

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**USO DO ACESSO LATERAL PARA ASPIRAÇÃO
FOLICULAR EM OVELHAS SANTA INÊS**

Renata Sitta Gomes Mariano

Médica Veterinária

2015

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**USO DO ACESSO LATERAL PARA ASPIRAÇÃO
FOLICULAR EM OVELHAS SANTA INÊS**

Renata Sitta Gomes Mariano

Orientador: Prof. Dr. Wilter Ricardo Russiano Vicente

Coorientador: Prof. Dr. Pedro Paulo Maia Teixeira

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, Área: Reprodução Animal

2015

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

RENATA SITTA GOMES MARIANO – Filha de Roberto Gomes Mariano e Ieda Aparecida Sitta Mariano, nascida em 11 de Maio de 1990, em Garça – SP. Em março de 2008, iniciou o curso de graduação em Medicina Veterinária, pela Faculdade de Medicina Veterinária de Garça – SP, que foi concluído em dezembro de 2012. Em Março de 2013 ingressou no Mestrado pelo programa de pós-graduação em Medicina Veterinária, área de concentração Reprodução Animal na FCAV-Unesp, sob orientação do Prof. Dr. Wilter Ricardo Russiano Vicente e coorientação do Prof. Dr. Pedro Paulo Maia Teixeira.

*Construí amigos, enfrentei derrotas, venci obstáculos,
bati na porta da vida e disse-lhe: Não tenho medo de vivê-la.
(Augusto Cury)*

*“Confia, segue, trabalha e constrói para o bem. E guarda
a certeza de que, para alcançar a felicidade, se fazes teu
dever, Deus faz o resto.”*

(Emmanuel)

“A persistência é o menor caminho do êxito” (Charles Chaplin)

DEDICATÓRIA

*A Deus pela gloriosa oportunidade da vida.
Aos meus pais Roberto e Ieda os quais amo muito,
e que em nenhum momento mediram esforços para
realizarem meus sonhos, à vocês devo a pessoa
que me tornei. Sou extremamente feliz e tenho
orgulho de chamá-los de PAIS. Sem vocês eu
jamais chegaria aqui.*

AGRADECIMENTOS

A **Deus** por ser meu companheiro diário e me fazer acreditar que por mais que venham dias difíceis, um pequeno grão de alegria e esperança dentro de nós é capaz de mudar e transformar qualquer coisa seguir em frente.

Ao meu Pai **Roberto Gomes Mariano**, meu herói. Pelas inúmeras vezes que você me enxergou melhor do que eu sou, por me ensinar o “jogo da vida”, em que tem dias que ganhamos e outros que perdemos, por não poupar esforços e confiar em mim. Por sua paciência, por ser um modelo de coragem e de garra. Tenho muito orgulho de poder ter você como pai. Te amo!

A minha Mãe **Ieda Aparecida Sitta Mariano**, exemplo de fortaleza, persistência e amor; o porto seguro que sempre me abrigou, simplesmente eu a agradeço por ser minha mãe. Te amo e isso NUNCA vai mudar.

A vocês **MEUS PAIS**, que iluminaram meus caminhos com afeto e dedicação para que trilhasse sem medo e cheia de esperanças, que se doaram inteiros e renunciaram aos seus sonhos, para que, muitas vezes, pudéssemos realizar os meus, não bastaria um “MUITO OBRIGADA”. Jamais conseguiria transmitir em palavras meu sentimento por vocês!

Ao meu irmão **Rafael Gomes Mariano**. Eu não me canso de torcer pelo seu sucesso e agradeço a Deus por ter me privilegiado com a oportunidade de ter VOCÊ como irmão. Estaremos sempre juntos, até o final. A você o meu amor sincero e verdadeiro.

A minha cunhada **Layla Karina Ferrari Ramos** por nos contagiar com sua alegria e bom humor diariamente, e por ser exemplo de dedicação, honestidade e simplicidade!

Aos meus avôs **João Gomes Mariano** (in memória) e **Denise Vanzelli Sitta** - Vó Tita (in memória), que hoje não estão presente fisicamente, mas ao lado do Pai comemoram comigo essa conquista.

Ao **Gabriel Furlaneto dos Santos** ouvinte atento de algumas dúvidas, inquietações, desânimos e sucessos, agradeço pelo apoio, confiança e pela valorização sempre tão entusiasta do meu trabalho, dando-me desta forma, coragem para ir em busca dos meus sonhos.

Ao professor **Wilter Ricardo Russiano Vicente**, meu espelho e orgulho. Obrigada por aceitar ser meu orientador e por depositar sua confiança em mim. Agradeço por toda oportunidade, conselhos, carinho e por ter me aceitado em sua equipe, sempre com muito incentivo e confiança. Obrigada por existir e ser essa pessoa de um coração imensurável!

Ao **Pedro Paulo Maia Teixeira**, sem palavras para te agradecer. Obrigada por sempre estar disposto a ajudar, querendo que eu aproveitasse cada segundo dentro do mestrado para absorver algum tipo de conhecimento. Sem dúvida você foi muito importante nessa caminhada. Você foi meu conselheiro, incentivador e amigo. Obrigada por confiar em mim, pelo carinho, e até pelos “puxões de orelha”, pelas inúmeras oportunidades que me concedeu e pelas portas que abriu. Você foi e é referência profissional e pessoal para meu crescimento.

Agradeço também aos colegas de trabalho e amigos e estagiários, equipe fundamental especialmente neste trabalho. Ao Ricardo Ramirez, Ricardo Nociti (Bitcha), Luciana Padilha, Victor Correia, Ana Paula Simões, Vivian, Efigênia, Marina Brito, Leandro Nassar, Felipe Farias da Câmara de Barros, Cássia Maria de Barros, Priscila Chediek, Marcela Ambrogi, Mariana Kako, Marcos (Psico), Giovana, Guilherme Rossi, Lucas Canuto, Mariana de Oliveira.

Também a todas as moradoras da **República OuroFino** que me acolheram da melhor forma possível, e se tornaram minha família em Jaboticabal! Continuem sempre unidas e com essa alegria de viver que cada uma carrega consigo!

À Dra. **Tathiana Ferguson Motheo** e ao Dr. **Marcus Antonio Rossi Feliciano** componentes da banca examinadora de qualificação pela colaboração.

A Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” e a todos os responsáveis do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” – FCAV/Unesp Jaboticabal.

A todos os funcionários da FCAV/UNESP, em especial ao **Sr. Edson Aguiar**.

Aos que torceram pela minha caminhada de perto ou longe, aos amigos que mesmo de longe sempre se fizeram presente na torcida.

Aos animais, parte fundamental deste trabalho, pela sua contribuição a ciência.

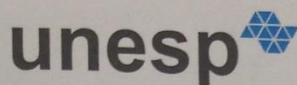
À **FAPESP** pela concessão da bolsa de estudos (Processo 2013/09053-0) e ao **CNPQ** pelo auxílio financeiro (Processo 481073/2012-4).

Enfim, a todos que colaboraram e demais pessoas que não foram citadas mas que igualmente foram muito importantes para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE ABREVIATURAS	vi
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 Aspiração Folicular	2
2.2 Alterações cardiorrespiratória procedimentos videocirurgia.....	3
3. HIPÓTESE	6
4. OBJETIVOS	6
4.1 Objetivo geral	6
4.2 Objetivos específicos	6
5. MATERIAL E MÉTODOS	7
5.1 Localização e caracterização da área	7
5.2 Videolaparoscopia para aspiração folicular	7
5.3 Avaliação intraoperatória	10
5.4 Avaliação pós cirúrgica	11
5.5 Análise dos oócitos recuperados	11

5.6 Análise estatística	12
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
7. CONCLUSÃO	20
8. REFERÊNCIAS	21

 unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal

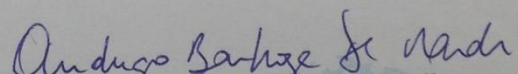


CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 009761/13 do trabalho de pesquisa intitulado "**Videolaparoscopia por acesso lateral em ovelhas com o uso de solução de lidocaína intraperitoneal**", sob a responsabilidade do Prof. Dr. Wilter Ricardo Russiano Vicente está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 10 de Maio de 2013.

Jaboticabal, 10 de Maio de 2013.


Prof. Dr. Andriago Barboza de Nardi
Coordenador - CEUA

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Valores médios± erro padrão de tempos cirúrgicos, folículos visualizados (FV), folículos aspirados (FA) e corpo lúteo (CL) por grupo experimental de acordo com o posicionamento de ovelhas Santa Inês submetidas a aspiração folicular por videolaparoscopia. (FCAV <i>campus</i> de Jaboticabal – UNESP / 2015).....	14
Tabela 2.	Valores médios±erro padrão da qualidade oocitária, total de oócitos viáveis e valores totais por grupo experimental. (FCAV <i>campus</i> de Jaboticabal – UNESP / 2015).....	15
Tabela 3.	Valores médios ± erro padrão dos parâmetros cardiorrespiratórios em função do posicionamento cirúrgico (FCAV <i>campus</i> de Jaboticabal – UNESP/2015).....	16
Tabela 4.	Valores médios da análise de fibrinogênio para avaliação do processo inflamatório e cicatricial durante os períodos pré operatório (0), pós operatório imediato (1), 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 e 16 dias pós cirúrgico nos grupos experimentais (FCAV <i>campus</i> de Jaboticabal – UNESP/ 2015).....	19

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Imagem fotográfica da cavidade abdominal de uma ovelha em um aumento de aproximadamente 10X, notando a fixação do ovário pela pinça de apreensão atraumática, e a aspiração do folículo. Fonte: Arquivo Pessoal..... 9
- Figura 2. Representação gráfica demonstrando a (A) frequência cardíaca (FC), (B) pressão arterial média (PAM), (C) tensão de dióxido de carbono ao final da expiração EtCO₂) e (D) frequência respiratória de ovelhas Santa Inês submetidas a LOPU comparando dois posicionamentos (lateral/dorsal)..... 17

LISTA DE ABREVIATURAS

µm – micrômetros;

% - porcentagem;

CAM – concentração alveolar mínima;

CL – corpo lúteo;

CO₂ – dióxido de carbono;

cm – centímetros;

D – Inspeção da cavidade, retirada do pneumoperitônio e dermorrafia;

dL – decilitro;

EtCO₂ – Pressão de dióxido de carbono no final da expiração

FC – Frequência cardíaca

FR – Frequência respiratória

FIV – fecundação *in vitro*;

FA – Folículos aspirados;

FV – Folículos visualizados;

G – gauges

GD – Grupo de animais submetidos à videolaparoscopia em decúbito dorsal com inclinação de 35°;

GL – Grupo de animais submetidos à videolaparoscopia em decúbito lateral direito com inclinação de 10°;

He – Hélio

IP – Início do procedimento;

IM – Intramuscular;

IV – intravenoso;

Kg – Quilograma;

L – litros;

LOPU – aspiração folicular por videolaparoscopia (*laparoscopic ovum pick-up*);

MA1 – Manipulação e aspiração do primeiro ovário;

MA2 – Manipulação e aspiração do segundo ovário;

MIV – maturação *in vitro*;

mg – miligramas;

min. – minutos;

mL – mililitros;

mmHg – milímetros de mercúrio;

mm – milímetros;

MPA – medicação pré-anestésica;

NaCl – cloreto de sódio;

N₂O – Óxido nitroso

O₂ – Oxigênio

OPU – aspiração folicular (*ovum pick-up*);

OR – Oócitos recuperados;

PaCO₂ – Pressão arterial de dióxido de carbono

PAM – Pressão arterial média

PIA – Pressão intrabdominal

PIT – Pressão intratorácica

PIV – Produção *in vitro*;

P1 – Entrada do primeiro portal;

P2/3 – Entrada do segundo e terceiro portal;

TE – Transferência de embriões;

TRO – taxa de recuperação oocitária;

UI – Unidades internacionais;

US-OPU – aspiração folicular por ultrassonografia (*ultrasonographic ovum pick-up*).

USO DO ACESSO LATERAL PARA ASPIRAÇÃO FOLICULAR EM OVELHAS SANTA INES

RESUMO – O procedimento de aspiração folicular videolaparoscópica é amplamente utilizado dentro das biotecnologias reprodutivas, porém, existem alterações fisiológicas que o posicionamento em “Trendelemburg” pode ocasionar ao sistema cardiorrespiratório dos animais. Por este motivo e objetivando-se reduzir estas intercorrências, desenvolveu-se uma nova abordagem cirúrgica em decúbito lateral direito para aspiração folicular em ovelhas Santa Inês. Foram utilizadas 24 fêmeas ovinas Santa Inês divididas aleatoriamente em dois grupos com 12 animais cada sendo: GL – posicionadas em decúbito lateral direito com inclinação de 10° em cefalodeclive; GD – posicionadas em decúbito dorsal com inclinação 35° em cefalodeclive. Os animais foram submetidos ao procedimento de aspiração folicular por videolaparoscopia utilizando três portais e pneumoperitônio induzido com CO₂. Os tempos cirúrgicos, folículos visualizados e aspirados, oócitos recuperados, frequência cardíaca e respiratória, pressão arterial média, pressão ao final da expiração de CO₂, analgesia pós operatória e concentração sérica de fibrinogênio foram avaliados nos períodos pré, trans e pós cirúrgicos. O tempo cirúrgico total, a frequência cardíaca, pressão arterial média, e EtCO₂ apresentaram maiores valores no GL. Enquanto que os folículos visualizados e aspirados, oócitos recuperados, fibrinogênio, frequência respiratória e analgesia pós operatória foram similares entre os grupos. A técnica de aspiração folicular por acesso lateral apresenta-se como um procedimento viável e efetivo para a recuperação oocitária em ovelhas Santa Inês. Entretanto é importante comentar que este acesso acarreta alterações consideráveis no sistema cardiorrespiratório quando comparada ao procedimento convencional, fazendo com que sua aplicabilidade prática seja limitada.

Palavras-chave: Ovinos, videocirurgia, biotecnologia da reprodução, sistema geniturinário.

SIDE ACCESS FOR LAPAROSCOPIC OVUM PICK-UP IN SANTA INES SHEEP

ABSTRACT – The laparoscopic ovum pick-up is widely used in reproductive biotechnology, although there are physiological changes in the cardiorespiratory system due to Trendelenburg position. For this reason and in order to decrease these events we developed a new surgical approach in the lateral position for follicular aspiration. 24 Santa Ines sheep randomly divided into two groups with 12 animals: GL - positioned in right lateral position and head down position of 10 degree; GD – supine positioned and an head down inclination of 35 degree. The animals were submitted to laparoscopic ovum pick-up procedure, using three portals and CO₂ pneumoperitoneum. The surgery times, visualized and aspirated follicles, oocytes recovery, heart and respiratory rate, mean arterial pressure, pressure at the end of the exhaled CO₂, post surgery analgesia and serum fibrinogenic were evaluated before, during and after surgery. The total surgery time, heart rate, mean arterial pressure, and EtCO₂ were higher in the GL. While visualized and aspirated follicles, recovery oocytes, fibrinogen, respiratory rate and post surgery analgesia were similar between groups. The follicular aspiration technique for lateral approach presents as viable and effective procedure for oocytes recovery in Santa Ines sheep. However, it is important to mention that this approach requires considerable changes in cardiorespiratory system compared to the conventional approach, making their practical applicability limited.

Keywords: sheep, videolaparoscopy, biotechnology of reproduction, genitourinary system.

1. INTRODUÇÃO

O avanço em biotecnologias reprodutivas aplicada em pequenos ruminantes teve um crescimento mundial, incluído o Brasil. O mesmo foi paralelo a evolução da ovinocultura, que teve significativo destaque econômico (BALDASSARE 2012; DEMINICIS et al., 2008).

Nos últimos 20 anos, a produção interna brasileira do rebanho de ovinos dobrou de tamanho (IBGE, 2010). Entre 2002 e 2011, o rebanho ovino aumentou em 23% na região nordeste, 34% na região norte e na região sudeste o aumento foi de 56% (ANUALPEC, 2013).

Os procedimentos de aspiração folicular, maturação *in vitro* (MIV) e fertilização *in vitro* (FIV) de oócitos permitem a exploração do potencial reprodutivo das fêmeas de maneira revolucionária. A produção *in vitro* de embriões oferece ainda a possibilidade de aceleração do ganho genético por meio da diminuição do intervalo entre partos e a maximização do número de descendentes em um reduzido espaço de tempo (BALDASSARE et al., 2012; CROCOMO et al., 2012; EARL et al., 1995).

Assim, a videolaparoscopia destaca-se por ser um procedimento minimamente invasivo, que é um forte recurso para as biotécnicas reprodutivas, em especial para ovinos e caprinos, sendo a aspiração folicular laparoscópica (LOPU) um destaque na reprodução animal, por se tratar de tecnologia de ponta, comparada as outras formas de recuperação oocitária, e firma-se como técnica ideal para recuperação eficiente de oócitos em pequenos ruminantes (CORDEIRO et al, 2014; TEIXEIRA et al., 2013; BASSO, 2008).

Apesar da cirurgia laparoscopia se destacar dentro dos procedimentos cirúrgicos (CAMPOS et al., 2003) existem alterações fisiológicas que a técnica pode ocasionar (COHEN et al., 2003) ao sistema cardiorrespiratório devido o posicionamento em inclinação que desloca cranialmente as vísceras ao campo de trabalho e ao pneumoperitônio induzido (FISCHER et al., 1995).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspiração folicular

O termo laparoscopia deriva do grego “lapará” e “skopein” que significam respectivamente abdómen e examinar (USÓN GARGALLO et al., 2003).

O título de “pai da endoscopia”, segundo Harrinson (1976), citado por Brun e Beck (1999), foi atribuído a Philipp Bozzini, que desenvolveu o primeiro endoscópio no início do século XX. Em 1860, Friedrich “Trendelenburg” popularizou o posicionamento empregado para procedimentos pélvicos que levaria seu nome e é obtido com a colocação do paciente em cefalodeclive de 10 a 30° (LEME et al., 2002). Em 1974, Snyder e Dukelow descreveram a primeira aspiração folicular em ovelhas através de laparoscopia.

Para a produção de embriões *in vitro*, é fundamental a obtenção de oócitos, que podem ser colhidos *in vitro* de ovários obtidos em abatedouros ou por ovariectomia, ou *in vivo* por meio da aspiração de folículos por via transvaginal guiada por ultrassom, laparotomia ou laparoscopia, sendo que o treinamento nestes procedimentos influencia na recuperação oocitária (WANI, 2002).

A indústria da tecnologia de embriões sofreu uma importante mudança nos últimos anos com o advento da produção *in vitro* (PIV) (SENEDA et al., 2005). O Brasil é o primeiro país do mundo em número de embriões produzidos *in vitro*. Durante o ano de 2003, mais de 60.000 embriões foram gerados por esse método e aproximadamente 87.000 embriões pelo método *in vivo*. Mesmo que o número de embriões obtidos por meio da lavagem uterina seja alto, aqueles produzidos pelo procedimento *in vitro* vem ganhando um espaço de destaque no país, confirmando ser um procedimento economicamente viável, bastante divulgado e empregado na pecuária moderna (THIBIER, 2004).

Além disso a produção *in vitro* de embriões destaca-se pelo alto potencial de gerar maior número de descendentes de fêmeas excelentes que a ovulação múltipla e transferência de embriões (TE). A recuperação de oócitos por laparoscopia, frente à lavagem uterina para recuperação de embriões, tem como vantagem a repetição do procedimento na mesma doadora, permite também produzir progênie a partir de animais de alto valor em circunstâncias que a transferência de embriões não permite,

como em pré púberes, idosos e gestantes. A produção *in vitro* de embriões pode fazer o sistema de produção de animais transgênicos eficiente pelo uso de zigotos oriundos de oócitos recuperados por laparoscopia. Assim, acredita-se que a produção *in vitro* de embriões está bem desenvolvida para substituir a transferência de embriões (AISEN, 2008).

2.2. Alterações cardiorrespiratória nos procedimentos de videocirurgia

O procedimento cirúrgico laparoscópico necessita da criação do pneumoperitônio por meio da insuflação da cavidade abdominal com gás, e o posicionamento do paciente em “Trendelemburg” para facilitar a visualização dos órgãos geniturinários que é obtida com a colocação do paciente em cefalodeclive com inclinação que pode variar de 10° a 30° (ALLEN, 1996). A abordagem videocirúrgica é realizada por meio de um endoscópio introduzido transabdominal, de modo a serem observados os órgãos no interior das cavidades abdominal e pélvica, podendo ser realizada diversas vezes no mesmo animal, se necessário, porém com o maior inconveniente o custo do material utilizado (BALDASSARRE, 2012; TEIXEIRA et al., 2011).

Como citado anteriormente, o pneumoperitônio faz-se necessário para a realização do procedimento, como também o posicionamento do paciente, proporcionando o deslocamento gravitacional das vísceras e favorecendo uma melhor visibilidade das estruturas anatômicas afastando-as da parede abdominal, criando um maior espaço para a realização da cirurgia. Essas situações induzem alterações fisiológicas e efeitos deletérios aos órgãos e sistemas no intraoperatório que comprometem o bom andamento da anestesia (REBUGLIO et al., 2004).

Segundo Steuder (1998), embora existam métodos mecânicos de distensão da cavidade abdominal, a insuflação abdominal por gás é prática padrão. Os agentes insuflantes utilizados para a indução do pneumoperitônio são dióxido de carbono (CO₂), óxido nitroso (N₂O) (REMEDIOS e FERGUSON, 1996; COELHO et al., 1995;), nitrogênio (N₂) (GILROY e ANSON, 1987), oxigênio (O₂), ar atmosférico (COELHO et al., 1995; REMEDIOS e FERGUSON, 1996) e o hélio (He) (LEIGHTON et al., 1993; FITZGERALD et al., 1992).

O dióxido de carbono (CO₂) foi citado como de escolha em um estudo realizado por Safran et. al (1994) e por Hendrickson et al. (1996) em relação aos demais gases, pelo fato de não ser comburente, apresentar alta solubilidade no sangue, além da rápida eliminação pelos pulmões e baixa ocorrência de embolia gasosa.

Os efeitos combinados do pneumoperitônio, da posição do paciente, anestesia e hipercarbica secundária ao CO₂ absorvido promovem alterações importantes no sistema cardiorrespiratório. A extensão dessas alterações depende da pressão intra-abdominal obtida, do volume de CO₂ absorvido, volume intravascular do paciente e estado funcional cardiorrespiratório prévio, sendo que a elevação do diafragma causada pelo pneumoperitônio e pela posição em cefalo-declive pode provocar a redução da capacidade pulmonar residual funcional, bem como alterações na relação ventilação-perfusão por aumento da pressão da via aérea (SHARMA et al., 1996).

A posição “Trendelenburg”, empregada nos procedimentos de videolaparoscopias, requer o uso de ventilação preferencialmente positiva durante o procedimento de anestesia, para que assim reduza os efeitos deletérios do pneumoperitônio associado à compressão exercida do diafragma com as vísceras abdominais (FISCHER et al., 1995). Hendrickson et al. (1996), cita em um estudo feito por Safran et al. (1994) sobre a questão da pressão utilizada para insuflar a cavidade, em que esta deveria estar entre 15 a 20 mmHg, assim evitando complicações advindas de uma pressão excessiva intracavitária.

O pneumoperitônio realizado com CO₂ leva a um aumento progressivo da pressão parcial de CO₂ arterial (PaCO₂), principalmente durante insuflação nos pacientes submetidos à ventilação controlada, atingindo um platô 15 a 30 minutos após o início da insuflação (RADEMAKER, 1995; MULLETT et al., 1993).

A realização do pneumoperitônio leva a um aumento da pressão intrabdominal (PIA) o que resulta em uma diminuição do retorno venoso, o aumento da frequência cardíaca, aumento da resistência vascular periférica, aumento da pressão venosa central e conseqüente diminuição do débito cardíaco. A taquicardia é uma resposta simpática compensatória à diminuição do retorno venoso, mas pode ser decorrente do aumento do CO₂ sanguíneo. Devido a pressão sobre o diafragma causada pelo pneumoperitônio, ocorre diminuição do volume respiratório e aumento da resistência vascular pulmonar (CHANDRAKANTH et al., 2001; SCHAUER et al., 2000; KRAUT et

al., 1999; STRUTHERS e CUSCHIERI, 1998; JORISJ et al., 1993). Da mesma forma, a pressão intrabdominal resultante do pneumoperitoneo, ocasiona diminuição da complacência pulmonar e menor capacidade pulmonar residual que por sua vez leva a atelectasia pulmonar e hipoxemia (HAYDEN E COWMAN, 2011).

3. HIPÓTESE

A recuperação oocitária em ovelhas Santa Inês é factível com a utilização da técnica videolaparoscópica com animal em decúbito lateral direito.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar a aplicabilidade da técnica de aspiração folicular videolaparoscópica em ovelhas Santa Inês para recuperação oocitária, posicionadas em decúbito lateral direito ou decúbito dorsal.

4.2 Objetivos Específicos

- Padronizar o acesso videolaparoscópico lateral ao útero e ovário, comparando o desempenho do procedimento por acesso lateral direito e em decúbito dorsal.
- Comparar a colheita e viabilidade oocitária resultante dos posicionamentos.
- Registrar a taxa de recuperação e qualidade oocitária nos grupos experimentais.
- Avaliar os parâmetros cardiorrespiratórias durante os procedimentos cirúrgicos.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Localização e caracterização da área

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Câmpus Jaboticabal - São Paulo – Brasil (protocolo nº 002478/11).

Foram utilizadas 24 ovelhas da raça Santa Inês, múltíparas, não prenhes, com idade média de $3,1 \pm 1,1$ anos, escore de condição corpórea médio de 3,0 (escala de 1-5), peso médio de $35,1 \pm 6,2$ kg, consideradas híginas após realização de exame físico geral que constitui de inspeção, palpação, percussão, auscultação e cada um dos sistemas corporais; exame do sistema reprodutivo por meio de inspeção vulvar, vaginal e ultrassonografia transretal; hemograma e dosagem de proteína plasmática total.

Os animais foram mantidos em regime intensivo, recebendo silagem de milho e ração balanceada duas vezes ao dia e acesso *ad libitum* à água e sal mineral.

Para a realização do estudo os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos de 12 ovelhas de acordo com o posicionamento cirúrgico a ser estudado:

- Grupo Dorsal (n=12), animais submetidos à videolaparoscopia com posicionamento em decúbito dorsal e inclinação em cefalodeclive de 35°
- Grupo Lateral (n=12), animais submetidos à videolaparoscopia com posicionamento em decúbito lateral direito e inclinação em cefalodeclive de 10°.

5.2 Videolaparoscopia para aspiração folicular

Após jejum hídrico e alimentar de 36 horas, foi realizada tricotomia ampla da região abdominal, pescoço ventral e face caudal das orelhas. Realizou-se medicação pré-anestésica (MPA) com a associação de Clorpromazina (Cloridrato de Clorpromazina®, União Química, São Paulo, Brasil) 0,5 mg/kg via IM e tramadol (Cloridrato de Tramadol®, Hipolabor, Sabará, Brasil) 4 mg/kg via IM. Dez minutos depois, um cateter sobre a agulha (Angiocath®, Becton Dickinson, Juiz de Fora, Brasil) calibre 16G foi introduzido e fixado na veia jugular e induzida anestesia

mediante a injeção intravenosa da associação de cloridrato de cetamina (Dopalen®, Sespo, Paulínia, Brasil) 5 mg/kg e midazolam (Dormire®, Cristália, Itapira, Brasil) 0,2 mg/kg. Imediatamente promoveu-se como o auxílio de um laringoscópio a intubação orotraqueal com sonda de Magill estendida de diâmetro 7,5F e o balonete insuflado no intuito de evitar a broncoaspiração. A manutenção anestésica foi realizada mediante a infusão contínua intravenosa de cetamina 10 mg/kg/h e midazolam 0,2 mg/kg/h diluídos na fluidoterapia de manutenção com NaCl 0.9% na dose de 5ml/kg/h. Os animais não receberam suplementação de oxigênio e a ventilação foi mantida espontaneamente durante o procedimento, a fim de mimetizar a anestesia a campo.

Uma vez que os animais se encontravam em plano dissociativo eram posicionados de acordo com o grupo experimental, em decúbito dorsal com posterior inclinação em cefalodeclive de 35° (“Trendelenburg”) ou em decúbito lateral direito com inclinação de 10°.

Após o preparo asséptico do campo cirúrgico, os pontos de acesso cirúrgico foram definidos e em cada um deles infiltrou-se superficial e profundamente 3 mL de Cloridrato de lidocaina (Xylestesin®, Cristália, Itapira, Brasil). Para o grupo em decúbito dorsal, o procedimento foi realizado conforme Teixeira et al. (2013), com introdução às cegas do primeiro trocáter 10 a 15 cm cranial ao úbere e 5 cm à direita da linha média, sendo os demais portais posicionados após o estabelecimento do pneumoperitônio, o segundo semelhante ao primeiro, porém a esquerda, e o terceiro colocado na linha média, aproximadamente 20 cm cranial ao úbere, respeitando a triangulação. Já no grupo em decúbito lateral se trabalhou colocando o primeiro portal na fossa paralombar esquerda, estabelecendo o pneumoperitônio com CO₂. Em seguida, o segundo portal laparoscópico foi posicionado aproximadamente 15 cm no sentido ventral e o terceiro entre os dois, introduzido de 5 a 10 cm cranial e ventral ao primeiro portal.

A incisão cutânea com o auxílio de bisturi dos pontos selecionados foi realizada para facilitar introdução dos trocateres. O primeiro trocater de 5 mm, com válvulas para insuflação (Endoscopy Surgery, Rio de Janeiro, Brasil), lente e câmera (Dyonics® Digital, Smith & Nephew, Andover, USA) ligada a um monitor de alta resolução foi posicionado a cegas e em ambos os grupos o pneumoperitônio foi induzido utilizando CO₂ com pressão intrabdominal (PIA) de 5 a 8 mmHg e velocidade

de insuflação de 5 L/min. Para a manipulação do útero, tubas e bursas ováricas e individualização dos ovários, foram utilizadas as pinças atraumáticas (Babcock).

Para o procedimento de aspiração folicular, os ovários foram apreendidos e examinados contabilizando o número de folículos com dimensões entre 2-8 mm. Estas estruturas foram puncionadas após a introdução de uma agulha na cavidade (Figura 1) e aspiradas movimentando os ovários em diferentes posições. Inicialmente, a agulha foi colocada em posição paralela à superfície ovariana, facilitando as perfurações dos folículos em suas extremidades. A pressão do vácuo foi ajustada para no máximo 50 mmHg, sendo utilizado um sistema de aspiração com lúmen simples, composto de uma agulha de 18G com bisel curto (Cateter 18G - Angiocath®, BD, Brasil), conectada a uma cânula de teflon de 50 cm de comprimento acoplada a uma rolha de silicone e ligada ao tubo de colheita (50 mL). O vácuo foi obtido utilizando bomba de aspiração (Bomba de vácuo digital BV 003D, WTA, Brasil) com esfigmomanômetro, como descrito por Teixeira et al. (2011).

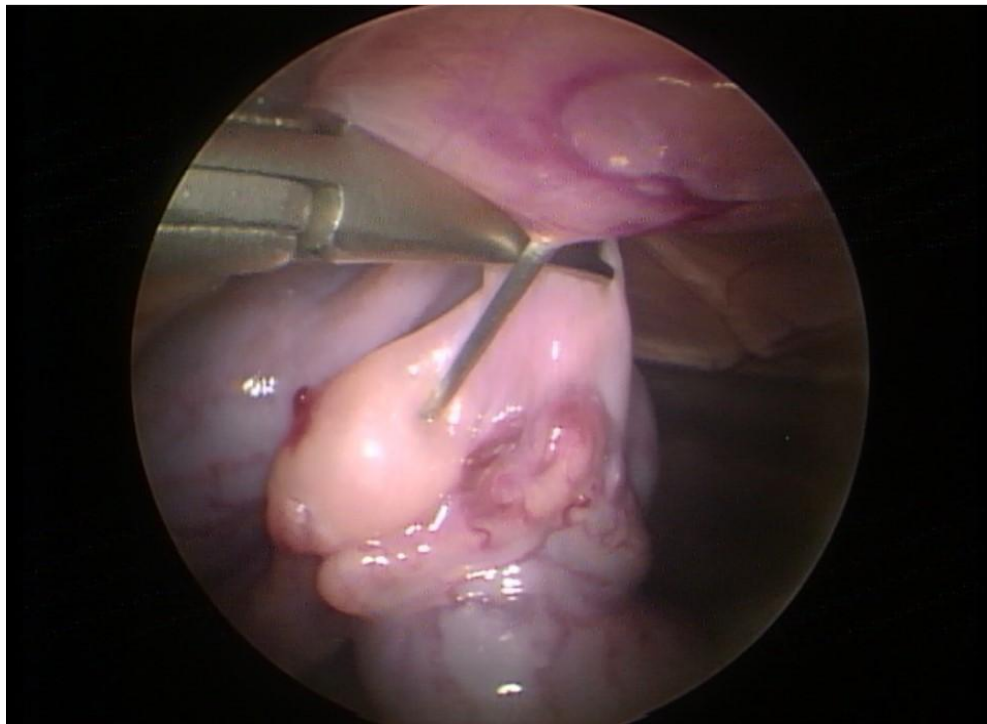


Figura 1: Imagem fotográfica da cavidade abdominal de uma ovelha em um aumento de aproximadamente 10X, notando a fixação do ovário pela pinça de apreensão atraumática, e a aspiração do folículo. Fonte: Arquivo Pessoal, 2015.

Ao término do procedimento, o útero e os ovários foram lavados com 0,3 mL/kg de solução de: NaCl 0,9% (1,6 mL/kg) com a finalidade de remover os coágulos da superfície, na tentativa de evitar a formação de aderências. Posteriormente realizou-se a dermorráfia dos pontos de acesso com sutura de tipo Wolff, utilizando nylon 2-0, limpeza da ferida cirúrgica com clorexidina 2% e aplicação de unguento (Unguento Plus®, Pearson, Brasil) ao redor da ferida cirúrgica.

O tratamento pós-operatório consistiu da aplicação de tramadol (Cloridrato de Tramadol®, Hipolabor, Sabará, Brasil) 2mg/kg IM BID durante três dias associado a penicilina+streptomicina (Penfort PPU®, Ourofino, Cravinhos, Brasil) IM em dose única recomendada pelo fabricante. Após serem retiradas da maca cirúrgica, as fêmeas foram colocadas em local limpo e tranquilo, observadas até ficarem em posição quadrupedal e avaliadas clinicamente a cada 12 horas durante a recuperação anestésica imediata até a retirada das suturas 10 dias depois do procedimento.

5.3 Avaliação intraoperatória

O transcirúrgico foi dividido em cinco etapas: início de cirurgia (IC); entrada do primeiro portal laparoscópico (P1); entrada do segundo e terceiro portal (P23); manipulação e aspiração do primeiro ovário (MA1); manipulação e aspiração do segundo ovário (MA2); inspeção da cavidade, retirada do pneumoperitônio e dermorráfia (D). Em cada etapa foram registradas possíveis intercorrências, particularidades e tempo, além de cronometrado o tempo cirúrgico total.

Durante o procedimento cirúrgico a artéria auricular caudal foi cateterizada com um cateter sobre a agulha 20G acoplado a uma torneira de três vias e um equipo extensor conectado ao transdutor de pressão do monitor multiparamétrico (DIXTAL® 2023, Dixtal biomédica, Manaus, Brasil) para a monitoração constante da pressão arterial. Por meio deste monitor também foram constantemente observadas a eletrocardiografia, oximetria de pulso, capnografia e temperatura corpórea. Os parâmetros clínicos: frequência cardíaca (FC), respiratória (FR), pressão arterial média (PAM), tensão final de CO₂ ao final da expiração (EtCO₂) e temperatura retal (T) foram registradas a cada 10 minutos.

Foi utilizada uma pinça Babcock para apreensão dos ovários, e foram contabilizados o número de folículos visualizados (FV), aspirados (FA) e presença ou não de corpo lúteo (CL), e o ovário onde o mesmo se encontrava.

5.4 Avaliação pós cirúrgica

Durante as primeiras seis horas após o procedimento os animais foram monitorados em relação à expressão de sinais de dor, sendo esta avaliação realizada de acordo com um protocolo para ovelhas submetidas à intervenções traumáticas (FITZPATRICK et al., 2006; GUEDES et al., 2006), que consiste na observação dos parâmetros aparência, postura, marcha e palpação da ferida cirúrgica, assinando uma pontuação numérica entre 0 a 10 (Apêndice 1). Se observado algum desconforto doloroso realizava-se o resgate analgésico com tramadol (Cloridrato de Tramadol®, Hipolabor, Sabará, Brasil) 4mg/kg IV.

Para avaliação do processo inflamatório e cicatricial, foram coletadas amostras sanguíneas por meio de punção da veia jugular no período pré-operatório, pós-operatório imediato e 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 e 16 dias após o procedimento cirúrgico, objetivando-se mensurar os níveis séricos de fibrinogênio, analisado por precipitação pelo calor (56°C) e leitura do plasma em refratômetro manual, com valores expressos em mg/dL, bioquímico, hemograma e leucograma segundo as recomendações de Thrall (2007).

5.5 Análises dos oócitos recuperados

Foi utilizado tubo falcon de 50 mL contendo 15 mL de meio de colheita aquecido a 36°C, para receber os oócitos recuperados durante as aspirações foliculares. O transporte deste meio já com os oócitos era imediato, pela proximidade entre os locais da cirurgia e do laboratório.

Em laboratório, o líquido aspirado foi cuidadosamente depositado em placas de Petri e levado à observação em estereomicroscópio em aumento de 40X, no mesmo

meio de colheita. Uma vez localizados, os oócitos foram classificados de acordo com sua qualidade adaptado de Leibfried e First (1979).

- **Grau I:** COC com ooplasma homogêneo, escuro e rodeado completamente por mais de três camadas de células do *cumulus*.
- **Grau II:** COC com o ooplasma levemente pigmentado com menos de três camadas de células do *cumulus* completa.
- **Grau III:** COC com o ooplasma pálido, frequentemente disformes e camadas de células do *cumulus* incompletas ou *cumulus* expandido.
- **Degenerados:** desnudo, sem células do *cumulus*.

5.6 Análise estatística

Realizada com ajuda do Software R (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Os parâmetros referentes a: tempo, folículos, oócitos, bioquímica sérica e parâmetros cardiorrespiratórios; após comprovação de normalidade dos resíduos e homocedasticidade das variâncias (transformação dos dados se preciso) foram submetidos à análise de variância no desenho inteiramente casualizado e parcelas subdivididas no tempo com pós-teste de Tukey. O nível de significância utilizado foi de 5%.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudos prévios foram realizados do presente experimento, objetivando avaliar o acesso cirúrgico ao útero e ovários com os animais posicionados em decúbito lateral (USCATEGUI et al., 2014). Inicialmente realizou-se o procedimento sem inclinação, porém deste modo não foi possível a manipulação dos órgãos reprodutivos devido à dificuldade na visualização, ocasionada pelos órgãos abdominais principalmente o rúmen. Como citado por Allen (1996) o posicionamento do corpo inclinado com a cabeça para baixo com angulação de 10 a 30° é importante para o deslocamento cranial das vísceras e consequente facilidade operatória dos órgãos reprodutivos, minimizando o risco de lesões durante a introdução às cegas do primeiro trocater. Neste contexto inclinou-se o corpo dos animais em 30° e deste modo a visualização e manipulação dos órgãos reprodutivos foi possível, porém resultou em hipercapnia clínica ($\text{EtCO}_2 > 60 \text{ mmHg}$) indicando provavelmente que a compressão diafragmática consequente desta inclinação resultou em depressão respiratória. Assim, os animais foram posicionados com inclinação de 10° conseguindo a visualização e manipulação dos órgãos reprodutivos, sem hipercapnia ou depressão cardiorrespiratória evidente.

Após estes pilotos, já na fase experimental, a duração média do procedimento cirúrgico foi de 42 ± 2 minutos para o grupo GD e 52 ± 4 para o grupo GL. Observou-se diferença significativa entre o tempo em função do posicionamento cirúrgico, sendo maior pelo acesso lateral ($p=0,04$), o que pode ser justificado pela dificuldade na manipulação que o rúmen e outros órgãos abdominais ocasionam, sendo a abordagem cirúrgica aos órgãos reprodutivos neste decúbito mais laboriosa.

A equipe cirúrgica participante do presente estudo iniciava sua experiência na videocirurgia e deste modo o tempo cirúrgico ainda na abordagem tradicional foi relativamente maior aos descritos por Cordeiro (2014) e Teixeira et al. (2011). É consabido que o treinamento contínuo neste tipo de procedimentos reduz significativamente o tempo cirúrgico (TEIXEIRA et al., 2013), deste modo a técnica lateral que em média demorou 10 minutos (23%) a mais do que a abordagem em decúbito dorsal poderia ter seu tempo reduzido, com o incremento da experiência e

habilidade dos cirurgiões. Destaca-se que, na fase inicial do estudo a técnica lateral demorava 74 minutos e na fase final 34 minutos (MARIANO et al., 2014a).

O tempo médio para a apreensão e aspiração dos ovários foi de 23 ± 2 minutos para o grupo GD e significativamente maior ($p=0,03$) 31 ± 3 minutos para o grupo GL (Tabela 1), o que demonstra que nesta abordagem a manipulação ovariana é mais complicada, porém o número de folículos visualizados (FV), e aspirados (FA) foram similares entre grupos (Tabela 1), e correlacionam-se com os resultados de Cordeiro (2006) e Stangl et al. (1999) na aspiração folicular videolaparoscópica de cabras e ovelhas adultas não submetidas a estimulação ovariana, demonstrando a aplicabilidade da técnica por acesso lateral para a visualização e manipulação dos órgãos reprodutivos.

Tabela 1: Valores médios \pm erro padrão de tempos cirúrgicos, folículos visualizados (FV), aspirados (FA) e corpo lúteo (CL) por grupo experimental de acordo com o posicionamento de ovelhas Santa Inês submetidas a aspiração folicular por videolaparoscopia. (FCAV *campus* de Jaboticabal – UNESP / 2015)

Parâmetros	Grupos Experimentais	
	GD	GL
Tempo cirúrgico (min)	42 ± 2^a	52 ± 4^b
Tempo primeiro ovário	$14\pm 1,9^a$	$18\pm 2,6^b$
Tempo segundo ovário	$23\pm 2,2^a$	31 ± 3^b
Fol. Visualizado OE	$5,7\pm 0,7$	$3,9\pm 0,9$
Fol. Visualizado OD	$5,5\pm 0,8$	$5,0\pm 1$
Fol. Aspirado OE	$4,3\pm 0,5$	$3,5\pm 0,9$
Fol. Visualizado OD	$4,5\pm 0,7$	$4,3\pm 0,8$
CL	1 ± 0	1 ± 0

OE: Ovário esquerdo, OD: Ovário direito; CL: Corpo lúteo. Letras diferentes representam diferença estatística de 5%

Visto que o objetivo da biotécnica reprodutiva de aspiração folicular por videolaparoscopia é a recuperação de oócitos para a produção de embriões *in vitro* (SOUZA-FABJAN et al., 2014) é digno enfatizar que, de acordo com o número de oócitos recuperados e classificados como viáveis, não houve diferença ($p>0,05$) em relação ao posicionamento entre os grupos (Tabela 2). Os resultados obtidos neste

estudo foram semelhantes aos publicados por Stangl et al. (1999) utilizando protocolos similares. Dentro da expectativa inicialmente proposta, conseguiu-se inferir que a técnica escopo deste estudo pode ser utilizada como alternativa viável para a recuperação *in vivo* de oócitos em ovelhas.

Tabela 2: Valores médios±erro padrão da qualidade oocitária, total de oócitos viáveis e valores totais por grupo experimental. (FCAV *campus* de Jaboticabal – UNESP / 2015).

Parâmetros	Grupos Experimentais	
	GD	GL
Oócitos recuperados	3±1	3±1
G1	0±0	1±0
G2	1±0	1±0
G3	2±0	1±0
Desnudo	0,3±0,2	0,3±0,1
Degenerado	0,4±0,2	0,4±0,3

G1: Oócitos de grau 1, G2: Oócitos de grau 2, Grau 3: Oócitos de grau 3. Significativa a nível de 5%.

Cabe salientar que a realização de jejum hídrico e alimentar de 36 horas, possibilitou uma adequada manipulação e visualização da cavidade abdominal, além de prevenir maioritariamente o refluxo do conteúdo ruminal, como preconizado por Fischer et al. (1986).

Assim como, que os parâmetros cardiorrespiratórios monitorados durante o procedimento cirúrgico encontraram-se dentro dos padrões esperados para ovelhas anestesiadas (CLARKE et al., 2014). Algumas intercorrências foram observadas em um animal de cada grupo: colapso cardiorrespiratório fatal durante o procedimento cirúrgico no GD no qual foi observada lesão isquêmica do pulmão, possivelmente pela insuflação inadvertida de CO₂ como descrito por Hayden e Cowman (2011), e a perfuração do rúmen resultante da introdução a cegas do primeiro trocater num indivíduo do GL, sendo a punção acidental de órgãos abdominais uma complicação frequente descrita pelo mesmo autor.

O posicionamento em cefalodeclive e o pneumoperitoneo induzido utilizados para a realização da técnica laparoscópica, ocasionam aumento na pressão intra-

abdominal (PIA) e intratorácica (PIT) resultando em alterações cardiorrespiratórias (HAYDEN e COWMAN, 2011). Deste modo, nos dois posicionamentos testados se faça necessário o pneumoperitoneo e cefalodeclive, hipotetizou-se que uma menor inclinação e o posicionamento em decúbito lateral reduziriam a compressão diafragmática e conseqüentemente estas alterações. Quando comparados os parâmetros cardiorrespiratórios avaliados entre os grupos (Tabela 3, Figura 2), observou-se que o posicionamento lateral promoveu maiores valores de frequência cardíaca ($p = 0,012$), pressão arterial média ($p = 0,009$) e EtCO_2 ($p = 0,001$), sem alterar significativamente frequência respiratória ($p = 0,9$) e sem estes resultados serem dependentes do tempo cirúrgico.

Tabela 3: Valores médios \pm erro padrão dos parâmetros cardiorrespiratórios em função do posicionamento cirúrgico (FCAV *campus* de Jaboticabal – UNESP / 2015).

Parâmetros	Grupos Experimentais	
	GD	GL
FC	98,3 \pm 3,3 ^A	111 \pm 3,6 ^B
FR	36,7 \pm 2	40,9 \pm 2,1
PAM	78 \pm 2,3 ^A	87,4 \pm 2,6 ^B
ETCO₂	37,3 \pm 1,2 ^A	42,5 \pm 1 ^B

FC: Frequência cardíaca (bat/min), FR= Frequência respiratória (ciclos/min), PAM: Pressão arterial média (mmHg), ETCO₂: Tensão de dióxido de carbono ao final da expiração. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

* Significativo para $p < 0,05$.

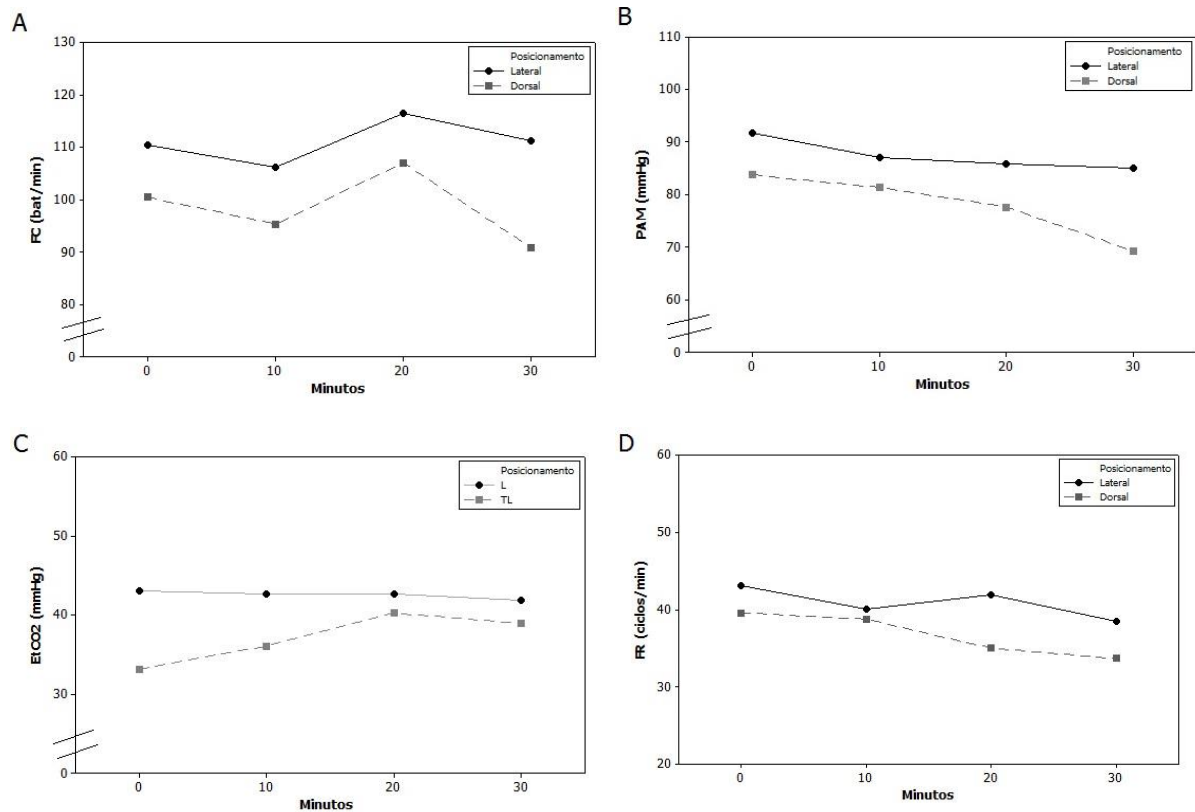


Figura 2: Representação gráfica demonstrando a (A) frequência cardíaca (FC), (B) pressão arterial média (PAM), (C) tensão de dióxido de carbono ao final da expiração (EtCO₂) e (D) frequência respiratória de ovelhas Santa Inês submetidas a LOPU comparando dois posicionamentos (lateral/dorsal).

Com o aumento da PIA ocorre elevação da resistência vascular sistêmica, pulmonar, da PIT e redução do retorno venoso, devido à compressão da aorta, pulmão, diafragma e veia cava caudal respectivamente (HAYDEN e COWMAN, 2011). Estas alterações conjuntas conduzem à redução da pré-carga, do débito cardíaco e do fluxo de sangue renal, ativando a produção de fatores neuro-humorais tais como a vasopressina e o eixo renina-angiotensina-aldosterona (HIRVONEN-NUUTINEN e KAUKO 1995) na tentativa de estabilizar o débito cardíaco por meio da elevação da frequência cardíaca e da pressão arterial, como foi comprovado por O’Learly et al. (1996) em pessoas submetidas a colecistotomia laparoscópica em “Trendelenburg” e insuflação peritoneal utilizando CO₂ com pressões intrabdominais de 14 mmHg, similar ao evidenciado neste estudo.

Outro fator proposto para o aumento da PAM e FC é a elevação do CO₂ sanguíneo, devido ao aumento na absorção pela insuflação cavitária ou à depressão respiratória induzida pela compressão do diafragma (HAYDEN e COWMAN, 2011). O acréscimo no CO₂ acarreta vasodilatação e acidose respiratória que provoca liberação de catecolamina e aumento da frequência cardíaca e pressão arterial (RASSMUSSEN et al. 1978). Corroborando as assertivas de O’Learly et al. (1996), Hirvonen-Nuutinen e Kauko (1995);) Huang et al., (1991) e Punnonrn e Viinaniaki, (1982) relacionaram diretamente o aumento da PIA com a produção de fatores vasoativos, uma vez que ainda mantendo os valores de CO₂ no sangue arterial constantes a PAM incrementa-se como resultado do pneumoperitoneo e cefalodeclive (Punnonrn e Viinaniaki, 1982).

A elevação na PAM, FC e EtCO₂ têm sido relatadas como alterações observadas na cirurgia laparoscópica (LENZ et al, 1976; MOTEW et al., 1973; KELMAN et al, 1972; MARSHALL et al, 1972). Porém, poucos trabalhos tem estudado estas mudanças na videocirurgia em decúbito lateral, entre estes Mullet et al. (1993) os quais afirmam que durante procedimentos laparoscópicos pelvianos a EtCO₂ e o volume de CO₂ eliminado foi significativamente maior do que em procedimentos realizados em decúbito supino, concatenando esta alteração com a insuflação constante de planos teciduais pelo CO₂ na posição lateral e consequente estimulação simpática, taquicardia e hipertensão, tal como evidenciamos nos resultados aqui apresentados.

Já no sistema respiratório o aumento da PIA limita a movimentação do peritônio, eleva a PIT, reduz a complacência e a capacidade funcional residual do pulmão e pode resultar em atelectasia, desequilíbrio da relação ventilação-perfusão, hipóxia e hipercapnia (HAYDEN e COWMAN, 2011). Scott et al. (1966) citado por Leme et al. (2002) relatam que a posição de Trendelenburg pode afetar a respiração de três maneiras: o peso visceral sobre o diafragma, que pode dificultar a excursão diafragmática; a elevação do diafragma acarretando diminuição do volume do pulmão; e a gravidade podendo alterar a circulação pulmonar. Todavia, a avaliação do sistema respiratório limitou-se à frequência respiratória e EtCO₂, sendo a elevação deste último parâmetro no grupo em decúbito lateral indicativa de hipercapnia, explicada anteriormente. Estudos mais específicos da dinâmica respiratória e hemogasometria

são necessários para determinar as alterações que esta técnica pode ocasionar sobre o sistema respiratório de animais.

O fibrinogênio é uma das proteínas de fase aguda produzidas pelo fígado. MEYER et al. (1995) relataram que valores elevados indicam a existência de um processo inflamatório. No presente trabalho, os níveis séricos de fibrinogênio plasmático apresentaram-se dentro dos valores de normalidade estabelecida por JAIN (1993) para a espécie ovina, não havendo diferença entre os grupos e entre os momentos avaliados ($p>0,05$), como observado na Tabela 4, corroborando com os resultados obtidos por MARIANO et al. (2014b) em ovelhas submetidas a videolaparoscopia.

Tabela 4: Valores médios da análise de fibrinogênio para avaliação do processo inflamatório e cicatricial durante os períodos pré operatório (0), pós operatório imediato (1), 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 e 16 dias pós cirúrgico nos grupos experimentais (FCAV *campus* de Jaboticabal – UNESP / 2015).

Momentos	Grupos Experimentais	
	GD	GL
0	0,2±0,1	0,2±0
1	0,2±0,1	0,3±0,1
2	0,4±0,1	0,4±0,1
3	0,2±0,1	0,3±0,1
4	0,4±0,1	0,3±0,1
5	0,3±0,1	0,3±0,1
6	0,3±0,1	0,3±0,1
7	0,3±0,1	0,3±0,1
8	0,2±0,1	0,3±0,1
9	0,3±0,1	0,3±0,1

FIB: Fibrinogênio

Todos os animais apresentaram recuperação anestésica satisfatória. Nenhum sinal de desconforto doloroso aparente foi verificado durante a monitoração pós anestésica e o escore médio para desconforto doloroso foi de $0,6\pm0,7$, não havendo necessidade de resgate analgésico em qualquer ovelha. Não foram observadas intercorrências até a alta clínica dos animais.

7. CONCLUSÃO

A técnica de aspiração folicular por acesso lateral apresenta-se como um procedimento viável e efetivo para a recuperação oocitária em ovelhas Santa Inês. Entretanto é importante comentar que este acesso acarreta alterações consideráveis no sistema cardiorrespiratório quando comparada ao procedimento convencional, fazendo com que sua aplicabilidade prática seja limitada. Pesquisas mais acuradas relacionados ao processo inflamatório, alterações respiratórias e decorrências clínicas desfavoráveis devem ser desenvolvidas no intuito de promover estudos aprofundados sobre as biotecnologias reprodutivas inovadoras, especificamente a abordagem laparoscópica, em ovinos.

8. REFERÊNCIAS

AISEN, EG. **Reprodução ovina e caprina**. São Paulo: MedVet, 2008.

ALLEN, P.D. Anesthesia for minimally invasive surgery. In: LOUGHLIN, K.R., BROOKS, D.C. **Principles of endosurgery**. Cambridge : Blackwell Science, 1996. v. 5, p.54-71.

ANUALPEC 2013: anuário estatístico da produção animal. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2013.

BALDASSARRE, H. Practical aspects for implementing in vitro embryo production and cloning programs in sheep and goats. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.9, n.3, p.188-194, 2012.

BASSO, A.C.; MARTINS, J.F.P.; FERREIRA, C.R.; ERENO, A.; TANNURA, J.; TABET, A.; FIGUEIREDO, C. L.; DE OLIVEIRA, P.C.; PONTES, J.H.F. Produção in vitro de Embriões Ovinos: Aspectos da Técnica de Aspiração Folicular e do Tratamento Hormonal de Doadoras. **O Embrião**, n. 38, p.8-11, 2008.

BRUN, M.V.; BECK, C. A. C. Aplicações clínicas e experimentais da laparoscopia em cães – Artigo de revisão. **Revista Faculdade Zootecnia Veterinária Agronomia**, Uruguaiana, v.5/6, n.1, p.5-11, 1998/99.

CAMPOS, F.G.C.M.; ROLL, S.; Complicações do acesso abdominal e do pneumoperitônio em cirurgia laparoscópica. Causas, prevenção e tratamento. **Revista Brasileira de Videocirurgia**, Rio de Janeiro, v. 1, n.1, p. 21-28, 2003.

CHANDRAKANTH, A.; TALAMINI, M.A. Current knowledge regarding the biology of pneumoperitoneum-based surgery. In: SOPER, N. J. Problems in general surgery. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. p.52-63.

CLARKE, K. W.; TRIM, C. M.; HALL, L. W. Veterinary anaesthesia. 11th ed. London: Elsevier, 2014. p. 135-137.

COELHO, J.C.U.; MARCHESINI, J.B.; WIEDERKEHR, J.C. Complicações gerais em videocirurgia. In: COELHO, J.C.U.; MARCHESINI, J.B.; MALAFAIA, O.

Complicações da videocirurgia, da profilaxia ao tratamento. Rio de Janeiro: Medsi, 1995. cap.4, p.27-47.

COHEN, R.V.; PINHEIRO FILHO, J.C.; SCHIAVON, C.A.; CORREA, J.L.L.; Alterações sistêmicas e metabólicas da cirurgia laparoscópica. **Revista Brasileira de Videocirurgia**, Rio de Janeiro, v. 1, n.2, p.77-81, 2003.

CORDEIRO, M.F. **Avaliação da laparoscopia na aspiração folicular em fêmeas caprinas pré-púberes e adultas com ou sem estimulação ovariana hormonal.** 2006. 59f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

CORDEIRO, M.F.; TEIXEIRA, P.P.M.; OLIVEIRA, M.E.F.; DI FILIPPO, P.A.; DIAS, D.P.M.; BERETTA, C.A.G.; DÓRIA, R.G.S.; FELICIANO, M.A.R.; COUTINHO, L.N.; VICENTE, W.R.R. Reproductive efficiency of adult and prepurbetal goats subjected to repeated folicular aspiration. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, Belo Horizonte, v.66, n.1, p. 137-144, 2014.

CROCOMO, L.F.; MARQUES FILHO, W.C.; LANDIM ALVARENGA, F.C.; BICUDO, S.D. Peculiaridades da coleta de oócitos para produção in vitro de embriões ovinos. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.36, n.1, p.25-31, 2012.

DEMINICIS, B.B.; LIMA, L.C.O.; ARAÚJO, S.A.C.; LUNGA, L.; BLUME, M.C. Avaliação de modelos simulados de sistemas de produção de cordeiros para abate em pequenas propriedades. **Pubvet**, Londrina, v.2, p.1-19, 2008.

EARL, C.R.; IRVINE, B.J.; KELLY, J.M.; ROWE, J.P.; ARMSTRONG, D.T. Ovarian stimulation protocols for oocyte collection and in vitro embryo production from 8 to 9 week old lambs. **Theriogenology**, Oxford, v. 43, p. 203-208, 1995.

FISCHER, A.T.Jr.; VACHON, A.M.; KLEIN,S.R. Laparoscopic inguinal herniorrhaphy in two stallions. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 207, n.12, p. 1599-601, 1995.

FITZGERALD, S.D.; ANDRUS, C.H.; BAUDENDISTEL, L.J.; DAHMS, T. G.; KAMINSKI, D. L. Hypercarbia during carbon dioxide pneumoperitoneum. **The American Journal of Surgery**, New York, v.163, n.1, p.186-190, 1992.

GILROY, B.A.; ANSON, L.W. Fatal air embolism during anesthesia for laparoscopy in a dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Chicago, v.190, n.5, p.552-554, 1987.

HARRINSON, R.M. The development of modern endoscopy. **Journal of Medical Primatology**, Copenhagen, v.5, n.2, p.73-81, 1976.

HAYDEN P.; COWMAN S. **Anaesthesia for laparoscopic surgery**. Continuing Education in Anesthesia critical care & pain. Oxford: Oxford University Press, 2011. p. 177-80.

HENDRICKSON, D.A.; WILSON, D.G. Instrumentation and techniques for laparoscopic and thoracoscopic surgery in the horse. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, Philadelphia, v.12, n.2, p.235-259, 1996.

HIRVONEN, E. A.; NUUTINEN, L. S.; KAUKO, M. Hemodynamic changes due to Trendelenburg positioning and pneumoperitoneum during laparoscopic hysterectomy. **Acta Anaesthesiologica Scandinavica**, Copenhagen, v. 39, p. 949–95, 1995.

HUANG, S.J.; LEE C.Y.; YEH, F.C.; CHANG, C.I.; Hypercarbia is not the determinant factor of systemic arterial hypertension during carhoperitoneum laparoscopy. **Acta Anaesthesiologica Sinica**, Taidei, v. 29, p. 592 -595, 1991.

IBGE. **Produção da Pecuária Municipal-2010**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia>>. Acesso em: dia mes ano

JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417p.

JORISJ, J.L.; NOIROT, D.P.; LEGRAND, M.I.; JACQUET, N.J; LAMY, M.L. Hemodinamic changes during laparoscopic cholecystectomy. **Anesthesia & Analgesia**, Baltimore, v. 76, p. 1067-71, 1993;.

KELMAN, G.R.; SWAPP, G.H.; SMITH, I.; RENZIC, R.J., GORDON, N.L.M. Cardiac output and arterial blood-gas tension during laparoscopy. **British Journal of Anaesthesia**, London, v. 44, p. 1155-1161, 1972.

KRAUT, J.K.; ANDERSON, J.T.; SAFWAT, A.; BARBOSA, R.; WOLFE, B.M. Impairment of cardiac performance by laparoscopy in patients receiving positive end expiratory pressure. **Archives of Surgery**, Chicago, v. 134, p. 76-80, 1999.

LEIBFRIED, L.; FIRST, N.L. Characterization of bovine follicular oocytes and their ability to mature in vitro. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 48, p. 76-86, 1979.

LEIGHTON, T.A.; LIU, S.Y.; BONGARD, F.S. Comparative cardiopulmonary effects of carbon dioxide versus helium pneumoperitoneum. **Archives of Surgery**, Chicago, v.113, n.5, p.527- 531, 1993.

LEME, M. C. L.; NATALINI, C. C.; BECK, C. A. de C.; BRUN, M. V.; CONTESINI, E. A.; LIMA, de A.; STEDILE, R. Pneumoperitônio com dióxido de carbono associado a três posições para laparoscopia em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 2, p.281-287, 2002 .

LENZ, R.J.; THOMAS, T.A.; WILKINS, D.G. Cardiovascular changes during laparoscopy. **Anaesthesia & Analgesia**, Baltimore, v. 31, p. 4-12, 1976.

MARIANO, R.S.G. USCATEGUI, R.A.R.; TEIXEIRA, P.P.M.; BONATO, D.V.; VICENTE, W.R.R. Curva de aprendizado da técnica de aspiração folicular por acesso lateral em ovelhas Santa Inês In: 2º CONGRESSO DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS, 2., 2014, Gurapuava. **Anais eletrônico...** Disponível em: <<http://eventos.unicentro.br/conseaa2014/index.php?menu=10> > Acesso em: 4 fev. 2015

MARIANO, R.S.G; TEIXEIRA, P.P.M; PADILHA, L.C.; CONCEIÇÃO, M.B.A.M; SILVA, A.S.L.; BARROS, F.F.C.; COUTINHO, L.N; MEDEIROS, R.M.; COELHO, C.M.; VICENTE, W.R.R.; SILVA, M.M. Evaluation of serum fibrinogen in prepubertal sheep undergoing laparoscopic Follicular Aspiration. **Reproduction Domestic Animals**, Berlin, v. 49, n. 102, 2014.b

MARSHALL R. I; JEBSON P.J.R.; DAVIE I.T; SCOTT D. B. Circulatory effects of carbon dioxide thP peritoneal cavity for laparoscopy. **British Journal of Anaesthesia**, London, v. 44, p. 680-684, 1972.

MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. **Medicina de laboratorio veterinária: interpretação e diagnóstico**. São Paulo: Roca, 1995. p. 47-61.

MOTEW M.; IVANKOVICH A. D.; BIENIARZ, J.; ALBRECHT R. E; ZAHED, B.; SCOINMEGNA A. Cardiovascular effects and acid-base and blood gas changes during laparoscopy. **American Journal of Obstetrics & Gynaecology**, Bristol, v. 115, p.1002-1012, 1973

MULLETT, C.E.; VIALE, J.P.; SAGNARD, P.E.; MIELLET, C.C.; RUYNAT, L.G.; COUNIOUX, H.C.; MOTIN, J.P.; BOULEZ, J.P.; DARGENT, D.M.; ANNAT, G. J. Pulmonary CO2 elimination during surgical procedures using intra or extraperitoneal CO2 insufflation. **Anaesthesia & Analgesia**, Baltimore, v. 76; p. 622-626, 1993.

O'LEARY E.; HUBBARD, K.; TORMEY, W.; CUNNINGHAM, A.J. Laparoscopic cholecystectomy: hemodynamic and neuroendocrine responses after pneumoperitoneum and changes in position. **British Journal of Anaesthesia**, London, v.77, p. 640-644, 1996.

PUNNONRN, R.; VIINANI AKI, O. Vasopressin release during laparoscopy: Role of increased intra-abdominal pressure. *The Lancet*, London, v.1, p. 175-176, 1982.

RADEMAKER, B.M.; BANNENBERG, J.J.; KALKMAN, C.J.; MEYER, D.W. Effects of pneumoperitoneum with helium on hemodynamics and oxygen transport: a comparison with carbon dioxide. **Journal of Laparoendoscopic & Advanced Surgical Techniques**, Larchmont, v. 5, p.15-20, 1995.

RASMUSSEN, J. P.; DAUCHOT, P.J.; DePALMA, R.G.; SORENSEN, B.; REGULA, G.; ANTON, A. H.; GRAVENSTEIN, J.S. Cardiac function and hypercarbia. **Archive Surgery**, Chicago, v.113, p.1196-2000, 1978.

REBUGLIO, R.; REBUGLIO, G. M.; REBUGLIO, R. M. Anestesia para cirurgias videolaparoscópicas de grande porte. In: CAVALCANTI, I. L.; CANTINHO, F. A. F.; ASSAD, A. **Medicina perioperatória**. Rio de Janeiro: SAERJ, 2004. p. 825-829.

REMEDIOS, A.M.; FERGUSON, J. Minimally invasive surgery: laparoscopic and thoracoscopy in small animals. **Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian**, Toronto, v.18, n.11, p.1191-1199, 1996.

SAFRAN, D. B; ORLANDO, R. Physiologic effect of pneumoperitoneum. **The American Journal of Surgery**, New York, v.167, p. 281-286, 1994.

SCHAUER, P.R. Physiologic consequences of laparoscopic surgery. In: EUBANKS, W.S; SWANSTROM, L. L.; SOPER, N. J. **Mastery of laparoscopic surgery**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p 22-38.

SCOTT, D.B.; SLAWSON, K.B. Respiratory effects of prolonged Trendelenburg position. **British Journal of Anaesthesia**, London, v.40, p.103-106, 1968.

SENEDA, M. M. ; RUBIN, K. C. P; BLASCHI, W; LISBOA, L . A; PONTES, J H F. Utilização de uma bomba de infusão contínua como geradora de vácuo para a aspiração folicular transvaginal guiada pela ultra-sonografia. **Revista de Educação Continuada do CRMV**, São Paulo, v. 8, n. 2, p. 168-175, 2005.

SHARMA, K.C.; BRANDSTETTER, R.D.; BRENSILVER, J.M. Cardiopulmonary physiology and pathophysiology as a consequence of laparoscopic surgery. **The Chest**, Chicago, p.110: 810-815, 1996.

SNYDER, D. A.; DUKELOW, R. Laparoscopic studies of ovulation, pregnancy diagnosis and follicle aspiration in sheep. **Theriogenology**, Oxford, v. 2, p.143-148, 1974.

SOUZA-FABJAN, J. M. G.; LOCATELLI, Y.; DUFFARD, N.; CORBIN, E.; TOUZÉ J-L; BECKERS, T. C. P.; FREITAS, V. J. F.; MERMILLOD, P. In vitro embryo production in goats: Slaughterhouse and laparoscopic ovum pick up–derived oocytes have different kinetics and requirements regarding maturation media. **Theriogenology**, Oxford, v.81, p. 1021-1031, 2014.

STANGL, M.; KÜHHOLZER, B.; BESENFELDER, U.; BREM, G. Repeated endoscopic ovum pick-up in sheep. **Theriogenology**, Oxford, v52, p.709-716, 1999.

STEUER, K. Pneumoperitoneum; physiology and nursing interventions. Association of perioperative registered nurses, **Denver**, New York, v.68, n.3, p.412-425, 1998.

STRUTHERS, A.D.; CUSCHIERI, A. Cardiovascular consequences of laparoscopic surgery. **The Lancet**, London, v.15, p.568-70, 1998.

TEIXEIRA, P. P. M.; PADILHA, L. C.; MARIANO, R. S.; COUTINHO, L. N.; BARROS, F. F. P. C.; SILVA, M. A. M.; SILVA, A. S. L. Aspiração Folicular. In: OLIVEIRA, M. E. F.; TEIXEIRA, P. P. M.; VICENTE, W. R.R. **Biotécnicas reprodutivas em ovinos e caprinos**. São Paulo: Editora MedVet, 2013.

TEIXEIRA, P.P.M.; PADILLHA, L.C.; OLIVEIRA, M.E.F.; MOTHEO, T.F.; DA SILVA, A.S.L.; BARROS, F.F.P.C.; COUTINHO, L.N.; FLÔRES, F.N.; LOPES, M.C.S.; BANDARRA, M.B.; SILVA, M.A.M.; VASCONCELOS, R.O.; RODRIGUES, L.F.S.; VICENTE, W.R.R. Laparoscopic ovum collection in sheep: Gross and microscopic evaluation of the ovary and influence on oocyte production. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 127, p. 169– 175, 2011.

THIBIER, M. Stabilization of numbers of in vivo collected embryos in cattle but significant increases of in vitro bovine produced embryos in some parts of the world: a report from the IETS data retrieval committee. **Embryo Transfer Newsletter**, LaPorte, p.12-19, 2004.

THRALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. p.592, 2007.

USCATEGUI, R.; GOMES MARIANO R. S.; PERECIN NOCITI, R.; BARROS, F. F. P. C.; PADILHA, L. C.; NAKAGHI, L.; NASSAR COUTINHO, L.; CORREIA SANTOS, V. J. Side access LOPU in sheep-pilot study. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v.49, p.90-90, 2014.

USÓN GARGALLO, J. S. M. F. M.; SÓRIA GÁLVEZ, F. **Técnicas laparoscópicas en aparato genital de la hembra**. Málaga: AEVEDI, 2003.

WANI, N.A. In vitro maturation and in vitro fertilization of sheep oocytes. **Small Ruminants Research**, Amsterdam, v.44, n.2, p.89-95, 2002.

Apêndice 1

Parâmetros	Valores
Aparência	
Alerta, interesse pelo ambiente, come, calmo	0
Alerta, desinteresse pelo ambiente, não come	1
Cabisbaixa, orelhas caídas, letargia, ranger de dentes, relutância em se movimentar	2
Letargia acentuada, excitado ou agitada, ranger de dentes, olhar fixo, orelhas caídas	3
Postura	
Deitada ou em estação, aparência relaxada, tranquila	0
Deitada ou em estação, mas em constante troca de posição, inquieta e letárgica	1
Marcha	
Deambulação normal	0
Postura em cifose e andar lento	1
Postura em cifose relutância em movimentação	2
Postura em cifose sem movimentação	3
Palpação da ferida cirúrgica	
Não responde	0
Resposta leve (ligeira retirada ou virada da cabeça)	1
Resposta moderada (rápida retirada)	2
Resposta acentuada (retirada brusca, tentativa de fuga)	3
Pontuação total	10

