

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE  
MESQUITA FILHO”**

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA ANIMAL  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**APLICAÇÃO DE DIFERENTES PINÇAS HEMOSTÁTICAS EM  
VEIAS DE EQUINOS: ESTUDO MORFOLÓGICO**

HERNANDO EMILIO GONZÁLEZ HORMIGA

BOTUCATU - SP

Outubro 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA ANIMAL  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**APLICAÇÃO DE DIFERENTES PINÇAS HEMOSTÁTICAS EM  
VEIAS DE EQUINOS: ESTUDO MORFOLÓGICO**

HERNANDO EMILIO GONZÁLEZ HORMIGA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Hussni

BOTUCATU – SP

Outubro 2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Gonzalez Hormiga, Hernando Emilio.

Aplicação de diferentes pinças hemostáticas em veias de equinos : estudo morfológico / Hernando Emilio Gonzalez Hormiga. - Botucatu, 2016

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Carlos Alberto Hussni

Capes: 50500007

1. Equino - Doenças. 2. Hemostasia. 3. Tromboflebite.  
4. Venossecção. 5. Morfometria. 6. Biotecnologia animal.

Palavras-chave: Flebectomia; Hemostasia; Histometria; Tromboflebite.

*Este trabalho está dedicado a minha família,  
Diana e o Camilo, pela força e sua presença  
sempre do meu lado, mesmo quando  
as coisas ficaram difíceis.*

**Nome do Autor: HERNANDO EMILIO GONZÁLEZ HORMIGA**

**Título: APLICAÇÃO DE DIFERENTES PINÇAS HEMOSTÁTICAS EM VEIAS DE EQUINOS: ESTUDO MORFOLÓGICO**

Dissertação apresentada junto ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia Animal.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Hussni

### **COMISSÃO EXAMINADORA**

Prof. Dr. Carlos Alberto Hussni

Presidente e Orientador

Departamento de Cirurgia E Anestesiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu

Prof. Dr. Marcos Jun Watanabe

Membro

Departamento de Cirurgia E Anestesiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cláudia Helena Pellizzon

Membro

Departamento de Morfologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu

Data da Defesa: 27 de Outubro de 2016

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Pinças aplicadas no estudo. P1- Diffenbach Bulldog; P2- De Bakey bulldog; P3- Rochester reta; P4- De Bakey com cremalheira.....	12
<b>Figura 2.</b> Sequencia de eventos do protocolo experimental: (MP) Momento pre-cirúrgico; (M0) Momento 0; (M1-M12) Momentos dos dias 1 até 12.....	13
<b>Figura 3.</b> Momento pre-cirurgico do exame ultrassonografico da região do radio.....	17
<b>Figura 4.</b> Espessura das túnicas do vaso dos segmentos sem pinçamento dos animais experimentais (A1, A2, A3, A4 e A5); ( $\mu$ m) micrômetros. ....	20
<b>Figura 5.</b> Média da espessura de cada uma das túnicas em micrômetros ( $\mu$ m) e do colágeno da túnica média calculado baseado na porcentagem da medida do Segmento Sem Pinçamento (SSP), Pinça Diffenbach (P1), Pinça De Bakey bulldog (P2), Pinça Rochester (P3), Pinça De Bakey Cremalheira (P4) média.....	23
<b>Figura 6.</b> Fotomicrografia do segmento sem pinçamento da veia cefálica do animal A5 do segmento sem pinçamento no aumento de 2X e na coloração de Tricrômio de Masson, (L) Luz do vaso, (TM) Túnica média, (TA) Túnica adventícia e (TPv) Tecido Perivascular.....	24
<b>Figura 7.</b> Fotomicrografia do segmento sem pinçamento da veia cefálica do animal A4 no aumento de 10X e na coloração de Hematoxilina Eosina. (L) Luz do vaso, (TM) Túnica média, (TA) Túnica adventícia .....	25
<b>Figura 8.</b> Fotomicrografia da veia cefálica do segmento sem pinçamento do animal A1 no aumento de 20X e na tinção de Hematoxilina Eosina, (L) Luz do vaso; (TM) Túnica média; (VV) Vasa Vasorum e (CML's) Células Musculares Lisas.....	26
<b>Figura 9.</b> Fotomicrografia da veia cefálica do segmento sem pinçamento do animal A5 no aumento de 20X e na tinção de Tricrômio de Masson: (L) Luz do vaso; (TM) Túnica média; (CML's) Células Musculares Lisas.....	26
<b>Figura 10.</b> Fotomicrografia da veia cefálica do segmento sem pinçamento do animal A4 no aumento de 40X e na coloração de Hematoxilina Eosina, (L) Luz do vaso; (TM) Túnica média; (E) Endotélio; (CML's) Células Musculares Lisas; (Nr) núcleos relaxados .....	27

- Figura 11.** Fotomicrografia da veia cefálica do segmento sem pinçamento do animal A1 no aumento de 40X e na coloração de TM: (L) Luz do vaso; (TM) Túnica média; (E) Endotélio; (Nc) núcleos contraídos .....28
- Figura 12.** Fotomicrografia do segmento sem pinçamento da veia cefálica do equino A... no aumento de 10X e na coloração HE. Grau 0 (Sem lesão), Não são observados danos nas túnicas íntima (TI), média (TM) ou adventícia (TA). Os *Vasa Vasorum* (VV) Indicados pelas setas e a Luz do vaso (L)..... 29
- Figura 13.** Fotomicrografia da veia cefálica do equino A3 quando aplicada a pinça P2 no aumento de 20X e na coloração HE. Grau 1 (Lesão leve), Dano leve no endotélio (DE), leve vacuolização (Vac), desarranjo das células musculares na túnica média (Des) e a Luz do vaso (L).....29
- Figura 14.** Fotomicrografia de veia cefálica do equino A1 quando aplicada com a pinça Pinça De Bakey Cremalheira (P4) no aumento de 40X e na coloração HE. Grau 2 (Lesão moderada), Vacuolização (Vac) moderada das células musculares na média, perda significativa de células endoteliais e a Luz do vaso (L) .....30
- Figura 15.** Fotomicrografia da veia cefálica do equino A2 quando aplicada a pinça Pinça De Bakey Cremalheira (P4) no aumento de 20X e na coloração HE Grau 3 (Lesão grave), Vacuolização marcada das células musculares na média, ruptura parcial e perda maior de células endoteliais e a Luz do vaso (L). ..... 30
- Figura 16.** Segmento da veia cefálica quando aplicada a pinça Diffenbach (P1) apresentando lesão leve: **(A)** aumento de 2X na coloração de HE do animal A4; **(B)** aumento de 20X na coloração de HE do animal A4; **(C)** aumento de 20X na coloração de HE do animal A1; **(D)** aumento de 2X na coloração de TM do animal A4; **(E)** aumento de 20X na coloração de HE do animal A2; **(F)** aumento de 20X na coloração de TM do animal A2.....32
- Figura 17.** Segmento da veia cefálica quando aplicada a pinça De Bakey Bulldeog (P2) apresentando lesão leve: **(A)** aumento de 2X na coloração de HE do animal A4; **(B)** aumento de 40X na coloração de HE do animal A3; **(C)** aumento de 20X na coloração de HE do animal A3; **(D)** aumento de 40X na coloração de TM do animal A4; **(E)** aumento de 40X na coloração de HE do

animal A5; **(F)** aumento de 20X na coloração de TM do animal A3.....33

**Figura 18.** Segmento da veia cefálica quando aplicada a pinça Rochester (P3) apresentando lesão grave: **(A)** aumento de 2X na coloração de HE do animal A3; **(B)** aumento de 40X na coloração de HE do animal A4; **(C)** aumento de 20X na coloração de HE do animal A1; **(D)** aumento de 40X na coloração de TM do animal A1; **(E)** aumento de 40X na coloração de HE do animal A3; **(F)** aumento de 40X na coloração de TM do animal A2.....34

**Figura 19.** Segmento da veia cefálica quando aplicada a pinça De Bakey cremalheira (P4) apresentando lesão leve: **(A)** aumento de 2X na coloração de HE do animal A5; **(B)** aumento de 40X na coloração de HE do animal A1; **(C)** aumento de 20X na coloração de HE do animal A1; **(D)** aumento de 40X na coloração de TM do animal A1; **(E)** aumento de 40X na coloração de HE do animal A5; **(F)** aumento de 20X na coloração de TM do animal A2.....35

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Avaliação local da sensibilidade dos animais depois da retirada da bandagem. Animais representados pelas letras e números A1, A2, A3, A4 e A5 e os graus de sensibilidade considerados foram: (-) não apresentou sensibilidade; (+) sensibilidade leve; (++) sensibilidade moderada e (+++) sensibilidade grave. .... 18
- Tabela 2.** Avaliação do edema dos animais. Animais representados pelas letras e números A1, A2, A3, A4 e A5 e os graus de edema considerados foram de 1 até 5, sendo 5 o maior grau; NA:os animais ainda estavam com a bandagem.18
- Tabela 3.** Espessura das tunicas do vaso dos segmentos sem pinçamento dos animais experimentais (A1, A2, A3, A4 e A5) expressado em micrometrs ( $\mu\text{m}$ ) e percentagem (%); ( $\bar{X}$ ) Média dos animais experimentais; ( $\pm$ ) Desvio Padrão. 20
- Tabela 4.** Média da espessura de cada uma das túnicas em ( $\mu\text{m}$ ) e do colágeno da túnica média calculado baseado na percentagem do Segmento Sem Pinçamento (SSP), Pinça Diffenbach (P1), Pinça De Bakey bulldog (P2), Pinça Rochester (P3), Pinça De Bakey Cremalheira (P4), a Média ( $\bar{X}$ ) e o Desvio Padrão ( $\pm$ ). .... 23
- Tabela 5.** Porcentagem de diminuição das túnicas e do colágeno produzido por cada uma das pinças: Pinça Diffenbach (P1), Pinça De Bakey bulldog (P2), Pinça Rochester (P3), Pinça De Bakey Cremalheira (P4), Média ( $\bar{X}$ ) e o Desvio Padrão ( $\pm$ ). .... 23
- Tabela 6.** Resultados da avaliação morfológica das lâminas pela escala de Margovsky et al. (1997), escores alcançados pelas pinças: (P1) Pinça Diffenbach; (P2) Pinça De Bakey bulldo; (P3) Pinça Rochester; (P4) Pinça De Bakey Cremalheira em cada veia cefálica dos animais experimentais (A1, A2, A3, A4 E A5); ( $\bar{X}$ ) a média. .... 31

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

**±:** Desvio Padrão

**µm:** Micrometros

**A1:** Animal 1

**A2:** Animal 2

**A3:** Animal 3

**A4:** Animal 4

**A5:** Animal 5

**ALFAC:** Solução fixadora (álcool, formol e ácido acético).

**CEAU:** Comissão de Ética no Uso de Animais

**cm:** Centímetro

**CML:** Célula Muscular Lisa

**CML's:** Células Musculares Lisas

**DE:** Dano Endotelial

**Des:** Desarranjo

**E:** Endotélio

**FC:** Frequência cardíaca – **bpm:** batimentos por minuto;

**FR:** Frequência respiratória – **mpm:** movimentos por minuto;

**HE;** Hematoxilina Eosina

**IM:** Intramuscular

**Kg:** Quilograma

**L:** Luz do vaso

**M0:** Momento 0

**M1:** Momento 1

**M2:** Momento 2

**M3:** Momento 3

**M4:** Momento 4

**M5:** Momento 5

**M6:** Momento 6

**M7:** Momento 7

**M8:** Momento 8

**M9:** Momento 9

**M10:** Momento 10

**M11:** Momento 11

**M12:** Momento 12

**mg:** miligramas

**MHz:** Mega-hertz

**mm:** Membranas mucosas

**MP:** Momento pre-cirúrgico

**NA:** Não avaliado

**Nc:** Núcleos Contraídos

**Nr:** Núcleos relaxados

**P1:** Pinça Diffenbach

**P2:** Pinça De Bakey bulldog

**P3:** Pinça Rochester

**P4:** Pinça De Bakey Cremalheira

**SSP:** Segmento Sem Pinçamento

**T°:** Temperatura corporal – **°C:** Graus Celsius;

**TA:** Túnica Adventícia

**TI:** Túnica Intima

**TM:** Túnica Media

**TPC:** Tempo de preenchimento capilar – **s:** segundos;

**TPv:** Tecido perivascular

**UI:** Unidades Internacionais

**Vac:** Vacuolização

**VV:** Vasa Vasorum

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO .....	1
ABSTRACT .....	2
1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS.....	10
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	11
3.1 Pinças aplicadas no estudo . .....	11
3.2 Procedimentos pré-cirúrgicos .....	12
3.3 Procedimentos cirúrgicos e das avaliações. ....	13
3.4 Avaliações morfológicas e morfométricas das amostras .....	15
4. RESULTADOS.....	17
4.1 Exame físico pré-operatório e avaliação ultrassonográfica.....	17
4.2 Avaliação clínica dos animais do experimento .....	18
4.3 Avaliação morfométrica das lâminas .....	19
Segmentos sem pinçamento .....	19
Pinçamentos.....	21
4.4 Avaliação morfológica das lâminas.....	24
Segmentos sem pinçamento .....	24
Pinçamentos .....	28
5. DISCUSSÃO .....	36
6. CONCLUSÕES .....	41
7. REFERÊNCIAS.....	42
8. ARTIGO CIENTÍFICO .....	49
ANEXOS .....	63

## Resumo

GONZÁLEZ, H. H. **Aplicação de diferentes pinças hemostáticas em veias de equinos: estudo morfológico**. Botucatu, 2016. 70 p. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista – UNESP “Julio de Mesquita Filho”.

Foi realizada a avaliação morfológica e morfométrica da veia cefálica submetida à pinçamento de cinco equinos hípidos. Foram testadas as pinças hemostáticas: Diffenbach bulldog, De Bakey bulldog, Rochester reta e De Bakey com cremalheira. Após 15 minutos da aplicação das referidas pinças, foi realizada a flebectomia parcial e coletadas as amostras referentes a cada segmento do vaso pinçado e do segmento controle sem pinçamento. Das peças procedeu-se as preparações histológicas dos segmentos da veia nas colorações de Hematoxilina-Eosina e Tricrômio de Masson, os cortes histológicos foram avaliados por microscopia óptica. Foi realizada análise morfológica das veias, de forma qualitativa, utilizando para isto uma escala de avaliação de lesões vasculares após pinçamento; a avaliação morfométrica, quantificando em micrometros o achatamento produzido pelas pinças nas diferentes camadas vasculares. Em ambos os estudos, morfológico e morfométrico, as pinças com serrilhamento transversal e fechamento tipo cremalheira causaram as maiores alterações, observou se marcada vacuolização das células musculares e desarranjo na túnica media com perda marcada das células endoteliais da túnica intima do vaso estudado.

**Palavras-chaves:** Histometria, flebotomia, tromboflebite, hemostasia.

## Abstract

GONZÁLEZ, H. H. **Application of different hemostatic clamps in horse's veins: a morphological study.** Botucatu, 2016. 70 p. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista – UNESP “Julio de Mesquita Filho”.

Morphometric and morphologic evaluation of the cephalic vein of five healthy horses submitted to clamping was done. Hemostatic clamps tested were Dieffenbach bulldog, De Bakey bulldog, Rochester straight and De Bakey with ratchets. 15 minutes after mentioned clamps were applied partial phlebotomy was performed and histologic sections of the veins were prepared and stained with Hematoxylin-Eosin and Masson Trichrome, after the stained preparations were evaluated by light microscopy. A qualitative morphological analysis of the veins was performed using a rating scale of vascular lesions after clamping; the morphometric evaluation consisted in quantifying in micrometers the flattening produced by the hemostatic clamps in the different vascular beds. In both studies, morphologic and morphometric, hemostats with transverse serration and ratcheted mechanism caused major changes, pronounced vacuolization of the muscle cells, derangement of the medium tunic and marked loss of endothelial cells of the intima tunic was observed in the vessel studied.

Key words: Histometry, phlebotomy, thrombophlebitis, hemostasis.

# 1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

Nos equinos, a veia cefálica está localizada na face medial da região do rádio (SCHALLER, 2007), paralela à diáfise deste (BUDRAS et al., 2003). Como noutras espécies, este vaso é uma alternativa para coleta de amostras sanguíneas, hidratação e administração de medicamentos, mas apresenta uma taxa de até 85% de chance de desenvolvimento de tromboflebite (KLOHNEN, 2009). No equino, a veia cefálica tem sido utilizada mais comumente no procedimento de perfusão regional, para o tratamento de infecções regionais (PALMER; HOGAN, 1999).

No aspecto estrutural, as veias tem forma tubular, com parede flexível composta por três túnicas sendo a camada interna, denominada túnica íntima, seguida pela túnica média; e, finalmente, a mais externa, a adventícia (MAFFEI et al., 2008).

A túnica íntima apresenta um revestimento celular endotelial seguido da sua membrana basal e tecido conjuntivo. A camada média ou musculoelástica se caracteriza pela presença de células musculares lisas (CML) e matriz extracelular. Por fim, a camada adventícia, mais externa, onde se encontram os fibroblastos, pericitos, além de tecido adiposo, conjuntivo frouxo e vasos linfáticos, nos vasos de maior calibre, vasos arteriais e venosos chamados os *Vasa Vasorum* (PEARSON, 1999).

O endotélio como um todo, pode ser considerado um órgão endócrino com capacidade de resposta a diferentes tipos de estímulos (humorais, neurais e físicos), desempenhando um papel fundamental na regulação da circulação (VAN HINSBERGH, 2001). A principal função do endotélio vascular é a manutenção de uma barreira eficaz para líquidos, proteínas e células, enquanto, concomitantemente, permite a transferência eficiente de gases e o transporte de solutos, bem como o trânsito de células inflamatórias (MEHTA et al., 2014).

A túnica média apresenta células musculares lisas dispostas em espiral por entre as fibras de colágeno, estas células são responsáveis pela produção de elastina, substância fundamental e colágeno extracelular dos tipos I e III (ROSS; PAWLINA, 2012). Os colágenos e elastina são as principais proteínas

constituintes dos vasos. As propriedades biomecânicas dos vasos, em particular das principais artérias (p. ex. aorta, mesentérica cranial e caudal) e veias (p. ex. jugular, cava cranial e caudal), são em grande parte dependente das quantidades absolutas e relativas destes dois constituintes (JACOB, 2003). De maneira geral a túnica média é mais espessa nas artérias que nas veias e ausente nos capilares e linfáticos, embora nos linfáticos maiores possam apresentar-se como uma fina camada (MAFFEI et al., 2008).

A células musculares lisas são fusiformes com o núcleo alongado, dispostas em espiral. Nos cortes transversais dos vasos e artérias elas aparecem em uma disposição circular (ROSS; PAWLINA, 2012), são o único tipo celular presente na túnica média. Assim como toda fibra muscular, conta com feixes de actina e miosina e, por tanto se contrai (MAFFEI et al., 2008). Em animais adultos, torna-se uma célula altamente especializada, cuja função principal é a regulação do tônus, diâmetro, pressão arterial e distribuição do fluxo de sangue (OWENS et al., 2004).

A adventícia dos grandes vasos é constituída de matriz extracelular rica em fibras de colágeno e fibras elásticas que formam uma rede frouxa menos organizada do que aquela encontrada na túnica média. As células do estroma são fibroblastos e macrófagos. Na túnica adventícia localizam-se os *vasa vasorum* e os *nervi vasculares*. Pericitos também conhecidos como células murais vasculares na periferia das células endoteliais em micro-vasos, incluindo arteríolas pré-capilares, capilares, e vênulas pós-capilares (ROSS; PAWLINA, 2012; KABARA et al., 2014).

A cirurgia vascular teve um grande avanço após a segunda Guerra Mundial, semelhante ao ocorrido em outras especialidades clínicas. Após esse período, ocorreu grande desenvolvimento de técnicas como utilização de anticoagulantes, análises por imagens como ultrassonografias e angiografias e o desenvolvimento de próteses (BRITO et al., 2008).

À semelhança do que acontece na medicina humana, na medicina veterinária as doenças vasculares são relevantes, destacando-se a trombose da veia jugular ou tromboflebite, provavelmente a alteração vascular mais comum encontrada na prática clínica em equinos (REED et al., 2009). Um a cada três equinos hospitalizados com cateter intravenoso para hidratação, coleta de amostras ou administração de medicamentos por 24 horas ou mais,

apresentam alterações compatíveis com trombose ou tromboflebite (TRAUB-DARGATZ; DAGARTZ, 1994; GERAGHTY et al., 2009). Sete de 38 animais com cateter central desenvolveram tromboflebite após anestesia em cirurgia de cólica (LANKVELD et al., 2001); 8 de 53 potros com alimentação parenteral tiveram a complicação (MYERS et al., 2009). Em equinos com cólica e submetidos a laparotomia, a tromboflebite foi a quinta complicação mais comum em curto prazo (MAIR; SMITH, 2005).

De acordo com os fatores descritos por Wirshow: as alterações na parede vascular, alterações no fluxo sanguíneo e alterações nos componentes sanguíneos, originam trombooses nos vasos. Em equinos, a veia jugular é comumente acometida por tromboflebite devido à facilidade de acesso a este vaso nas medicações parenterais intensivas, sendo a primeira escolha para punções e aplicações de medicamentos pela via intravenosa (BORGHESAN et al., 2012), as veias cefálica e epigástrica cranial superficial podem ser utilizadas, embora a taxa de ocorrência da tromboflebite seja mais alta (KLOHNEN, 2009).

A tromboflebite aguda apresenta aumento da sensibilidade à palpação da região, e temperatura local, além do desenvolvimento de edema local (MYERS et al., 2009). Outros sinais clínicos como depressão, anorexia, hipertermia e endotoxemia podem estar associados à enfermidade primária ou ao efeito da comorbilidade patogênica (TRAUB-DARGATZ; DAGARTZ, 1994; MAIR; SMITH, 2005; GERAGHTY et al., 2009).

A confirmação da tromboflebite pode ser realizada por avaliação ultrassonográfica, onde se observa presença intraluminal do trombo, de ecogenicidade homogênea ou heterogênea com espaços hipocóicos e irregulares intraluminal, além da resistência à compressão são achados comuns em vasos acometidos (GERAGHTY et al., 2009).

O tratamento cirúrgico das vasculopatias oclusivas varia desde a ressecção até a trombectomia, incluindo-se ainda os enxertos e próteses de diferentes origens como os biológicos e o Dacron® (CANNON et al., 1983; RIJKENHUIZEN; SWIETEN, 1998; DORNBUSCH, 2002; REED et al., 2009; RUSSELL et al., 2010 ).

Na aplicação das técnicas em cirurgia vascular, o uso de pinças de diferentes formas e funções foram desenvolvidas e são aplicadas para a

realização de hemostasia transitória e tem por objetivo a eficiência nesta fase da técnica cirúrgica com foco na menor decorrência lesiva ao vaso pinçado. (MARGOVSKY et al., 1999; DARCIN et al., 2004)

O instrumental cirúrgico utilizado nos procedimentos médicos em humanos também é utilizado por médicos veterinários. A limitação no uso destes materiais é margeada por determinações de ordem econômica, experiência de uso, considerações intrínsecas as variáveis da espécie e de preferência pessoal. Os custos envolvidos na compra de instrumentos são substanciais e exigem uma compreensão clara dos procedimentos fabricação, manutenção e aplicações potenciais durante a cirurgia (AUER; STICK, 2012).

A evolução das pinças hemostáticas aconteceu em três etapas: desenvolvimento de pinças para ligadura e hemostasia direta antes do século XX, onde o propósito era controlar a hemorragia; no início do século XX, o desenvolvimento das pinças atraumáticas e a oclusão temporária do fluxo sanguíneo facilitaram a reconstrução vascular e anastomose; e, finalmente, a construção de pinças tangenciais as quais permitem a continuidade do fluxo sanguíneo e faz possível a reconstrução de vasos de grande porte (SACHS et al., 1998).

O material e o formato das pinças são fatores importantes do instrumental para a realização da oclusão temporária de um vaso (ZHANG et al., 2013). Parte do instrumental básico para cirurgia vascular inclui pinças com extremidades em diferentes ângulos e superfície, de pressão única como as Bulldog (fechamento autoestático) ou controláveis com cremalheira, além de tesouras e porta-agulhas (MAFFEI et al., 2008).

Dentre as pinças vasculares, as mais usadas são as de modelo Rochester, Gregor, De Bakey e Diffenbach, sendo as duas últimas em cremalheira e Bulldog. O desenho das pinças com serrilhado em linha alternado permite a oclusão do vaso e impede seu deslizamento, reduzindo ao mesmo tempo os danos às estruturas que compõem a parede vascular (MAFFEI et al., 2008).

A aplicação das pinças hemostáticas varia conforme o calibre dos vasos sendo indicado para os de médio e grande calibre o modelo De Bakey com cremalheira, cujos ramos podem ter angulações diferentes (30, 45 e 90 graus). As pinças “Bulldog”, De Bakey, Gregor e Diffenbach são utilizadas para

realização da hemostasia em os vasos que apresentam o diâmetro menor (BRITO et al., 2008).

Uma cirurgia vascular precisa da aplicação de pinças hemostáticas o que invariavelmente resulta em trauma vascular (AUKLAND; HURLOW, 1981; JACKIEWICZ et al., 1996), um campo cirúrgico sem sangue, manuseio suave e cuidadoso são quesitos necessário para realização de uma reparação vascular (MANSHIP et al., 1985), além de prevenir a formação da trombose, evitando assim trauma nas estruturas dos vasos sanguíneos. (DUJOVNY et al., 1979; GERSAK et al., 1996). Quanto menor o tempo de aplicação das pinças para fazer a oclusão dos vasos, menor é o trauma produzido ao endotélio (KUO et al., 1993).

A oclusão do fluxo numa anastomose arterial é feita num período médio de 15 minutos (MINDERJAHN; DAHM, 1979), mas quando é feita uma cirurgia cardíaca, dificilmente a oclusão da aorta ascendente é menor de 30 minutos (BABIN-EBELL et al., 2010).

A força necessária para conseguir a oclusão segura e eficiente dos vasos é chamada mínima força de oclusão vascular, as variáveis que determinam esta força são: diâmetro do vaso, pressão sanguínea, área de contato e elasticidade do vaso (DUJOVNY et al., 1979). A força de aplicação das pinças tem correlação positiva com a extensão da lesão da parede arterial (MARGOVSKY et al., 1999).

Em pequenas artérias, já foi descrito que o pinçamento resulta em desnudação celular do endotélio e dano as células musculares lisas subjacentes da túnica média (MOORE et al., 1985). O dano causado às células endoteliais pode predispor a ocorrência de aterosclerose e hiperplasia da íntima, levando secundariamente a rotura ou oclusão do lúmen vascular em longo prazo (JACKIEWICZ et al., 1996).

Em coelhos, na artéria auricular e aorta abdominal pinçadas por uma hora e avaliadas por microscopia eletrônica, onde foi demonstrado o dano gerado na íntima de todos os segmentos submetidos aos pinçamentos (SLAYBACK et al., 1976), Lee et al. (2008) realizaram testes com pinças laparoscópicas, tipo Bulldog e pinças com fechamento de cremalheira e, concluíram que todas as pinças geram trauma vascular independente do tipo

de fechamento, formato dos ramos, serrilhamento, tempo de uso e incluso da região dos ramos onde foi realizado o pinçamento (proximal, médio ou distal).

O pinçamento temporário leva a lesão da parede vascular e a potenciais complicações no período transoperatório (ZHANG et al., 2013), a microscopia eletrônica de carótidas comuns de ratos submetidos à anastomose revelou maiores danos vasculares nos locais da aplicação das pinças temporária do que na linha de sutura (MINDERJAHN; DAHM, 1979).

Em artéria femoral e carótida de cães saudáveis, mesmo que as alterações morfológicas após pinçamento ainda persistiam seis meses depois, não houve alterações de tipo funcional (DORIN et al., 1992), porém, quando são pacientes acometidos com aterosclerose, os vasos estudados após o pinçamento apresentaram alterações morfológicas e funcionais (MANSHIP et al., 1985).

Do trauma vascular, a proliferação do endotélio pode acontecer de 7 a 14 dias, dois dias após o trauma é possível observar migração de células endoteliais orientadas na direção do fluxo e a reparação completa foi observada aos 21 dias (JACKIEWICZ et al., 1996). A exposição dos tecidos subendoteliais e consequente agregação plaquetária retarda o processo de reparação (MINDERJAHN; DAHM, 1979). A agregação plaquetária no local da aplicação das pinças não é diferente da agregação na superfície não pinçada quando a lesão é leve, porém este fenômeno torna evidente quando o trauma ao vaso é moderado ou grave (MARGOVSKY et al., 1997).

A microscopia ótica é uma ferramenta prática que permite avaliar os diferentes graus de lesões que acontecem na parede vascular após pinçamentos. Margovsky et al. (1997) apresentaram escalas de 0 a 3, sendo 0 sem lesão e 3 lesão grave (OZALP et al., 2009). Na microscopia eletrônica escalas de 0 a 4 podem ser empregadas para fazer a descrição das alterações do endotélio quando feita a oclusão temporária do fluxo sanguíneo (MOORE et al., 1988).

O endotélio vascular é metabolicamente ativo e capaz de responder às mudanças no ambiente, incluindo a hipóxia, a tensão de corte, pH e trauma (AUER; STICK, 2012). É claro que o cirurgião tem que conhecer o impacto dos instrumentos na manipulação dos vasos e ao mesmo tempo a multiplicidade de funções que derivam dos componentes da parede vascular.

Artérias carótida e femoral de ovelhas (MARGOVSKY et al., 1997; MARGOVSKY et al., 1999), artéria subclávia e carótida de porcos (BABIN-EDELL et al., 2010; ZHANG., 2013), artéria carótida e aorta de ratos (MINDERJAHN; DAHM, 1979; GERSAK et al., 1996; JACKIEWICZ et al., 1996), artérias femoral, carótida e aorto-iliaca de cães (MANSHIP et al., 1985; MOORE et al., 1985; PABST et al., 1989; DOBRIN et al., 1992; DARCIIN et al., 2004), artéria aorta abdominal e auricular de coelhos (SLAYBACK et al., 1976; OZALP et al., 2009), tem sido testadas com diferentes pinças, porém não existem trabalhos avaliando as alterações produzidas pelos pinçamentos em veias de equinos.

## **2. OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA**

O objetivo deste trabalho foi estudar as alterações morfológicas e morfométricas produzidas por diferentes pinças hemostáticas quando aplicadas na veia cefálica de equinos, com análise de cada túnica venosa, com relação ao tipo de pinça e suas características.

Justifica-se pelo uso de pinças hemostáticas em cirurgia vascular como necessário e parte das fases fundamentais das cirurgias vasculares, pinças estas por vezes consideradas não lesivas aos vasos, embora o uso destes instrumentos possam causar lesões vasculares de intensidade variável e predispor aquele vaso pinçado a alterações decorrentes. A possibilidade de identificar alterações morfológicas na veia cefálica de equinos após aplicação de pinças hemostáticas permite avaliar a aplicabilidade clínica cirúrgica das pinças em procedimentos vasculares, com estimativa das possíveis lesões decorrentes desta prática.

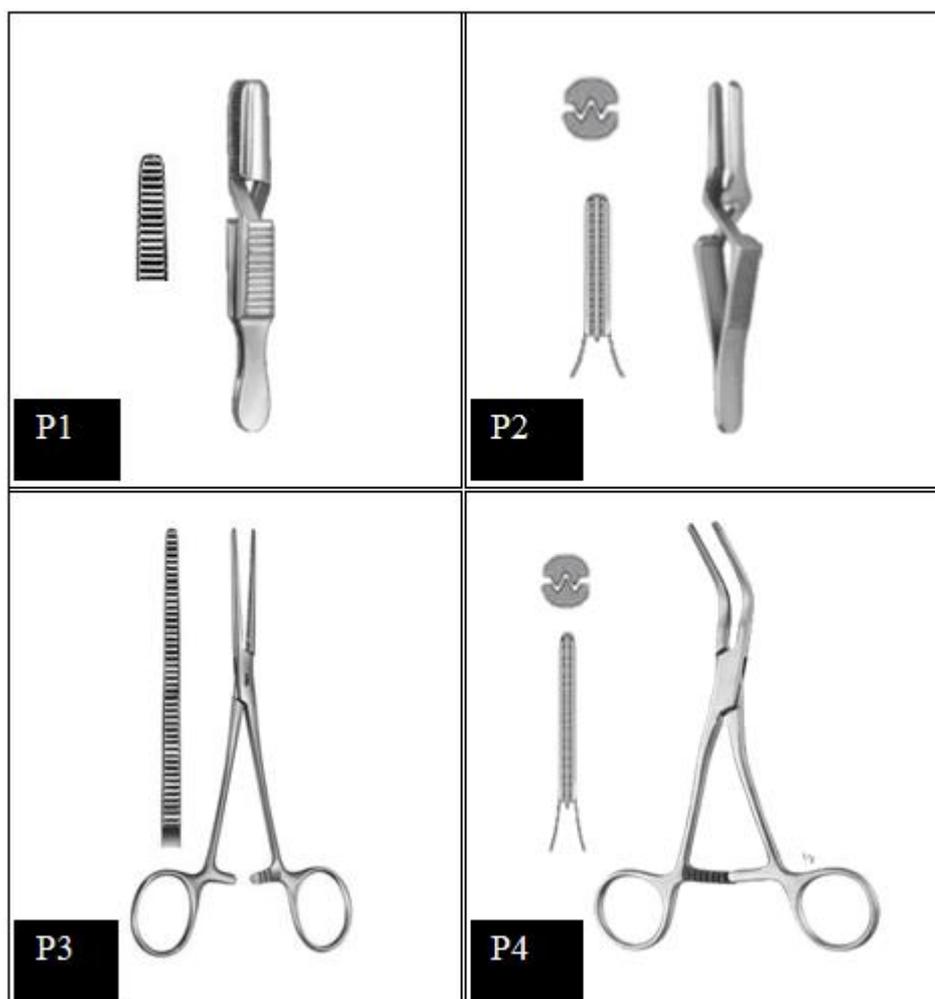
### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

Os procedimentos desse projeto foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista – UNESP- Botucatu/SP, Protocolo N° 17/2014-CEUA. Foram utilizados 5 equinos hípidos, fêmeas, com idade média de sete anos, com 350 Kg de massa corporal média.

Os animais foram mantidos em baias e alimentados com feno e água a vontade no período experimental e liberados em piquetes após finalização do experimento, onde foram observados até seis meses depois.

#### **3.1 Pinças aplicadas no estudo.**

Foram utilizadas quatro tipos de pinças hemostáticas que apresentam variações no tipo de fechamento e/ou no serrilhamento dos seus ramos como observado na Figura 1, sendo três de uso em cirurgia vascular e uma de uso em cirurgia geral: Diffenbach Bulldog (pinça autoestática e serrilhamento transversal), De Bakey bulldog (pinça autoestática e serrilhamento longitudinal), e De Bakey com cremalheira (pinça de fechamento com cremalheira e serrilhamento longitudinal) Rochester reta (pinça de fechamento com cremalheira e serrilhamento transversal empregada em cirurgia geral) .



**FIGURA 1.** Pinças empregadas no estudo. P1- Diffenbach Bulldog; P2- De Bakey bulldog; P3- Rochester reta; P4- De Bakey com cremalheira. Adaptado de <http://www.surgical-instruments.info/en/index.html>

### 3.2 Procedimentos pré-cirúrgicos

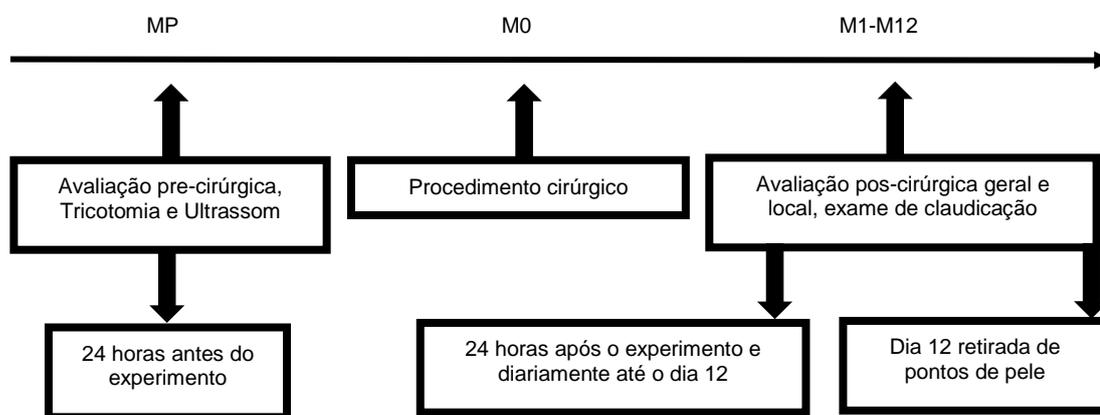
Os animais foram examinados 24 horas antes do procedimento cirúrgico, por exames clínicos gerais de cada animal onde foram considerados os parâmetros físicos básicos, estes a frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura corporal, coloração das mucosas, tempo de preenchimento capilar, auscultação torácica e abdominal e aspectos da locomoção (FEITOSA, 2014; ROSS; DYSON, 2003), exames estes confirmativos da higidez dos animais.

Cada equino, contido em tronco foi submetido a tricotomia e antissepsia com álcool iodado 5% da face medial da região radial direito e observada a perviedade da vasculatura venosa daquela região por

garroteamentos proximal, ingurgitamento dos vasos e diferenciação destes. Seguiu-se o exame ultrassonográfico<sup>1</sup> em modo B feitas seguindo tanto o plano longitudinal como transversal do membro, empregado equipamento de ultrassom com transdutor linear e frequência entre 14 e 16 MHz e ganho acima de 60%. Observou-se a perviedade do vaso com presença de fluxo, ingurgitamento por pressão digital proximal ao retorno sanguíneo, redução da distensão do vaso à pressão com o transdutor em cortes longitudinais e transversais. Este foi considerado o primeiro momento, prévio à intervenção com pinçamento do vaso.

### 3.3 Procedimentos cirúrgicos e das avaliações

Os procedimentos seguiram os momentos prévio ao procedimento cirúrgico – MP, momento da realização da cirurgia com os pinçamentos da veia cefálica – M0, período de observação e exames do dia primeiro após a cirurgia que compreendeu 24 horas após a cirurgia M1 até o M12 que se referiu ao 12<sup>o</sup> dia após a cirurgia (M1 a M12) e neste último momento M12 a remoção dos pontos de pele.



**FIGURA 2.** Sequência de eventos do protocolo experimental. (MP) Momento pre-cirúrgico; (M0) Momento 0; (M1-M12) Momentos do dia 1 até 12.

O procedimento cirúrgico com a colocação das pinças hemostáticas na veia cefálica de cada animal se deu após jejum de 12 horas, com os animais mantidos em tronco e tranquilizados com 1 mg/kg de xilazina 10%<sup>2</sup>, por via

<sup>1</sup> Ultrassom MyLab 70Vet XV- ESAOTE ® EsaoteS.p.A. InternationalActivities, Italy.

<sup>2</sup> Sedomin 10% cloridrato de xilazina. Fco x 20 ml König

intravenosa. Em seguida, realizou-se o bloqueio anestésico regional 5 ml de cloridrato de lidocaína 2% sem vasoconstritor<sup>3</sup>. Após antisepsia foi feito o acesso cirúrgico à veia cefálica foi realizado por incisão da pele com bisturi sobre a veia em questão, posicionado em sentido axial ao rádio, com comprimento aproximado de dez centímetros. Em seguida foi realizada a divulsão dos tecidos adjacentes com tesoura Mayo romba, fazendo a exposição de segmento venoso de aproximadamente seis centímetros. A sequência de aplicação das pinças de proximal para distal foi feita mediante alternância em substituição onde P1 (Diftenbach bulldog), P2 (De Bakey bulldog), P3 (Rochester reta) ao P4 (De Bakey com cremalheira) representam as pinças e o Segmento Sem Pinçamento (SSP) foi controle comparativo com os demais segmentos pinçados, as pinças com cremalheira (Rochester e De Bakey) foram aplicadas empregando o máximo ponto de fechamento. O segmento SSP foi sempre localizado um centímetro mais proximal que a primeira pinça e a distância entre as pinças foi de cinco milímetros. A distribuição variada da aplicação das pinças teve por intenção a não ocorrência de interferências entre elas na repetição do posicionamento destas no vaso.

O posicionamento na sequência das pinças aplicadas na veia cefálica, para cada animal seguiu:

**Número do animal – sequência de pinças aplicadas**

Animal 1 (A1) - SSP, P1, P2, P3 e P4.

Animal 2 (A2) - SSP, P2, P3, P4 e P1.

Animal 3 (A3) - SSP, P3, P4, P1 e P2.

Animal 4 (A4) - SSP, P4, P1, P2 e P3.

Animal 5 (A5) - SSP, P1, P2, P3 e P4.

Após 15 minutos da aplicação das pinças foi feita a ressecção do segmento de veia cefálica e imediatamente coletados os fragmentos para exames histopatológicos.

Os cotos proximal e distal da veia cefálica foram submetidos à ligadura com fio Vicryl® (Poliglactina nº 2-0). Seguiu sutura de pele com náilon 2-0 em padrão simples contínuo. Após curativo local com clorexidina 4% foi aplicado penso protetor sobre a ferida cirúrgica.

---

<sup>3</sup> Xylestesin 2 % sem vasoconstritor – Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos

Os segmentos vasculares retirados no ato cirúrgico foram coletados e cada fragmento de vaso pinçado e o segmento sem pinçamento (SSP), liberado da pinça e colocado em solução fixadora ALFAC (álcool, formol e ácido acético). Após a fixação dos segmentos foram processados para inclusão em paraplast, esse procedimento foi realizado no Laboratório de Histologia da Unidade de Pesquisa Experimental – UNIPEX. As amostras foram processadas e preparadas as lâminas para microscopia óptica, coradas com Hematoxilina-Eosina (HE) e Tricrômio de Masson (TM).

No pós-operatório, do M1 ao M12 procedeu-se exame diário dos animais, realizando-se o exame físico geral, local e avaliação de claudicação tanto no passo como no trote. A região operada foi avaliada diariamente a partir do Momento 3 (M3) considerados aumento de volume local, dor e elevação de temperatura local ao toque, ocorrência de secreções, integridade da sutura e aspectos outros indicativos de distúrbios da cicatrização.

Animais que apresentaram sinais de dor ou inflamação da ferida cirúrgica foram tratados como resgate pós-operatório com flunixin meglumine<sup>4</sup> (1,1 mg/kg IV) e penicilina benzatina<sup>5</sup> (20.000 UI/Kg IM). Depois da última avaliação clínica os pontos da pele foram retirados e feito curativo local (Momento 12).

### **3.4 Avaliações morfológicas e morfométricas das amostras**

As laminas processadas das amostras dos cinco animais para cada segmento referente às pinças e segmento controle, sem pinçamento, foram descritas quanto a integridades estrutural e aos desarranjos ou alterações específicas para cada túnica vascular.

A morfometria dos exames histológicos dos segmentos pinçados e sem pinçamento foram realizadas a partir de fotomicrografias das lâminas<sup>6</sup> coradas com Hematoxilina-Eosina (HE) e Tricômio de Masson (TM) Para as mensurações das túnicas, foi utilizando um programa<sup>7</sup> específico e os

---

<sup>4</sup> Chemitec Agro-Veterinária LTDA.

<sup>5</sup> Pentabiótico® Fort Dodge Saúde Animal LTDA.

<sup>6</sup> 14 Olympus BX53 CellSens Standard 1.12 – OlympusCorporations, Tóquio, Japão.

<sup>7</sup> ImageJ – Image Processing and Analysis in Java - RSB

resultados expressados em micrometros ( $\mu\text{m}$ ), sendo feitas cinco mensurações de cada túnica (túnicas íntima, média, adventícia) e a espessura total da parede e calculada a média.

O grau de lesão da parede foi qualificado a partir de uma escala adaptada de 0 a 3, descrita por Margovsky et al. (1997 e 1999), onde “0” corresponde à ausência de lesão e “3” a lesão grave, para fazer a adaptação da escala foram retiradas as observações da lamina elástica dada a ausência de esta estrutura nas veias.

Graus de lesão vascular observados nas preparações histológicas para microscopia de luz após aplicação de pinças hemostáticas:

- Grau 0 (sem lesão) - Não são observados danos nas túnicas íntima, média ou adventícia.
- Grau 1 (lesão discreta) - Dano discreto no endotélio, leve vacuolização e desarranjo das células musculares na túnica média.
- Grau 2 (lesão moderada) - Vacuolização das células musculares na média, ruptura parcial e perda significativa de células endoteliais.
- Grau 3 (lesão intensa) - Maior perda de células endoteliais, significativa vacuolização nas células musculares na média e desarranjo marcado da mesma.

A coloração com Tricrômio de Masson (TM) permitiu a diferenciação do colágeno e tecido conjuntivo propriamente dito das fibras musculares. A partir disso, foi calculada a proporção (relativa e absoluta) de colágeno e tecido conjuntivo na camada média da veia cefálica utilizando um programa de computador específico para as medidas<sup>8</sup>.

Os resultados foram apresentados de modo descritivo, fazendo o comparativo dos segmentos sem pinçamento com os diferentes segmentos submetidos aos pinçamentos com respectivos instrumentais. As comparações foram feitas somente com relação as características morfológicas e morfométricas de cada segmento estudado.

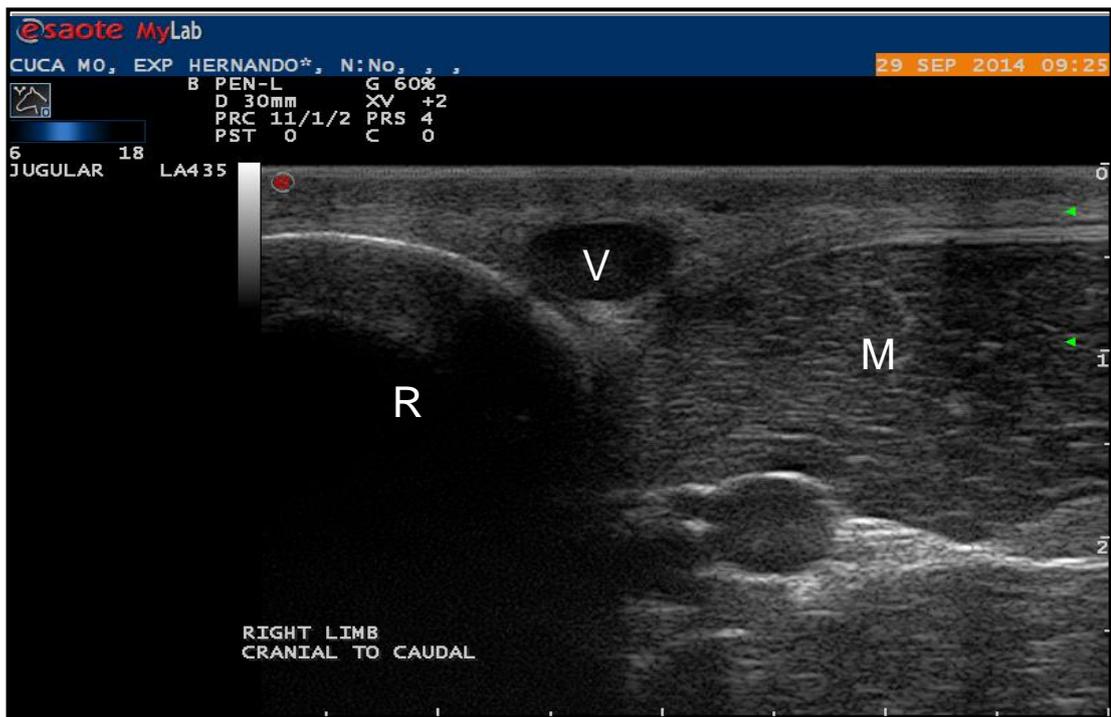
---

<sup>8</sup> AV soft Bio View 4.0 Software for Windows

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Exame físico pré-operatório e avaliação ultrassonográfica

Os exames clínicos confirmaram a higidez dos animais antes dos procedimentos cirúrgicos, com ingurgitamento e perviedade vasculares normais em todos os animais. A avaliação ultrassonográfica de todos os animais confirmou a integridade dos vasos da região radial direita – face medial, com normalidade e perviedade da veia cefálica no segmento de estudo. Através do exame foi possível visibilizar a parede do vaso ecogênica e fina com o seu conteúdo anecóico, permitiu o reconhecimento dos limites: cranial, de ecogenicidade maior e de superfície regular compatível com o rádio; e, caudal, o músculo flexor carpo-radial de aparência isoecóica na sua superfície delimitando o seu conteúdo irregular que apresentou ecogenicidade heterogênea (Figura 3).



**FIGURA 3.** Exame ultrassonográfico obtido em modo B da região média do rádio do animal A4. Momento pré-cirúrgico (**MP**) do lado direito da imagem corresponde a caudal e do lado esquerdo cranial. Observa-se a veia cefálica (V), o músculo flexor carpo radial (M) e o rádio (R).

#### 4.2. Avaliação clínica dos animais do experimento

Os animais não apresentaram alterações nos parâmetros do exame clínico geral realizado a partir do momento da cirurgia e até a retirada dos pontos (Anexo 1).

O exame regional realizado ao terceiro dia (M3) revelou aumento moderado da sensibilidade local no antebraço nos animais A1 e A4 do experimento, e leve sensibilidade nos outros três, reduzindo progressivamente até M6 para os animais A1, A4 e A5 e M5 para os animais A2 e A3, respectivamente (Tabela 1), nos animais A1 e A4 houve resgate pós-operatório.

**TABELA 1.** Avaliação local da sensibilidade dos animais depois de retirada a bandagem. Animais representados pelas letras e números A1, A2, A3, A4 e A5 e os graus da sensibilidade considerados foram: (-) não apresentou sensibilidade; (+) sensibilidade leve; (++) sensibilidade moderada e (+++) sensibilidade grave.

Animais	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7-M12
A1	-	++	++	+	+	+	-	-
A2	-	+	+	+	+	-	-	-
A3	-	+	+	+	+	-	-	-
A4	-	++	++	++	+	+	-	-
A5	-	+	+	+	+	+	-	-

O edema foi presente acima da bandagem no animal A1 a partir do M1 e na região cirúrgica a partir de M3 quando foi retirado a bandagem. Neste animal, o edema persistiu até o M5. Contudo, nos outros animais o edema não foi evidente até retirar a bandagem, permanecendo assim até o M5 (Tabela 2).

**TABELA 2.** Avaliação do edema dos animais. Animais representados pelas letras e números A1, A2, A3, A4 e A5 e os graus de edema considerados foram de 1 até 5 sendo 5 o maior grau; NA Os animais ainda tinham a bandagem.

Animais	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7-M12
A1	NA	2/5	2/5	2/5	1/5	0/5	0/5	0/5
A2	NA	NA	NA	2/5	1/5	0/5	0/5	0/5
A3	NA	NA	NA	1/5	1/5	0/5	0/5	0/5
A4	NA	NA	NA	2/5	1/5	0/5	0/5	0/5
A5	NA	NA	NA	1/5	1/5	0/5	0/5	0/5

Somente um dos animais (A1) apresentou claudicação na avaliação ao passo e no trote. Ao M1, este animal apresentou claudicação grau 1/5 (ROSS; DYSON, 2003), sem, contudo apresentar sinais de contaminação no local do procedimento cirúrgico ou deiscência da sutura, sendo novamente realizada a bandagem local. Nos momentos seguintes a claudicação observada reduziu gradativamente até não ser mais observada. No M12 foram retirados os pontos de pele e a resolução favorável da ferida foi um achado comum em todos os animais.

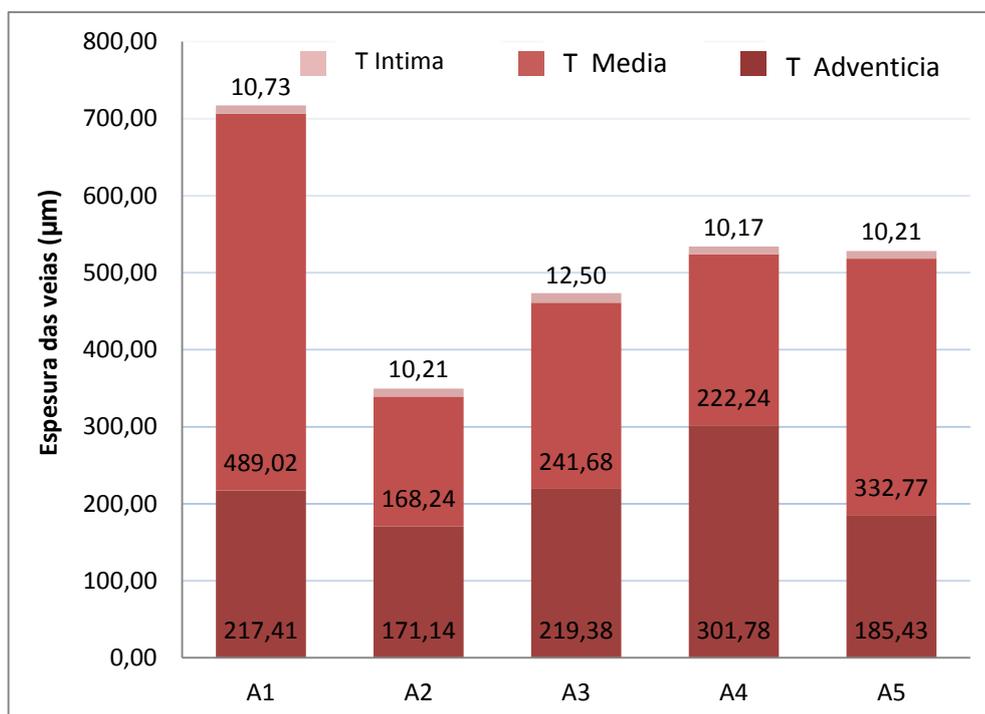
### **4.3. Avaliação morfométrica das lâminas**

#### *Segmentos sem pinçamento (SSP)*

Os exames histológicos dos segmentos sem pinçamento dos cinco animais foram avaliados e realizada a sua morfometria (Tabela 3 e Figura 4) apresentam diferenças morfométricas nas túnicas média e adventícia, tanto nas proporções como nas medidas absolutas (Anexo 2). Observamos que o animal A1 apresentou parede com espessura maior (717,16  $\mu\text{m}$ ), mas também a proporção menor na túnica adventícia (30,32%). O animal A2 apresentou a menor espessura de parede vascular (349,59  $\mu\text{m}$ ) e proporções iguais das túnicas média e adventícia (48,1% e 48,9%, respectivamente). No animal A3, a espessura da parede foi de 473,56  $\mu\text{m}$  e proporções similares ao do animal controle e A2. O animal A4 apresentou maior proporção da túnica adventícia (56,49%), diferente do animal A5 que apresentou a maior representatividade na túnica média (62,98 %). O animal A3 o apresentou maior espessura da íntima (12,50  $\mu\text{m}$ ) comparado com a túnica íntima dos segmentos sem pinçamento (SSP) dos animais A1, A2, A4 e A5.

**TABELA 3.** Espesura das tûnicas da veia cefalaica dos segmentos sem pinçamento dos animais experimentais (A1, A2, A3, A4 e A5) expressados em micrômetros ( $\mu\text{m}$ ) e em percentagem (%); ( $\bar{X}$ ) média dos animais experimentais; ( $\pm$ ) Desvio Padrão.

Animal	T. Adv. ( $\mu\text{m}$ )	T. Média ( $\mu\text{m}$ )	T. Íntima ( $\mu\text{m}$ )	T. Adv. (%)	T. Média (%)	T. Íntima (%)
A1	217,41	489,02	10,73	30,32	68,19	1,50
A2	171,14	168,24	10,21	48,95	48,12	2,92
A3	219,38	241,68	12,50	46,33	51,03	2,64
A4	301,78	222,24	10,17	56,49	41,60	1,90
A5	185,43	332,77	10,21	35,09	62,98	1,93
$\bar{X}$	219,03	290,79	10,76	43,44	54,39	2,18
$\pm$	50,68	125,68	1,00	10,62	10,93	0,58



**FIGURA 4.** Espesura das tûnicas da veia cefálica dos segmentos sem pinçamento dos animais experimentais (A1, A2, A3, A4 e A5) expressados em ( $\mu\text{m}$ ) micrômetros.

O porcentagem de colágeno do segmento da veia cefálica sem pinçamento dos animais experimentais foi: 48,29% para o animal A1, 45,78% no animal A2, 46,45% no animal A3, 54,65% no animal A4 e 54,33% no animal A5. A média do porcentagem de colágeno e tecido conjuntivo propriamente dito da tûnica media no segmento sem pinçamento dos cinco animais foi 49,9% (Anexo 2).

### *Pinçamentos*

No animal A1, a maior diminuição na espessura total da parede e da túnica média aconteceu nos segmentos ocluídos pelas pinças P3 (Rochester reta) e P1 (Diffenbach bulldog), nesta ordem, que correspondem às pinças com serrilhamento transversal; a maior diminuição da túnica adventícia e da túnica íntima aconteceu nos segmentos onde houve aplicação das pinças P3 (Rochester reta) e P4 (De Bakey com cremalheira), nesta ordem, estas duas pinças possuem o mesmo tipo de fechamento (cremalheira) (Anexo 3).

No animal A2, foram as pinças P1 (Diffenbach bulldog) e P3 (Rochester reta) que fizeram maior compressão da parede na espessura total, destacando a realizada pela pinça de fechamento autoestático; as pinças que geraram maior compressão na túnica média foram P3 (Rochester reta) e P2 (De Bakey bulldog) e na túnica adventícia P1 (Diffenbach bulldog) e P4 (De Bakey com cremalheira), sendo que nestes casos, as duas pinças diferem tanto no serrilhamento como no tipo de fechamento. As pinças P3 (Rochester reta) e P4 (De Bakey com cremalheira) foram as que causaram maior compressão na túnica íntima, sendo nesta ordem, também achados nos animais A3, A4 e A5. O colágeno apresentou a maior diminuição quando a oclusão foi feita pelas pinças P2 (De Bakey bulldog) e P1 (Diffenbach bulldog), nesta ordem, as duas de fechamento autoestático.

No Animal A3, as pinças que causaram maior compressão na espessura total da parede, espessura da túnica média, espessura da íntima foram as pinças P3 (Rochester reta) e P4 (De Bakey com cremalheira) (as duas com fechamento tipo cremalheira), nessa ordem, a maior compressão gerada na túnica adventícia foi alcançada com as pinças P4 (De Bakey com cremalheira) e P1 (Diffenbach bulldog).

O animal A4 apresentou a maior redução da espessura em todas as túnicas e da espessura total, quando foram feitos pinçamentos com as pinças P3 (Rochester reta) e P4 (De Bakey com cremalheira), sendo sempre maior no segmento P3 (Rochester reta).

O animal A5 apresentou a maior redução na espessura total e da espessura da túnica adventícia quando aplicadas as pinças P3 (Rochester reta) e P2 (De Bakey bulldog), nessa ordem; a espessura da túnica média teve a

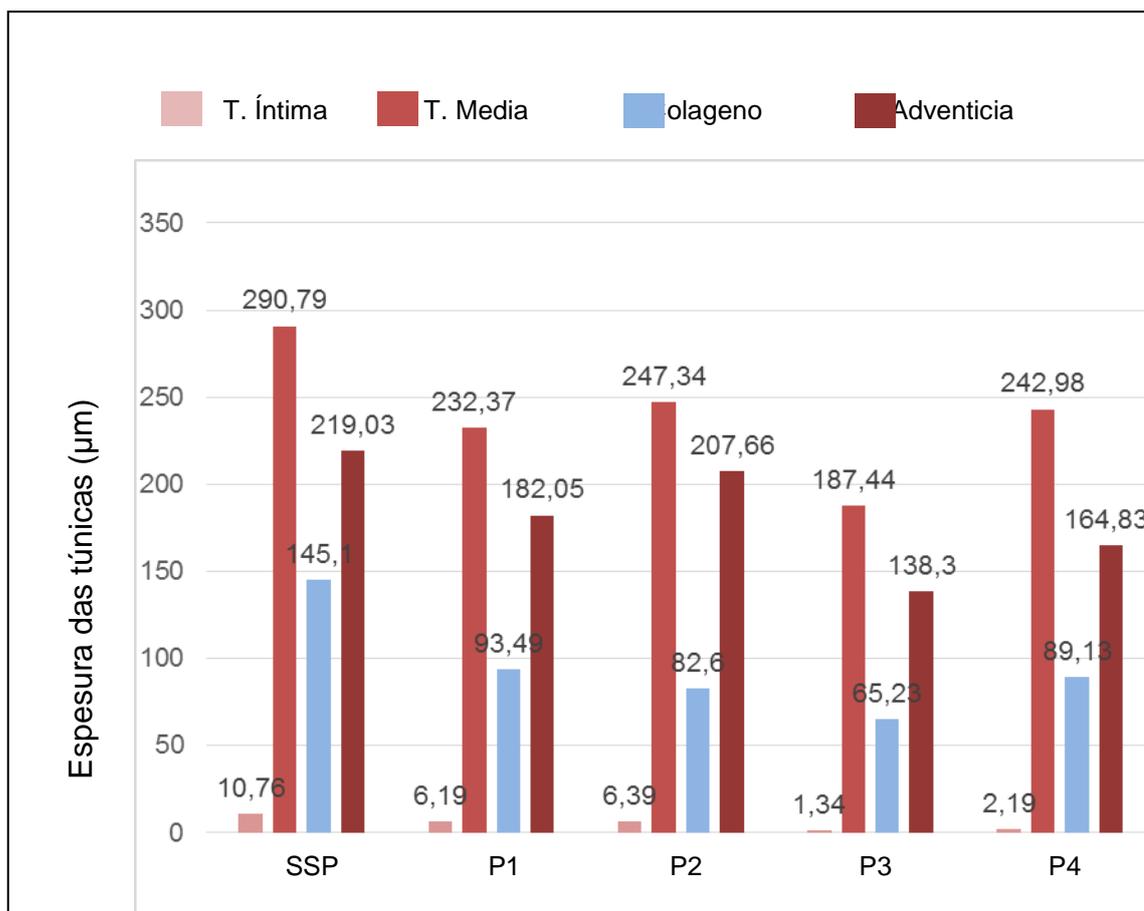
maior diminuição com as mesmas duas pinças, mas, alternando a ordem; na túnica íntima, assim como nos outros animais, apresentou a maior redução de espessura no segmento onde foi aplicada a pinça P3 (Rochester reta) seguido do segmento com a pinça P4 (De Bakey com cremalheira).

Todas as pinças causaram redução das medidas das três túnicas, sendo, a pinça P2 (De Bakey bulldog), a que fez menor diminuição; e, a pinça P3 (Rochester reta), a maior nas três túnicas. Os tipos de serrilhamento também tiveram influência na compressão das túnicas, sendo maior para os segmentos onde foram aplicadas as pinças com o serrilhamento transversal (pinças Diffenbach bulldog-P1 e Rochester reta-P3).

O colágeno da túnica média apresentou redução em todos os segmentos; mas, diferente do que aconteceu nas túnicas, a pinça que causou maior redução percentual do colágeno foi a pinça P1 (Diffenbach bulldog) e a que causou menor redução foi a pinça P3 (Rochester reta). Quando calculados os valores absolutos, a pinça P3 (Rochester reta) causou maior compressão no colágeno seguida pelas pinças P2 (De Bakey bulldog), P4 (De Bakey com cremalheira) e P1 (Diffenbach bulldog), sendo os resultados absolutos expressos na Tabela 4 e ilustrados na Figura 5.

**TABELA 4.** Média da espessura de cada uma das túnicas em ( $\mu\text{m}$ ) e do colágeno da túnica média calculado baseado na porcentagem, no Segmento Sem Pinçamento (SSP), Pinça Diffenbach (P1), Pinça De Bakey bulldog (P2), Pinça Rochester (P3), Pinça De Bakey Cremalheira (P4), a Média ( $\bar{X}$ ) e o Desvio Padrão ( $\pm$ ).

	T. Íntima ( $\mu\text{m}$ )	T. Média ( $\mu\text{m}$ )	Colágeno	T. Adventícia ( $\mu\text{m}$ )
SSP	10,76	290,79	145,10	219,03
P1	6,19	232,37	93,49	182,05
P2	6,39	247,34	82,60	207,66
P3	1,34	187,44	65,23	138,30
P4	2,19	242,98	89,13	164,83



**FIGURA 5.** Média da espessura de cada uma das túnicas em micrômetros ( $\mu\text{m}$ ) e do colágeno da túnica média calculado em base a seu porcentagem no Segmento Sem Pinçamento (SSP), Pinça Diffenbach (P1), Pinça De Bakey bulldog (P2), Pinça Rochester (P3), Pinça De Bakey Cremalheira (P4).

Na média, a túnica que apresentou a maior diminuição foi a túnica íntima ( $62,57\% \pm 24,52 \mu\text{m}$ ), seguido do colágeno ( $27,30\% \pm 5,93$ ). As túnicas adventícia e média foram as que tiveram menor compressão ( $21,75 \pm 9,44$  e  $20,92 \pm 13,32$ ), sendo os valores apresentados na Tabela 5.

**TABELA 5.** Porcentagem de diminuição das túnicas e do colágeno produzido por cada uma das pinças: Pinça Diffenbach (P1), Pinça De Bakey bulldog (P2), Pinça Rochester (P3), Pinça De Bakey Cremalheira (P4), Média ( $\bar{X}$ ) e o Desvio Padrão ( $\pm$ ).

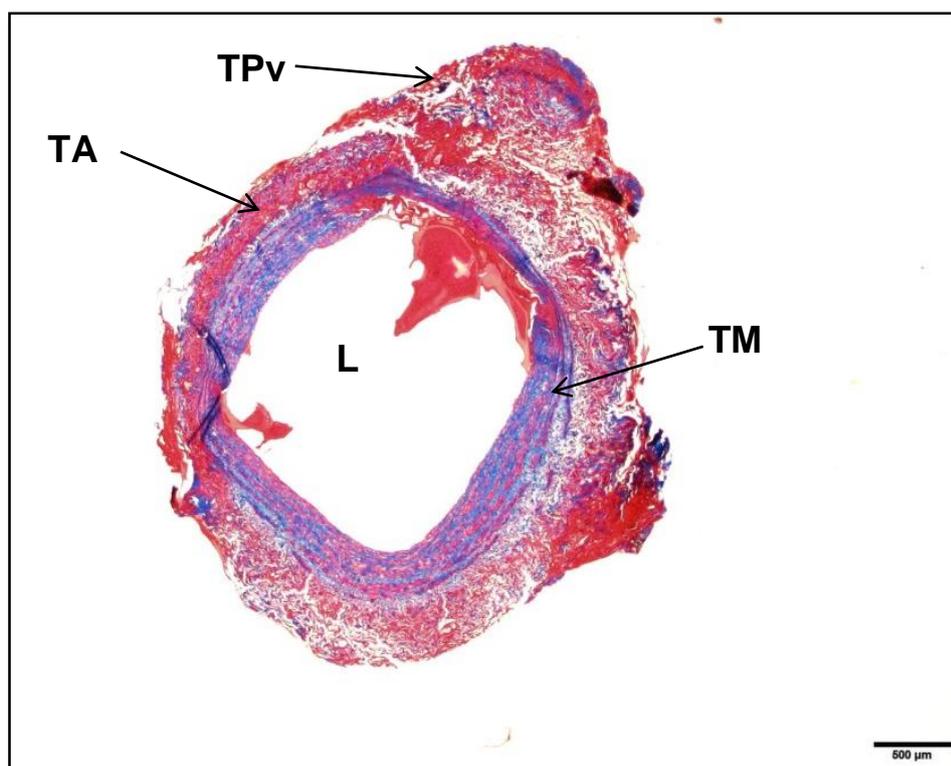
	P1 (%)	P2 (%)	P3 (%)	P4 (%)	$\bar{X}$	$\pm$
<b>T. Íntima</b>	42,66	40,60	87,59	79,62	62,62	24,52
<b>T. Média</b>	20,09	14,94	35,54	16,44	21,75	9,44
<b>T. Adventícia</b>	16,88	5,19	36,86	24,75	20,92	13,32
<b>Colágeno</b>	19,37	33,08	30,26	26,49	27,30	5,93

#### 4.4 Avaliação morfológica das lâminas

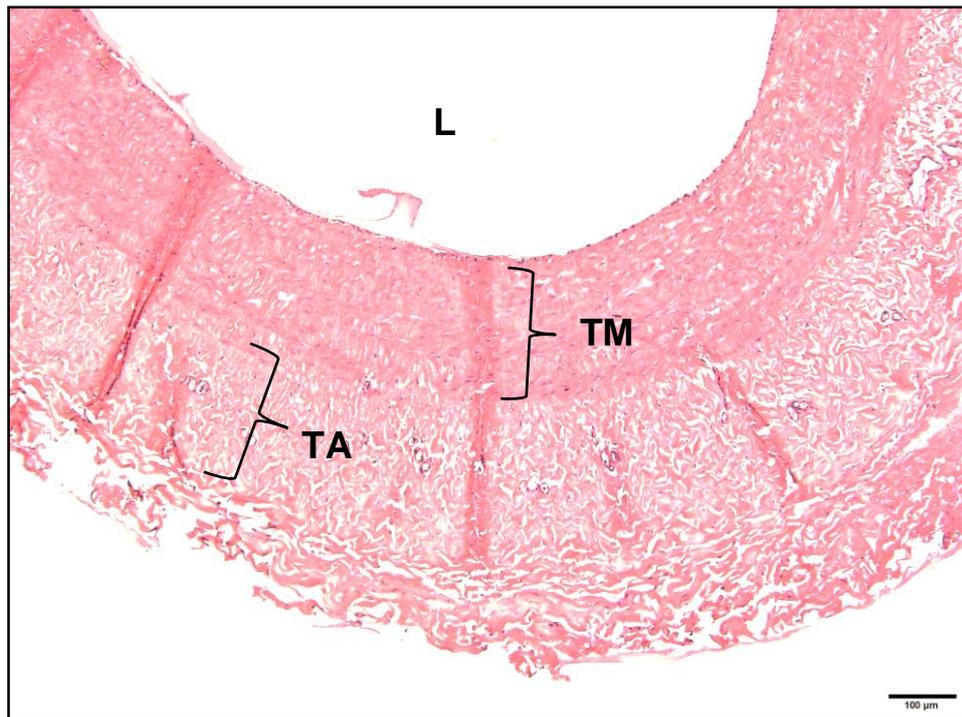
##### Segmentos sem pinçamento

Na avaliação histopatológica feita pela coloração de HE e TM do segmento sem pinçamento dos animais do experimento pode se observar a preservação da arquitetura normal do vaso sendo facilmente identificáveis nos aumentos de 2X e 10X a luz do vaso, a túnica média, a túnica adventícia e tecido perivascular. A túnica íntima não é discernível nestes aumentos.

A túnica média e adventícia apresentam proporções similares na observação qualitativa (Figura 6 e 7).

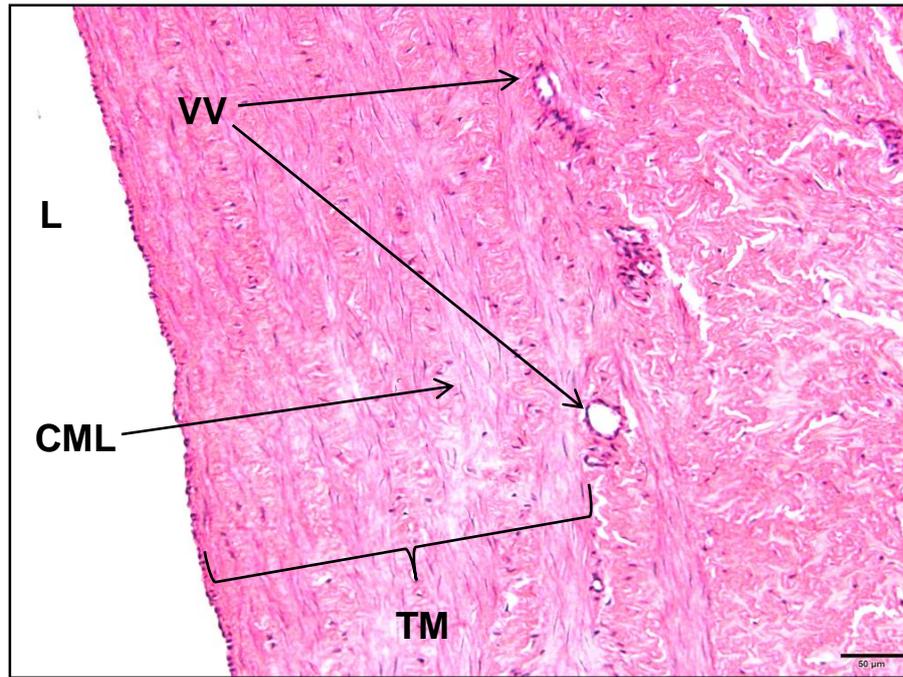


**FIGURA.6.** Fotomicrografia do segmento sem pinçamento da veia cefálica do Animal A5 no aumento de 2X e na tingção de TM, (L) Luz do vaso, (TM) Túnica média, (TA) Túnica adventícia e (TPv) Tecido Perivascular.

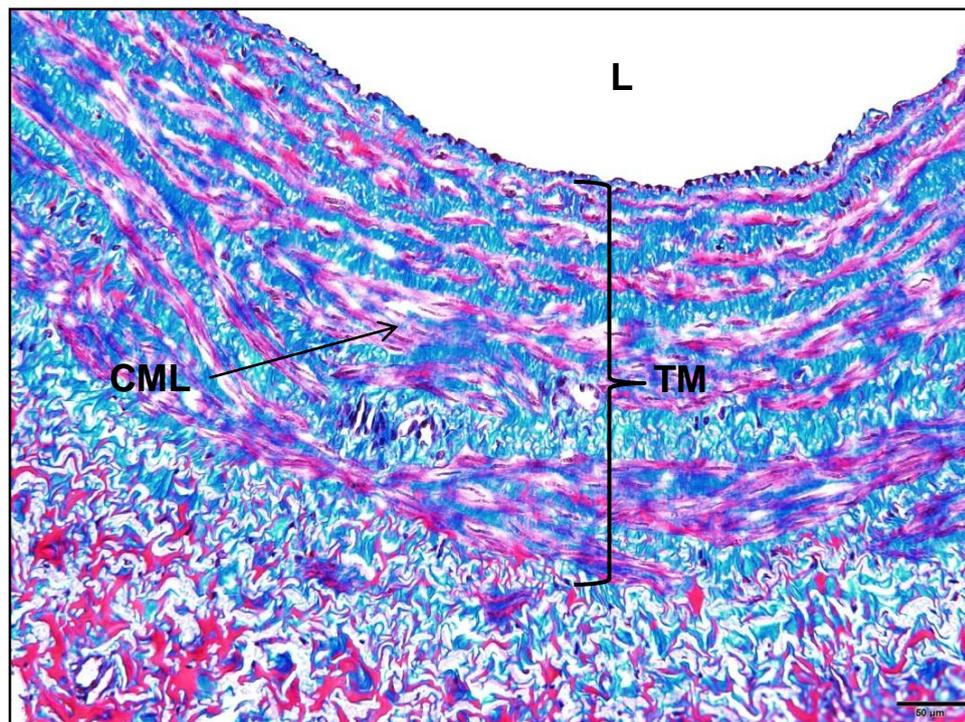


**FIGURA.7.** Fotomicrografia do segmento sem pinçamento da veia cefálica do Animal A4, no aumento de 10X e na tinação de HE, (L) Luz do vaso, (TM) Túnica média, (TA) Túnica adventícia.

Utilizando o aumento de 20X na região da túnica média estão presentes as CML e fibras de colágeno dispostas em arranjo circular e observadas na coloração de HE com tonalidades variadas acidofílicas. Na adventícia é visibilizado também fibras de colágeno e elásticas com CML dispostas transversalmente. O colágeno e tecido conjuntivo propriamente dito é marcado com a coloração azul e as fibras musculares vermelhas na coloração TM. Pode-se observar também na túnica adventícia, pequenos vasos de paredes muito finas e contendo no seu interior células vermelhas, sendo estes os *Vasa Vasorum* (Figura 8 e 9).

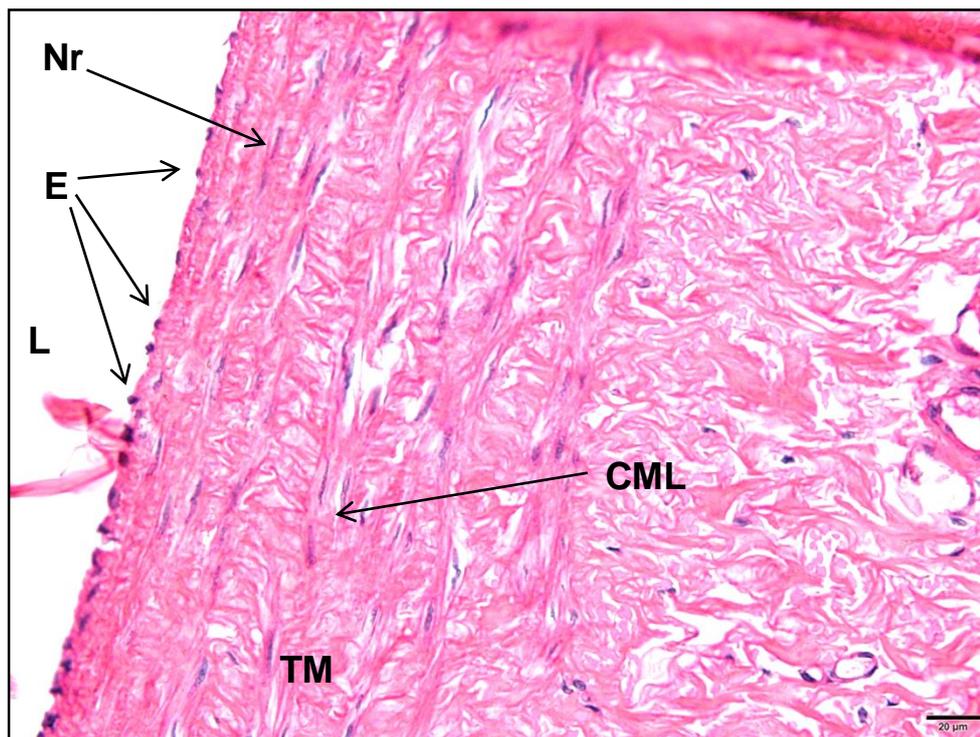


**FIGURA 8.** Fotomicrografia do segmento sem pinçamento da veia cefálica do Animal A1 no aumento de 20X e na tingção de HE, (L) Luz do vaso; (TM) Túnica média; (VV) Vasa Vasorum e (CML's) Células Musculares Lisas

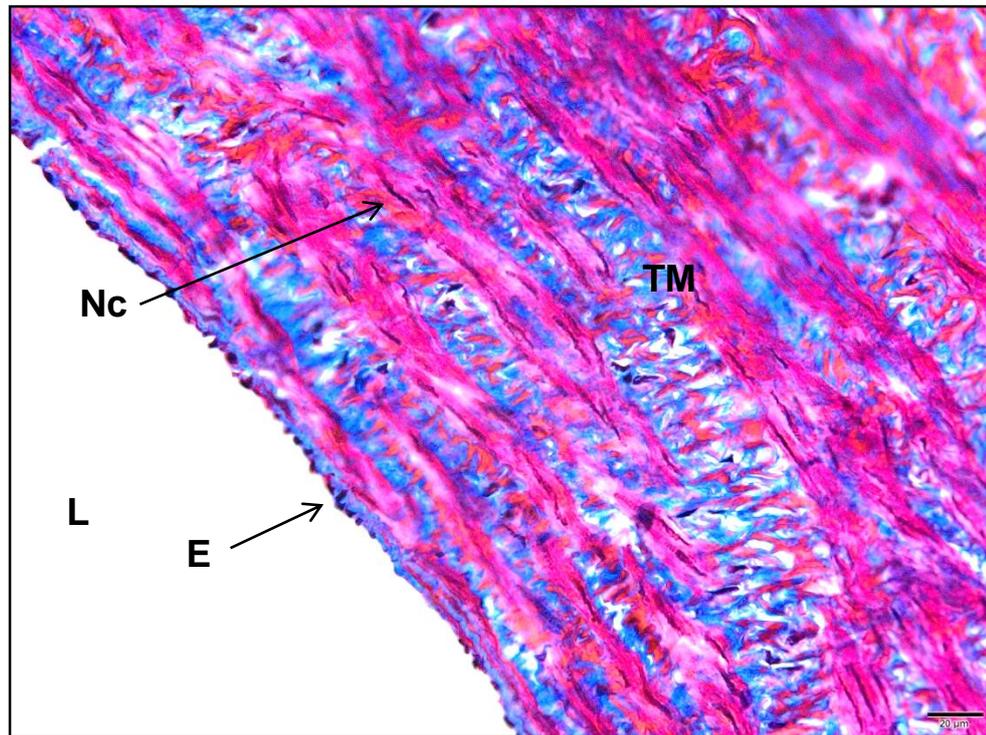


**FIGURA 9.** Fotomicrografia do segmento sem pinçamento da veia cefálica do Animal A5 no aumento de 20X e na tingção de TM: (L) Luz do vaso; (TM) Túnica média e (CML's) Células Musculares Lisas.

Nas lâminas avaliadas com aumento de 40X (Figura 10 e 11), do lado da luz do vaso é possível identificar o endotélio. Nele ressaltam os núcleos das células endoteliais dispostas em uma única camada celular plana e ininterrompida. A túnica média apresenta as fibras musculares lisas com os seus núcleos alongados e fusiformes e alguns com aparência de saca-rolhas quando contraídos.



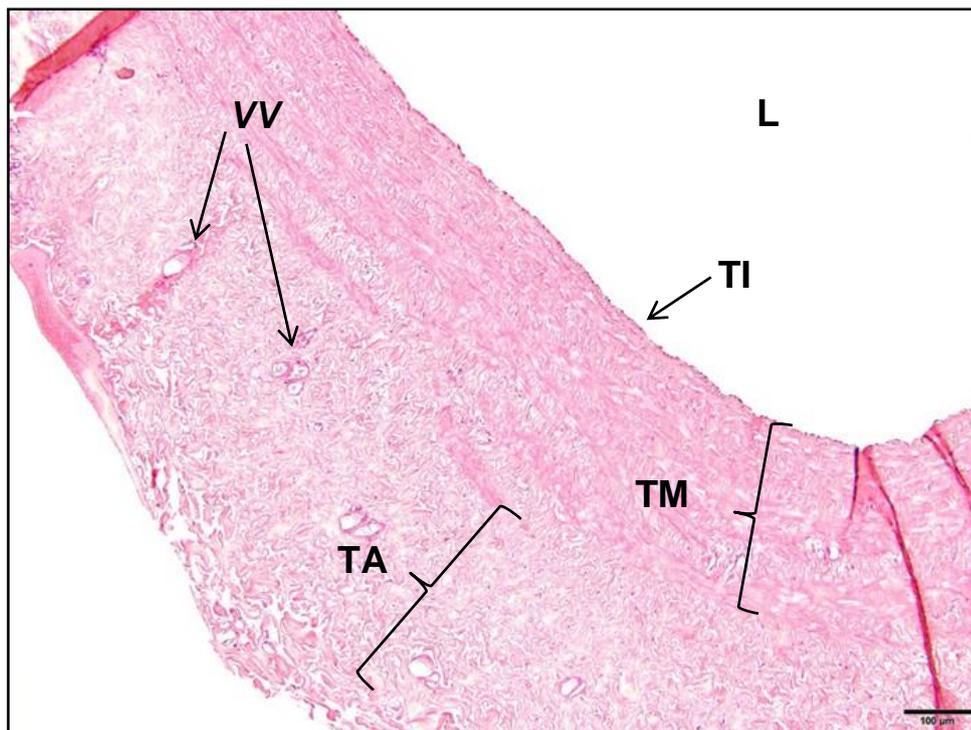
**FIGURA 10.** Fomicrografia do segmento sem pincamento da veia cefálica do Animal A4 no aumento de 40X e na coloração de HE, (L) Luz do vaso; (TM) Túnica média; (E) células endoteliais; (CML's) Células Musculares Lisas e (Nr) núcleos relaxados.



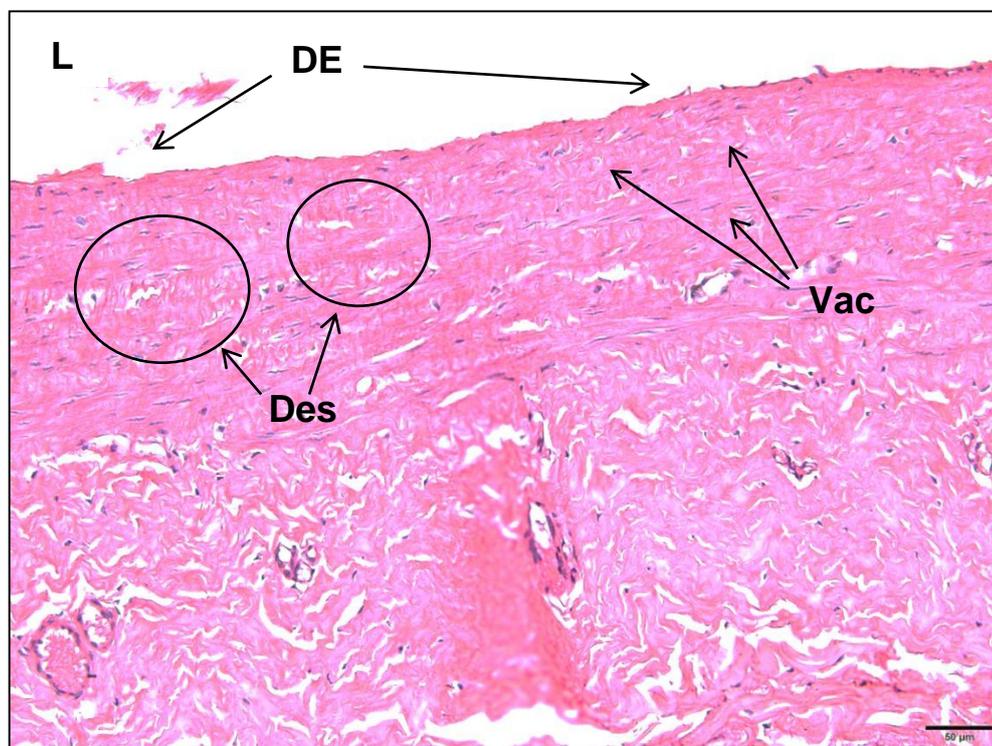
**FIGURA 11.** Fotomicrografia do segmento sem pinçamento da veia cefálica do Animal A1 no aumento de 40X e na coloração de TM: (L) Luz do vaso; (TM) Túnica média; (E) Endotélio e (Nc) núcleos contraídos.

### *Pinçamentos*

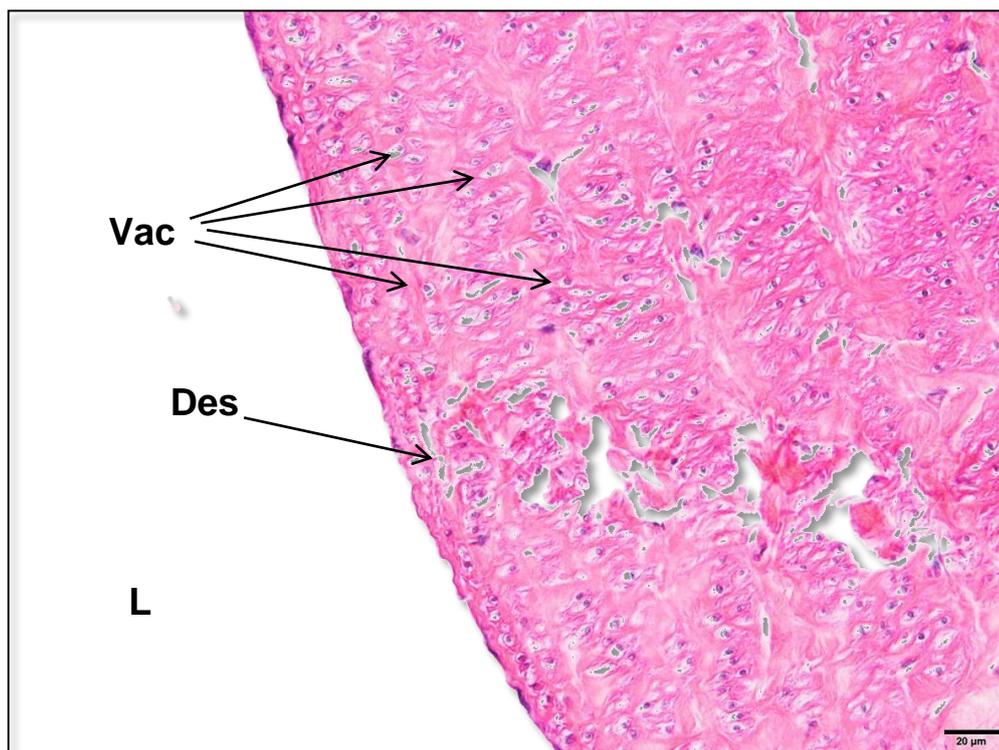
As lâminas dos segmentos de veia cefálica foram avaliadas na microscopia óptica e cada uma classificada segundo o escore adaptado para veias desenvolvido pelo Margovsky et al. (1999) de grau 0 a grau 3 como descritos nas figuras 12, 13, 14, 15 sendo os resultados apresentados na Tabela 6.



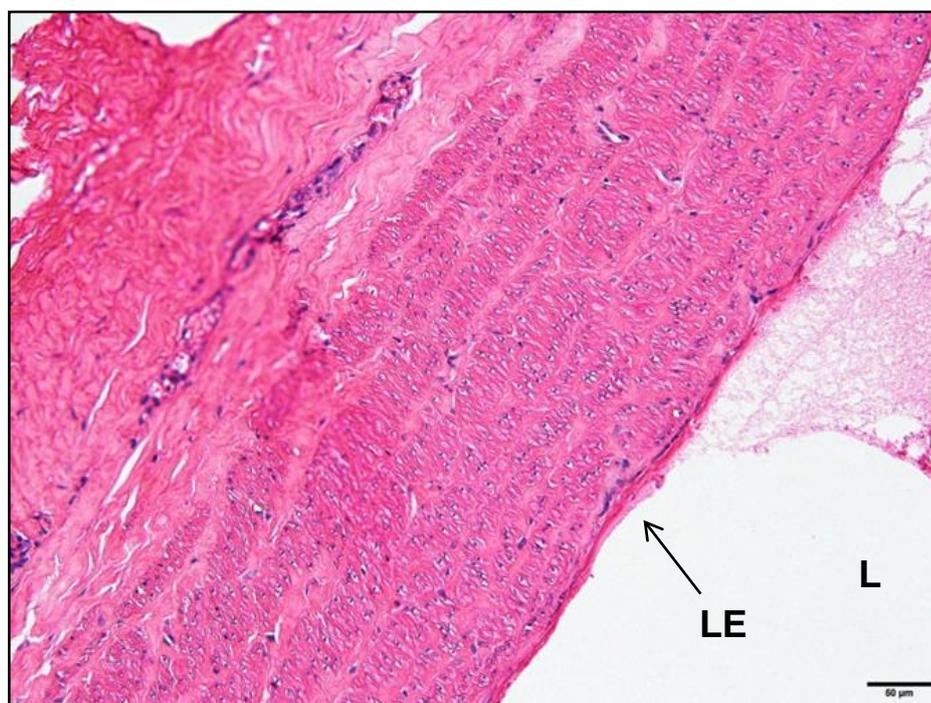
**FIGURA 12.** Fotomicrografia do segmento sem pinçamento da veia céfálica do Animal A5 no aumento de 10X e na coloração HE. Grau 0 (Sem lesão), Não são observados danos nas túnicas íntima (TI), média (TM) ou adventícia (TA). Os Vasa Vasorum (VV) Indicados pelas setas e a Luz do vaso (L).



**FIGURA 13.** Fotomicrografia de veia céfálica do animal A3 pinçado com a pinça P2 no aumento de 20X e na coloração HE. Grau 1 (Lesão leve), Dano leve no endotélio (DE), leve vacuolização (Vac), desarranjo das células musculares na túnica média (Des) e a Luz do vaso (L).



**FIGURA 14.** Fotomicrografia de veia cefálica do animal A1 pinçado com a pinça P4 no aumento de 40X e na coloração HE. Grau 2 (Lesão moderada), Vacuolização (Vac) das células musculares na média, (Des) desarranjo da túnica média, ruptura parcial e perda significativa de células endoteliais e a Luz do vaso (L).

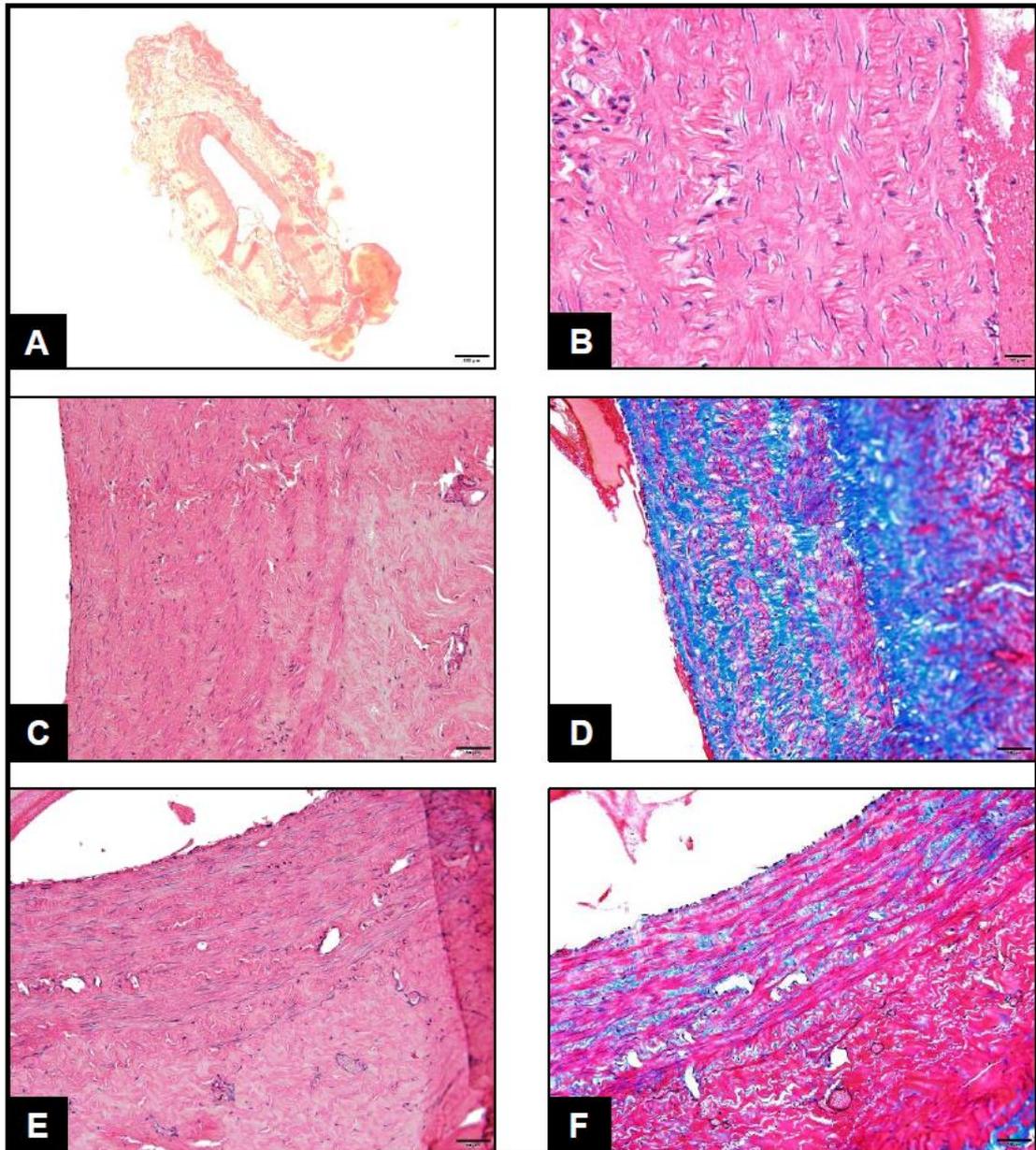


**FIGURA 15.** Fotomicrografia de veia cefálica do animal A2 pinçado com a pinça P4 no aumento de 20X e na coloração HE Grau 3 (Lesão grave), Vacuolização das células musculares na média, ruptura parcial e (Des) desarranjo marcado da túnica média, perda significativa de células endoteliais e a Luz do vaso (L).

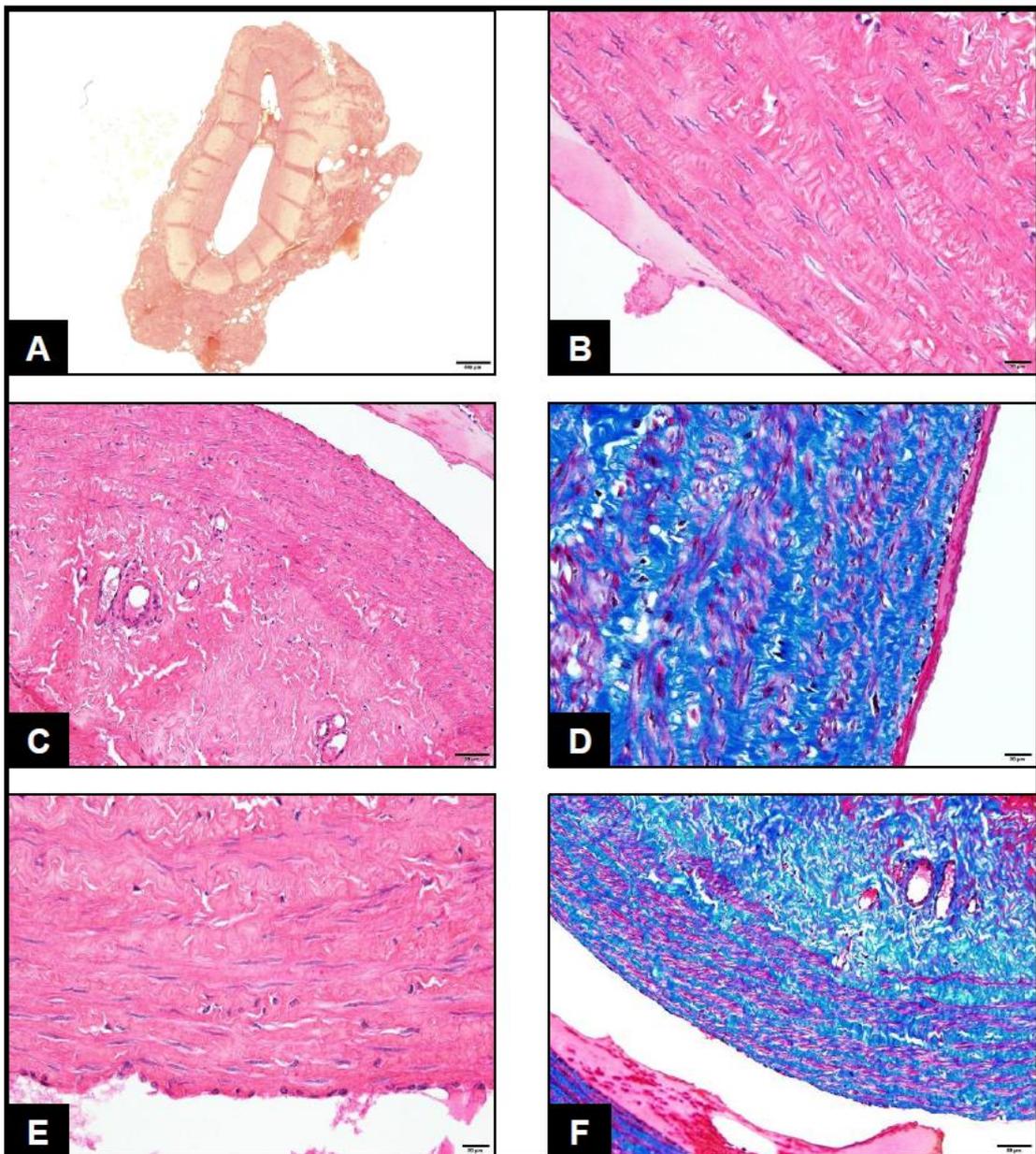
**TABELA 6.** Resultados da avaliação morfológica das lâminas pela escala de Margovsky et al. (1997), escores alcançados pelas pinças: (P1) Pinça Diffenbach; (P2) Pinça De Bakey bulldog; (P3) Pinça Rochester; (P4) Pinça De Bakey Cremalheira em cada veia cefálica dos animais experimentais (A1, A2, A3, A4 E A5); ( $\bar{X}$ ) a média.

Pinça	A1	A2	A3	A4	A5
P1	1	2	1	2	2
P2	1	2	1	1	1
P3	3	3	3	3	3
P4	2	3	3	3	3

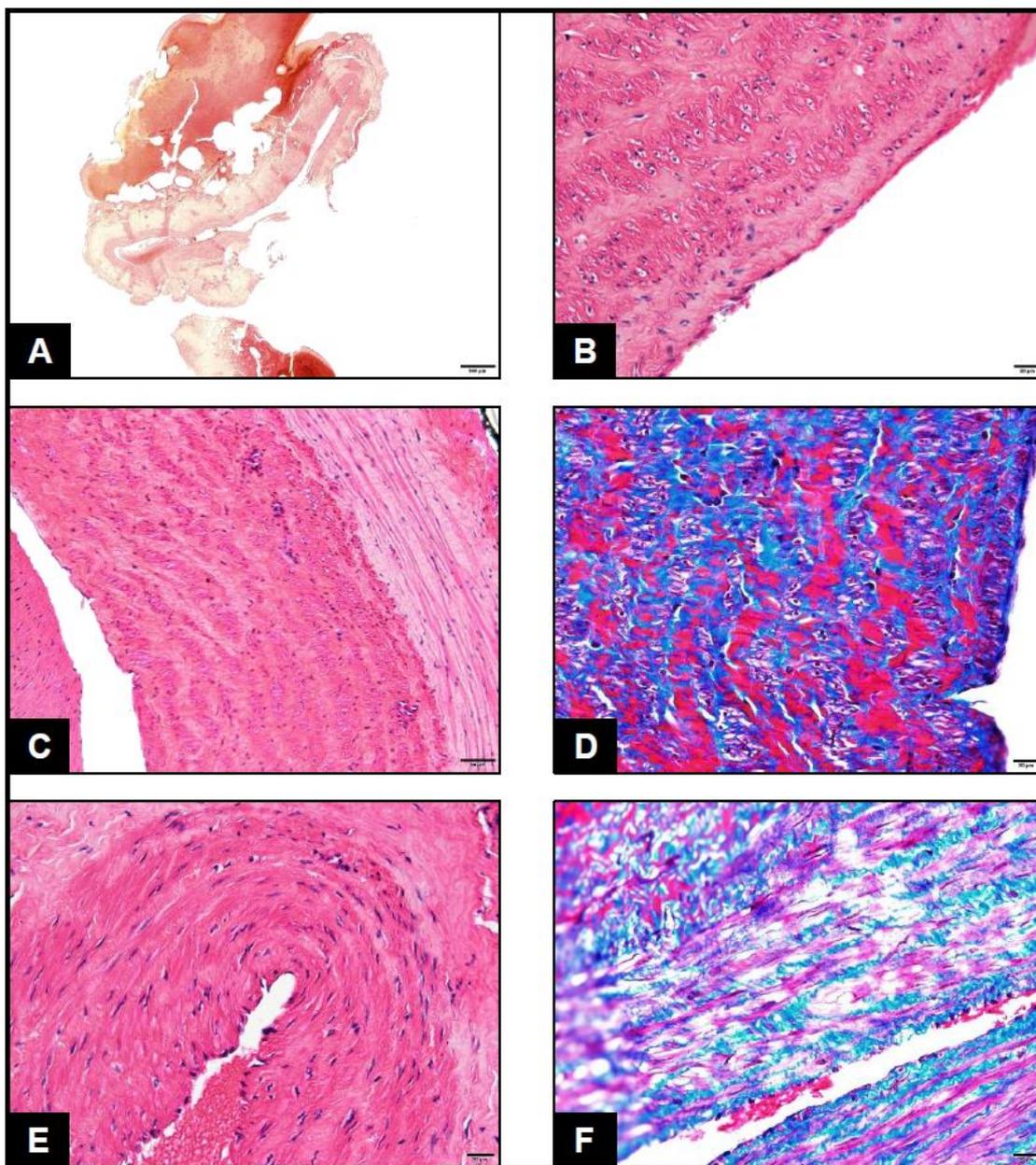
As pinças que tiveram os escores mais altos foram a pinças com fechamento de tipo cremalheira (Rochester reta-P3 e De Bakey com cremalheira-P4). Quando comparados os tipos de serrilhamento, foram as de serrilhamento transversal (Diffenbach bulldog-P2 e Rochester reta-P3) as que tiveram os maiores escores como ilustradas nas figuras 16, 17, 18 e 19.



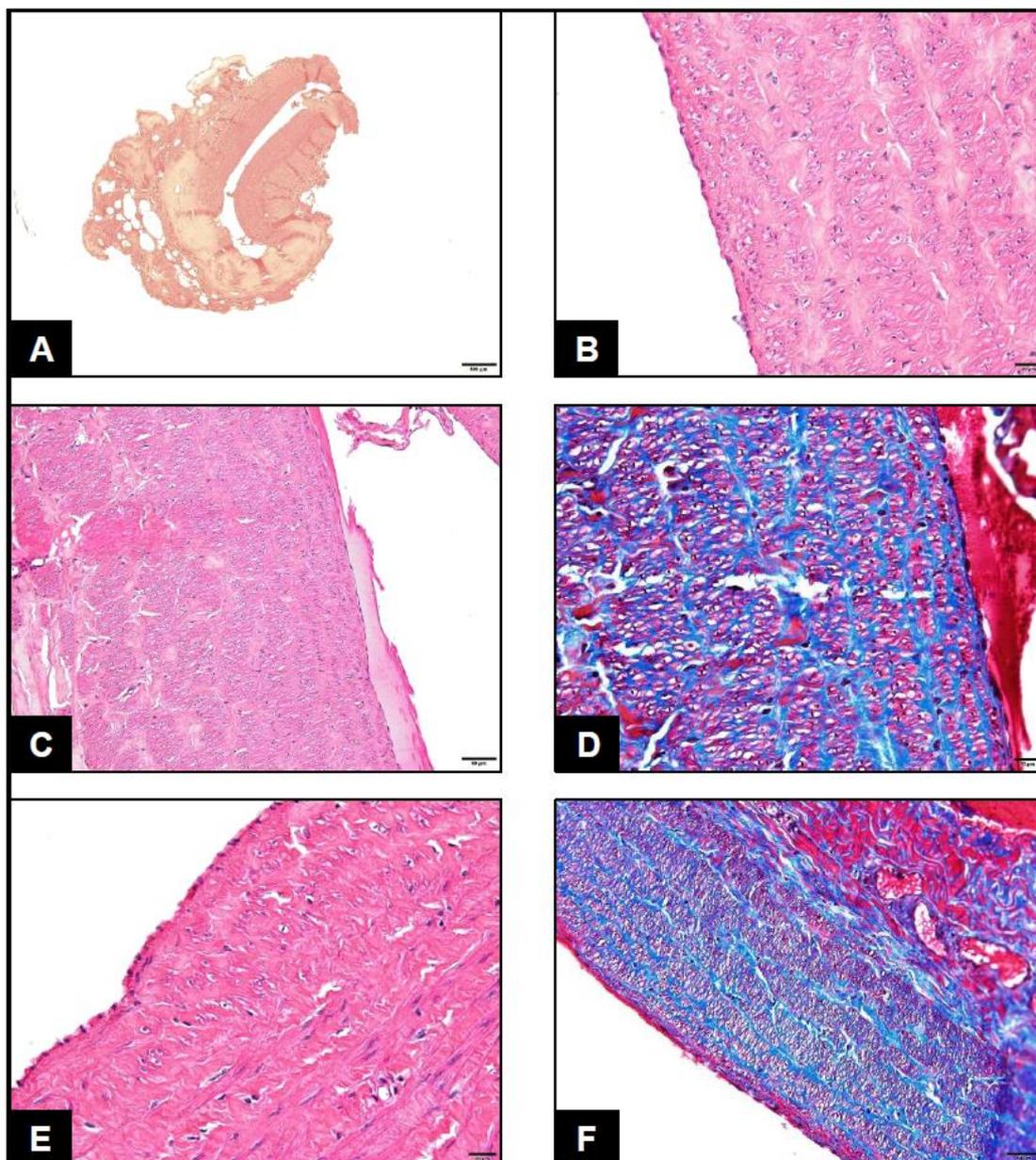
**FIGURA 16:** Segmento da veia cefálica quando aplicada a pinça Diffenbach (P1) apresentando lesão leve: **(A)** aumento de 2X na coloração de HE do animal A4; **(B)** aumento de 20X na coloração de HE do animal A4; **(C)** aumento de 20X na coloração de HE do animal A1; **(D)** aumento de 2X na coloração de TM do animal A4; **(E)** aumento de 20X na coloração de HE do animal A2; **(F)** aumento de 20X na coloração de TM do animal A2.



**FIGURA 17:** Segmento da veia cefálica quando aplicada a pinça De Bakey Bulldog (P2) apresentando lesão leve: **(A)** aumento de 2X na coloração de HE do animal A4; **(B)** aumento de 40X na coloração de HE do animal A3; **(C)** aumento de 20X na coloração de HE do animal A3; **(D)** aumento de 40X na coloração de TM do animal A4; **(E)** aumento de 40X na coloração de HE do animal A5; **(F)** aumento de 20X na coloração de TM do animal A3.



**FIGURA 18:** Segmento da veia cefálica quando aplicada a pinça Rochester (P3) apresentando lesão grave: **(A)** aumento de 2X na coloração de HE do animal A3; **(B)** aumento de 40X na coloração de HE do animal A4; **(C)** aumento de 20X na coloração de HE do animal A1; **(D)** aumento de 40X na coloração de TM do animal A1; **(E)** aumento de 40X na coloração de HE do animal A3; **(F)** aumento de 40X na coloração de TM do animal A2.



**FIGURA 19:** Segmento da veia cefálica quando aplicada a pinça De Bakey cremalheira (P4) apresentando lesão leve: **(A)** aumento de 2X na coloração de HE do animal A5; **(B)** aumento de 40X na coloração de HE do animal A1; **(C)** aumento de 20X na coloração de HE do animal A1; **(D)** aumento de 40X na coloração de TM do animal A1; **(E)** aumento de 40X na coloração de HE do animal A5; **(F)** aumento de 20X na coloração de TM do animal A2.

## 5. DISCUSSÃO

Os exames físicos e ultrassonográficos foram eficientes em confirmar a higidez e perviedade dos vasos, sendo procedimentos de rotina e básicos para a seleção de animais em experimentos controlados.

Os parâmetros físicos gerais avaliados nos animais operados mantiveram-se normais durante todo o experimento. A ressecção parcial da veia cefálica não causou edema distal à cirurgia no membro operado em nenhum dos animais, o que poderia ocorrer caso houvesse redução do retorno venoso, considerando-se que as demais veias da região possibilitaram a drenagem da região de modo compensatório, diferente do descrito na tromboflebite jugular a presença de congestão venosa cervical e cefálica, além do ingurgitamento de regiões da face (parotídea, submandibular, frontal e nasal), que podem inclusive comprometer a vida do animal (HUSSNI et al., 2009; BORGHESAN et al., 2012).

A cirurgia realizada para a ressecção parcial da veia cefálica não causou alterações locais de relevância clínica. O aumento da sensibilidade local e o discreto edema foram provavelmente o resultado da resposta inflamatória local produzida pelo procedimento cirúrgico, com dissecação segmentar na região, sem que a ligadura dos cotos venosos remanescentes causasse edema da região distal do membro operado, o que poderia ter ocorrido devido a interrupção do retorno venoso da veia cefálica. Veias outras da região devem ter possibilitado tal demanda de retorno venoso (AUER & STICK, 2012; BUDRAS; RÖCK, 1994).

A drenagem da região distal do membro é feita pelas veias: cefálica, cefálica acessória, cubital e mediana (BUDRAS et al., 2003), este fato poderia ser a razão pela qual não houve o grau de desenvolvimento de edema neste estudo, diferente do que acontece quando há tromboflebite na veia jugular compromete a drenagem (KLOHNEN, 2009; RUSSELL et al., 2010).

Os animais não apresentam alterações no exame clínico geral após ressecção do segmento da veia cefálica, sendo apenas observadas alterações locais. Em contrapartida observamos em animais com tromboflebite jugular a presença de congestão venosa cervical e cefálica, além do ingurgitamento de

regiões da face (parotídea, submandibular, frontal e nasal), que podem inclusive comprometer a vida do animal (HUSSNI et al., 2009; BORGHESAN et al., 2012).

A claudicação e o edema apresentados no animal A1, não foram significativos ao ponto de não ser preciso o resgate. Os sinais clínicos provavelmente seriam associados ao excesso de força no momento da aplicação da bandagem. Não houve mais anormalidades no exame físico e após retirada dos pontos os animais foram liberados em piquetes, mantendo a normalidade mesmo após 6 meses depois do procedimento cirúrgico. Neste contexto, a evolução favorável dos animais após ressecção da veia sugere que a veia cefálica seja um ótimo modelo experimental no estudo da cirurgia vascular no equino.

Na avaliação histopatológica a túnica média, a túnica adventícia e o tecido perivascular do segmento sem pinçamento são facilmente identificáveis nos aumentos 2X e 10X podendo-se observar a preservação da arquitetura normal do vaso (ROSS; PAWLINA, 2012), em 20X na região da túnica média estão presentes as CML e fibras de colágeno dispostas em arranjo circular, os núcleos alongados e fusiformes das fibras musculares lisas e alguns com aparência de saca-rolhas quando contraídos foram observados no nosso trabalho como foi descrito por Ross e Pawlina (2012). Na túnica adventícia é visibilizado também fibras de colágeno e elásticas com CML dispostas transversalmente, além de pequenos vasos de paredes muito finas e contendo no seu interior células vermelhas, sendo estes os *Vasa Vasorum*, o que corresponde ao padrão normal das veias (BACHA; BACHA, 2012). O colágeno e tecido conjuntivo propriamente dito é marcado com a coloração azul e as fibras musculares vermelhas na coloração TM, similar ao observado por Aughey e Frye, (2001). No aumento de 40X, foi possível identificar o endotélio nele ressaltam os núcleos das células endoteliais dispostas em uma única camada celular plana, continua e ininterrupta, o que concorda com o observado em outras veias de cavalos (AUGHEY; FRYE, 2001).

Como observado nas lâminas os segmentos sem pinçamento dos animais do experimento apresentaram características de normalidade comparáveis com as lâminas de veias descritas na literatura, tornando-se este segmento no padrão comparativo para cada segmento pinçado.

A avaliação morfométrica nos segmentos sem pinçamento das túnicas média e adventícia foi diferente em todos os indivíduos, mas a espessura da sua íntima e o percentagem de colágeno foram iguais. Quando avaliados os segmentos pinçados, foi observado que as pinças que causaram maior lesão foram as com fechamento tipo cremalheira (a Rochester reta e Debakey com cremalheira), similar ao apresentado no trabalho de Lee et al. (2008), onde a maior força foi gerada pelas pinças laparoscópicas com este tipo de fechamento.

A pinça Rochester foi a que apresentou maior lesão, seguida pela pinça De Bakey com cremalheira, sendo esta última pinça um excelente ponto de comparação dados os resultados apresentados por outros pesquisadores que tem testado sua força e as alterações produzidas quando utilizadas na oclusão temporária (MANSHIP et al., 1985; MOORE et al., 1985; DOBRIN et al., 1992; MARGOVSKY et al., 1997; MARGOVSKY et al., 1999; DARCIN et al., 2004; OZALP et al., 2009).

Pinças com fechamento autoestático ou tipo Bulldog causaram menor lesão, pois a força de fechamento é menor que a que aplicada no primeiro ponto de fechamento de pinças tipo cremalheira, como observado por Kuo et al. (1993) e Lee et al. (2008).

A túnica vascular que apresentou maior grau de compressão foi a túnica íntima. As lesões geradas nesta túnica podem resultar em complicações catastróficas na cirurgia vascular (SLAYBACK et al., 1976; GERSAK et al., 1996; BABIN-EBELL et al., 2010).

As alterações morfológicas geradas pelos pinçamentos nas veias cefálicas de equinos com a pinça De Bakey cremalheira foram similares às reportadas em artérias de ovelhas, quando foram pinçadas pelo mesmo período de 15 minutos (MARGOVSKY et al., 1999).

Os escores mais altos na escala de Margovsky et al. (1997) foram obtidos pelas pinças tipo cremalheira e no comparativo do serrilhamento foi o transversal que causou mais alterações na parede da veia cefálica. É importante destacar que a pinça Rochester apresentou, além, fragmentação das túnicas média e adventícia em alguns indivíduos, mesmo que obteve o maior grau na escala de Margovsky et al. (1997) foram observados danos adicionais, pode se afirmar que sua aplicação na oclusão temporária esta

contraindicada, como no caso do trabalho de Lee et al. (2008), a força gerada pelas pinças com fechamento tipo cremalheira foi suprafisiológica.

O grau de lesão ocasionado pelas pinças com o fechamento autoestático foi menor, suas alterações foram classificadas de leves a moderadas, este grau de alterações poderiam não resultar em complicações significativas. Quando as alterações foram severas, como aconteceu com as pinças tipo cremalheira, meses depois são encontradas as alterações morfológicas nos vasos pinçados por este instrumental (JACKIEWICZ et al., 1996).

Pela avaliação morfométrica nos segmentos pinçados permitiu estabelecer uma ordem de diferentes graus de compressão das pinças aplicadas no estudo, do mesmo modo que foi feito na avaliação morfológica, a pinça que causou maior compressão também gerou as maiores alterações morfológicas. Nos dos tipos de avaliação a pinça Rochester reta obteve o maiores escores, seguida pela De Bakey com cremalheira, depois Diffenbach Bulldog e finalmente a De Bakey Bulldog que foi a que causou menores alterações nos vasos.

O aprimoramento das técnicas cirúrgicas precisa da experimentação na procura do aperfeiçoamento, diferentes técnicas inovadoras para o controle da pressão das pinças (DARCIN et al., 2004; ZHANG et al., 2013) poderiam oferecer alternativas para diminuir o impacto das oclusões temporárias. A oclusão feita empregando o balão intraluminal no trabalho de Ozalp et al. 2009, quando comparado com a pinça De Bakey, foi a técnica de oclusão com menor dano na parede vascular, isto pode ser determinante ainda mais quando as intervenções cirúrgicas são feitas em vasos acometidos por vasculopatias. No estudo de Moore et al. (1988), as laçadas elásticas foram ainda menos traumáticas que a oclusão feita com o balão intraluminal. Dobrin (1992) reportou melhores resultados quando comparada com a pinça De Bakey.

Segundo Dujovny et al. 1979, a força necessária para conseguir a oclusão temporária efetiva e segura de um vaso poderia resultar de um cálculo matemático onde participam a pressão sanguínea, o diâmetro do vaso, a elasticidade da parede e a superfície de contato da pinça com o vaso. No caso das veias a mínima força de oclusão vascular será menor quando comparadas com artérias de calibre similar só pelo fato de que a pressão sanguínea venosa

e menor do que é a arterial, porém, as alterações produzidas pela pinça De Bakey com cremalheira nas veias cefálicas dos equinos neste trabalho foram as mesmas que descritas por Margovsky et al. 1999, em artérias carótida e femoral de ovelhas.

O tempo de pinçamento do vaso de 15 minutos utilizado neste estudo são suficientes para pequenas intervenções cirúrgicas pelo que outros autores testaram as pinças nesta medida de tempo (DARCY et al., 2004; MARGOVSKY et al., 1999; KUO et al., 1993; MORE et al., 1985; MANSHIP et al., 1985), outros estudos com maior tempo (OZALP et al., 2009; DOBRIN et al., 1992; BABIN et al., 2010) 30 minutos e (SLAYBACK et al., 1976) 60 minutos resultaram em achados similares nas lesões produzidas pelas pinças nos vasos o que demonstrou que a lesão é mais dependente da força de aplicação das pinças que do tempo da sua permanência.

Neste estudo a aplicação das pinças foi feita em equinos sadios pelo que os resultados poderiam ser diferentes quando os vasos a intervier estejam sob a influência de algum tipo de alteração, no trabalho de Slayback et al., 1976, o pinçamento de artérias de coelhos resultou em maiores lesões em coelhos alimentados com dietas aterogênicas.

## 6. CONCLUSÕES

Todas as pinças geram alterações morfológicas e morfométricas nos segmentos submetidos a pinçamento.

As maiores lesões foram causadas pelas pinças Rochester reta e De Bakey cremalheira que apresentam fechamento de tipo cremalheira, as lesões observadas nas laminas correspondem a alterações morfológicas que podem levar a complicações pós-cirúrgicas. As pinças Diffenbach bulldog e De Bakey bulldog causaram lesões leves e as alterações morfológicas não sugerem complicações derivadas da sua aplicação.

O tipo de serrilhamento também influenciou nas lesões observadas, o serrilhamento longitudinal das pinças De Bakey bulldog e De Bakey cremalheira gerou lesões menores comparadas com as pinças Diffenbach bulldog e Rochester reta respectivamente.

Tanto a avaliação morfológica como morfométrica foram úteis para identificar o maior ou menor grau de alterações produzidas pelas pinças nas diferentes túnicas.

## 7. REFERÊNCIAS

AUER, J. A.; STICK, J. A. *Equine surgery*. 2.ed. Philadelphia: WB Saunders, 2012. 1214p.

AUKLAND, A.; HURLOW, R. A. Carotid stenosis due to clamp injury. *Br Med J*, v. 282, n. 6281, p. 2013, 1981.

BABIN-EBELL, J. Gimpel-Henning, K. Sievers, H. H. Scharfschwerdt, M. Influence of clamp duration and pressure on endothelial damage in aortic cross-clamping. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, v. 10, n. 2, p. 168-171, 2010.

BORGHESAN, C.; CERQUEIRA, N. F.; HUSSNI, C. A.; ALVES, A. L. G.; BARBOSA, R. G.; FONSECA, P. A.; MELLO, J. L. FISIOPATOLOGIA DA TROMBOSE E TROMBOFLEBITE DA VEIA JUGULAR DE EQÜINOS: REVISÃO. *Veterinária e Zootecnia*, v. 16, n. 1, p. 26-37, 2012.

BRITO, C. J. D.; DUQUE, A.; MERLO, I.; SILVA, R. M. *Cirurgia vascular*. 2.ed. Rio de Janeiro: Livraria e Editora Revinter, 2008. 1236p.

BUDRAS, K-D; RÖCK, S. Atlas de Anatomie des Pferdes, 2.ed. Germany: Schlütersche, 1994. 144p.

BUDRAS, K.-D.; SACK, W. O.; ROCK, S. *Anatomy of the horse: an illustrated text*. 5.ed. Germany: Schlütersche, 2003. 199p.

CANNON, J.; RANTANEN, N. W.; GRANT, B. D.; KECK, M. T. Jugular venous prosthesis on the horse: a preliminary report. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 3, n. 6, p. 185-189, 1983.

CARVALHO, M. H. C.; NIGRO, D.; LEMOS, V. S.; TOSTES, R. C. A.; FORTES, Z. B. Hipertensão arterial: o endotélio e suas múltiplas funções. *Rev Bras Hipertens*, v. 8, n. 1, p. 76-88, 2001.

DARCIN, O. T.; CENGIZ, M.; OZARDALI, I.; ANDAC, M. H. Pressure-controlled vascular clamp: a novel device for atraumatic vessel occlusion. *Ann Vasc Surg*, v. 18, n. 2, p. 254-256, 2004.

DOBRIN, P. B.; MCGURRIN, J. F.; MCNULTY, J. A. Chronic histologic changes after vascular clamping are not associated with altered vascular mechanics. *Ann Vasc Surg*, v. 6, n. 2, p. 153-159, 1992.

DORNBUSCH, P.T. Implante venoso homólogo conservado em glutaraldeído da veia jugular em equinos: avaliação clínica, ultrassonográfica e histopatológica. 2002. 70f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu.

DUJOVNY, M.; WAKENHUT, N.; KOSSOVSKY, N.; GOMES, C. W.; LAHA, R. K.; LEFF, L.; NELSON, D. Minimum vascular occlusive force. *J Neurosurg*, v. 51, n. 5, p. 662-668, 1979.

FEITOSA, F.L.F. *Semiologia Veterinária: A Arte do Diagnostico*. 3ed. São Paulo: Editora Roca, 2014. p.644.

GERAGHTY, T. E.; LOVE, S.; TAYLOR, D. J.; HELLER, J.; MELLOR, D. J.; HUGHES, K. J. Assessment of subclinical venous catheter-related diseases in horses and associated risk factors. *Vet Rec*, v. 164, n. 8, p. 227-231, 2009.

GERSAK, B.; TROBEC, R.; KRISCH, I.; PSENICNIK, M. Loss of endothelium-mediated vascular relaxation as a response to various clamping pressures. *Eur J Cardiothorac Surg*, v. 10, n. 8, p. 684-689, 1996.

HUSSNI, C. A.; DORNBUSCH, P. T.; YOSHIDA, W. B.; ALVES, A. L. G.; NICOLETTI, J. L. M.; MAMPRIM, M. J.; VULCANO, L. C. Trombectomia com cateter de Fogarty no tratamento da tromboflebite jugular experimental em equinos. *Pesq. Vet. Bras*. v.29, p. 45-51, 2009.

JACKIEWICZ, T. A.; MCGEACHIE, J. K.; TENNANT, M. Structural recovery of small arteries following clamp injury: a light and electron microscopic investigation in the rat. *Microsurgery*, v. 17, n. 12, p. 674-680, 1996.

JACOB, M. P. Extracellular matrix remodeling and matrix metalloproteinases in the vascular wall during aging and in pathological conditions. *Biomedicine & pharmacotherapy*, v. 57, n. 5, p. 195-202, 2003.

KABARA, M.; KAWABE, J.; MATSUKI, M.; HIRA, Y.; MINOSHIMA, A.; SHIMAMURA, K.; YAMAUCHI, A.; AONUMA, T.; NISHIMURA, M.; SAITO, Y. Immortalized multipotent pericytes derived from the vasa vasorum in the injured vasculature. A cellular tool for studies of vascular remodeling and regeneration. *Lab Invest*, v. 94, n. 12, p. 1340-1354, 2014.

KLOHNEN, A. New perspectives in postoperative complications after abdominal surgery. *Vet Clin North Am Equine Pract*, v. 25, n. 2, p. 341-350, 2009.

KUO, J.; RAMSTEAD, K.; SALIH, V.; COUMBE, A.; GRAHAM, T. R.; LEWIS, C. T. Effect of vascular clamp on endothelial integrity of the internal mammary artery. *Ann Thorac Surg*, v. 55, n. 4, p. 923-926, 1993.

LANKVELD, D. P.; ENSINK, J. M.; VAN DIJK, P.; KLEIN, W. R. Factors influencing the occurrence of thrombophlebitis after post-surgical long-term intravenous catheterization of colic horses: a study of 38 cases. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, v. 48, n. 9, p. 545-552, 2001.

LEE, H. J. BOX, G. N.; ABRAHAM, J. B.; ELCHICO, E. R.; PANAH, R. A., TAYLOR, M. B.; MOSKOWITZ, R.; DEANE, L. A.; MCDUGALL, E. M.; CLAYMAN, R. V. Laboratory evaluation of laparoscopic vascular clamps using a load-cell device--are all clamps the same? *J Urol*, v. 180, n. 4, p. 1267-1272, 2008.

MAFFEI, F. H. D. A.; LASTÓRIA, S.; YOSHIDA, W. B; ROLLO, H. A.; GIANNINI, M., MOURA, R. *Doenças vasculares periféricas*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 1094p.

MAIR, T. S.; SMITH, L. J. Survival and complication rates in 300 horses undergoing surgical treatment of colic. Part 2: Short-term complications. *Equine Vet J*, v. 37, n. 4, p. 303-309, 2005.

MANSHIP, L. L.; MOORE, W. M.; BYNOE, R.; BUNT, T. J. Differential endothelial injury caused by vascular clamps and vessel loops. II. Atherosclerotic vessels. *Am Surg*, v. 51, n. 7, p. 401-406, 1985.

MARGOVSKY, A. I.; CHAMBERS, A. J.; LORD, R. S. The effect of increasing clamping forces on endothelial and arterial wall damage: an experimental study in the sheep. *Cardiovasc Surg*, v. 7, n. 4, p. 457-463, 1999.

MARGOVSKY, A. I.; LORD, R. S.; MEEK, A. C.; BOBRY SHEV, Y. V. Artery wall damage and platelet uptake from so-called atraumatic arterial clamps: an experimental study. *Cardiovasc Surg*, v. 5, n. 1, p. 42-47, 1997.

MEHTA, D.; RAVINDRAN, K.; KUEBLER, W. M. Perspective: Novel regulators of endothelial barrier function. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, v. 7, n. 12, p. 924-935, 2014.

MINDERJAHN, A.; DAHM, H. H. Scanning electron microscope observations of microvascular anastomosis in the rat carotid artery. *J Maxillofac Surg*, v. 7, n. 3, p. 225-234, 1979.

MOORE, W. M.; BUNT, T. J.; HERMANN, G. D.; FOGARTY, T. J. Assessment of transmural force during application of vascular occlusive devices. *J Vasc Surg*, v. 8, n. 4, p. 422-427, 1988.

MOORE, W. M.; MANSHIP, L. L.; BUNT, T. J. Differential endothelial injury caused by vascular clamps and vessel loops. I. Normal vessels. *Am Surg*, v. 51, n. 7, p. 392-400, 1985.

MYERS, C. J.; MAGDESIAN, K. G.; KASS, P. H.; MADIGAN, J. E.; RHODES, D. M.; MARKS, S. L. Parenteral nutrition in neonatal foals: clinical description, complications and outcome in 53 foals (1995-2005). *Vet J*, v. 181, n. 2, p. 137-144, 2009.

NIERENBERGER, M.; FARGIER, G.; AHZI, S.; RÉMOND, Y. Evolution of the three-dimensional collagen structure in vascular walls during deformation: an in situ mechanical testing under multiphoton microscopy observation. *Biomech Model Mechanobiol*, v. 31, p. 31, 2014.

OWENS, G. K.; KUMAR, M. S.; WAMHOFF, B. R. Molecular regulation of vascular smooth muscle cell differentiation in development and disease. *Physiol Rev*, v. 84, n. 3, p. 767-801, 2004.

OZALP, B.; CANBAZ, S.; HUSEYINOVA, G.; DURAN, E. Histopathological comparison of vascular wall damage created by external cross-clamp and intraluminal balloon occlusion techniques. *J Cardiovasc Surg*, v. 50, n. 4, p. 545-553, 2009.

PABST, T. S. R.; FLANIGAN, D. P.; BUCHBINDER, D. Reduced intimal injury to canine arteries with controlled application of vessel loops. *J Surg Res*, v. 47, n. 3, p. 235-241, 1989.

PALMER, S. E.; HOGAN, P. M. How to perform regional limb perfusion in the standing horse. *Proceedings*, 1999. p.124-127.

PEARSON, J. D. Endothelial cell function and thrombosis. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, v. 12, n. 3, p. 329-341, 1999.

REED, S. M.; BAYLY, W. M.; SELTON, D. C. *Equine internal medicine*. 3.ed. St. Louis: Saunders, 2009. 1466p.

RIJKENHUIZEN, A.; SWIETEN, H. Reconstruction of the jugular vein in horses with post thrombophlebitis stenosis using saphenous vein graft. *Equine veterinary journal*, v. 30, n. 3, p. 236-239, 1998.

RIVERO, Z. R. Caracterización de la trombomodulina, un anticoagulante natural. *Revista Cubana de Angiología y Cirugía Vascul*, v. 1, n. 2, p. 118-124, 2000.

ROSS, M.; DYSON, S. *Diagnosis and Management of lameness in the horse*. St. Louis: Saunders, 2003. 1140p.

ROOS, M. H.; PAWLINA, W. Sistema cardiovascular. In:\_\_\_\_. *Histologia: texto e atlas em correlação com biologia celular e molecular*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. cap. 13, p. 410-449.

RUSSELL, T. M.; KEARNEY, C.; POLLOCK, P. J. Surgical treatment of septic jugular thrombophlebitis in nine horses. *Veterinary Surgery*, v. 39, n. 5, p. 627-630, 2010.

SACHS, M.; AUTH, M.; ENCKE, A. Historical development of surgical instruments exemplified by hemostatic forceps. *World J Surg*, v. 22, n. 5, p. 499-504, 1998.

SCHALLER, O. *Illustrated veterinary anatomical nomenclature*. 2.ed. Germany: Enke Verlag, 2007. 614p.

SILVA, B. R.; PERNOMIAN, L.; BENDHACK, L. M. Contribution of oxidative stress to endothelial dysfunction in hypertension. *Front Physiol*, v. 3, p. 441, 2012.

SILVA, V. F.; ISHIGAI, M. M. S.; FREYMÜLLER, E.; BRANCO, J. N. R.; GAIA, D. F.; GABRIEL, E. A.; ROMÃO, R. A. L.; BUFFOLO, E. Avaliação microscópica e ultra-estrutural do endotélio de veia safena preparada pela técnica “no touch”. *Rev Bras Cir Cardiovasc*, v. 23, n. 3, p. 323-329, 2008.

SLAYBACK, J. B.; BOWEN, W. W.; HINSHAW, D. B. Intimal injury from arterial clamps. *Am J Surg*, v. 132, n. 2, p. 183-8, 1976.

TARBELL, J. M.; SHI, Z. D.; DUNN, J.; JO, H. Fluid Mechanics, Arterial Disease, and Gene Expression. *Annu Rev Fluid Mech*, v. 46, p. 591-614, 2014.

TRAUB-DARGATZ, J. L.; DARGATZ, D. A. A retrospective study of vein thrombosis in horses treated with intravenous fluids in a veterinary teaching hospital. *J Vet Intern Med*, v. 8, n. 4, p. 264-6, 1994

VAN HINSBERGH, V. W. The endothelium: vascular control of haemostasis. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, v. 95, n. 2, p. 198-201, 2001.

ZHANG, Y. et al. Pressure controlled clamp using shape memory alloy for minimal vessel invasion in blood flow occlusion. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*, v. 19, n. 1, p. 35-42, 2013.

## **8. ARTIGO CIENTÍFICO**

**APLICAÇÃO DE DIFERENTES PINÇAS HEMOSTÁTICAS EM VEIAS DE EQUINOS: ESTUDO MORFOLÓGICO.**

**APPLICATION OF DIFFERENT HEMOSTATIC CLAMPS IN HORSE'S VEINS: A MORPHOLOGICAL STUDY**

**APLICACIÓN DE DIFERENTES PINZAS HEMOSTATICAS EN VENAS DE EQUINOS: ESTUDIO MORFOLOGICO.**

## **APLICAÇÃO DE DIFERENTES PINÇAS HEMOSTÁTICAS EM VEIAS DE EQUINOS: ESTUDO MORFOLÓGICO.**

Foi realizada a avaliação morfológica da veia cefálica submetida à pinçamento de cinco equinos hígidos. Foram testadas as pinças hemostáticas: Diffenbach bulldog, De Bakey bulldog, Rochester reta e De Bakey com cremalheira. Após 15 minutos da aplicação das referidas pinças, foi realizada a flebectomia parcial e coletadas as amostras referentes a cada segmento do vaso pinçado e do segmento controle sem pinçamento. Das peças procedeu-se as preparações histológicas dos segmentos da veia nas colorações de Hematoxilina-Eosina e Tricrômio de Masson, os cortes histológicos foram avaliados por microscopia óptica. Foi realizada análise morfológica das veias, utilizando para isto uma escala de avaliação de lesões vasculares após pinçamento; As pinças com serrilhamento transversal e fechamento tipo cremalheira causaram as maiores alterações, observou se marcada vacuolização das células musculares e desarranjo na túnica media com perda marcada das células endoteliais da túnica intima do vaso estudado.

Palavras-chaves: Histometria, flebectomia, tromboflebite, hemostasia.

## **APPLICATION OF DIFFERENT HEMOSTATIC CLAMPS IN HORSE'S VEINS: A MORPHOLOGICAL STUDY**

Morphologic evaluation of the cephalic vein of five healthy horses submitted to clamping was done. Hemostatic clamps tested were Dieffenbach bulldog, De Bakey bulldog, Rochester straight and De Bakey with ratchets. 15 minutes after mentioned clamps were applied partial phlebotomy was performed and histologic sections of the veins were prepared and stained with Hematoxylin-Eosin and Masson Trichrome, after the stained preparations were evaluated by light microscopy. The morphological analysis of the veins was performed using a rating scale of vascular lesions after clamping. The hemostats with transverse serration and ratcheted mechanism caused major changes, pronounced vacuolization of the muscle cells, derangement of the medium tunic and marked loss of endothelial cells of the intima tunic was observed in the vessel studied.

Key words: Histometry, phlebotomy, thrombophlebitis, hemostasis.

## **APLICACIÓN DE DIFERENTES PINZAS HEMOSTATICAS EN VENAS DE EQUINOS: ESTUDIO MORFOLOGICO.**

Evaluación morfológica de la vena cefálica de cinco equinos saludables sometida a pinzamiento fue realizada. Las pinzas hemostáticas evaluadas fueron Diffenbach bulldog, De Bakey Bulldog, Rochester recta y De Bakey cremallera. Después de 15 minutos de aplicadas las pinzas mencionadas fue realizada la flebectomía y los diferentes cortes histológicos de las venas fueron preparados y coloraciones de Hematoxilina-Eosina y Tricrimico de Mansson fueron evaluadas por microscopia de luz. El análisis morfológico de la vena fue realizado usando una escala de lesiones vasculares post pinzamiento. Las pinzas hemostáticas con serrillamiento transversal y cierre de tipo cremallera fueron las que generaron mas cambios, marcada vacuolización de las células musculares en la túnica media y pérdida evidente del número de células endoteliales en la túnica intima de la vena estudiada.

Palabras clave: Histometria, flebectomía, tromboflebitis, hemostasia.

## INTRODUÇÃO

Uma cirurgia vascular precisa da aplicação de pinças hemostáticas o que invariavelmente resulta em trauma vascular (1, 2), um campo cirúrgico sem sangue, manuseio suave e cuidadoso são quesitos necessário para realização de uma reparação vascular (3), além de prevenir a formação da trombose, evitando assim trauma nas estruturas dos vasos sanguíneos. (4, 5). Quanto menor o tempo de aplicação das pinças para fazer a oclusão dos vasos, menor é o trauma produzido ao endotélio (6).

A força necessária para conseguir a oclusão segura e eficiente dos vasos é chamada mínima força de oclusão vascular, as variáveis que determinam esta força são: diâmetro do vaso, pressão sanguínea, área de contato e elasticidade do vaso (4). A força de aplicação das pinças tem correlação positiva com a extensão da lesão da parede arterial (7).

Artérias carótida e femoral de ovelhas (8, 7), artéria subclávia e carótida de porcos (9, 10), artéria carótida e aorta de ratos (11, 5, 2), artérias femoral, carótida e aorto-iliaca de cães (3, 12, 13,14, 15), artéria aorta abdominal e auricular de coelhos (16, 17), tem sido testadas com diferentes pinças, porém não existem trabalhos avaliando as alterações produzidas pelos pinçamentos em veias de equinos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os procedimentos desse projeto foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista – UNESP- Botucatu/SP, Protocolo N° 17/2014-CEUA. Foram utilizados equinos hípidos, com idade média de sete anos, fêmeas, com 350 Kg de massa corporal média. Os animais foram mantidos em baias e alimentados com feno e água a vontade no período experimental

O procedimento cirúrgico com a colocação das pinças hemostáticas na veia cefálica de cada animal se deu após jejum de 12 horas, com os animais mantidos em tronco e tranquilizados com 1 mg/kg de xilazina 10%<sup>9</sup>, por via intravenosa. Em seguida, realizou-se o bloqueio anestésico regional 5 ml de cloridrato de lidocaína 2% sem vasoconstritor<sup>10</sup>. Após antisepsia foi feito o acesso cirúrgico à veia cefálica foi realizado por incisão da pele com bisturi sobre a veia em questão, posicionado em sentido axial ao rádio, com comprimento aproximado de dez centímetros. Em seguida foi realizada a divulsão dos tecidos adjacentes com tesoura Mayo romba, fazendo a exposição de segmento venoso de aproximadamente seis centímetros. A sequência de aplicação das pinças de proximal para distal foi feita mediante alternância em substituição onde P1 (Diffenbach bulldog), P2 (De Bakey bulldog), P3 (Rochester reta) ao P4 (De Bakey com cremalheira) representam as pinças e o Segmento Sem Pinçamento (SSP) foi controle comparativo com os demais segmentos pinçados, as pinças com cremalheira (Rochester e De Bakey) foram aplicadas empregando o máximo ponto de fechamento. O segmento SSP foi sempre localizado um centímetro mais proximal que a primeira pinça e a distância entre as pinças foi de cinco milímetros. A distribuição variada da aplicação das pinças teve por intenção a não ocorrência de interferências entre elas na repetição do posicionamento destas no vaso.

---

<sup>9</sup> Sedomin 10% cloridrato de xilazina. Fco x 20 ml König

<sup>10</sup> Xylestesin 2 % sem vasoconstritor – Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos

Após 15 minutos da aplicação das pinças foi feita a ressecção do segmento de veia cefálica e imediatamente coletados os fragmentos para exames histopatológicos.

Os cotos proximal e distal da veia cefálica foram submetidos à ligadura com fio Vicryl® (Poliglactina nº 2-0). Seguiu sutura de pele com náilon 2-0 em padrão simples contínuo. Após curativo local com clorexidina 4% foi aplicado penso protetor sobre a ferida cirúrgica.

Os segmentos vasculares retirados no ato cirúrgico foram coletados e cada fragmento de vaso pinçado e o segmento sem pinçamento (SSP), liberado da pinça e colocado em solução fixadora ALFAC (álcool, formol e ácido acético). Após a fixação dos segmentos foram processados para inclusão em paraplast, esse procedimento foi realizado no Laboratório de Histologia da Unidade de Pesquisa Experimental – UNIPEX. As amostras foram processadas e preparadas as lâminas para microscopia óptica, coradas com Hematoxilina-Eosina (HE) e Tricrômio de Masson (TM).

O grau de lesão da parede foi qualificado a partir de uma escala adaptada de 0 a 3, descrita por Margovsky et al. (1997 e 1999), onde “0” corresponde à ausência de lesão e “3” a lesão grave, para fazer a adaptação da escala foram retiradas as observações da lamina elástica dada a ausência de esta estrutura nas veias.

Gráus de lesão vascular observados nas preparações histológicas para microscopia de luz após aplicação de pinças hemostáticas nas veia cefálica de equinos:

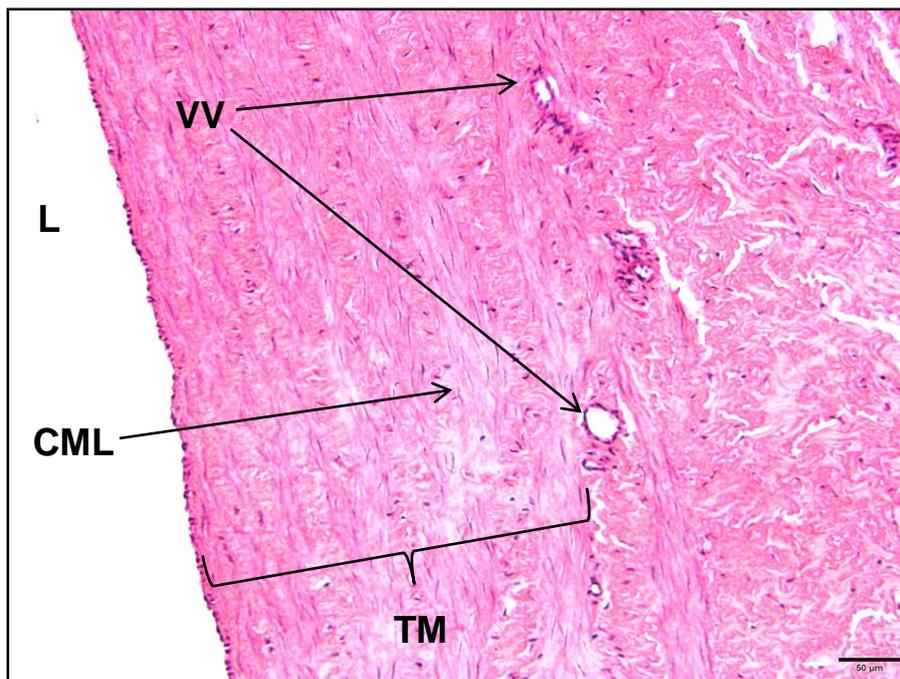
- Grau 0 (sem lesão) - Não são observados danos nas túnicas íntima, média ou adventícia.
- Grau 1 (lesão discreta) - Dano discreto no endotélio, leve vacuolização e desarranjo das células musculares na túnica média.
- Grau 2 (lesão moderada) - Vacuolização das células musculares na média, ruptura parcial e perda significativa de células endoteliais.
- Grau 3 (lesão intensa) - Maior perda de células endoteliais, significativa vacuolização nas células musculares na média e desarranjo marcado da mesma.

Os resultados foram apresentados de modo descritivo, fazendo o comparativo dos segmentos sem pinçamento com os diferentes segmentos submetidos aos pinçamentos com respectivos instrumentais.

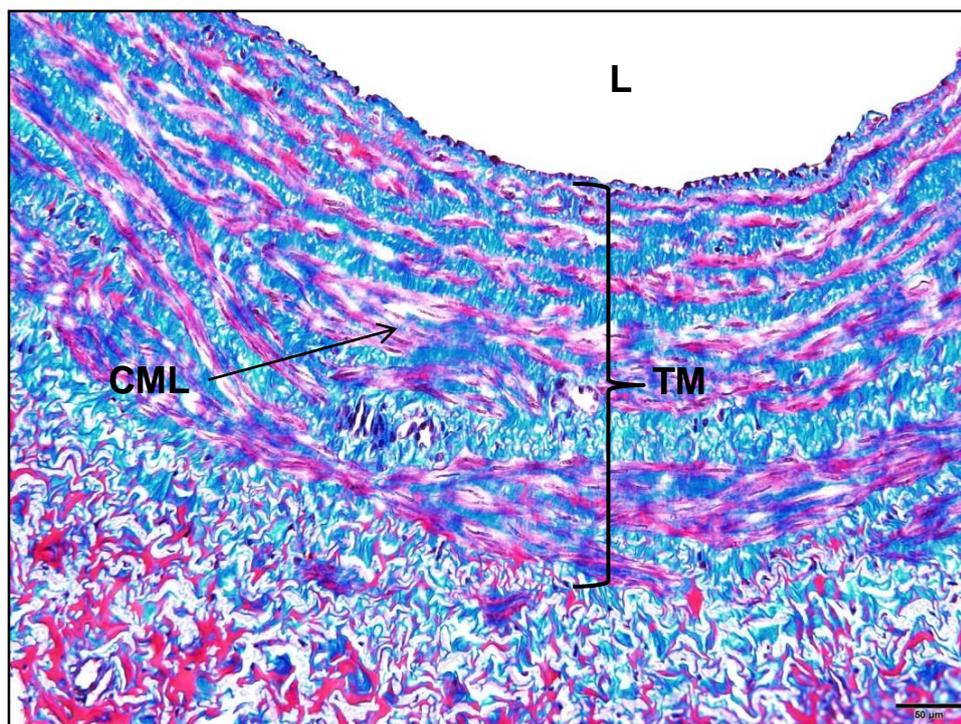
## RESULTADOS

Na avaliação histopatológica feita pela coloração de HE e TM do segmento sem pinçamento dos animais do experimento pode se observar a preservação da arquitetura normal do vaso sendo facilmente identificáveis nos aumentos de 2X e 10X a luz do vaso, a túnica média, a túnica adventícia e tecido perivascular.

Utilizando o aumento de 20X na região da túnica média estão presentes as CML e fibras de colágeno dispostas em arranjo circular e observadas na coloração de HE com tonalidades variadas acidofílicas. Na adventícia é visibilizado também fibras de colágeno e elásticas com CML dispostas transversalmente. O colágeno e tecido conjuntivo propriamente dito é marcado com a coloração azul e as fibras musculares vermelhas na coloração TM. Pode-se observar também na túnica adventícia, pequenos vasos de paredes muito finas e contendo no seu interior células vermelhas, sendo estes os *Vasa Vasorum* (Figura 1 e 2).



**FIGURA 1.** Fotomicrografia do segmento sem pinçamento da veia cefálica do Animal A1 no aumento de 20X e na tingção de HE, (L) Luz do vaso; (TM) Túnica média; (VV) *Vasa Vasorum* e (CML's) Células Musculares Lisas

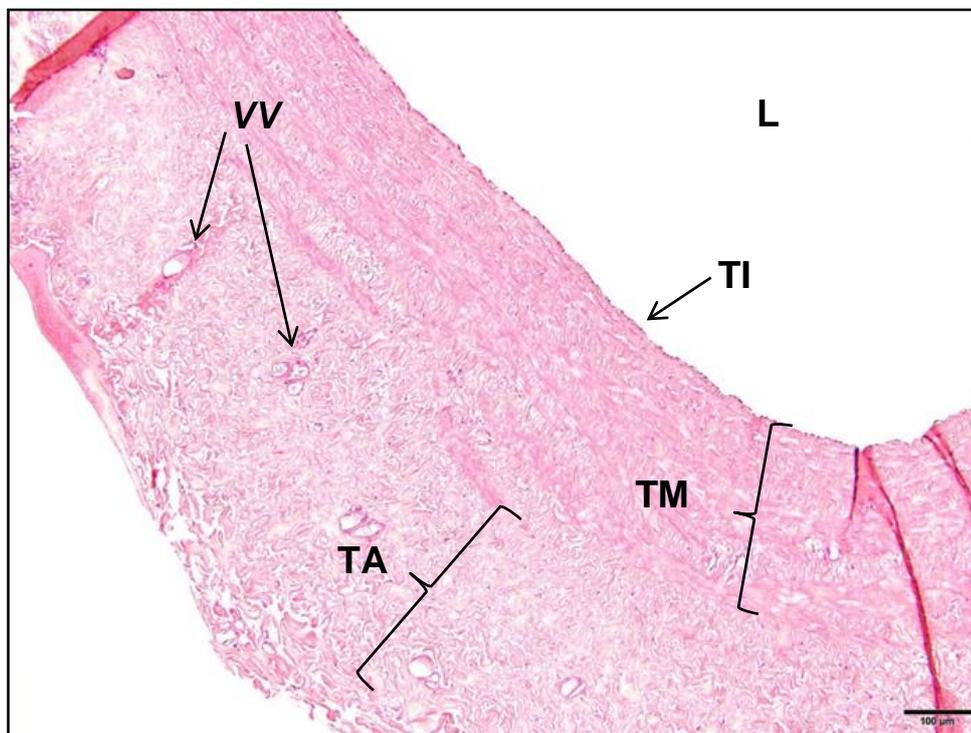


**FIGURA 2.** Fotomicrografia do segmento sem pinçamento da veia cefálica do Animal A5 no aumento de 20X e na tingção de TM: (L) Luz do vaso; (TM) Túnica média e (CML's) Células Musculares Lisas.

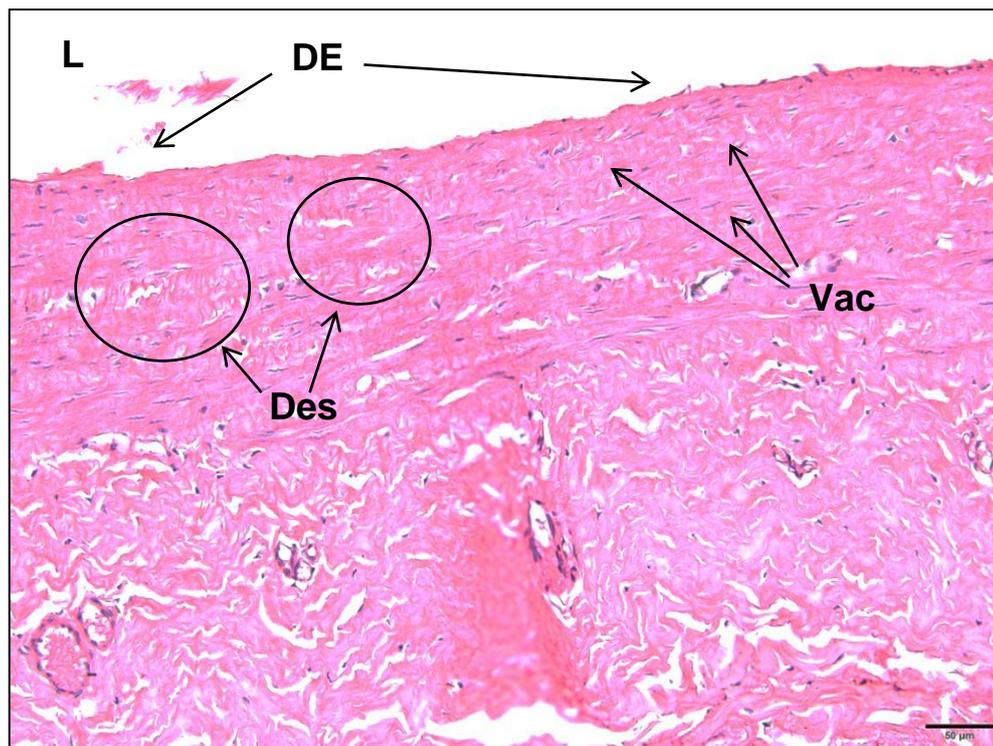
Do lado da luz do vaso é possível identificar o endotélio. Nele ressaltam os núcleos das células endoteliais dispostas em uma única camada celular plana e

ininterrompida. A túnica média apresenta as fibras musculares lisas com os seus núcleos alongados e fusiformes e alguns com aparência de saca-rolhas quando contraídos.

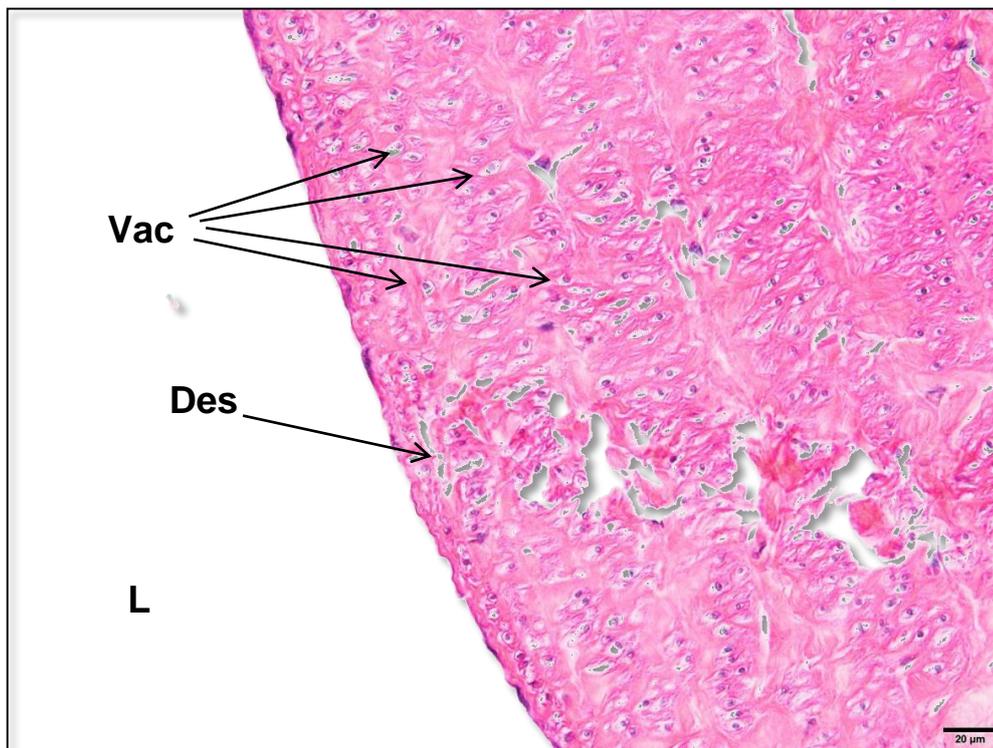
As lâminas dos segmentos de veia cefálica foram avaliadas na microscopia óptica e cada uma classificada segundo o escore adaptado para veias desenvolvido pelo Margovsky et al. (1999) de grau 0 a grau 3 como descritos nas figuras 3, 4, 5, 6 sendo os resultados apresentados na Tabela 1.



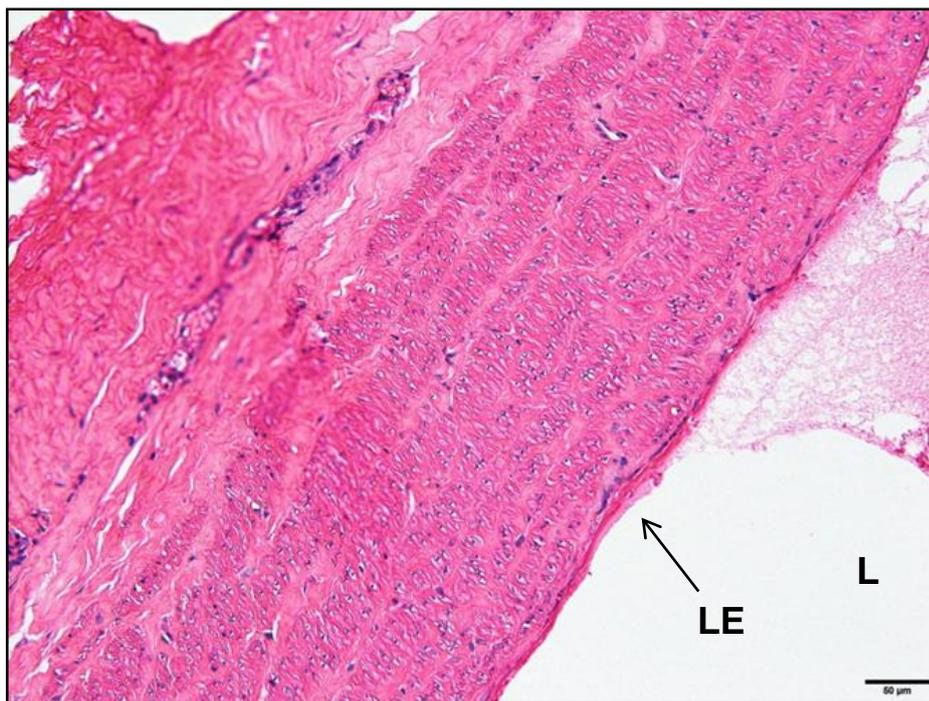
**FIGURA 3.** Fotomicrografia do segmento sem pinçamento da veia cefálica do Animal A5 no aumento de 10X e na coloração HE. Grau 0 (Sem lesão), Não são observados danos nas túnica íntima (TI), média (TM) ou adventícia (TA). Os *Vasa Vasorum* (VV) Indicados pelas setas e a Luz do vaso (L).



**FIGURA 4.** Fotomicrografia de veia cefálica do animal A3 pinçado com a pinça P2 no aumento de 20X e na coloração HE. Grau 1 (Lesão leve), Dano leve no endotélio (DE), leve vacuolização (Vac), desarranjo das células musculares na túnica média (Des) e a Luz do vaso (L).



**FIGURA 5.** Fotomicrografia de veia cefálica do animal A1 pinçado com a pinça P4 no aumento de 40X e na coloração HE. Grau 2 (Lesão moderada), Vacuolização (Vac) das células musculares na média, (Des) desarranjo da túnica media, ruptura parcial e perda significativa de células endoteliais e a Luz do vaso (L).



**FIGURA 6.** Fotomicrografia de veia cefálica do animal A2 pinçado com a pinça P4 no aumento de 20X e na coloração HE Grau 3 (Lesão grave), Vacuolização das células musculares na média, ruptura parcial e (Des) desarranjo marcado da túnica media, perda significativa de células endoteliais e a Luz do vaso (L).

**TABELA 1.** Resultados da avaliação morfológica das lâminas pela escala de Margovsky et al. (1997), escores alcançados pelas pinças: (P1) Pinça Diffenbach; (P2) Pinça De Bakey bulldog; (P3) Pinça Rochester; (P4) Pinça De Bakey Cremalheira em cada veia cefálica dos animais experimentais (A1, A2, A3, A4 E A5); ( $\bar{X}$ ) a média.

Pinça	A1	A2	A3	A4	A5
P1	1	2	1	2	2
P2	1	2	1	1	1
P3	3	3	3	3	3
P4	2	3	3	3	3

As pinças que tiveram os escores mais altos foram a pinças com fechamento de tipo cremalheira (Rochester reta-P3 e De Bakey com cremalheira-P4). Quando comparados os tipos de serrilhamento, foram as de serrilhamento transversal (Diffenbach bulldog-P2 e Rochester reta-P3) as que tiveram os maiores escores.

## DISCUSSÃO

Como observado nas laminas os segmentos sem pinçamento dos animais do experimento apresentaram características de normalidade comparáveis com as lâminas de veias descritas na literatura, tornando-se este segmento no padrão comparativo para cada segmento pinçado.

A avaliação morfométrica nos segmentos sem pinçamento das túnicas média e adventícia foi diferente em todos os indivíduos, mas a espessura da sua íntima e o porcentagem de colágeno foram iguais. Quando avaliados os segmentos pinçados, foi observado que as pinças que causaram maior lesão foram as com fechamento tipo cremalheira (a Rochester reta e Debakey com cremalheira), similar ao apresentado no trabalho de Lee et al. (2008), onde a maior força foi gerada pelas pinças laparoscópicas com este tipo de fechamento.

A pinça Rochester foi a que apresentou maior lesão, seguida pela pinça De Bakey com cremalheira, sendo esta última pinça um excelente ponto de comparação dados os resultados apresentados por outros pesquisadores que tem testado sua força e as alterações produzidas quando utilizadas na oclusão temporária (3, 18, 14, 8, 7, 15, 17).

Pinças com fechamento autoestático ou tipo Bulldog causaram menor lesão, pois a força de fechamento é menor que a que aplicada no primeiro ponto de fechamento de pinças tipo cremalheira, como observado por Kuo et al. (1993) e Lee et al. (2008).

As alterações morfológicas geradas pelos pinçamentos nas veias cefálicas de equinos com a pinça De Bakey cremalheira foram similares às reportadas em artérias de ovelhas, quando foram pinçadas pelo mesmo período de 15 minutos (7).

Os escores mais altos na escala de Margovsky et al. (1997) foram obtidos pelas pinças tipo cremalheira e no comparativo do serrilhamento foi o transversal que causou mais alterações na parede da veia cefálica. É importante destacar que a pinça Rochester apresentou, além, fragmentação das túnicas média e adventícia em alguns indivíduos, mesmo que obteve o maior grau na escala de Margovsky et al. (1997) foram observados danos adicionais, pode se afirmar que sua aplicação na oclusão temporária esta contraindicada, como no caso do trabalho de Lee et al. (2008), a força gerada pelas pinças com fechamento tipo cremalheira foi supra-fisiológica.

O grau de lesão ocasionado pelas pinças com o fechamento autoestático foi menor, suas alterações foram classificadas de leves a moderadas, este grau de alterações poderiam não resultar em complicações significativas. Quando as alterações foram severas, como aconteceu com as pinças tipo cremalheira, meses depois são encontradas as alterações morfológicas nos vasos pinçados por este instrumental (2).

O aprimoramento das técnicas cirúrgicas precisa da experimentação na procura do aperfeiçoamento, diferentes técnicas inovadoras para o controle da pressão das pinças (15, 10) poderiam oferecer alternativas para diminuir o impacto das oclusões temporárias. A oclusão feita empregando o balão intraluminal no trabalho de Ozalp et al. 2009, quando comparado com a pinça De Bakey, foi a técnica de oclusão com menor dano na parede vascular, isto pode ser determinante ainda mais quando as intervenções cirúrgicas são feitas em vasos acometidos por vasculopatias. No estudo de Moore et al. (1988), as laçadas elásticas foram ainda menos traumáticas que a oclusão feita com o balão intraluminal. Dobrin (1992) reportou melhores resultados quando comparada com a pinça De Bakey.

Segundo Dujovny et al. 1979, a força necessária para conseguir a oclusão temporária efetiva e segura de um vaso poderia resultar de um cálculo matemático onde

participam a pressão sanguínea, o diâmetro do vaso, a elasticidade da parede e a superfície de contato da pinça com o vaso. No caso das veias a mínima força de oclusão vascular será menor quando comparadas com artérias de calibre similar só pelo fato de que a pressão sanguínea venosa é menor do que é a arterial, porém, as alterações produzidas pela pinça De Bakey com cremalheira nas veias cefálicas dos equinos neste trabalho foram as mesmas que descritas por Margovsky et al. 1999, em artérias carótida e femoral de ovelhas.

O tempo de pinçamento do vaso de 15 minutos utilizado neste estudo são suficientes para pequenas intervenções cirúrgicas pelo que outros autores testaram as pinças nesta medida de tempo (15, 7, 6, 12, 3) outros estudos com maior tempo (17, 14, 9) 30 minutos e (16) 60 minutos resultaram em achados similares nas lesões produzidas pelas pinças nos vasos o que demonstrou que a lesão é mais dependente da força de aplicação das pinças que do tempo da sua permanência.

Neste estudo a aplicação das pinças foi feita em equinos sadios pelo que os resultados poderiam ser diferentes quando os vasos a serem intervier estejam sob a influência de algum tipo de alteração, no trabalho de Slayback et al., 1976, o pinçamento de artérias de coelhos resultou em maiores lesões em coelhos alimentados com dietas aterogênicas.

Todas as pinças geram alterações morfológicas e morfométricas nos segmentos submetidos a pinçamento.

As maiores lesões foram causadas pelas pinças Rochester reta e De Bakey cremalheira que apresentam fechamento de tipo cremalheira, as lesões observadas nas laminae correspondem a alterações morfológicas que podem levar a complicações pós-cirúrgicas. As pinças Diffenbach bulldog e De Bakey bulldog causaram lesões leves e as alterações morfológicas não sugerem complicações derivadas da sua aplicação.

O tipo de serrilhamento também influenciou nas lesões observadas, o serrilhamento longitudinal das pinças De Bakey bulldog e De Bakey cremalheira gerou lesões menores comparadas com as pinças Diffenbach bulldog e Rochester reta respectivamente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aukland A, Hurlow RA. Carotid stenosis due to clamp injury. *Br Med J*. 1981;282(6281).
2. Jackiewicz TA, McGeachie JK, Tennant M. Structural recovery of small arteries following clamp injury: a light and electron microscopic investigation in the rat. *Microsurgery*. 1996;17(12):674-80.
3. Manship LL, Moore WM, Bynoe R, Bunt TJ. Differential endothelial injury caused by vascular clamps and vessel loops. II. Atherosclerotic vessels. *Am Surg*. 1985;51(7):401-6.
4. Dujovny M, Wakenhut N, Kossovsky N, Gomes CW, Laha RK, Leff L, et al. Minimum vascular occlusive force. *J Neurosurg*. 1979;51(5):662-8.
5. Gersak B, Trobec R, Krisch I, Psenicnik M. Loss of endothelium-mediated vascular relaxation as a response to various clamping pressures. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1996;10(8):684-9.
6. Kuo J, Ramstead K, Salih V, Coumbe A, Graham TR, Lewis CT. Effect of vascular clamp on endothelial integrity of the internal mammary artery. *Ann Thorac Surg*. 1993;55(4):923-6.
7. Margovsky AI, Chambers AJ, Lord RS. The effect of increasing clamping forces on endothelial and arterial wall damage: an experimental study in the sheep. *Cardiovasc Surg*. 1999;7(4):457-63.
8. Margovsky AI, Lord RS, Meek AC, Bobryshev YV. Artery wall damage and platelet uptake from so-called atraumatic arterial clamps: an experimental study. *Cardiovasc Surg*. 1997;5(1):42-7.
9. Babin-Ebell J, Gimpel-Henning K, Sievers HH, Scharfschwerdt M. Influence of clamp duration and pressure on endothelial damage in aortic cross-clamping. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2010;10(2):168-71.
10. Zhang Y, Kanetaka H, Sano Y, Kano M, Kudo T, Sato T, et al. Pressure controlled clamp using shape memory alloy for minimal vessel invasion in blood flow occlusion. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 2013;19(1):35-42.
11. Minderjahn A, Dahm HH. Scanning electron microscope observations of microvascular anastomosis in the rat carotid artery. *J Maxillofac Surg*. 1979;7(3):225-34.
12. Darcin OT, Cengiz M, Ozardali I, Andac MH. Pressure-controlled vascular clamp: a novel device for atraumatic vessel occlusion. *Ann Vasc Surg*. 2004;18(2):254-6.
13. Moore WM, Manship LL, Bunt TJ. Differential endothelial injury caused by vascular clamps and vessel loops. I. Normal vessels. *Am Surg*. 1985;51(7):392-400.
14. Pabst TSr, Flanigan DP, Buchbinder D. Reduced intimal injury to canine arteries with controlled application of vessel loops. *J Surg Res*. 1989;47(3):235-41.
15. Dobrin PB, McGurrin JF, McNulty JA. Chronic histologic changes after vascular clamping are not associated with altered vascular mechanics. *Ann Vasc Surg*. 1992;6(2):153-9.
16. Slayback JB, Bowen WW, Hinshaw DB. Intimal injury from arterial clamps. *Am J Surg*. 1976;132(2):183-8.
17. Ozalp B, Canbaz S, Huseyinova G, Duran E. Histopathological comparison of vascular wall damage created by external cross-clamp and intraluminal balloon occlusion techniques. *J Cardiovasc Surg*. 2009;50(4):545-53.

18. Moore WM, Jr., Bunt TJ, Hermann GD, Fogarty TJ. Assessment of transmural force during application of vascular occlusive devices. J Vasc Surg. 1988;8(4):422-7.

## **INSTRUCOES PARA OS AUTORES**

**Disponíveis em:**

<http://www.fmvz.unesp.br/rvz/index.php/rvz/about/submissions#authorGuidelines>.

## ANEXOS

**ANEXO 1.** Exame clínico geral dos animais do estudo no período experimental.

**TABELA 7.** Valores individuais da frequência cardíaca (batimentos por minuto) dos animais do estudo no período experimental: Sendo MP o Momento Pre-cirúrgico 24 horas antes do experimento; M0: o momento do procedimento cirúrgico M1-M12 os momentos em dias do exame físico.

Animais	MP	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12
A1	30	40	32	32	32	32	32	30	34	32	32	30	30	30
A2	34	36	34	30	32	30	28	30	34	34	32	34	34	30
A3	32	32	36	36	38	36	36	36	36	36	36	34	30	32
A4	40	44	46	40	42	42	38	40	32	36	34	36	40	42
A5	32	36	34	36	34	34	34	36	34	34	32	34	34	34

**TABELA 8.** Valores individuais da frequência respiratória (ciclos por minuto) dos animais do estudo no período experimental: Sendo MP o Momento Pre-cirúrgico 24 horas antes do experimento; M0: o momento do procedimento cirúrgico M1-M12 os momentos em dias do exame físico.

Animais	MP	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12
A1	10	12	12	12	10	12	10	12	12	12	10	10	10	10
A2	12	14	12	12	14	12	12	12	10	12	12	10	10	10
A3	12	12	14	12	12	14	12	12	12	10	10	12	10	10
A4	16	18	18	18	16	16	18	22	16	16	18	16	12	16
A5	10	12	10	10	10	10	12	10	8	10	10	12	10	10

**TABELA 9.** Valores individuais da Temperatura corpora (Grãos Celsius) dos animais do estudo no período experimental: Sendo MP o Momento Pre-cirúrgico 24 horas antes do experimento; M0: o momento do procedimento cirúrgico M1-M12 os momentos em dias do exame físico.

Animais	MP	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12
A1	37,3	37,5	37,4	37	37,2	37	37,3	37,5	37,3	37,4	37,6	37	37,2	37,3
A2	37,7	37,5	37,9	37,7	37,6	37,8	37,5	37,5	37,4	37,7	37,2	37,1	37,3	37,4
A3	37,5	37,9	38	38,1	37,3	37,4	37,6	37,9	37,5	37,6	37,8	37,3	37,8	38,1
A4	37,2	37,5	37,3	37	37,6	37,5	37,5	37,5	37,8	37,8	37	38,2	38,3	37,3
A5	38	38,3	37,9	38,2	38,1	38	37,8	37,3	37,3	37,3	37,4	37,6	37,5	37,3

**ANEXO 2.** Medidas e calculo da morfometria dos segmentos sem pinçamento da veia cefálica (SSP) dos cinco animais do trabalho.

**TABELA 10.** Segmento Sem Pinçamento (SSP) do animal experimental A1, foi avaliado fazendo 5 mensurações (1, 2, 3, 4 e 5), para cada variável e calculados a média ( $\bar{X}$ ) e o desvio padrão ( $\pm$ ).

	Medidas absolutas das túnicas ( $\mu\text{m}$ )				Medidas relativas (%)			
	Total	Média	Adventícia	Íntima	Colágeno	Média	Adventícia	Íntima
1	707,65	449,62	246,88	11,15	44,00	63,54	34,89	1,58
2	700,34	493,00	196,60	10,74	42,36	70,39	28,07	1,53
3	721,82	482,65	230,17	9,00	58,24	66,87	31,89	1,25
4	733,64	521,17	200,80	11,67	51,01	71,04	27,37	1,59
5	722,41	498,69	212,61	11,11	45,83	69,03	29,43	1,54
$\bar{X}$	<b>717,17</b>	<b>489,03</b>	<b>217,41</b>	<b>10,73</b>	<b>48,29</b>	<b>68,19</b>	<b>30,31</b>	<b>1,50</b>
$\pm$	13,17	26,15	21,00	1,02	6,44	3,04	3,08	0,14

**TABELA 11.** Segmento Sem Pinçamento (SSP) do animal experimental A2, foi avaliado fazendo 5 mensurações (1, 2, 3, 4 e 5), para cada variável e calculados a média ( $\bar{X}$ ) e o desvio padrão ( $\pm$ ).

	Medidas absolutas das túnicas ( $\mu\text{m}$ )				Medidas relativas (%)			
	Total	Média	Adventícia	Íntima	Colágeno	Média	Adventícia	Íntima
1	339,92	184,21	143,54	12,17	43,68	54,19	42,23	3,58
2	325,86	179,78	136,5	9,58	47,24	55,17	41,89	2,94
3	362,31	168,21	184,24	9,86	45,20	46,43	50,85	2,72
4	354,73	150,97	193,31	10,45	50,21	42,56	54,49	2,95
5	365,16	158,05	198,13	8,98	42,55	43,28	54,26	2,46
$\bar{X}$	<b>349,59</b>	<b>168,24</b>	<b>171,14</b>	<b>10,21</b>	<b>45,78</b>	<b>48,13</b>	<b>48,95</b>	<b>2,92</b>
$\pm$	16,49	14,06	28,95	1,22	3,04	5,99	6,27	0,42

**TABELA 12.** Segmento Sem Pinçamento (SSP) do animal experimental A3, foi avaliado fazendo 5 mensurações (1, 2, 3, 4 e 5), para cada variável e calculados a média ( $\bar{X}$ ) e o desvio padrão ( $\pm$ ).

	Medidas absolutas das túnicas ( $\mu\text{m}$ )				Medidas relativas (%)			
	Total	Média	Adventícia	Íntima	Colágeno	Média	Adventícia	Íntima
1	506,26	268,72	226,01	11,53	47,60	53,08	44,64	2,28
2	467,29	265,19	188,22	13,88	48,19	56,75	40,28	2,97
3	452,55	244,37	197,44	10,74	40,29	54,00	43,63	2,37
4	460,18	231,27	216,38	12,52	43,26	50,26	47,02	2,72
5	481,54	198,87	268,84	13,83	52,90	41,30	55,83	2,87
$\bar{X}$	<b>473,57</b>	<b>241,69</b>	<b>219,38</b>	<b>12,50</b>	<b>46,45</b>	<b>51,04</b>	<b>46,33</b>	<b>2,64</b>
$\pm$	21,17	28,42	31,43	1,39	4,85	5,94	5,86	0,30

**TABELA 13.** Segmento Sem Pinçamento (SSP) do animal experimental A4, foi avaliado fazendo 5 mensurações (1, 2, 3, 4 e 5), para cada variável e calculados a média ( $\bar{X}$ ) e o desvio padrão ( $\pm$ ).

	Medidas absolutas das tûnicas ( $\mu\text{m}$ )				Medidas relativas (%)			
	Total	Média	Adventícia	Íntima	Colágeno	Média	Adventícia	Íntima
1	518,23	254,75	252,42	11,06	45,91	49,16	48,71	2,13
2	530,16	239,74	280,38	10,04	50,32	45,22	52,89	1,89
3	529,38	224,41	295,55	9,42	56,53	42,39	55,83	1,78
4	567,45	202,54	354,3	10,61	59,48	35,69	62,44	1,87
5	525,75	189,77	326,27	9,71	61,00	36,09	62,06	1,85
$\bar{X}$	<b>534,19</b>	<b>222,24</b>	<b>301,78</b>	<b>10,17</b>	<b>54,65</b>	<b>41,60</b>	<b>56,49</b>	<b>1,90</b>
$\pm$	19,18	26,51	39,66	0,66	6,37	5,83	5,92	0,13

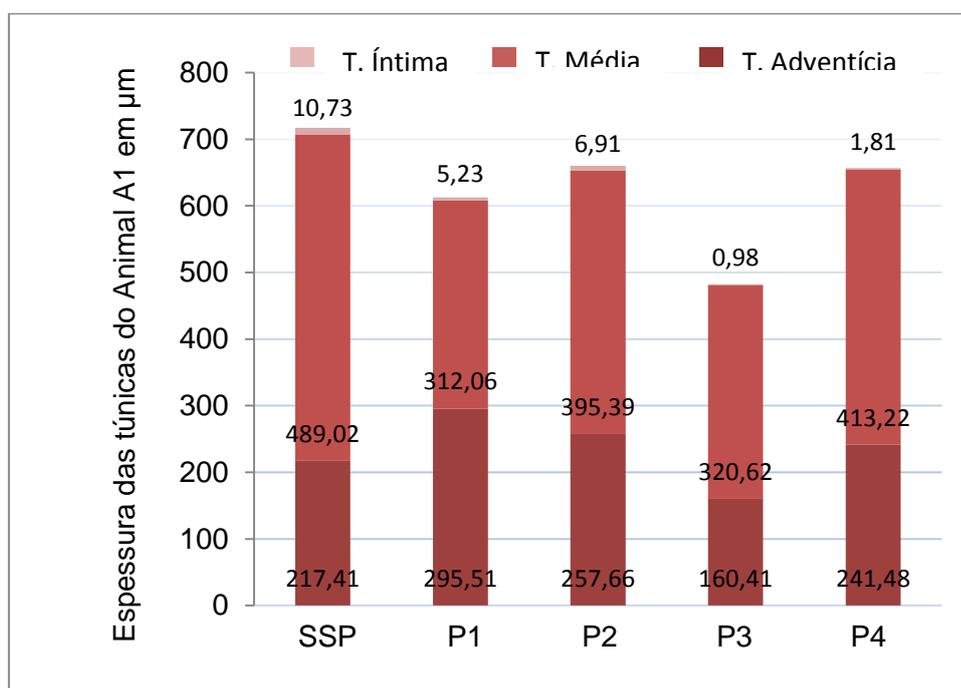
**TABELA 14.** Segmento Sem Pinçamento (SSP) do animal experimental A5, foi avaliado fazendo 5 mensurações (1, 2, 3, 4 e 5), para cada variável e calculados a média ( $\bar{X}$ ) e o desvio padrão ( $\pm$ ).

	Medidas absolutas das tûnicas ( $\mu\text{m}$ )				Medidas relativas (%)			
	Total	Média	Adventícia	Íntima	Colágeno	Média	Adventícia	Íntima
1	571,04	322,47	237,57	11,00	54,03	56,47	41,60	1,93
2	560,18	338,27	211,66	10,24	70,06	60,39	37,78	1,83
3	510,54	335,31	165,55	9,68	50,02	65,68	32,43	1,90
4	511,49	350,20	150,09	11,20	46,93	68,47	29,34	2,19
5	488,87	317,62	162,32	8,94	50,61	64,97	33,20	1,83
$\bar{X}$	<b>528,43</b>	<b>332,77</b>	<b>185,44</b>	<b>10,21</b>	<b>54,33</b>	<b>62,97</b>	<b>35,09</b>	<b>1,93</b>
$\pm$	35,34	13,00	37,37	0,94	9,15	4,75	4,82	0,15

**ANEXO 3.** Medidas e cálculo da morfometria dos Segmentos Sem Pinçamento (SSP) da veia cefálica no comparativo com os segmentos submetidos a pinçamento (P1, P2, P3 e P4) dos cinco animais do trabalho (A1, A2, A3, A4 e A5).

**TABELA 15.** Avaliação morfométrica da veia cefálica do animal A1 do experimento, Segmento Sem Pinçamento (SSP) segmentos submetidos aos pinçamentos: (P1) Diffenbach bulldog; (P2) De Bakey bulldog; (P3) Rochester reta; (P4) De Bakey com cremalheira.

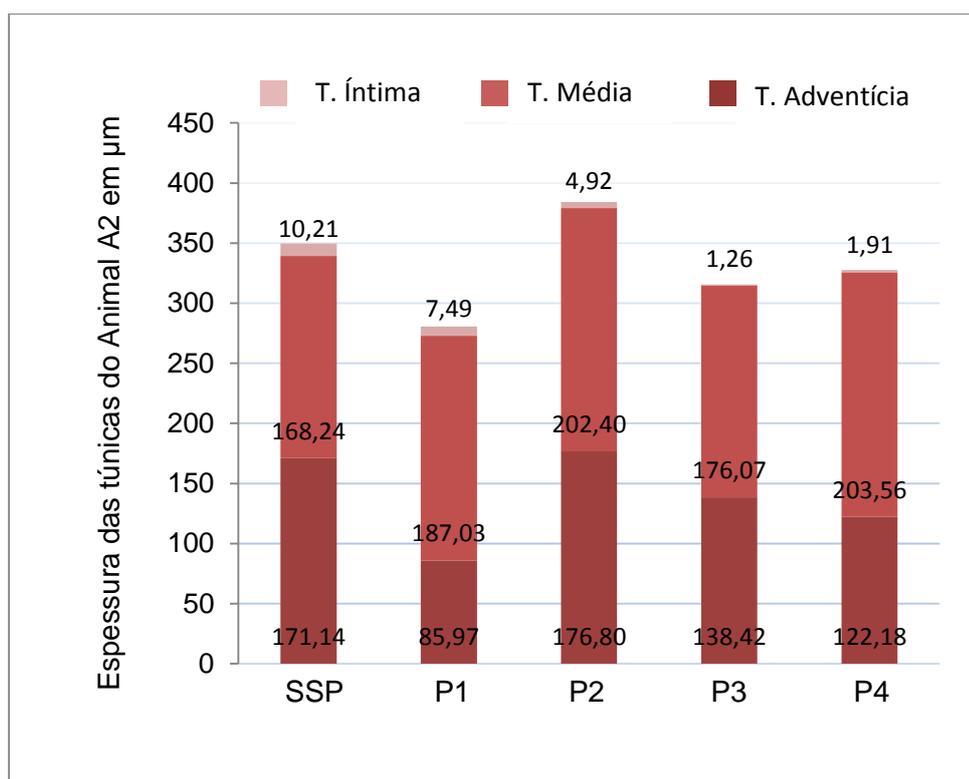
Estrutura avaliada	Unidade	SSP	P1	P2	P3	P4
Esp. Total da veia	µm	717,16	612,80	659,96	482,01	656,51
Esp. da T. Média	µm	489,02	312,06	395,39	320,62	413,22
Esp. da T. Adventícia	µm	217,41	295,51	257,66	160,41	241,48
Esp. da T. Intima	µm	10,73	5,23	6,91	0,98	1,81
Colágeno da T. Média	%	48,29	41,30	34,66	23,12	36,20
% da T. Média	%	68,19	50,92	59,91	66,52	62,94
% da T. Adventícia	%	30,32	48,22	39,04	33,28	36,78
% da T. Intima	%	1,5	0,85	1,05	0,20	0,28



**FIGURA 17.** Avaliação morfométrica da veia cefálica do animal A1 do experimento, Segmento Sem Pinçamento (SSP); segmentos submetidos aos pinçamentos: (P1) Diffenbach bulldog; (P2) De Bakey bulldog; (P3) Rochester reta; (P4) De Bakey com cremalheira.

**TABELA 16.** Avaliação morfométrica da veia cefálica do animal A2 do experimento, Segmento Sem Pinçamento (SSP) segmentos submetidos aos pinçamentos: (P1) Diffenbach bulldog; (P2) De Bakey bulldog; (P3) Rochester reta; (P4) De Bakey com cremalheira.

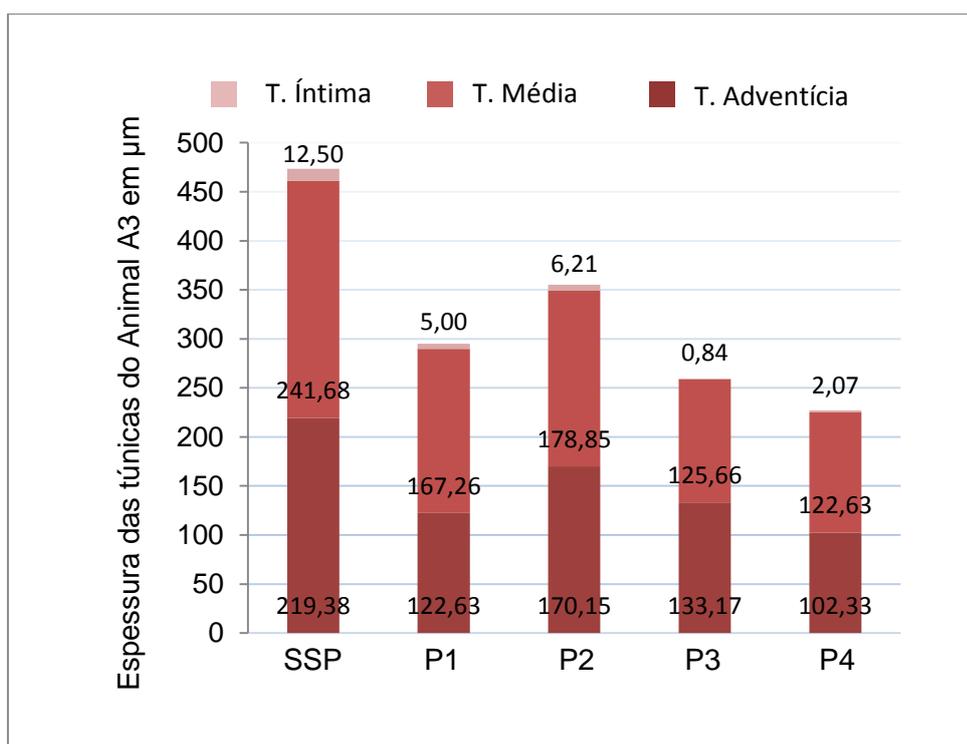
Estrutura avaliada	Unidade	SSP	P1	P2	P3	P4
<b>Esp. Total da veia</b>	µm	349,59	280,49	384,12	315,75	327,65
<b>Esp. da T. Média</b>	µm	168,24	187,03	202,40	176,07	203,56
<b>Esp. da T. Adventícia</b>	µm	171,14	85,97	176,80	138,42	122,18
<b>Esp. da T. Intima</b>	µm	10,21	7,49	4,92	1,26	1,91
<b>Colágeno da T. Média</b>	%	45,78	30,80	24,41	34,03	37,70
<b>% da T. Média</b>	%	48,12	66,68	52,69	55,76	62,13
<b>% da T. Adventícia</b>	%	48,95	30,65	46,03	43,84	37,29
<b>% da T. Intima</b>	%	2,92	2,67	1,28	0,40	0,58



**FIGURA 18.** Avaliação morfométrica da veia cefálica do animal A2 do experimento, Segmento Sem Pinçamento (SSP); segmentos submetidos aos pinçamentos: (P1) Diffenbach bulldog; (P2) De Bakey bulldog; (P3) Rochester reta; (P4) De Bakey com cremalheira.

**TABELA 17.** Avaliação morfométrica da veia cefálica do animal A3 do experimento, Segmento Sem Pinçamento (SSP) segmentos submetidos aos pinçamentos: (P1) Diffenbach bulldog; (P2) De Bakey bulldog; (P3) Rochester reta; (P4) De Bakey com cremalheira.

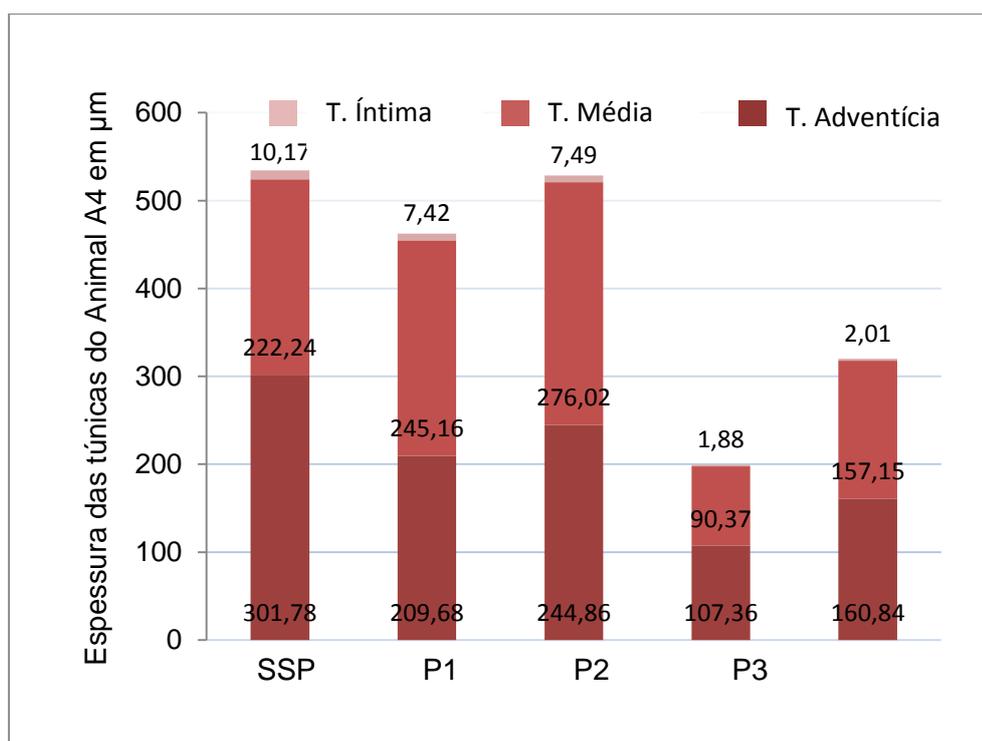
Estrutura avaliada	Unidade	SSP	P1	P2	P3	P4
Esp. Total da veia	µm	473,56	294,89	355,21	259,67	227,03
Esp. da T. Média	µm	241,68	167,26	178,85	125,66	122,63
Esp. da T. Adventícia	µm	219,38	122,63	170,15	133,17	102,33
Esp. da T. Intima	µm	12,50	5,00	6,21	0,84	2,07
Colágeno da T. Média	%	46,45	41,91	45,19	44,58	23,48
% da T. Média	%	51,03	56,72	50,35	48,39	54,01
% da T. Adventícia	%	46,33	41,58	47,90	51,28	45,07
% da T. Intima	%	2,64	1,70	1,75	0,32	0,91



**FIGURA 19.** Avaliação morfométrica da veia cefálica do animal A3 do experimento, Segmento Sem Pinçamento (SSP); segmentos submetidos aos pinçamentos: (P1) Diffenbach bulldog; (P2) De Bakey bulldog; (P3) Rochester reta; (P4) De Bakey com cremalheira.

**TABELA 18.** Avaliação morfométrica da veia cefálica do animal A4 do experimento, Segmento Sem Pinçamento (SSP) segmentos submetidos aos pinçamentos: (P1) Diffenbach bulldog; (P2) De Bakey bulldog; (P3) Rochester reta; (P4) De Bakey com cremalheira.

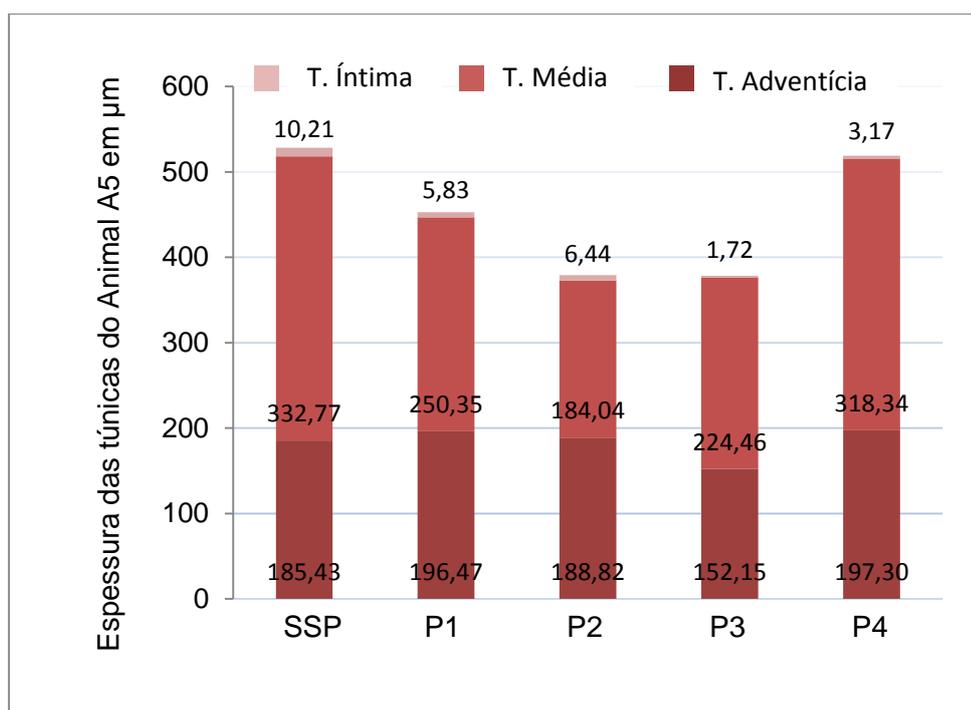
Estrutura avaliada	Unidade	SSP	P1	P2	P3	P4
<b>Esp. Total da veia</b>	µm	534,19	462,26	528,37	199,61	320,00
<b>Esp. da T. Média</b>	µm	222,24	245,16	276,02	90,37	157,15
<b>Esp. da T. Adventícia</b>	µm	301,78	209,68	244,86	107,36	160,84
<b>Esp. da T. Intima</b>	µm	10,17	7,42	7,49	1,88	2,01
<b>Colágeno da T. Média</b>	%	54,65	44,04	35,64	18,94	43,02
<b>% da T. Média</b>	%	41,60	53,04	52,24	45,27	49,11
<b>% da T. Adventícia</b>	%	56,49	45,36	46,34	53,78	50,26
<b>% da T. Intima</b>	%	1,90	1,61	1,42	0,94	0,63



**FIGURA 20.** Avaliação morfométrica da veia cefálica do animal A4 do experimento, Segmento Sem Pinçamento (SSP); segmentos submetidos aos pinçamentos: (P1) Diffenbach bulldog; (P2) De Bakey bulldog; (P3) Rochester reta; (P4) De Bakey com cremalheira.

**TABELA 19.** Avaliação morfométrica da veia cefálica do animal A5 do experimento, Segmento Sem Pinçamento (SSP) segmentos submetidos aos pinçamentos: (P1) Diffenbach bulldog; (P2) De Bakey bulldog; (P3) Rochester reta; (P4) De Bakey com cremalheira.

Estrutura avaliada	Unidade	SSP	P1	P2	P3	P4
<b>Esp. Total da veia</b>	µm	528,41	452,65	379,30	378,33	518,81
<b>Esp. da T. Média</b>	µm	332,77	250,35	184,04	224,46	318,34
<b>Esp. da T. Adventícia</b>	µm	185,43	196,47	188,82	152,15	197,30
<b>Esp. da T. Íntima</b>	µm	10,21	5,83	6,44	1,72	3,17
<b>Colágeno da T. Média</b>	%	54,33	43,12	27,07	53,34	43,00
<b>% da T. Média</b>	%	62,98	55,31	48,52	59,33	61,36
<b>% da T. Adventícia</b>	%	35,09	43,40	49,78	40,22	38,03
<b>% da T. Íntima</b>	%	1,93	1,29	1,70	0,45	0,61



**FIGURA 21.** Avaliação morfométrica da veia cefálica do animal A5 do experimento, Segmento Sem Pinçamento (SSP); segmentos submetidos aos pinçamentos: (P1) Diffenbach bulldog; (P2) De Bakey bulldog; (P3) Rochester reta; (P4) De Bakey com cremalheira.