

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

**ASPECTOS MORFOLÓGICOS DA VEIA CEFÁLICA NA
TROMBOSE AGUDA EXPERIMENTAL E NA APLICAÇÃO
DO CATETER DE FOGARTY EM EQUINOS**

JULIANA DE OLIVEIRA BERNARDO

Botucatu/SP
2015

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

**ASPECTOS MORFOLÓGICOS DA VEIA EFÁLICA NA
TROMBOSE AGUDA EXPERIMENTAL E NA APLICAÇÃO
DO CATETER DE FOGARTY EM EQUINOS**

JULIANA DE OLIVEIRA BERNARDO

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.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Hussni

Botucatu/SP
2015

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

Bernardo, Juliana de Oliveira.

Aspectos morfológicos da veia cefálica na trombose aguda experimental e na aplicação do cateter de Fogarty em equinos / Juliana de Oliveira Bernardo. - Botucatu, 2015

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

Orientador: Carlos Alberto Hussni

Capes: 50501003

1. Cateter de Fogarty. 2. Tromboflebite. 3. Equino - Doenças. 4. Trombose.

Palavras-chave: Cateter de Fogarty; Equinos; Tromboflebite; Veia cefálica.

Nome do autor: JULIANA DE OLIVEIRA BERNARDO

Título: ASPECTOS MORFOLÓGICOS DA VEIA CEFÁLICA NA TROMBOSE AGUDA EXPERIMENTAL E NA APLICAÇÃO DO CATETER DE FOGARTY EM EQUINOS

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. Pierre Barnabé Escodro

Membro

Universidade Federal de Alagoas

Prof^a. Dr^a. Regina Moura

Membro

Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu

Data da defesa: 24 de Julho de 2015.

Dedicatória

Aos meus pais

EDEVALDO e CÉLIA

Que sempre estiveram comigo nos momentos mais difíceis desta caminhada, quando os obstáculos pareciam intransponíveis... Que abriram mão de momentos de convívio[...] Que sofreram a minha ausência quando o dever e o estudo me chamaram... Que suportaram a saudade e a distância[...] Pelos dias, meses e anos de espera, encontros e desencontros vividos nesta jornada e pela dedicação sem medir esforços[...] pelo AMOR INCONDICIONAL!!!

À vocês, meus amados pais, dedico este trabalho como forma de agradecimento ao apoio, amor, compreensão e sacrifício que me dedicaram nesta longa caminhada[...]

Amo Vocês[...].

Agradecimentos

Agradeço à Deus por ter me dado força e sabedoria para alcançar todos os meus objetivos, por me mostrar que eu era capaz todas as vezes que pensei em desistir... Por ter colocado pessoas tão maravilhosas no meu caminho para que eu pudesse trilhar minha trajetória.

Aos meus pais Edevaldo e Célia pelo amor incondicional, pelo carinho e dedicação na minha formação, pelo apoio na realização de mais um sonho. Por serem os melhores pais do mundo.

Ao meu primeiro e grande amor Fábio do Couto, que com todo amor e carinho me apoiou durante esta conquista, por superar a distância e as longas viagens para que eu pudesse concluir esta etapa. Por se permitir a conhecer o “meu” mundo, por compartilhar comigo o amor aos cavalos.

À minha família, que muitas vezes suportaram a ausência para que eu pudesse realizar esse sonho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Carlos Alberto Hussni pelos seus grandes ensinamentos, pelo exemplo de dedicação e de dignidade pessoal.

Ao meu ex-orientador de graduação e hoje um grande amigo, Prof. Dr. Pierre Barnabé Escodro pela confiança em mim depositada, pelas oportunidades que me proporcionou com sua dedicação em ensinar.

À Prof^a. Dr^a. Cláudia Pellizzon por me auxiliar nas avaliações dos exames histopatológicos e pela sua ajuda na execução desta pesquisa. Obrigada pela sua dedicação e exemplo de profissional.

Ao Prof. Carlos Padovani, professor do Instituto de Biociências da UNESP-Botucatu, pela ajuda na realização da estatística deste projeto.

À Professora Regina Moura da Faculdade de Medicina de Botucatu pela sua rica colaboração nas correções desta dissertação, para que eu pudesse alcançar novas descobertas na cirurgia vascular.

Aos professores do Departamento de Cirurgia de Grandes Animais, Prof. Marcos Jun Watanabe, Ana Liz Garcia Alves e Celso Rodrigues pelos ensinamentos diários.

À doutoranda Ariane Rozza, do Instituto de Biociências UNESP-Botucatu, por sempre estar disposta a me ajudar.

Aos funcionários Marta Sarzi e Florian Fontana do Laboratório de Histologia da UNIPEX, da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP Botucatu, pelo auxílio na preparação do material histopatológico.

Aos meus amigos e companheiros que me ajudaram na execução deste projeto. Os pós-graduandos Juliana Alonso, Thiago Nitta, Vitor Bianconi e alunos de iniciação científica Débora Kauer e Augusto Schultz.

Aos meus amigos Mirian Rodrigues, Jaqueline Brandão, Marina Gonzales, Gustavo Viana, Alexandre Mattos, Murilo Charlier, por tornarem os dias desta jornada mais leves e divertidas.

Aos residentes Carolina Mura, Caio Nunes, Marília Ferrari e Gustavo Rosa por estarem sempre dispostos a ajudar.

À funcionária Clotilde Gonçalves pela sua amizade, apoio e incrível paciência.

Ao funcionário Jairo Zucari pela sua amizade e apoio.

Ao funcionário Daniel Cristian Ornelas de Oliveira pela disponibilidade para fotografar todos os procedimentos desta pesquisa.

Às todas as bibliotecárias da Biblioteca da UNESP Botucatu que sempre me atenderam com carinho, em especial à Darcila Bozoni por ter me ajudado no levantamento bibliográfico para esta pesquisa e à Rosemary Silva pelas correções das referências.

Aos funcionários da pós-graduação por tudo o que fizeram e por estarem sempre pronto a me ajudar.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP-Botucatu por me receber de braços abertos para que eu pudesse desenvolver esta pesquisa.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

Aos cavalos, que sempre me ouviram nos meus momentos de solidão... por me transmitirem paz quando mais precisei. Por me ensinarem através de sua enfermidade... Agradeço por me fazerem aprender além dos livros.

*“Você é um espelho
Que reflete a imagem do Senhor
Não chore se o mundo ainda não notou
Já é o bastante Deus reconhecer o seu valor
Você é precioso, mais raro que o ouro puro de Ofir
Se você desistiu, Deus não vai desistir
Ele está aqui pra te levantar
Se o mundo te fizer cair...”*

[RARIDADE – ANDERSON FREIRE]

Lista de tabelas

TABELA 1 – Momentos (dias) em que os animais do Estudo Trombose (ET) apresentaram claudicação ou edema de membro exacerbado após o procedimento cirúrgico (M1), sendo estes, os momentos em que realizou-se o resgate neurogênico. Os graus de claudicação em cada momento estão descritos de acordo com o número do animal e momento de claudicação.....	41
TABELA 2 – Momentos (dias) em que os animais do Estudo Fogarty (EF) apresentaram claudicação após o procedimento cirúrgico (M1), sendo estes, os momentos em que realizou-se o resgate neurogênico. Os graus de claudicação em cada momento estão descritos de acordo com o número do animal e momento de claudicação.....	41
TABELA 3 – Momentos das alterações locais observadas nos animais do Estudo Trombose (ET) após os procedimentos cirúrgicos. Os exames físicos locais foram realizados durante todos os dias do experimento e avaliou-se alterações como: sensibilidade dolorosa local à palpação (D), aumento da temperatura local (T) e aumento de volume (V).....	44
TABELA 4 – Momentos das alterações locais observadas nos animais do estudo Fogarty (EF) após os procedimentos cirúrgicos. Os exames físicos locais foram realizados durante todos os dias do experimento e avaliou-se alterações como: sensibilidade dolorosa local à palpação (D), aumento da temperatura local (T) e aumento de volume (V).....	44
TABELA 5 – Variação da frequência cardíaca (batimentos por minuto) dos animais do Estudo Trombose (ET) durante o experimento. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M0: o momento da indução da trombose experimental, M1: coleta do segmento venoso, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico.....	80
TABELA 6 – Variação da frequência cardíaca (batimentos por minuto) dos animais do Estudo Fogarty (EF) durante o experimento. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M1: coleta do segmento venoso após aplicação do cateter de Fogarty, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico.....	80
TABELA 7 – Variação da frequência respiratória (movimentos por minuto) dos animais do Estudo Trombose (ET) durante o experimento. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M0: o momento da indução da trombose experimental, M1: coleta do segmento venoso, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico.....	82

TABELA 8 – Variação da frequência respiratória (movimentos por minuto) dos animais do Estudo Fogarty (EF) durante o experimento. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M1: coleta do segmento venoso após aplicação do cateter de Fogarty, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico.....	82
TABELA 9 – Variação da temperatura retal (em graus Celsius) dos animais do Estudo Trombose (ET) durante o experimento. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M0: o momento da indução da trombose experimental, M1: coleta do segmento venoso, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico.....	84
TABELA 10 – Variação da temperatura retal (em graus Celsius) dos animais do Estudo Fogarty (EF) durante o experimento. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M1: coleta do segmento venoso após aplicação do cateter de Fogarty, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico.....	84
TABELA 11 – Medidas médias da parede vascular da veia cefálica hígida de equinos (em milímetros), realizada através de exame ultrassonográfico no momento prévio aos procedimentos cirúrgicos.....	86
TABELA 12 – Medidas médias da parede vascular da veia cefálica após indução da trombose experimental aguda dos animais do Estudo Trombose (ET), realizada através de exame ultrassonográfico 24 horas após o procedimento cirúrgico.....	86
TABELA 13 – Medidas médias do diâmetro da luz da veia cefálica hígida de equinos (em milímetros), realizada através de exame ultrassonográfico no momento prévio aos procedimentos cirúrgicos.....	87
TABELA 14 – Medidas médias do diâmetro da luz da veia cefálica após indução da trombose experimental aguda dos animais do Estudo Trombose (ET), realizada através de exame ultrassonográfico 24 horas após o procedimento cirúrgico.....	87
TABELA 15 – Medidas médias da área total da veia cefálica hígida de equinos (em milímetros quadrados), realizada através de exame ultrassonográfico no momento prévio aos procedimentos cirúrgicos.....	88
TABELA 16 – Medidas médias da área total da veia cefálica (em milímetros quadrados) após indução da trombose experimental aguda dos animais do Estudo Trombose (ET), realizada através de exame ultrassonográfico 24 horas após o procedimento cirúrgico.....	88

Lista de figuras

- FIGURA 1** – Esquema dos procedimentos realizados no Estudo Trombose (ET) durante o experimento. Avaliações ultrassonográficas (US) prévias aos procedimentos cirúrgicos (M-24h). Indução da trombose na veia cefálica (M0). Em M1 (24 horas após a indução da trombose), confirmação ultrassonográfica da presença do trombo, coleta da veia cefálica com trombose e fixação do material para análise histopatológica. Exames clínicos realizados durante todos os momentos do experimento (M-24h a M13) e retirada dos pontos de pele após 12 dias do procedimento cirúrgico (M13)..... 27
- FIGURA 2** – Realização do exame ultrassonográfico com o animal em posição quadrupedal mantido em tronco de contenção..... 28
- FIGURA 3** – Procedimento cirúrgico realizado em peça anatômica para demonstração da indução experimental da trombose na veia cefálica dos animais do Estudo Trombose. A – Imagem do terço médio da face medial da região do osso rádio após incisão de pele e dissecação da veia cefálica no membro torácico direito demonstrando a realização da ligadura proximal do segmento venoso; B- realização da ligadura distal do segmento venoso; C - injeção de glicose 50% no segmento do vaso ingurgitado; D - Sutura de pele em padrão contínuo simples..... 31
- FIGURA 4** - Procedimento cirúrgico em peça anatômica para coleta da veia cefálica dos animais do Estudo Trombose (ET) após 24 horas (M1) da realização da indução experimental da trombose. A – acesso ao segmento venoso com tromboflebite no terço médio da face medial da região radial; B – secção do vaso na região proximal; C – ressecção do vaso com a secção deste na região distal; D – sutura de pele em padrão festonado contínuo..... 33
- FIGURA 5** – Imagem macroscópica do segmento venoso coletado após 24 horas da indução da trombose aguda experimental nos animais do Estudo Trombose (ET). O segmento foi seccionado em região proximal e distal da veia cefálica contendo o trombo..... 34
- FIGURA 6** – Esquema dos procedimentos realizados nos animais do Estudo Fogarty (EF) durante o experimento. Avaliações ultrassonográficas (US) prévias aos procedimentos cirúrgicos (M-24h). Coleta da veia cefálica imediatamente após a aplicação do cateter de Fogarty (M1) e fixação do material para análise histopatológica. Exames clínicos realizados durante todos os momentos do experimento (M-24h a M13) e retirada dos pontos de pele após 12 dias (M13)..... 35

- FIGURA 7** - Procedimento cirúrgico em peça anatômica para demonstração da aplicação do cateter de Fogarty na veia cefálica hígida em equinos nos animais do Estudo Fogarty (EF). A – imagem do terço média da face medial da região do osso rádio do membro torácico esquerdo após incisão de pele e dissecação da veia cefálica hígida; B – realização da ligadura proximal do segmento venoso, realizou-se a flebotomia longitudinal da veia cefálica (seta); C – aplicação do cateter de Fogarty na luz do vaso no sentido distal do membro; D – distensão do balão com 2,5ml de água destilada, a seta mostra o balão com máxima distensão sobre a pele; E – retirada do cateter de Fogarty com o balão distendido (seta); F – ligadura distal do segmento venoso..... 37
- FIGURA 8** – Imagem macroscópica do segmento venoso coletado do animal do Estudo Fogarty (EF). O segmento proximal à flebotomia foi considerado pérvio e hígido pois não houve a passagem no cateter nesta região. O segmento distal refere-se ao segmento onde foi aplicado o cateter de Fogarty com o balão distendido..... 38
- FIGURA 9** – Imagem ultrassonográfica da veia cefálica no momento prévio aos procedimentos cirúrgicos (M-24h). A - corte transversal da veia cefálica hígida, apresentando parede de contornos irregulares e região anecogênica na luz do vaso; B – veia cefálica hígida ingurgitada pelo garroteamento manual apresentando áreas com características mais hiperecogênicas na luz do vaso indicando estase sanguínea..... 46
- FIGURA 9 (continuação)** – Imagem ultrassonográfica da veia cefálica no momento prévio aos procedimentos cirúrgicos (M-24h). C – Corte longitudinal da veia cefálica hígida apresentando região anecogênica na luz do vaso. Seta: Válvula venosa..... 47
- FIGURA 10** – Imagem ultrassonográfica da veia cefálica dos animais do Estudo Trombose (ET) 24 horas a indução da trombose experimental (M1). A – corte transversal da veia cefálica, à direita o trombo (T) obstruindo todo o lúmen vascular com características hiperecogênicas; B – corte longitudinal da veia cefálica, à direita o trombo (T) com características mais hiperecogênicas comparada ao momento prévio à indução da trombose (Mpré), ao centro (seta azul), a ligadura distal do vaso realizada no procedimento de indução e à direita, uma área mais hipoecogênica indicando estase sanguínea. Ponta da seta: válvula venosa..... 48
- FIGURA 11** – Média e desvio padrão das medidas (μm) da túnica íntima da veia cefálica da amostra controle (AC) e dos segmentos venosos proximal e distal do Estudo Trombose (ET). O gráfico demonstra um aumento significativo da média das medidas da túnica íntima da veia cefálica nos segmentos proximal e distal do ET em relação à AC, demonstrando diferença significativa entre eles..... 51

FIGURA 12 – Média e desvio padrão das medidas (μm) da túnica média da veia cefálica da amostra controle (AC) e dos segmentos venosos proximal e distal do estudo Trombose (ET). O gráfico demonstra um aumento significativo da média das medidas da túnica média da veia cefálica nos segmentos proximal e distal do ET em relação à AC, demonstrando diferença significativa entre eles..... 52

FIGURA 13 – Fotomicroscopia da veia cefálica de equinos submetidos ao procedimento de indução de trombose experimental por solução de glicose 50% e corado com hematoxilina e eosina. De (A-C) observa-se veia normal, destacando a integridade do vaso (A) com destaque das Túnicas Média (TM) e adventícia (TA) - Aumento 10X; em (B) nota-se que a TM com a organização das células musculares lisas (cabeças de setas) - Aumento 20X; em (C) é facilmente observado a túnica íntima (setas) - Aumento 40X. Após as 24 horas da indução da trombose (D, E e F), a região proximal é possível observar que a luz apresenta um acúmulo de células coaguladas (#) com destaque das Túnicas Média (TM) e adventícia (TA), em (F) nota-se a ativação do endotélio com a mudança efetiva de formato - Aumento 40X. A região distal do trombo (G, H e I) as estruturas são semelhantes às observadas nas imagens proximais com a ativação do endotélio (I) - Aumento 40X..... 53

FIGURA 14 – Fotomicroscopia da veia cefálica de equinos submetidos ao procedimento de indução de trombose experimental por solução de glicose 50% e corado com Tricrômio de Masson. De (A-C) observa-se veia normal, destacando a integridade do vaso (A) com destaque das Túnicas Média (TM) onde nota-se – Aumento 10X - e (C) a presença de algumas fibras musculares lisas com predomínio de tecido conjuntivo (*) – Aumento 40X. Após as 24 horas da indução da trombose (D, E e F), na região proximal é possível observar que a luz apresenta um acúmulo de células coaguladas (#) com destaque das Túnicas Média (TM) onde se observa tecido muscular liso (seta) aparentemente aumentado em relação a imagem da veia hígida em (F) – Aumento 40X. A região distal do trombo (G, H e I) as estruturas são semelhantes às observadas nas imagens proximais com aumento de fibras musculares lisas (seta) na TM (I) – Aumento 40X..... 54

FIGURA 15 - Média e desvio padrão das medidas (μm) da túnica íntima da veia cefálica da amostra controle (AC) e dos segmentos venosos proximal e distal do Estudo Fogarty (EF). O gráfico demonstra uma diminuição na média das medidas da túnica íntima do segmento proximal do EF, porém não foram significativas. O segmento distal do EF apresentou histometria semelhante à AC..... 56

FIGURA 16 - Média e desvio padrão das medidas (μm) da túnica média da veia cefálica da amostra controle (AC) e dos segmentos venosos proximal e distal do Estudo Fogarty (EF). O gráfico demonstra uma diminuição na média das medidas da túnica média dos segmentos proximal e distal da veia cefálica do EF, porém não houve diferença significativa em relação à medida da AC..... 57

FIGURA 17 – Fotomicroscopia da veia cefálica de equinos submetidos à aplicação do cateter de Fogarty e corado com hematoxilina e eosina. De (A-C) observa-se veia normal, destacando a integridade do vaso (A) com destaque das Túnica Média (TM) e adventícia (TA); em (B) nota-se que a TM com a organização das células musculares lisas (cabeças de setas); em (C) é facilmente observado a túnica íntima (setas). Em (D, E e F), a região proximal com ativação do endotélio (seta) ativado em (F). A região distal, onde procedeu-se a passagem do cateter de Fogarty (G, H e I) as estruturas observadas as túnica sem ativação do endotélio (I) – Aumento 40X..... 58

FIGURA 18 – Fotomicroscopia da veia cefálica de equinos submetidos à aplicação do cateter de Fogarty e corado com Tricrômio de Masson. De (A-C) observa-se veia normal, destacando a integridade do vaso (A) com destaque das Túnica Média (TM) onde nota-se e (C) a presença de algumas fibras musculares lisas com predomínio de tecido conjuntivo (*). A região proximal à passagem do cateter de Fogarty (D, E e F), com destaque das Túnica Média (TM) onde se observa tecido muscular liso (seta) aparentemente aumentado em relação a imagem da veia hígida em (F). A região distal, onde procedeu-se a passagem do cateter de Fogarty (G, H e I) as estruturas observadas nas imagens proximais com poucas fibras musculares lisas (seta) na TM (I) – Aumento 40X..... 59

FIGURA 19 – A - Intervalo de confiança de 95% da média das medidas (μ m) da túnica íntima dos segmentos venosos proximal e distal da veia cefálica no Estudo Trombose (ET); B - Intervalo de confiança de 95% da média das medidas (μ m) da túnica íntima dos segmentos proximal e distal da veia cefálica do Estudo Fogarty (EF). Em azul, pode-se observar o intervalo de confiança da média dos estudos descritos e em vermelho, a histometria média da túnica íntima da amostra controle (AC)..... 60

FIGURA 20 – A - Intervalo de confiança de 95% da média das medidas (μ m) da túnica média dos segmentos proximal e distal da veia cefálica do Estudo Trombose (ET); B - Intervalo de confiança de 95% da média das medidas (μ m) da túnica média dos segmentos venosos proximal e distal do Estudo Fogarty (EF). Em azul, pode-se observar o intervalo de confiança da média dos estudos descritos e em vermelho, o a histometria média da túnica média da amostra controle (AC)..... 61

FIGURA 21 – Média da frequência cardíaca (batimentos por minuto) dos animais do Estudo Trombose (ET) de acordo com os momentos da avaliação. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M0: o momento da indução da trombose experimental, M1: coleta do segmento venoso, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico..... 81

FIGURA 22 – Média da frequência cardíaca (batimentos por minuto) dos animais do Estudo Fogarty (EF) de acordo com os momentos da avaliação. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M1: coleta do segmento venoso após aplicação do cateter de Fogarty, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico..... 81

FIGURA 23 – Média da frequência respiratória (movimentos por minuto) dos animais do Estudo Trombose (ET) de acordo com os momentos da avaliação. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M0: o momento da indução da trombose experimental, M1: coleta do segmento venoso, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico.....	83
FIGURA 24 – Média da frequência respiratória (movimentos por minuto) dos animais do Estudo Fogarty (EF) de acordo com os momentos da avaliação. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M1: coleta do segmento venoso após aplicação do cateter de Fogarty, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico.....	83
FIGURA 25 – Média da temperatura retal (em graus Celsius) dos animais do Estudo Trombose (ET) de acordo com os momentos da avaliação. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M0: o momento da indução da trombose experimental, M1: coleta do segmento venoso, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico.....	85
FIGURA 26 – Gráfico da variação da temperatura retal (em graus Celsius) dos animais do Estudo Fogarty (EF) de acordo com os momentos da avaliação. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M1: coleta do segmento venoso após aplicação do cateter de Fogarty, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico.....	85
FIGURA 27 – Espessuras médias (em mm) das paredes das veias cefálicas hígida e após a indução da trombose experimental aguda.....	86
FIGURA 28 – Diâmetros médios (em mm) das veias cefálicas hígida e após a indução da trombose experimental aguda.....	87
FIGURA 29 – Áreas totais médias (em mm ²) das veias cefálicas hígida e após a indução da trombose experimental aguda.....	88

Lista de abreviaturas e símbolos

%	Por cento
±	Mais ou menos
µm	Micrômetro
γ	Gama
a	Artéria
AC	amostra controle
ALFAC	Álcool, formol e ácido acético
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular 1
TNF	Fator de necrose tumoral
cm	Centímetro
mm ²	milímetro quadrado
mm	Milímetro
EF	Estudo Fogarty
ET	Estudo Trombose
HE	Hematoxilina-eosina
IM	Intramuscular
IV	Intravenosa
M0	Momento da indução da trombose no Estudo Trombose
M1	Momento 1 – biópsia cirúrgica
M10	Momento 10 – 10 dias após procedimento cirúrgico
M11	Momento 11 – 11 dias após procedimento cirúrgico
M12	Momento 12 – 12 dias após procedimento cirúrgico
M13	Momento 13 – 13 dias após procedimento cirúrgico
M2	Momento 2 – 2 dias após procedimento cirúrgico
M3	Momento 3 – 3 dias após procedimento cirúrgico
M4	Momento 4 – 4 dias após procedimento cirúrgico
M5	Momento 5 – 5 dias após procedimento cirúrgico
M6	Momento 6 – 6 dias após procedimento cirúrgico
M7	Momento 7 – 7 dias após procedimento cirúrgico
M8	Momento 8 - 8 dias após procedimento cirúrgico
M9	Momento 9 – 9 dias após procedimento cirúrgico

mg/kg	Miligrama por quilograma
MHz	MegaHertz
ml	Mililitro
M-24h	Momento 24 horas antes do início do experimento
nº	Número
T	Trombo
mpm	Movimentos por minuto
bpm	Batimentos por minuto
UI/kg	Unidades internacionais por quilograma
US	Exame ultrassonográfico
v	Veia
D	Sensibilidade dolorosa
T	Aumento da temperatura local
V	Aumento do volume local

SUMÁRIO

	Páginas
RESUMO.....	17
ABSTRACT.....	18
1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA.....	19
1.1 Trombose e tromboflebite.....	20
1.2 Fisiologia da coagulação e resposta vascular.....	22
1.3 Morfologia das células da parede vascular na tromboflebite.....	23
2 OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA.....	25
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	26
3.1 Estudo Trombose (ET).....	26
3.1.1 Exames clínicos.....	27
3.1.1.1 Exame físico geral.....	27
3.1.1.2 Exame físico regional.....	28
3.1.1.3 Exame físico local.....	28
3.1.2 Avaliações ultrassonográficas.....	28
3.1.3 Indução da trombose da veia cefálica (ET).....	29
3.1.4 Biópsia cirúrgica para coleta do segmento venoso.....	32
3.1.5 Procedimentos pós cirúrgicos.....	34
3.2 Estudo Fogarty (EF).....	34
3.2.1 Exames clínicos.....	35
3.2.2 Avaliações ultrassonográficas.....	35
3.2.3 Aplicação do cateter de Fogarty (EF).....	35
3.3 Avaliação histopatológica.....	38
3.4 Análise estatística.....	39
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
4.1 Exames clínicos.....	40
4.1.1 Exame físico geral.....	40
4.1.2 Exame físico regional.....	41
4.1.3 Exame físico local.....	42
4.2 Avaliações ultrassonográficas.....	45
4.3 Avaliação histopatológica.....	49

4.3.1 Avaliação histopatológica do Estudo Trombose (ET).....	49
4.3.2 Avaliação histopatológica do Estudo Fogarty (EF).....	55
4.4 Análise estatística.....	60
5 CONCLUSÕES.....	62
REFERÊNCIAS.....	63
TRABALHO CIENTÍFICO	69
ANEXOS	79

Resumo

BERNARDO, J. O. **Aspectos morfológicos da veia cefálica na trombose aguda experimental e na aplicação do cateter de Fogarty em equinos**. 2015. 61f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2015.

As trombozes podem ocorrer frequentemente em equinos como decorrência de coagulopatia intravascular disseminada, hipóxia, endotoxemia, cólica e laminite ou ainda por processos iatrogênicos. Porém, há poucos estudos em relação à cirurgia vascular e alterações morfológicas deste processo em equinos. Este trabalho teve por objetivo estudar a morfologia e os aspectos histopatológicos da veia cefálica em dois modelos experimentais. Foram utilizados 10 equinos hígidos, divididos em dois estudos: Estudo Trombose (ET), avaliou-se os aspectos histopatológicos da veia cefálica na tromboflebite aguda induzida. Estudo Fogarty (EF) avaliou-se os aspectos histopatológicos após a aplicação imediata do cateter de Fogarty. Para obtenção de base morfológica para avaliação das túnicas, coletou-se uma amostra controle (AC) de veia cefálica hígida. Nos animais do ET, foi realizada a indução química da trombose na veia cefálica e após 24 horas procedeu-se a coleta de segmento venoso para avaliações histopatológicas. Nos animais do EF, foi realizada a passagem do cateter de Fogarty na veia cefálica hígida e coleta imediata do segmento venoso. Os segmentos da veia cefálica foram divididos em segmento proximal e distal e analisados quanto à morfologia e histometria. Os segmentos do ET apresentaram espessamento da parede vascular, com desorganização das células musculares lisas, maior quantidade de matriz extracelular e alteração morfológica das células endoteliais em relação à AC. Os segmentos do EF apresentaram alterações morfológicas das células endoteliais e menor quantidade de células musculares lisas em relação à AC. A partir destes resultados, podemos concluir que a trombose induziu resposta inflamatória na parede vascular e espessamento das túnicas associada à presença do trombo. O EF apresentou alteração morfológica das células endoteliais em resposta imediata à passagem do cateter, porém o mesmo ocorreu no segmento onde não houve a passagem do cateter.

Palavras-chave: cateter de Fogarty, tromboflebite, equinos, trombose.

Abstract

BERNARDO, J. O. Morphological aspects of the cephalic vein in acute thrombosis experimental and application of the Fogarty catheter in horses. 2015. 61f. - Thesis (Master) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2015.

Thrombosis can occur frequently in horses as a consequence of disseminated intravascular coagulopathy, hypoxia, endotoxemic, colics and laminitis or a iatrogenic process. However, there are few studies regarding vascular surgery and morphology changes of this process in horses. This research aimed to study the morphology and histopathological aspects of the cephalic vein in two experimental models. Ten healthy horses, was divided into two studies: Thrombosis study (ET), were used to evaluate the histopathological aspects of the cephalic vein in induced acute thrombophlebitis. Fogarty study (EF) was evaluated histopathological aspects after the immediate application of the Fogarty catheter. To achieve morphological based measures of the coats, were collected a sample control (AC) from a healthy cephalic vein. The animals of ET, chemical induction of thrombosis was performed in the cephalic vein and 24 hours proceeded the segment collection of the vessel for histological evaluation. The animals of EF, were submitted to the passage of a Fogarty catheter in the patent and healthy cephalic vein, followed by immediate collection of a segment venous. The cephalic vein segments were divided into proximal and distal and analyzed for morphology and histometry. The ET segments showed thickening of the vascular wall, with disorganization of the smooth muscle cells, increased amount of extracellular matrix and morphological alteration of endothelial compared to AC. The segments EF showed morphological changes in endothelial cells and fewer smooth muscle cells in relation to AC. From these results, we can conclude that thrombosis induced inflammatory response in vascular wall thickening and coats related to the presence of thrombus. The EF presented morphological alteration of endothelial cells in immediate response to the passage of the catheter, but so did the segment where there was the passage of the catheter.

Key word: Fogarty catheter, thrombophlebitis, horses, thrombosis.

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

As veias são vasos que fazem parte do sistema circulatório, com a característica de conduzirem sangue não oxigenado, predominantemente proveniente dos tecidos e então conduzidos ao coração e deste aos pulmões onde se realiza a hematose. Com exceção da veia pulmonar, que conduz sangue arterial (BUDRAS; SACK; RÖCK, 2009, ASHDOWN; DONE, 2008).

Nos equinos, a veia cefálica é vaso superficial que se origina a partir da união das veias palmar medial e radial, medialmente ao carpo. Inicia-se na região distal do rádio pela face medial, comunicante em projeção caudal com a veia mediana, ascende à porção proximal do membro torácico, chegando à porção distal da escápula com conexão final com a veia jugular. Concorre na drenagem da região com a veia cefálica acessória, que tem origem a partir da porção distal do rádio e se encerra na veia cefálica na altura da região da articulação úmero-radio-ulnar (KÖNIG et al., 2011; BUDRAS; SACK; RÖCK, 2009, ASHDOWN; DONE, 2008).

As veias possuem paredes compostas por três túnicas: a íntima, a média e a adventícia. A túnica íntima é a camada mais interna do vaso e é formada por uma única camada de epitélio pavimentoso simples, chamada de endotélio, apoiadas em uma camada subendotelial composta de tecido conjuntivo frouxo, podendo apresentar células musculares lisas ocasionais dispersas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; ROOS; PAWLINA, 2012). As veias possuem válvulas semilunares formadas por projeções da membrana interna do vaso cobertas por células endoteliais e tecido conjuntivo rico em fibras elásticas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; KIERSZENBAUM, 2002; GETTY, 2001).

A túnica média é formada basicamente por várias camadas de células musculares lisas, dispostas em arranjo circular, entremeadas com fibras de colágeno tipo III, fibras elásticas, proteoglicanos e glicoproteínas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; ROSS; PAWLINA, 2012; MAFFEI et al., 2008a). Em alguns casos, pode apresentar células musculares lisas longitudinais imediatamente abaixo da túnica adventícia (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

A túnica adventícia, camada mais externa do vaso, é formada por tecido conjuntivo composta basicamente de tecido colágeno tipo I e fibras elásticas

dispostas longitudinalmente (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; MAFFEI et al., 2008a).

1.1 Trombose e tromboflebite

A trombose e a tromboflebite são distúrbios circulatórios comuns em equinos. A trombose venosa espontânea pode ocorrer em decorrência de coagulopatia intravascular disseminada ou trombose aorto-ilíaca (KNOTTENBELT; PASCOE, 1998). Outros processos fisiopatológicos que podem desencadear a trombose são hipóxia e endotoxemia, que levam à lesão endotelial e conseqüentemente, à formação de trombos (GOTLIEB, 2006).

As veias superficiais, como as veias cefálica, jugular externa e epigástrica cranial superficial, estão mais susceptíveis a ocorrência de trombose iatrogênica, por serem via de acesso parenteral em equinos (ORSINI; DIVERS, 2013; FEITOSA, 2014; KNOTTENBELT; PASCOE, 1998).

Segundo Montenegro e Franco (1999), trombose é a formação intravascular de coágulo obstrutivo ao fluxo sanguíneo. Esses trombos podem se desenvolver após uma agressão direta a parede venosa, como traumas, cateterismo ou injeção venosa ou ainda em pacientes submetidos a cirurgias onde há repouso prolongado, o que leva a estase sanguínea (MAFFEI et al., 2008b).

Virchow, em 1856, já indicava que para o desenvolvimento da trombose, seriam necessárias alterações compreendendo lesão da parede vascular, alteração do fluxo sanguíneo e alterações dos componentes do sangue. Estes fatores são conhecidos como Tríade de Virchow, podendo ocorrer isoladamente ou associados (VIRCHOW, 1856 *apud* MAFFEI et al., 2008b).

A lesão da parede endotelial expõe o colágeno da túnica íntima levando à aderência das plaquetas no endotélio. A alteração do fluxo sanguíneo, como no caso da estase venosa, pode causar hipóxia e lesão endotelial e as alterações da composição do sangue levam a um estado de hipercoagulação (SANTOS; ALESSI, 2014, CHEVILLE, 2004b).

Quando há a trombose venosa associada a reação inflamatória da parede venosa e dos tecidos adjacentes, ocorre a tromboflebite (MAFFEI et al., 2008b; CHEVILLE, 2004b). A tromboflebite pode estar associada aos processos

iatrogênicos e ocorre principalmente por traumatismo causado pela própria punção, pela natureza das soluções injetadas ou deposição perivascular de medicamentos (MAFFEI et al., 2008b, DORNBUSCH, 2005).

O diagnóstico da tromboflebite é baseado nas alterações como claudicação, dor a palpação, distensão do segmento acometido e edema do membro (SOBREIRA; YOSHIDA; LASTÓRIA, 2008). A confirmação do diagnóstico pode ser feita através da ultrassonografia, que permite a diferenciação das estruturas envolvidas, observar a presença do trombo na luz do vaso e o comprometimento do fluxo sanguíneo (BOUNAMEAUX; PERRIER, 2006; DORNBUSCH, 2002; GARDNER; REEF; SPENCER, 1991). Para distinguir o sangue dos trombos na fase aguda, Raghavendra e colaboradores (1986) e Reef, (1998) sugerem a técnica de compressão com o transdutor sobre o vaso, pois os mesmos possuem ecogenicidade semelhantes.

O tratamento cirúrgico nos casos de trombose é a trombectomia, que visa a retirada do trombo e a recanalização do vaso sanguíneo obstruído (MAFFEI et al., 2008a).

Para a realização da trombectomia, utiliza-se o cateter de Fogarty, um tubo flexível de poliésterpoliamida ou poliuretano de 80 cm de comprimento, com calibres que variam de 8F a 22F para uso venoso e extremidade bastante maleável com um balão inflável de látex muito delicado. Sua maleabilidade permite seguir a curvatura dos vasos diminuindo os riscos de ruptura (MAFFEI et al. 2008a).

A aplicação do cateter de Fogarty é realizada após isolamento do segmento venoso e clampeamento do vaso, em seguida é feita a venotomia longitudinal. O cateter é inserido com o balão desinflado passando através do trombo. Em seguida, o balão é inflado com água destilada e o cateter é retirado cuidadosamente. Esta manobra deve ser repetida quantas vezes forem necessárias para a completa retirada do trombo (MAFFEI et al. 2008a).

A primeira trombectomia venosa foi realizada em 1937 por Låwen, e a utilização do cateter de Fogarty, a partir de 1963 e desde então, este método tem causado grandes discussões no âmbito da cirurgia vascular (RISTOW et al., 2002; HAIMOVICI *apud* FAGUNDES, 2001).

Segundo Maffei e colaboradores (2008a), a trombectomia venosa tem indicações bastante limitadas em humanos, devido a recidivas posteriores e a

agressividade do tratamento. Gotlieb (2006) afirma que o balão provoca lesão endotelial, o que leva a reestenose do vaso após terapia intervencionista com cateter. Porém, Dornbusch (2005) e Hussni et al. (2009) afirmam ser uma opção viável no tratamento de trombose jugular em equinos.

Alguns estudos em artérias de coelhos relataram a alteração da parede vascular após a trombectomia de Fogarty, que demonstraram causar lesão endotelial e de musculatura da parede arterial (DAVIES et al., 1994; BARONE, 1989). Cho e colaboradores (1998) afirmam que há alteração endotelial tanto no procedimento de trombectomia em veia femoral em cães quanto na terapia trombolítica com heparina. Em contrapartida, Bush e colaboradores (2004) observaram que o trombo em contato com o endotélio vascular leva a lesão do endotélio.

1.2 Fisiologia da coagulação e resposta vascular:

As células endoteliais e as células musculares são as principais responsáveis pelas características morfológicas e funcionais dos vasos e desempenham um papel central na patogenia de todos os tipos de doenças vasculares (MAFFEI et al., 2008a, COTRAN; SCHOEN, 1999).

As células musculares participam da regulação do fluxo sanguíneo através da manutenção do tônus vascular (ROOS; PAWLINA, 2012; COTRAN; SCHOEN, 1999) e na produção de componentes extravasculares, como colágeno, elastina, proteoglicanos e prostaglandinas (RANG et al., 2011; VLEET; FERRANS, 2009).

O endotélio vascular é uma superfície não-trombogênica com propriedades antiplaquetárias, anticoagulantes e fibrinolíticas, sobre o qual não aderem plaquetas, nem ocorre ativação de proteínas coagulantes (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; KUMAR et al., 2010; MAFFEI et al., 2008b; COTRAN; MITCHELL, 1999). A disfunção endotelial é responsável pelo início da formação do trombo e outros transtornos vasculares, comprometendo a resposta do endotélio, induzindo a formação de uma superfície trombogênica ou com maior aderência as células inflamatórias (KUMAR et al., 2010). Além de alterar a atividade das plaquetas, das proteínas de coagulação e do sistema fibrinolítico (MITCHELL, 2010; MAFFEI et al., 2008b).

Em 2000, Furie e Furie (2008) iniciaram um estudo, utilizando o método de microscopia intravital, para estudar a formação de trombos em tempo real *in vivo* e a partir disso, outros estudos vem sendo realizados para compreender a formação dos trombos. A maioria dos modelos experimentais afirmam que a trombose leva à exposição da matriz subendotelial (DARBOUSSET et al., 2014). Porém, estudos mais recentes demonstram que pode ocorrer a ativação do endotélio e formação do trombo mesmo sem a exposição do subendotélio (ATKINSON et al., 2010; DUBOIS et al., 2006; ROSEN et al., 2001).

Além da interação entre o colágeno subendotelial e da expressão do fator tecidual pelo endotélio, recentemente foi demonstrado a participação ativa de células do sistema imunológico, principalmente neutrófilos e monócitos na formação do trombo (DARBOUSSET et al, 2012; KAMBAS et al. 2012; VON BRÜHL et al., 2012; MASSBERG et al., 2010).

Na última década, vários modelos experimentais de trombose foram desenvolvidos e tem demonstrado, de acordo com o tipo ou a intensidade da lesão, diferentes vias podem conduzir à formação de trombos. No entanto, as consequências da formação de trombos são sempre semelhantes, que consiste na rápida acumulação de plaquetas no local da lesão e formação do coágulo de fibrina (DARBOUSSET et al., 2014).

O endotélio está intimamente envolvido na iniciação e na propagação da trombose, sendo a lesão endotelial considerada como principal evento desencadeador deste processo (GOTLIEB, 2006).

1.3 Morfologia das células da parede vascular na tromboflebite

Após a lesão endotelial vascular, pode ocorrer modificações na morfologia das células da parede vascular. A túnica íntima irá apresentar distorções em sua superfície luminal e basal, e o espessamento após a perda das células endoteliais, irá estimular as células musculares lisas e a síntese de matriz associada (MITCHELL; SCHOEN, 2010; CHEVILLE, 2004a). Ocorre a contração das células endoteliais, produzindo um espaçamento interendotelial que ocorre pela ação de mediadores químicos (histamina, leucotrienos e bradicinina) e citocinas (fator de necrose tumoral – TNF, interleucina-1 e interferon- γ) (CHEVILLE, 2004a).

Na trombose, é comum encontrar células inflamatórias na parede vascular. Isto ocorre após a lesão endotelial, onde células e proteínas inflamatórias são recrutadas ao local da lesão, promovendo a migração e proliferação das células musculares lisas (MAJNO; JORIS, 2004). Alguns autores afirmam que este mecanismo é a principal causa de reestenose dos vasos após trombectomia (GODOY, 2010).

Davies e colaboradores (1994) afirmam que a trombectomia venosa em coelhos provoca um desnudamento da túnica íntima e após 28 dias do procedimento, é possível observar espessamento da túnica média.

Os leucócitos presentes na corrente sanguínea, devido à estase que ocorre pela vasoconstrição dos vasos no processo de inflamação, também irão se aderir à superfície endotelial através de quimioatratores, como a selectina e integrina à molécula de adesão intercelular (ICAM-1) (CHEVILLE, 2004a).

2 OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA

Este trabalho teve por objetivo estudar a morfologia e os aspectos histopatológicos da veia cefálica em dois modelos experimentais.

O primeiro estudo teve por objetivo avaliar morfolologicamente e clinicamente a tromboflebite aguda experimental em equinos induzida na veia cefálica de equinos.

O segundo estudo teve por objetivo avaliar a utilização do cateter de Fogarty em veia cefálica hígida em equinos, quanto às possíveis alterações do vaso em decorrência do uso deste cateter.

Estes estudos são justificados pela questão quanto à integridade da parede venosa na tromboflebite, com especial interesse ao endotélio venoso e sua integridade e na mesma linha de pesquisa, o segundo estudo responde à questão sobre a possibilidade do cateter de Fogarty lesar ou não a parede venosa. Ambos os enfoques buscam respostas que não são abordadas na literatura em equinos ou em outras espécies.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista – UNESP – Botucatu/SP, processo nº 183/2013 e após esta pesquisa os animais foram utilizados para aulas práticas de semiologia e outras pesquisas dentro das Universidade.

Foram utilizados dez equinos hígidos com idade média de $15 \pm 5,1$ anos, divididos em dois estudos experimentais. O estudo da trombose **(ET)** foi realizado um grupo de cinco equinos submetidos à indução da trombose da veia cefálica e o estudo Fogarty **(EF)** em outro grupo com cinco equinos submetidos a aplicação do cateter de Fogarty na veia cefálica hígida.

Os animais numerados de 1 a 5, em numeração ordinal, foram alocados no ET e os animais numerados de 6 a 10 pertencentes ao EF.

Previamente ao experimento, foi realizada a coleta de fragmento de meio centímetro de comprimento da veia cefálica para obtenção de uma amostra controle (AC) para observação morfológica da veia cefálica hígida de equino, visto que não há relatos na literatura.

3.1 Estudo Trombose (ET)

Os animais deste estudo (ET) foram sequencialmente submetidos aos procedimentos como segue (Figura 1):

- Momento 24 horas antes da indução da trombose **(M-24h)**: 24 horas antes do experimento, os animais foram submetidos a exame clínico geral, local e regional para seleção dos animais e realização do exame ultrassonográfico (US) para confirmação da hígidez da veia cefálica;
- Momento 0 **(M0)**: os animais foram submetidos a indução da trombose experimental na veia cefálica;
- Momento 1 (dia) (24 horas) **(M1)**: Realização de exame ultrassonográfico 24 horas após a indução da trombose para a confirmação da formação do trombo (T). Coleta da veia cefálica com trombose - biópsia, corte da peça cirúrgica e fixação para procedimentos histopatológicos;

- Momento 2 a momento 12 (**M2-M12**): Realização dos exames físicos geral, regional e local;
- Momento 13 (**M13**): exames físicos geral, regional e local e retirada dos pontos de pele.

M-24h	M0	M1	M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12	M13
US	INDUÇÃO TROMBOSE EXPERIMENTAL	US BIÓPSIA AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA	EXAMES CLÍNICOS	RETIRADA DOS PONTOS DE PELE

FIGURA 1 – Esquema dos procedimentos realizados no Estudo Trombose (ET) durante o experimento. Avaliações ultrassonográficas (US) prévias aos procedimentos cirúrgicos (M-24h). Indução da trombose na veia cefálica (M0). Em M1 (24 horas após a indução da trombose), confirmação ultrassonográfica da presença do trombo, coleta da veia cefálica com trombose e fixação do material para análise histopatológica. Exames clínicos realizados durante todos os momentos do experimento (M-24h a M13) e retirada dos pontos de pele após 12 dias do procedimento cirúrgico (M13)

3.1.1 Exames clínicos

Foram realizados exames físico geral, regional e local em todos os animais 24 horas antes da inclusão neste experimento (M-24h) e repetidos diariamente (M1 a M12) até a completa cicatrização de pele e retirada dos pontos, que ocorreu após 12 dias do procedimento cirúrgico (M13).

3.1.1.1 Exame físico geral

Os animais foram submetidos ao exame físico geral conforme Feitosa (2014), onde avaliou-se: frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura corpórea, tempo de preenchimento capilar, coloração de mucosas, auscultação torácica e abdominal. Após o exame físico, seguiu-se a inspeção do animal com atenção especial aos membros locomotores, observando o animal em movimentos a passo e trote, visando o exame das claudicações, graduada de 1 a 5, conforme Ross e Dyson (2011).

3.1.1.2 Exame físico regional

Foi avaliada a ocorrência de alterações na região da cirurgia - face medial, lateral, cranial e caudal do rádio e a ocorrência de edema do membro. Esta avaliação foi realizada por um único observador durante todo o experimento.

3.1.1.3 Exame físico local

No exame físico local à inspeção e palpação, observou-se a ocorrência de alterações como sensibilidade dolorosa, elevação da temperatura, aumento de volume no local com presença de líquidos acumulados sugestivos de seroma ou hematoma e integridade da sutura da pele. Estas avaliações foram realizadas por um único observador durante todo o experimento.

3.1.2 Avaliações ultrassonográficas

Para a realização das avaliações ultrassonográficas, os animais foram mantidos em tronco de contenção em posição quadrupedal, onde realizou-se a tricotomia prévia da região medial e lateral do rádio (Figura 2).



FIGURA 2 – Realização do exame ultrassonográfico com o animal em posição quadrupedal mantido em tronco de contenção

Os exames ultrassonográficos foram realizados 24 horas antes da inclusão dos animais neste experimento (M-24h) para confirmar a hígidez e perviedade vascular da veia cefálica dos animais em planos longitudinais e transversais.

Para tal, foi utilizado equipamento ultrassonográfico¹ com transdutor linear multifrequencial² com frequência de 18 MHz e ganho máximo em modo B. As ultrassonografias foram realizadas após preparação com tricotomia da região medial do terço médio do rádio.

Após a indução da trombose na veia cefálica (M0), procedimento detalhado a seguir, foi realizado o exame ultrassonográfico confirmativo da ocorrência da trombose 24 horas após a indução, imediatamente antes da coleta do vaso com tromboflebite (M1). Foi considerada a presença do trombo pelas características de conteúdo pouco ecóico, de resistência e permanência após o teste de compressão com o transdutor e ausência de fluxo sanguíneo (HUSSNI et al., 2012; BARBOSA et al., 2009b; BOUNAMEAUX; PERRIER, 2006; DORNBUSCH, 2002).

Nos exames ultrassonográficos dos animais do ET realizou-se a mensuração da parede vascular, do diâmetro da veia cefálica e da área total³ e estes dados relacionados as medidas antes da tromboflebite – veia púria com a veia contendo o trombo.

3.1.3 Indução da trombose da veia cefálica (ET)

Semelhante ao descrito por Dornbusch (2005) e Hussni et al. (2009), a indução da trombose da veia cefálica do membro torácico foi realizada em cada animal após contenção em tronco, tranquilização com cloridrato de detomidina⁴ (0,04 mg/kg IV). Mantido em posição quadrupedal, foi procedida a anestesia local com 10 ml de lidocaína 2%⁵, sem vasoconstritor realizando-se bloqueio infiltrativo subcutâneo na região da veia cefálica. Após isto procedida a antisepsia, foi realizada uma incisão de aproximadamente 5 centímetros sobre a veia cefálica, distante sete centímetros na região do terço médio da face medial

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

² LA435 - 6-18 MHz - ESAOTE ® EsaoteS.p.A. InternationalActivities, Italy.

³ ImageJ – ImageProcessingandAnalysis in Java - RSB

⁴Dormiun V 10% – Agener União

⁵Xylestesin 2 % sem vasoconstritor – Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos

do membro torácico. A incisão de pele permitiu o acesso à veia, que foi dissecada e em seguida realizada duas ligaduras, sendo uma proximal e uma distal, com fio categut n°0⁶, distantes aproximadamente em cinco centímetros. A veia cefálica passou a se apresentar ingurgitada. Seguiu a introdução escalpe⁷ para a aplicação de solução de glicose 50%⁸ até o ingurgitamento completo do segmento vascular compreendido entre as ligaduras.

Realizou-se a sutura de pele dos acessos às ligaduras em padrão contínuo simples com fio de náilon 2-0⁹ (Figura 3).

⁶Categut 2-0 – CSA 072 – Brasuture Suturas Cirúrgicas

⁷ 21G – Plascalp Produtos Cirúrgicos LTDA

⁸ Isofarma – Industrial farmacêutica LTDA

⁹ Nylon 2-0 – JP Indústria Farmacêutica S/A

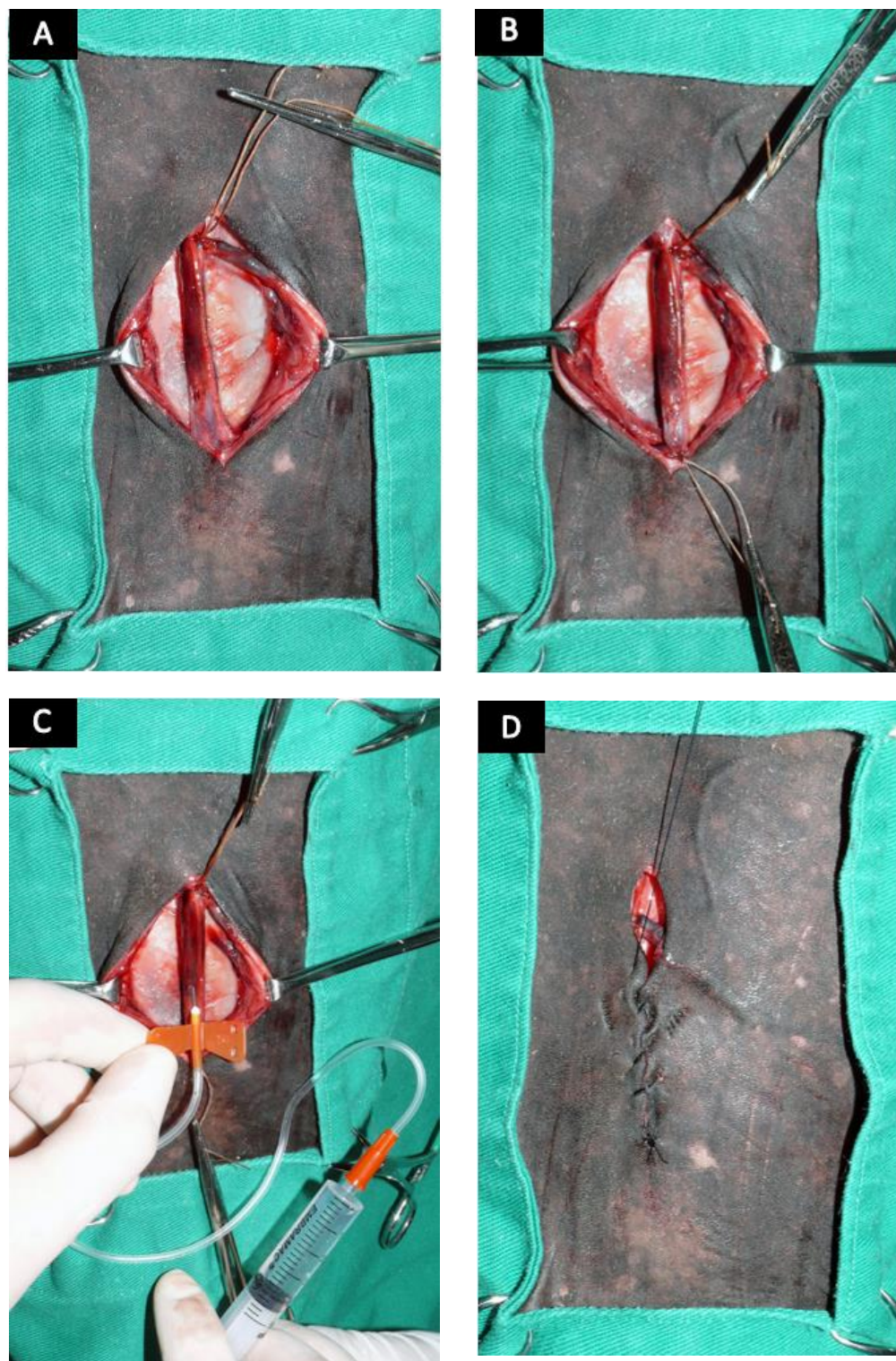


FIGURA 3 – Procedimento cirúrgico realizado em peça anatômica para demonstração da indução experimental da trombose na veia cefálica dos animais do Estudo Trombose. A – Imagem do terço médio da face medial da região do osso rádio após incisão de pele e dissecação da veia cefálica no membro torácico direito demonstrando a realização da ligadura proximal do segmento venoso; B- realização da ligadura distal do segmento venoso; C - injeção de glicose 50% no segmento do vaso ingurgitado; D - Sutura de pele em padrão contínuo simples

3.1.4 Biópsia cirúrgica para coleta do segmento venoso

Após 24 horas, foi realizada a coleta da veia cefálica com trombose por acesso com metodologia semelhante à indução, bem como a sedação e anestesia local. Realizou-se a remoção da sutura de pele, o que permitiu o acesso ao vaso com tromboflebite e em seguida, a ressecção do vaso entre as ligaduras. Removido o segmento vascular, seguiu a sutura do subcutâneo com fio poliglactina 2-0¹⁰ em pontos padrão contínuo simples e a pele, foi suturada com fio de náilon 2-0 em pontos padrão festonado contínuo (Figura 4).

Cada fragmento da veia cefálica colhido foi seccionado em dois segmentos, sendo eles proximal e distal e imediatamente fixados em solução fixadora ALFAC (álcool, formol e ácido acético) (Figura 5).

¹⁰Vicryl 2-0 – Johnson & Johnson LTDA

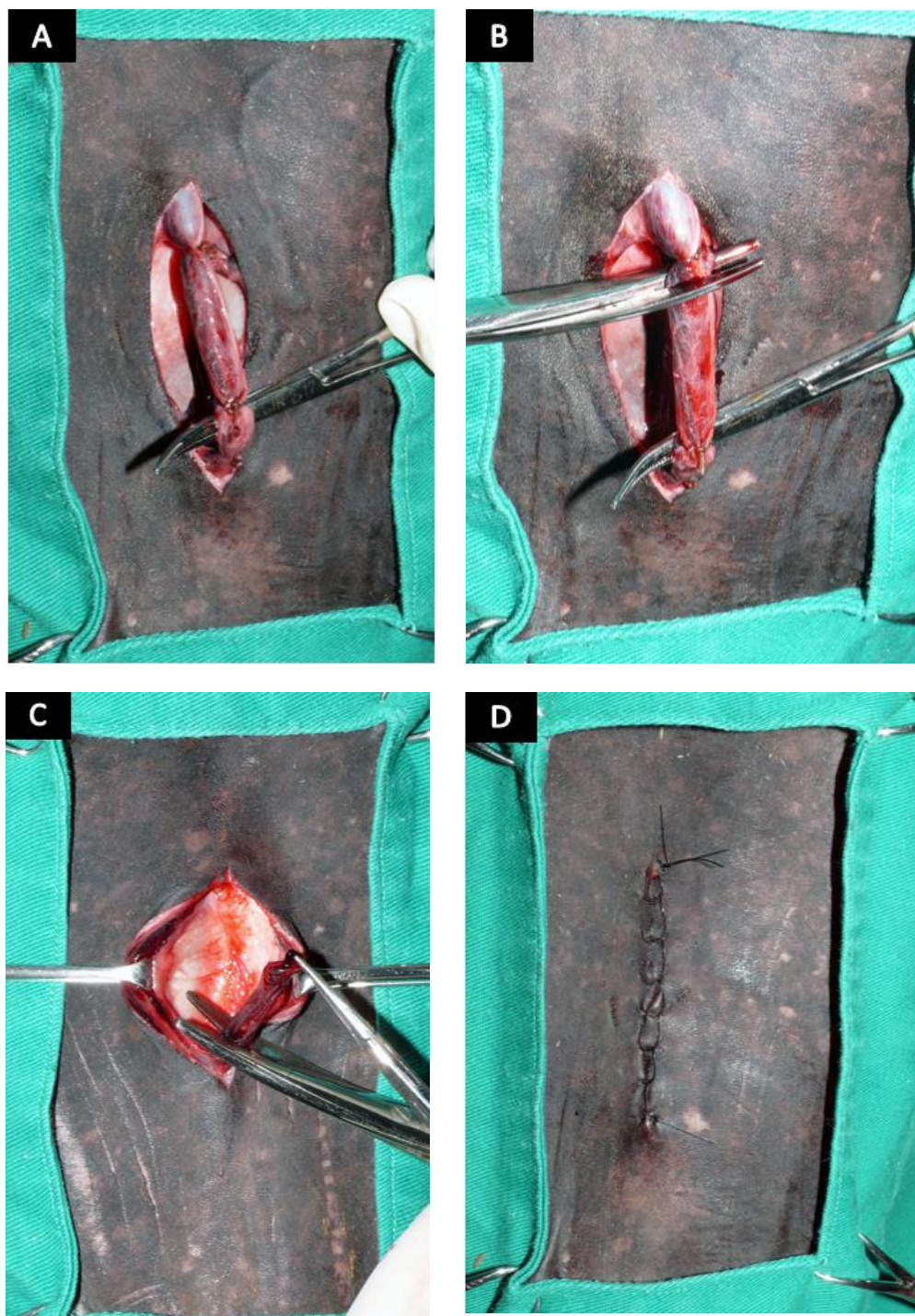


FIGURA 4 - Procedimento cirúrgico em peça anatômica para coleta da veia cefálica dos animais do Estudo Trombose (ET) após 24 horas (M1) da realização da indução experimental da trombose. A – acesso ao segmento venoso com tromboflebite no terço médio da face medial da região radial; B – secção do vaso na região proximal; C – ressecção do vaso com a secção deste na região distal; D – sutura de pele em padrão festonado contínuo

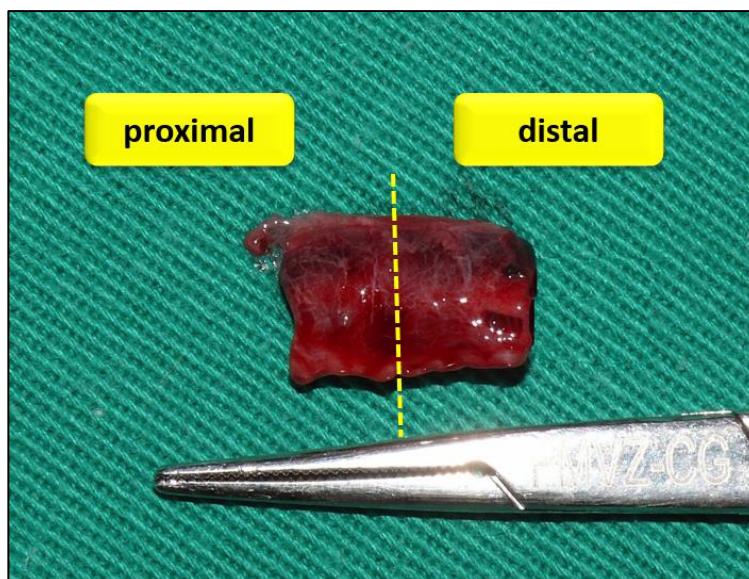


FIGURA 5 – Imagem macroscópica do segmento venoso coletado após 24 horas da indução da trombose aguda experimental nos animais do Estudo Trombose (ET). O segmento foi seccionado em região proximal e distal da veia cefálica contendo o trombo

3.1.5 Procedimentos pós cirúrgicos

Após a cirurgia com a coleta da veia cefálica trombosada, seguiu o curativo local com álcool iodado e colocação de penso protetor.

Realizou-se curativo local com álcool iodado diariamente, duas vezes ao dia e os pontos da pele foram removidos após 12 dias do procedimento cirúrgico.

Para os animais que apresentaram claudicação pós-operatória ou edema exacerbado com aumento de volume evidente, foi preconizado o resgate neurogênico com terapia antiinflamatória com flunixin meglumina¹¹ (1,1 mg/kg IV) e na ocorrência de sinais de infecção local, antibioticoterapia com aplicação de penicilina benzatina¹² (20.000 UI/kg IM).

3.2 Estudo Fogarty (EF)

Os animais deste estudo (EF) foram sequencialmente submetidos aos procedimentos como segue (Figura 6):

- Momento 24 horas antes da aplicação do cateter (**M-24h**): Exame clínico para seleção dos animais do experimento; realização de exame ultrassonográfico (US) para confirmação da hígidez da veia cefálica;

¹¹ Chemitec Agro-Veterinária LTDA.

¹² Pentabiótico® Fort Dodge Saúde Animal LTDA.

- Momento 1 (**M1**): Coleta da veia cefálica imediatamente após aplicação do cateter de Fogarty - biópsia, corte da peça cirúrgica e fixação para procedimentos histopatológicos e exames clínicos;
- Momento 2 a momento 12 (**M2-M12**): Realização dos exames físicos geral, regional e local;
- Momento 13 (**M13**): exames físicos geral, regional e local e retirada dos pontos de pele.

M-24h	M1	M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12	M13
US	BIÓPSIA AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA	EXAMES CLÍNICOS	RETIRADA DOS PONTOS DE PELE

FIGURA 6 – Esquema dos procedimentos realizados nos animais do Estudo Fogarty (EF) durante o experimento. Avaliações ultrassonográficas (US) prévias aos procedimentos cirúrgicos (M-24h). Coleta da veia cefálica imediatamente após a aplicação do cateter de Fogarty (M1) e fixação do material para análise histopatológica. Exames clínicos realizados durante todos os momentos do experimento (M-24h a M13) e retirada dos pontos de pele após 12 dias (M13)

3.2.1 Exames clínicos

Os exames físicos geral, regional e local foram semelhantes aos realizados no Estudo Trombose (ET).

3.2.2 Avaliações ultrassonográficas

Os exames ultrassonográficos neste estudo foram realizados 24 horas antes da aplicação do cateter de Fogarty (M-24h), para avaliação da perviedade vascular, com metodologia semelhante ao Estudo Trombose (ET).

3.2.3 Aplicação do cateter de Fogarty (EF)

Para a aplicação do cateter de Fogarty na veia cefálica dos animais do Grupo Fogarty, realizou-se a preparação e procedimentos pré-operatórios e anestésicos, bem como o resgate neurogênico dos animais de modo semelhante ao realizado nos animais do Estudo Trombose (ET).

Para o procedimento realizou-se incisão longitudinal de cinco centímetros da pele na região radial, face medial em seu terço médio, sobre a veia cefálica. Em seguida, realizou-se uma ligadura com fio categute nº0 na extremidade

proximal da veia dissecada, compressão com garrote na pele na região metacarpiana para estase do sangue no retorno e flebotomia longitudinal de dois centímetros na veia cefálica dissecada, sendo este o acesso intravenoso do cateter. O cateter de Fogarty 7F foi então introduzido por sete centímetros dentro do vaso, sem distensão do balão e na direção distal do membro. Introduzido o cateter de Fogarty este teve o balão distendido com 2,5 ml de água destilada. O cateter foi retirado, tracionado com o balão distendido, repetindo-se a manobra por três vezes. Isto feito, realizou-se a ligadura da extremidade distal da veia dissecada e então coletada a veia cefálica para análise histopatológica contendo partes do fragmento vascular coletado em partes proximais e distais, com segmentos que foram submetidos ao cateter e partes sem a passagem deste (proximal ao acesso). O material coletado para histopatologia foi submetido a procedimentos semelhantes ao material coletado dos animais do GT. O subcutâneo e a pele foram suturados semelhante ao realizado nos animais do GT, bem como os procedimentos pós-operatório nos animais (Figura 7).

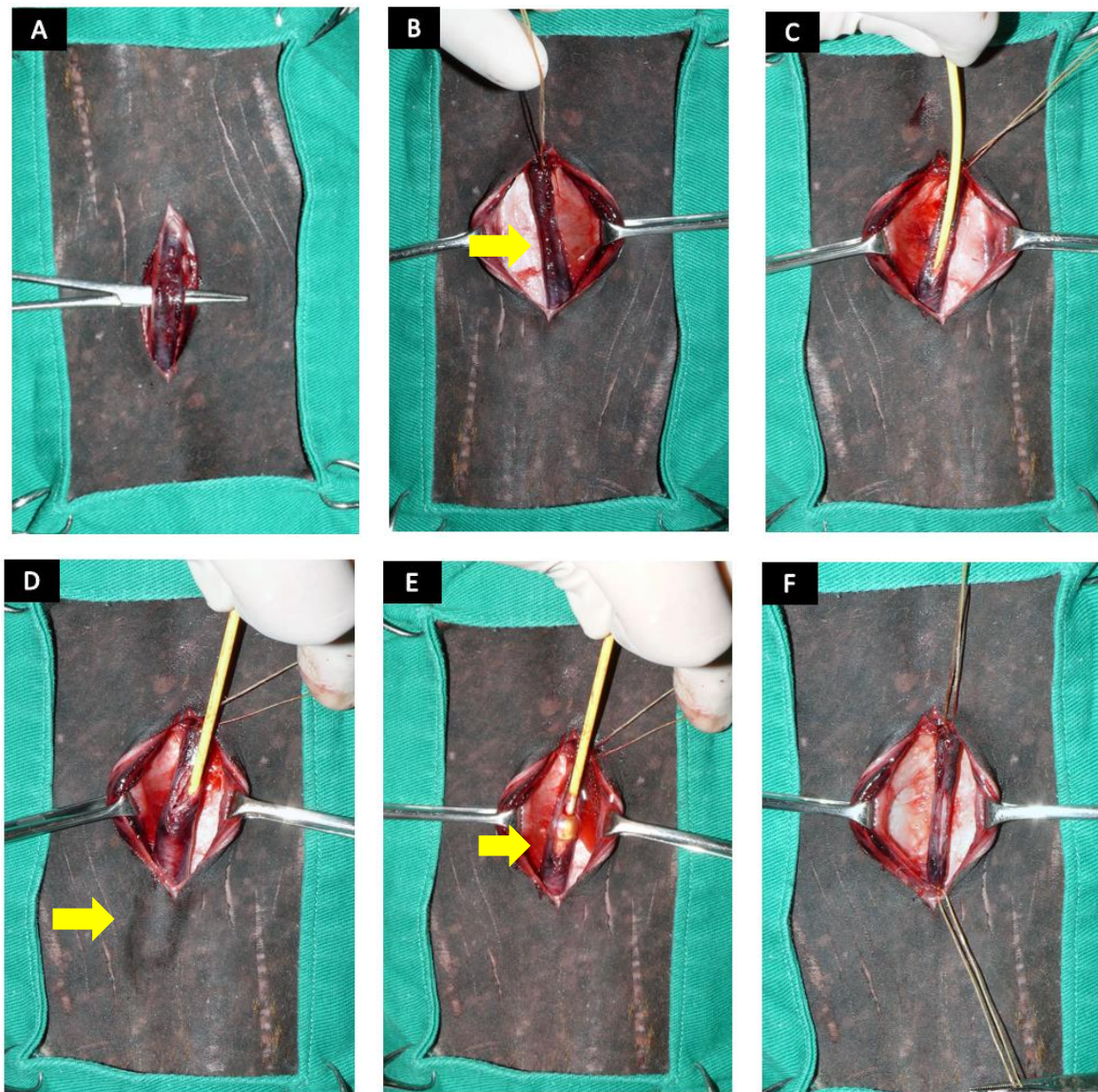


FIGURA 7 - Procedimento cirúrgico em peça anatômica para demonstração da aplicação do cateter de Fogarty na veia cefálica hígida em equinos nos animais do Estudo Fogarty (EF). A – imagem do terço média da face medial da região do osso rádio do membro torácico esquerdo após incisão de pele e dissecação da veia cefálica hígida; B – realização da ligadura proximal do segmento venoso, realizou-se a flebotomia longitudinal da veia cefálica (seta); C – aplicação do cateter de Fogarty na luz do vaso no sentido distal do membro; D – distensão do balão com 2,5ml de água destilada, a seta mostra o balão com máxima distensão sobre a pele; E – retirada do cateter de Fogarty com o balão distendido (seta); F – ligadura distal do segmento venoso

Estes segmentos de vaso foram seccionados em região proximal à flebotomia, onde a veia cefálica apresentava-se pérvia e hígida e a região distal onde foi aplicado o cateter de Fogarty com o balão distendido (Figura 8). As amostras foram imediatamente fixadas com solução ALFAC (álcool, formol e

ácido acético). O subcutâneo e a pele foram suturados semelhante ao realizado no GT, bem como os procedimentos sequenciais a este.

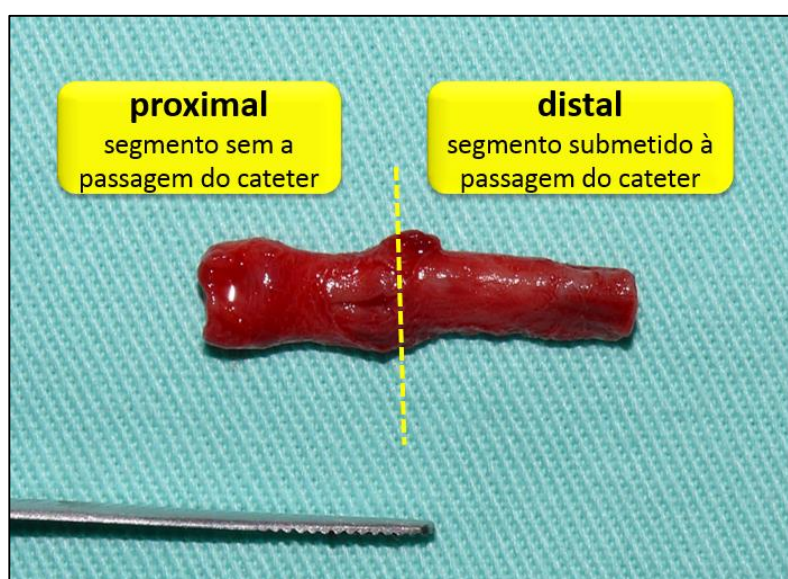


FIGURA 8 – Imagem macroscópica do segmento venoso coletado do animal do Estudo Fogarty (EF). O segmento proximal à flebotomia foi considerado pérvio e hígido pois não houve a passagem no cateter nesta região. O segmento distal refere-se ao segmento onde foi aplicado o cateter de Fogarty com o balão distendido

3.3 Avaliação histopatológica

As amostras coletadas dos estudos Trombose (ET) e Fogarty (EF) foram processadas e analisadas por microscopia óptica no Laboratório de Histologia da Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPEX), da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP.

Após a coleta e fixação dos segmentos venosos, estes foram submetidos à sequência de preparação histológica onde procedeu-se a desidratação com banhos em soluções de concentrações crescentes de álcool etílico a 95%, diafanização em xilol e a inclusão em parafina.

Os blocos de parafina contendo as amostras foram submetidos a cortes em micrótomo rotativo semi-motorizado programável¹³. Os cortes com 5µm de espessura foram colocados em lâminas para coloração.

¹³ Leica – RM2155

As lâminas foram coradas com Hematoxilina-Eosina (HE) para avaliação das estruturas do endotélio vascular e Tricrômio de Masson com objetivo de evidenciar as fibras colágenas e musculares.

As lâminas foram fotodocumentadas com o analisador de imagem¹⁴ e analisadas quanto aos aspectos estrutural e funcional dos tecidos e células endoteliais e a mensuração das túnicas³.

Foram realizadas seis mensurações da túnica íntima e da túnica média de cada animal dos segmentos proximal e distal da veia cefálica.

As amostras foram analisadas e descritas quanto à normalidade da parede vascular e nas ocorrências de alterações nos diferentes segmentos dos vasos.

3.4 Análise estatística

Inicialmente a distribuição das variáveis-resposta (medida da espessura da túnica média e túnica íntima, em μm) foram analisadas e estatísticas descritivas foram produzidas. Realizou-se comparações da média das medidas de ambos os estudos (ET e EF). Para isto, utilizou-se o teste de *Dunnett* (NORMAN; STREINER, 2008) para ajustar o valor-P resultante das comparações múltiplas das médias dos grupos com as com as medidas das bases paramétricas (amostra controle). A análise estatística foi realizada com o programa InStat¹⁵ e a significância estatística foi definida como $p < 0,05$.

Foi realizado o teste de intervalo de 95% de confiança para a média dos grupos (NORMAN; STREINER, 2008).

¹⁴Olimpus BX53 CellSens Standard 1.12 – OlympusCorporations, Tóquio, Japão.

¹⁵ GraphPad Software, Inc - USA

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Exames clínicos

4.1.1 Exame físico geral

Ao exame físico geral, durante todo o experimento, todos os animais de ambos os estudos apresentaram os parâmetros de frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura, tempo de preenchimento capilar, coloração de mucosas, auscultação torácica e abdominal dentro do padrão de normalidade para a espécie (ANEXO 1). Diferente das condições mórbidas que predisõem os animais à trombose como cólicas, laminite, hipóxia e endotoxemia (WEIMER; GRUYS; VAN HOECK, 2005; BAYARS; DAVIS; DIVERS, 2003; TOPPER; PRASSE, 1998), o procedimento indutor da trombose e os demais procedimentos realizados nos animais de ambos os estudos não foram causa de alterações sistêmicas observáveis ao exame físico.

Após os procedimentos cirúrgicos um animal do Estudo Trombose (ET) apresentou edema exacerbado com aumento de volume evidente (Tabela 1) e dois animais do Estudo Fogarty (EF) apresentaram claudicação (Tabela 2), sendo necessária terapia de resgate com flunixin meglumina (1,1 mg/kg IV) e penicilina benzatina (20.000 UI/kg IM). As claudicações observadas e decorrentes dos procedimentos em três dos animais, reduziram após a medicação de resgate que se mostrou eficiente como medida terapêutica.

TABELA 1 – Momentos (dias) em que os animais do Estudo Trombose (ET) apresentaram claudicação ou edema de membro exacerbado após o procedimento cirúrgico (M1), sendo estes, os momentos em que realizou-se o resgate neurogênico. Os graus de claudicação em cada momento estão descritos de acordo com o número do animal e momento de claudicação

Nº do animal	M0	M1	M2
1		2/5 - edema	1/5 - edema
2			
3			
4			
5			

M0 – dia da indução da trombose

M1 – 24 horas após a indução da trombose e coleta do segmento venoso

M2 – 48 horas após o procedimento cirúrgico

TABELA 2 – Momentos (dias) em que os animais do Estudo Fogarty (EF) apresentaram claudicação após o procedimento cirúrgico (M1), sendo estes, os momentos em que realizou-se o resgate neurogênico. Os graus de claudicação em cada momento estão descritos de acordo com o número do animal e momento de claudicação

Nº do animal	M1	M2	M3	M4	M5
6	3/5	2/5	1/5	1/5	1/5
7					
8					
9	4/5	3/5	2/5	1/5	
10					

M1 – coleta do segmento venoso após aplicação do cateter de Fogarty

M2 – 24 horas após o procedimento cirúrgico

M3 – 48 horas após o procedimento cirúrgico

M4 – 72 horas após o procedimento cirúrgico

M5 – 96 dias após o procedimento cirúrgico

4.1.2 Exame físico regional

Ao exame físico regional, somente o animal 6, pertencente ao Estudo Fogarty (EF), apresentou edema de membro na região do carpo após o procedimento. A diminuição do edema ocorreu 8 dias após os procedimentos (M9).

O edema de membro do animal 6 ocorreu provavelmente devido ao excesso de manipulação durante o procedimento cirúrgico o que levou a uma resposta inflamatória aguda, devido a ativação endotelial mediada pelos complexos de citocinas e outros mediadores inflamatórios, aumentando a permeabilidade vascular, levando a exsudação de leucócitos e proteínas plasmáticas. O edema diminuiu após 8 dias do procedimento cirúrgico,

caracterizando-se como inflamação subaguda, que segundo Cheville (2004b), ocorre após 72 horas, podendo existir até 15 dias.

4.1.3 Exame físico local

No exame físico local, após os procedimentos, dois animais do Estudo Trombose (1 e 4) e quatro animais do Estudo Fogarty (6, 8, 9 e 10) apresentaram sensibilidade dolorosa a palpação. Esta sensibilidade ocorreu em todos estes animais em M1, logo após o procedimento cirúrgico, mantendo-se presente até M2 nos animais do ET e M3 (6, 8 e 10) e M4 (9) no EF. A sensibilidade dolorosa nos animais é consequência da resposta inflamatória pela liberação das citocinas liberadas pelos neutrófilos, que atuam na excitação das terminações nervosas e provocam dor no local (CHEVILLE, 2004a).

No EF, quatro animais apresentaram sensibilidade dolorosa, enquanto no ET, foram apenas dois. Demonstrando que na aplicação do cateter de Fogarty ocorre maior reação inflamatória local devido a manipulação excessiva durante o procedimento cirúrgico.

Todos os animais de ambos os estudos (ET e EF) apresentaram aumento na temperatura local. Os momentos variaram de M1 a M6, sendo que o animal 6 se diferenciou em relação ao aumento da temperatura local, apresentando esta alteração de M1 a M12. O aumento na temperatura local em todos os animais, em ambos os grupos, deve-se a uma resposta sistêmica pelo aumento do fluxo sanguíneo no local da inflamação (CHEVILLE, 2004a).

Os animais 1 e 4 do ET e todos os animais do EF (6, 7, 8, 9 e 10) apresentaram aumento de volume no local da incisão. Esta alteração variou entre M1 a M5, ou seja, até 96 horas após o procedimento cirúrgico.

Apenas os animais 1 e 6 apresentaram aumento de volume local a partir de M1, sem resolução até a retirada dos pontos (M13). O acúmulo de líquido subcutâneo intersticial deve-se ao acúmulo de transudatos pelo aumento da permeabilidade vascular (CHEVILLE, 2004a). Através da inspeção, observou-se um aumento de volume no local da incisão, e à palpação, foi possível observar a presença de flutuação do líquido no local e ausência de sinais flogísticos local.

Constatou-se em M10, a drenagem de transudato com coloração clara e sem sinais de infecções. Segundo Townsend et al. (2005), a formação do seroma pode retardar o processo de cicatrização. Pagliosa e Alves (2004) afirmam que

a formação do seroma ocorre devido a imperfeições na sutura. Sugere-se que durante os procedimentos cirúrgicos, podem ter ocorrido falhas na execução da sutura, por isso a formação do seroma e a diferença no tempo de cicatrização destes animais em comparação com os outros.

As alterações nas avaliações físicas locais dos animais do estudo trombose (ET) (Tabela 3) foram menos evidentes em relação às alterações observadas no estudo Fogarty (EF) (Tabela 4).

Sugere-se que as alterações observadas no local da cirurgia ocorreram devido à maior manipulação durante o procedimento cirúrgico para a aplicação do cateter de Fogarty (EF), e maior tempo cirúrgico que foi realizado em tempo médio de $17,8 \pm 2,7$ minutos, enquanto no estudo trombose (ET), o tempo médio foi de $9 \pm 2,2$ minutos. O maior tempo de procedimento tempo associado à manipulação excessiva nos animais do EF resultou em reação inflamatória local mais exacerbada.

Nenhum animal apresentou deiscência dos pontos da pele, e os mesmos foram removidos no M13.

Em relação à retirada de um segmento da veia cefálica, nenhum dos animais em ambos os estudos apresentaram alterações vasculares no retorno venoso. Isto se deve à compensação da drenagem dos membros torácicos pelas veias mediana, cefálica acessória e cubital. Diferentemente dos problemas relacionados à tromboflebite na veia jugular externa em equinos, onde observa-se alterações severas e complicações como edema que podem levar o animal à morte, conforme citado por Hussni et al., (2009); Barbosa (2009a), Dornbusch (2005), Dornbusch (2002) e Knottenblet e Pascoe (1998). Sendo assim, podemos afirmar que o acesso venoso na veia cefálica e a possível ocorrência de trombose neste segmento não provoca alterações vasculares significativas para a vida do animal.

TABELA 3 – Momentos das alterações locais observadas nos animais do Estudo Trombose (ET) após os procedimentos cirúrgicos. Os exames físicos locais foram realizados durante todos os dias do experimento e avaliou-se alterações como: sensibilidade dolorosa local à palpação (D), aumento da temperatura local (T) e aumento de volume (V)

Nº do animal	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13
1		D/T	D/T	T	T/V	T/V	V	V	V	V	V	V	V	V
2		T	T	T	T									
3		T	T	T										
4			D/T/V	T/V										
5		T	T	T	T	T								

D – sensibilidade dolorosa à palpação

T – aumento na temperatura local

V – aumento do volume local

M0 – dia da indução da trombose

M1 – 24 horas após a indução da trombose e coleta do segmento venoso

M2 – 48 horas após o procedimento cirúrgico

M3 – 72 horas após o procedimento cirúrgico

M4 – 96 horas após o procedimento cirúrgico

M5 – 5 dias após o procedimento cirúrgico

M6 – 6 dias após o procedimento cirúrgico

M7 – 7 dias após o procedimento cirúrgico

M8 – 8 dias após o procedimento cirúrgico

M9 – 9 dias após o procedimento cirúrgico

M10 – 10 dias após o procedimento cirúrgico

M11 – 11 dias após o procedimento cirúrgico

M12 – 12 dias após o procedimento cirúrgico

M13 – retirada dos pontos de pele

TABELA 4 – Momentos das alterações locais observadas nos animais do estudo Fogarty (EF) após os procedimentos cirúrgicos. Os exames físicos locais foram realizados durante todos os dias do experimento e avaliou-se alterações como: sensibilidade dolorosa local à palpação (D), aumento da temperatura local (T) e aumento de volume (V)

Nº do animal	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13
6	D/T/V	D/T/V	D/T/V	T	T	T/V	T/V	T/V	T/V	T/V	T/V	T/V	V
7	T	T	T	T/V	V	V	V						
8	D/T/V	T/V	T/V										
9	D/T/V	D/T/V	D/T/V	D/T/V	T/V								
10	D/T/V	D/T/V	D/T/V	T									

D – sensibilidade dolorosa à palpação

T – aumento na temperatura local

V – aumento do volume local

M1 – coleta do segmento venoso após aplicação do cateter de Fogarty

M2 – 24 horas após o procedimento cirúrgico

M3 – 48 horas após o procedimento cirúrgico

M4 – 72 horas após o procedimento cirúrgico

M5 – 96 dias após o procedimento cirúrgico

M6 – 5 dias após o procedimento cirúrgico

M7 – 6 dias após o procedimento cirúrgico

M8 – 7 dias após o procedimento cirúrgico

M9 – 8 dias após o procedimento cirúrgico

M10 – 9 dias após o procedimento cirúrgico

M11 – 10 dias após o procedimento cirúrgico

M12 – 11 dias após o procedimento cirúrgico

M13 – 12 dias após o procedimento cirúrgico e retirada dos pontos de pele

4.2 Avaliações ultrassonográficas

Os exames ultrassonográficos foram exequíveis em todos os animais e em todas as fases do experimento, com boa observação do fluxo sanguíneo nos vasos p rvios, na observação clara da parede e na confirmação da ocorrência dos trombos nos casos de tromboflebite, com suas características quanto ao aspecto, resistência   pressão do transdutor, bem como demais características da tromboflebite (BARBOSA et al., 2009a; MAFFEI et al., 2008a; ZWIEBEL, 2005).

Na avaliação ultrassonográfica em M-24h, em planos longitudinais e transversais, foi possível observar a veia cefálica pérvia e com fluxo laminar. A veia cefálica apresentou paredes finas ecogênicas, com contorno irregular e a luz anecóica (Figura 9).

Na avaliação ultrassonográfica após a indução da trombose (M1) nos animais do ET, a veia cefálica apresentou-se com características mais hiperecogênicas quando comparadas com as características da veia hígida e com garrote (Figura 10). Caudal a ligadura distal da veia cefálica, pode-se observar um turbilhonamento e uma área mais hipoecóica que o trombo, indicando estase sang nea (Figura 10B). O trombo apresentou-se irredutível   compressão com o transdutor.

As alterações ultrassonográficas foram semelhantes aos aspectos do trombo na veia jugular em equinos nos estudos realizados por Hussni et al. (2012); Barbosa (2009b) e Dornbusch (2005).

A medida média da parede vascular hígida, 24 horas antes dos procedimentos cirúrgicos (M-24h) em ambos os estudos (ET e EF) foi de $0,56 \pm 0,09$ mm, diâmetro médio de $3,46 \pm 0,96$ mm e a área total de $2,88 \pm 0,25$ mm², estabelecendo assim uma base paramétrica da veia cefálica hígida em equinos.

Após a indução da trombose aguda experimental, a média da parede vascular foi de $1,05 \pm 0,21$ mm, diâmetro médio de $5,78 \pm 0,72$ mm e área total de $6,28 \pm 2,30$ mm², demonstrando assim que houve diferenças significativa em relação ao espessamento das túnicas e aumento da área total na tromboflebite (ANEXO 2).

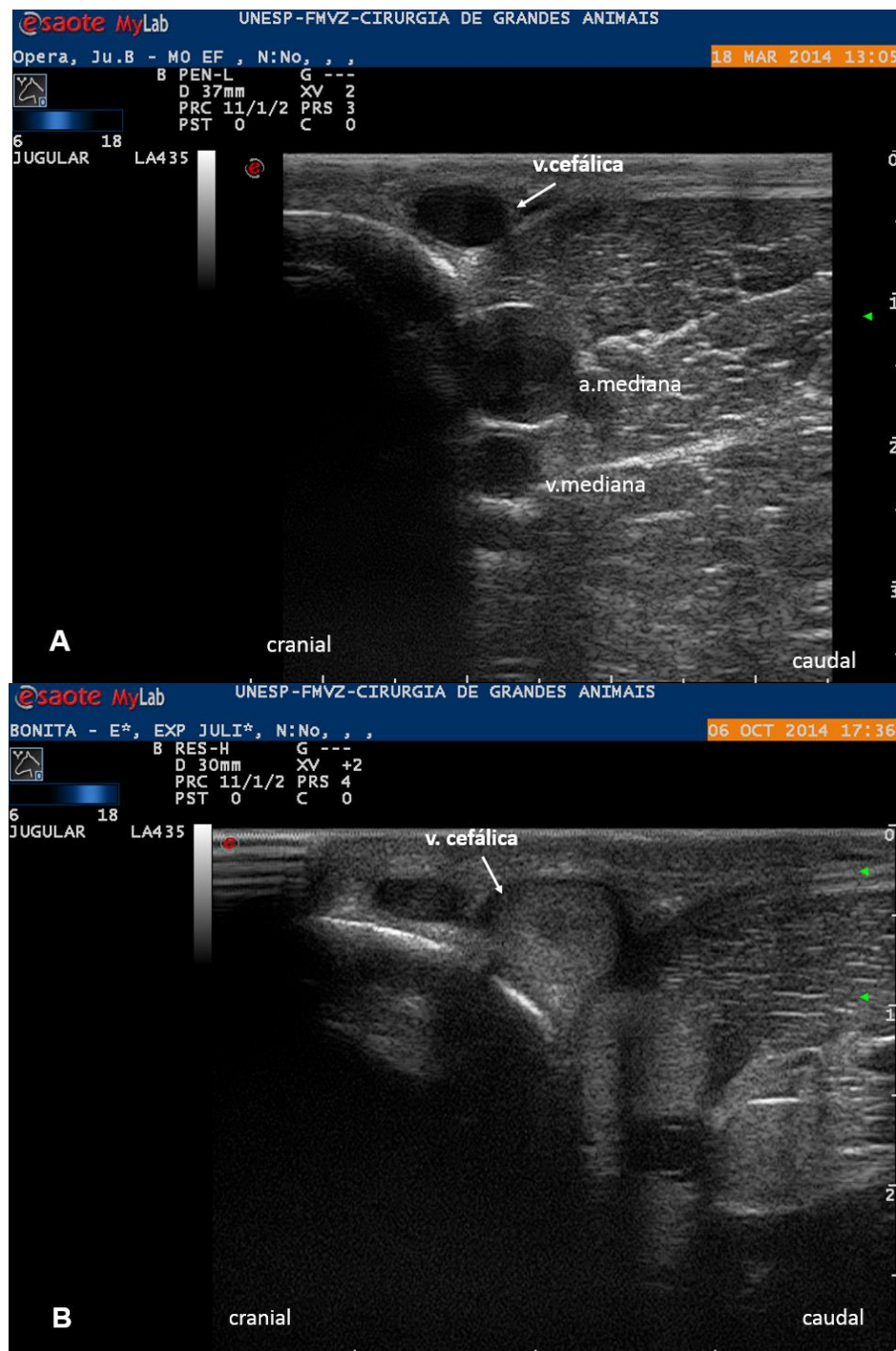


FIGURA 9 – Imagem ultrassonográfica da veia cefálica no momento prévio aos procedimentos cirúrgicos (M-24h). A - corte transversal da veia cefálica hígida, apresentando parede de contornos irregulares e região anecogênica na luz do vaso; B – veia cefálica hígida ingurgitada pelo garroteamento manual apresentando áreas com características mais hiperecogênicas na luz do vaso indicando estase sanguínea

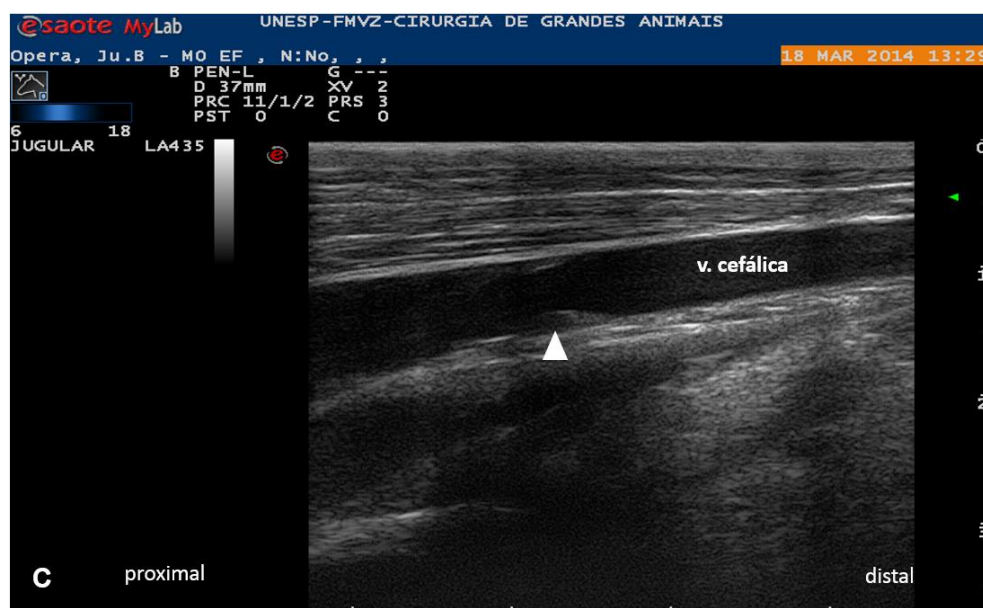


FIGURA 9 (continuação) – Imagem ultrassonográfica da veia cefálica no momento prévio aos procedimentos cirúrgicos (M-24h). C – Corte longitudinal da veia cefálica hígida apresentando região anecogênica na luz do vaso. Seta: Válvula venosa

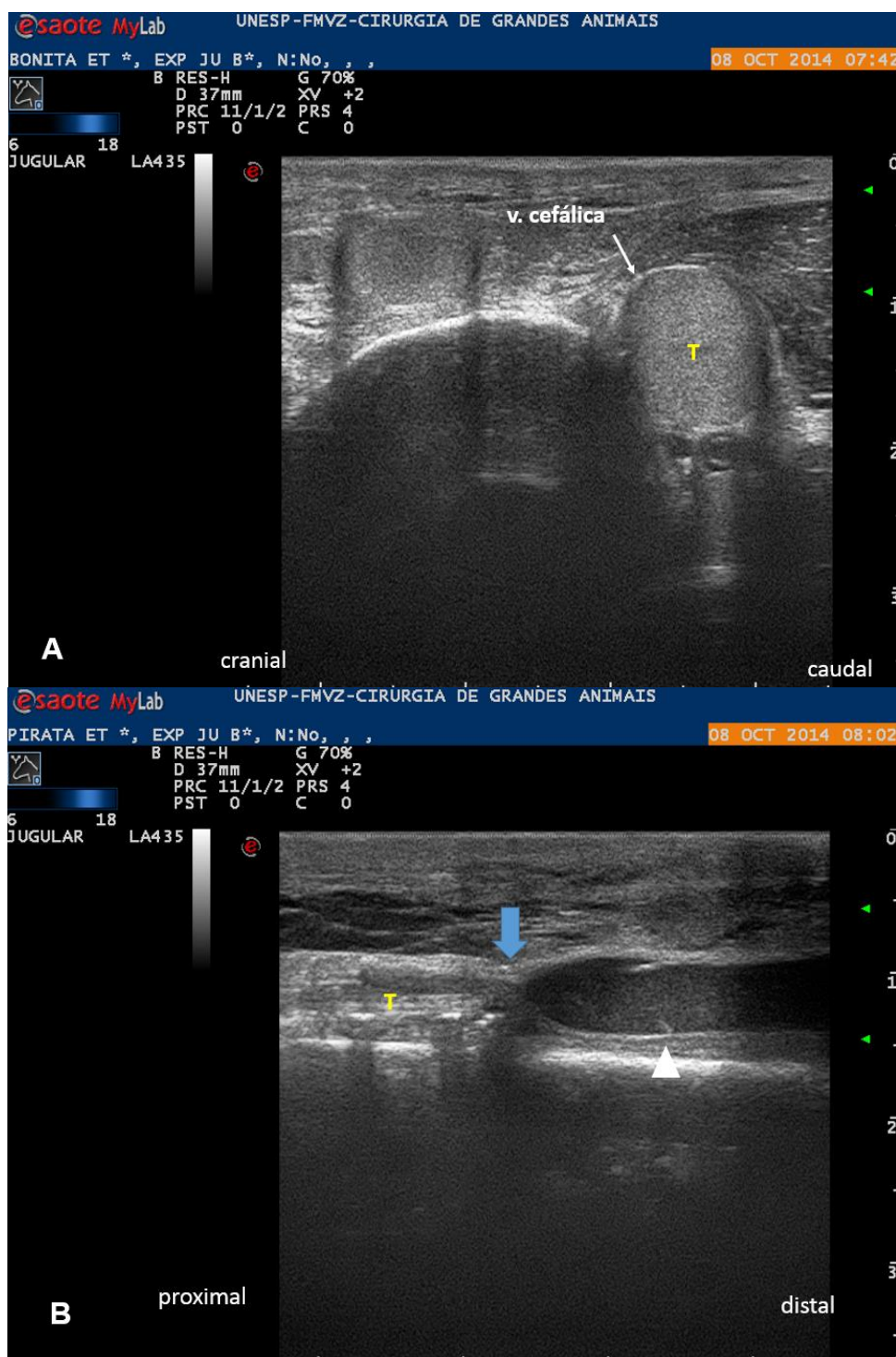


FIGURA 10 – Imagem ultrassonográfica da veia cefálica dos animais do Estudo Trombose (ET) 24 horas a indução da trombose experimental (M1). A – corte transversal da veia cefálica, à direita o trombo (T) obstruindo todo o lúmen vascular com características hiperecogênicas; B – corte longitudinal da veia cefálica, à direita o trombo (T) com características mais hiperecogênicas comparada ao momento prévio à indução da trombose (Mpré), ao centro (seta azul), a ligadura distal do vaso realizada no procedimento de indução e à direita, uma área mais hipoeecogênica indicando estase sanguínea. Ponta da seta: válvula venosa

4.3 Avaliação histopatológica

No segmento da amostra controle (AC), verificou que a espessura da túnica íntima e da túnica média com $13,356 \pm 1,493 \mu\text{m}$ e $302,284 \pm 13,201 \mu\text{m}$, respectivamente. Não sendo encontrada na literatura a histometria de vasos sanguíneos em equinos.

Na análise morfológica da veia cefálica da AC, observou-se endotélio formado de epitélio pavimentoso simples, com as células justapostas sobre uma camada subendotelial (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; ROSS E PAWLINA, 2012, GARTNER; HIATT, 2007). Observou-se células musculares lisas ocasionais presentes na túnica íntima, conforme citado por Junqueira e Carneiro (2013) e Ross e Pawlina (2012).

A túnica média da veia cefálica apresentou camadas de células musculares lisas dispostas circunferencialmente com núcleo alongado, entremeadas com tecido conjuntivo denso modelado rico em colágeno. De modo semelhante Junqueira e Carneiro (2013) e Ross e Pawlina (2012).

A túnica adventícia, camada mais externa do vaso, apresentou-se com feixes musculares transversais e tecido conjuntivo denso colágeno (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; MAFFEI et al., 2008a; WELSCH, 2007).

Conforme citado na metodologia, avaliou-se a região proximal e distal do segmento venoso coletado após indução da trombose experimental aguda.

4.3.1 Avaliação histopatológica do Estudo Trombose (ET)

Na avaliação da região proximal da veia cefálica dos animais do estudo trombose (ET), as túnicas íntima e média apresentaram comprimento médio de $15,985 \pm 3,270 \mu\text{m}$ e $377,814 \pm 40,134 \mu\text{m}$ de comprimento, respectivamente.

A medida da espessura da túnica íntima apresentou diferenças significativas quando comparadas com a amostra controle (AC), sendo $p < 0,05$. A túnica íntima do segmento proximal dos animais do ET, apresentaram histometria média 19,96% maior que as medidas da AC. Observou-se também alterações morfológicas do endotélio, onde as células do endotélio apresentaram-se em formato cúbico.

Todos os segmentos proximais do ET apresentaram espessamento da túnica média com aumento médio de 24,98% em relação aos valores da AC,

confirmando o estudo de Sigel et al. (1994) onde observaram um espessamento da túnica média na trombose em suínos.

Foi observado uma proliferação das células do músculo liso com maior deposição de colágeno entre as fibras musculares em todos os segmentos proximais do ET, semelhante ao encontrado por Sigel et al. (1994) em suínos.

No segmento proximal do ET, foi possível observar que o trombo provocou lesão do endotélio e da parede vascular após a indução experimental da trombose aguda, conforme citado por Barbosa (2009) e Sigel et al. (1994).

Observou-se também, a presença de células inflamatórias na parede da veia cefálica, podendo ser caracterizar como tromboflebite. Conforme citado por Campos, Borges-Branco e Groth (2007) os neutrófilos são as primeiras células a chegar no local da lesão e possui maior concentração em 24 horas.

Não foi observado morte ou descolamento das células endoteliais conforme proposto por Rhodes et al. (2000) e Cheville (2004a) em estudos morfológicos da trombose em humanos.

Na avaliação da região distal da veia cefálica do ET, as túnicas íntima e média apresentaram comprimento médio de $16,195 \pm 2,029 \mu\text{m}$ e $341,472 \pm 29,095 \mu\text{m}$, respectivamente. Apresentando histometria e morfologia semelhante ao encontrado na região proximal da veia cefálica do mesmo estudo (ET).

A espessura da túnica íntima apresentou diferenças significativas quando comparadas com a AC, sendo $p < 0,05$. A túnica íntima do segmento proximal do ET apresentou morfometria média 21,26% maior que as medidas da AC.

A espessura da túnica média apresentou diferenças significativas quando comparadas com a AC, sendo $p < 0,05$. Todos os segmentos distais do ET apresentaram espessamento da túnica média com aumento médio de 12,96% em relação aos valores do AC.

A média das medidas das túnicas íntima e túnica média dos segmentos proximal e distal da veia cefálica dos animais do Estudo Trombose (ET) e da amostra controle estão representadas nas Figuras 11 e 12, respectivamente.

Foi possível observar o padrão morfológico das células da veia cefálica, encontrado nos segmentos proximal e distal do ET, onde há a presença do trombo na luz do vaso, células endoteliais em formato cúbico (Figura 13) e maior quantidade de matriz extracelular e colágeno entre as fibras musculares.

Observou-se também, uma desorganização das fibras musculares lisas em relação à morfologia da amostra controle (Figura 14).

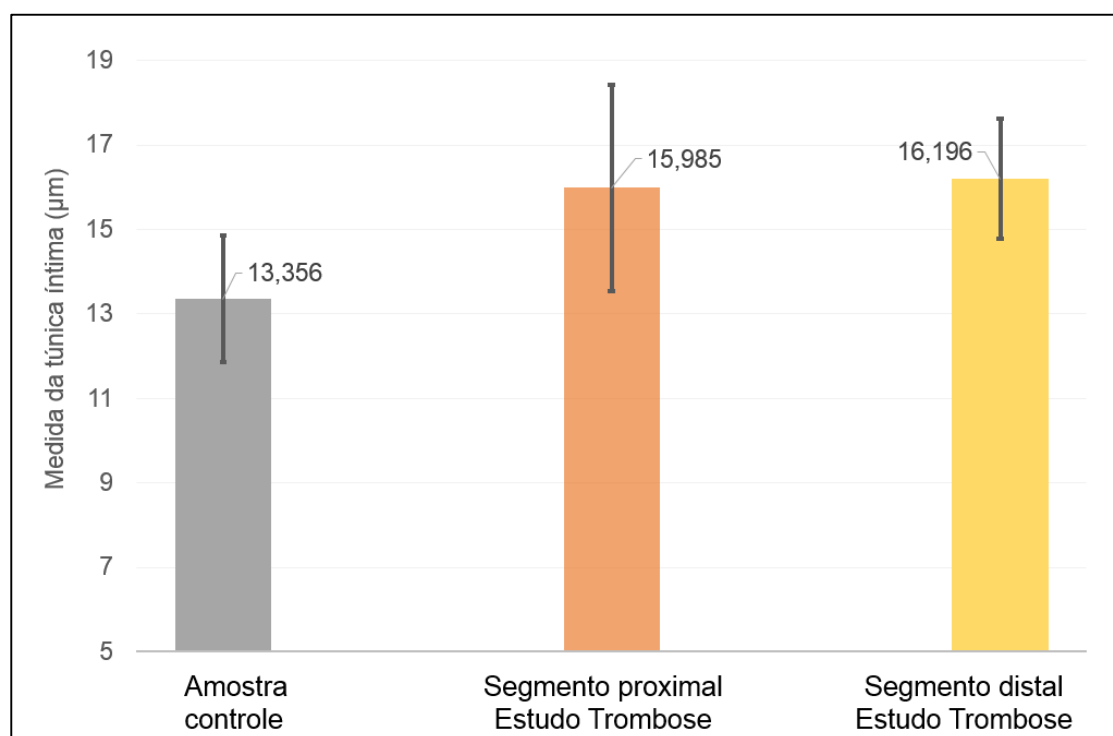


FIGURA 11 – Média e desvio padrão das medidas (µm) da túnica íntima da veia cefálica da amostra controle (AC) e dos segmentos venosos proximal e distal do Estudo Trombose (ET). O gráfico demonstra um aumento significativo da média das medidas da túnica íntima da veia cefálica nos segmentos proximal e distal do ET em relação à AC, demonstrando diferença significativa entre eles

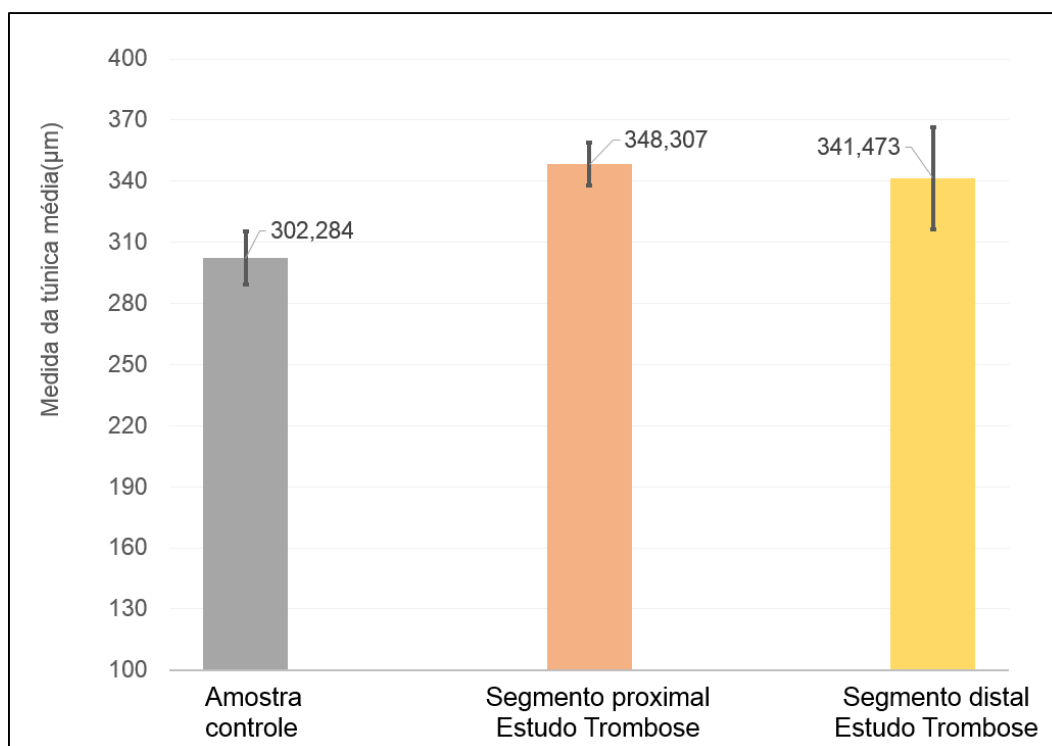
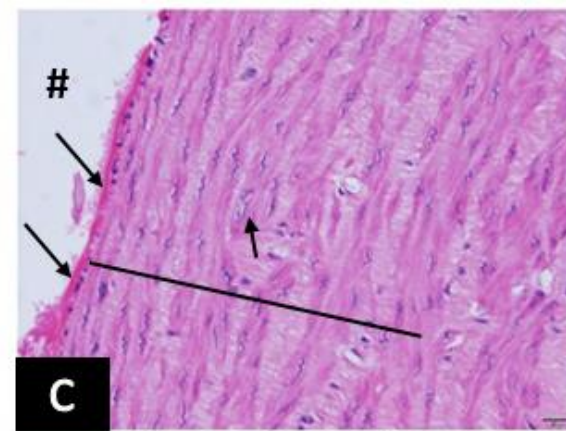
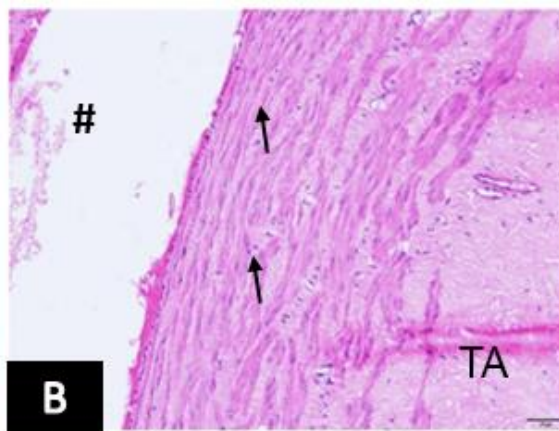
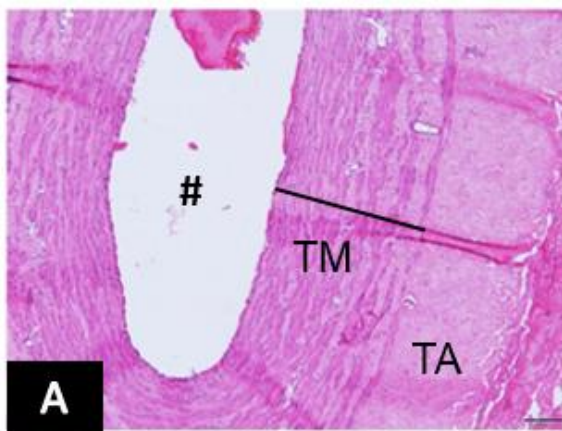


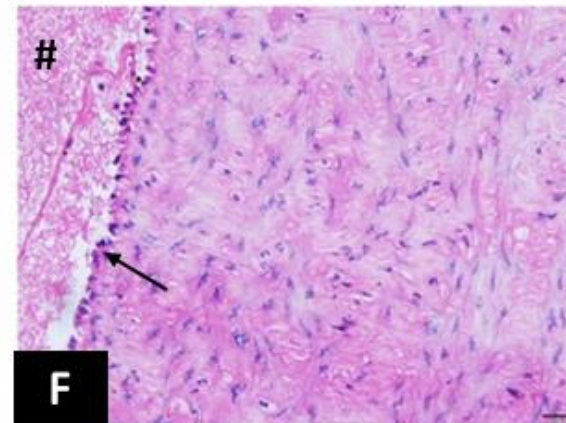
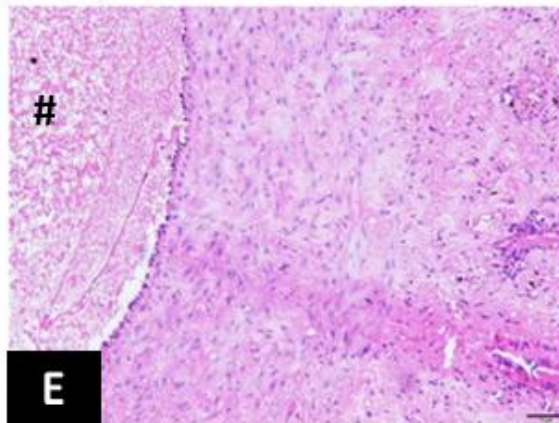
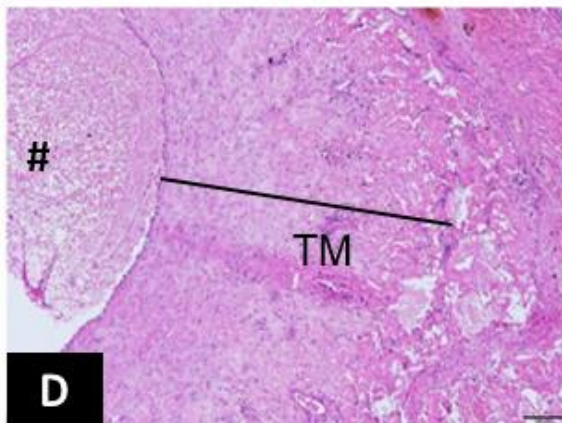
FIGURA 12 – Média e desvio padrão das medidas (µm) da túnica média da veia cefálica da amostra controle (AC) e dos segmentos venosos proximal e distal do estudo Trombose (ET). O gráfico demonstra um aumento significativo da média das medidas da túnica média da veia cefálica nos segmentos proximal e distal do ET em relação à AC, demonstrando diferença significativa entre eles

FIGURA 13 – Fotomicroscopia da veia cefálica de equinos submetidos ao procedimento de indução de trombose experimental por solução de glicose 50% e corado com hematoxilina e eosina. De (A-C) observa-se veia normal, destacando a integridade do vaso (A) com destaque das Túnicas Média (TM) e adventícia (TA) - Aumento 10X; em (B) nota-se que a TM com a organização das células musculares lisas (cabeças de setas) - Aumento 20X; em (C) é facilmente observado a túnica íntima (setas) - Aumento 40X. Após as 24 horas da indução da trombose (D, E e F), a região proximal é possível observar que a luz apresenta um acúmulo de células coaguladas (#) com destaque das Túnicas Média (TM) e adventícia (TA), em (F) nota-se a ativação do endotélio com a mudança efetiva de formato - Aumento 40X. A região distal do trombo (G, H e I) as estruturas são semelhantes às observadas nas imagens proximais com a ativação do endotélio (I) - Aumento 40X

Amostra controle



Segmento proximal do Estudo Trombose



Segmento distal do Estudo Trombose

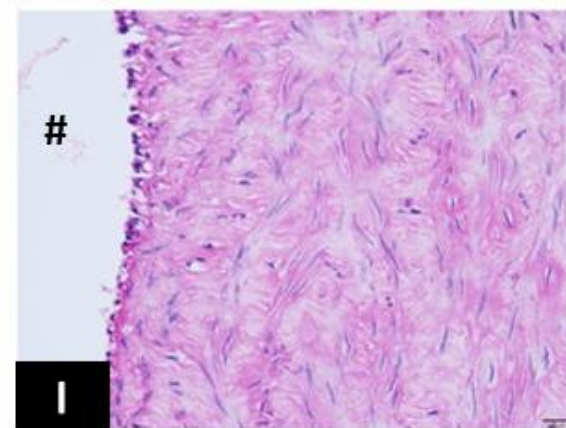
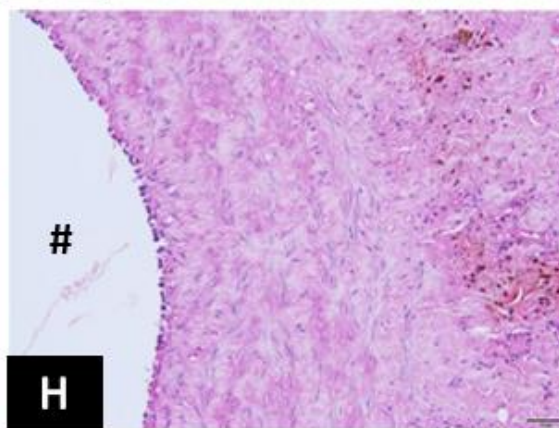
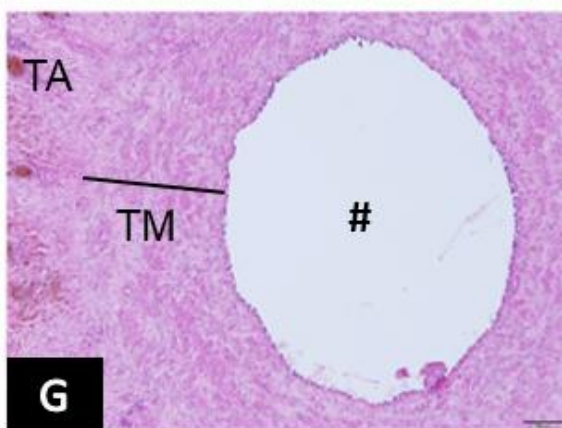
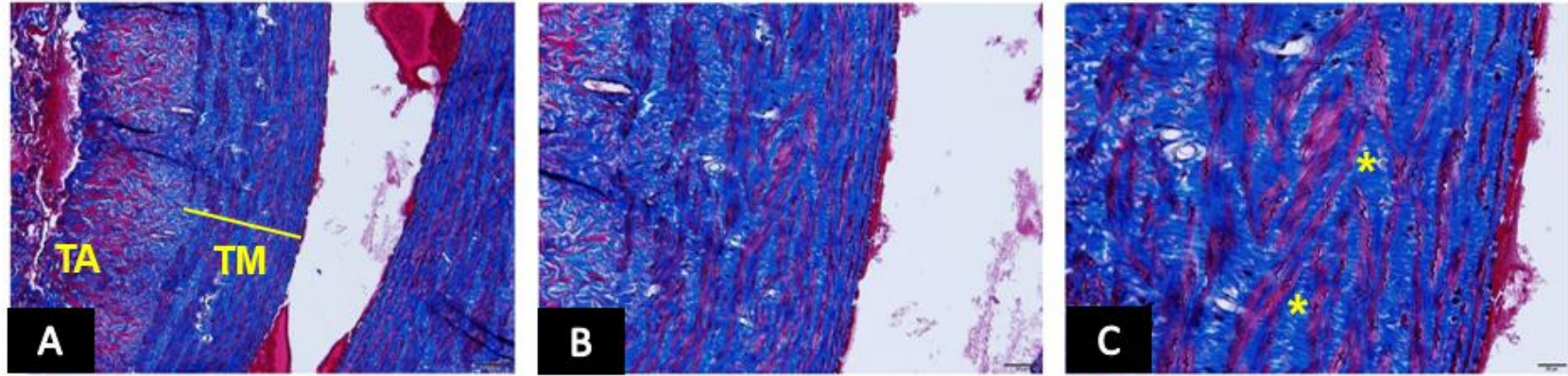
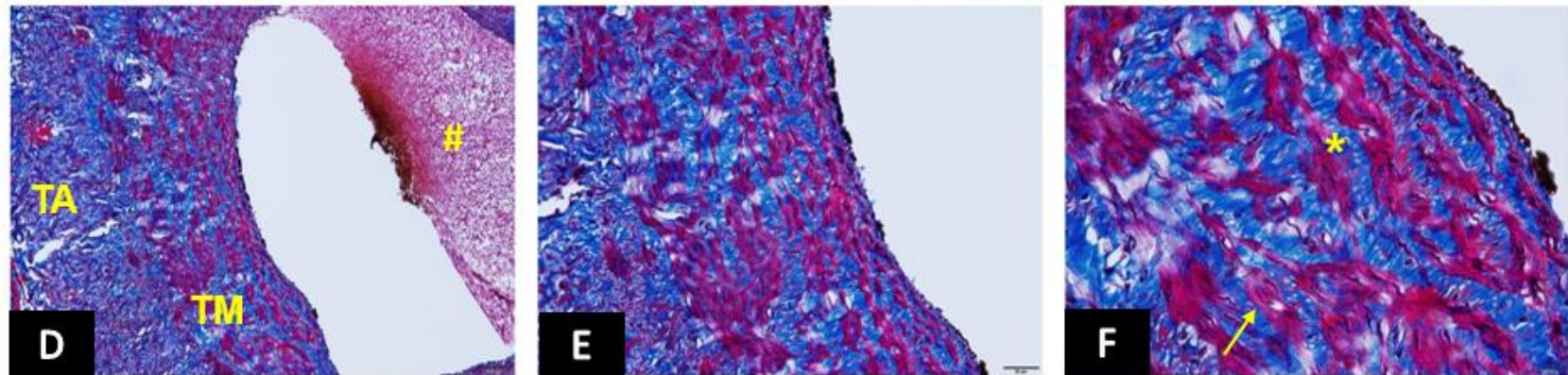


FIGURA 14 – Fotomicroscopia da veia cefálica de equinos submetidos ao procedimento de indução de trombose experimental por solução de glicose 50% e corado com Tricrômio de Masson. De (A-C) observa-se veia normal, destacando a integridade do vaso (A) com destaque das Túnica Média (TM) onde nota-se – Aumento 10X - e (C) a presença de algumas fibras musculares lisas com predomínio de tecido conjuntivo (*) – Aumento 40X. Após as 24 horas da indução da trombose (D, E e F), na região proximal é possível observar que a luz apresenta um acúmulo de células coaguladas (#) com destaque das Túnica Média (TM) onde se observa tecido muscular liso (seta) aparentemente aumentado em relação a imagem da veia hígida em (F) – Aumento 40X. A região distal do trombo (G, H e I) as estruturas são semelhantes às observadas nas imagens proximais com aumento de fibras musculares lisas (seta) na TM (I) – Aumento 40X

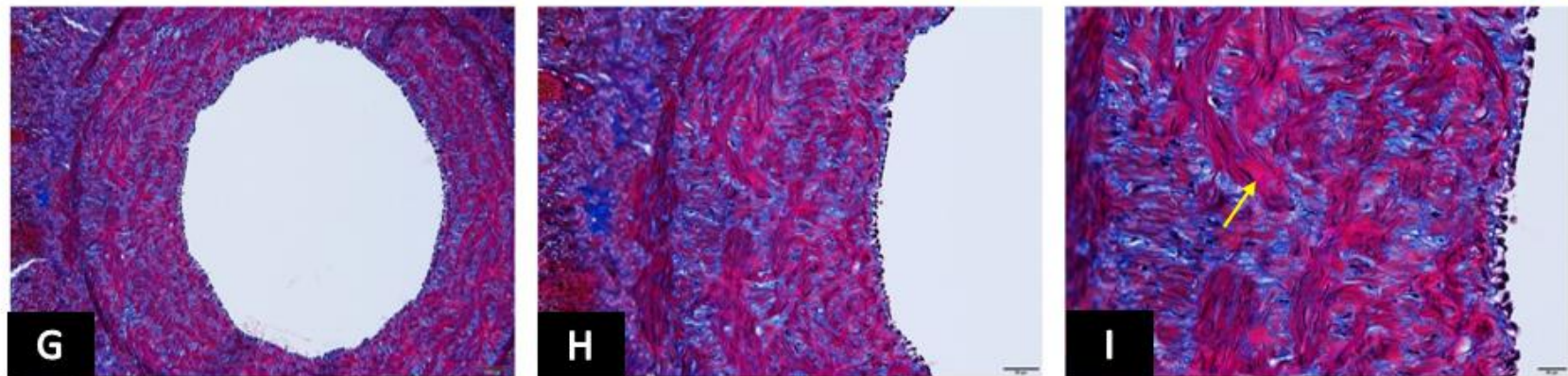
Amostra controle



Segmento proximal do Estudo Trombose



Segmento distal do Estudo Trombose



4.3.2 Avaliação histopatológica do Estudo Fogarty (EF)

Na avaliação da região proximal da veia cefálica do Estudo Fogarty (EF) na qual estabeleceu-se como segmento controle, as túnicas íntima e média apresentaram comprimento médio de $12,347 \pm 1,248 \mu\text{m}$ e $272,1425 \pm 23,303 \mu\text{m}$, respectivamente.

A espessura da túnica íntima não apresentou diferenças significativas quando comparadas com a amostra controle (AC), sendo $p > 0,05$. A túnica íntima do segmento proximal do Estudo Fogarty apresentou histometria média 7,4% menor que as medidas da AC.

A média das medidas das túnicas íntima e túnica média da veia cefálica dos segmentos proximal e distal do Estudo Fogarty (EF) e da amostra controle (AC) estão representadas nas Figuras 15 e 16, respectivamente.

Observou-se alterações morfológicas do endotélio, onde as células do endotélio apresentaram-se em formato cúbico (Figura 17). Podendo ser considerada como uma resposta neurogênica de vasoconstrição venosa a lesão tecidual (CHEVILLE, 2004b). Mesmo não sendo realizado nenhum tipo de procedimento neste segmento, a estase sanguínea e a manipulação do segmento distal ocasionaram esta diferença morfológica.

Os segmentos proximais do EF apresentaram diminuição média de 9,8% da túnica média em relação à histometria da AC, porém não houve diferença significativa ($p > 0,05$). As células musculares da túnica média não apresentaram alterações morfológicas em relação ao AC, apresentando-se mais organizadas e menor quantidade de colágeno entre as fibras quando comparadas com o ET.

O segmento distal da veia cefálica do Estudo Fogarty (EF), local onde procedeu-se a passagem do cateter de Fogarty, as túnicas íntima e média apresentaram média de comprimento de $13,275 \pm 1,271 \mu\text{m}$ e $281,444 \pm 28,027 \mu\text{m}$, respectivamente.

A espessura da túnica íntima não apresentou diferenças significativas quando comparadas com a AC, sendo $p > 0,05$. A histometria média da túnica íntima do segmento distal do EF foi 0,6% menor que as medidas da AC. Observou-se alterações morfológicas do endotélio semelhantes às encontradas na região proximal deste estudo (EF), onde as células do endotélio apresentaram-se em formato cúbico, porém com maior diferenciação morfológica (Figura 18).

A túnica média do segmento distal do EF apresentou diminuição média de 6,8% em relação aos valores da AC, porém não houve diferença significativa ($p>0,05$). As células musculares da túnica média não apresentaram alterações morfológicas em relação à AC e ao segmento proximal deste mesmo estudo.

O espessamento da parede vascular é considerado uma das principais causas da reoclusão após o *bypass* arterial ou angioplastia com balão nos casos de doença oclusiva aterosclerótica (CLOWES; REIDY, 1991; LIU; ROUBIN; KING, 1989), porém o espessamento foi observado somente no Estudo Trombose (ET).

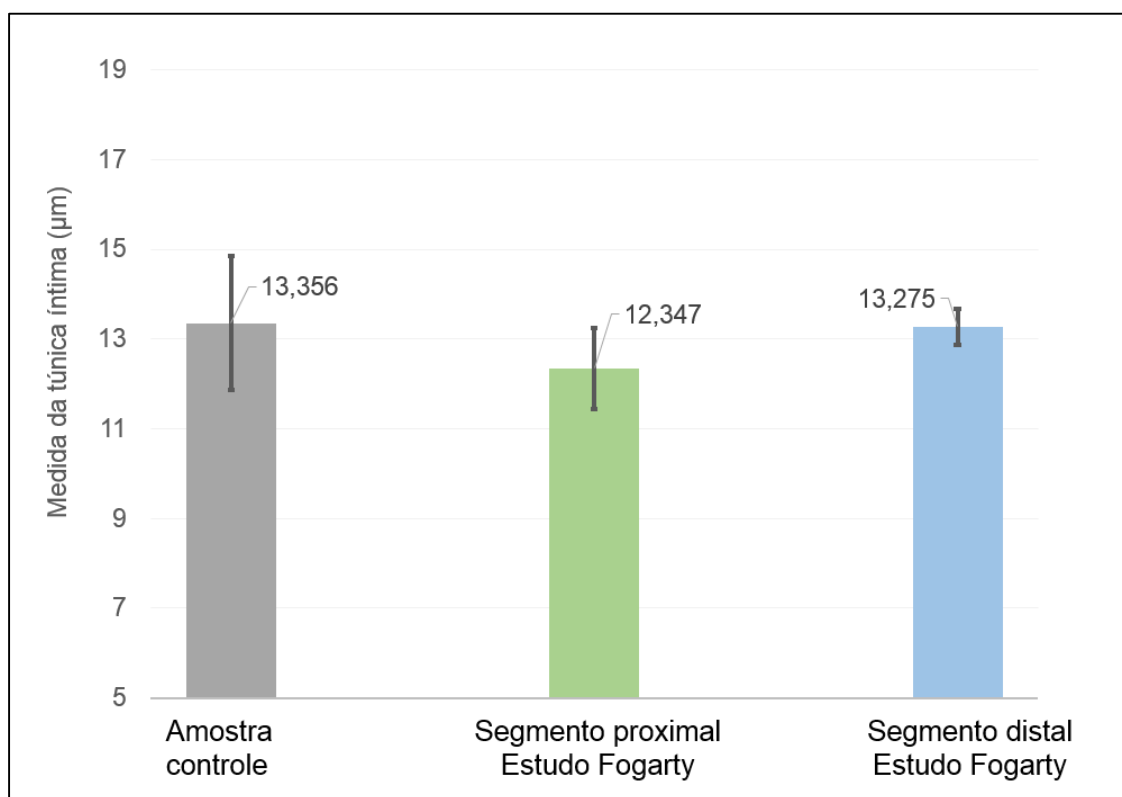


FIGURA 15 - Média e desvio padrão das medidas (µm) da túnica íntima da veia cefálica da amostra controle (AC) e dos segmentos venosos proximal e distal do Estudo Fogarty (EF). O gráfico demonstra uma diminuição na média das medidas da túnica íntima do segmento proximal do EF, porém não foram significativas. O segmento distal do EF apresentou histometria semelhante à AC

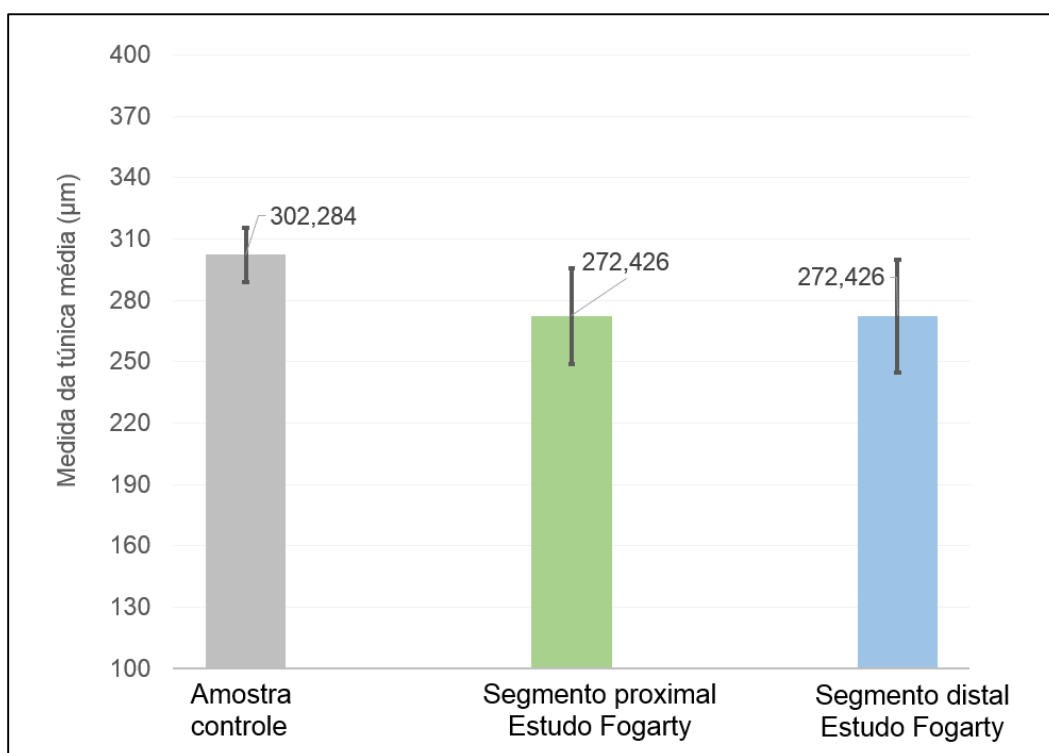
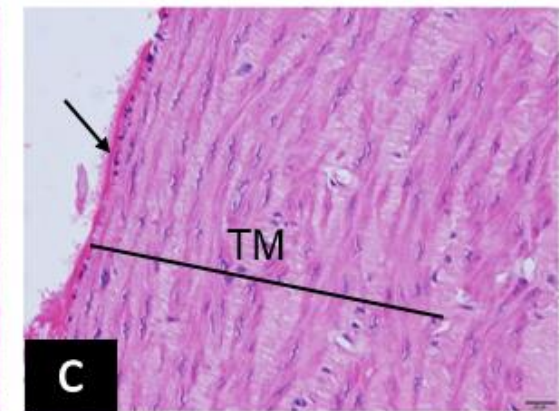
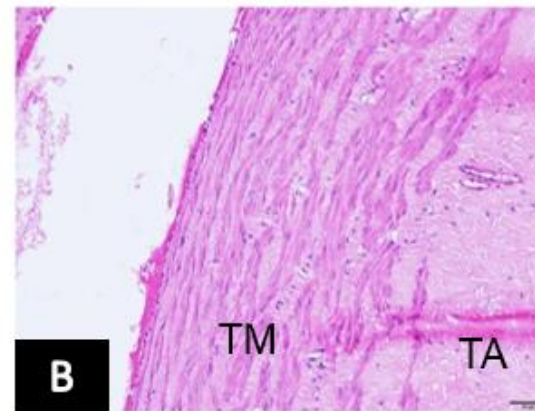
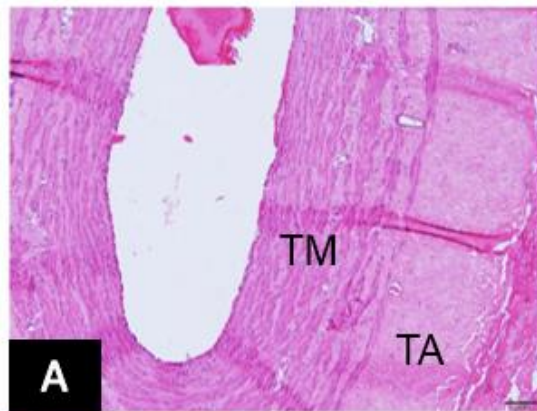


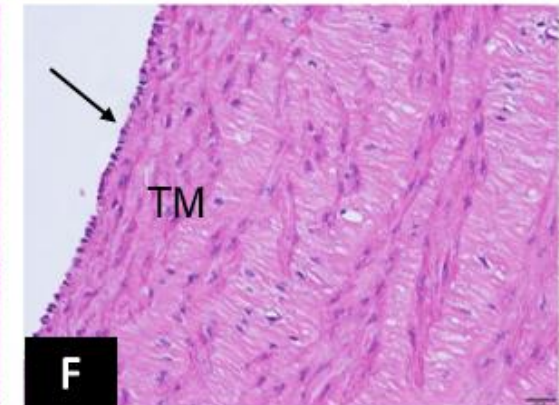
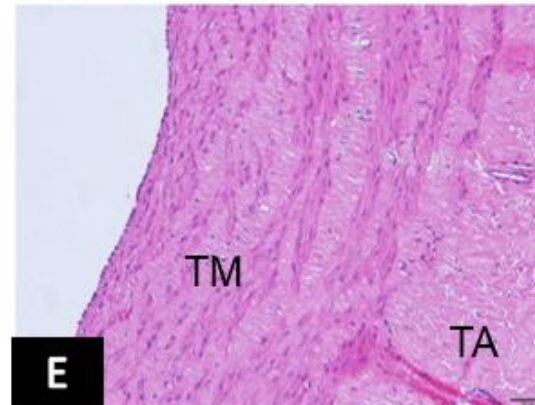
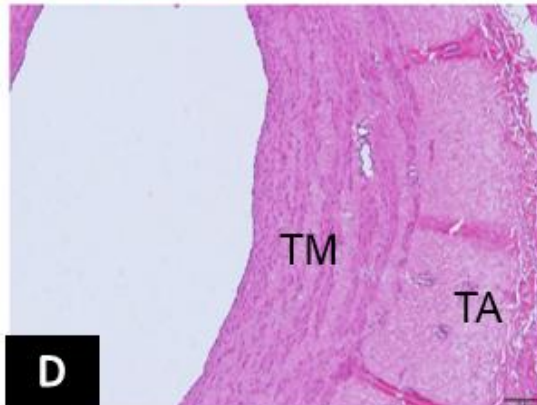
FIGURA 16 - Média e desvio padrão das medidas (μm) da túnica média da veia cefálica da amostra controle (AC) e dos segmentos venosos proximal e distal do Estudo Fogarty (EF). O gráfico demonstra uma diminuição na média das medidas da túnica média dos segmentos proximal e distal da veia cefálica do EF, porém não houve diferença significativa em relação à medida da AC

FIGURA 17 – Fotomicroscopia da veia cefálica de equinos submetidos à aplicação do cateter de Fogarty e corado com hematoxilina e eosina. De (A-C) observa-se veia normal, destacando a integridade do vaso (A) com destaque das Túnica Média (TM) e adventícia (TA); em (B) nota-se que a TM com a organização das células musculares lisas (cabeças de setas); em (C) é facilmente observado a túnica íntima (setas). Em (D, E e F), a região proximal com ativação do endotélio (seta) ativado em (F). A região distal, onde procedeu-se a passagem do cateter de Fogarty (G, H e I) as estruturas observadas as túnica sem ativação do endotélio (I) – Aumento 40X

Amostra controle



Segmento proximal do Estudo Fogarty



Segmento distal do Estudo Fogarty

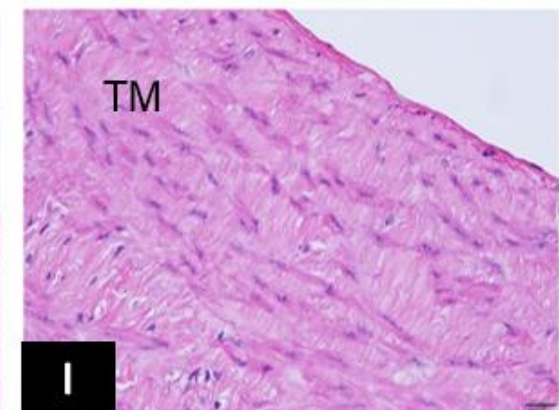
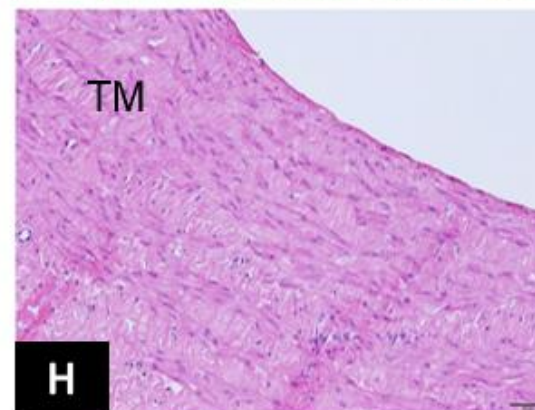
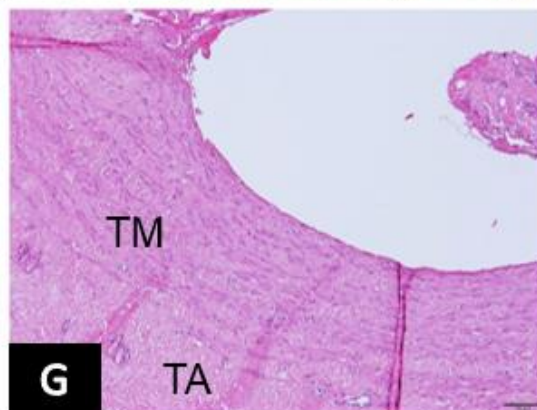
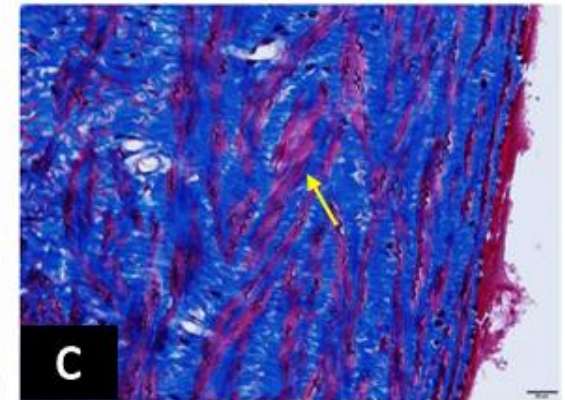
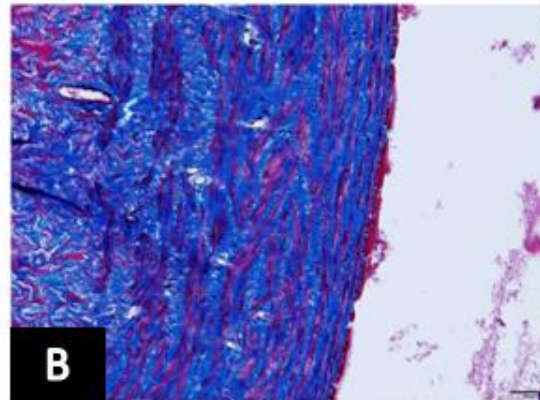
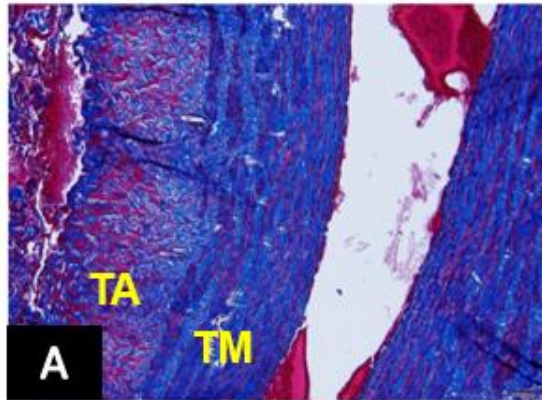
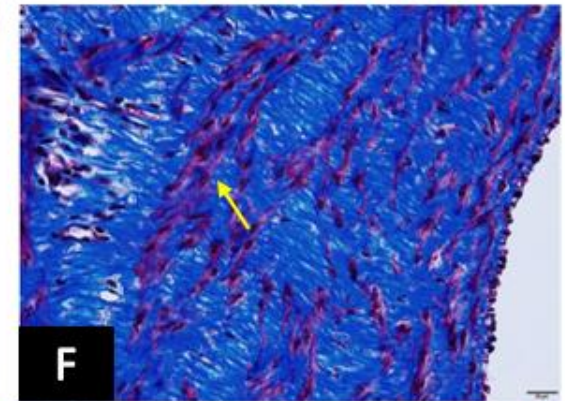
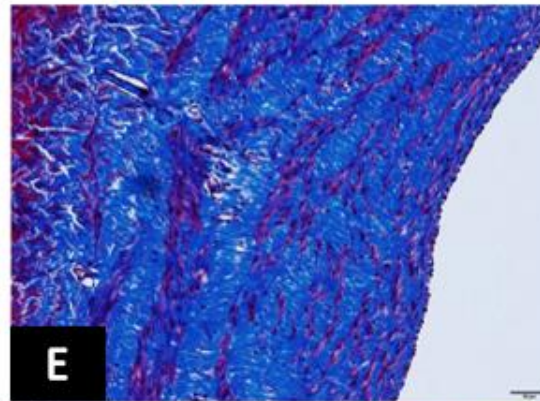
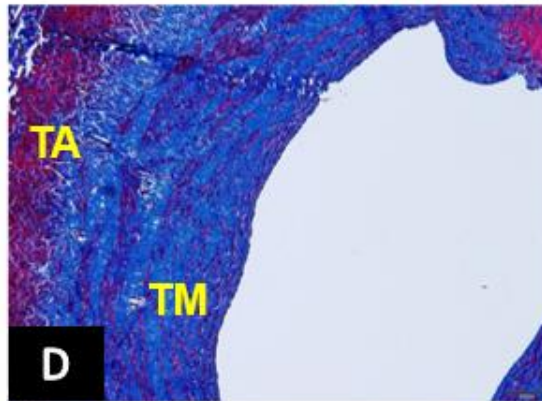
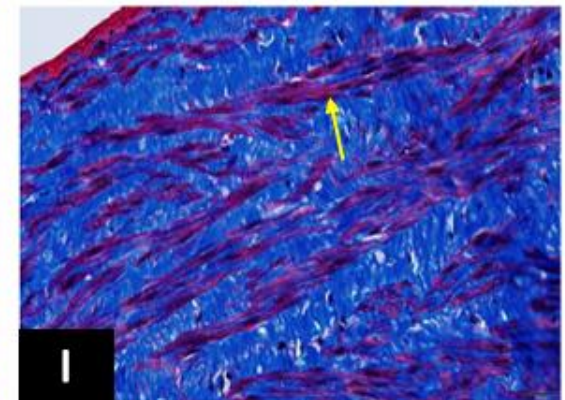
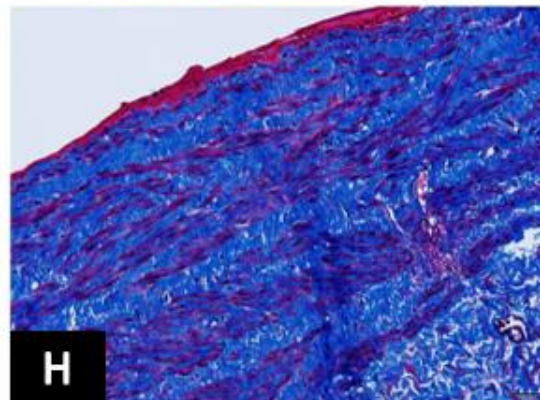
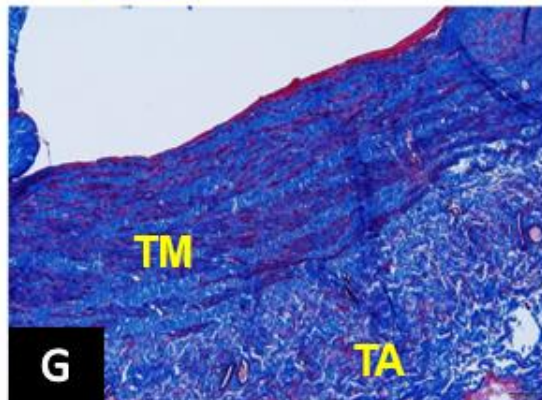


FIGURA 18 – Fotomicroscopia da veia cefálica de equinos submetidos à aplicação do cateter de Fogarty e corado com Tricrômio de Masson. De (A-C) observa-se veia normal, destacando a integridade do vaso (A) com destaque das Túnica Média (TM) onde nota-se e (C) a presença de algumas fibras musculares lisas com predomínio de tecido conjuntivo (*). A região proximal à passagem do cateter de Fogarty (D, E e F), com destaque das Túnica Média (TM) onde se observa tecido muscular liso (seta) aparentemente aumentado em relação a imagem da veia hígida em (F). A região distal, onde procedeu-se a passagem do cateter de Fogarty (G, H e I) as estruturas observadas nas imagens proximais com poucas fibras musculares lisas (seta) na TM (I) – Aumento 40X

Amostra controle**Segmento proximal do Estudo Fogarty****Segmento distal do Estudo Fogarty**

4.4 Análise estatística

Através do teste de *Dunnnett* foi possível observar que não houve diferença estatística significativa entre os segmentos proximal e distal da veia cefálica do Estudo Fogarty (EF) quando comparados com a amostra controle (AC). O mesmo não foi observado na comparação dos segmentos proximal e distal da veia cefálica no Estudo Trombose (ET) com a amostra controle (AC).

Na análise do intervalo de confiança de 95% da túnica íntima, observou-se a que a amostra controle encontra-se dentro do intervalo das médias dos segmentos proximal e distal da veia cefálica do Estudo Fogarty (Figura 19B), demonstrando semelhança estatística entre eles, o segmento venoso distal do Estudo Trombose encontra-se no limite inferior do intervalo de confiança, porém o segmento venoso distal deste estudo (ET), encontram-se fora deste intervalo (Figura 19A).

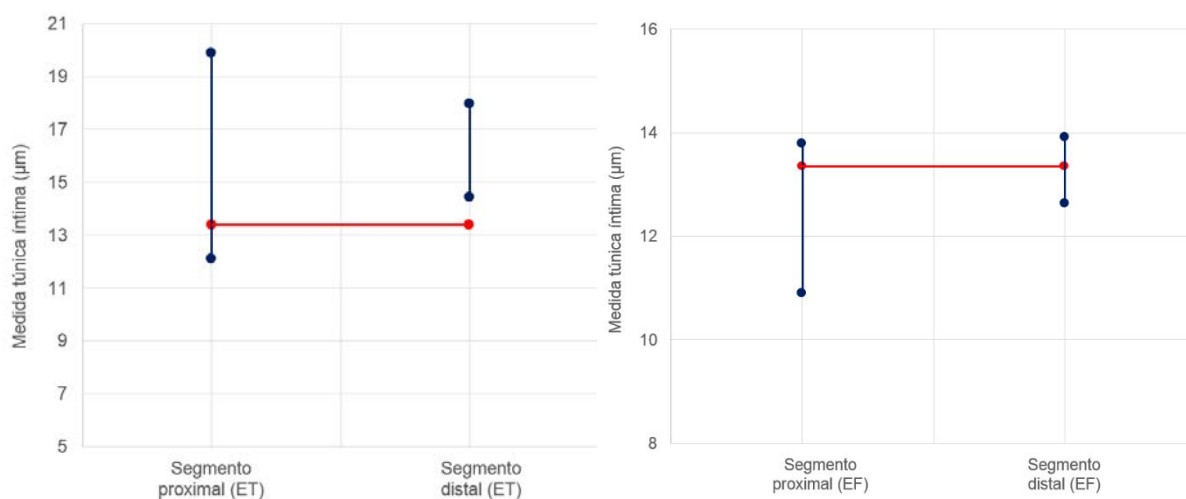


FIGURA 19 – À esquerda, intervalo de confiança de 95% da média das medidas (μm) da túnica íntima dos segmentos venosos proximal e distal da veia cefálica no Estudo Trombose (ET); à direita - Intervalo de confiança de 95% da média das medidas (μm) da túnica íntima dos segmentos proximal e distal da veia cefálica do Estudo Fogarty (EF). Em azul, pode-se observar o intervalo de confiança da média dos estudos descritos e em vermelho, a histometria média da túnica íntima da amostra controle (AC)

Na análise do intervalo de confiança de 95% da túnica média, observou-se que a amostra controle (AC) encontra-se dentro do intervalo das médias dos segmentos proximal e distal da veia cefálica do Estudo Fogarty (Figura 20B), demonstrando semelhança estatística entre eles, o mesmo não ocorre quanto ao intervalo da túnica média dos segmentos do Estudo Trombose (Figura 20A).

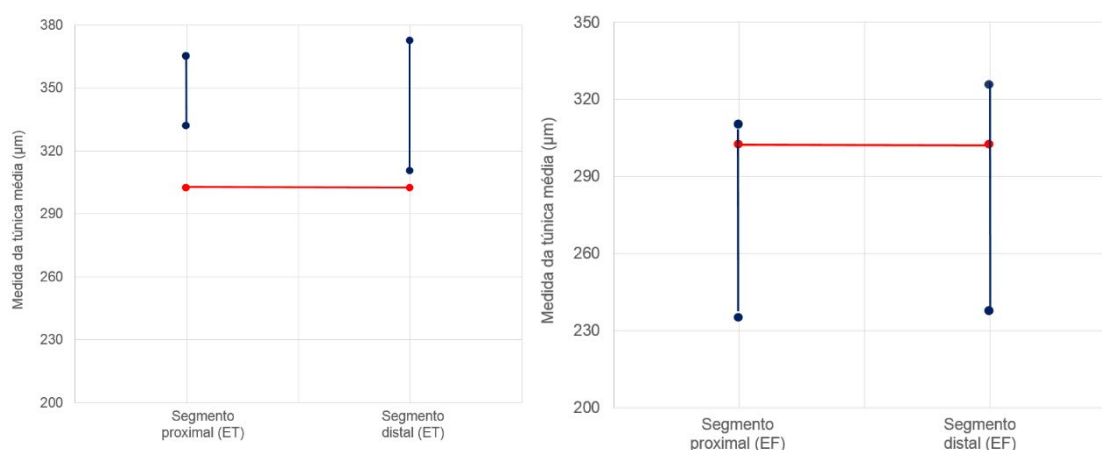


FIGURA 20 – À direita - Intervalo de confiança de 95% da média das medidas (µm) da túnica média dos segmentos proximal e distal da veia cefálica do Estudo Trombose (ET); à esquerda - Intervalo de confiança de 95% da média das medidas (µm) da túnica média dos segmentos venosos proximal e distal do Estudo Fogarty (EF). Em azul, pode-se observar o intervalo de confiança da média dos estudos descritos e em vermelho, o a histometria média da túnica média da amostra controle (AC)

5 CONCLUSÕES

Na trombose experimental aguda induzida há resposta inflamatória na parede vascular com a migração celular neutrofílica em evidência e hiperplasia das túnicas associada à presença do trombo.

A aplicação do cateter de Fogarty pode contribuir na modificação das células endoteliais alterando seu padrão morfológico, sem produzir solução de continuidade do endotélio.

O procedimento cirúrgico de acesso venoso e a manipulação para a aplicação do cateter de Fogarty por si causam modificação morfológica endotelial.

REFERÊNCIAS

- ASHDOWN, R.R.; DONE, S.H.A. The forelimb. In:____ Color atlas of veterinary anatomy. 2ed. London: Times Mirror International Publishers, 2008. cap.3, p.79-112
- ATKINSON, B. T.; JASUJA, R.; CHEN, V. M.; NANDIVADA, P.; FURIE, B.; FURIE, B. C. Laser-induced endothelial cell activation supports fibrin formation. *Blood*. v.116. p. 4675–4683, 2010.
- BARBOSA, R. G. Tromboflebite jugular experimental em equinos: aspectos clínicos, ultrassonográficos, venográficos e histopatológicos. 2009a. 98f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu.
- BARBOSA, R. G.; BORGHESAN, A. C.; CERQUEIRA, N. F.; HUSSNI, C. A.; ALVES, A. L. G. Fisiopatologia da trombose da veia jugular em equinos: revisão. *Vet e Zootec*. v.16, n.1, p.26-37, 2009b.
- BARONE, G. W.; CPNERLY, J. M.; FARLEY, P. C.; FLANAGAN, T. L.; KRON. I. L. Endothelial injury and vascular dysfunction associated with the Fogarty balloon cateter. *J. Vasc. Surg*. v. 9, n. 3. p.422-425, 1989.
- BAYARS, T. D.; DAVIS, D.; DIVERS, T. J. Coagulation in the equine intensive-care patient. *Clin. Tech. Equine Pract.*, v.2, p.178-187, 2003.
- BOUNAMEAUX, H.; PERRIER, A. Diagnosis of venous thromboembolism. In: COLMAN, R. W.; HIRSH, J.; MARDER, V. J.; CLOWES, A. W.; GEORDE, J, N, Hemostasis and thrombosis – Basics principles and clinical practice. Philadelphia: Leppincott Willians & Wilkins, 2006. 5.ed. p. 1279-1297.
- BUDRAS, K. –D; SACK, W. O.; RÖCK, S. Thoracic limb. In:____ Anatomy of the horse. Hannover: Schlütersche Verlagsgesellschaftmb H&Co., 2009. cap. 2, p. 4-15.
- BUSH, R. L.; LIN, P. H.; BATES, J. T.; MUREEBE, L.; ZHOU, W.; LUMSDEN, A. B. Pharmacomechanical thrombectomy for treatment of symptomatic lower extremity deep venous thrombosis: Safety and feasibility study. *J. Vasc Surg*. v.40, n.5. p.965-970, 2004.
- CAMPOS, A. C. L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A. C. Cicatrização de feridas. *Arq Bras Cir Dig*. n.20, v.1, p. 51-58, 2007.
- CHEVILLE, N. F. Inflamação aguda. In:____ Introdução à patologia veterinária. 2.ed. São Paulo: Roca, 2004a. cap.4, p.105-135.
- CHEVILLE, N. F. Hemostasia. In:____ Introdução à patologia veterinária. 2.ed. São Paulo: Roca, 2004b. cap.8, p.209-232.

CHO, J-S; MARTELLI, E.; MOZES, G.; MILLER, V. M.; GLOVICZKI, P. Effects of thrombolysis and venous thrombectomy on valvular competence, thrombogenicity, venous wall morphology, and function. *J Vasc Surg.* n.5, v.28. p.787-799, 1998.

CLOWES, A. W.; REIDY, M. A. Prevention of stenosis after vascular reconstruction: pharmacologic control of intimal hyperplasia- a review. *J Vasc Surg.* n.13. p.885-891, 1991.

COTRAN, R.S.; MITCHELL, R.N. Distúrbios hemodinâmicos, trombose e choque. In: COTRAN, R. S., KUMAR, V.; COLLINS, T. Robbins: Patologia estrutural e funcional. 6.ed. Rio de Janeiro: Saunders Company, 1999. chap. 5, p. 101-123.

COTRAN, R. S.; SCHOEN, F. J. Vasos sanguíneos. In: COTRAN, R. S., KUMAR, V.; COLLINS, T. Robbins: Patologia estrutural e funcional. 6.ed. Rio de Janeiro: Saunders Company, 1999. cap. 12, p. 441-485.

DABOUSSET, R.; MEZOUAR, S.; DIGNAT-GEORGE, F.; PANICOT-DUBOIS, L.; DUBOIS, C. Involvement of neutrophils in thrombus formation in living mice. *Pathology Biol.* v.62. p.1-9, 2014.

DAVIES, M. G.; DALEN, H.; SVENDSEN, E.; HAGEN P-O. The Functional and morphological consequences of balloon catheter injury in veins. *J Surg Res* v.57, n.1. p.122-132, 1994.

DORNBUSCH, P. T. Trombectomia com cateter de Fogarty no tratamento da trombose jugular experimental em equinos. 2005. 69f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu.

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.

DUBOIS, C., PANICOT-DUBOIS, L.; MERRILL-SKOLOFF, G.; FURIE, B.; FURIE, B.C. Glycoprotein VI-dependent and -independent pathways of thrombus formation in vivo. *Blood.* n.107 p. 3902–3906, 2006.

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

FURIE, B.; FURIE, B. C. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med.* v. 359. P.938–949, 2008.

GARDNER, S.Y., REEF, V.B., SPENCER, P.A. Ultrasonographic evaluation of horses with thrombophlebitis of the jugular vein. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* v.199, n.3, p.373, 1991.

GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. Sistema circulatório. In: ____ Tratado de histologia em cores. 7ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. cap.11. p.257-278.

GETTY, R. Corazón y vasos sanguíneos. In: ____ Anatomia de los animales domésticos. 5ed. Filadélfia: Saunders Company, 2001. v.1. cap. 11, p. 88-201.

GODOY, J. A. P. Efeito do dermatan sulfato na inflamação, trombose, formação da neointima e migração das células da medula óssea após lesão arterial em camundongos, 2010. 125p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas.

GOTLIEB, A. I. Vasos sanguíneos. In: RUBIN, E.; GORSTEIN, F.; RUBIN, R.; SCHWARTING, R.; STRAYER, D. Rubin Patologia: Bases clinicopatológicas da Medicina. 4ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. Cap. 10. p. 485-534.

HAIMOVICI, H. Arterial embolism of the lower extremity. In: HAIMOVICI H. Vascular emergencies. New York: Appleton, 1982. p.163-178 *apud* FAGUNDES, C. Fatores prognósticos em oclusões arteriais agudas dos membros inferiores – estudo retrospectivo. 2001. 122f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

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.

HUSSNI, C. A.; BARBOSA, R. G.; BORGHESEAN, A. C.; ROLLO, H. A.; ALVEZ, A. L. G.; WATANABE, M. J. et al. Aspectos clínicos, ultra-sonográficos e venográficos da tromboflebite jugular experimental em equinos. *Pesq. Vet. Bras.* v.32, n.7. p.595-600, 2012.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. Sistema circulatório. In: ____ Histologia básica. 12.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. cap 11, p.199-216.

KAMBAS, K.; MITROULIS, I.; APOSTOLIDOU, E.; GIROD, A.; CHRYSANTHOPOULOU, A.; PNEUMATIKOS, I.; et al. Autophagy mediates the delivery of thrombogenic tissue factor to neutrophil extracellular traps in human sepsis. *PLoS One*. n.7. p.4542- 4547, 2012.

KIERSZENBAUM, A. L. Cardiovascular system. In: ____ Histology and cell biology: a introduction to pathology. Missouri: Mosby, 2002. cap.12, p. 321-338.

KNOTTENBELT; D. C.; PASCOE, R. R. Diseases and disorders of the horse. 2.ed. Canadá: Mosby Elsevier, 1998. 1994p.

KÖNIG, H. E.; RUBERTE, J.; LIEBICH, H. –G. Órgãos do sistema cardiovascular. In: KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H. –G. Anatomia dos animais domésticos. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. cap. 12, p. 461-494.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N.; ASTER, J. C. Inflamação aguda e crônica. In: ____ Robbins e Cotran: Bases patológicas das doenças. 8.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. cap. 2, p. 43-78.

LIU, M. W.; ROUBIN, G. S.; KING, S. B. III. Restenosis after coronary angioplasty potential biologic determinants and role of intimal hyperplasia. *Circulation*. n.79. p.1374-1387, 1989.

MAFFEI, F.H.A.; LASTÓRIA, S.; YOSHIDA, W.B.; ROLLO, H.A.; GIANNINI, M.; MOURA, R. Doenças Vasculares Periféricas. 4.ed. v.1. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008a. 1094 p.

MAFFEI, F.H.A.; LASTÓRIA, S.; YOSHIDA, W.B.; ROLLO, H.A.; GIANNINI, M.; MOURA, R. Doenças Vasculares Periféricas. 4.ed. v.2. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008b. 1038 p.

MAJNO, G.; JORIS, I. Hemostasis and thrombosis . In: ____ Cells, tissues and disease: Principles of general pathology. 2.ed. New York: Oxford University Press, 2004. cap. 22 p.630-662.

MASSBERG, S.; GRAHL, L.; VON BRUEHL, M-L.; MANUKYAN, D.; PFEILER, S.; GOOSMANN, C.; et al. Reciprocal coupling of coagulation and innate immunity via neutrophil serine proteases. *Nat Med*. n.16. p.887–896, 2010.

MITCHELL, R.N. Distúrbios hemodinâmicos, doença tromboembólica e choque. In: KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N.; ASTER, J. C. Robbins e Cotran: Bases patológicas das doenças. 8.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. cap. 4, p. 111-134.

MITCHELL, R.N.; SCHOEN, F.J. Vasos sanguíneos. In: KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N.; ASTER, J. C. Robbins e Cotran: Bases patológicas das doenças. 8.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. cap. 11, p. 495-536.

MONTENGRO, M. R. FRANCO, M. Patologia: processo gerais. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1999. p. 99-102.

NORMAN, G. R.; STREINER, D. L. Bioestatistics the base Essentials. 3ed, St. Louis: Mosby Year Book, 2008, 393p.

ORSINI, J. A.; DIVERS, T. J. Equine Emergencies: Treatment and Procedures. 4ed. Saunders, 2013. p.912.

PAGLIOSA, G. M.; ALVES, G. E. S. Fatores predisponentes das complicações incisionais de laparotomias medianas em equinos [versão eletrônica]. *Ciência Rural*, Santa Maria. v.34, n. 5, p. 1655-1659, 2004.

RAGHAVENDRA, B. N.; HORII, S. C.; HILTON, S.; SUBRAMANYAM, B. R.; ROSEN, R. J.; LAM, S. Deep venous thrombosis: Detection by probe compression of veins. *J. Ultrasound Med*. v.5, p.89-95, 1986.

- RANG, H.P., DALE, M.M., RITTER, J.M. FLOWER, R.J.; HENDERSON, G. Hemostasia e trombose. In: ____ Rang & Dale: Farmacologia. 7.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. chap. 24, p. 294-308.
- REEF, V. B. Equine diagnostic ultrasound. Phyladelfia: W. B. Saunders Company, 1998.
- RHODES, J. M.; CHO, J-S.; GLOVICZKI, P.; MOZES, G.; ROLLE, R.; MILLER, V. M. Thrombolysis for experimental deep venous thrombosis maintains valvular competence and vasoreactivity *J. Vasc. Surg.*, 2000. p. 1193-1204.
- RISTOW, A. V.; LOURES, J. M. R.; COELHO, R. P. MARTINS, G. A.; CURY, J.M. et al. Trombectomia da veia cava inferior sem laparoscopia. *J Vasc Br.* n.1, v.1, p. 71-78, 2002.
- 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.
- ROSS, M. W.; DYSON, S. J. Diagnosis and management of lameness in the horse. 2ed. Saunders, 2011. 1349p.
- ROSEN, E. D.; RAYMOND, S.; ZOLLMAN, A.; NORIA, F.; SANDOVAL-COOPER, M.; SHULMAN, A.; et al. Laser-induced noninvasive vascular injury models in mice generate platelet- and coagulation-dependent thrombi. *Am J Pathol.* n.158. p.1613–1622, 2001.
- SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. Sistema cardiovascular. In: ____ Patologia Veterinária. São Paulo: Roca, 2014. cap 2, p. 51-88.
- SIGEL, B.; SWAMI, V.; CAN, A.; PARSONS, R. E.; GOLUB, R. M.; KOLECKI, R. et al. Intimal hyperplasia producing thrombus organization in a experimental venous thrombosis model. *J Vasc Surg.* v.19, n.2. p.351-359, 1994.
- SOBREIRA, M. L.; YOSHIDA, W. B.; LASTÓRIA, S. Tromboflebite superficial: epidemiologia, fisiopatologia, diagnóstico e tratamento. *J. Vasc. Bras.* v.7, n.2. p. 131-143, 2008.
- TOPPER, M. J.; PRASSE, K. W. Analysis of coagulation proteins as acute-phase reactants in horse with colic. *Am. J. Vet. Res.*, p.281-288, 2006.
- TOWNSEND, M. C.; BEUCHAMP, D.; EVERS, B. M.; MATTOX, K. L. Tratamento Perioperatório. In: ____ SABISTON JR, D. C.; BEUCHAMP, D. TOWNSEND, M. C. Sabiston – Tratado de Cirurgia: A base biológica da prática cirúrgica moderna. 17ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. v.2. p. 298-299.
- VIRCHOW, R. Thrombosis and Emboli (1846-1856), Canton, Science History Publications, 1998, 231p. *apud* MAFFEI, F. H. A.; LASTÓRIA, S.; YOSHIDA, W. B.; ROLLO, H. A.; GIANNINI, M.; MOURA, R. Doenças Vasculares Periféricas 4.ed. vol.2. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 1038 p.

VLEET, J. F. V.; FERRANS, V. J. Sistema cardiovascular. In: McGavin, M. D.; Zachary, J. F. Bases da patologia em veterinária. 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. chap. 10, p.559-612.

VON BRÜHL, M-L.; VON STARK, K.; STEINHART, A.; CHANDRARATNE, S.; KONRAD, I.; LORENZ, M.; et al. Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo. *J Exp Med*. n.209. p.819–835, 2012.

WEIMER, P. GRUYS, E. VAN HOECK, B. A study of seven different types of grafts for jugular vein transplantation in the horse. *Res. Vet. Sci.*, v.79, p.211-217, 2005.

WELSCH, U. Sistema vascular. In: _____ Sobotta, atlas de histologia: citologia, histologia e anatomia microscópica. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. p. 126-133.

ZWIEBEL, W. T. Ultrasound diagnosis of venous thrombosis. In: ZWIEBEL, W. T., Pellerito JS, eds. Introduction of vascular technology. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005. p.449-465.

Trabalho a ser enviado para a revista Pesquisa Veterinária Brasileira

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Os trabalhos para submissão devem ser enviados por via eletrônica, através do e-mail, com os arquivos de texto na versão mais recente do Word e formatados de acordo com o modelo de apresentação disponível no site da revista (www.pvb.com.br). Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outra revista. Para abreviar sua tramitação e aceitação, os trabalhos sempre devem ser submetidos conforme as normas de apresentação da revista (www.pvb.com.br) e o modelo em Word (PDF no site). Os originais submetidos fora das normas de apresentação, serão devolvidos aos autores para a devida adequação. Apesar de não serem aceitas comunicações (Short communications) sob forma de “Notas Científicas”, não há limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve, porém, conter pormenores suficientes sobre os experimentos ou a metodologia empregada no estudo. Trabalhos sobre Anestesiologia e Cirurgia serão recebidos para submissão somente os da área de Animais Selvagens. Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos, o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os trabalhos submetidos são aceitos através da aprovação pelos pares (peer review). NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista (impressa e online) e distribuição via correio é cobrada taxa de publicação (page charge) no valor de R\$ 250,00 por página editorada e impressa, na ocasião do envio da prova final, ao autor para correspondência.

1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em Título, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES (ou combinação destes dois últimos), Agradecimentos e REFERÊNCIAS:

a) o Título do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS. b) O(s) Autor(es) deve(m) sistematicamente encurtar os nomes, tanto para facilitar sua identificação científica, como para as citações bibliográficas. Em muitos casos isto significa manter o primeiro nome e o último sobrenome e abreviar os demais sobrenomes: Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto ou Peixoto P.V.; Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa ou Riet-Correa F.; Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva poderia usar Silvana M.M.S. Silva, inverso Silva S.M.M.S., ou Silvana M.M. Sousa-Silva, inverso, Sousa-Silva S.M.M., ou mais curto, Silvana M. Medeiros-Silva, e inverso, Medeiros-Silva S.M.; para facilitar, inclusive, a moderna indexação, recomenda-se que os trabalhos tenham o máximo de 8 autores; c) o ABSTRACT deverá ser apresentado com os elementos constituintes do RESUMO em português, podendo ser mais explicativos para estrangeiros. Ambos devem ser seguidos de “INDEX TERMS” ou “TERMOS DE INDEXAÇÃO”, respectivamente; d) o RESUMO deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões. Nos trabalhos em inglês, o título em português deve constar em negrito e entre colchetes, logo após a palavra RESUMO; e) a INTRODUÇÃO deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho; f) em MATERIAL E MÉTODOS devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros pesquisadores. Na experimentação com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética local; g) em RESULTADOS deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. Quadros devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente, às vezes, expressar dados complexos por gráficos (Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos; h) na DISCUSSÃO devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém mencionar trabalhos em

desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los; i) as CONCLUSÕES devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho; j) Agradecimentos devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé; k) a Lista de REFERÊNCIAS, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, registrando-se os nomes de todos os autores, em caixa alta e baixa (colocando as referências em ordem cronológica quando houver mais de dois autores), o título de cada publicação e, abreviado ou por extenso (se tiver dúvida), o nome da revista ou obra, usando as instruções do “Style Manual for Biological Journals” (American Institute for Biological Sciences), o “Bibliographic Guide for Editors and Authors” (American Chemical Society, Washington, DC) e exemplos de fascículos já publicados (www.pvb.com.br)

2. Na elaboração do texto deverão ser atendidas as seguintes normas: a) os trabalhos devem ser submetidos seguindo o exemplo de apresentação de fascículos recentes da revista e do modelo constante do site sob “Instruções aos Autores” (www.pvb.com.br). A digitalização deve ser na fonte Cambria, corpo 10, entrelinha simples; a página deve ser no formato A4, com 2cm de margens (superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das figuras e os Quadros no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras (inclusive gráficos) devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Quando incluídos no texto do trabalho, devem ser introduzidos através da ferramenta “Inserir” do Word; pois imagens copiadas e coladas perdem as informações do programa onde foram geradas, resultando, sempre, em má qualidade; b) a redação dos trabalhos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o trabalho; as notas serão lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada. Todos os Quadros e todas as Figuras serão mencionados no texto. Estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, na ordem crescente destes. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corridamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas. c) no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os autores e o e-mail do autor para correspondência, bem como e-mails dos demais autores (para eventualidades e confirmação de endereço para envio do fascículo impresso); d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso; e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema “autor e ano”; trabalhos de até três autores serão citados pelos nomes dos três, e com mais de três, pelo nome do primeiro, seguido de “et al.”, mais o ano; se dois trabalhos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos. Trabalhos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência, “(Resumo)” ou “(Apud Fulano e o ano.)”; a referência do trabalho que serviu de fonte, será incluída na lista uma só vez. A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano; a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exememplo: (Christian & Tryphonas 1971, Priester & Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et. al. 2007); f) a Lista das REFERÊNCIAS deverá ser apresentada isenta do uso de caixa alta, com os nomes científicos em itálico (grifo), e sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos. 3. As Figuras (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) originais devem ser preferencialmente enviadas por via eletrônica. Quando

as fotos forem obtidas através de câmeras digitais (com extensão “jpg”), os arquivos deverão ser enviados como obtidos (sem tratamento ou alterações). Quando obtidas em papel ou outro suporte, deverão ser anexadas ao trabalho, mesmo se escaneadas pelo autor. Nesse caso, cada Figura será identificada na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte inferior da figura pela palavra “pé”. Os gráficos devem ser produzidos em 2D, com colunas em branco, cinza e preto, sem fundo e sem linhas. A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da Figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura. Fotografias deverão ser apresentadas preferentemente em preto e branco, em papel brilhante, ou em diapositivos (“slides”). Para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope. Na versão online, fotos e gráficos poderão ser publicados em cores; na versão impressa, somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras poderá ser em cores. 4. As legendas explicativas das Figuras conterão informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas, com independência do texto) e serão apresentadas no final do trabalho. 5. Os Quadros deverão ser explicativos por si mesmos e colocados no final do texto. Cada um terá seu título completo e será caracterizado por dois traços longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre esses dois traços poderá haver outros mais curtos, para grupamento de colunas. Não há traços verticais. Os sinais de chamada serão alfabéticos, recomeçando, se possível, com “a” em cada Quadro; as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.

Aspectos morfológicos da veia cefálica na aplicação de cateter de Fogarty em equinos

Juliana O. Bernardo¹, Carlos A. Hussni², Cláudia H. Pellizzon³, Ana L. G. Alves², Marcos J. Watanabe², Celso Rodrigues², Juliana M. Alonso⁴

¹ Mestranda do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

² Docentes do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

³ Docente do Departamento de Morfologia do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

⁴ Doutoranda do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

RESUMO

A trombose é um distúrbio circulatório comum em equinos, podendo ocorrer em decorrência de coagulopatia intravascular disseminada, hipóxia, endotoxemia, cólica e laminite ou ainda por processos iatrogênicos. Porém, há poucos estudos em relação ao tratamento e alterações morfológicas deste processo em equinos. Este trabalho teve por objetivo estudar a morfologia e os aspectos histopatológicos da veia cefálica hígida de equinos submetidos a aplicação do cateter de Fogarty, visto que não detalhamentos quanto a integridade da parede venosa nestes processos. Foram utilizados 5 equinos hígidos e procedeu-se a aplicação do cateter de Fogarty na veia cefálica hígida no sentido distal do membro. Para obtenção de base paramétrica para as medidas das túnicas, coletou-se uma amostra de veia cefálica hígida como amostra controle (AC) sem a realização de qualquer procedimento. Imediatamente após a passagem do cateter de Fogarty, coletou-se um segmento de cinco centímetros da veia cefálica que foi fixado para análise histopatológica. O segmento da veia cefálica coletado foi dividido em segmento proximal e distal e analisados quanto a morfologia e histometria. Em comparação com a parede vascular do AC, não observou-se espessamento da túnica íntima ou alterações histométricas da veia cefálica nos animais. A análise morfológica das células da túnica íntima demonstrou alteração nos segmentos proximal e distal quando comparadas ao AC, onde observou-se células endoteliais cúbicas. A túnica média da veia cefálica não apresentou diferença significativa quanto a histometria e a morfologia. Podemos concluir que o cateter de Fogarty levou à alteração morfológica das células endoteliais em resposta imediata à passagem do cateter, porém o mesmo ocorreu no segmento onde não houve a passagem do cateter.

PALAVRAS-CHAVE: equino, trombectomia, cateter de Fogarty, trombose.

ABSTRACT

The thrombosis is a common circulatory disorder in horses and may occur as a result of disseminated intravascular coagulopathy, hypoxia, endotoxemia, colic and laminitis or by iatrogenic processes. However, there are few studies regarding the treatment and morphological changes of this process equinos. This work aimed to study the morphology and histopathological aspects of the cephalic vein of healthy horses submitted to the application of the Fogarty's catheter since there are no detailing of the integrity of the vessel wall in these processes. Five healthy horses were used and submitted to the implementation of a Fogarty catheter in the healthy cephalic vein in the distal direction. To obtain parametric basis for measures of the coats, it was collected a healthy cephalic vein as a control sample (AC) without performing any procedure. Immediately after the passage of the Fogarty's catheter, a five centimeters segment of the cephalic vein was collected and fixed for histopathological analysis. The segment was divided into proximal and distal and the morphology and histometry was analyzed. In comparison with the vascular wall of the AC it was not observed thickening of the intima or histometric changes from the cephalic vein in the animals. The morphological analysis of the tunica intima cells showed changes in proximal and distal segments compared to AC, observed by the presence of cubic endothelial cells. The tunica media of the cephalic vein showed no significant difference in the histometry and morphology. We can conclude that the catheter Fogarty led to morphological changes of endothelial cells in immediate response to the passage of the catheter, but so did the segment where there was the passage of the catheter.

KEY WORDS: equine, thrombectomy, Fogarty catheter, thrombosis.

INTRODUÇÃO

A veia cefálica é via de acesso parenteral na maioria das espécies e nos equinos segue as opções das jugulares e epigástricas craniais superficiais neste propósito e não raro sofre trombose^{1,2}. Segundo Montenegro e Franco³, trombose é a formação intravascular de coágulo obstrutivo ao fluxo sanguíneo. Esses trombos podem se desenvolver após uma agressão direta a parede venosa, como traumas, cateterismo ou injeção venosa ou ainda em pacientes submetidos a cirurgias onde há repouso prolongado, o que leva a estase sanguínea⁴.

O tratamento cirúrgico indicado nos casos de trombose é a trombectomia, que visa a retirada do trombo e a recanalização do vaso sanguíneo obstruído⁵.

Para a realização da trombectomia, utiliza-se o cateter de Fogarty, um tubo flexível de poliésterpoliamida ou poliuretano de 80 cm de comprimento, com calibres que variam de 8F a 22F para uso venoso e extremidade bastante maleável com um balão inflável de látex muito delicado. Sua maleabilidade permite seguir a curvatura dos vasos diminuindo os riscos de ruptura⁵.

Segundo Maffei e colaboradores⁵, a trombectomia venosa tem indicações bastante limitadas em humanos, devido a recidivas posteriores e a agressividade do tratamento. Porém, conforme Dornbusch⁶ e Hussni et al.⁷ afirmam ser uma opção viável no tratamento de trombose jugular em equinos.

Após a lesão endotelial vascular, pode ocorrer modificações na morfologia das células da parede vascular. A túnica íntima irá apresentar distorções em sua superfície luminal e basal, e o espessamento após a perda das células endoteliais, que irá estimular as células musculares lisas e a síntese de matriz associada^{8,9}.

Alguns estudos em artérias de coelhos relataram a alteração da parede vascular após a trombectomia de Fogarty, que demonstraram causar lesão endotelial e de musculatura da parede arterial^{10,11}. Cho et al.¹² afirmam que há alteração endotelial tanto no procedimento de trombectomia em veia femoral em cães quanto na terapia trombolítica. Em contrapartida, Bush et al.¹³ observaram que o trombo em contato com o endotélio vascular leva a lesão do endotélio.

O distúrbio circulatório associado ao processo inflamatório é descrito de modo amplo, porém sem detalhamento na espécie equina. Assim como não há detalhamento das alterações morfológicas da parede vascular na aplicação do cateter de Fogarty no tratamento de trombose venosa.

Este trabalho teve por objetivo estudar a morfologia e os aspectos histopatológicos da veia cefálica hígida de equinos submetidos a aplicação do cateter de Fogarty.

MATERIAL E MÉTODOS

Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista – UNESP – Botucatu/SP, processo nº 183/2013.

Previamente ao experimento, foi realizada a coleta de fragmento de meio centímetro de comprimento da veia cefálica de uma amostra controle (AC) para processamento de material para análise histológica padrão para comparação com os segmentos coletados para este estudo.

Foram utilizados 5 equinos hígidos submetidos a aplicação do cateter de Fogarty na veia cefálica. Os animais foram submetidos a exame físico geral segundo Feitosa¹ com atenção especial aos membros locomotores, realizando exame de claudicação segundo Ross e Dyson¹⁴ e exame físico local para observar alterações como sensibilidade dolorosa, aumento da temperatura local e aumento de volume.

Como critério de inclusão dos animais neste experimento, realizou-se avaliação ultrassonográfica para confirmação da hígidez e perviedade da veia cefálica. Para tal, foi utilizado equipamento ultrassonográfico (Ultrassom MyLab 70Vet XV- ESAOTE ® Esaote S.p.A. International Activities, Italy) com transdutor linear multifrequencial (LA435 - 6-18 MHz - ESAOTE ® Esaote S.p.A. International Activities, Italy) com frequência de 18 MHz e ganho máximo, em modo B.

Para a aplicação do cateter de Fogarty, os animais foram contidos em tronco, tranquilizados com cloridrato de detomidina (Dormiun V 10% – Agener União) (0,04 mg/kg IV). Mantido em posição quadrupedal, foi procedida a anestesia local com 10 ml de lidocaína 2% (Xylestesin 2 % sem vasoconstritor – Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos), sem vasoconstritor realizando-se bloqueio infiltrativo subcutâneo na região da veia cefálica.

Após isto procedida a antisepsia, foi realizada uma incisão de aproximadamente 5 centímetros sobre a veia cefálica, distante sete centímetros na região do terço médio da face medial do membro torácico esquerdo. A incisão de pele permitiu o acesso à veia, que foi dissecada e em seguida realizou-se uma ligadura com fio categute nº0 (Categut 0 – CSA 072 – Brasuture Sutures Cirúrgicas) na extremidade proximal da veia dissecada, compressão com garrote na pele na região metacarpiana para estase do sangue no retorno e flebotomia longitudinal de dois centímetros na veia cefálica dissecada, sendo este o acesso intravenoso do cateter. O cateter de Fogarty 7F foi então introduzido por sete centímetros dentro do vaso, sem distensão do balão e na direção distal do membro. Introduzido o cateter de Fogarty este teve o balão distendido com 2,5ml de água destilada. O cateter foi retirado, tracionado com o balão distendido, repetindo-se a manobra por três vezes. Isto feito, realizou-se a ligadura da extremidade distal da veia dissecada e então coletada a veia cefálica para análise histopatológica contendo partes do fragmento vascular coletado em partes proximais e distais, com segmentos que foram submetidos ao cateter e partes sem a passagem deste (proximal ao acesso). O subcutâneo foi suturado com fio poliglactina 2-0 (Vicryl 2-0 – Johnson & Johnson LTDA) em pontos padrão contínuo simples e a pele, foi suturada com fio de náilon 2-0 (Nylon 2-0 – JP Indústria Farmacêutica S/A) em pontos padrão festonado contínuo.

Em casos de claudicação ou edema exacerbado, preconizou-se resgate neurogênico com flunixin meglumina (1,1mg/kg/IV) e penicilina benzatina (20.000UI/kg/IM).

O segmento venoso foi dividido em dois fragmentos, sendo o fragmento proximal considerado controle, onde não houve a passagem do cateter e o segmento distal submetido à aplicação do cateter. Em seguida foram fixados em solução ALFAC (álcool, formol e ácido acético) e submetido a procedimento padrão de inclusão para avaliação

histopatológica. As lâminas foram coradas com Hematoxilina-Eosina (HE) para avaliação das estruturas do endotélio vascular e Tricrômio de Masson com objetivo de evidenciar as fibras colágenas e musculares.

As lâminas foram fotodocumentadas com o analisador de imagem (Olimpus BX53 CellSens Standard 1.12 – Olympus Corporations, Tóquio, Japão) e analisadas quanto aos aspectos estrutural e funcional dos tecidos e células endoteliais e a mensuração das túnicas [ImageJ – Image Processing and Analysis in Java - RSB].

Foram realizadas seis mensurações da túnica íntima e média de cada animal, região proximal e distal da veia cefálica. As amostras foram analisadas e descritas quanto à normalidade da parede vascular e nas ocorrências de alterações nos diferentes segmentos dos vasos.

Inicialmente a distribuição das variáveis-resposta (medida da túnica média e túnica íntima, em μm) foram analisadas e estatísticas descritivas foram produzidas. Foram realizadas comparações da média das medidas dos grupos estudados. Para isto, utilizou-se o método de Dunnett¹⁵ para ajustar o valor-P resultante das comparações múltiplas das médias dos segmentos proximal e distal com as medidas das bases paramétricas (controle). A análise estatística foi realizada com o programa Intstat (GraphPad Software, Inc - USA) e a significância estatística foi definida como $p < 0,05$.

Foi realizado o teste de intervalo de 95% de confiança para a média da medida da túnica íntima e túnica média dos segmentos proximal e distal¹⁵.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao exame físico geral, durante todo o experimento, todos os animais de ambos os estudos apresentaram os parâmetros de frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura, tempo de preenchimento capilar, coloração de mucosas, auscultação torácica e abdominal dentro do padrão de normalidade para a espécie.

Apenas um animal apresentou claudicação decorrente do procedimento cirúrgico, porém, reduziram após a medicação de resgate que se mostrou eficiente como medida terapêutica.

Observou-se alterações locais, como sensibilidade dolorosa, aumento da temperatura local e aumento de volume. Devido a isto, sugere-se que estas alterações ocorreram devido a maior manipulação durante o procedimento cirúrgico para a aplicação do cateter de Fogarty (EF), que foi realizado em tempo médio de $17,8 \pm 2,7$ minutos.

Em relação à retirada de um segmento da veia cefálica, nenhum dos animais em apresentou alteração vascular no retorno venoso. Isto se deve à compensação da drenagem dos membros torácicos pelas veias mediana, cefálica acessória e cubital. Diferentemente dos problemas relacionados à tromboflebite na veia jugular externa em equinos, onde observa-se alterações severas e complicações como edema que podem levar o animal à morte, conforme citado por Hussni et al.¹⁶; Barbosa¹⁷, Dornbusch⁶, Dornbusch¹⁸ e Knottenblet e Pascoe¹⁹.

No segmento da amostra controle (AC), verificou que a espessura da túnica íntima e da túnica média com $13,356 \pm 1,493 \mu\text{m}$ e $302,284 \pm 13,201 \mu\text{m}$, respectivamente. Não sendo encontrada na literatura a histometria de vasos sanguíneos em equinos.

Na análise morfológica da veia cefálica da AC, observou-se endotélio formado de epitélio pavimentoso simples, com as células justapostas sobre uma camada subendotelial^{20, 21, 22}. Observou-se células musculares lisas ocasionais presentes na túnica íntima, conforme citado por Junqueira e Carneiro²⁰ e Ross e Pawlina²¹.

A túnica média da veia cefálica apresentou camadas de células musculares lisas dispostas circunferencialmente com núcleo alongado, entremeadas com tecido conjuntivo denso modelado rico em colágeno. De modo semelhante Junqueira e Carneiro²⁰ e Ross e Pawlina²¹.

A túnica adventícia, camada mais externa do vaso, apresentou-se com feixes musculares transversais e tecido conjuntivo denso colágeno^{5, 20, 23}.

Na avaliação da região proximal da veia cefálica, na qual estabeleceu-se como segmento controle, as túnicas íntima e média apresentaram comprimento médio de $12,347 \pm 1,248 \mu\text{m}$ e $272,1425 \pm 23,303 \mu\text{m}$, respectivamente.

A espessura da túnica íntima não apresentou diferenças significativas quando comparadas com a amostra controle (AC), sendo $p > 0,05$ (Figura 1). A túnica íntima do segmento proximal apresentou histometria média 7,4% menor que as medidas da AC. Observou-se alterações morfológicas do endotélio, onde as células do endotélio apresentaram-se em formato cúbico. Podendo ser considerada como uma resposta neurogênica de vasoconstrição venosa a lesão tecidual²⁴. Mesmo não sendo realizado nenhum tipo de procedimento neste segmento, a estase sanguínea e a manipulação do segmento distal ocasionaram esta diferença morfológica (Figura 2).

Os segmentos proximais do apresentaram diminuição média de 9,8% da túnica média em relação à histometria da AC, porém não houve diferença significativa ($p > 0,05$). As células musculares da túnica média não apresentaram alterações morfológicas em relação ao AC, apresentando-se mais organizadas e menor quantidade de colágeno entre as fibras musculares lisas.

O segmento distal da veia cefálica, local onde procedeu-se a passagem do cateter de Fogarty, as túnicas íntima e média apresentaram média de comprimento de $13,275 \pm 1,271 \mu\text{m}$ e $281,444 \pm 28,027 \mu\text{m}$, respectivamente.

A espessura da túnica íntima não apresentou diferenças significativas quando comparadas com a AC, sendo $p > 0,05$ (Figura 3). A histometria média da túnica íntima do segmento distal foi 0,6% menor que as medidas

da AC. Observou-se alterações morfológicas do endotélio semelhantes às encontradas na região proximal, onde as células do endotélio apresentaram-se em formato cúbico, porém com maior diferenciação morfológica (Figura 4).

A túnica média do segmento distal apresentou diminuição média de 6,8% em relação aos valores da AC, porém não houve diferença significativa ($p>0,05$). As células musculares da túnica média não apresentaram alterações morfológicas em relação à AC e ao segmento proximal.

Na análise do intervalo de confiança de 95% da túnica íntima e da túnica média, observou-se a que a amostra controle encontra-se dentro do intervalo das médias dos segmentos proximal e distal da veia cefálica, demonstrando semelhança estatística entre eles (Figura 5).

CONCLUSÕES

A aplicação do cateter de Fogarty pode contribuir na modificação das células endoteliais alterando seu padrão morfológico, sem produzir solução de continuidade do endotélio.

O procedimento cirúrgico de acesso venoso e a manipulação para a aplicação do cateter de Fogarty por si causam modificação morfológica endotelial.

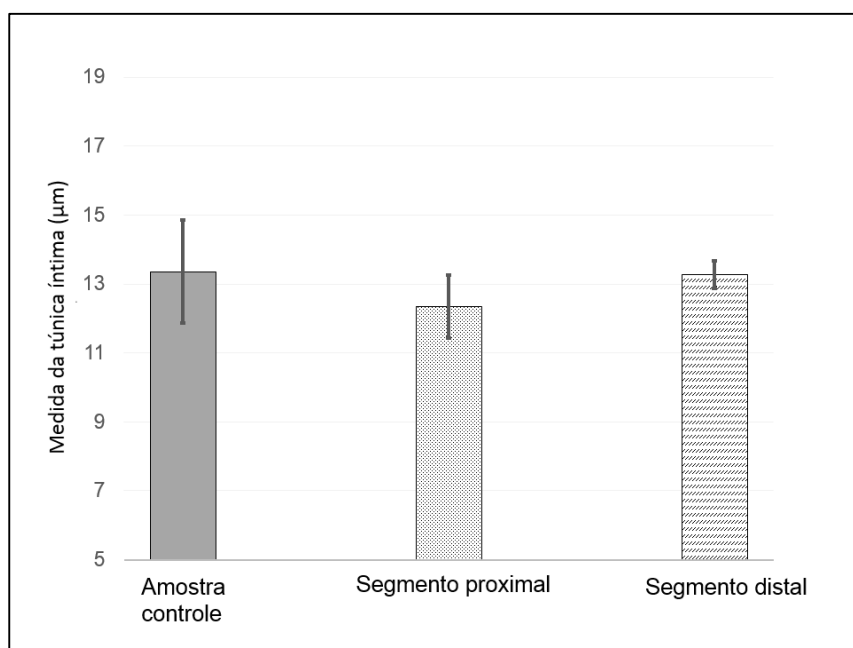


FIGURA 1

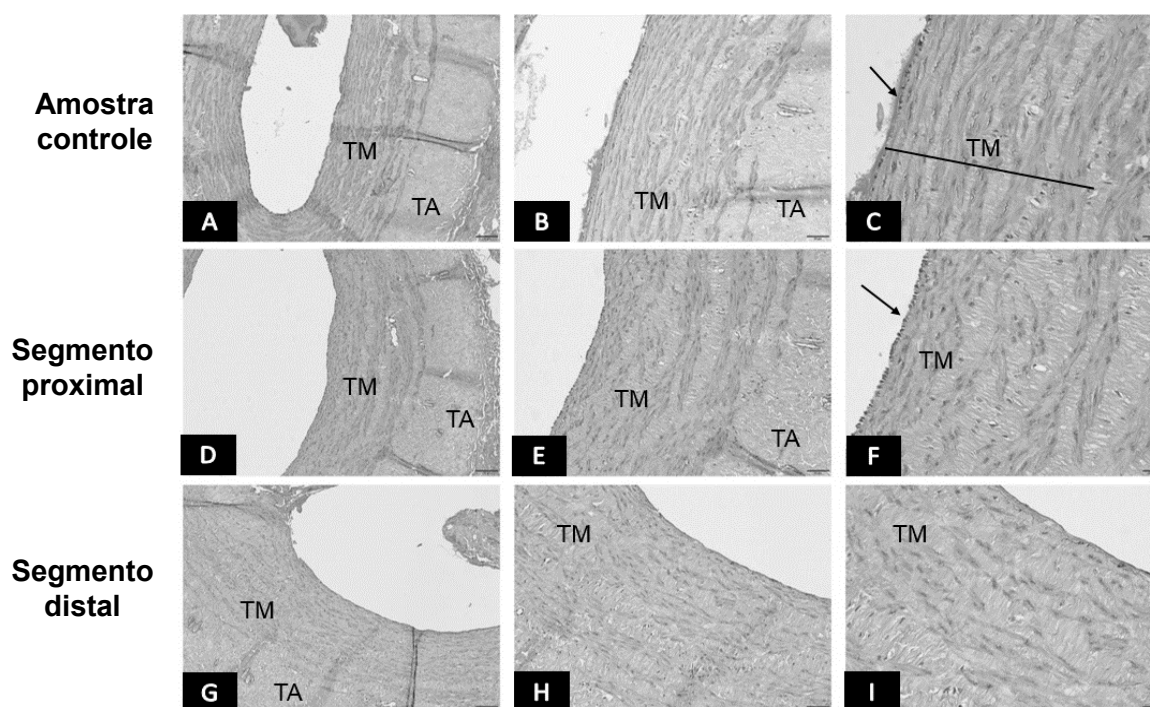


FIGURA 2

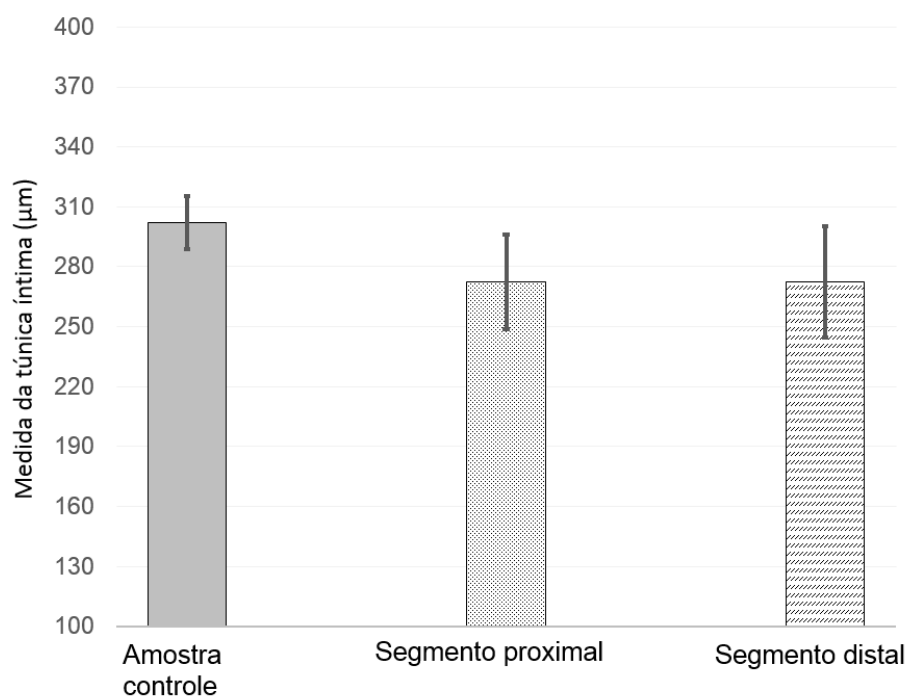


FIGURA 3

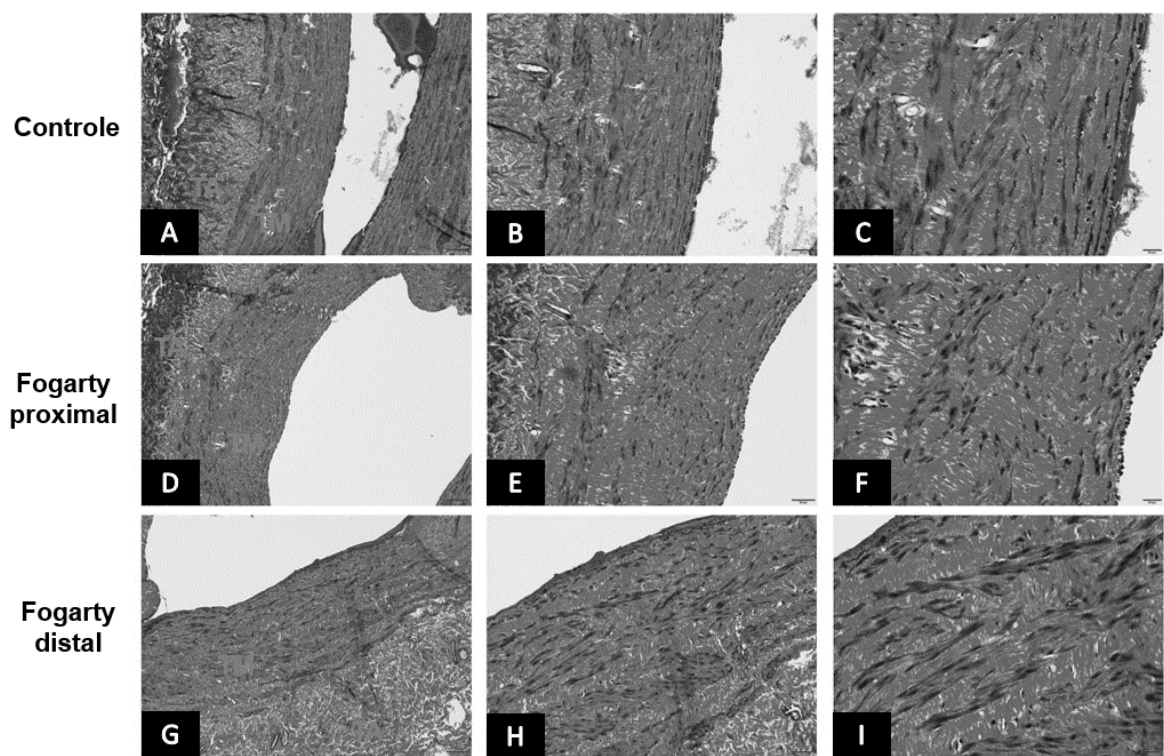


FIGURA4

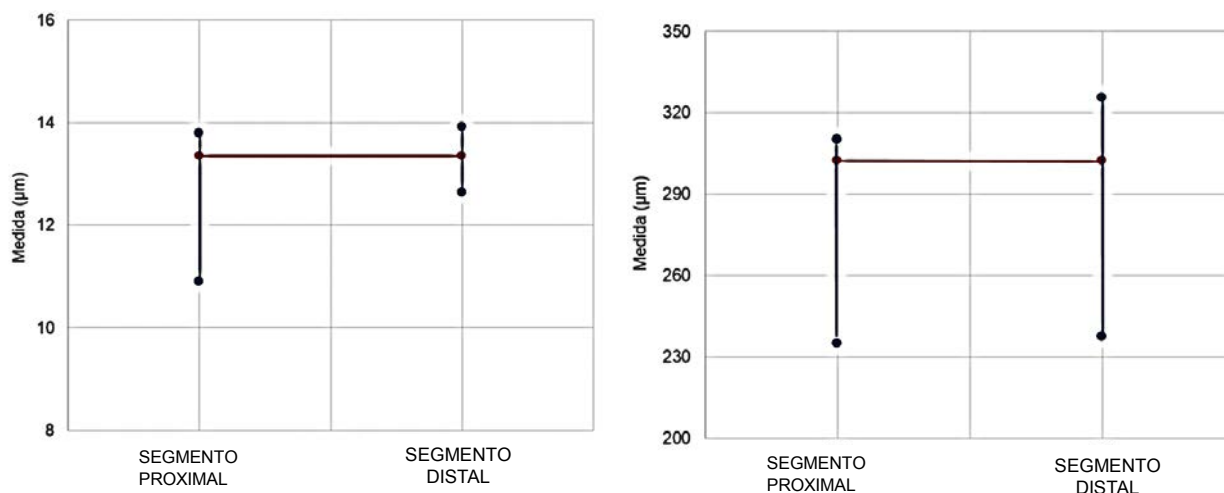


FIGURA 5

FIGURA 1 - Média e desvio padrão das medidas (µm) da túnica íntima da veia cefálica da amostra controle (AC) e dos segmentos venosos proximal e distal. O gráfico demonstra uma diminuição na média das medidas da túnica íntima do segmento proximal, porém não significativas. A histometria média do segmento distal foi semelhante à AC

FIGURA 2 - Fotomicroscopia da veia cefálica de equinos submetidos à aplicação do cateter de Fogarty e corado com hematoxilina e eosina. De (A-C) observa-se veia normal, destacando a integridade do vaso (A) com destaque das Túnicas Média (TM) e adventícia (TA); em (B) nota-se que a TM com a organização das células musculares lisas (cabeças de setas); em (C) é facilmente observado a túnica íntima (setas). Em (D, E e F), a região proximal com ativação do endotélio (seta) ativado em (F). A região distal, onde procedeu-se a passagem do cateter de Fogarty (G, H e I) as estruturas observadas as túnicas sem ativação do endotélio (I).

FIGURA 3 - Média e desvio padrão das medidas (µm) da túnica íntima da veia cefálica da amostra controle (AC) e dos segmentos venosos proximal e distal após a aplicação do cateter de Fogarty. O gráfico demonstra uma diminuição na média das medidas da túnica íntima do segmento proximal, porém não significativas. A túnica média do segmento distal apresentou histometria semelhante à AC

FIGURA 4 - Fotomicroscopia da veia cefálica de equinos submetidos à aplicação do cateter de Fogarty e corado com Tricrômio de Masson. De (A-C) observa-se veia normal, destacando a integridade do vaso (A) com destaque das Túnicas Média (TM) onde nota-se e (C) a presença de algumas fibras musculares lisas com predomínio de tecido conjuntivo (*). A região proximal à passagem do cateter de Fogarty (D, E e F), com destaque das Túnicas Média (TM) onde se observa tecido muscular liso (seta) aparentemente aumentado em relação a imagem da veia hígida em (F). A região distal, onde procedeu-se a passagem do cateter de Fogarty (G, H e I) as estruturas observadas nas imagens proximais com poucas fibras musculares lisas (seta) na TM (I).

FIGURA 5 - À direita, gráfico do intervalo de confiança de 95% da média das medidas (µm) da túnica íntima dos segmentos proximal e distal da veia cefálica. Na vertical, observar o intervalo de confiança da média dos segmentos e na horizontal, a histometria média da túnica íntima da amostra controle (AC). À esquerda, gráfico do intervalo de confiança de 95% da média das medidas (µm) da túnica íntima dos segmentos proximal e distal da veia cefálica

Referências

BARBOSA, R. G. Tromboflebite jugular experimental em equinos: aspectos clínicos, ultrassonográficos, venográficos e histopatológicos. 2009. 98f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu.

BARONE, G. W.; CPNERLY, J. M.; FARLEY, P. C.; FLANAGAN, T. L.; KRON, I. L. Endothelial injury and vascular dysfunction associated with the Fogarty balloon catheter. *J. Vasc. Surg.* v. 9, n. 3. p.422-425, 1989

BUSH, R. L.; LIN, P. H.; BATES, J. T.; MUREEBE, L.; ZHOU, W.; LUMSDEN, A. B. Pharmacomechanical thrombectomy for treatment of symptomatic lower extremity deep venous thrombosis: Safety and feasibility study. *J. Vasc Surg.* v.40, n.5. p.965-970, 2004.

CHEVILLE, N. F. Hemostasia. In: ____ Introdução à patologia veterinária. 2.ed. São Paulo: Roca, 2004b. cap.8, p.209-232.

CHEVILLE, N. F. Inflamação aguda. In: ____ Introdução à patologia veterinária. 2.ed. São Paulo: Roca, 2004a. cap.4, p.105-135.

CHO, J-S; MARTELLI, E.; MOZES, G.; MILLER, V. M.; GLOVICZKI, P. Effects of thrombolysis and venous thrombectomy on valvular competence, thrombogenicity, venous wall morphology, and function. *J Vasc Surg.* n.5, v.28. p.787 799, 1998.

DORNBUSCH, P. T. Trombectomia com cateter de Fogarty no tratamento da trombose jugular experimental em equinos. 2005. 69f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu.

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.

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

GARDNER, S.Y., REEF, V.B., SPENCER, P.A. Ultrasonographic evaluation of horses with thrombophlebitis of the jugular vein. *J. Am.Vet. Med. Assoc.*

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.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. Sistema circulatório. In: ____ Histologia básica. 12.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. Cap 11, p.199-216.

KNOTTENBELT; D. C.; PASCOE, R. R. Diseases and disorders of the horse. 2.ed. Canadá: Mosby Elsevier, 1998. 1994p.

MAFFEI, F.H.A.; LASTÓRIA, S.; YOSHIDA, W.B.; ROLLO, H.A.; GIANNINI, M.; MOURA, R. Doenças Vasculares Periféricas. 4.ed. v.1. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008a. 1094 p.

MAFFEI, F.H.A.; LASTÓRIA, S.; YOSHIDA, W.B.; ROLLO, H.A.; GIANNINI, M.; MOURA, R. Doenças Vasculares Periféricas. 4.ed. v.2. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008b. 1038 p.

MITCHELL, R.N. Distúrbios hemodinâmicos, doença tromboembólica e choque. In: KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N.; ASTER, J. C. Robbins e Cotran: Bases patológicas das doenças. 8.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. chap. 4, p. 111-134.

MONTENGRO, M. R. FRANCO, M. Patologia: processo gerais. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1999. p. 99-102.

NORMAN; G. R.; STREINER, D. L. Bioestatistics the base Essentials. 3ed, St. Louis: Mosby Year Book, 2008, 393p.

ORSINI, J. A.; DIVERS, T. J. Equine Emergencies: Treatment and Procedures. 4ed. Saunders, 2013. p.912.

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. chap. 13, p. 410-449.

ROSS, M. W.; DYSON, S. J. Diagnosis and management of lameness in the horse. 2ed. Saunders, 2011. 1349p. v.199, n.3, p.373, 1991.

WELSCH, U. Sistema vascular. In: ____ Sobotta, atlas de histologia: citologia, histologia e anatomia microscópica. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. p. 126-133.

ANEXOS

ANEXO 1 - Exame físico geral dos animais do Estudo Trombose e do Estudo Fogarty durante todo o experimento.**TABELA 5 –** Variação da frequência cardíaca (batimentos por minuto) dos animais do Estudo Trombose (ET) durante o experimento. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M0: o momento da indução da trombose experimental, M1: coleta do segmento venoso, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico

Nº do animal	M-24h	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13
1	28	40	40	34	34	32	32	32	36	32	28	24	24	28	32
2	28	38	24	28	28	28	30	32	32	32	28	28	28	24	24
3	32	36	32	32	28	28	32	36	28	24	28	32	28	28	28
4	36	40	38	40	36	32	34	32	36	36	32	28	32	32	28
5	32	36	28	36	28	36	36	34	34	34	32	34	34	34	32
Média e desvio padrão	31,2 ± 3,347	38 ± 2,00	32,4 ± 4,472	30,8 ± 3,899	31,2 ± 3,347	32,8 ± 2,280	33,2 ± 1,789	33,2 ± 1,789	33,2 ± 3,347	31,6 ± 4,561	29,2 ± 2,191	29,2 ± 3,899	29,2 ± 3,899	29,2 ± 3,899	28,8 ± 3,347

TABELA 6 – Variação da frequência cardíaca (batimentos por minuto) dos animais do Estudo Fogarty (EF) durante o experimento. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M1: coleta do segmento venoso após aplicação do cateter de Fogarty, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico

Nº do animal	M-24h	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13
6	28	28	32	34	32	28	32	32	32	32	24	28	28	32
7	40	32	34	34	34	32	32	36	32	34	32	34	32	34
8	32	32	32	32	34	36	34	32	28	32	28	28	32	32
9	40	36	32	40	32	36	36	32	34	34	32	28	30	30
10	24	36	36	28	36	32	32	32	34	34	28	28	32	28
Média e desvio padrão	32,8 ± 7,155	32,8 ± 3,347	33,2 ± 1,789	33,6 ± 4,336	33,6 ± 1,673	32,8 ± 3,347	33,2 ± 1,789	33,2 ± 1,789	33,2 ± 3,347	32,0 ± 1,095	28,8 ± 3,347	29,2 ± 2,683	30,8 ± 1,789	31,2 ± 2,280

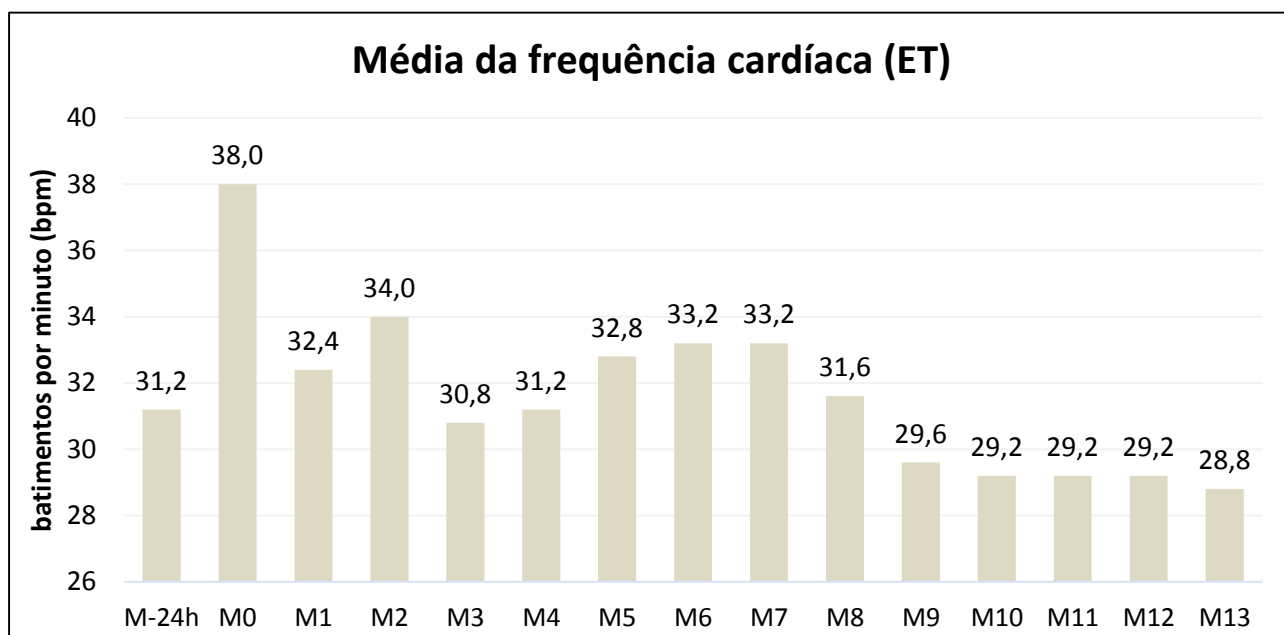


FIGURA 21 – Média da frequência cardíaca (batimentos por minuto) dos animais do Estudo Trombose (ET) de acordo com os momentos da avaliação. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M0: o momento da indução da trombose experimental, M1: coleta do segmento venoso, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico

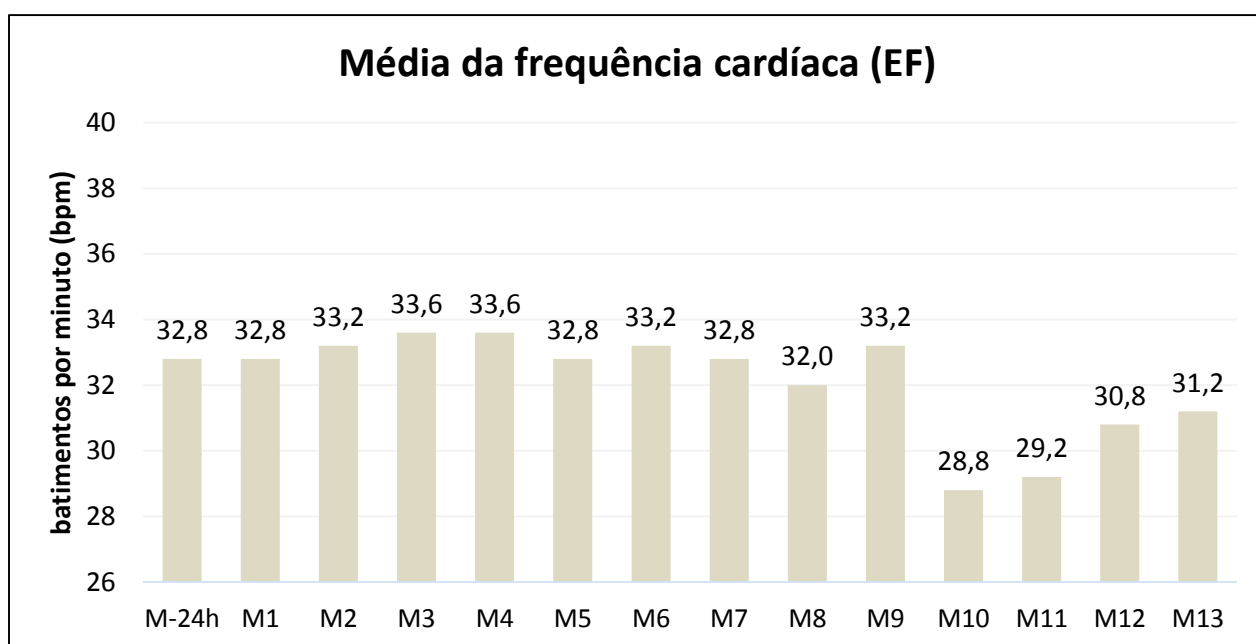


FIGURA 22 – Média da frequência cardíaca (batimentos por minuto) dos animais do Estudo Fogarty (EF) de acordo com os momentos da avaliação. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M1: coleta do segmento venoso após aplicação do cateter de Fogarty, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico

TABELA 7 – Variação da frequência respiratória (movimentos por minuto) dos animais do Estudo Trombose (ET) durante o experimento. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M0: o momento da indução da trombose experimental, M1: coleta do segmento venoso, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico

Nº do animal	M-24h	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13
1	12	20	12	12	20	12	12	10	12	10	12	12	12	10	12
2	12	12	12	14	10	12	12	14	16	14	14	12	12	12	10
3	12	20	16	14	12	16	12	12	14	12	12	16	14	14	14
4	12	18	18	20	20	18	18	16	16	12	12	12	12	10	12
5	10	14	10	12	12	12	12	10	12	12	10	10	14	10	10
Média e desvio padrão	11,6 ± 0,894	16,8 ± 3,633	13,6 ± 3,286	14,4 ± 3,286	14,8 ± 4,817	14,0 ± 2,828	13,2 ± 2,683	12,4 ± 2,608	14,0 ± 2,000	12,0 ± 1,414	12,0 ± 1,414	12,4 ± 2,191	12,8 ± 1,095	11,2 ± 1,789	11,6 ± 1,673

TABELA 8 – Variação da frequência respiratória (movimentos por minuto) dos animais do Estudo Fogarty (EF) durante o experimento. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M1: coleta do segmento venoso após aplicação do cateter de Fogarty, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico

Nº do animal	M-24h	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13
6	12	16	10	12	12	8	12	16	12	12	10	12	12	12
7	12	18	18	16	18	20	16	14	14	14	16	12	16	16
8	12	14	14	12	16	12	14	12	14	12	16	14	14	14
9	10	12	12	12	12	18	16	16	14	12	10	12	12	12
10	12	20	14	12	12	12	12	12	8	8	10	12	12	12
Média e desvio padrão	11,6 ± 0,894	16,0 ± 3,162	13,6 ± 2,966	12,8 ± 1,789	14,0 ± 2,828	14,0 ± 4,899	14,0 ± 2,00	14,0 ± 2,00	12,4 ± 2,608	11,6 ± 2,191	12,4 ± 3,286	12,4 ± 0,894	13,2 ± 1,789	13,2 ± 1,789

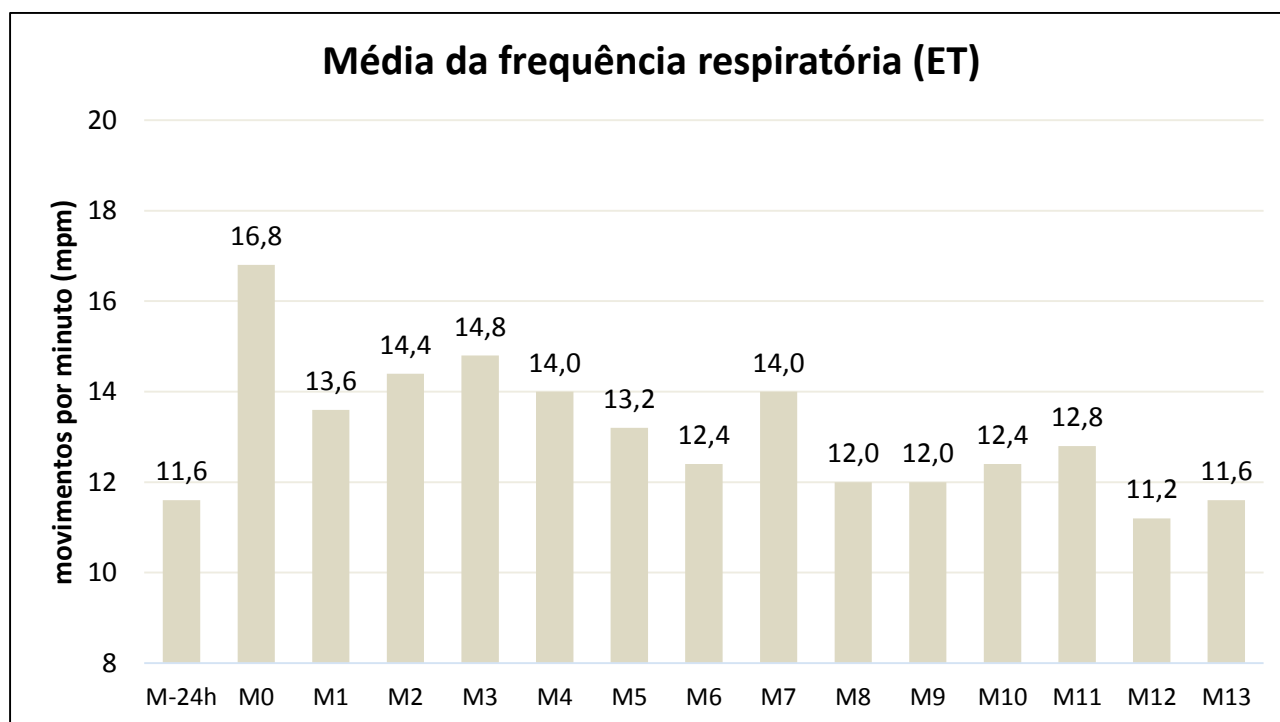


FIGURA 23 – Média da frequência respiratória (movimentos por minuto) dos animais do Estudo Trombose (ET) de acordo com os momentos da avaliação. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M0: o momento da indução da trombose experimental, M1: coleta do segmento venoso, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico

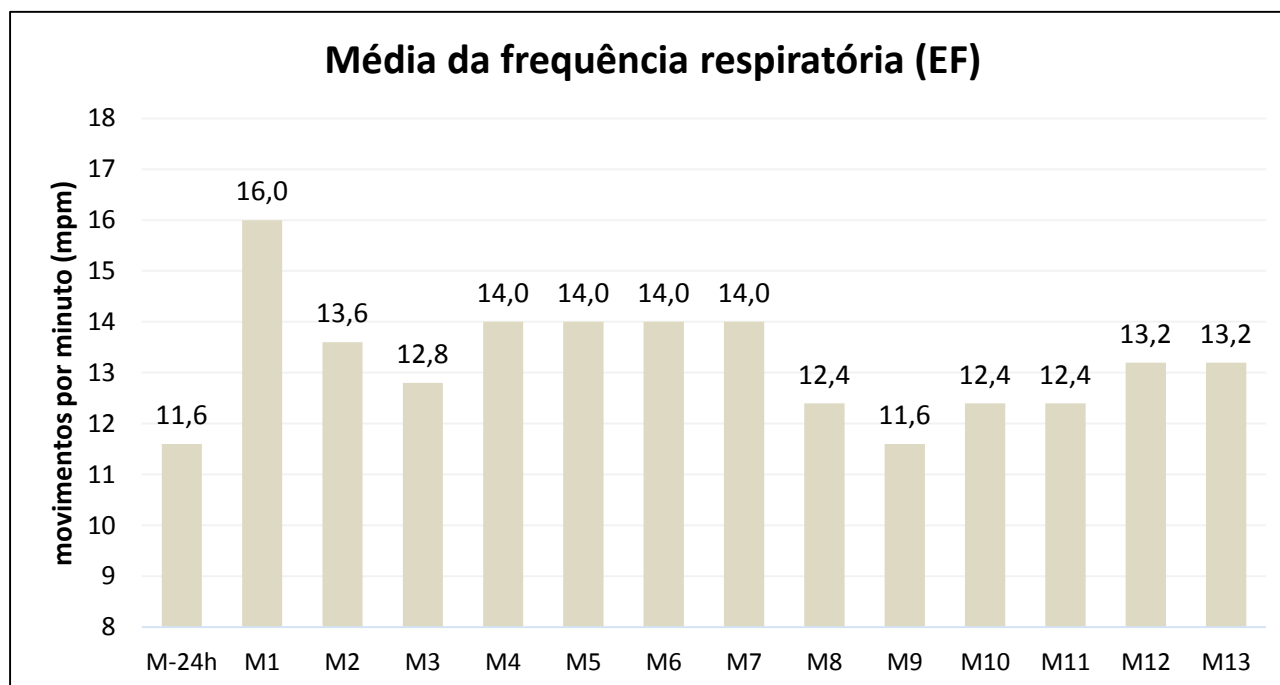


FIGURA 24 – Média da frequência respiratória (movimentos por minuto) dos animais do Estudo Fogarty (EF) de acordo com os momentos da avaliação. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M1: coleta do segmento venoso após aplicação do cateter de Fogarty, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico

TABELA 9 – Variação da temperatura retal (em graus Celsius) dos animais do Estudo Trombose (ET) durante o experimento. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M0: o momento da indução da trombose experimental, M1: coleta do segmento venoso, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico

Nº do animal	M-24h	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13
1	37,5	37,7	37,9	37,5	37,3	37,4	37,7	37,5	37,2	37,4	37,4	37,1	37,6	37,7	37,3
2	36,7	36,6	36,1	36,8	37,1	36,7	37,2	36,9	36,6	36,4	37,1	37,2	36,4	36,7	37,0
3	37,0	37,6	36,8	37,2	36,5	36,2	36,8	36,7	37,2	37,5	36,9	37,0	38,0	37,4	37,3
4	37,3	37,9	38,4	38,3	37,8	37,9	37,7	37,5	37,8	38,0	38,1	37,9	37,7	37,5	37,6
5	36,6	37,5	37,6	36,4	36,7	37,0	37,3	37,7	37,7	36,8	36,6	37,2	37,4	37,6	37,4
Média e desvio padrão	37,0 ± 0,383	37,5 ± 0,503	37,4 ± 0,913	37,2 ± 0,723	37,1 ± 0,512	37,0 ± 0,650	37,3 ± 0,378	37,3 ± 0,434	37,3 ± 480	37,2 ± 0,626	37,2 ± 0,572	37,3 ± 0,356	37,4 ± 0,610	37,4 ± 0,396	37,3 ± 0,217

TABELA 10 – Variação da temperatura retal (em graus Celsius) dos animais do Estudo Fogarty (EF) durante o experimento. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M1: coleta do segmento venoso após aplicação do cateter de Fogarty, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico

Nº do animal	M-24h	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13
6	37,3	37,9	37,4	37,3	37,3	36,9	37,2	37,2	37,3	37,3	37,6	37,1	37,2	37,4
7	37,2	37,1	37,3	37,1	37,4	36,9	37,3	37,6	37,4	37,9	38,2	37,8	37,7	37,6
8	36,2	37,3	37,2	36,5	36,2	37,2	37,7	37,5	37,5	37,8	37,8	37,7	37,3	37,3
9	37,1	38,2	37,7	37,6	37,8	37,7	37,5	37,5	37,6	37,3	37,8	37,8	37,6	37,7
10	36,9	37,8	37,7	37,9	37,6	38,1	37,6	36,9	36,9	37,6	37,4	37,2	37,0	37,1
Média e desvio padrão	36,9 ± 0,439	37,7 ± 0,451	37,5 ± 0,230	37,3 ± 0,531	37,3 ± 0,623	37,4 ± 0,527	37,5 ± 0,207	37,3 ± 0,288	37,3 ± 0,270	37,6 ± 0,277	37,8 ± 0,297	37,5 ± 0,342	37,4 ± 0,288	37,4 ± 0,239

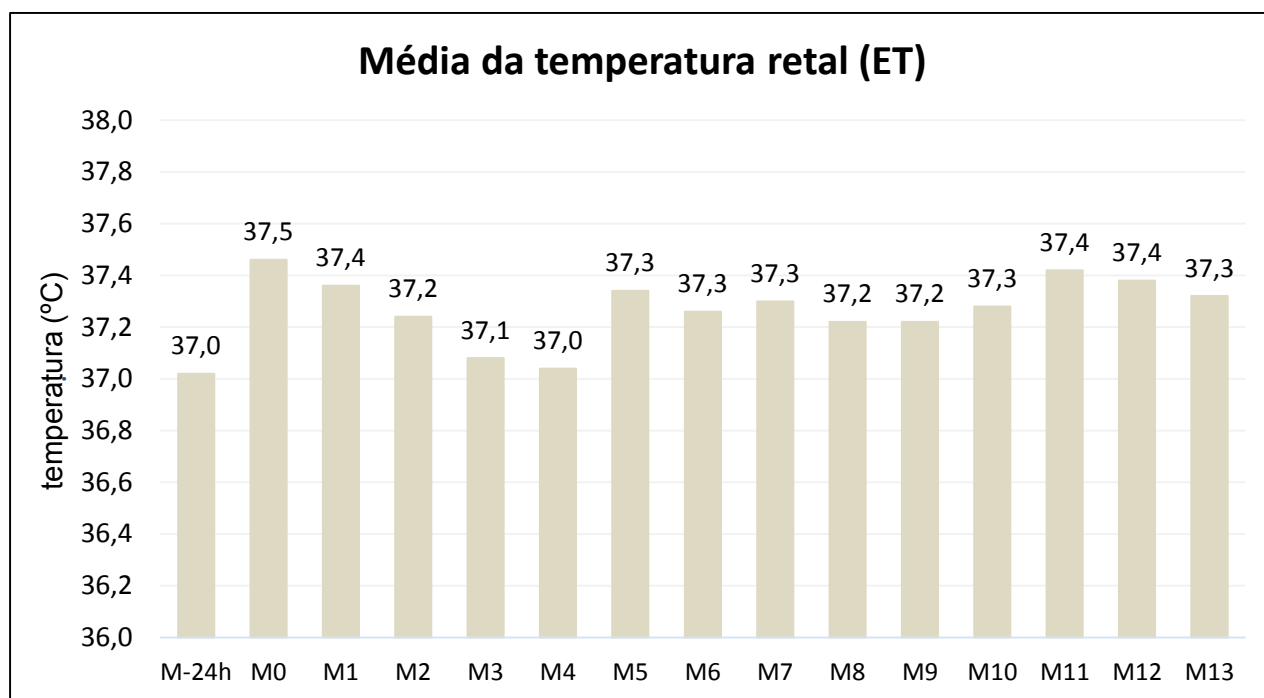


FIGURA 25 – Média da temperatura retal (em graus Celsius) dos animais do Estudo Trombose (ET) de acordo com os momentos da avaliação. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M0: o momento da indução da trombose experimental, M1: coleta do segmento venoso, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico

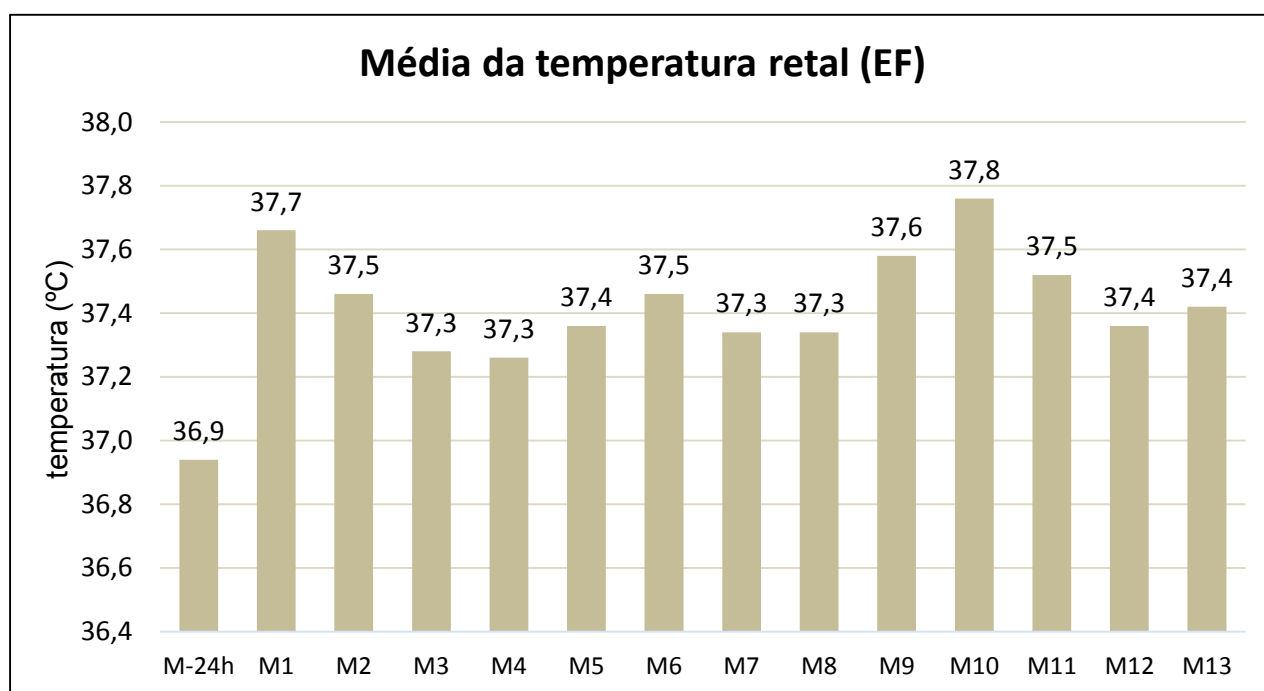


FIGURA 26 – Gráfico da variação da temperatura retal (em graus Celsius) dos animais do Estudo Fogarty (EF) de acordo com os momentos da avaliação. Sendo M-24h: 24 horas antes do experimento, M1: coleta do segmento venoso após aplicação do cateter de Fogarty, M2-M13: momentos, em dias, do exame físico

ANEXO 2 – Medidas da parede vascular, diâmetro da luz do vaso, em milímetros, e área total, em milímetros quadrados, da veia cefálica de equinos hígidos e na trombose aguda experimental, realizada através de exame ultrassonográfico.

TABELA 11 – Medidas médias da parede vascular da veia cefálica hígida de equinos (em milímetros), realizada através de exame ultrassonográfico no momento prévio aos procedimentos cirúrgicos

Nº do animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Medidas (em mm) da parede da veia cefálica										
	0,66	0,52	0,40	0,57	0,48	0,54	0,63	0,57	0,55	0,72
Média ± desvio padrão								0,56 ± 0,09 mm		

TABELA 12 – Medidas médias da parede vascular da veia cefálica após indução da trombose experimental aguda dos animais do Estudo Trombose (ET), realizada através de exame ultrassonográfico 24 horas após o procedimento cirúrgico

Nº do animal	1	2	3	4	5
Medidas (em mm) da parede da veia cefálica					
	1,36	0,87	1,01	1,16	0,84
Média ± desvio padrão				1,05 ± 0,21 mm	

FIGURA 27 – Espessuras médias (em mm) das paredes das veias cefálicas hígida e após a indução da trombose experimental aguda

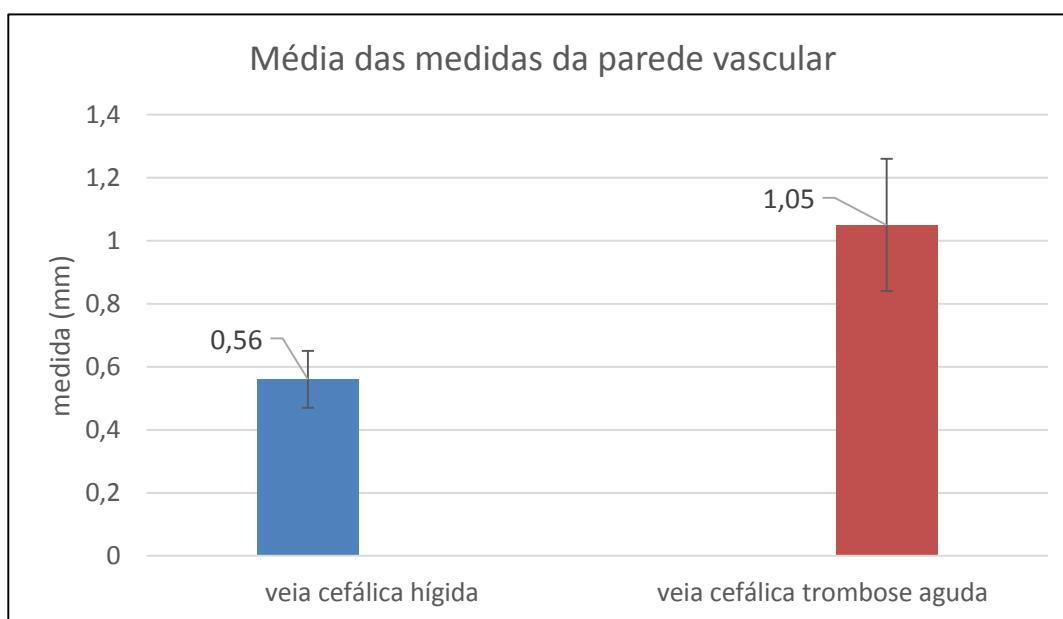


TABELA 13 – Medidas médias do diâmetro da luz da veia cefálica hígida de equinos (em milímetros), realizada através de exame ultrassonográfico no momento prévio aos procedimentos cirúrgicos

Nº do animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Medidas (em mm) do diâmetro da veia cefálica										
	2,47	3,41	5,81	2,83	3,08	3,87	3,63	3,65	2,48	3,33
Média ± desvio padrão								3,46 ± 0,96 mm		

TABELA 14 – Medidas médias do diâmetro da luz da veia cefálica após indução da trombose experimental aguda dos animais do Estudo Trombose (ET), realizada através de exame ultrassonográfico 24 horas após o procedimento cirúrgico

Nº do animal	1	2	3	4	5
Medidas (em mm) do diâmetro da veia cefálica					
	4,62	6,01	6,01	5,68	6,57
Média ± desvio padrão				5,78 ± 0,72 mm	

FIGURA 28 – Diâmetros médios (em mm) das veias cefálicas hígida e após a indução da trombose experimental aguda

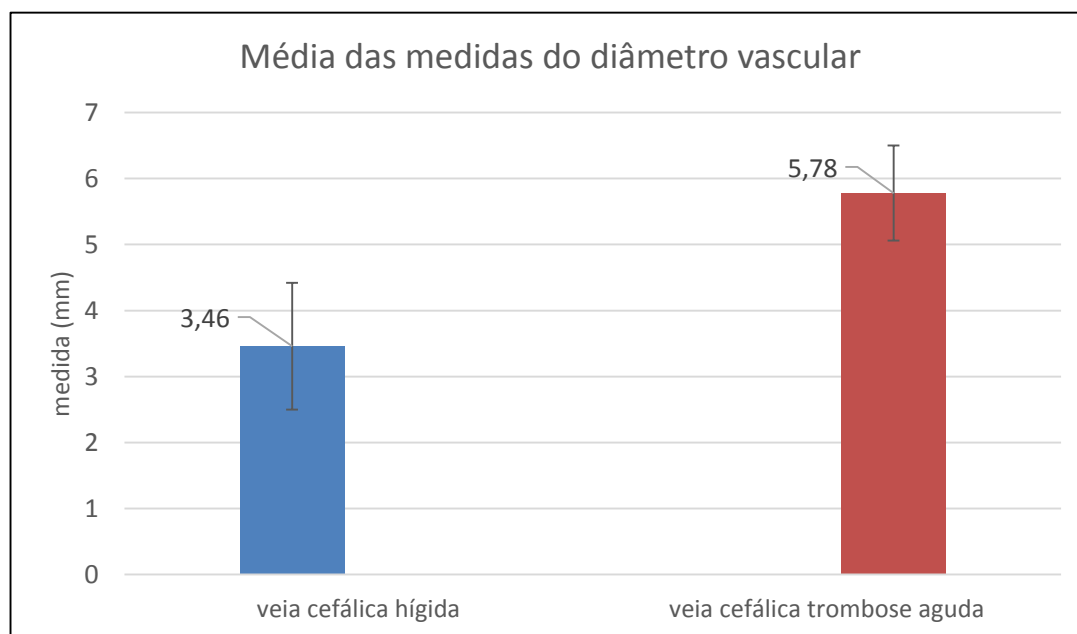


TABELA 15 – Medidas médias da área total da veia cefálica hígida de equinos (em milímetros quadrados), realizada através de exame ultrassonográfico no momento prévio aos procedimentos cirúrgicos

Nº do animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Medidas (em mm²) da área total da veia cefálica										
	2,71	2,73	3,01	2,60	3,09	2,75	3,37	2,99	2,57	2,96
Média ± desvio padrão								2,88 ± 0,25 mm ²		

TABELA 16 – Medidas médias da área total da veia cefálica (em milímetros quadrados) após indução da trombose experimental aguda dos animais do Estudo Trombose (ET), realizada através de exame ultrassonográfico 24 horas após o procedimento cirúrgico

Nº do animal	1	2	3	4	5
Medidas (em mm²) da área total da veia cefálica					
	4,21	4,94	9,31	8,18	4,77
Média ± desvio padrão				6,28 ± 2,30 mm ²	

FIGURA 29 – Áreas totais médias (em mm²) das veias cefálicas hígida e após a indução da trombose experimental aguda