidal extraluminal de nitinol tem se mostrado uma alternativa com bons resultados. Vale lembrar que dispositivos fabricados com esse material já são amplamente utilizados na ortopedia e cardiologia e tem boa biocompatibilidade (SANTOS-JUNIOR, 2016).

Em termos gerais, a biocompatibilidade de um componente ou dispositivo está relacionada com a habilidade do organismo aceitar tal material, desse modo, o grau de biocompatibilidade está relacionada à extensão dessa reação tecidual na presença desses componentes, podendo ser mensurada pela magnitude e duração dos efeitos adversos nos tecidos receptores (DUERIG, PELTON, STOCKEL, 1999; ANDERSON, 2019).

Apesar dos promissores resultados encontrados com a implantação de próteses intraluminais e extraluminais de nitinol em pacientes com colapso traqueal, o elevado custo da matéria prima desse modelo de prótese tem se revelado um empecilho para a popularização da técnica e aplicação em grande parte dos

pacientes que necessitam de tal procedimento (MICHELON, 2016). Para Moretto et al. (2016), a modelagem de próteses e dispositivos assistivos à por Manufatura Aditiva em impressoras tridimensionais (impressoras 3D) é uma alternativa às próteses de nitinol que já vem sendo amplamente explorada nos últimos anos e conseqüentemente, com gradativa diminuição de custos dos produtos (TACK et al, 2016).

2.5 IMPRESSÃO 3D APLICADA À SAÚDE

A Manufatura Aditiva ou Prototipagem Rápida (*Rapid prototyping*, RP) ou Fabricação de Formas Tridimensionais Livres (Solid Freeform Fabrication, SFF), popularmente conhecido como impressão 3D, é o processo pelo qual um objeto é criado baseando-se em um modelo digital computadorizado ou *computer-aided design* (CAD). A medida que a máquina lê os dados do modelo digital, deposita sucessivas camadas de material fundido e cada camada fusionada depositada equivale à uma seção transversal do modelo computadorizado, que ao final do processo forma o objeto sólido (FINK, 2019).

Na área médica, os modelos impressos em 3D incluem produção peças para visualização e planejamento cirúrgico, órteses, próteses e substratos para crescimento de células-tronco para regeneração de ossos, cartilagens, músculos, vasos sanguíneos, entre outros tecidos biológicos. A principal vantagem dessa modalidade de modelagem é a produção de dispositivos de acordo com a anatomia e/ou condição específica do paciente com personalização do dispositivo, melhor adaptação às particularidades anatômicas do paciente e, no caso de implantes traqueais, trazendo impactos positivos tanto na redução do tempo cirúrgico quanto no sucesso da implantação da prótese por seu elevado grau de customização (KLEIN et al., 2013; JACOTTI, et al., 2014; WHITAKER, 2014; CHIA e WU, 2015; LEE et al., 2017; VUKICEVIC, et al., 2017).

Entre os diversos materiais amplamente utilizados neste processo de modelagem por impressão 3D está a classe das poliamidas (BORAH, 2014). Poliamidas são compostos termoplásticos obtidos a partir da reação de polimerização de um ácido e uma diamina. A depender da variação no comprimento da cadeia polimérica e estrutura química, podem ser produzidos diversos tipos, a mais utilizada é a poliamida 12 (PA12) (EBEWELW, 2000). Várias são as suas

aplicações, tanto na área industrial quanto na área médica por ter baixo custo, ser resistente à impactos, estabilidade dimensional, excelente resistência química e ser flexível (BASSANI, et al., 2002). Na área médica, a poliamida é utilizada há muito tempo como um dos principais polímeros que compõem fios de sutura por provocar pequena ou nenhuma reação tecidual e ter fácil manuseio (MEDEIROS, ARAÚJO-FILHO, CARVALHO, 2017).

Considerando as características de evolução dos processos de fabricação de dispositivos que visam melhorar a vida dos pacientes tanto na medicina quanto na medicina veterinária e que, para Rozenfeld et al., (2006), o processo de desenvolvimento de um produto passa necessariamente pelo levantamento das necessidades e desejos dos possíveis consumidores para se traduzir esses dados em especificações do novo produto, a utilização de materiais biocompatíveis modelados por impressão 3D se mostra promissora na resposta a demandas já presentes no dia a dia da medicina veterinária (GYLES, 2019).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, J. M. Biocompatibility and bioresponse to biomaterials In: ATALA, A. et al. (Ed.) **Principles of regenerative medicine**. 3ed. Elsevier, 2019. cap 39, p. 675-694.

AZEVEDO, L. G. C. et al. Órteses e próteses aplicadas à tecnologia 3D na saúde: uma revisão sistemática. In: GUERRA NETO, C. L. B. et al. **Tecnologia 3D na saúde: uma visão sobre órteses, próteses, tecnologias assistivas e modelagem 3D**. Natal: SEDIS-UFPR, 2018. 95 p.

BASSANI, A.; PESSAN, L. A.; HAGE JUNIOR, E. Propriedades mecânicas de blendas de nylon-6/acrilonitrila-EPDM-estireno (AES) compatibilizadas com copolímero acrílico reativo (MMA-MA). **Polímeros**, São Carlos, v. 12, n. 2, p. 102-108, 2002.

BORAH, S. 3D printer filament length monitor. **International Journal of Science, Technology and Society**, v. 2, n. 5, p. 129-132, 2014.

BROWN, S. A.; WILLIAMS, J. E.; SAYLOR, D. K. Endotracheal stent granulation stenosis resolution after colchicine therapy in a dog. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, n. 22, p. 1052–1055, 2008.

CHIA, H. N.; WU, B. M. Recent advances in 3D printing of biomaterials. **Journal of Biological Engineering**. n. 9, 2015. Disponível em : <<https://jbioleng.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13036-015-0001-4>>. Acesso em 18 maio de 2020.

CULP, W. T. N.; O'DONNELL, M. D. Upper airway disease: tracheal collapse. In: ARONSON, L. R. **Small Animal Surgical Emergencies**, Hoboken: Wiley Blackell, 2016. cap 28, p. 289-296.

DEWEESE, M. D.; TOBIAS, K. M. Tracheal collapse in dogs. **Clinician's Brief**. Disponível em: <<https://www.cliniciansbrief.com/article/tracheal-collapse-dogs>> Acesso em: 28 abr. 2014.

DUERIG, T.; PELTON, A.; STOCKEL, D. An overview of nitinol medical applications. **Materials Science and Engineering**, Amsterdã: Elsevier, 1999. p.149-160.

DURANT, A. M.; SURA, P.; ROHRBACH, B.; BOHLING M. W. Use of nitinol stents for end-stage tracheal collapse in dogs. **Veterinary Surgery**, Washington, n. 41, p. 807–817, 2012.

EBEWELE, R. O. **Polymer Science and Technology**, New York: CRC Press LLC, 2000. 483 p.

ETTINGER, S. J.; KANTROWITZ, B.; BRAYLEY, K. Doenças da traqueia. In: ETTINGER, S. J. **Tratado de medicina Interna**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara,2004. p.1096-1112.

FERIAN, P. E. **Avaliação histológica, histoquímica, morfométrica e radiográfica de traqueias de cães portadores de colapso traqueal**. 2009. 101 f. Tese. (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

FINK, J. K. Methods of 3D printing in: **3D industrial printing with polymers**. Beverly: Wiley & Sons, Inc. and Scrivener Publishing, 2019. p. 1-60.

FOSSUM, T. W. Cirurgia do sistema respiratório superior. In: FOSSUM, T.W. **Cirurgia de pequenos animais**. 4 ed. São Paulo: Roca, 2013. p. 937 – 943.

GYLES, C. 3D printing comes to veterinary medicine. **Canadian Veterinary Journal**, n . 60, p. 1033-1034, 2019.

HAWKINS, E. C.; Colapso da traqueia. **Manual de medicina interna de pequenos animais**, Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. p. 279-80.

JACOTTI, M.; BARAUSSE, C.; FELICE, P. Posterior atrophic mandible rehabilitation with onlay allograft created with CAD-CAM procedure: a case report. **Implant Dentistry**, n. 23, p. 22-28, 2014.

JOHNSON, L. R.; POLLARD, R. E. Tracheal collapse and bronchomalacia in dogs: 58 cases. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, n. 24, p. 298–30, 2010.

KIRBY, B. M.; BJORLING, D. E.; RANKIN, J. H. G., et al. The effects of surgical isolation and application of polypropylene spiral prostheses on tracheal blood flow. **Veterinary Surgery**, n. 20, p. 49 – 54, 1991.

KLEIN, G. T.; LU Y.; WANG, M. Y. 3D Printing and neurosurgery ready for prime time? **World Neurosurgery**, n. 80, p. 233–235, 2013.

LEE, H.; KOO, E.; YEO, M.; KIM, S.; KIM, G. GH. Recent cell printing systems for tissue engineering. **International Journal of Bioprinting**, v. 3, n. 1, p. 27-41, 2017.

MACREADY, D. M.; JOHNSON, L. R.; POLLARD, R. E. Fluoroscopic and radiographic evaluation of tracheal collapse in 62 dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, n. 230, p. 1870–1876, 2007.

MAGGIORE, A. D. Tracheal and airway collapse in dogs. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, n. 44, p. 117 – 127, 2014.

MEDEIROS, A. C.; ARAÚJO-FILHO, I.; CARVALHO, M. D. F. Fios de sutura. **Journal of Surgical and Clinical Research**, v. 7, n. 2, p. 74-86, 2017.

MICHELON, M. D. **Estudo para obtenção de fios de NiTi através de metalurgia do pó**. 2. ed. São Paulo: Editora Edgard Blucher Ltda, 2016. 90p.

MORETTO, E. G.; COTO, N.; LOPES, R.; DIAS, R.; ZUFFO, M. Elaboração de próteses auriculares individualizadas por meio de manufatura auxiliada por computador. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE COMPUTAÇÃO APLICADA À SAÚDE, 16., 2016, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Computação, 2016. p. 1-10.

PADRID, P. A. Laryngoscopy and tracheobronchoscopy of the dog and cat. In: TAMS, T. R.; RAWLINGS, C. A. **Small Animal Endoscopy**, 3 ed. Missouri: Elsevier, 2011. p.339 – 359.

RASKE, M.; WEISSE, C.; BERENT, A. C. et al, Immediate, short, and long-term changes in tracheal stent diameter, length, and positioning after placement in dogs with tracheal collapse syndrome. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. n. 32, p. 782–791, 2018.

ROZENFELD, H. FORCELLINI, F. A.; AMARAL, D. C.; TOLEDO, J. C.; SILVA, S. L.; ALLIPRANDINI, D. H.; SCALICE, R. K. **Gestão de desenvolvimento de produtos: uma referência para a melhoria do processo**, São Paulo: Ed. Saraiva, 2006. 1175 p.

SANTOS-JUNIOR, M. B.; SILVA, S. J. Q.; SCHEFFER, J. P., et al. Innovative prosthesis for tracheal collapse resolution. **Jornal Brasileiro de Ciência Animal**, n. 9, p. 648 – 655, 2016.

SUEMATSU, M.; SUEMATSU, H.; MINAMOTO, T.; MACHIDA, N.; HIRAO, D.; FUJIKI, M. Long-term outcomes of 54 dogs with tracheal collapse treated with a continuous extraluminal tracheal prosthesis. **Veterinary Surgery**, n. 48, p. 825-834. 2019.

TACK, P.; VICTOR, J.; GEMMEL, P.; ANNEMANS, L. 3D-printing techniques in a medical setting: a systematic literature review. **Biomedical Engineering Online**. v. 15, n.1, out. 2016

TAPPIN, S. W. Canine tracheal collapse. **Journal of Small Animal Practice**. n. 57 v. 1, p. 9-17, 2016.

TINGA, S.; MANKIN, K. M. T.; PEYCKE, L. E. Comparison of outcome after use of extra-luminal rings and intra-luminal stents for treatment of tracheal collapse in dogs. **Veterinary Surgery**, n. 44, p. 858 – 865, 2015.

VUKICEVIC, M.; MOSADEGH, B.; MIN. J. K.; LITTLE, S. H. Cardiac 3D printing and its future directions. **Journal of the American College of Cardiology: Cardiovascular Imaging**, v. 10, n. 2, p. 171-184, 2017.

WHITAKER, M. The history of 3D printing in healthcare, **Annals of The Royal College of Surgeons of England Bulletin**, v. 96, p. 228-229, 2014.

YOON, H. Y.; CHOI, J. W.; KIM, J. H. et al. Use of a double-wire woven uncovered nitinol stent for the treatment of refractory tracheal collapse in a dog: a case report. **Veterinarni Medicina**, n. 62, p. 98–104, 2017.

3 OBJETIVOS

Objetivo geral: averiguar a possibilidade de utilização de prótese traqueal helicoidal extraluminal confeccionada em poliamida por meio da impressão em três dimensões para correção de colapso traqueal em cães tendo coelhos como modelo experimental.

Objetivos específicos:

- ✓ avaliar a biocompatibilidade de prótese traqueal helicoidal extraluminal confeccionada em poliamida modeladas em impressora 3D;
- ✓ avaliar histologicamente as reações teciduais promovidas pelo implante das próteses de poliamida.

Esta dissertação de mestrado foi elaborada na forma de artigo científico de acordo com as normas da revista Acta Veterinaria Brasilica, para onde será submetida. As normas estão disponíveis no site:

<<https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/acta/about/submissions>>

1 **BIOCOMPATIBILIDADE DE IMPLANTE DE POLIAMIDA EM TRAQUEIA DE COELHO**
2 **(*Oryctolagus cuniculus*)**

3
4 Marcos Piazzolo^{1*}, Olicies da Cunha¹, Aline de Marco Viott¹, Allan Macedo de Alencar²

5
6 ¹Universidade Federal do Paraná - Setor Palotina, Palotina/PR.

7 ²Médico veterinário autônomo, Cascavel/PR.

8 *piazzolo@ufpr.br

9
10 **RESUMO** - O colapso traqueal é uma desordem respiratória comum em cães de raças
11 pequenas e miniaturas. Apresenta caráter progressivo e pode ser congênita ou adquirida.
12 Para graus severos, o implante de prótese que sustente o formato tubular da traqueia é o
13 tratamento mais indicado. Atualmente, o implante helicoidal extraluminal de nitinol é o
14 tratamento com melhor resultado, porém o alto custo da prótese é um empecilho na
15 aplicação da técnica. O objetivo do trabalho foi averiguar a biocompatibilidade em
16 modelo experimental (coelho) de prótese helicoidal extraluminal de poliamida
17 modelada em impressora 3D. Para isso foram estudados 40 coelhos distribuídos em dois
18 grupos e 4 blocos de tempos experimentais de 7, 14, 21 e 30 dias com 10 pacientes
19 agrupados em cada bloco, sendo cinco para tratamento e cinco para controle. Vinte
20 coelhos passaram por todo o processo cirúrgico sem receber a prótese (grupo controle -
21 7, 14, 21 e 30 dias) e 20 coelhos receberam a prótese (grupo tratamento - 7, 14, 21 e 30
22 dias). Após, as amostras de traqueia foram colhidas para exame histopatológico quanto a
23 alterações de congestão, edema, fibrose, hemorragia, inflamação e necrose. Apenas um
24 coelho apresentou deiscência de sutura. A maioria das amostras traqueais
25 apresentaram alterações leves a moderadas quanto aos aspectos de biocompatibilidade,
26 no entanto não houve diferença entre os grupos tratamento e controle. Conclui-se que a
27 prótese traqueal helicoidal extraluminal confeccionada em poliamida por impressão em
28 três dimensões nas características utilizadas provoca leve a moderada reação tecidual,
29 sendo considerada biocompatível.

30 **Palavras-chave:** colapso traqueal, prótese de traqueia, impressão 3D, sinterização
31 seletiva a *laser*.

INTRODUÇÃO

34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66

O colapso traqueal é uma das principais causas de desordens respiratórias em cães de raças pequenas e miniaturas. Ela é caracterizada pelo enfraquecimento dos anéis traqueais e músculo traqueal dorsal levando ao achatamento dorsoventral da traqueia e, conseqüentemente, à diminuição da luz, causando desde sinais leves como tosse até a insuficiência respiratória grave e óbito, dependendo da severidade do colapso (TAPPIN, 2016; DEWEESE, 2019).

O diagnóstico do colapso traqueal leva em consideração sinais clínicos e exames de imagem. Radiografia, fluoroscopia e traquescopia são alguns dos exames de eleição tanto para diagnosticar quanto para determinar o grau de comprometimento da luz traqueal (CULP & O'DONNELL, 2016). O tratamento para o colapso é definido pela proporção da luz traqueal obstruída pelo achatamento traqueal, sendo tratamento conservativo medicamentoso para graus mais brandos de colapso (até 50% de obstrução da luz do órgão) e tratamento cirúrgico para os graus mais severos (obstrução maior que 50%) e também casos refratários ao tratamento clínico (JOHNSON & POLLARD, 2010).

O implante cirúrgico de próteses extraluminiais em liga de níquel-titânio (nitinol) em cães tem demonstrado bons resultado a longo prazo no tratamento de graus elevados de colapso traqueal (SUEMATSU, 2019), no entanto seu elevado custo ainda é fator limitante no uso desse material e, conseqüentemente inviabilizando a aplicação dessa técnica (MICHELON, 2016).

A manufatura aditiva, popularmente conhecida por impressão 3D, está se revelando uma importante ferramenta no meio médico-cirúrgico, tanto para o planejamento pré-cirúrgico quanto para a fabricação de próteses e órteses personalizadas e precisas. Esse assunto tem motivado estudos de diversos materiais quanto à sua biocompatibilidade para poder oferecer dispositivos cirúrgicos com menor custo, maior grau de customização/adaptação às necessidades do paciente e rapidez na fabricação (AZEVEDO, 2018).

67 O objetivo do presente trabalho foi averiguar a biocompatibilidade de prótese traqueal
68 helicoidal extraluminal confeccionada em poliamida por meio da impressão em três
69 dimensões como possível alternativa para tratamento de colapso traqueal em cães.

70

71

MATERIAL E MÉTODOS

72

73 O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da
74 Universidade Federal do Paraná - Setor Palotina sob o Protocolo nº 28/2020.

75

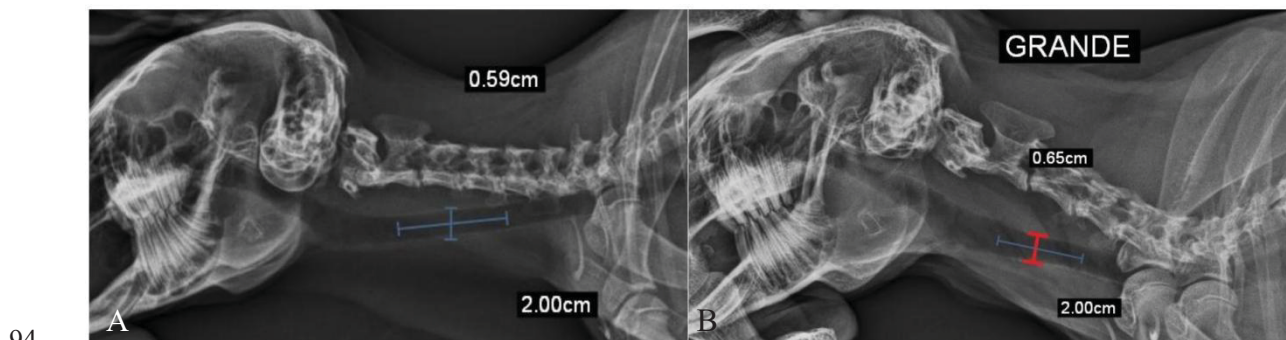
76 Foram estudados 40 coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) da linhagem Nova Zelândia Branco
77 com pesos entre 3,2 e 3,5kg, fisicamente hígidos, independente de sexo, acondicionados
78 em gaiolas individuais suspensas medindo 50x50x60cm em ambiente climatizado e
79 mantido à temperatura de 24°C, com ciclos de luminosidade em torno de 12 a 14 horas
80 diárias, fornecida água limpa e fresca à vontade e ração padrão comercial específica para
81 espécie (Agramulti - Agrária Nutrição Animal, Guarapuava - Brasil). Os pacientes
82 permaneceram nessas condições durante 10 dias para adaptação ao ambiente e rotina
83 de manejo antes do início dos procedimentos cirúrgicos.

84

85 Para definição do diâmetro e comprimento das próteses foram obtidas imagens
86 radiográficas da região cervical de cada espécime e aferidas as medições do segmento
87 médio da porção cervical dos mesmos por meio de sistema de radiografia
88 computadorizada Fujifilm® (equipamento: FCR Prima T2 V), com medição em software
89 computacional Radiant DICOM®. Houve variação de 0,06cm entre a maior e menor
90 medição obtida nas imagens radiográficas (figura 1).

91

92 Figura 1 - Imagens radiográficas evidenciando menor e maior medida de diâmetro
93 traqueal encontrado entre os 40 coelhos radiografados - Cascavel - 2020.

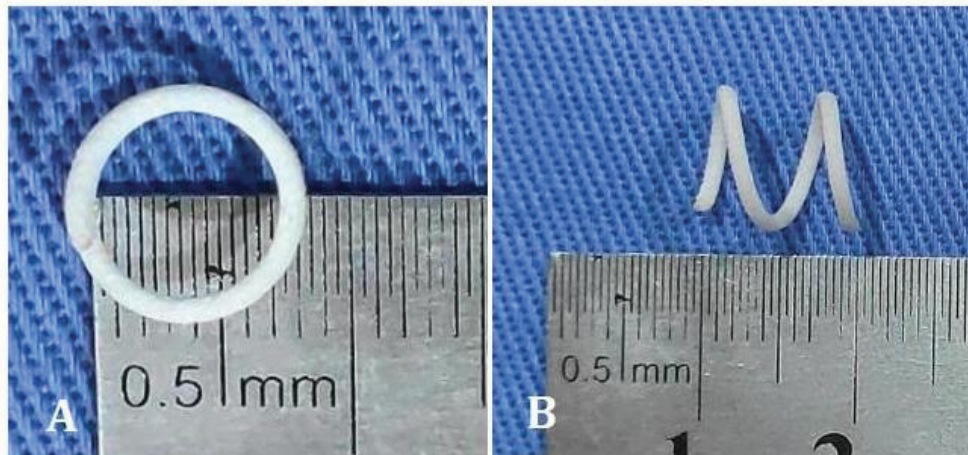


95 (A) Menor diâmetro traqueal observado no espécime 21, (0,59cm). (B) Maior diâmetro
96 traqueal observado no espécime 13 (0,65cm).

97 Fonte: acervo do autor.

98

99 Figura 2 - Imagens das próteses helicoidais de poliamida modeladas em 3D pelo método
100 de sinterização seletiva a laser - Cascavel - 2020.



101

102 (A) Vista superior demonstrando diâmetro interno de 0,70cm. (B) Vista lateral,
103 comprimento total de 1 cm. Espessura de 0,1 cm.

104 Fonte: acervo do autor.

105

106 As próteses impressas em 3D foram obtidas pelo processo de manufatura aditiva por
107 sinterização seletiva a laser (SLS Printer, equipamento: Formiga P110 Velocis, fabricante
108 EOS) em poliamida 12 (PA2200, fabricante EOS) a partir de modelo virtual projetada em
109 software computacional SolidWorks®, com medidas de 0,70cm de diâmetro interno e
110 1cm de comprimento total e 0,1cm de espessura (figura 2) (Trideo - São Paulo - Brasil).
111 Embaladas em envelope grau cirúrgico e esterilizadas em autoclave no ciclo rápido a
112 121°C por 15 minutos.

113

114 O estudo foi delineado em blocos ao acaso de tempos experimentais de 7, 14, 21 e 30
115 dias, com 10 pacientes agrupados aleatoriamente em cada grupo, sendo 5 para cada
116 tratamento:

117 - controle (C) - apenas dissecação e exposição da traqueia;

118 - tratamento (P) - implante da prótese.

119

120 Os animais não foram submetidos a jejum hídrico ou alimentar pré-anestésico. No dia do
121 procedimento cirúrgico, foram pré-medicados com associação de 15mcg/kg de
122 dexmedetomidina (Dexdomitor - Zoetis, São Paulo - Brasil), 5mg/kg de cetamina
123 (Cetamin - Syntec, Santana de Parnaíba - Brasil), 0,5 mg/kg de morfina (Dimorf -
124 Cristália, Itapira - Brasil) e 0,5 mg/kg de midazolam(Dormire - Cristália, São paulo -
125 Brasil), pela via intramuscular. Após acesso venoso na veia auricular, a anestesia foi
126 induzida com propofol (Propovan - Cristália, Itapira - Brasil) dose-efeito. Seguiu-se
127 intubação orotraqueal e manutenção anestésica com isoflurano (Isoforine - Cristália,
128 Itapira - Brasil) em 100% de oxigênio e ventilação espontânea.

129

130 Durante a anestesia, os animais foram monitorados quanto a frequência cardíaca (FC),
131 frequência respiratória (FR), temperatura corporal, eletrocardiografia, capnografia e
132 pressão arterial sistólica, diastólica e média de forma invasiva com cateter posicionado
133 na artéria auricular.

134

135 Foi realizada tricotomia ampla da região cervical ventral e preparo do campo operatório
136 para cirurgia asséptica. Em seguida, foi realizada uma incisão na linha média ventral na
137 região cervical, na altura da cartilagem cricoide até o manúbrio.

138

139 A dissecação de tecidos adjacentes à traqueia foram necessários para exposição de toda
140 extensão cervical, desde seu início, caudal à cartilagem cricoide, até o manúbrio esternal,
141 tomando-se o cuidado em não lesionar o nervo laríngeo recorrente que foi afastado e
142 protegido para aplicação da prótese. Nos pacientes do grupo Controle a traqueia foi
143 exposta durante dois minutos sem a colocação da prótese. Após dois minutos foram
144 aproximados os músculos esterno-hióideo, esternocéfálico e tecido subcutâneo com fio
145 4.0 absorvível poligalactina 910 (VicPoint - Point Suture do Brasil, Fortaleza - Brasil) em
146 sutura simples contínua e fechamento de pele em sutura subcuticular contínua com
147 mesmo fio.

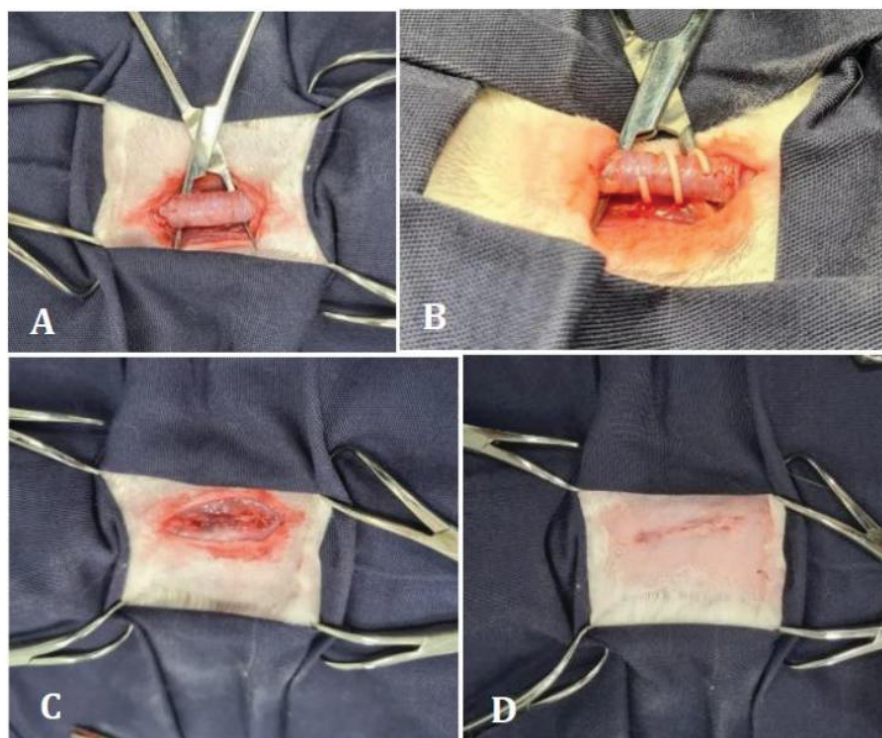
148

149 No grupo que recebeu o tratamento as próteses foram posicionadas em torno da
150 traqueia na região média cervical em contato íntimo com o órgão evitando seu
151 deslocamento cranial ou caudal, porém sem comprometer seu suprimento sanguíneo ou
152 nervoso. Após implantação da prótese foram aproximados os músculos esterno-hióideo,

153 esterno-cefálico e tecido subcutâneo com fio 4.0 absorvível poligalactina 910 (VicPoint -
154 Point Suture do Brasil, Fortaleza - Brasil) em sutura simples contínua e fechamento de
155 pele em sutura subcuticular contínua com mesmo fio (figura 3).

156
157 No pós-cirúrgico imediato foi administrado uma dose de antimicrobiano enrofloxacino
158 (Baytril injetável 5% - Bayer animal health, São Paulo - Brasil) 5mg/kg por via
159 subcutânea, terapia analgésica com cloridrato de tramadol (Cronidor - Agener União,
160 São Paulo - Brasil) na dose de 5 mg/kg e duas aplicações de anti-inflamatório não
161 esteroideal meloxicam (Maxicam - Ouro Fino, Cajamar - Brasil) na dose de 0,2 mg/kg com
162 intervalo de 24 horas. Logo após retorno anestésico completo os animais retornaram às
163 suas respectivas gaiolas onde foram monitorados diariamente e observados quanto a
164 qualquer alteração comportamental anormal referente à dor, alterações no padrão
165 respiratório (dispneia, tosse, cianose ou alterações de sons na auscultação pulmonar) e
166 também possíveis alterações na região da ferida cirúrgica como: secreções, edema,
167 enfisema subcutâneo e alterações de coloração.

168
169 Figura 3 - Imagens trans-operatórias de pacientes dos grupos C e grupo P - Cascavel -
170 2020.



171

172 (A) Exposição traqueal durante dois minutos nos indivíduos do grupo C. (B) Prótese
173 aplicada nos indivíduos do grupo P. (C) Aproximação de músculos afastados
174 cirurgicamente. (D) Aproximação de tecido subcutâneo e pele.

175 Fonte: acervo do autor.

176

177 Os pacientes foram acompanhados por 7, 14, 21 e 30 dias após a cirurgia e submetidos à
178 eutanásia para coleta de amostras de traqueia para posterior comparação histológica
179 conforme demonstrado na figura 4 .

180

181 Figura 4 - Cronograma de rotina de tratamento, acompanhamento e coleta de amostras
182 dos grupos experimentais - Cascavel -2020.

Dias Grupos	Cronograma de acompanhamento e coleta de amostras				
	0	7	14	21	30
C7 e P7	Cirurgia	Coleta	-	-	-
C14 e P14	Cirurgia	Rotina	Coleta	-	-
C21 e P21	Cirurgia	Rotina	Rotina	Coleta	-
C30 e P30	Cirurgia	Rotina	Rotina	Rotina	Coleta

183 Fonte: o autor.

184

185 A eutanásia dos animais foi realizada com dexmedetomidina 15 mcg/kg e morfina 0,5
186 mg/kg por via intramuscular seguida pela administração de propofol dose-resposta até
187 perda de reflexos palpebral e corneal e 10ml de cloreto de potássio 19,1% (Samtec,
188 Ribeirão Preto - Brasil) por via endovenosa para indução à assistolia.

189

190 A coleta dos segmentos transversais da traqueia no local onde encontrava-se a prótese
191 ocorreu logo após a eutanásia e foram acondicionadas em frascos contendo formol
192 tamponado à 10% por 10 dias, seguida por desidratação seriada e emblocamento em
193 parafina. Os cortes histológicos de 5 µm foram corados pela técnica de HE.

194

195 A análise macroscópica do sítio cirúrgico foi feita por inspeção direta durante todo o
196 período pós-cirúrgico e no momento da eutanásia para coleta dos segmentos traqueais
197 e avaliou-se a presença ou ausência de hematoma, hiperemia, hemorragia e formação de
198 cáseo na pele, nos tecidos subcutâneo e peritraqueal. Os dados referentes a avaliação

199 macroscópica de presença ou ausência de hematoma, hiperemia, hemorragia e formação
200 de cáseo foram analisados de forma descritiva com valores expressos em percentuais.

201

202 As lâminas histológicas foram analisadas por avaliador treinado e encoberto, que anotou
203 em planilha própria as características dos tecidos conforme os critérios:

204 - alterações extraluminais: inflamação, congestão, edema, hemorragia, fibrose e necrose;

205 - alterações intraluminais: grau de obstrução luminal em análise subjetiva aproximada,
206 edema, hiperemia, hemorragia, metaplasia, hiperplasia e inflamação.

207

208 As alterações foram classificadas em: 0 (ausente), 1 (leve), 2 (moderada) e 3 (intensa),
209 de acordo com o grau de acometimento dos tecidos, conforme orientação para descrição
210 de lâminas do American College of Veterinary Pathologists (BARROS, 2020; apud
211 Willians, 2001).

212

213 Com o resultado das análises histológicas tabuladas utilizou-se teste não paramétrico de
214 Kruskal-Wallis para comparação entre múltiplos grupos e, quando houve diferença
215 entre os grupos, foi utilizado teste de Wilcoxon (comparação 2 a 2) para identificar
216 grupos que apresentavam diferenças entre si. Esse tratamento foi aplicado para as
217 variáveis de alterações extraluminais: inflamação, congestão, edema, hemorragia,
218 fibrose e necrose. Alterações intraluminais: grau de obstrução luminal em análise
219 subjetiva aproximada, edema, hiperemia, hemorragia, metaplasia, hiperplasia e
220 inflamação. Todos os grupos tratados foram comparados com seus respectivos grupos
221 controle. Todas as análises foram realizadas sob significância de 5% ($p \leq 0,05$). A análise
222 estatística foi realizada com auxílio de software computacional GraphPad Prism®
223 versão 9.1.2.

224

225

225 **RESULTADOS**

226

227 Um espécime do grupo C14 apresentou apatia, inapetência, diarreia e veio a óbito no
228 segundo dia do período de adaptação não sendo possível identificar a causa. Seu recinto
229 foi higienizado com detergente enzimático, hipoclorito de sódio a 2,5% e não foi
230 reutilizado. Um paciente do grupo P14 apresentou assistolia e apneia durante indução
231 anestésica e veio a óbito antes do início do procedimento cirúrgico, ao exame

232 necroscópico não foi possível determinar a causa da morte. O protocolo anestésico
 233 permitiu procedimento cirúrgico sem outras intercorrências. No pós-cirúrgico imediato
 234 e em todo tempo experimental não foi observada qualquer alteração referente à dor
 235 e/ou alterações no padrão respiratório (dispneia, tosse, cianose ou alterações de sons na
 236 auscultação pulmonar).

237
 238 Durante a avaliação macroscópica ao decorrer dos tempos experimentais, 2,63% dos 38
 239 pacientes (um coelho do grupo P21) apresentou alterações no sítio cirúrgico, sendo:
 240 hematoma, hiperemia e hemorragia. Foi observado deiscência de sutura subcuticular no
 241 segundo dia pós-cirúrgico, sem comprometimento da sutura de aproximação dos
 242 músculos esterno-hióideo e esternocefálico. A ferida cicatrizou por segunda intenção. Os
 243 resultados da análise microscópica das amostras traqueais foram tabulados em planilha
 244 própria e divididas em alterações traqueais (tabela 1).

245
 246 Tabela 1 - Resultado das análises histológicas das lâminas confeccionadas a partir de
 247 cortes transversais das seções traqueais que foram expostas cirurgicamente nos
 248 pacientes do grupo C e de seções traqueais dos pacientes que receberam a prótese,
 249 grupo P. Palotina - 2021.

Grupos	Inflamação	Congestão	Edema	Hemorragia	Fibrose	Necrose
C7 (1)	1	2	0	1	0	0
C7 (2)	3	1	1	2	1	0
C7 (3)	1	2	2	0	0	0
C7 (4)	1	2	1	1	0	0
C7 (5)	0	1	1	0	0	0
C14 (1)	1	0	1	0	0	0
C14 (2)	1	1	1	2	0	0
C14 (3)	0	0	0	0	1	0
C14 (4)	0	0	0	0	0	0
C14 (5)	*	*	*	*	*	*
C 21 (1)	0	0	0	0	0	0
C 21 (2)	0	0	0	0	0	0
C 21 (3)	0	0	0	0	0	0
C 21 (4)	0	0	0	0	0	0
C 21 (5)	0	0	0	0	1	0
C 30 (1)	0	0	0	0	0	0
C 30 (2)	0	0	0	0	0	0
C 30 (3)	0	0	0	0	0	0
C 30 (4)	1	1	0	0	1	0
C 30 (5)	0	0	1	0	0	0
P7 (1)	1	1	1	0	3	0
P7 (2)	1	1	0	0	1	0
P7 (3)	2	0	0	0	1	1
P7 (4)	1	1	2	2	2	0
P7 (5)	1	0	2	0	2	0
P14 (1)	1	0	0	0	1	0

P14 (2)	1	1	0	0	1	0
P14 (3)	2	0	0	0	3	0
P14 (4)	1	1	1	1	2	0
P14 (5)	*	*	*	*	*	*
P21 (1)	1	1	1	0	2	0
P21 (2)	1	0	0	0	1	0
P21 (3)	1	0	0	0	1	0
P21 (4)	1	0	1	0	1	0
P21 (5)	3	0	2	0	3	0
P30 (1)	1	0	1	0	1	0
P30 (2)	1	0	1	0	1	0
P30 (3)	1	0	2	0	0	0
P30 (4)	1	0	0	1	0	0
P30 (5)	1	0	0	0	1	0

250 (0) Ausente. (1) Leve. (2) Moderada. (3) Intensa. (*) Óbito do paciente.

251

252 Após a tabulação dos dados, procedeu-se análise estatística aplicando-se teste não
 253 paramétrico de Kruskal-Wallis para comparação entre múltiplos grupos. Os valores de p
 254 obtidos pelo teste de Kruskal-Wallis dos parâmetros congestão, edema, fibrose,
 255 hemorragia, inflamação e necrose entre os grupos C e P para os tempos experimentais
 256 de 7, 14, 21 e 30 dias estão expressos na tabela 2.

257

258 Tabela 2 - Valores de p obtidos pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para
 259 comparação entre múltiplos grupos C e P. Palotina - 2021.

Parâmetros	Valores de p
Congestão	0,0051*
Edema	0,1864
Fibrose	0,0015*
Hemorragia	0,2638
Inflamação	0,0020*
Necrose	0,0594

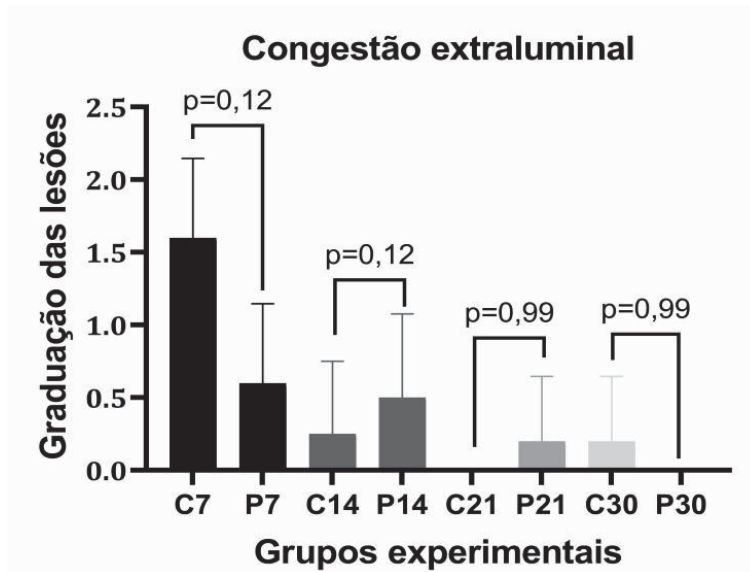
260 *Estatisticamente significativa quando $p \leq 0,05$

261

262 Aos grupos que apresentaram diferença no teste de Kruskal-Wallis foram aplicados teste
 263 de Wilcoxon (pareados 2x2) que revelou não haver diferença nos parâmetros de
 264 congestão, fibrose e inflamação conforme gráficos apresentados nas figuras 5, 6 e 7.

265

266 Figura 5 - Gráfico representando média e desvio padrão para cada tratamento nos
 267 períodos experimentais de 7, 14, 21 e 30 dias. Valores de p expressos no gráfico obtidos
 268 pelo teste de Wilcoxon pareados 2x2 para parâmetro de congestão - Palotina 2021.



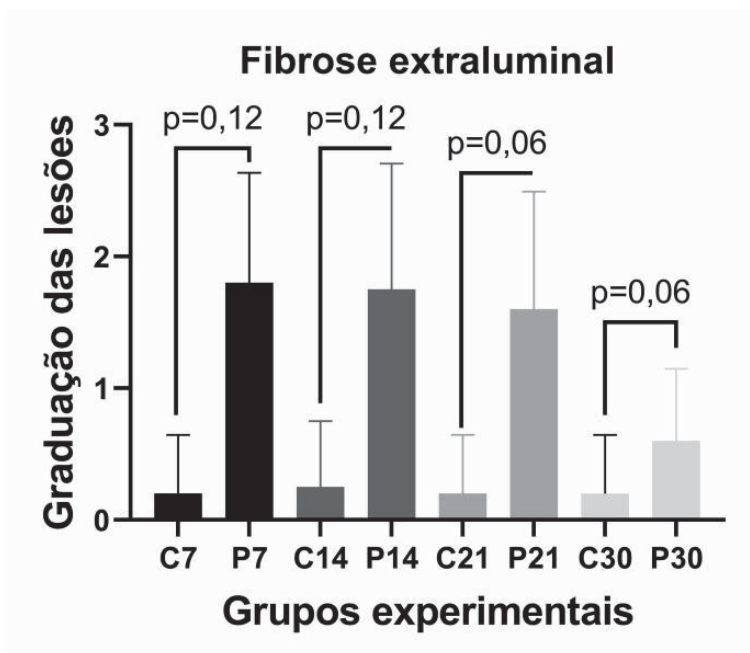
269

270 Significância estatística quando $p \leq 0,05$.

271 Fonte: o autor.

272

273 Figura 6 - Gráfico representando média e desvio padrão para cada tratamento nos
 274 períodos experimentais de 7, 14, 21 e 30 dias. Valores de p expressos no gráfico obtidos
 275 pelo teste de Wilcoxon pareados 2x2 para parâmetro de fibrose - Palotina - 2021.



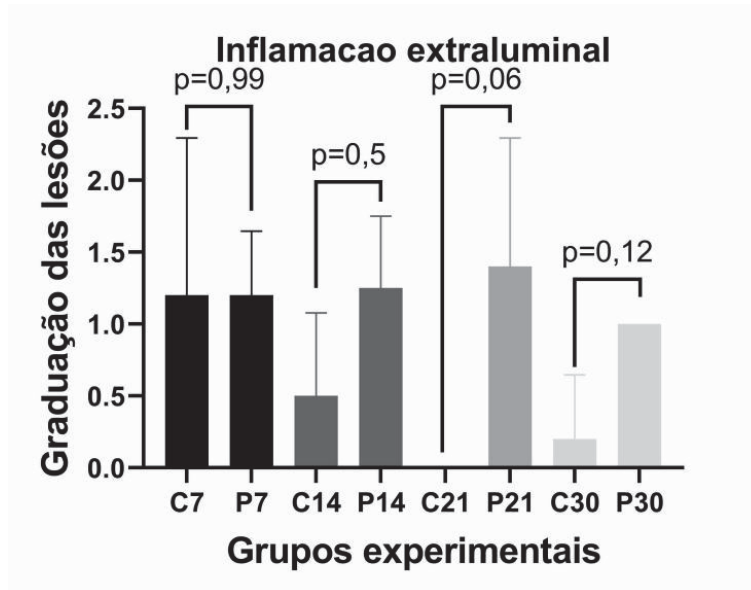
276

277 Significância estatística quando $p \leq 0,05$.

278 Fonte: o autor.

279

280 Figura 7 - Gráfico representando média e desvio padrão para cada tratamento nos
281 períodos experimentais de 7, 14, 21 e 30 dias. Valores de p expressos no gráfico obtidos
282 pelo teste de Wilcoxon pareados 2x2 para parâmetro de inflamação - Palotina - 2021.

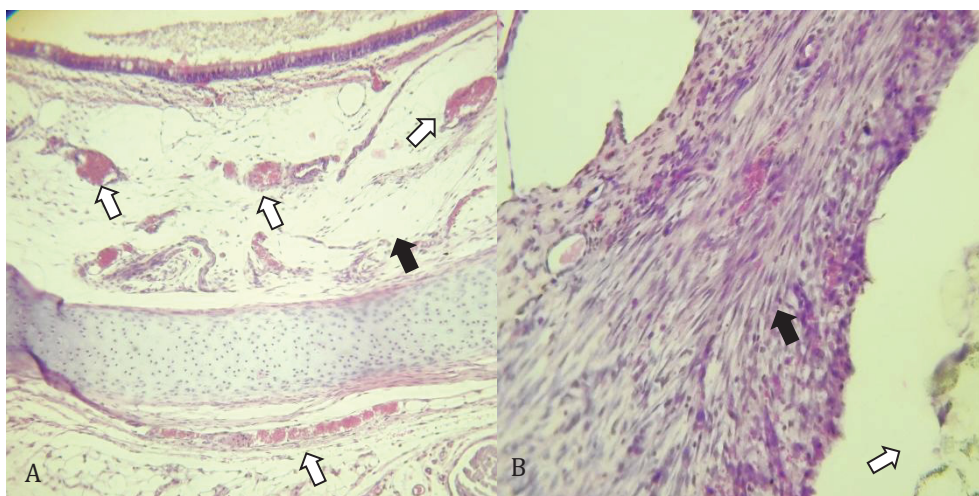


283
284 Significância estatística quando $p \leq 0,05$.

285 Fonte: o autor

286
287 Foram observadas áreas de congestão e edema leve a moderado em submucosa nos
288 grupos C e P (figura 8).

289
290 Figura 8 - Lâmina histológica de tecido traqueal de espécime do grupo experimental P7*
291 em coloração HE, aumento 100X. Observe áreas de edema, congestão e fibrose - Palotina
292 - 2021.



293

294 (A)Paciente P7(4), área de edema leve em submucosa (seta preta)e congestão moderada
295 em região de pericôndrio e submucosa (setas brancas). (B)Paciente P7(1), área de
296 fibrose intensa (seta preta) em local de contato com a prótese (seta branca).

297 *P7: paciente acompanhado por sete dias após implantação da prótese.

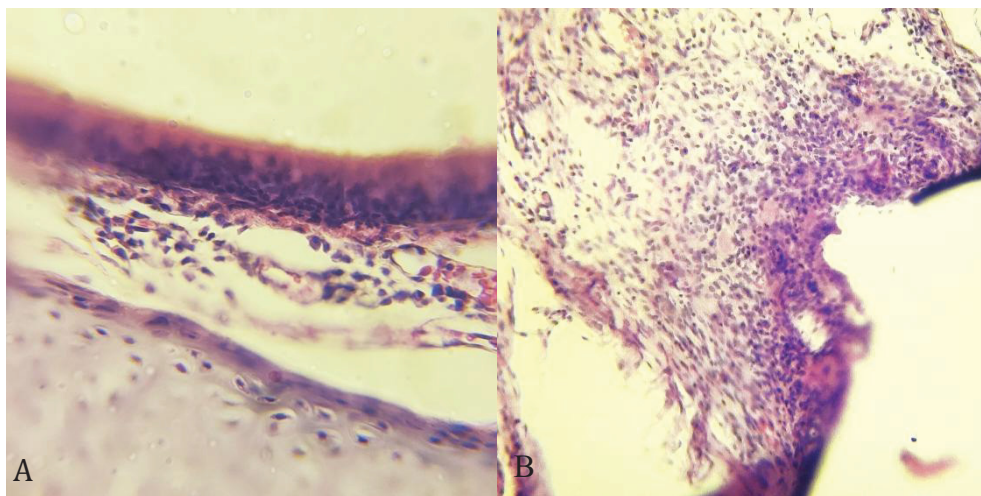
298 Fonte: o autor.

299

300 O infiltrado inflamatório presente foi variado, tanto no grupo controle quanto no grupo
301 tratamento, destacando-se as células polimorfonucleadas. Apenas quatro lâminas
302 analisadas apresentaram infiltrado de grau intenso (grau 3): uma do grupo C7 e uma do
303 grupo P21 (figura 9). Todas as outras lâminas analisadas apresentaram ausência de
304 infiltrado inflamatório, graus leves ou moderados (conforme tabelas 1 e 2).

305

306 Figura 9 - A - Lâmina histológica de tecido traqueal de espécime do grupo experimental
307 C7*. B - Lâmina histológica de tecido traqueal de espécime do grupo experimental P21**.
308 Coloração HE*. Palotina - 2021.



309

310 (A) Área focal de infiltrado inflamatório leve, grupo C7 (aumento de 100X). (B) área de
311 infiltrado inflamatório intenso, paciente P21(5). Aumento de 40X.

312 *C7: paciente do grupo controle acompanhado por 7 dias.

313 **Paciente acompanhado por 21 dias após implantação da prótese.

314 Fonte: o autor

315

316

317

318

DISCUSSÃO

319

320

321 A definição do modelo animal experimental levou em consideração as diretrizes do
322 Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA (BRASIL, 2013) e
323 os princípios éticos na experimentação animal postulados pelo Colégio Brasileiro de
324 Experimentação Animal - COBEA, (2013) que consideram o coelho um bom modelo
325 experimental por suas características de fácil manejo, ser uma espécie dócil, fáceis de se
326 obter e aceitar bem as condições de biotério. Nesse experimento optou-se pelo coelho
327 também por ser maior em tamanho que ratos cobaias ou da linhagem wistar, o que
328 facilita o procedimento cirúrgico (ANDRADE, PINTO, OLIVEIRA, 2002).

329

330 Segundo Flecknel (2009) os coelhos não fazem êmese e tem metabolismo acelerado a
331 ponto de não necessitar jejum prévio ao procedimento cirúrgico. Considerando essas
332 características da espécie os animais foram preparados para o procedimento logo após
333 receberem a medicação pré-anestésica evitando assim stresse e manipulação
334 desnecessários.

335

336 Quanto à deiscência de sutura do paciente do grupo P21 suspeita-se de tenha ocorrido
337 por infecção bacteriana em qualquer um dos momentos do experimento, Fossum et al
338 (2013) relata que essa é uma das principais causas de deiscência.

339

340 Foram observadas alterações leves a moderadas de congestão e edema tanto no grupo C
341 quanto no grupo P (tabela 1) sem diferença estatística entre os mesmos e, como as
342 alterações estão presentes em ambos os grupos experimentais podemos atribuir
343 possivelmente ao trauma da manipulação cirúrgica dos tecidos. Quanto à fibrose, mesmo
344 não apresentando diferença estatística, observou-se uma tendência maior de formação
345 de fibrose nos grupos que receberam a prótese. Resultado semelhante foi encontrado
346 por Silva (2017) em trabalho com próteses traqueais extraluminais de nitinol. Medeiros
347 & Dantas Filho (2016) atribuem as alterações de congestão e edema à vasodilatação e
348 aumento da permeabilidade vascular em resposta a injúria tecidual decorrente da
349 dissecação cirúrgica e manipulação tecidual. Embora a fibrose seja produto de uma
350 agressão ao tecido, ela pode se tornar uma vantagem no caso do colapso traqueal pois,
351 quanto mais robusto o tecido peritraqueal maior será a sustentação da forma de tubo da

352 traqueia, essa sustentação mecânica gerada pela fibrose pode auxiliar no alívio do grau
353 de colapso permitindo melhor passagem do ar durante os movimentos de inspiração e
354 expiração, no entanto devido ao tempo experimental total de 30 dias desse trabalho não
355 se pode verificar se a fibrose se perpetuaria a longo prazo.

356

357 Em dois pacientes que receberam a prótese foi observado degeneração da cartilagem do
358 anel traqueal no sítio de contato da prótese com a traqueia, um paciente do grupo P7
359 que apresentou substituição da cartilagem hialina por tecido com características de
360 cartilagem elástica e um paciente do grupo P30 que apresentou tecido com
361 características intermediárias entre a cartilagem hialina e tecido conjuntivo denso
362 (fibrocartilagem) onde ocorreu a compressão .

363

364 Montgomery (2015) em trabalho que comparou radiografia e tomografia
365 computadorizada para obtenção de diâmetro e comprimento de traqueias de cães
366 identificou diferenças nas medições, sendo que as imagens radiográficas subestimavam
367 tais medidas. Desse modo, suspeita-se que esse processo de degeneração observado seja
368 decorrente da compressão mecânica constante exercida pela prótese devido a
369 possibilidade do seu diâmetro ter sido subestimado, pois a definição das dimensões da
370 prótese foram baseadas em projeções radiográficas.

371

372 O estudo apresentou algumas limitações, sendo: o período máximo experimental de 30
373 dias, não possibilitando observar reações teciduais a longo prazo nos animais que
374 receberam prótese e; a condução do estudo com paciente normorreativos, condição que
375 pode afetar a maneira com que o organismo reage ao material do implante já que nos
376 pacientes desse estudo não se esperava haver qualquer desordem traqueal que possa
377 ser exacerbada ou suprimida pela presença da prótese.

378

379 Para trabalhos futuros sugere-se utilização de modelos experimentais livres de
380 patógenos específicos, com período experimental maior, estudo de pacientes
381 apresentando colapso traqueal de graus III ou IV e; utilização de métodos mais precisos
382 para definição das dimensões da prótese.

383

384

CONCLUSÕES

385
386
387
388
389
390
391
392
393
394
395
396
397
398
399
400
401
402
403
404
405
406
407
408
409
410
411
412
413
414
415
416

Com base nos resultados obtidos conclui-se que a prótese traqueal helicoidal extraluminal confeccionada em poliamida por meio da impressão em três dimensões nas características utilizadas nesse trabalho provoca leve a moderada reação tecidual sendo considerada biocompatível.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. **Animais de laboratório criação e experimentação**. Rio de Janeiro: Editora Fio Cruz, 2002. 388p.

AZEVEDO, L. G. C. et al. Órteses e próteses aplicadas à tecnologia 3D na saúde: uma revisão sistemática. In: **Tecnologia 3D na saúde: uma visão sobre órteses, próteses, tecnologias assistivas e modelagem 3D**. Natal: SEDIS-UFPR, 2018. 95 p.

BARROS, C. S. L. **Orientação para descrição de lâminas**. Adaptado de material apresentado no Descriptive Veterinary Pathology Course no Armed Forces Institute of Pathology (AFIP) por Bruce Williams, Doctor in Veterinary Medicine (DVM), DACVP (diplomado pelo Colégio Americano de Patologistas Veterinários/American College of Veterinary Pathologists – ACVP), no ano de 2001. Por sua vez, esse material foi modificado por Bruce Williams de um esboço elaborado em 1973 por Garret S. Dill, Jr, DVM, James B. Moe, DVM, PhD, e Ralph Blunte. Disponível em: <<http://abpv.vet.br/wp-content/uploads/2020/07/Orienta%C3%A7%C3%B5es-para-descri%C3%A7%C3%A3o-microsc%C3%B3pica.pdf>> Acesso em 21 jan, 2021.

BRASIL. Resolução Normativa nº 12, de 20 de setembro de 2013. Baixa a Diretriz Brasileira para Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e didáticos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ed. 186, p. 52, 25 set. 2013.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. **Guia Brasileiro de Boas Práticas para a Eutanásia em Animais**: conceitos e procedimentos recomendados. Disponível:

417 <<http://portal.cfmv.gov.br/uploads/files/Guia%20de%20Boas%20Pr%C3%A1ticas%20para%20Eutanasia.pdf>>. Acesso em: 10 nov. 2019.

419

420 CULP, W. T. N.; O'DONNELL, M. D. Upper airway disease: tracheal collapse. In: **Small Animal Surgical Emergencies**, Hoboken: Wiley Blackell, 2016. p. 289-296.

422

423 DEWEESE, M. D.; TOBIAS, K. M. Tracheal collapse in dogs. **Clinician's Brief**. Disponível em: <<https://www.cliniciansbrief.com/article/tracheal-collapse-dogs>> Acesso em: 28 abr. 2019.

426

427 FLECKNELL, P. A. Preparing for anesthesia. In: **Laboratory animal**. Oxford: Elsevier, 2009. p. 1-15.

429

430 FOSSUM, T. W. Cirurgia do sistema respiratório superior. In: FOSSUM, T.W. **Cirurgia de pequenos animais**. 4 ed. São Paulo: Roca, 2013. p. 937 – 943.

432

433 JOHNSON, L. R.; POLLARD, R. E. Tracheal collapse and bronchomalacia in dogs: 58 cases. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, n. 24, p. 298-30, 2010.

435

436 MEDEIROS, A. C.; FILHO, A. M. D. Cicatrização das feridas cirúrgicas. **Journal of Surgical and Clinical Research**. v. 7, n. 2, p. 87-102, 2016.

438

439 MICHELON, M. D. **Estudo para obtenção de fios de NiTi através de metalurgia do pó**. 2 ed. São Paulo: Editora Edgard Blucher Ltda, 2016. 90p.

441

442 MONTGOMERY, J. E. Comparison of Radiography and Computed Tomography for Determining Tracheal Diameter and Length in Dogs. **Veterinary Surgery**. V. 44. p. 114-118. 2015.

445

446 SILVA, S. J. Q. **Nova Prótese em Nitinol Extraluminal de Traqueia**. 2017. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes , 2017.

449

450 SUEMATSU, M. et al. Long-term outcomes of 54 dogs with tracheal collapse treated with
451 a continuous extraluminal tracheal prosthesis. **Veterinary Surgery**, n. 48, p. 825-834.
452 2019.
453
454 TAPPIN, S. W. Canine tracheal collapse. **Journal of Small Animal Practice**. n. 57, v. 1, p.
455 9-17, 2016.

ANEXO 1 – COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Ministério da Educação
 Universidade Federal do Paraná
 Setor Palotina
 Comissão de Ética no Uso de Animais



Certificado

Certificamos que o **Protocolo nº 28/2020** referente ao projeto de pesquisa **Biocompatibilidade de implante helicoidal extraluminal de poliamida modelado por impressora tridimensional em traqueia de coelho (*Oryctolagus cuniculus*)** sob responsabilidade do **Prof. Olicies da Cunha** está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor Palotina da UFPR (CEUA/Palotina) em **18/09/2020**.

O Docente responsável pelo envio do formulário deve estar ciente de que deve:

- informar qualquer intercorrência, efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo;
- informar sobre a necessidade de modificações ou emendas ao protocolo que foi descrito e aprovado, identificando a parte do protocolo a ser modificada e apresentando justificativas claras

Palotina, 18 de setembro de 2020

Certificate

*Certify that the **Protocol n. 28/2020** regarding the research project **Biocompatibility of polyamide extraluminal helicoidal implant modeled by a three-dimensional printer in rabbit's trachea (*Oryctolagus cuniculus*)** of **Olicies da Cunha** is according to the Ethical Principles of Animal Experimentation adopted by the National Council for Animal Experiments Control (CONCEA) and was **APPROVED** by the Ethics Committee on Animal Use of the UFPR – Setor Palotina (CEUA / Palotina) in **September 18, 2020**.*

Palotina, September 18, 2020.

Prof. Geraldo Camilo Alberton
 Coordenador/Coordinator
 CEUA/Palotina - UFPR