

IMPLANTE DE PERICARDIO DE EQUINO PRESERVADO EM GLICERINA EM SOLUÇÃO DE CONTINUIDADE DO DIAFRAGMA DE CÃO

JOSÉ JOAQUIM TITTON RANZANI
Professor Assistente Doutor
Faculdade de Medicina Veterinária
e Zootecnia da UNESP
Campus de Botucatu

WALDIR GANDOLFI
Professor Titular
Faculdade de Medicina Veterinária
e Zootecnia da UNESP
Campus de Botucatu

MARCELLO FRANCO
Professor Titular
Faculdade de Medicina da UNESP
Campus de Botucatu

GLADYS BASTOS DE CASTRO
Professor Assistente Doutor
Faculdade de Medicina Veterinária
e Zootecnia da UNESP
Campus de Botucatu

JOSÉ LUIZ DE MELLO NICOLETTI
Professor Assistente Doutor
Faculdade de Medicina Veterinária
e Zootecnia da UNESP
Campus de Botucatu

RANZANI, J.J.T.; GANDOLFI, W.; FRANCO, M.; CASTRO, G.B.; NICOLETTI, J.L.M. Implante de pericárdio de equino preservado em glicerina em solução de continuidade do diafragma de cão. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, 27(1):65-73, 1990.

RESUMO: O presente trabalho teve como objetivo o uso de pericárdio de equino conservado em glicerina na correção cirúrgica de lesões diafragmáticas em cães adultos, sem raça definida. O procedimento cirúrgico envolveu: laparotomia; excisão de fragmento de 4 x 4 cm da porção muscular do diafragma; substituição por implante de pericárdio através de sutura contínua, festonada, com categut cromado 3-0. Os cães apresentaram pós-operatório normal, sem restrição respiratória. Os animais foram sacrificados 7, 15, 30, 45 e 60 dias após o implante (5 animais/grupo), observando-se os achados macroscópicos "in situ" e estudando-se a histopatologia do enxerto e dos tecidos circundantes.

Macroscopicamente, o enxerto obliterou o orifício induzido, determinou aderência com o fígado e saco pericárdico e exibiu diminuição progressiva de tamanho, sem interferência na elasticidade do diafragma. A avaliação microscópica mostrou período inicial (dias 7 e 15) de reação inflamatória aguda, seguido de fenômenos de reparação com a formação de neomembrana fibrosa, obliterante da solução de continuidade.

UNITERMOS: Pericárdio, eqüinos; Diafragma, cães; Cirurgia, cães; Glicerina

INTRODUÇÃO

A hérnia diafragmática em pequenos animais é ocorrência comum, sendo na maioria das vezes de causa traumática⁸. Nos casos simples e recentes é corrigida cirurgicamente por aproximação e sutura das margens. Todavia, quando o processo é congênito ou antigo, a ruptura diafragmática é muito ampla ou há retração muscular e fibrose. O tratamento habitual pode ser inviável, havendo necessidade de procedimentos cirúrgicos alternativos. Dentre estes destacam-se aplicação de prótese^{15,7} e emprego de tecidos biológicos, como derme⁹, fígado¹¹, fascia¹⁴, músculo¹³, centro frênico⁵ e peritônio¹⁰.

O saco pericárdico conservado em glicerina é material biológico que tem sido utilizado com êxito em enxertos, apresentando, entre outras, as características de baixo custo e fácil obtenção, conservação e aplicação¹. Como não existem referências na literatura sobre seu emprego em cirurgias reparadoras de diafragma, o presente trabalho teve como objetivo estudar a aplicação de retalhos de saco pericárdico de equino conservado em glicerina na correção cirúrgica de lesões diafragmáticas experimentais de cães, simulando a situação clínica de hérnia diafragmática por perda tecidual.

MATERIAL E MÉTODO

Animais - Foram utilizados 25 cães adultos (14 machos e 11 fêmeas), sem raça definida, pesando entre 10 e 15 kg. Grupos de 5 animais, escolhidos ao acaso, foram sacrificados 7, 15, 30, 45 e 60 dias após o enxerto.

Colheita e conservação do pericárdio - Fragmentos do saco pericárdico foram colhidos de eqüinos sacrificados devido a fraturas irreparáveis. Após a colheita, foram

lavados em água, imersos em glicerina 98%^a e conservados à temperatura ambiente, por pelo menos 3 meses. Para estudo histológico, fragmentos de pericárdio com e sem conservação em glicerina foram fixados em solução tamponada de formalina a 10%, incluídos em parafina, seccionados e corados pela hematoxilina-eosina.

Seqüência do experimento - Os animais foram pré-anestesiados com 1,0 mg/kg de peso de clorpromazina^b por via endovenosa; após 15 min. foram anestesiados com 10 mg/kg de peso de tiopental sódico^c a 2,5% por via endovenosa, entubados e mantidos com halotano^d e oxigênio. Respiração controlada com respirador Takaoka^e foi instituída após apnéia induzida pela injeção endovenosa de 0,3 mg/kg de peso de cloreto de succinilcolina^f.

Através de laparotomia mediana pré-umbilical, excisou-se fragmento de 4 x 4 cm da porção esquerda do músculo diafragmático. Em seguida, o retalho de pericárdio foi reidratado em solução fisiológica a 0,9%^g, contendo 500 mg de ampicilina^h, durante 10 min. e implantado no orifício produzido no diafragma, por meio de sutura contínua, festonada, com categute cromado 3-0 agulhadoⁱ (Fig. 1). Imediatamente antes de cerrar-se a sutura, o aparelho respirador foi mantido em inspiração por segundos, para permitir o restabelecimento da pressão intratorácica. A laparotomia foi executada de modo convencional.

Após o ato operatório, os cães foram mantidos em recintos individuais, com água e ração "ad libitum", e observados diariamente quanto ao comportamento e frequências respiratória e cardíaca.

Quando do sacrifício, os animais foram necropsiados e o enxerto foi estudado "in situ" quanto ao seu tamanho, aspecto da sutura, relações com as vísceras vizinhas. Um segmento amplo do diafragma contendo o enxerto foi colhido de cada cão e fixado em solução tamponada de formalina a 10%. Após fixação, 4 fragmentos, interessando a transição entre o enxerto e o diafragma, obtidos na porção média de cada lado, foram incluídos em parafina e seccionados em 4 μ m pelas técnicas habituais. As secções foram coradas pela HE e tricrômico de Masson, para o estudo do

tecido fibroso de cicatrização.

A análise histológica envolveu o estudo do enxerto propriamente dito e das alterações inflamatórias e reparativas dos tecidos moles e vísceras contíguas.

RESULTADOS

Generalidades - A sutura do tipo festonado usada na fixação do enxerto no diafragma obliterou completamente o orifício produzido, conferindo boa resistência e elasticidade à região e mantendo a pressão intratorácica. Observou-se a deposição de coágulos sangüíneos sobre a linha de sutura.

O tempo cirúrgico médio desde a incisão da pele até a sutura foi de 75 min.

Todos os cães operados apresentaram boa evolução clínica. Um animal teve dispnéia por 24 h, mantendo posição sentada; a seguir, gradativamente readquiriu posicionamento e frequência respiratória normais.

Achados macroscópicos - Em todos os cães, desde o 7º até o 60º dia, observou-se que o enxerto ocluiu totalmente o orifício diafragmático. Exceto em um animal, o fígado esteve sempre aderido ao enxerto, por traves frouxas e fibrinosas no dia 7, e firmes e fibrosas a partir do dia 15. No lado torácico, o tecido gorduroso do pericárdio estava aderido ao implante. Nos animais sacrificados mais tardiamente (dias 30, 45 e 60), foi difícil reconhecer macroscopicamente os limites do implante. A fixação evidenciou melhor estes limites, já que o implante assumiu tonalidade mais esbranquiçada que o músculo circunvizinho. Desde a primeira semana, o tamanho do enxerto diminuiu progressivamente.

Achados microscópicos - O pericárdio conservado em glicerina apresentou arcabouço conjuntivo-fibrilar semelhante ao do pericárdio normal; chamou atenção a ausência de núcleos.

A reação inflamatória aos fios de sutura foi persistente durante todo o experimento, caracterizada por exsudação neutrofilica nas fases iniciais e por tecido de granulação, granulomas tipo corpo estranho e fibrose nas fases mais tardias.

As alterações histológicas observadas no enxerto e tecidos vizinhos foram representadas quantitativamente em escala de 0 a 4+, onde 0 = ausente, 1+ = alterações mínimas, 2+ = discretas, 3+ = moderadas e 4+ = intensas, e estão resumidas na Tab. 1.

No dia 7, o enxerto apresentou grau intenso de edema, hialinização e fragmentação das fibras colágenas, alterações no conjunto denominadas de degenerativo-necróticas (Fig. 2). Havia também focos de hemorragia intersticial em grau discreto. Junto à sutura e nas áreas de aderências do implante com o saco pericárdico, fígado ou epíploo, observou-se a presença

^a Glicerina - Conelgo Prod. Químicos - SP.

^b Clorpromazin - FARMASA, Lab. Americano de Farmacoterapia S/A - SP.

^c Thionembutal - Abbot Lab. do Brasil Ltda. - SP.

^d Halothane - Lab. Ayerst Ltda. - SP.

^e Respirador K. Takaoka Mod. 1502 - Série nº 1 - SP.

^f Quelicin - Abbot Lab. do Brasil Ltda. - SP.

^g J.P.Indústrias Farmacêuticas S/A - SP.

^h Ampicil - Lab. Lepetit do Brasil - SP.

ⁱ Categute Cromado - Brasmédica S/A - Ind. Farm. - SP.

de exsudato fibrino-leucocitário e de tecido de granulação jovem, que invadia parcialmente o implante. O músculo diafragmático contíguo apresentou áreas de necrose de coagulação.

No dia 15, houve importante redução do edema intersticial do implante, com diminuição de sua espessura (Fig. 3). Chamou atenção a infiltração parcial de suas estruturas por exsudato inflamatório e por tecido de granulação recente. O exsudato fibrinoso que revestia parcialmente as duas faces do implante foi em grande parte absorvido e substituído por tecido de granulação exuberante. Junto à sutura, observaram-se, ainda, restos necróticos do diafragma e do enxerto, circundados por intenso tecido de granulação e fibrose.

Nos dias 30 e 45, o enxerto estava substituído por tecido fibroso jovem, sendo difícil sua delimitação dos tecidos circunvizinhos. Em seu local havia membrana fibrosa neoformada, resultante da invasão do implante por tecido cicatricial e da organização do processo inflamatório periférico (Fig. 4).

No dia 60, a membrana fibrosa neoformada apresentou-se mais delgada e hialinizada, e menos edematosa. Os fenômenos inflamatórios foram mínimos (Fig. 5).

DISCUSSÃO

O presente estudo experimental utilizou pericárdio de equino conservado em glicerina para o fechamento de orifício amplo, produzido cirurgicamente em diafragma de cão. O delineamento do trabalho foi semelhante ao de BARROS et alii⁵, que todavia utilizaram centro frênico. Pericárdio de equino já tem sido utilizado em cirurgias reparadoras de lesões de diferentes natureza e extensão, tais como substituição de segmento de aorta abdominal², porção posterior de traquéia³, vesícula⁴ e colédoco¹. Estes trabalhos reportam que o pericárdio conservado em glicerina é pouco irritante e atua como excelente material de reconstituição de perdas teciduais significantes, sendo progressivamente vascularizado, epitelizado e integrado ao local de implante.

Conforme o preconizado por diferentes autores^{6,7,10}, utilizamos, no presente experimento, a via abdominal de acesso ao diafragma, que apresenta, entre outras, as vantagens de visualização ampla do diafragma, de melhor abordagem para a sutura e de pós-operatório com menores complicações tóraco-respiratórias. Como reportado por outros autores para roturas diafragmáticas unilaterais¹⁶, se o lado da lesão diafragmática for clínico-radiologicamente diagnosticado, a via de acesso poderá ser torácica.

O emprego de sutura contínua, festonada, com fio de catagute 3-0, para a fixação do implante no dia-

fragma, conferiu resistência e segurança à correção cirúrgica, com obliteração completa do orifício e manutenção da pressão intratorácica, o que permitiu recuperação clínica adequada dos animais. O fio absorvível utilizado, como previamente recomendado¹⁷, manteve sua força de tensão ao longo da cicatrização.

As extensas aderências do enxerto com o fígado, na superfície abdominal, e com o tecido fibro-gorduroso pericárdico, na superfície torácica, observadas desde a primeira semana, não determinaram alterações funcionais e confirmaram que estas estruturas desempenham papel tamponador e revitalizador em relação ao implante¹¹.

A diminuição progressiva do tamanho do enxerto ocorreu devido ao fenômeno de contração das feridas, à custa de tecido de granulação, que a partir da periferia invadiu o implante. A contração da lesão foi auxiliada pela complacência muscular diafragmática^{7,9}. É interessante ressaltar que o emprego de implantes de pericárdio em lesões diafragmáticas de filhotes de cães de grande porte, devido à resistência natural do material, que aumenta com a fibrose cicatricial, pode acarretar diminuição da distensibilidade do músculo quando os animais atingirem a idade adulta⁷.

A histopatologia dos enxertos mostrou alterações compatíveis às descritas por outros autores em modelos semelhantes^{2,3,4,1}. As fases iniciais (7 a 15 dias) apresentaram, como fenômenos mais importantes, alterações degenerativo-necróticas do implante, necrose de coagulação do músculo diafragmático vizinho, possivelmente em consequência da sutura, e inflamação intensa dos tecidos periféricos, com exsudação fibrinosa sobre o enxerto. Nas fases tardias (30, 45 e 60 dias), com o declínio do processo inflamatório, houve progressão da reparação cicatricial, que substituiu o enxerto, resultando na formação de neomembrana fibrosa. Assim, como já descrito por outros autores, o implante de pericárdio conservado em glicerina atua como ponte de ligação entre as partes descontínuas, possibilitando a restauração da ferida e o preenchimento da perda de tecido, sem intercorrências significativas.

Não foram estudados, no presente trabalho, parâmetros imunológicos que pudessem estar relacionados com a possível rejeição do enxerto empregado. Como já descrito, a conservação em glicerina mantém o arcabouço conjuntivo do pericárdio, preservando sua viabilidade, como documentado pela ausência de núcleos¹. Como já reportado por PIGOSSI¹², este processo de preservação diminui grandemente a antigenicidade do pericárdio, diminuindo ou mesmo prevenindo os fenômenos de rejeição. Mais ainda, os fragmentos implantados permaneceram íntegros durante o ato cirúrgico e não foram eliminados durante os primeiros sete dias, demonstrando a ausência de rejeição hiperaguda; a ausência de vasculite leucocitoclástica e linfomononuclear no enxerto e

tecidos circundantes argumentou contra a presença de rejeição do tipo humoral e celular, respectivamente.

A ausência de sinais e sintomas respiratórios nos cães operados e a rápida recuperação dos animais indicaram a adequação do método de enxertia utilizado no presente modelo. Temos já aplicado esta técnica para a correção cirúrgica de ruptura diafragmática ampla em cães atendidos no nosso Hospital Universitário, com pós-operatório sem complicações e pronta recuperação dos animais.

CONCLUSÕES

A substituição de segmento muscular de diafragma por pericárdio de eqüino conservado em glicerina, em lesões cirúrgicas experimentais de cães, não desencadeou manifestações clínicas nos animais operados e foi eficaz na obstrução do orifício induzido.

O procedimento cirúrgico é simples e rápido, utilizando material para implante de baixo custo, inerte, e de fácil obtenção e conservação. O fragmento implantado permite a neoformação de membrana fibrosa que oclui a solução de continuidade, não restringindo a função diafragmática.

AGRADECIMENTOS - Os autores agradecem ao Dr. Paulo Yamaguti por colaboração fotográfica.

RANZANI, J.J.T.; GANDOLFI, W.; FRANCO, M.; CASTRO, G.B.; NICOLETTI, J.L.M. Implant of equine pericardium in diaphragmatic lesions in dogs. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, 27(1):65-73, 1990.

SUMMARY: The objective of the present work was to use equine pericardium preserved in glycerin as an implant to correct diaphragmatic lesions in adult mongrel dogs. After laparotomy, a 4 x 4 cm fragment of the muscular coat of the diaphragm was resected; afterwards the lesion was occluded by an implant of pericardium through a festoned suture using chromic catgut 3-0. The dogs did well during the post-operative period, with no signs of respiratory restriction. The animals (5/group) were sacrificed 7, 15, 30, 45 and 60 days post-surgery. At the autopsy, the findings of the diaphragm and surrounding tissues were noted and fragments were taken for histopathology. Grossly the implant occluded completely the induced lesion, was adhered to the liver and pericardium and decreased in size without interfering with the diaphragm elasticity. At the histology, there was an initial phase (day 7 and 15) characterized by an acute inflammatory response followed by a reparative process ending up with the appearance of newly formed fibrous membrane which totally replaced the former muscular coat. The present procedure seems to be an adequate technique to repair diaphragmatic lesions in small animals. In addition, it employs a material which is non-expensive and easy to obtain, to keep and to apply.

UNITERMS: Pericardium of equine; Diaphragm of dogs; Surgery of dogs; Glycerin

TABELA 1 — Análise semiquantitativa em escala de 0-4+ das alterações histológicas do enxerto (E) e diafragma contíguo (D) em cães sacrificados aos 7, 15, 30, 45 e 60 dias pós-implante. Valores expressos como a mediana de 5 animais/grupo. Botucatu, 1989.

SACRIFÍCIO (DIAS)	ENXERTO DIAFRAGMA	DEGENERAÇÃO E NECROSE		EDEMA	HEMORRAGIA	EXSUDATO INFLAMATÓRIO	TECIDO DE GRANULAÇÃO				
		PMN	MONO				CELULAR	FIBRINOSO			
7	E	4+	4+	4+	2+	2+	0	0	4+	2+	1+
	D	4+	1+	1+	1+	1+	1+	0	0	2+	2+
15	E	4+	3+	3+	3+	2+	1+	0	0	2+	0
	D	0	1+	0	2+	2+	3+	3+	0	2+	3+
30	E	1+	0	0	0	0	3+	3+	0	3+	4+
	D	0	0	0	0	0	2+	2+	0	1+	3+
45	E	0	0	0	0	1+	2+	1+	0	2+	3+
	D	0	0	0	0	0	1+	1+	0	1+	3+
60	E	0	0	0	0	1+	1+	1+	0	1+	3+
	D	0	0	0	0	0	1+	1+	0	1+	3+

PMN = POLIMORFONUCLEARES; MONO = MONONUCLEARES; PLASM = PLASMÓCITOS

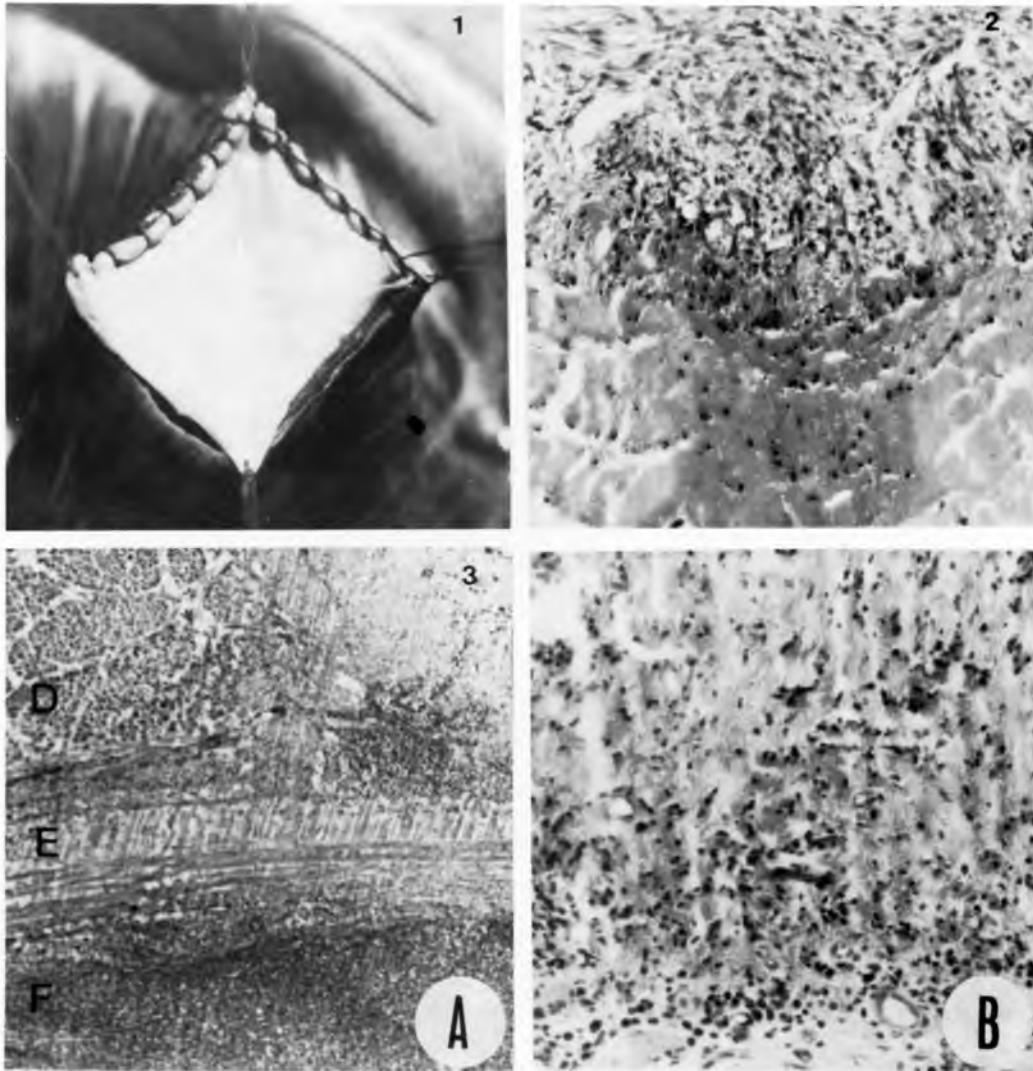


FIG. 1 - Fixação do retalho de pericárdio ao orifício diafragmático por meio de sutura contínua festonada.

FIG. 2 - Dia 7: Alterações degenerativo-necróticas do implante.

FIG. 3 - Dia 15: A. Redução do edema intersticial do enxerto (E); aderências com fígado (F) e diafragma (D) (HE; 40 x). B. Fragmentação das fibras do enxerto, com permeação de exsudato inflamatório (HE; 200 x).

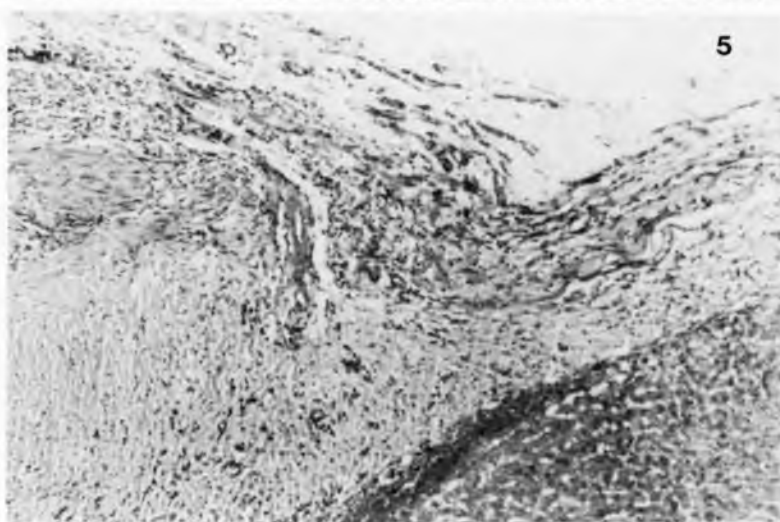
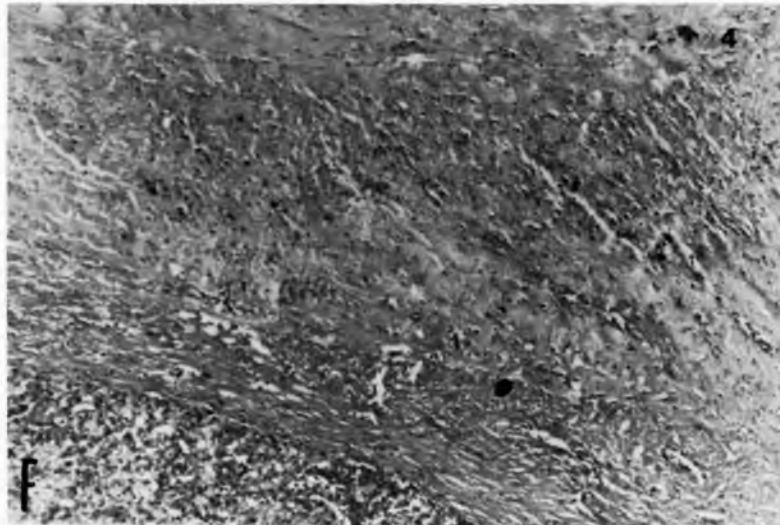


FIG. 4 - Dia 30: Enxerto envolvido por fibrose proveniente da cápsula do fígado (F) e dos tecidos circunvizinhos (HE; 78 x)

FIG. 5 - Dia 60: Implante substituído por neomenbrana fibrosa (HE: 70x)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01-ALVARENGA, J. *Substituição de segmento do colédoco de cão por preparado homólogo conservado em glicerina: estudo experimental.* São Paulo, 1977. /Tese de livre docência - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP/
- 02-ANDRETTO, R.; GONZALES, J.; ANTUNES, A.M.; BORELLI, V.; FERNANDES FILHO, A.; ARAUJO, M.S.; GUIDUGLI NETO, J. Reparo da aorta abdominal em cães com pericárdio conservado em glicerina. In: CONFERÊNCIA ANUAL DA SOCIEDADE PAULISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA, 30., São Paulo, 1975. *Resumos.*
- 03-ANDRETTO, R.; ORSO, J.M.; GUIDUGLI NETO, J.; DE VUONO, L.; ANTUNES, A.M.; BORELLI, V.; IWASAKI, M. Reparo da traquéia de cães com pericárdio eqüino conservado em glicerina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA, 2; JORNADA INTERNACIONAL DE PNEUMOLOGIA, 3., Salvador, 1976. *Resumos.*
- 04-ANDRETTO, R.; PRADA, I.L.S.; PEDUTI NETO, J.; GUIDUGLI NETO, J.; STACCHINI, A.; ANTUNES, A.M.; IWASAKI, M. Reparo das vias bilíferas de cães, com pericárdio conservado em glicerina. I. Vesícula biliar. In: CONFERÊNCIA ANUAL DA SOCIEDADE PAULISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA, 31., São Paulo, 1976. *Resumos.*
- 05-BARROS, P.S.M.; ALVARENGA, J.; STOPIGLIA, A.J.; GUERRA, J.L.; BORELLI, V. Reparação cirúrgica da "pars muscularis" do diafragma de cão por implante de centro frênico de eqüino conservado em glicerina. In: CONFERÊNCIA ANUAL DA SOCIEDADE PAULISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35., São Paulo, 1980. *Resumos.*
- 06-BRIGHT, R.M. & THACKER, H.L. The formation of an omental pedicle flap and its experimental use in the repair of a diaphragmatic rent in the dog. *J. Amer. Anim. Hosp. Ass.*, 18:283-289, 1982.
- 07-FAYOLLE, P. Cure chirurgicale d'une hernie diaphragmatique chez le chien par mise en place d'une prothèse synthétique. *Rev. Méd. vet.*, 133:179-181, 1982.
- 08-GARSON, H.L.; DODMAN, N.H.; BAKER, G.J. Diaphragmatic hernia. Analysis of fifty-six cases in dogs and cats. *J. small Anim. Pract.*, 21:469-481, 1980.
- 09-GEEVER, E.D. & MERENDINO, K.A. The repair of diaphragmatic defects with cutis grafts. *Surg. Gynec. Obstet.*, 95:308-316, 1952.
- 10-HELPHREY, M.L. Abdominal flap graft for repair of chronic diaphragmatic hernia in the dog. *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, 181:791-793, 1982.
- 11-NEVILLE, W.E. & CLOWES, G.H. Congenital absence of hemidiaphragm and use of a lobe of liver in its surgical correction. *Arch. Surg.*, 69:282-290, 1954.
- 12-PIGOSSI, N. *A glicerina na conservação de dura-mater, estudo experimental.* São Paulo, 1967. /Tese de livre docência - Faculdade de Medicina da USP/
- 13-ROSENKRANTZ, J.G. & COTTON, E.K. Replacement of left hemidiaphragm by a pedicled abdominal muscular flap. *J. thorac. cardiovasc. Surg.*, 48:912-920, 1964.
- 14-SCHAITRER, A.E. & KEELE, J.L. Experimental use of homologous fascia lata to repair diaphragmatic defects in dogs. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 105:565-568, 1957.
- 15-SHAFFER, J.D. Prothesis for agenesis of the diaphragm. *J. Amer. Med. Ass.*, 188:1000-1002, 1964.
- 16-WOUK, A.F.P.F. & PIPPI, N.L. Hérnia diafragmática em cães. *Rev. Cent. Ci. Rur.*, 10:251-260, 1980.
- 17-WOUK, A.F.P.F.; PIPPI, N.L.; SANTOS, M.N.; CAMPELLO, R.A.V.; FAN, L.C.R. Resposta do tecido diafragmático às suturas com seda e com catgut cromado em cães. *Rev. Cent. Ci. Rur.*, 10:219-223, 1980.

Recebido para publicação em 09/06/89

Aprovado para publicação em 14/11/89