

**JOSALMIR JOSÉ MELO DO AMARAL**

Análise do comportamento de conduto valvado de pericárdio  
bovino tratado pelo glutaraldeído, implantado em posição  
aórtica de ovinos

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo para obtenção do título de  
Doutor em Ciências

Área de Concentração: Cirurgia Torácica e  
Cardiovascular

Orientador: Prof. Dr. Pablo Maria Alberto Pomerantzeff

**SÃO PAULO**

**2009**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Amaral, Josalmir José Melo do

Análise do comportamento de conduto valvado de pericárdio bovino tratado pelo glutaraldeído, implantado em posição aórtica em ovinos / Josalmir José Melo do Amaral. -- São Paulo, 2009.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.  
Departamento de Cardio-Pneumologia.

Área de concentração: Cirurgia Torácica e Cardiovascular.

Orientador: Pablo Maria Alberto Pomerantzeff.

Descritores: 1.Valva aórtica 2.Conduto valvado 3.Próteses valvulares cardíacas 4. Aorta/cirurgia 5.Modelos animais 6.Ovinos

USP/FM/SBD-403/09

## DEDICATÓRIA

---

*A Deus, pela possibilidade de nossa existência e fonte de toda  
sabedoria.*

*À minha esposa Jane, às minhas filhas Beatriz e Patrícia.*

*Em memória, aos meus pais Almira e José e ao meu filho Alexandre.*

## AGRADECIMENTO ESPECIAL

---

*Ao Professor Doutor Pablo Maria Alberto Pomerantzeff,  
meu orientador, pela fraternidade com que me acolheu, a  
dedicação incansável e orientação segura, enriquecendo minha  
formação acadêmica.*

## AGRADECIMENTOS

---

*Ao Professor Doutor Noedir Antônio Groppo Stolf, pela acolhida e incentivo permanente.*

*Ao Professor Doutor Luiz Felipe Pinho Moreira e ao Dr. Carlos Manuel de Almeida Brandão pelo apoio e sugestões na elaboração desta tese.*

*Ao Doutor Ivan Sergio Joviano Casagrande e a toda Equipe do Centro de Pesquisa do Labcor Laboratórios Ltda., pela amizade, incentivo e colaboração na realização dos experimentos.*

*À Doutora Idagene Aparecida Cestari pelo incentivo e apoio na realização dos estudos hidrodinâmicos e a toda equipe do Laboratório de Bioengenharia do Incor/HCFMUSP.*

*À Professora Doutora Maria de Lourdes Higuichi pela valiosa colaboração na realização dos estudos de microscopia eletrônica.*

*Aos Professores Doutores Eduardo Alves Bambirra e Paulo Sampaio Gutierrez pela imensa contribuição na realização de estudos histológicos com microscopia óptica.*

*À Esteticista Creuza Dal Bó, pela análise estatística.*

*Aos Doutores André Nunes de Aquino, Anilton Bezerra Junior, Francisco Ângelo Queiroz Chaves, Jefferson Cavalcanti Chaves, Marcelo Matos Cascuão, Marcos Antonio Ferreira Lima e Waldo Emerson Pinheiro Daniel, que incentivaram e colaboraram de forma decisiva, durante todo o período de elaboração dessa tese.*

*Ao Professor Doutor Aldo Medeiros da Cunha, pelo incentivo e em nome da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.*

*Ao Doutores Lauro Arruda Câmara, Marcos Dias Leão e Nelson Solano do Vale, em nome do Hospital do Coração de Natal.*

*Aos Doutores Carlos Heitor Passerino e Sergio Figueiredo Campos Christo pela grande ajuda na realização dos experimentos em animais.*

*Aos Doutores Maurílio Onofre Deininger e Ozanan Amorim Leite Filho pela colaboração na realização dos estudos hidrodinâmicos.*

*As Senhoras Adriana Moreira de Quadros, Eva Malheiros G.  
de Oliveira, Juliana Lattari Sobrinho, Neusa Rodrigues Dini e  
Sonia Regina de Souza que contribuíram de maneira importante  
para realização deste trabalho.*

*Aos Bibliotecários Italo Medeiros, Márcia Arruda e  
Marinalva de Souza Aragão pela ajuda inestimável na pesquisa  
bibliográfica.*

## SUMÁRIO

### LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

### LISTA DE SÍMBOLOS

### LISTA DE TABELAS

### LISTA DE FIGURAS

### LISTA DE GRÁFICOS

### RESUMO

### ABSTRACT

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>6</b>
<b>3. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>8</b>
<b>4. MÉTODOS.....</b>	<b>23</b>
4.1 Seleção da amostra.....	24
4.1.1. Preparo das próteses.....	26
4.1.2. Teste do CVAP no simulador cardíaco – ensaio hidrodinâmico	30
4.1.2.1. Descrição do simulador cardíaco.....	30
4.1.2.2. Condições do ensaio hidrodinâmico.....	34
4.1.2.2.1. Instrumental utilizado.....	34
4.1.2.2.2. Dados planilhados – Condições do ensaio.....	34
4.1.3. Preparo dos animais de experimentação.....	35
4.1.4. Implante em animais.....	36
4.1.4.1. Técnica operatória.....	36
4.1.4.2. Cuidados pós-operatórios.....	42
4.1.4.3. Avaliação ecodopplercardiográfica.....	43
4.1.4.4. Avaliação angiográfica e hemodinâmica.....	44
4.2. Sacrifício dos animais e explante das próteses.....	45
4.2.1. Avaliação macroscópica.....	45
4.2.2. Avaliação radiológica.....	46
4.2.3. Avaliação histológica.....	46



4.2.3.1. Microscopia óptica.....	47
4.2.3.2. Microscopia eletrônica de transmissão.....	47
4.3. Análise estatística dos dados.....	48
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>50</b>
5.1. Análise do ensaio hidrodinâmico.....	51
5.2. Análise ecodopplercardiográfica.....	55
5.2.1. Análise ecodopplercardiográfica entre o Grupo Controle e Grupo teste.....	55
5.2.2. Análise ecodopplercardiográfica do Grupo Teste com 30 e 150 dias após implante.....	58
5.3. Análise angiográfica e hemodinâmica.....	61
5.3.1. Resultados hemodinâmicos.....	62
5.4. Avaliação macroscópica.....	64
5.5. Análise dos achados radiológicos.....	67
5.6. Análise histológica.....	68
5.6.1. Aspectos da microscopia óptica.....	68
5.6.2. Aspectos da microscopia eletrônica de transmissão.....	71
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>77</b>
<b>7. CONCLUSÕES.....</b>	<b>87</b>
<b>8. ANEXOS.....</b>	<b>89</b>
<b>9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>103</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>AHA</b>	American Heart Association
<b>Ao</b>	Aorta
<b>Ap</b>	Artéria pulmonar
<b>AV</b>	Área valvar aórtica
<b>CEC</b>	Circulação extracorpórea
<b>CVAP</b>	Conduto valvado de pericárdio bovino
<b>DAV InCor</b>	Dispositivo de assistência ventricular do InCor-HC/FMUSP
<b>DC</b>	Débito cardíaco
<b>DDVE</b>	Diâmetro do ventrículo esquerdo em diástole
<b>DN</b>	Data do nascimento
<b>DSVE</b>	Diâmetro do ventrículo esquerdo em sístole
<b>Eco</b>	Ecocardiograma transtorácico
<b>Eco 1</b>	Ecocardiograma aos 30 dias de pós-operatório
<b>Eco 2</b>	Ecocardiograma aos 150 dias de pós-operatório
<b>Eco C</b>	Ecocardiograma dos animais não-operados
<b>Esp. pp</b>	Espessura da parede posterior do ventrículo esquerdo
<b>Esp. Sep</b>	Espessura do septo interventricular
<b>EUA</b>	Estados Unidos da América
<b>EV</b>	Endovenoso
<b>FE</b>	Fração de ejeção
<b>FiO<sub>2</sub></b>	Fração inspirada de oxigênio
<b>GA</b>	Glutaraldeído
<b>Grad. Máx.</b>	Gradiente máximo entre o ventrículo esquerdo e a aorta
<b>Grad. Méd.</b>	Gradiente médio entre o ventrículo esquerdo e a aorta

<b>Hb</b>	Hemoglobina
<b>Ht</b>	Hematócrito
<b>IM</b>	Intramuscular
<b>ISO</b>	International Standard Organization
<b>MET</b>	Microscopia Eletrônica de Transmissão
<b>min</b>	Minuto
<b>MO</b>	Microscopia óptica
<b>N/A</b>	Não-avaliado
<b>PAM</b>	Pressão arterial média
<b>PAP</b>	Pressão arterial pulmonar
<b>PCP</b>	Pressão capilar pulmonar
<b>pH</b>	Potencial de hidrogênio
<b>PO</b>	Pós-operatório
<b>PVC</b>	Pressão venosa central
<b>TCEC</b>	Tempo de circulação extracorpórea
<b>Timplante</b>	Tempo de implante
<b>VD</b>	Ventrículo direito
<b>VE</b>	Ventrículo esquerdo

## LISTA DE SÍMBOLOS

<b>%</b>	Percentual
<b>&lt;</b>	Menor que
<b>=</b>	Igual
<b>&gt;</b>	Maior que
<b>°C</b>	Grau Celsius
<b>µm</b>	Micrômetro
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de carbono
<b>Fr</b>	French
<b>g</b>	Gramma
<b>J</b>	Joules
<b>Kg</b>	Quilograma
<b>Kg-1</b>	Por quilograma de peso corpóreo
<b>L</b>	Litro
<b>mEq</b>	Miliequivalente
<b>mg</b>	Miligrama
<b>ml</b>	Mililitro
<b>mm</b>	Milímetro
<b>mmHg</b>	Milímetro de mercúrio
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxigênio
<b>UI</b>	Unidade Internacional

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Valores descritivos das variáveis do ECO (Grupo Controle X Grupo Teste).....	56
Tabela 2.	Valores descritivos das variáveis do Eco (momentos 30 e 150 dias).....	59
Tabela 3.	Valores descritivos dos valores hemodinâmicos nos momentos 0 e 150 dias de estudo.....	62
Tabela 4.	Frequências absolutas e relativas do grau de trombo, perfuração e calcificação nos locais avaliados.....	65
Tabela 5.	Valores descritivos do percentual de área, segundo o local..	71

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Visão horizontal do CVAP.....	28
Figura 2.	Visão interna do CVAP.....	28
Figura 3.	Visão vertical do CVAP.....	29
Figura 4.	Introdução do CVAP no dispositivo de fixação do DAV-Incor.....	32
Figura 5.	CVAP já suturado no dispositivo de fixação do DAV-Incor....	32
Figura 6.	CVAP pronto para instalação no DAV-Incor.....	33
Figura 7.	Visão geral do DAV-Incor com o CVAP posicionado.....	33
Figura 8.	Seqüência da troca da aorta ascendente e valva aórtica pelo CVAP.....	40
Figura 9.	Aspecto final da cirurgia.....	41
Figura 10.	Ilustração demonstrando como foi feita a planimetria por contagem de pontos.....	48
Figura 11.	Tela de monitorização durante o ensaio.....	53
Figura 12.	Um dos CVAPs avaliados no estudo hidrodinâmico foi mantido por 60 dias funcionando no DAV-Incor. Após a sua retirada observamos o aspecto abaulado na região dos seios de valsalva.....	53
Figura 13.	Foto do CVAP no duplicador de pulso durante a sistóle. Observa-se um ampla abertura da valva.....	54
Figura 14.	Foto do CVAP no duplicador de pulso durante a diástole. Observa-se o total fechamento da valva.....	54
Figura 15.	CVAP explantado aos 150 dias de pós-operatório. Folhetos com espessura e mobilidade preservadas. Presença de calcificação na região comissural e na base do folheto.....	66

Figura 16. CVAP explantado aos 150 dias de pós-operatório, mostrando vegetação, trombos, calcificação e rasgo comissural (Caso 7 – endocardite).....	66
Figura 17. Mamografias dos Casos 5, 6 e 4. Presença de calcificação nas linhas de sutura e na base dos folhetos.....	67
Figura 18. Fotos da microscopia óptica (coloração pela Hematoxilina-Eosina) mostrando boa conservação dos feixes colagênicos na cúspide.....	69
Figura 19. Corte histológico do CVAP. O colágeno, corado em azul, constitui praticamente todo o tecido, estando bem preservado (Coloração pelo tricrômio de Masson, aumento da objetiva 10x).....	69
Figura 20. Corte histológico da prótese. O colágeno, corado em alaranjado, constitui praticamente todo o tecido, estando bem preservado (Coloração pelo picro sirius, aumento da objetiva 10x).....	70
Figura 21. Corte histológico da prótese. O colágeno, corado em alaranjado, constitui praticamente todo o tecido, estando bem preservado (Coloração pelo picro sirius com observação sob fluorescência, aumento da objetiva 10x).....	70
Figura 22. Aspecto ultraestrutural, revelado à microscopia eletrônica de transmissão, representativo da região do seio do CVAP, exibindo moderada quantidade de espaços claros entre os densos feixes de colágeno, sem núcleo de permeio representativo na foto (barra representa 2µm).....	74
Figura 23. Aspecto ultraestrutural, revelado à microscopia eletrônica de transmissão, representativo da região da cúspide da prótese (CVAP), exibindo poucos espaços claros entre os densos feixes de colágeno, sem núcleo de permeio representativo na foto. (barra representa 2µm).....	75

Figura 24. Aspecto ultraestrutural, revelado à microscopia eletrônica de transmissão, representativo da região distal da prótese (CVAP), exibindo grandes espaços claros entre os feixes de colágeno e núcleos de células (setas), possivelmente de fibroblasto de permeio (barra representa 2 $\mu$ m)..... 76



## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Medida de diferença de pressão transvalvar entre os CVAPs e uma bioprótese convencional com suporte.....	52
Gráfico 2. Comparativo entre Grupo Controle e Grupo Teste em relação ao diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo.....	57
Gráfico 3. Comparativo entre Grupo Controle e Grupo Teste em relação ao diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo.....	57
Gráfico 4. Comparativo entre 30 e 150 dias de pós-operatório em relação ao gradiente transvalvar aórtico médio.....	60
Gráfico 5. Comparativo entre 30 e 150 dias de pós-operatório em relação ao gradiente transvalvar aórtico máximo.....	61
Gráfico 6. Comparativo da pressão capilar pulmonar entre os dias 0 e 150 de pós-operatório.....	63
Gráfico 7. Comparativo da pressão arterial pulmonar entre os dias 0 e 150 de pós-operatório.....	63
Gráfico 8. Percentual de área segundo o local (A – Seios, B – Cúspides e C – CVAP distal).....	73

## RESUMO

**Amaral, JJM.** Análise do comportamento de conduto valvado de pericárdio bovino tratado em glutaraldeído, implantado em posição aórtica de ovinos. São Paulo, 2009. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

A necessidade de cirurgia para substituição da aorta ascendente e valva aórtica com reimplante coronariano em grupos especiais de pacientes onde a anticoagulação é indesejável, como nos idosos, é crescente nos últimos anos. Este estudo objetiva desenvolver e avaliar em modelo animal o comportamento de um conduto valvado aórtico feito com pericárdio bovino tratado pelo glutaraldeído (CVAP). Para tanto, CVAPs foram implantados em 8 ovinos jovens e explantados após serem sacrificados com 150 dias de pós-operatório. Realizou-se estudo angiográfico e hemodinâmico no pré-operatório e antes do explante. Ecodopplercardiogramas foram realizados nos dias 30 e 150 de pós-operatório (teste) e também em 5 ovinos não operados (controle). Após explantados, submetemos os CVAPs à avaliação macroscópica, radiológica e histológica por microscopia óptica e eletrônica de transmissão. A análise estatística foi feita com teste não-paramétrico de Mann-Whitney, teste não-paramétrico de Wilcoxon e teste exato de Fisher. O nível de significância utilizado foi 5%. Na análise hemodinâmica houve acréscimo ( $p > 0,05$ ) das pressões arterial e capilar pulmonar entre os dias 0 e 150. Na análise ecodopplercardiográfica, o grupo teste apresentou valores maiores ( $p > 0,05$ ) dos diâmetros diastólicos e sistólicos do ventrículo esquerdo. No grupo teste entre os dias 30 e 150 houve acréscimo ( $p > 0,05$ ) de: peso, espessura das paredes do ventrículo esquerdo, gradiente transvalvar máximo, gradiente transvalvar médio, diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo e decréscimo da fração de ejeção. Dois animais com endocardite podem explicar essas diferenças. A macroscopia demonstrou calcificação de grau variável, além de abaulamento na região dos seios em todos os CVAPs, sem aumento de diâmetro. A microscopia óptica revelou

dados similares ao da literatura com o uso do pericárdio bovino tratado pelo glutaraldeído. A quantificação realizada com a microscopia eletrônica de transmissão mostrou percentual maior ( $p > 0,05$ ) de colágeno nos seios e nas cúspides e maior conteúdo hídrico na porção mais distal do CVAP. Estes dados indicam que a bioprótese aqui estudada permite a realização desse tipo de experimento no modelo proposto e que os resultados hemodinâmicos encontrados se assemelham aos parâmetros fisiológicos.

Descritores: Valva aórtica, Conduto valvado, Próteses valvulares cardíaca, Aorta/cirurgia, Modelos animais, Ovinos.

## SUMMARY

**Amaral JJM.** Performance analysis of the glutaraldehyde treated bovine pericardium valved conduit, implanted in the aortic position in ovines. São Paulo, 2009. Thesis (Doctorate) – Medical School, University of São Paulo.

The need for replacement surgery of the ascending aorta and aortic valve with coronary reimplantation in special patient groups where anti-coagulation is undesirable, such as elderly, is increasing in the past years. This study aims to develop and evaluate the performance of an aortic valved conduit made with glutaraldehyde treated bovine pericardium (AVCP) in an animal model. Therefore, AVCPs were implanted in 8 young ovine and explanted after being euthanized at 150 days of the post-operative period. An angiographic and hemodynamic study was performed at pre-operative and prior the explant. EchoDopercardiograms were performed at day 30 and 150 of post-operative (test) as well as in 5 non-operated on ovines (control). Following the explant, AVCPs were submitted to a macroscopical, radiological and histological evaluation by optic and electronic transmission microscopy. A statistics analysis was performed with a Mann-Whitney's non-parametric test, Wilcoxon's non-parametric test and Fisher's exact test. The significance level used was 5%. In the hemodynamic analysis an increase ( $p>0,05$ ) of arterial and pulmonary capillary pressure occurred between day 0 and 150. In the echoDopercardiographic analysis, the test group presented higher values ( $p>0,05$ ) in the diastolic and systolic diameters of the left ventricle. In the test group, between day 30 and 150, occurred an increase ( $p>0,05$ ) of weight, thickness of the left ventricle walls, maximum transvalvar gradient, medium transvalvar gradient, left ventricle diastolic diameter and a decrease in the ejection function. Two animals with endocarditis could explain those differences. Macroscopy showed a calcification in variable degrees besides a bulging of the sinus region in all AVCPs, without an increase of diameter. Optic microscopy revealed data similar to literature with

the use of glutaraldehyde treated bovine pericardium. The quantification performed by electronic transmission microscopy showed a higher percentage ( $p > 0,05$ ) of collagen in sinus and cusps, and a higher watery content in the most distal portion of the AVCP. These data indicate that the bioprosthesis hereby studied allows the performance of this kind of experiment in the proposed model and that the hemodynamic outcomes found are similar to physiological parameters.

Descriptors: Aortic valve, Valved conduit, Cardiac valves prosthesis, Aorta/surgery, Animals models, Ovines.

# **1 INTRODUÇÃO**

---

## 1. INTRODUÇÃO

Desde a primeira descrição de Bentall e De Bono em 1968<sup>1</sup>, a técnica para troca combinada da valva, raiz aórtica e aorta ascendente por um conduto valvado tem se desenvolvido e se transformado em excelente opção de tratamento para pacientes com ectasia ânuloaórtica, bem como para aqueles com dissecção aguda ou crônica da aorta que apresentem dilatação do anel aórtico com consequente incompetência valvar. As anastomoses dos óstios coronarianos, diretamente no conduto ou através de um outro tubo, não têm sido obstáculo técnico. Originalmente têm sido utilizados condutos arteriais sintéticos acoplados a uma prótese valvular mecânica. Apesar desta operação proporcionar bom resultado em longo prazo e boa durabilidade do reparo, ela expõe os pacientes ao risco de complicações relacionadas à prótese e à anticoagulação, como trombose e sangramento. São relatadas taxas de 10,3% pacientes/ano de eventos tromboembólicos após a utilização eletiva deste tipo de conduto<sup>2</sup>. Por este motivo, autores como David<sup>3</sup> e Yacoub<sup>4</sup> desenvolveram técnicas onde se conserva a valva aórtica nativa e utiliza-se apenas o conduto arterial e, dependendo da técnica, se reimplantam os óstios coronarianos. Estas

técnicas nem sempre podem ser aplicadas e exigem uma natural curva de aprendizado mesmo para os cirurgiões mais experientes. Outras possibilidades têm sido desenvolvidas para evitar os inconvenientes da anticoagulação sistemática das próteses mecânicas, como a utilização dos homoenxertos aórticos ou autoenxertos (Cirurgia de Ross)<sup>5,6</sup>, que apresentam excelente performance hemodinâmica e consistentes resultados em longo prazo, mas esbarram na limitada disponibilidade dos homoenxertos e, conseqüentemente, na menor aplicabilidade clínica. Por este motivo outros autores desenvolveram condutos vasculares feitos de tecidos sintéticos associados a próteses valvares biológicas com suporte<sup>7,8</sup>.

Surgiu, com o advento das próteses valvares sem suporte<sup>9</sup>, a possibilidade de se usar um conduto aórtico valvado feito totalmente com heteroenxerto sem suporte, na tentativa de se obter os bons resultados dos homoenxertos sem a dificuldade de obtenção do tecido humano. Esses condutos valvados utilizam uma prótese valvar aórtica porcina sem suporte tratada pelo glutaraldeído associada a um enxerto vascular feito com pericárdio bovino preservado pelo glutaraldeído<sup>10,11</sup>.

Diversos autores têm publicado estudos comparativos tanto “in vitro” como “in vivo” entre próteses valvares porcinas e de pericárdio bovino. Em 1992, Liao e al.<sup>12</sup> publicaram estudo experimental comparando o pericárdio bovino e a válvula aórtica porcina tratados pelo glutaraldeído a 0,625%, onde avaliaram teor de colágeno, conteúdo hídrico e calcificação. Concluíram que o pericárdio bovino, apesar de apresentar calcificação semelhante à válvula aórtica porcina, mantém a quantidade de colágeno



praticamente inalterada após 90 dias de implante no subcutâneo em ratos, diferentemente da válvula aórtica porcina, que apresenta perda substancial do seu teor de colágeno. Posteriormente, Vesely e Mako<sup>13</sup>, também em estudo experimental, comprovaram a resistência superior do pericárdio bovino em relação aos movimentos de torção e curvatura a que são submetidos os folhetos de uma bioprótese, quando comparados com a válvula aórtica porcina. Xu et al.<sup>14</sup>, em 2001, publicaram os resultados de um estudo clínico onde compararam as características hemodinâmicas de biopróteses sem suporte, concluindo que o pericárdio bovino oferece melhor adaptação à dinâmica do anel aórtico nativo e possui desempenho hemodinâmico mais eficiente que a válvula porcina imediatamente após o implante. Em 2004, Gao et al.<sup>15</sup>, após realização de um estudo retrospectivo de 10 anos em humanos, compararam os resultados de pacientes que receberam biopróteses de pericárdio bovino ou de válvula aórtica porcina tratadas pelo glutaraldeído e concluíram que o pericárdio bovino oferece melhor resultado em médio prazo (10 anos) com menor índice de falha estrutural e de reoperação. Na mesma época, Mavrilas et al.<sup>16</sup>, comparando experimentalmente tanto “in vitro” como “in vivo” o comportamento desses dois tecidos biológicos, ambos tratados pelo glutaraldeído, verificaram menor deposição de cálcio no pericárdio bovino. Mais recentemente (2008), pesquisadores da Universidade de Pádua, Itália<sup>17</sup>, realizaram estudo comparativo “in vitro”, em duplicador de pulso, entre biopróteses confeccionadas com pericárdio bovino em relação àquelas feitas da válvula

aórtica porcina, concluindo pela superioridade das características hidrodinâmicas das biopróteses de pericárdio bovino.

Com base no exposto, formulou-se a hipótese da confecção e utilização de um conduto valvulado feito de pericárdio bovino tratado em glutaraldeído, tanto o tubo como a valva. A valva é composta de três folhetos separados, suturada no tubo, sem suporte de sustentação intrínseco a ela.

O conduto valvulado aórtico de pericárdio bovino objeto deste estudo passará a ser denominado CVAP.

**2 OBJETIVOS**

---

## **2. OBJETIVOS**

- 2.1. Desenvolver um conduto valvado de pericárdio bovino (CVAP) para substituição da valva aórtica e aorta ascendente.
  
- 2.2. Avaliar em modelo animal (ovinos) o comportamento deste conduto valvado.

## **3 REVISÃO DA LITERATURA**

---

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

A busca do conhecimento para compreensão do perfeito funcionamento da anatomia do aparelho valvar aórtico data de épocas remotas. Parte dos estudos de Leonardo da Vinci realizados entre 1508 e 1513 que se encontram arquivados na “The Royal Collection© Her Majesty Queen Elizabeth II”, demonstram claramente que já naquela época ele não só descreveu com detalhes a anatomia, mas foi capaz de demonstrar e detalhar, em modelo “in vitro”, os fenômenos hidrodinâmicos que ocorrem durante o ciclo cardíaco, envolvendo o anel e a valva aórtica, os seios de Valsalva e junção sinotubular. Gharib et cols.<sup>18</sup> compararam os resultados dos estudos de Leonardo aos resultados de experimentos atuais feitos com imagens de ressonância magnética para visualização de fluxo e encontraram uma incrível semelhança entre eles, concluindo que da Vinci, usando seu simples modelo para simular a dinâmica do fluxo na raiz da aorta, conduziu a primeira visualização de fluxo da história da ciência.

Em 1910, Carrel<sup>19</sup> publicou seus estudos experimentais para abordagem cirúrgica da aorta, descreveu em detalhes os cuidados de assepsia, a utilização de sistemas de pressão positiva ou negativa para

prevenir e tratar o pneumotórax, suturas vasculares, o uso de retalhos retirados de veias ou do peritônio, a conservação dos tecidos pelo frio, além das tentativas de encontrar novos métodos de tratar os aneurismas da aorta e as doenças das valvas cardíacas.

Um grande numero de enfermidades cardiovasculares, congênitas ou adquiridas, necessitam de substituição das valvas cardíacas isoladas ou associadas com interposição de condutos arteriais. Até a presente data não se dispõe de um substituto valvar ideal.

Em 1967, Harken e Curtis<sup>20</sup> descreveram as características da prótese valvar ideal como sendo as seguintes: não causar resposta inflamatória e/ou resposta tipo corpo estranho, não ter resposta imunológica tal como um tecido autólogo, ter estrutura viável com potencial de autorreparação e longa durabilidade, ter suprimento e reposição ilimitada do material utilizado, ter superfície antitrombogênica e não necessitar anticoagulação, ter potencial de crescimento e ser manufaturada seguindo as características individuais.

Hufnagel e Harvey<sup>21</sup> implantaram com sucesso prótese mecânica na aorta descendente de paciente com insuficiência aórtica em 1952.

Em 1956, Murray<sup>22</sup> relatou a utilização de valva aórtica homóloga para tratamento das insuficiências mitral e aórtica.

Star e Edwards<sup>23</sup> apresentaram em 1960 um modelo mais avançado de valva artificial mecânica, com gaiola e bola. Por outro lado, os substitutos biológicos tiveram o seu início com Lam et al<sup>24</sup>, implantando homoenxertos na aorta descendente de cães.

Westaby e Piwnica<sup>25</sup> citam que Beale, Morris, Cooley e DeBakey, em 1961, utilizaram a valva aórtica homóloga implantada na aorta descendente para tratamento de insuficiência aórtica.

As primeiras substituições valvares ortotópicas por valva biológica empregaram a valva aórtica do cadáver, retirada assepticamente, usando como meio de conservação a liofilização ou solução de Hanks<sup>26</sup>. Eram os homoenxertos, que demonstraram bom resultado em curto prazo, apesar da dificuldade de obtenção.

Em 1968, Bental e De Bono<sup>1</sup> publicaram com detalhes a técnica para substituição de todo aparelho valvar aórtico e aorta ascendente, com o reimplante dos óstios coronarianos por um conduto valvado. Esta técnica tem se desenvolvido e transformou-se numa das melhores opções para tratamento da ectasia ânuloaórtica, bem como da dissecação aguda ou crônica da aorta associada à insuficiência valvar aórtica.

O desenvolvimento das próteses mecânicas fez com que os homoenxertos fossem esquecidos, pelo menos até surgirem complicações, como as decorrentes da anticoagulação e o tromboembolismo. Surgiu então o conceito de “bioprótese”, introduzido por Carpentier<sup>28</sup>, conjugando material biológico montado sobre uma base metálica ou plástica.

Entre outros materiais biológicos, utilizaram-se a fascia lata<sup>29</sup> e a dura-máter<sup>30</sup>; estes materiais tratados por vários métodos de preservação degeneraram precocemente, necessitando ser substituídos.

Carpentier et al.<sup>31</sup> e Ionescu et al.<sup>32</sup> publicaram os resultados iniciais da utilização de biopróteses confeccionadas com a valva aórtica



porcina e com pericárdio bovino, respectivamente, ambas utilizando o tratamento pelo glutaraldeído. Estes dois materiais se mantêm até hoje como os tecidos heterólogos mais utilizados para a fabricação de biopróteses valvares cardíacas. O tratamento pelo glutaraldeído vem sofrendo modificações técnicas na sua forma de aplicação, mas continua sendo o método mais utilizado para a fixação desses tecidos em nossos dias.

Barrat-Boyes et al.<sup>33</sup> publicaram, em 1976, os excelentes resultados de seis anos de acompanhamento pós-operatório de 121 pacientes submetidos à troca da valva aórtica por homoenxertos esterilizados em antibiótico. Posteriormente, em 1983, o mesmo autor<sup>34</sup> discorreu detalhadamente a respeito do método de esterilização das valvas cardíacas humanas com baixa concentração de antibióticos. Em 1986<sup>35</sup> voltou a relatar o segmento pós-operatório de 393 pacientes que se submeteram a troca da valva aórtica por enxerto homólogo, agora com um período de acompanhamento de 10,8 anos.

Em nosso meio, Ardito et al.<sup>36</sup> descreveram em 1987 os resultados obtidos em 11 pacientes operados de dissecação aórtica pela técnica de Bentall e De Bono, utilizando um conduto valvado de pericárdio bovino com uma valva biológica com suporte.

Em 1989, Burman<sup>37</sup>, durante o World Congress on Heart Valve Replacement, em San Diego, EUA, proferiu conferência onde discorriu sobre o passado, presente e futuro das valvas cardíacas heterólogas, fazendo referências às vantagens hemodinâmicas e clínicas deste enxerto e

notificando a necessidade de novos métodos de preservação do tecido heterólogo, inclusive com a necessidade de descelularizá-lo, permitindo que seja repovoado por células do hospedeiro.

Peacock<sup>38</sup>, em 1990, descreveu os resultados de estudo “in vitro” sobre a turbulência e formação de vórtex no seio de valsalva, em diversas condições de fluxo.

Em 1991, Grimm et al.<sup>39</sup> propuseram a fixação aldeídica do pericárdio bovino usando o ácido L-glutâmico com pH 3,5 para fixar o pericárdio bovino. O resultado dos estudos que os autores realizaram mostra que, com este tratamento, a biocompatibilidade do tecido é superior, e a calcificação é menor.

Diversas propostas de uso de conduto valvado de pericárdio bovino têm sido relatadas, variando o tipo de valva utilizada, como realizado por Gontijo et al.<sup>40</sup> que, em 1995, publicaram os resultados conseguidos com pelo menos dois anos de seguimento pós-operatório com conduto de pericárdio bovino acoplado a uma valva biológica ou mecânica. Como já referido antes, Vrandecic et al.<sup>10</sup> apresentaram os resultados tardios de uma série de 163 pacientes submetidos à troca da valva aórtica e aorta ascendente com reimplante coronariano por um conduto de pericárdio bovino com uma bioprótese porcina sem suporte. Malashenkov et al.<sup>41</sup>, em 2000, discorreram sobre oito anos de experiência clínica com conduto valvado de pericárdio bovino com prótese mecânica.

Em 1995, pesquisadores da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nacional de Lisboa<sup>42</sup> conduziram um trabalho retrospectivo

comparando as valvas aórticas explantadas durante reoperação de pacientes, separados em dois grupos distintos: pacientes anteriormente submetidos à troca da valva aórtica por valva homóloga; em outro, pacientes submetidos à cirurgia de Ross. Um terceiro grupo foi composto por estudo “post mortem” das valvas aórticas de pacientes que tinham recebido transplante cardíaco e faleceram tardiamente de causa não-cardíaca. Apesar da pequena amostragem, os resultados apontam que nos grupos do autoenxerto e dos transplantados as evidências de alterações histológicas mediadas por resposta imunológicas são menos evidentes.

Uma série de normas introduzidas pela Food and Drugs Association e pela União Europeia (marca CE), baseadas na ISO 5840<sup>43</sup> (3ª edição, 1996), padronizam os experimentos animais que visam ao desenvolvimento de substitutos valvares cardíacos e determinam que a escolha do modelo animal deve obedecer aos seguintes critérios: a anatomia e a função do coração animal devem ser as mais semelhantes possíveis às do coração humano; os processos fisiológicos, especialmente coagulação, resistência à infecção e calcificação devem ser similares aos humanos; a relação entre o tamanho do coração e o peso corpóreo total do animal e o tamanho da prótese utilizada deve ser a mais similar possível à encontrada em humanos. Os estudos crônicos devem incluir seis implantes e no mínimo vinte semanas de acompanhamento.

Ali et al.<sup>44</sup> advogaram que os ovinos são o modelo animal ideal para a pesquisa de substitutos valvares cardíacos porque são de fácil manipulação, largamente disponíveis, não crescem tão rapidamente como

suínos e bezerros e se tornaram o modelo padrão para estudo da calcificação.

Kumar et al.<sup>44,45</sup>, em experimento com ovinos, desenvolveram e estudaram o desempenho hemodinâmico de conduto valvado de pericárdio autólogo com um suporte externo de Delrin®, moldando seios de Valsalva no conduto e implantando-os na via de saída do ventrículo direito de 36 animais, que foram seguidos por períodos que variaram de 2 a 11 meses. Os resultados hemodinâmicos foram melhores naqueles animais cujos seios de Valsalva foram mantidos, inclusive sem adesão dos folhetos valvares às paredes do seio.

Em estudo comparativo entre valva aórtica homóloga, biopróteses sem suporte, biopróteses com suporte e com próteses mecânicas realizado em pacientes que se submeteram a troca da valva aórtica e posteriormente avaliados pela ecocardiografia, Xu et al.<sup>46</sup> descobriram que, nos dois primeiros anos após o implante, a valva aórtica homóloga e as biopróteses sem suporte têm melhor desempenho hemodinâmico, resultando em maior regressão da hipertrofia ventricular esquerda e, conseqüentemente, melhor função do ventrículo esquerdo.

Ouyang et al.<sup>47</sup> publicaram, em 1998, artigo descrevendo o uso de bioprótese aórtica sem suporte em posição ortotópica em ovinos juvenis.

Em 1999, Robicsek e Thubrikar<sup>48</sup>, após realizar experimento “in vitro”, comprovaram o postulado de Leonardo da Vinci de que a presença dos seios de Valsalva cria uma contracorrente com formação de vórtex, permitindo um suave e coordenado fechamento da valva aórtica e baixo

gradiente transvalvar. Evidenciou-se ainda que a perda da complacência da parede aórtica no nível das comissuras, seja de causa patológica ou motivada por intervenção cirúrgica, causa sobrecarga de tensão e favorece negativamente a longevidade dos folhetos.

Avaliando o comportamento do pericárdio em biopróteses cardíacas, Paez e Jorge-Herrero<sup>49</sup> descreveram a calcificação encontrada em biopróteses explantadas de pacientes como maior na região anular e nos locais de sutura, o que corresponde aos pontos de maior mobilidade e carga de trabalho. Apontaram ainda que a durabilidade das biopróteses é determinada pela ruptura das fibras de colágeno causada pelo movimento cíclico a que são submetidas. As regiões são afetadas pelo movimento de curvatura são as que primeiro mostram evidência de disfunção.

Em uma extensa revisão sobre o comportamento dos tecidos biológicos (heterólogo ou homólogo) usados como substitutos valvares, Schoen e Levy<sup>50</sup>, ainda em 1999, listaram como determinantes de falência do tecido a calcificação, a deterioração estrutural da matriz e a resposta imunológica com conseqüente processo inflamatório. Nas duas primeiras condições o processo inicia-se na região das comissuras e na porção basal onde o folheto está fixado ao anel protético (áreas de maior tensão e flexão dos folhetos). Além disso, os achados patológicos mostram diferentes mecanismos de deterioração entre o tecido heterólogo e o homólogo, tais como: as células da valva transplantada não são viáveis a longo prazo, o arcabouço colagênico é quimicamente e mecanicamente alterado pelo método de preparação valvar, a matriz residual não é repopulada nem por

tecido conectivo ou células endoteliais e o resíduo das células não-viáveis do doador são o ponto preferencial de calcificação. Um ano após essa publicação, Schmidt e Baier<sup>51</sup> também fizeram revisão semelhante, descrevendo os mesmos aspectos patológicos.

Thubrikar et al.<sup>52.53</sup> introduziram a proposta de substituição da aorta ascendente com preservação da valva nativa, usando um enxerto arterial sintético com seios de Valsalva pré-formados, apresentando bons resultados clínicos iniciais com esse novo modelo de enxerto.

Uma das críticas feitas aos condutos valvados feitos com tecido sintético e próteses mecânicas é que, apesar de funcionarem bem e ter boa durabilidade, em caso de necessidade de reoperação esta se faz acompanhar de alto grau de dificuldade técnica, causada pela necessidade de trocar todo dispositivo protético por outro, com conseqüente reimplante dos óstios coronarianos. Visando contornar isto, Urbanski e Hacker<sup>54</sup>, em 2000, apresentaram como alternativa a utilização de um enxerto arterial sintético com uma bioprótese porcina sem suporte. Porém, ressaltaram o incremento do tempo operatório decorrente da necessidade de fixar a valva ao tubo durante a cirurgia.

De Paulis et al.<sup>55</sup>, em 2001, relataram a utilização de um enxerto arterial tubular de Dacron®, com seios de Valsalva pré-formados, para substituição da aorta ascendente com conservação da valva aórtica, e compararam os resultados com os obtidos anteriormente com a mesma técnica cirúrgica onde foi usado enxerto arterial reto do mesmo material,

concluindo que a nova prótese facilita a realização do procedimento e confere melhor reprodutibilidade da anatomia e fisiologia da raiz aórtica.

Silberman et al.<sup>56</sup>, comparando o desempenho hemodinâmico em repouso e em exercício de biopróteses sem suporte e próteses mecânicas implantadas em humanos, concluíram pela superioridade das primeiras.

Xu Jin e Westaby<sup>57</sup> compararam o desempenho hemodinâmico de biopróteses aórticas sem suporte porcinas com as confeccionadas com pericárdio bovino. Os resultados mostram superioridade das biopróteses de pericárdio bovino imediatamente após o implante.

Em 2002, Akar et al.<sup>58</sup>, estudando os fatores determinantes dos resultados imediatos e tardios das biopróteses heterólogas sem suporte, apontaram que este tipo de substituto valvar é o tratamento de escolha para troca da valva aórtica em pacientes acima de 60 anos ou com anel aórtico pequeno.

De Paulis et al.<sup>59</sup>, estudando a dinâmica de valvas aórticas nativas em cirurgia de substituição total da aorta ascendente com enxerto arterial sintético com seios de Valsalva, constataram que a dinâmica das valvas é similar a de indivíduos normais.

Carrel et al.<sup>60</sup> e Siniawski et al.<sup>61</sup>, em 2003, publicaram os resultados iniciais da utilização de conduto valvado de pericárdio bovino com uma valva porcina em seu interior, tratados por um novo processo denominado No-React™, com a proposta de não sofrer a calcificação encontrada nos tecidos tratados pelo glutaraldeído.

Hemmer et al.<sup>62</sup>, em 2004, descreveram a utilização de um conduto valvado aórtico porcino 2cm mais longo como forma de evitar um conduto protético extra nos casos de substituição total da valva aórtica e aorta ascendente.

Comparando aneis aórticos complacentes com rígidos, Sripathi et cols.<sup>63</sup> concluíram que o anel aórtico complacente contribui substancialmente para a suave e simétrica abertura dos folhetos com gradientes mínimos e também tem a capacidade de aumentar a efetiva área valvar, respondendo fisiologicamente às demandas de exercício. Isto é totalmente ausente em um anel rígido.

Em 2005, Tayfun Aybek et al.<sup>64</sup> relataram a utilização de enxerto arterial sintético com seios de Valsalva pré-formados e o compararam ao conduto reto feito do mesmo material, utilizados para substituir a aorta ascendente com conservação da valva aórtica nativa. Concluíram que o conduto com seios de Valsalva reduz a velocidade de abertura e fechamento das cúspides, permitindo a diminuição da carga sobre elas, além de também evitar o contato dos folhetos valvares com o tubo, eliminando o risco de abrasão do tecido valvar.

Mirnajafi et al.<sup>65</sup>, estudando as propriedades de movimentação das cúspides aórticas e sua resistência, descobriram que na região das comissuras a rigidez dos folhetos é um terço maior que no restante. Durante a abertura da valva a rigidez da região comissural cai, voltando a aumentar no fechamento.



Em 2006, Ayyaz et al.<sup>66</sup> publicaram os resultados de ensaio clínico randomizado onde se comparou biopróteses sem suporte com as modernas biopróteses com suporte. Fica evidente que nos pacientes com comprometimento da função ventricular esquerda as biopróteses sem suporte têm resultado superior.

Em 2007, Maselli et al.<sup>67</sup>, estudando os resultados de cirurgia para substituição da aorta ascendente com conservação da valva aórtica, demonstraram que pequenas diferenças de diâmetro entre o anel aórtico e a junção sinotubular são determinantes para o surgimento de grave incompetência valvar, e que a utilização de um tubo com seios de Valsalva diminui esse risco.

Uma das críticas feitas às valvas sem suporte é a de que exigem técnica cirúrgica mais requintada, motivando maior tempo cirúrgico para sua aplicação e necessitando de uma necessária curva de aprendizado. Para contornar essa dificuldade, Pomerantzeff et al.<sup>68</sup> propuseram um novo modelo de bioprótese com suporte, sendo que o anel protético apresenta descontinuidade, o que permite uma maior flexibilidade, mimetizando dessa forma o comportamento hemodinâmico de uma valva sem suporte, sem apresentar, no entanto, a sua dificuldade técnica de implante. Este tipo de substituto protético foi chamado pelos autores de bioprótese "Less Stented".

Etz<sup>69</sup> et al. publicaram uma série consecutiva de 275 pacientes que se submeteram a troca da aorta ascendente e da valva aórtica com reimplante coronariano, usando tubo de Dacron® com bioprótese e suporte de pericárdio bovino; após análise dos resultados, defenderam sua utilização

em pacientes onde a anticoagulação seja indesejável. Julgam, ainda, que esta técnica possa ter resultado superior àquelas que preservam a valva nativa em pacientes idosos ou portadores de doenças do tecido conectivo.

Morell e Wearden<sup>70</sup> relataram o uso do pericárdio bovino para reconstrução do arco aórtico em crianças submetidas à cirurgia de Norwood, e mostraram que o uso deste tecido está associado à incidência aceitável de recorrência de obstrução do arco aórtico, além de possuir larga disponibilidade, baixo custo e ser uma boa alternativa ao uso de tecidos homólogos.

Uma meta-análise comparando a hemodinâmica valvar à regressão de massa do ventrículo esquerdo entre biopróteses com e sem suporte e que contemplou dez ensaios clínicos randomizados foi publicada por Kunadian et al.<sup>71</sup>. A conclusão é que as biopróteses sem suporte proporcionam gradientes aórticos menores, maiores áreas valvares efetivas e melhor nível de regressão de massa do ventrículo esquerdo. No entanto, necessitam de maiores tempos de clampeamento aórtico e de circulação extracorpórea.

Em 2008, Carrel et al.<sup>72</sup> voltaram a publicar os resultados dos condutos valvados de pericárdio bovino com valva porcina sem suporte tratados pelo processo No-React™. Os autores descreveram total destruição do anel valvar e desintegração do conduto na região das anastomoses dos óstios coronarianos em quatro dos sete pacientes da série inicial. Os outros três morreram de causa inexplicável. O período máximo de sobrevida pós-operatória foi de dois anos.

Kirsch et al.<sup>73</sup>, em 2009, produziram um artigo de revisão, revendo todas as opções de tecido biológico para substituição da aorta ascendente em conjunto com a valva aórtica. Concluíram que, apesar de atualmente não existir bioprótese ideal, a possibilidade de se tratar pacientes cada vez mais idosos leva a uma necessidade sempre crescente de utilização de biopróteses, o que motiva uma busca constante de aprimoramento deste tipo de substituto.

## **4 MÉTODOS**

---

## 4. MÉTODOS

Este é um estudo experimental em modelo animal, no qual foi estudado o comportamento dos CVAPs tratados em glutaraldeído, em posição aórtica. O experimento foi realizado no Centro de Pesquisa da Labcor Laboratórios Ltda. (Belo Horizonte, Brasil), tendo sido conduzido mediante a aprovação da Comissão Científica do Instituto do Coração e de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, seguindo as normas da American Association for Accreditation of Laboratory Animal Care<sup>74</sup> e Colégio Brasileiro de Experimentação Animal<sup>75</sup>, adotada a Nomina Anatômica Veterinária<sup>76</sup>.

### 4.1. Seleção da amostra

#### ***Número de animais***

Grupo Teste: 08 animais que receberam o CVAP.

A amostra consistiu de 08 ovinos (*Ovis aries*) selecionados da raça Santa Inês, de 4 a 6 meses de idade, fêmeas ou machos castrados com peso entre 26 e 35 quilogramas, considerados livres de doenças após

um exame clínico geral e um período de quarentena de 15 dias quando do recebimento certificado de saúde fornecido pelo médico veterinário. Os animais foram adquiridos em fazendas cadastradas junto ao Centro de Pesquisas da Labcor Laboratórios LTDA, cujos arquivos possuíam controle dos dados de registro sanitário das mesmas.

A idade dos animais foi fornecida pelo vendedor ao veterinário no momento da compra. A idade foi confirmada pelo tempo de erupção dental, além das mudanças na tábua dental. A origem de cada animal foi documentada.

Todos os animais foram vermifugados na chegada ao Centro de Pesquisa e receberam os cuidados de pré e pós-operatório da equipe de veterinária, tratadores e auxiliares de pesquisas.

Cada animal recebeu um número de registro e teve uma ficha clínica contendo todos os cuidados e eventos durante a permanência do mesmo no estudo.

O ovino foi escolhido como a espécie experimental a ser usada pelas seguintes razões: o tamanho deste animal permite, tecnicamente, a realização do implante de válvula aórtica com próteses em tamanho clínico humano; o ovino é um modelo estabelecido para avaliação da segurança pré-clínica e eficácia de próteses de válvulas cardíacas; o ovino é relativamente fácil de ser mantido por longos períodos.

#### 4.1.1. Preparo das próteses

O pericárdio bovino foi adquirido em abatedouro credenciado pelo Ministério da Agricultura e pelo Serviço de Inspeção Federal, dentre as carcaças aprovadas para consumo humano. Imediatamente colocado em solução salina tamponado com tampão fosfato pH 7.4, gelado à temperatura de 6°C a 8°C e transportado para o laboratório (o tempo de transporte não deve ser superior a 48 horas, se mantidas as condições de temperatura da solução, sendo o tempo ideal de até 6 horas). Após seu recebimento no laboratório, foi submetido a lavagens sucessivas com solução salina tamponada gelada até sua completa limpeza, sendo a seguir iniciada sua separação de todo o tecido gorduroso e outros “debris” presentes. Confirmada sua limpeza, o pericárdio foi seccionado de maneira a formar uma placa, e então colocado em solução de glutaraldeído 0,65% com pH de 7.4 na temperatura de 15°C por um período mínimo de 21 dias. Após este tempo, amostras foram coletadas para teste de encolhimento, tendo sido aprovados resultados de teste cujas temperaturas de início de encolhimento tenham sido superiores a 84°C. Uma vez aprovado, o pericárdio foi submetido a uma dissecação mais apurada, de maneira a obter-se mais homogeneidade na sua espessura. Partes com espessura entre 0.4 e 0.5mm foram selecionadas e desta feita novas amostras coletadas para teste de tensão de ruptura, sendo aprovadas amostras com resultados iguais ou superiores a 15Kgf de tensão de ruptura. Selecionaram-se as peças

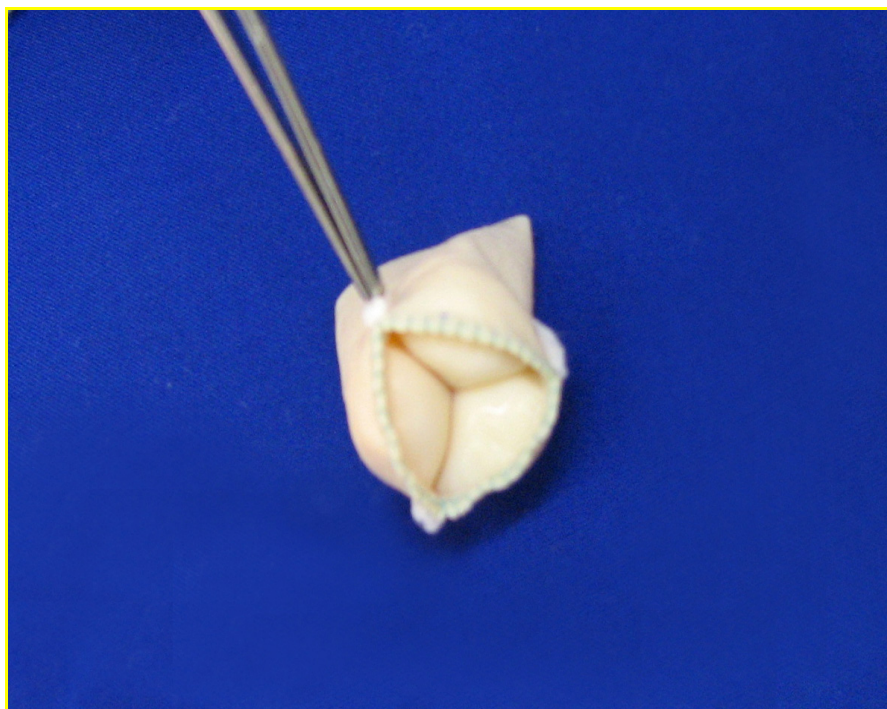
aprovadas para confecção dos CVAP. O glutaraldeído foi fornecido por Polisciences Inc., Pennsylvania, EUA.

A confecção do CVAP constou de um tubo e de uma válvula com três folhetos separados e uma borda de sutura de implante sem suporte. Na altura das comissuras, uma tira de poliéster reforça a estrutura para fixação dos folhetos, como está ilustrado nas Figuras 1, 2 e 3. Foram produzidos CVAPs com 17, 19, 21 e 23mm de diâmetro externo, medido na borda de sutura de implante. Esta forma de confeccionar o CVAP, foi baseado na proposta de Khagani<sup>77</sup>, apenas modificada em relação aos folhetos que em seu projeto os confeccionou com uma única lâmina de pericárdio que eram suturadas aos postes comissurais. Por acharmos que dessa forma havia necessidade dos folhetos terem maior altura e isso poderia interferir nos gradientes, seccionamos a lâmina de pericárdio em três folhetos com altura menor e eles foram suturados ao tubo.





**Figura 1.** Visão horizontal do CVAP.



**Figura 2.** Visão interna do CVAP.



**Figura 3.** Visão vertical do CVAP.

Depois de confeccionado, o CVAP foi esterilizado, utilizando-se como solução esterilizante um composto de formaldeído 4% e etanol 20% a uma temperatura de 38°C por um período de 48 horas. Amostras foram colhidas para teste de esterilidade e incubadas em meios de cultura (Tioglicolato, Tsb-Acumedia, Michigan, EUA e Middle Brook 7H9- BD Difco, Sparks, EUA) durante 14 dias.

O CVAP foi embalado e estocado em solução de formaldeído a 4%.

#### **4.1.2. Teste do CVAP no simulador cardíaco – ensaio hidrodinâmico**

Este ensaio foi realizado no Laboratório de Bioengenharia do Instituto do Coração da FMUSP. Foram avaliados quatro CVAPs de diâmetro de 21mm e os resultados confrontados com os obtidos com uma bioprótese convencional com suporte (padrão) de mesmo diâmetro.

##### **4.1.2.1. Descrição do simulador cardíaco**

O sistema utilizado para a avaliação dinâmica das valvas cardíacas foi projetado para reproduzir condições fisiológicas de fluxo e pressão. Para tanto, este sistema utiliza como bomba o Dispositivo de Assistência Ventricular (DAV-InCor) associado a um simulador hidráulico do sistema arterial, que permite ajustes das condições de pré-carga, pós-carga e frequência de bombeamento. A prótese a ser testada é acoplada a uma cânula provida de dispositivo para sutura da valva colocada na via de saída do DAV. Os sinais de fluxo e pressão são registrados continuamente por um fluxômetro acoplado ao sistema e transdutores de pressão.

O DAV-InCor é um dispositivo de fluxo pulsátil, paracorpóreo e de acionamento pneumático que se enquadra na categoria referida como bomba de diafragma ou bomba de deslocamento de volume.

A bomba de sangue do DAV-Incor é formada por duas câmaras rígidas separadas por uma membrana flexível, ou diafragma. Uma das

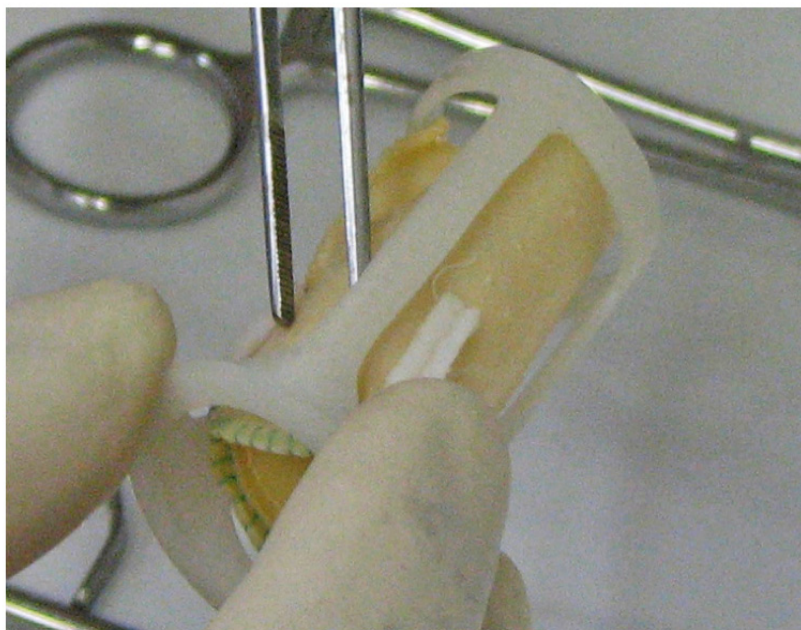
câmaras, denominada câmara de sangue, possui dois dutos nos quais são posicionadas valvas biológicas de pericárdio bovino que possibilitam o controle e direção do fluxo de sangue. A segunda câmara, denominada câmara pneumática, é ligada por um tubo flexível a um console de controle e acionamento pneumático.

A pressão positiva gerada pela injeção de ar na câmara pneumática desloca o diafragma em direção à câmara de sangue, aumentando a pressão e causando a abertura da válvula de saída, permitindo o escoamento do sangue e esvaziamento da câmara, referido como “sístole” do DAV-Incor.

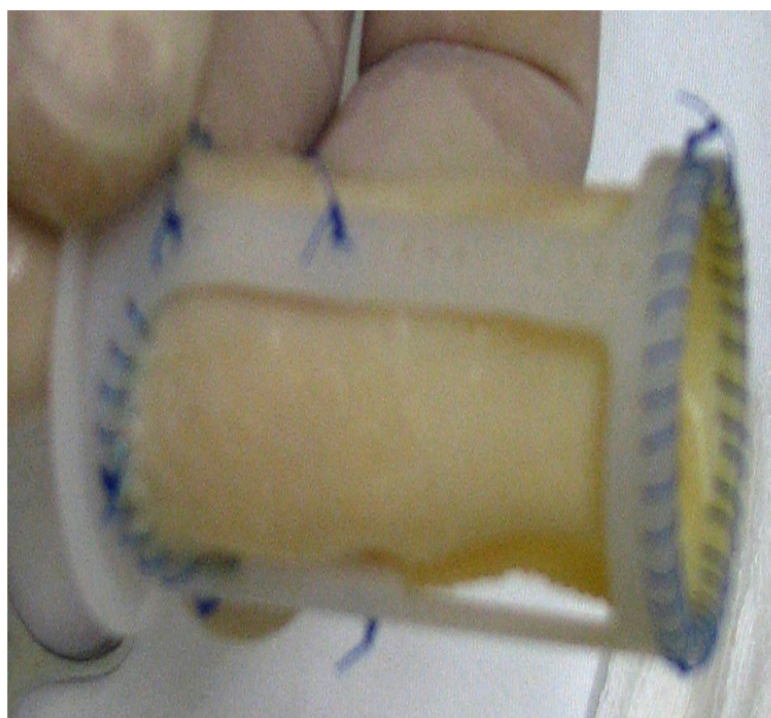
Ao término do esvaziamento da câmara de sangue, a válvula de entrada se abre, permitindo a passagem do sangue e o consequente enchimento da câmara, ocorrendo a “diástole” do DAV-Incor. O enchimento da câmara de sangue pode ser facilitado com a aplicação de pressão auxiliar negativa na câmara pneumática.

Os CVAPs a serem testados foram acoplados a uma cânula provida de dispositivo para sutura do CVAP inserido na via de saída do DAV-Incor.

Os sinais de fluxo e pressão foram registrados continuamente por um fluxômetro acoplado ao sistema e transdutores de pressão. As Figuras 4, 5, 6 e 7 demonstram a sequência da instalação do CVAP no DAV-Incor.

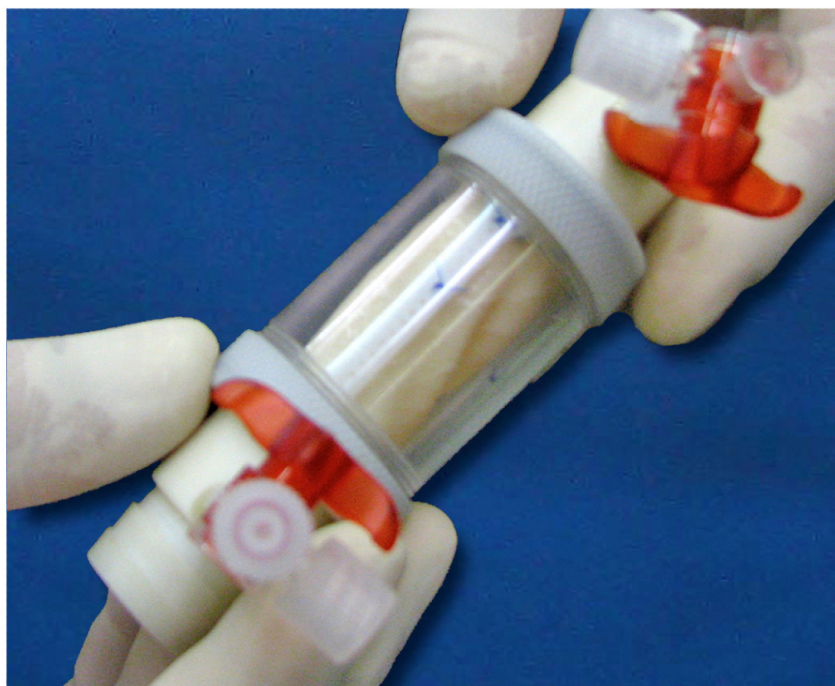


**Figura 4.** Introdução do CVAP no dispositivo de fixação do DAV-Incor.

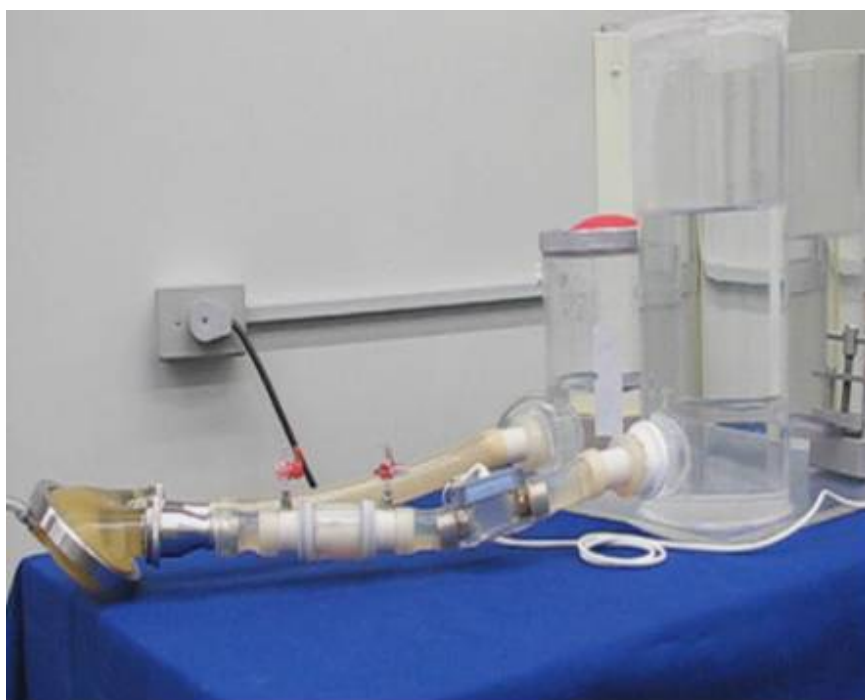


**Figura 5.** CVAP já suturado no dispositivo de fixação do DAV-Incor.





**Figura 6.** CVAP pronto para instalação no DAV-Incor.



**Figura 7.** Visão geral do DAV-Incor com o CVAP posicionado.

#### **4.1.2.2. Condições do ensaio hidrodinâmico**

##### **4.1.2.2.1. Instrumental utilizado**

1. Duplicador de Pulsos (Descrição no texto)
2. Fluxômetro Ultrassônico ( T101 Ultrasonic Flow Meter – Transonic System, Inc)
3. Transdutores de Pressão TPS-2 com sensibilidade 5uV/V/mm Hg (normalizada), construídos na Divisão de Bioengenharia
4. Amplificador de Sinais Fisiológicos Lynx (Lynx Ltda, SP, SP, Brasil)
5. Sistema de Aquisição de Dados Windaq (Dataq Instruments, Inc. Akron, USA)

##### **4.1.2.2.2. Dados planilhados - condições do ensaio**

Válvula de teste em posição aórtica

Freq. de 60, 70, 80, 90, 100 bpm

Pressões mantidas em 80 por 120mmHg

Tempos sistólicos de 220, 250 e 280ms

Volume sistólico constante de 65ml

#### **4.1.3. Preparo dos animais de experimentação**

Os animais foram mantidos em jejum de sólidos por 24 horas e de líquidos nas 6 horas que antecederam a cirurgia.

A antibióticoterapia profilática consistiu da injeção intramuscular de 1g de cefalotina 6 horas antes da cirurgia. Quinze minutos antes da indução anestésica foi administrado 1mg de sulfato de atropina por via intramuscular.

A indução anestésica foi feita pela administração endovenosa de 12,5mg/kg de tiopental sódico.

A veia jugular externa esquerda foi cateterizada com um cateter de Swan-Ganz 7Fr, utilizado para aferição dos parâmetros hemodinâmicos e para a administração de drogas e soluções eletrolíticas. Na sequência o animal foi monitorizado para obtenção de traçado contínuo de eletrocardiografia e da temperatura retal. Usando-se monitor multiparamétrico (Bese, Belo Horizonte, Brasil), foram realizadas medidas das pressões venosa central, arterial pulmonar, capilar pulmonar e débito cardíaco por termodiluição. O relaxamento muscular foi obtido pela administração de 100mg de succinilcolina endovenosa, assim que o animal atingiu plano anestésico profundo. Administraram-se 250mg de metilprednisolona e 1g de cefalotina endovenosa. O animal foi entubado e uma sonda orogástrica foi introduzida; através dela foram administrados 150ml de hidróxido de alumínio. Foi estabelecida ventilação mecânica com volume de 12ml de O<sub>2</sub>kg<sup>-1</sup>, na frequência de 12 ciclos por minuto. A



anestesia foi mantida com administração de halotano a 1,5% por via inalatória e de 100mg de cloreto de suxemetônio EV.

No anexo A, encontram-se os dados de identificação de cada animal incluindo data de nascimento, sexo, idade e peso.

#### **4.1.4. Implante em animais**

##### **4.1.4.1. Técnica operatória**

O protocolo utilizado para realização da cirurgia foi o mesmo descrito anteriormente por Grehan et al.<sup>78</sup>. O animal foi colocado e contido na mesa de cirurgia em decúbito lateral direito. Realizou-se a assepsia por degermação da área tricotomizada por 5 a 10 minutos com solução de iodo, secada com compressa estéril e pulverizada com solução de iodopovidona. Cobriu-se o animal com toalhas estéreis e o campo cirúrgico fixado com pinças de campo.

Uma toracotomia esquerda foi feita através do 4º EIC e a artéria torácica interna esquerda ligada e seccionada. Utilizou-se um afastador de Finochietto colocado neste espaço e aberto para expor os órgãos e vasos da cavidade torácica. Após a dissecação da aorta descendente, laçou-se a mesma com fita cardíaca. O pericárdio foi aberto longitudinalmente em

direção ao ápice do coração e em paralelo ao nervo frênico esquerdo, suas bordas reparadas e tracionadas para cima com 2 fios de reparo de seda 3-0.

A partir daí, foi iniciada a dissecação da raiz da aorta para individualização dos óstios coronarianos. A artéria pulmonar foi separada da aorta e individualizada para facilitar a exposição da raiz aórtica. Realizou-se aferição da pressão arterial média diretamente da aorta.

As suturas em bolsas na aorta descendente foram feitas com fio poliéster 3.0 ancorado em almofadas, a do átrio direito realizada na aurícula direita feita com fio de poliéster 3.0 e na bolsa no átrio esquerdo utilizou-se polipropileno 5.0 para decompressão das câmaras esquerdas.

Após isto, administrou-se heparina na dose de 350 unidades/kg via intravenosa. Após a heparinização, a aorta descendente foi canulada com cânula de plástico número 16Fr e dirigida com fluxo cranialmente. A canulação do sistema venoso foi realizada com cânula única número 28Fr no átrio direito. Para o átrio esquerdo, utilizou-se cânula de decompressão para câmaras esquerdas 12Fr, todas do fabricante DLP, EUA.

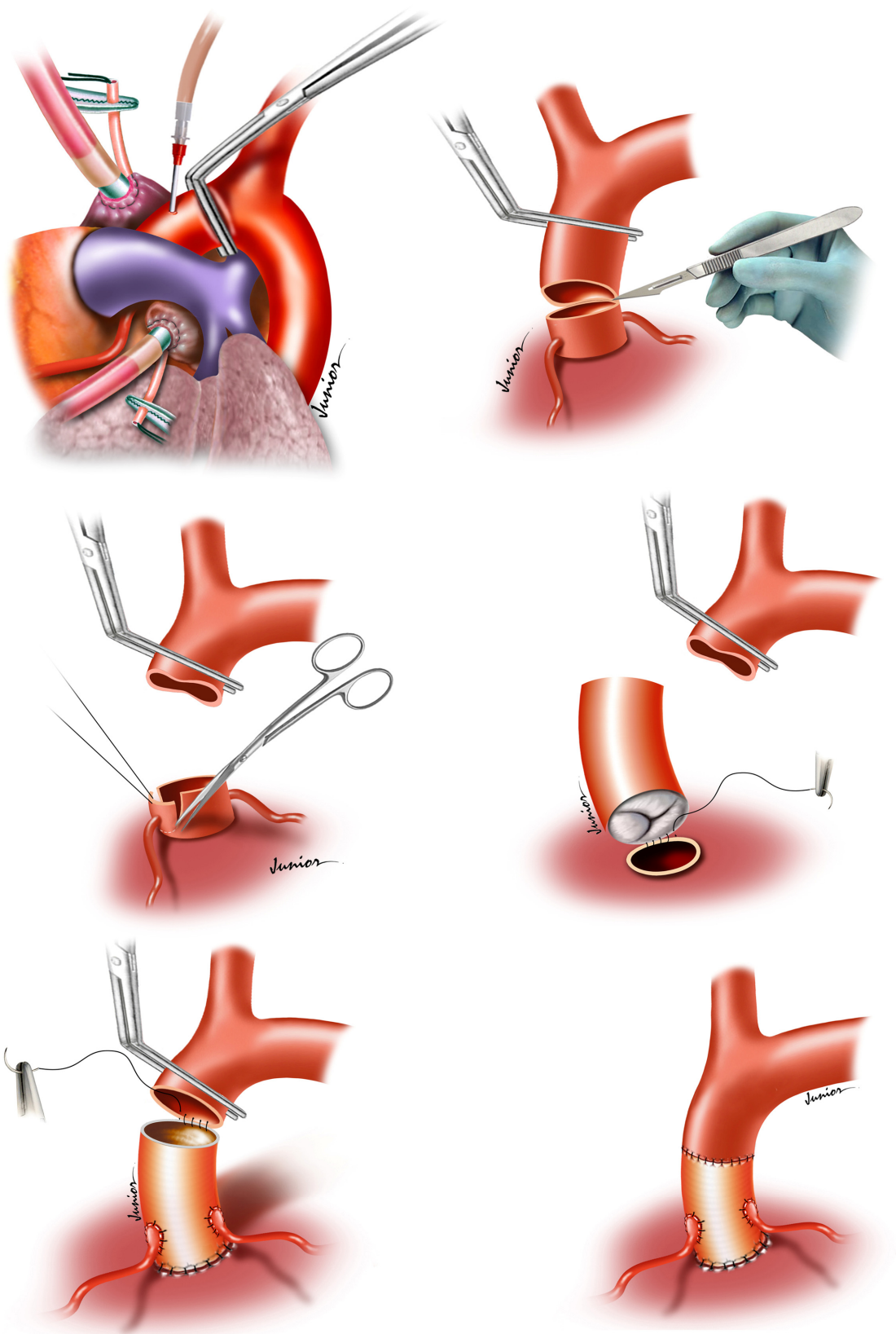
Em seguida, a circulação extracorpórea (CEC) foi estabelecida utilizando-se um oxigenador de membranas infantil (Oxyshunt 4500, ZAMMI Instrumental Ltda., Rio de Janeiro, Brasil), cujo volume do perfusato foi de 1000ml de Ringer Lactato (Fresenius, Campinas, Brasil). O fluxo arterial foi mantido entre 50 e 70ml/kg/min e o fluxo de gás em 0,5l/min da mistura de 95% de O<sub>2</sub> e 5% de CO<sub>2</sub>, os quais foram ajustados no transcorrer do procedimento de acordo com os valores de gasometria.

A temperatura corpórea foi reduzida para 28°C. A partir deste momento clampeou-se transversalmente a aorta e foi administrada cardioplegia anterógrada em sua raiz, com dose inicial de solução cardioplégica de 15ml/kg de composto cristalóide frio a 4°C, sendo que a cada 20 minutos repetiram-se as cardioplegias; porém, as doses de manutenção foram de 10ml/kg de solução cardioplégica sanguínea nos óstios coronarianos. Utilizou-se a seguinte composição para cardioplegia: 500ml de soro fisiológico a 0,9% (ou sangue coletado da máquina de CEC para a manutenção), 5ml de sulfato de magnésio, 5ml de bicarbonato de sódio a 8,4%, 5ml de lidocaína a 2% e 2,5ml de cloreto de potássio.

Cessada a primeira dose de cardioplegia, foi iniciado o ato operatório com uma incisão transversal no nível do local em que foi realizada a cardioplegia, sendo que seccionada transversalmente a aorta na sua totalidade. As cúspides da válvula aórtica foram retiradas e a aorta foi ressecada, deixando-se proximalmente margem de 2mm da mesma.

No passo seguinte, foram isolados e reparados os óstios coronarianos com fio de polipropileno 5-0. Terminado o preparo, iniciou-se a sutura do CVAP no anel aórtico, a qual foi realizada com fio de polipropileno 4-0 em sutura contínua na parte proximal. Terminada esta fase, iniciou-se o reimplante das coronárias, começando pela coronária esquerda, a qual é feita com sutura contínua de polipropileno 6-0; na sequência se procedeu da mesma forma em relação ao óstio coronariano direito. Para confirmar a permeabilidade, exploraram-se os óstios com explorador de 1,75mm. Por fim, foi encerrado o procedimento com a anastomose da parte distal do CVAP no

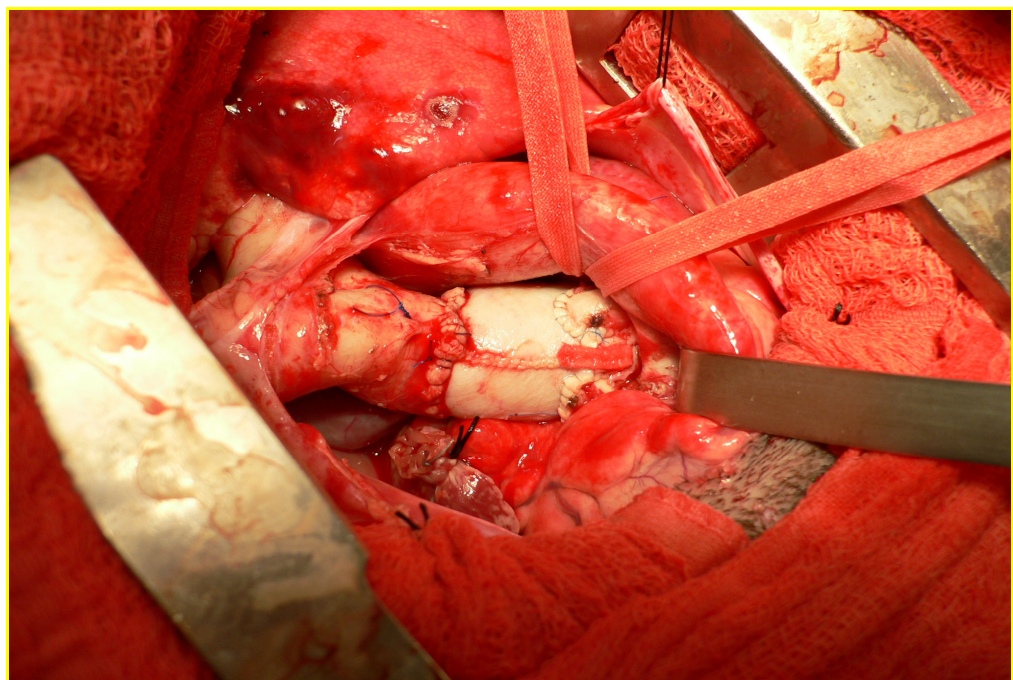
coto aórtico distal com sutura contínua de polipropileno 4-0. Ao iniciar-se esta sutura, o reaquecimento do animal foi iniciado. Nessa ocasião foram administrados 1g de cefalotina e 125mg de metilpredisolona. A Figura 8 demonstra a sequência cirúrgica seguida.



**Figura 8.** Sequência da troca da aorta ascendente e valva aórtica pelo CVAP.

Finalizada esta parte, iniciou-se o preparo para desclampear a aorta e sair de CEC. Puncionou-se a aorta ascendente com Jelco™ número 14 para retirada de ar das cavidades esquerdas e também pelo aspirador localizado no átrio esquerdo. Após estas manobras a aorta foi desclampeada, aguardando-se a recuperação dos batimentos cardíacos. Quando a temperatura de 35°C foi atingida, injetaram-se no reservatório do oxigenador as seguintes drogas: 2ml cálcio, 1mg atropina, 2ml lidocaína, 1ml succinilcolina, 20ml bicarbonato de sódio (se necessária correção da acidose) e 3ml de Tiopental sódico.

Para desfibrilação foi utilizado um choque elétrico de 15 Joules. A ventilação mecânica foi reiniciada e preparada a saída de CEC. Atingidas as condições hemodinâmicas e respiratórias consideradas satisfatórias a CEC foi descontinuada. A Figura 9 mostra o aspecto final da cirurgia.



**Figura 9.** Aspecto final da cirurgia.

Foi realizada uma checagem rigorosa da hemostasia. Retirou-se a cânula do átrio direito, do aspirador de átrio esquerdo e por último da aorta. Por veia periférica, foi iniciada infusão contínua de protamina na dosagem 1ml para cada 1000UI de heparina na velocidade de 1ml/minuto. Por fim, o pericárdio foi fechado na sua parte inferior e passado um dreno tubular de 30Fr ao nível do sexto espaço intercostal esquerdo. As costelas foram fechadas com pontos em X de algodão 4, a musculatura da parede torácica com fio de nylon 3-0 por planos e a pele por sutura intradérmica com nylon 3-0.

Após cessado o sangramento pelo dreno torácico, este foi retirado na sala operatória. Quando o animal conseguiu readquirir respiração espontânea efetiva, foi extubado e encaminhado para o setor de recuperação pós-operatório imediato, que se localiza dentro do centro cirúrgico.

No Anexo B encontram-se discriminados os dados intraoperatórios (data da cirurgia, tamanho das próteses, tempo de CEC e de clampeamento aórtico).

#### **4.1.4.2 Cuidados pós-operatórios**

Após 5 horas da extubação, restituiu-se a oferta hídrica e a dieta com feno e administrou-se 1g de cefalotina IM e 5.000UI de heparina

subcutânea, as quais foram administradas a cada 12 horas nos 3 primeiros dias.

A temperatura retal dos animais foi monitorada diariamente na primeira semana e, ao término desta, quando considerados em condições clínicas satisfatórias, foram transferidos para o biotério, onde permaneceram em observação diária até completar o tempo de exposição de 150 dias estabelecido para o sacrifício.

#### **4.1.4.3 Avaliação ecoDopplercardiográfica**

Os estudos ecodopplercardiográficos transtorácicos foram realizados com 30 dias de pós-operatório e antecedendo o sacrifício (Grupo Teste). Para efeito comparativo, selecionou-se um grupo de ovinos considerados saudáveis pelo exame veterinário, com as mesmas características de peso e idade, do grupo que foi submetido ao implante do CVAP, para serem submetidos ao mesmo exame (Grupo Controle), a fim de avaliar os mesmos parâmetros do Grupo Teste.

Utilizou-se um equipamento da marca ATL Ultramark 6 (Philips, Drachten, Holanda) com transdutores de 2,0 e 3,0 megahertz.

As imagens foram obtidas nos cortes transversal, apical e paraesternal longitudinal em vários planos, gravados no mínimo 3 ciclos cardíacos consecutivos, sendo considerados os valores médios, excluindo-se as imagens não bem definidas.



Foram determinadas a mobilidade e a competência valvar, o gradiente transvalvar médio e máximo, a área valvar, diâmetro ventricular esquerdo diastólico e sistólico.

#### **4.1.4.4 Avaliação angiográfica e hemodinâmica**

Avaliação angiográfica foi realizada após 150 dias de pós-operatório, realizando-se o sacrifício dos animais para o explante das próteses. Foram coletados de todos os animais, antes do sacrifício, amostras de sangue da veia jugular externa para hematimetria e bioquímica. Os animais foram anestesiados através da administração endovenosa de tiopental sódico na dose de 12,5mg.kg<sup>-1</sup>, e em seguida entubados e ventilados mecanicamente; a anestesia foi mantida pela inalação de uma mistura de oxigênio associada a 1,5% de halotano. O animal foi posicionado em decúbito lateral direito e, após antissepsia do lado cervical esquerdo, foi realizada uma incisão longitudinal para a exposição da veia jugular externa e da artéria carótida esquerda. Realizou-se cateterismo direito, utilizando-se um cateter de Swan-Ganz 7Fr. Foram obtidos os registros da pressão venosa central, arterial pulmonar, capilar pulmonar e do débito cardíaco por termodiluição. A aortografia foi realizada com cateter Pig-Tail 6Fr e por injeção de contraste à base de diatrizoato de meglumina (75%). As imagens foram gravadas pela exposição simultânea a fluoroscopia, utilizando-se um fluoroscópio Philips XG 4002/00.

## **4.2. Sacrifício dos animais e explante das próteses**

Os animais foram anestesiados de acordo com a técnica já descrita, sacrificados com injeção endovenosa de Cloreto de Potássio (KCl) a 19,1% e exsanguinados.

A seguir, realizou-se retorcotomia esquerda e retirada em bloco do coração e vasos da base. O CVAP foi liberado dos tecidos adjacentes, removido, lavado em solução salina, fotografado e encaminhado para avaliação macroscópica. Os restos dos animais foram incinerados.

### **4.2.1. Avaliação macroscópica**

Pelo exame macroscópico foram analisados: funcionalidade e aspectos técnicos da cirurgia; integridade dos tecidos do CVAP e miocárdico; orientação, direção, mobilidade e espessura das válvulas; presença de trombose, vegetação, calcificação e fibrose (pannus); diâmetro, comprimento e configuração do CVAP.

Para cada CVAP avaliado foi preenchida uma ficha contendo os achados. Desta análise resultou o levantamento dos seguintes itens: estenose, insuficiência, presença de vegetações, rotura, perfurações, trombos, calcificação, espessura, flexibilidade e deiscência. Todas as partes do CVAP foram analisadas.

Após o exame macroscópico as biopróteses foram fixadas em solução aquosa de formalina a 10% e encaminhadas para estudo radiológico.

#### **4.2.2. Avaliação radiológica**

Os enxertos foram submetidos a estudo radiológico para determinar a distribuição e intensidade dos depósitos de cálcio existentes. Para tanto foi utilizado o mamógrafo Senographe DMR (GE, Buc, França), com voltagem de aceleração de 22kV. Após a realização do estudo radiológico os CVAPs foram encaminhados para o Laboratório de Anatomia Patológica.

#### **4.2.3 Avaliação histológica**

Foram analisados revestimento endotelial, matriz colagênica e preservação tecidual.

#### **4.2.3.1 Microscopia óptica**

Os CVAPs previamente fixados em solução aquosa de formalina a 10% foram cortados longitudinalmente, colhendo-se três amostras de cada enxerto, de maneira que os três folhetos valvares, os respectivos seios e todo o corpo do conduto (da via de entrada à via de saída) fossem estudados.

Para coloração, utilizou-se a técnica de Hematoxilina-Eosina.

A análise foi feita em microscópio binocular Olympus CBA (Olympus, Tokio, Japão) equipado com luz convencional e polarizada.

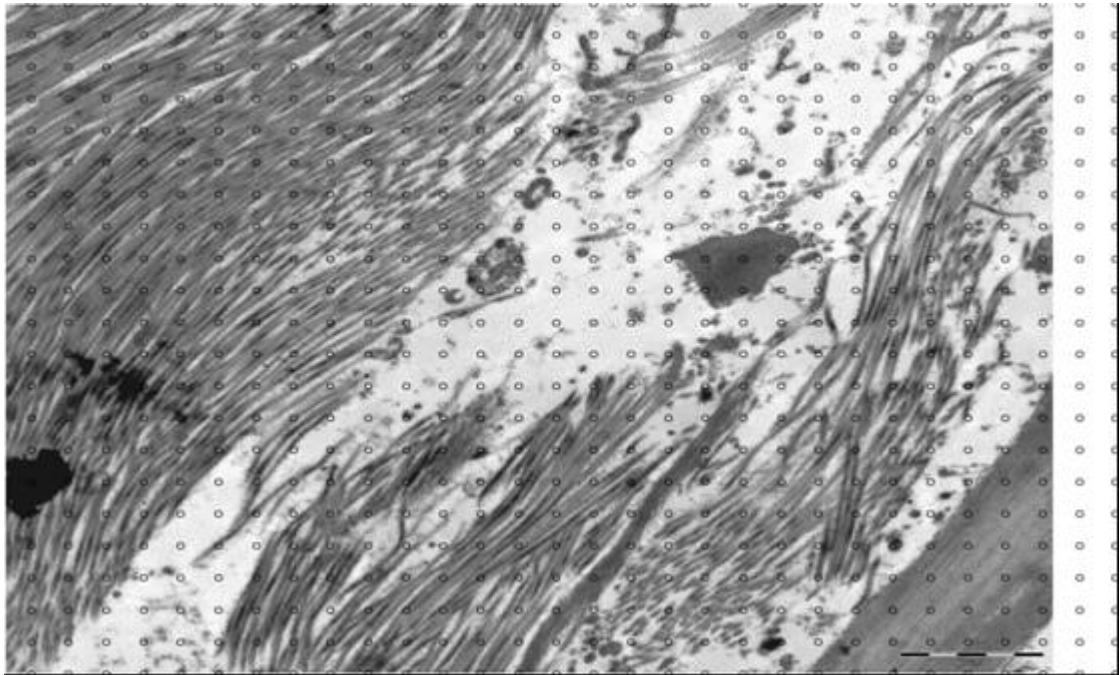
Foram analisados revestimento endotelial, matriz colagênica e preservação tecidual.

#### **4.2.3.2 Microscopia eletrônica de transmissão**

De cada prótese estudada foram feitas 6 fotografias de 3 diferentes locais da prótese: A - Seio de Valsalva, B - Folhetos valvares e C - Segmento distal da prótese.

Foi utilizado o sistema de planimetria por contagem de pontos e quantificou-se a presença de três elementos: colágeno, conteúdo hídrico (água) e células. A microscopia eletrônica de transmissão foi realizada para quantificar o conteúdo colagênico, hídrico e celular dos CVAPs. Na Figura 10 está ilustrado o sistema utilizado.

Utilizou-se microscópio eletrônico de transmissão Philips EM-301 (Eindhoven, Holanda ).



**Figura 10.** Ilustração demonstrando como foi feita a planimetria por contagem de pontos.

### 4.3 Análise estatística dos dados

Inicialmente todas as variáveis foram analisadas descritivamente. Para as variáveis quantitativas esta análise foi feita através da observação dos valores mínimos e máximos, além do cálculo de médias, desvios-padrão e quartis (percentil 25 - P25, Mediana, percentil 75 - P75). Para as variáveis qualitativas calcularam-se frequências absolutas e relativas.

Para a comparação dos dois grupos foi utilizado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney<sup>79</sup>, pois a suposição de normalidade dos dados foi rejeitada.

Para a comparação dos dois momentos no grupo de estudo foi utilizado o teste não-paramétrico de Wilcoxon<sup>79</sup>, pois a suposição de normalidade dos dados foi rejeitada.

Para se testar a homogeneidade entre as proporções foi utilizado o teste exato de Fisher<sup>79</sup> (pois ocorreram frequências esperadas menores de 5).

Os testes foram executados através do software SPSS 15.0 for Windows.

O nível de significância utilizado para os testes foi de 5%.

## **5 RESULTADOS**

---

## 5. RESULTADOS

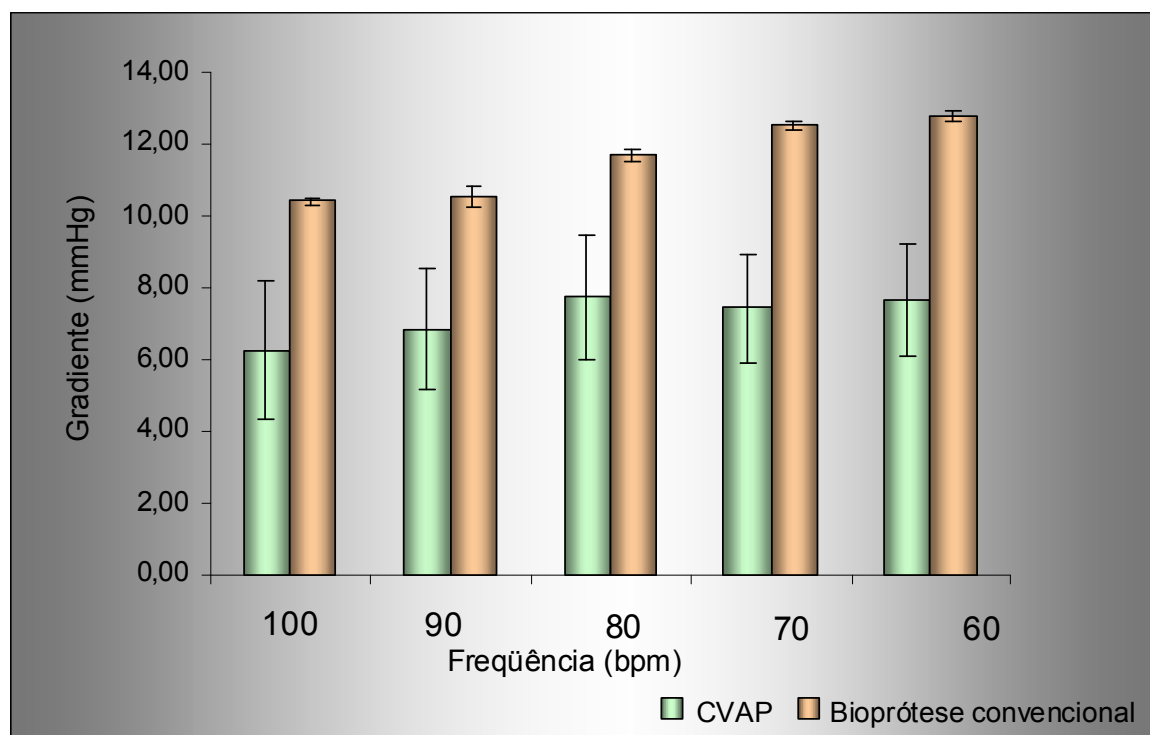
### 5.1. Análise do ensaio hidrodinâmico

O gradiente pressórico transvalvar de pico dos CVAPs (média das quatro amostras testadas) variou de  $6,26 \pm 1,94$ mmHg a  $7,66 \pm 1,57$  mmHg, enquanto numa bioprótese com suporte convencional de mesmo diâmetro a diferença transvalvar foi de  $10,41 \pm 0,07$ mmHg a  $12,82 \pm 0,13$ mmHg.

<b>Frequência (bpm)</b>	<b>Gradiente médio – CVAP nº 21 (mm Hg)</b>	<b>Gradiente Bioprótese Convencional com suporte nº 21 (mm Hg)</b>
100	$6,26 \pm 1,94$	$10,41 \pm 0,07$
90	$6,84 \pm 1,66$	$10,54 \pm 0,27$
80	$7,75 \pm 1,76$	$11,68 \pm 0,17$
70	$7,43 \pm 1,50$	$12,54 \pm 0,13$
60	$7,66 \pm 1,57$	$12,82 \pm 0,13$

No Gráfico 1, estão ilustrados os dados comparativos entre os CVAPs em teste e uma bioprótese com suporte convencional de mesmo diâmetro (21mm).





**Gráfico 1.** Medida de diferença de pressão transvalvar entre os CVAPs e uma bioprótese convencional com suporte.

Registros gráficos comparativos do gradiente valvar do CVAP e de uma bioprótese convencional com suporte equivalente (padrão).

Medidas da pressão transvalvar no pico de fluxo.

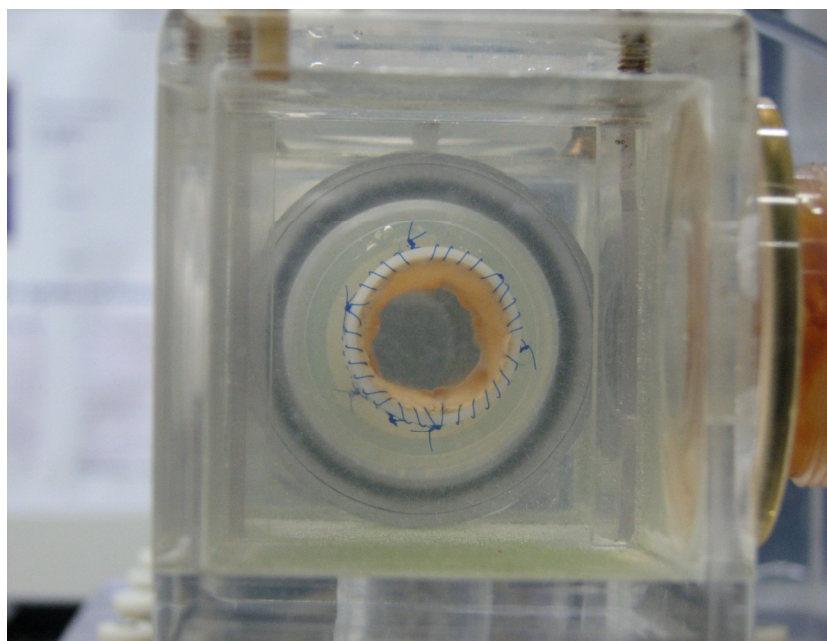
As medidas foram realizadas com frequências de 100, 90, 80, 70 e 60 bpm, mantendo-se um tempo sistólico fixo de 250ms, com pressões fixas de 120 x 80bpm. O volume sistólico foi mantido constante em 65ml.



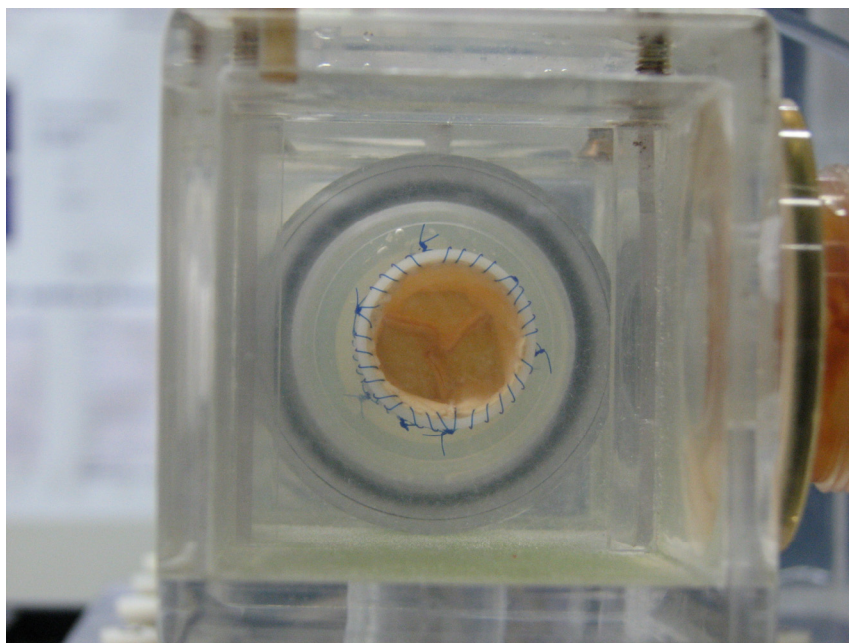
**Figura 11.** Tela de monitorização durante o ensaio.



**Figura 12.** Um dos CVAPs avaliados no estudo hidrodinâmico foi mantido por 60 dias funcionando no DAV-Incor. Após a sua retirada observamos o aspecto abaulado na região dos seios de valsalva.



**Figura 13.** Foto do CVAP no duplicador de pulso durante a sistóle. Observa-se um ampla abertura da valva.



**Figura 14.** Foto do CVAP no duplicador de pulso durante a diástole. Observa-se o total fechamento da valva.

## **5.2. Análise ecoDopplercardiográfica**

### **5.2.1. Análise ecoDopplercardiográfica entre o Grupo Controle e o Grupo Teste**

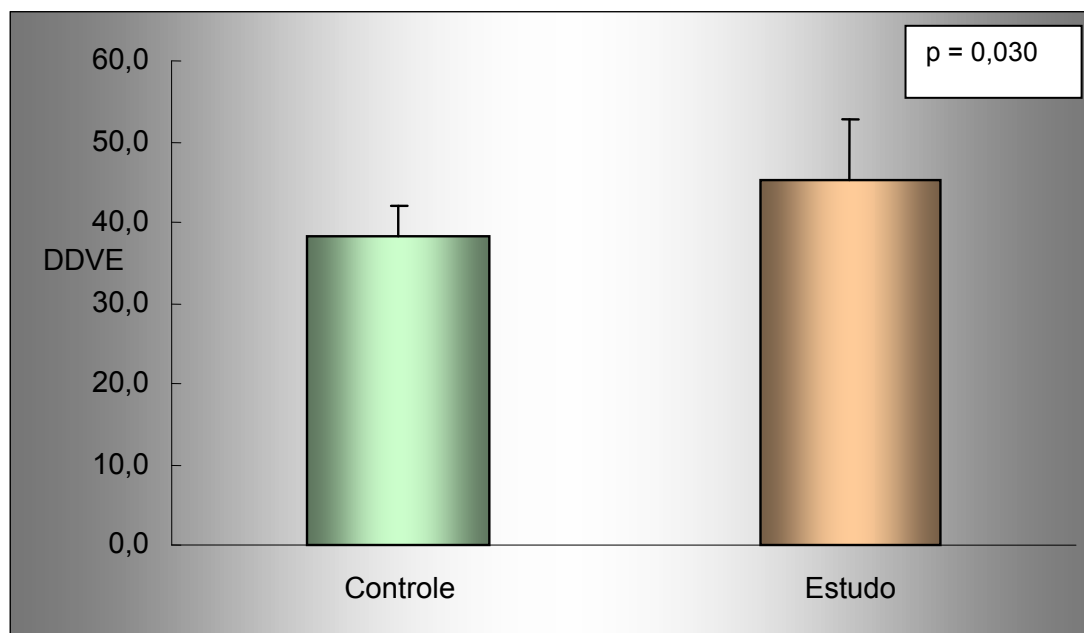
Dois animais do Grupo Teste por ocasião do sacrifício apresentaram endocardite (Casos 2 e 7), insuficiência aórtica e graus diferentes de disfunção ventricular esquerda; os demais estavam com as valvas normofuncionantes e função ventricular esquerda preservada. Nenhum apresentou evidência de estenose. A comparação dos Grupos Controle e Teste (em 150 dias) está descrita na Tabela 1.

**Tabela 1.** Valores descritivos das variáveis do ECO (Grupo Controle X Grupo Teste).

Variável	Grupo	n	Média	Dp	Mínimo	Máximo	P25	Mediana	P75	p
<b>Peso</b>	Controle	5	34,20	3,19	30,00	38,00	31,00	35,00	37,00	0,943
	Estudo	8	34,50	2,93	30,00	38,00	32,00	35,00	37,50	
<b>Esp.Sept.</b>	Controle	5	0,68	0,04	0,60	0,70	0,65	0,70	0,70	0,171
	Estudo	8	0,75	0,08	0,70	0,90	0,70	0,70	0,80	
<b>Grad.Máx.</b>	Controle	5	3,28	0,79	2,70	4,60	2,70	3,00	4,00	0,284
	Estudo	8	5,09	2,06	2,30	6,80	2,65	6,20	6,80	
<b>Grad.Méd.</b>	Controle	5	1,74	0,54	1,40	2,70	1,45	1,50	2,15	0,127
	Estudo	8	3,24	1,36	1,20	4,30	1,68	4,15	4,20	
<b>AV</b>	Controle	5	3,31	0,56	2,90	4,30	2,98	3,10	3,75	0,171
	Estudo	8	2,75	0,43	2,00	3,20	2,50	2,70	3,20	
<b>Esp. pp</b>	Controle	5	0,68	0,04	0,60	0,70	0,65	0,70	0,70	0,622
	Estudo	8	0,70	0,00	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	
<b>DDVE</b>	Controle	5	38,20	3,90	33,00	44,00	35,50	38,00	41,00	0,030
	Estudo	8	45,25	7,52	40,00	63,00	40,50	43,00	46,25	
<b>DSVE</b>	Controle	5	24,60	1,67	22,00	26,00	23,00	25,00	26,00	0,006
	Estudo	8	32,00	7,60	25,00	50,00	28,25	30,50	31,75	
<b>FE</b>	Controle	5	0,69	0,10	0,60	0,84	0,61	0,66	0,78	0,724
	Estudo	8	0,66	0,04	0,60	0,70	0,61	0,67	0,70	

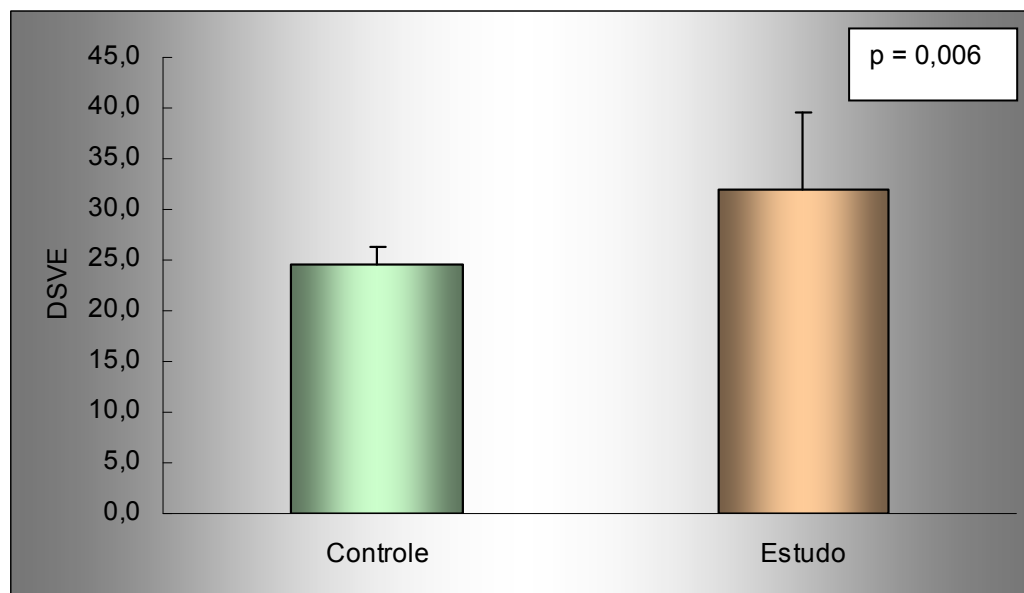
(\*) nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Mann-Whitney

Verifica-se que os grupos diferem em relação ao DDVE e ao DSVE. O grupo estudado apresenta valores significativamente maiores de DDVE e DSVE quando comparado ao Grupo Controle (Gráficos 2 e 3).



Média Controle - 38,20 dp 3,90      Média Teste - 45,25 dp 7,52

**Gráfico 2.** Comparativo entre Grupo Controle e Grupo Teste em relação ao diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo.



Média Controle - 24,60 dp 1,67      Média Teste - 32,00 dp 7,60

**Gráfico 3.** Comparativo entre Grupo Controle e Grupo Teste em relação ao diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo.

### **5.2.2 Análise ecoDopplercardiográfica do Grupo Teste com 30 e 150 dias após implante**

Aos 30 dias de pós-operatório todos os animais apresentavam valvas aórticas sem estenose, competentes e nenhuma evidência de disfunção ventricular esquerda. Aos 150 dias de pós-operatório os Casos 2 e 7 apresentavam quadro de endocardite e insuficiência aórtica com diferentes graus de disfunção ventricular esquerda. Os valores estão demonstrados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Valores descritivos das variáveis do Eco (momentos 30 e 150 dias).

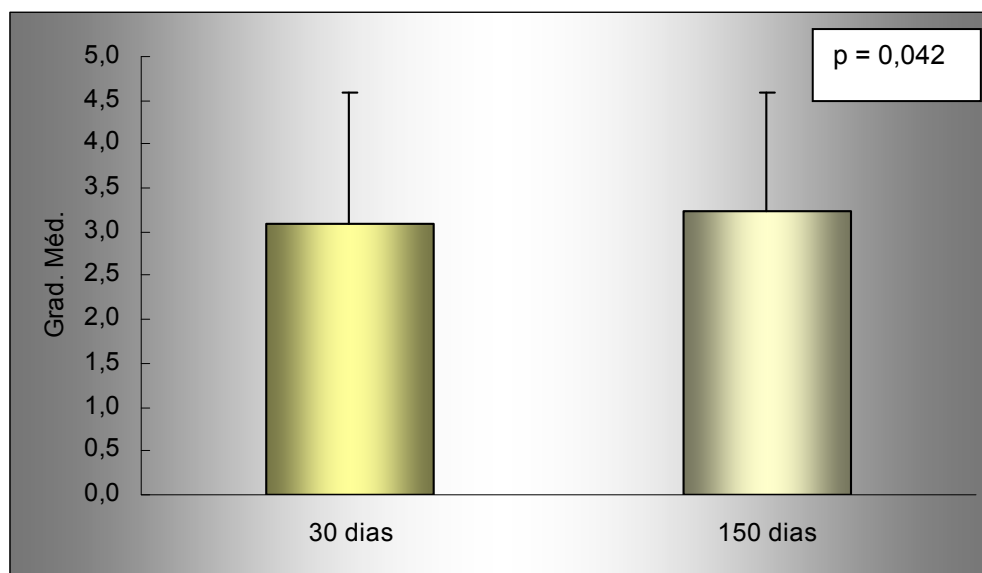
Variável	Momento	n	Média	Dp	Mínimo	Máximo	P25	Mediana	P75	p
<b>Peso</b>	30 dias	8	29,25	3,11	26,00	35,00	26,25	29,00	31,00	<b>0,011</b>
	150 dias	8	34,50	2,93	30,00	38,00	32,00	35,00	37,50	
<b>Esp.Sept.</b>	30 dias	8	0,64	0,05	0,60	0,70	0,60	0,60	0,70	<b>0,011</b>
	150 dias	8	0,75	0,08	0,70	0,90	0,70	0,70	0,80	
<b>Grad.Máx.</b>	30 dias	8	4,94	2,16	2,00	6,80	2,43	6,10	6,75	<b>0,038</b>
	150 dias	8	5,09	2,06	2,30	6,80	2,65	6,20	6,80	
<b>Grad.Méd.</b>	30 dias	8	3,10	1,48	1,00	4,20	1,35	4,10	4,20	<b>0,042</b>
	150 dias	8	3,24	1,36	1,20	4,30	1,68	4,15	4,20	
<b>AV</b>	30 dias	8	2,81	0,52	2,00	3,40	2,53	2,60	3,40	0,258
	150 dias	8	2,75	0,43	2,00	3,20	2,50	2,70	3,20	
<b>Esp. pp</b>	30 dias	8	0,64	0,05	0,60	0,70	0,60	0,60	0,70	<b>0,025</b>
	150 dias	8	0,70	0,00	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	
<b>DDVE</b>	30 dias	8	40,75	2,12	38,00	44,00	38,50	41,00	42,00	<b>0,016</b>
	150 dias	8	45,25	7,52	40,00	63,00	40,50	43,00	46,25	
<b>DSVE</b>	30 dias	8	29,00	2,88	24,00	34,00	28,00	28,50	30,75	0,088
	150 dias	8	32,00	7,60	25,00	50,00	28,25	30,50	31,75	
<b>FE</b>	30 dias	8	0,70	0,05	0,60	0,75	0,68	0,70	0,73	<b>0,041</b>
	150 dias	8	0,66	0,04	0,60	0,70	0,61	0,67	0,70	

(\*) nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Wilcoxon



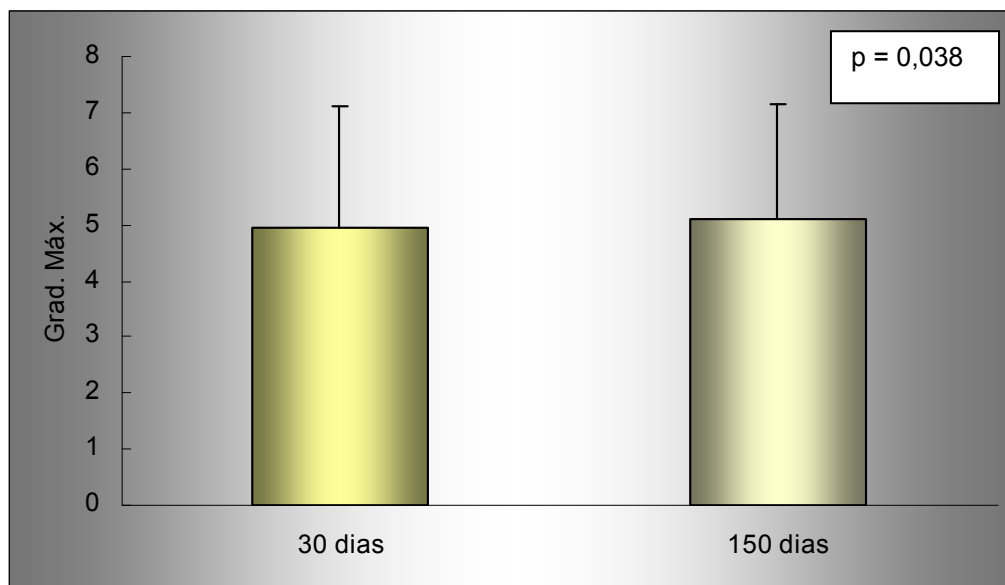
Na Tabela 2 observa-se que há acréscimo significativo do peso do momento 30 dias para o momento 150 dias, bem como acréscimo significativo da espessura do septo interventricular, gradiente transvalvar máximo (Grad. Máx.), gradiente transvalvar médio (Grad. Méd.), espessura da parede posterior do ventrículo esquerdo, do diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (DDVE) do momento 30 dias para o momento 150 dias, e decréscimo da fração de ejeção (FE). Não há alteração significativa do DSVE e da área valvar aortica (AV). As diferenças das medidas dos gradientes estão demonstradas nos Gráficos 4 e 5.

No Anexo C encontram-se listados os dados completos desta análise.



30 dias - Média 3,1 dp 1,48    150 dias - Média 3,24 dp 1,36

**Gráfico 4.** Comparativo entre 30 e 150 dias de pós-operatório em relação ao gradiente transvalvar aórtico médio.



30 dias - Média 4,94 dp 2,16    150 dias - Média 5,09 dp 2,06

**Gráfico 5.** Comparativo entre 30 e 150 dias de pós-operatório em relação ao gradiente transvalvar aórtico máximo.

### 5.3 Análise angiográfica e hemodinâmica

A aortografia realizada aos 150 dias de pós-operatório (pré-explante), revelou boa mobilidade valvular em todos os animais e incompetência valvar em dois (Casos 2 e 7). A comparação dos achados hemodinâmicos no momento do explante com os obtidos no pré-operatório encontram-se listados na Tabela 3.

### 5.3.1. Resultados hemodinâmicos

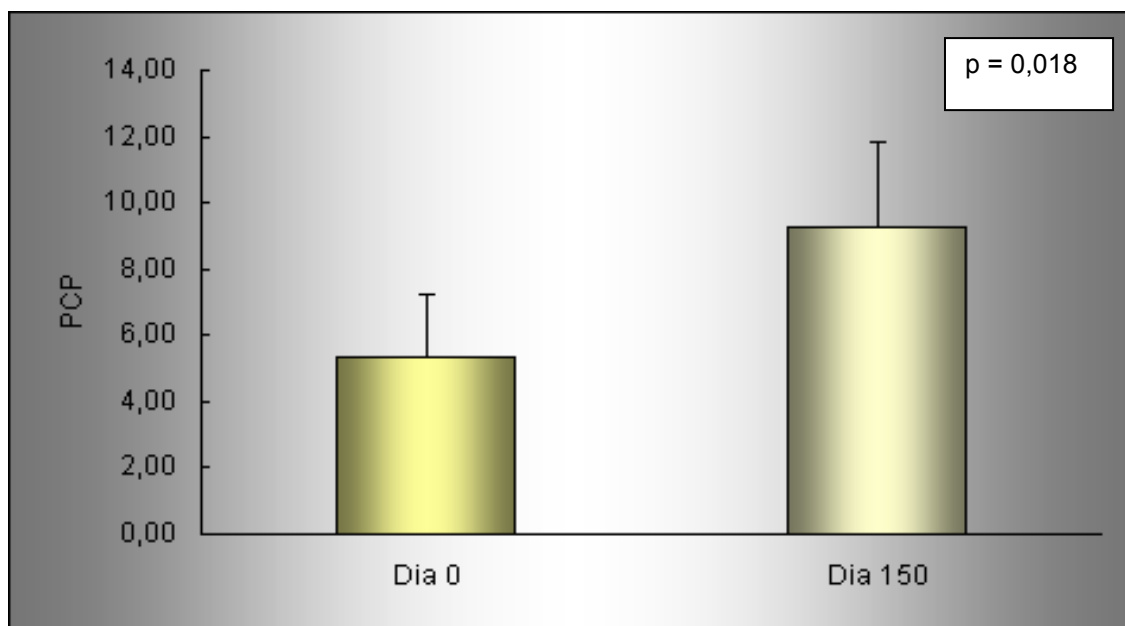
**Tabela 3.** Valores descritivos dos valores hemodinâmicos nos momentos 0 e 150 dias de estudo.

Variável	Momento	n	Média	dp	Mínimo	Máximo	P25	Mediana	P75	p
<b>PAM</b>	0 dia	8	77,75	7,76	68,00	90,00	70,50	77,50	84,25	0,944
	150 dias	8	78,00	10,30	65,00	92,00	68,50	77,00	88,75	
<b>PAP</b>	0 dia	8	9,50	1,31	8,00	12,00	8,25	9,50	10,00	<b>0,012</b>
	150 dias	8	15,63	5,34	12,00	28,00	12,25	14,00	17,00	
<b>PCP</b>	0 dia	8	5,38	1,85	3,00	8,00	4,00	5,00	7,00	<b>0,018</b>
	150 dias	8	9,25	2,60	7,00	15,00	8,00	8,00	10,50	
<b>DC</b>	0 dia	8	3419,38	354,93	2980,00	3940,00	3052,50	3485,00	3708,75	0,208
	150 dias	8	3713,75	497,39	2880,00	4150,00	3175,00	3940,00	4075,00	

(\*) nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Wilcoxon

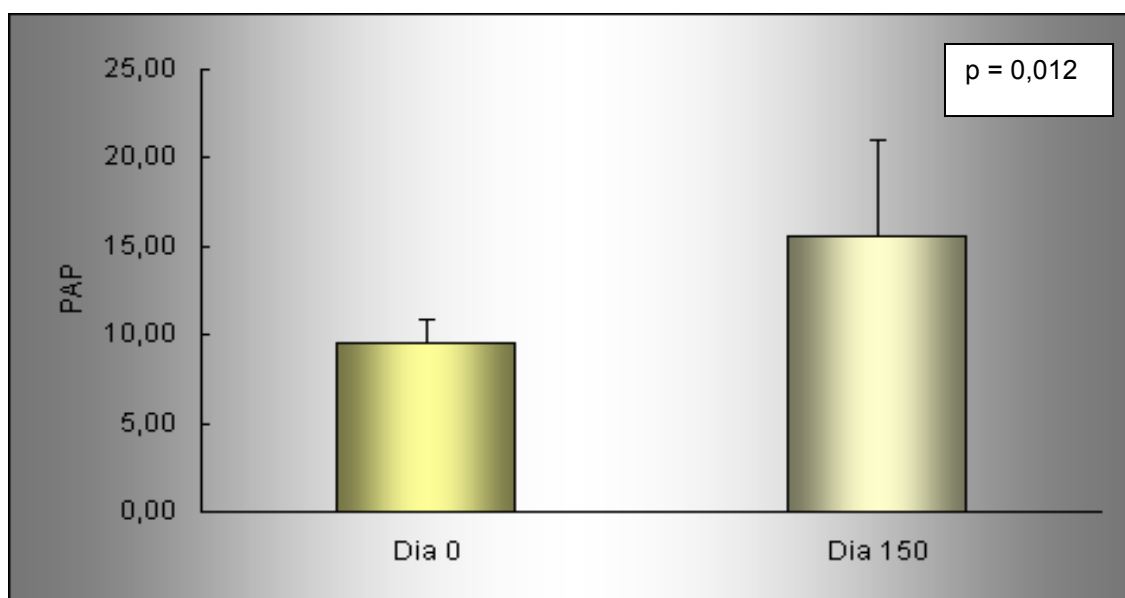
Pela Tabela 3 observa-se que há acréscimo significativo da pressão arterial pulmonar (PAP) e da pressão capilar pulmonar (PCP) do momento dia 0 para o momento dia 150, ilustrados nos Gráficos 6 e 7.

Não há alteração significativa da pressão arterial média (PAM) e do débito cardíaco (DC).



Dia 0 - Média 5,38 dp 1,85    Dia 150 - Média 9,25 dp 2,60

**Gráfico 6.** Comparativo da pressão capilar pulmonar entre os dias 0 e 150 de pós-operatório.



Dia 0 - Média 9,50 dp 1,31    Dia 150 - Média 15,63 dp 5,34

**Gráfico 7.** Comparativo da pressão arterial pulmonar entre os dias 0 e 150 de pós-operatório.

No Anexo D encontram-se listados os achados do estudo hemodinâmico.

#### **5.4 Análise macroscópica**

A calcificação foi uma constante, geralmente relacionada com as linhas de sutura e menos frequente no corpo do conduto, conforme Figura 15.

Evidenciou-se abaulamento do CVAP na região dos seios de Valsalva, sem aumento do seu diâmetro.

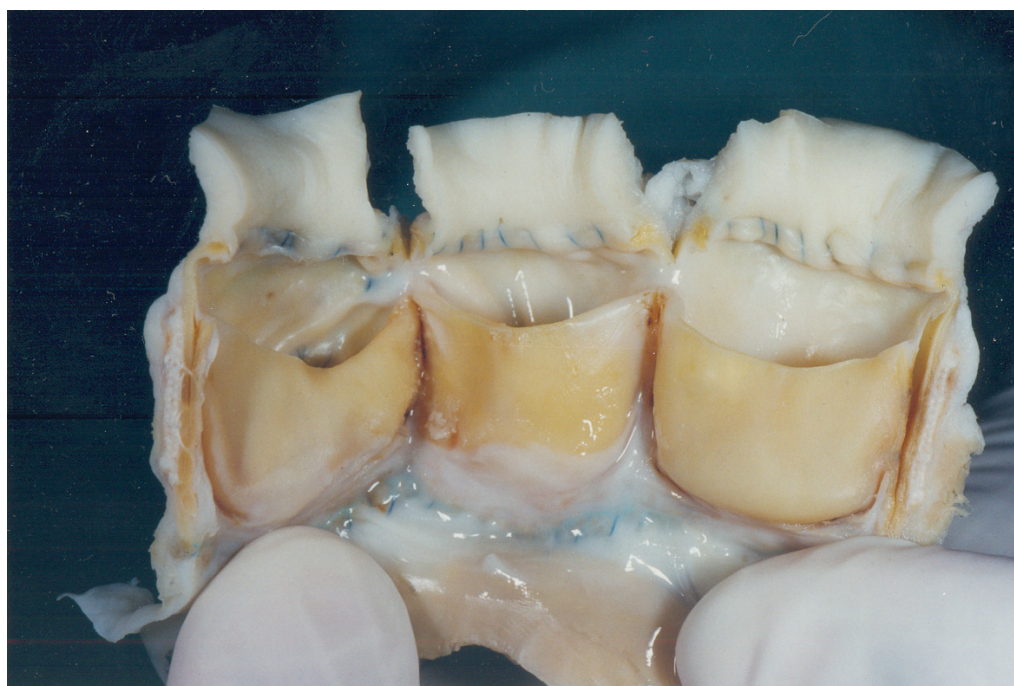
Em dois animais (Casos 2 e 7) observou-se presença de vegetação fibrinosa nos folhetos valvares coronarianos esquerdos com rasgo comissural entre este e o folheto não-coronariano. Nestes mesmos animais houve evidência de trombos vermelhos nos folhetos acometidos e na junção sinotubular, conforme Figura 16.

**Tabela 4.** Frequências absolutas e relativas do grau de trombo, perfuração e calcificação nos locais avaliados.

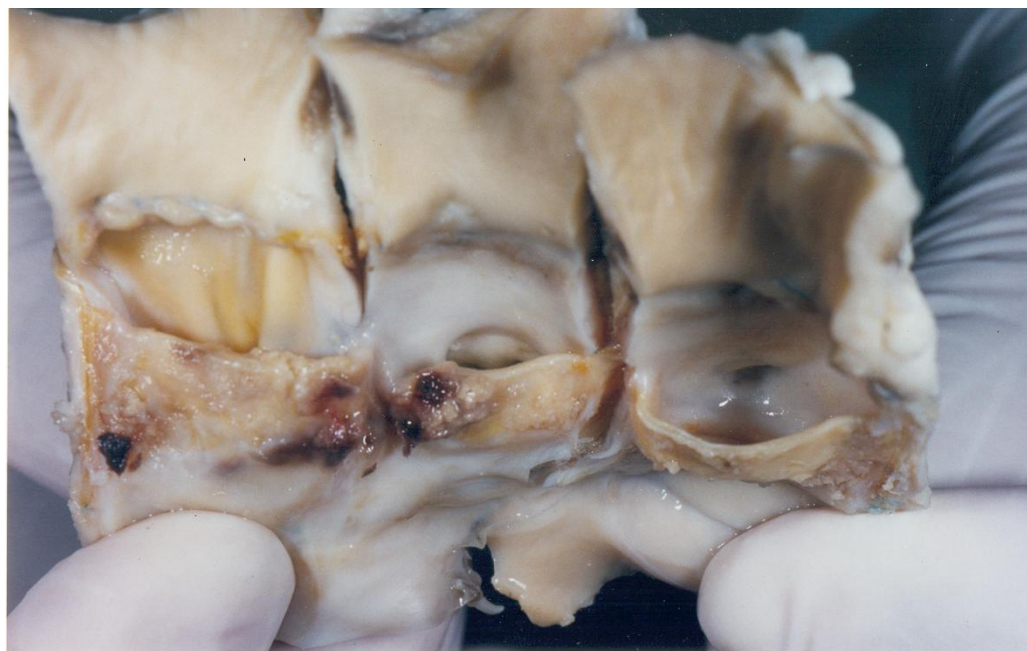
Achado	Grau	Local								p*
		Corpo/Raiz		Folhetos		Anel		Seios		
		n	%	n	%	n	%	n	%	
	0	8	100,0	6	75,0	8	100,0	6	75,0	
<b>Trombo</b>	1	0	0,0	2	25,0	0	0,0	1	12,5	0,288
	2	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	12,5	
	0	8	100,0	6	75,0	8	100,0	8	100,0	
<b>Perfuração</b>	1	0	0,0	1	12,5	0	0,0	0	0,0	0,226
	2	0	0,0	1	12,5	0	0,0	0	0,0	
	0	7	87,5	2	25,0	2	25,0	3	37,5	
<b>Calcificação</b>	1	0	0,0	6	75,0	6	75,0	5	62,5	0,008
	2	1	12,5	0	0,0	0	0,0	0	0,0	

(\*) nível descritivo de probabilidade do teste exato de Fisher

Pela Tabela 4 observa-se que há diferença dentre os locais em relação a calcificação. No corpo/raiz há maior porcentagem de não-calcificação do que nos demais locais. Não há diferença significativa entre os locais nos demais achados.



**Figura 15.** CVAP explantado aos 150 dias de pós-operatório. Folhetos com espessura e mobilidade preservadas. Presença de calcificação na região comissural e na base do folheto.

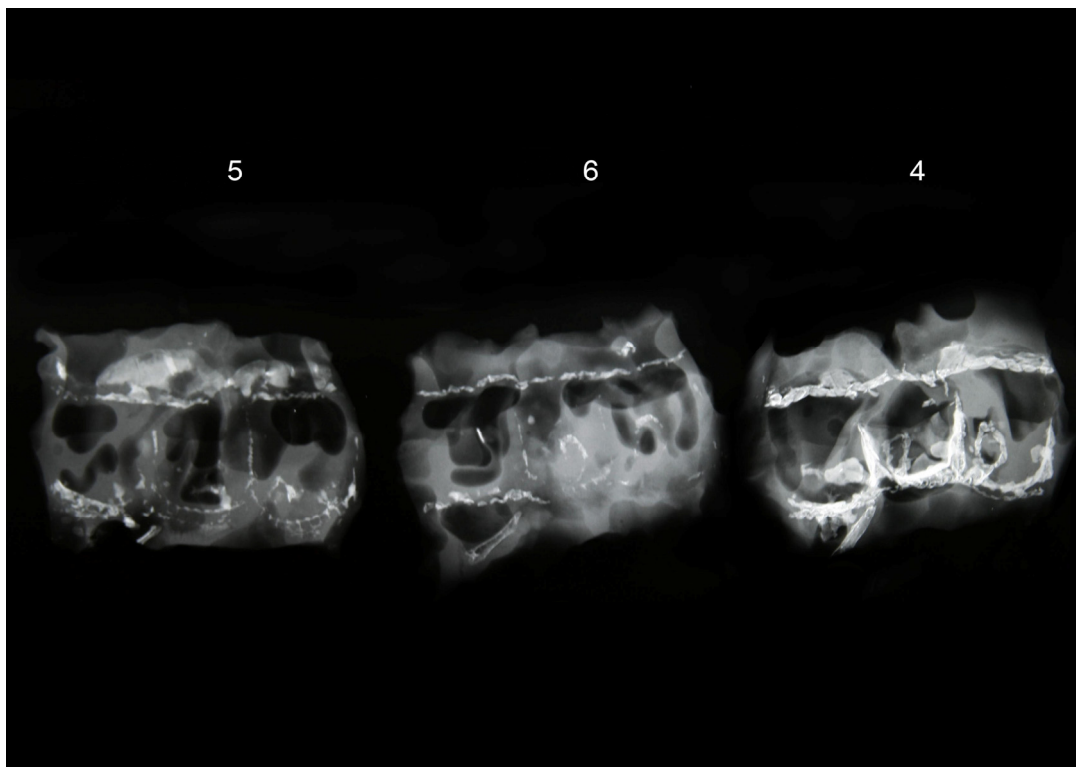


**Figura 16.** CVAP explantado aos 150 dias de pós-operatório, mostrando vegetação, trombos, calcificação e rasgo comissural (Caso 7 – endocardite).

No Anexo E encontram-se discriminados os achados macroscópicos.

### 5.5 Análise dos achados radiológicos

Em todos os CVAPs analisados a calcificação foi uma constante, acometendo principalmente as linhas de sutura, sendo menos evidente no corpo/raiz do CVAP. Todos os CVAPs apresentaram a mesma conformação abaulada na região dos seios de Valsalva, descritas na Análise Macroscópica. A Figura 17 demonstra esses achados.



**Figura 17.** Mamografias dos Casos 5, 6 e 4. Presença de calcificação nas linhas de sutura e na base dos folhetos.



## **5.6 Análise histológica**

### **5.6.1. Aspectos da microscopia óptica**

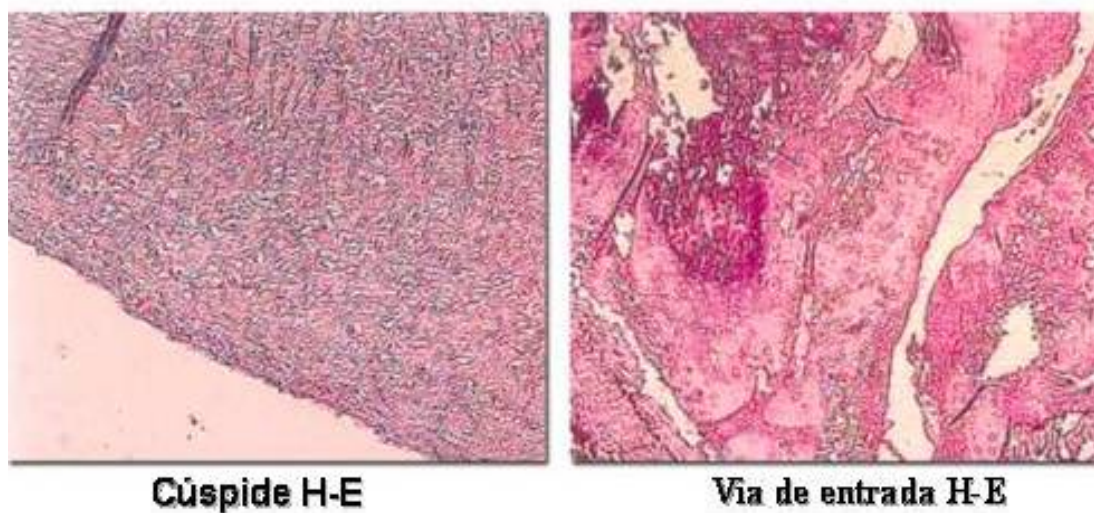
A coloração pela hematoxilina-eosina mostrou que de forma geral há boa preservação do tubo e das cúspides, com áreas de fibrose e de calcificação (por vezes com ossificação e metaplasia condroide), de intensidade variável de caso para caso, especialmente na região da via de entrada.

Histologicamente houve, de forma geral, boa conservação dos feixes colagênicos, sobretudo na região das cúspides com endotelização, conforme Figura 18.

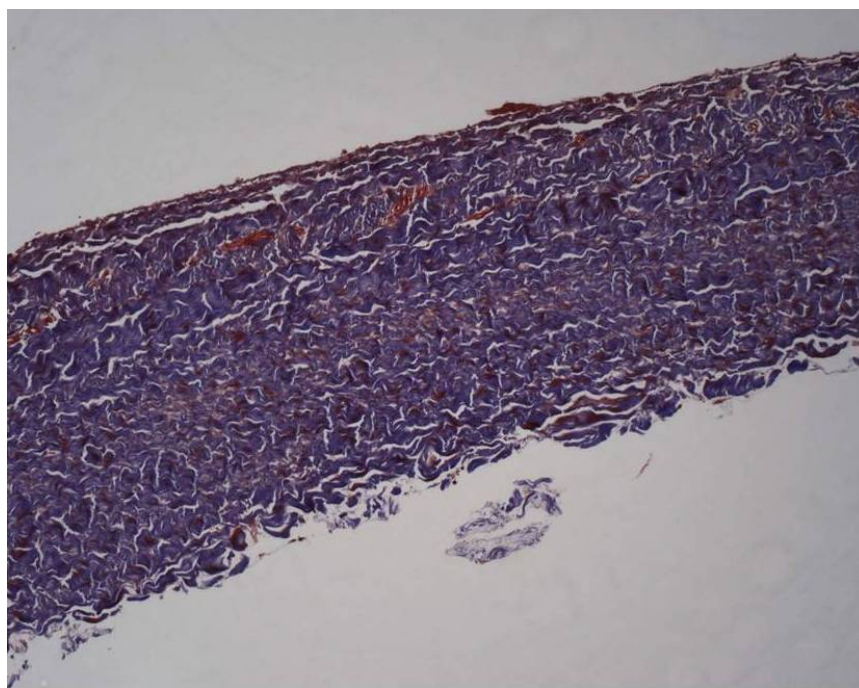
O quadro histopatológico, de uma forma geral, demonstrou boa preservação tecidual da amostragem da região do seio de Valsalva. A camada endotelial mostrou-se contínua por toda a estrutura interna. Não identificou-se trombose, nem sinais de inflamação ativa ou micro-organismos.

As extremidades proximal e distal do tubo mostraram preservação das camadas estruturais, com áreas de tecido de granulação e de fibrose, quase sempre em relação aos pontos cirúrgicos. A camada externa da prótese mostrou-se com espessura irregular, com áreas de fibrose.

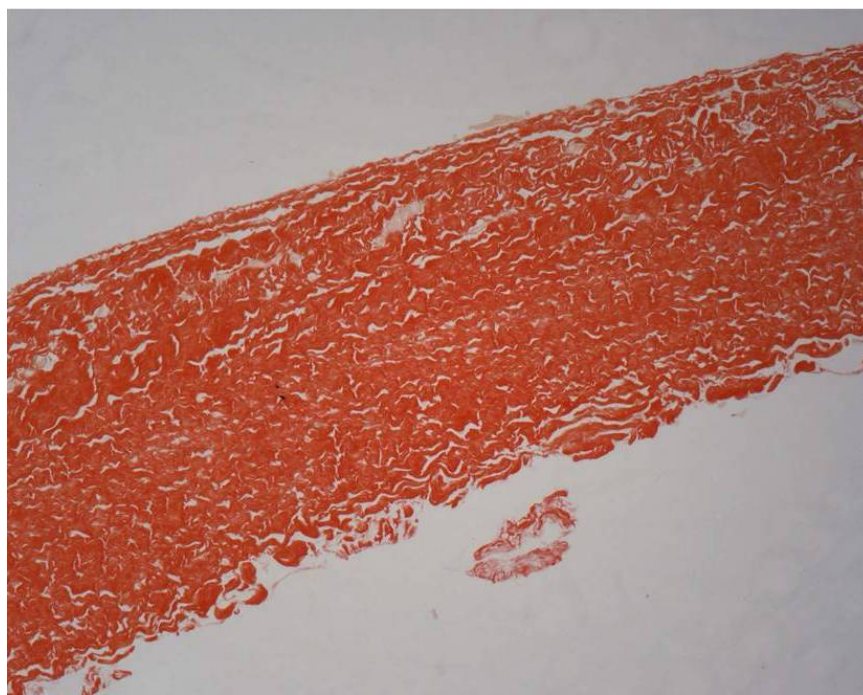
Nos Casos 2 e 7 o quadro histopatológico, de uma forma geral, demonstrou, na região do seio de Valsalva e das cúspides, áreas de descontinuidade endotelial associadas a trombos semiocludentes de padrão fibrinoide. Presença de sinais de inflamação ativa e micro-organismos.



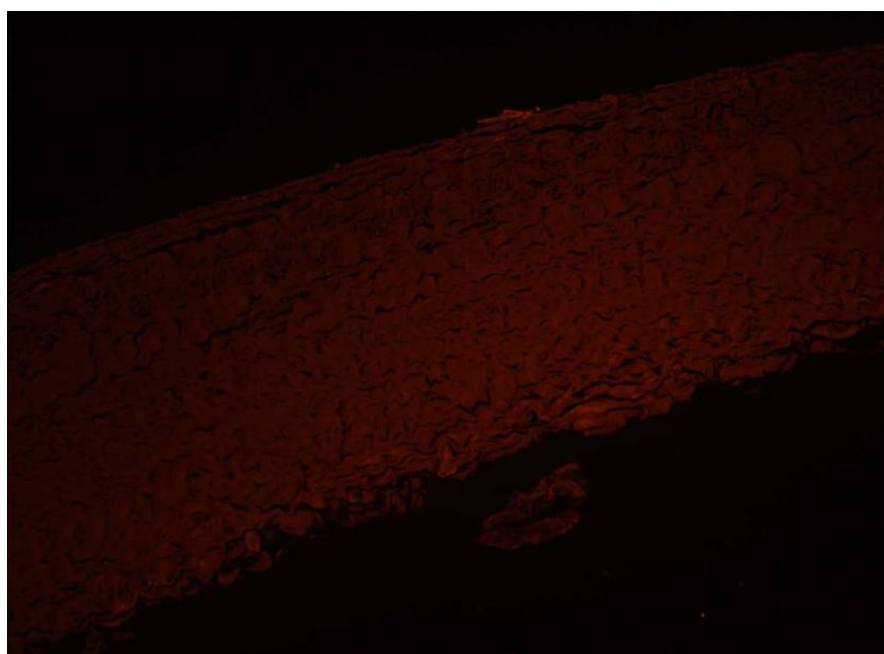
**Figura 18.** Fotos da microscopia óptica (coloração pela Hematoxilina-Eosina) mostrando boa conservação dos feixes colagênicos na cúspide.



**Figura 19.** Corte histológico do CVAP. O colágeno, corado em azul, constitui praticamente todo o tecido, estando bem preservado (Coloração pelo tricrômio de Masson, aumento da objetiva 10x).



**Figura 20.** Corte histológico da prótese. O colágeno, corado em alaranjado, constitui praticamente todo o tecido, estando bem preservado (Coloração pelo picro sirius, aumento da objetiva 10x).



**Figura 21.** Corte histológico da prótese. O colágeno, corado em alaranjado, constitui praticamente todo o tecido, estando bem preservado (Coloração pelo picro sirius com observação sob fluorescência, aumento da objetiva 10x).

### 5.6.1 Aspectos da microscopia eletrônica de transmissão

Após a realização da quantificação de percentual de área ocupada pelos três elementos (colágeno, conteúdo hídrico e células), realizada através de planimetria por contagem de pontos em 36 fotos obtidas com a microscopia eletrônica de transmissão da região dos seios de Valsalva (A), 36 fotos das cúspides (B) e 36 fotos da região mais distal (C) dos CVAPs explantados dos seis animais que não apresentaram endocardite, obtiveram-se os resultados apresentados na Tabela 5.

**Tabela 5.** Valores descritivos do percentual de área, segundo o local.

Área	Local	n	Média	Dp	Mínimo	Máximo	P25	Mediana	P75	p
Colágeno	A	6	60,77	5,86	54,40	69,86	55,81	59,29	66,60	
	B	6	66,12	5,15	57,59	71,85	61,34	67,77	69,81	0,009
	C	6	53,95	4,17	49,17	59,14	50,39	52,86	58,96	
Água	A	6	33,95	5,93	25,21	42,14	28,45	35,01	38,15	
	B	6	26,62	5,78	20,09	36,73	23,11	24,70	31,24	0,016
	C	6	38,94	4,01	32,44	43,13	35,61	39,72	42,28	
Células	A	6	5,30	1,14	3,45	6,90	4,59	5,31	6,12	
	B	6	7,31	1,30	5,60	8,36	5,66	8,04	8,21	0,042
	C	6	7,10	1,86	4,20	8,84	5,60	7,43	8,71	

(\*) nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Friedman

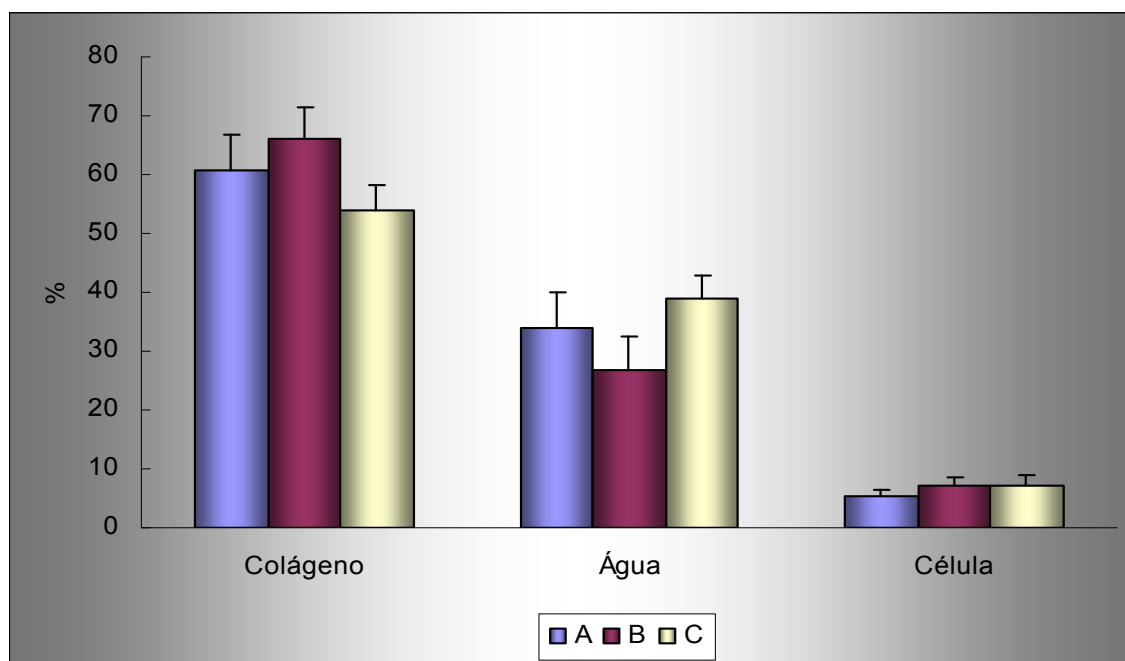
É possível observar que há diferença significativa entre os locais em relação a percentual de colágeno. O local C apresenta percentual significativamente menor de colágeno que os locais A e B ( $p < 0,05$ ).

Na Tabela 5 observa-se que há diferença significativa entre os locais em relação ao percentual de água. O local C apresenta percentual significativamente maior de água que o local B ( $p < 0,05$ ). O Gráfico 8 ilustra esses valores.

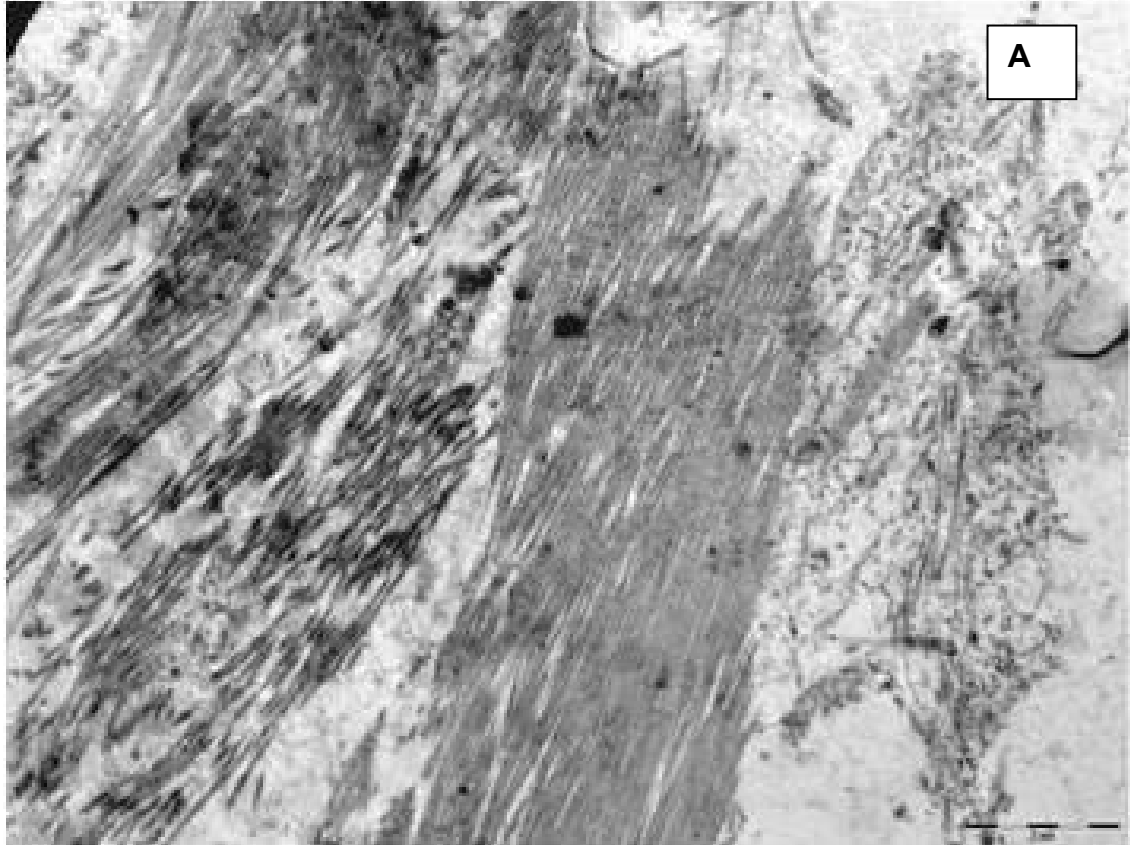
Constata-se ainda pela Tabela 5 que há diferença significativa entre os locais em relação ao percentual de células. O local A apresenta percentual significativamente menor de células que os locais C e B ( $p < 0,05$ ).

As Figuras 22, 23 e 24 exemplificam os aspectos ultraestruturais encontrados em cada região.

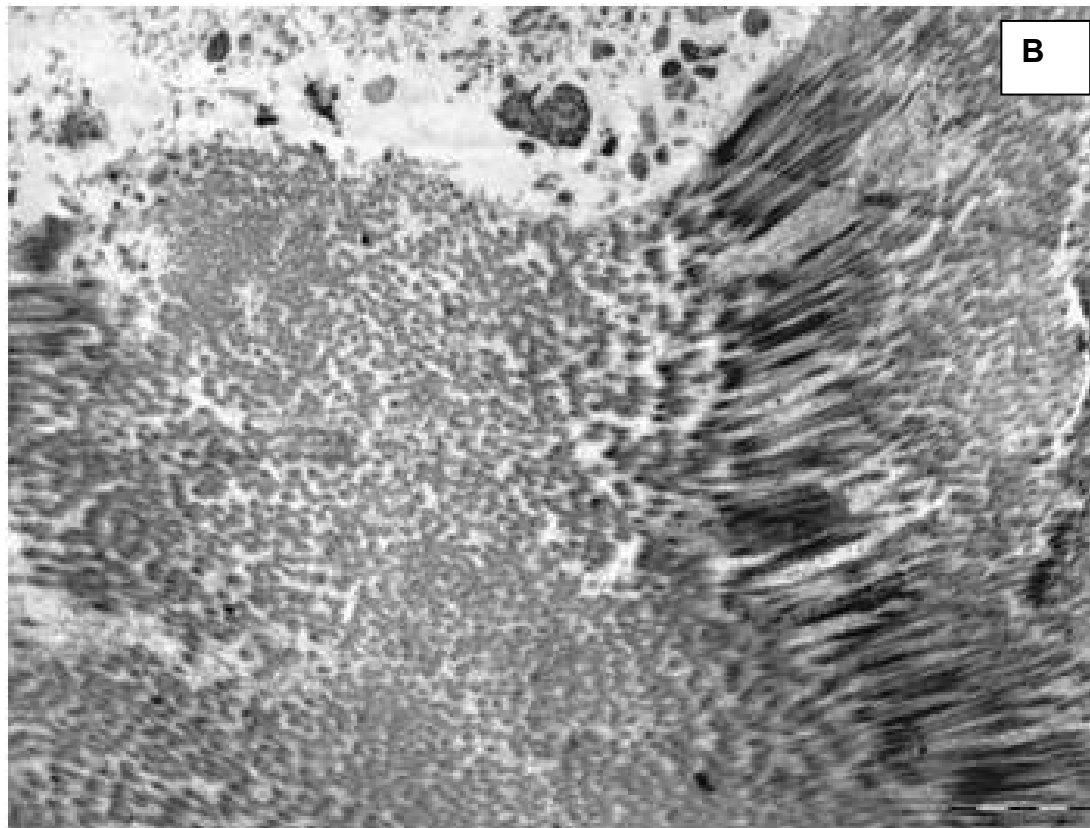
Os dados de quantificação de percentual de área obtidos pela contagem de pontos encontram-se no Anexo F.



**Gráfico 8.** Percentual de área segundo o local (A – Seios, B – Cúspides e C – CVAP distal).

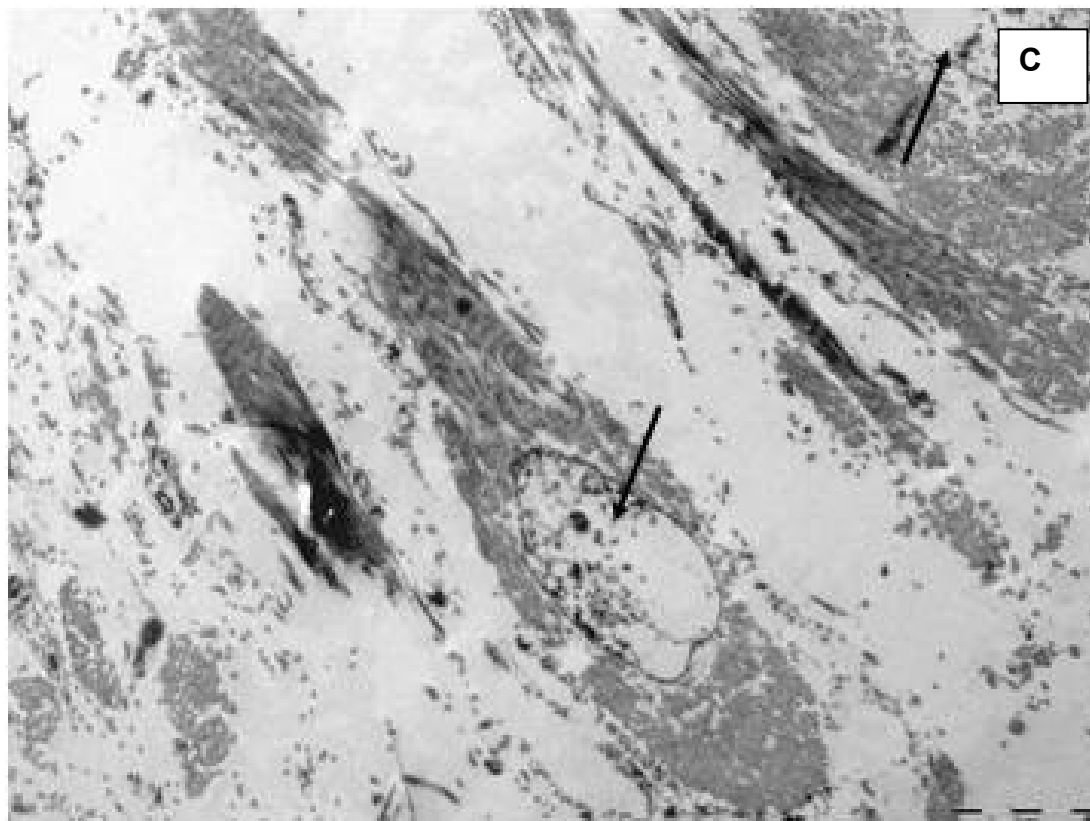


**Figura 22.** Aspecto ultraestrutural, revelado à microscopia eletrônica de transmissão, representativo da região do seio do CVAP, exibindo moderada quantidade de espaços claros entre os densos feixes de colágeno, sem núcleo de permeio representativo na foto (barra representa 2 $\mu$ m).



**Figura 23.** Aspecto ultraestrutural, revelado à microscopia eletrônica de transmissão, representativo da região da cúspide da prótese (CVAP), exibindo poucos espaços claros entre os densos feixes de colágeno, sem núcleo de permeio representativo na foto. (barra representa 2 $\mu$ m).





**Figura 24.** Aspecto ultraestrutural, revelado à microscopia eletrônica de transmissão, representativo da região distal da prótese (CVAP), exibindo grandes espaços claros entre os feixes de colágeno e núcleos de células (setas), possivelmente de fibroblasto de permeio (barra representa 2 $\mu$ m).

## **6 DISCUSSÃO**

---

## 6. DISCUSSÃO

A necessidade de utilização de substitutos valvares e enxertos arteriais valvados vem crescendo em todo o mundo. A inexistência de materiais protéticos mecânicos e sintéticos que dispensem o uso da anticoagulação continua sendo uma realidade<sup>2</sup>. Os tratamentos para fixação e conservação aplicados aos tecidos biológicos usados para confecção de biopróteses permanecem insatisfatórios. A deterioração estrutural, reação imunológica e calcificação dos homo e heteroenxertos<sup>49</sup> pairam como uma ameaça sobre a sua durabilidade. Por outro lado o numero de pacientes especiais que precisam de um substituto valvar ou de um conduto arterial valvado onde a anticoagulação é indesejável, como os idosos<sup>57,68</sup>, também vem aumentando. Há mais de cinquenta anos que pesquisadores de todo o mundo demandam esforços na tentativa de obtenção do substituto valvar ideal<sup>20</sup>.

Ao se tentar desenvolver um novo tipo de prótese valvar as atenções são dirigidas principalmente para três objetivos básicos: total compatibilidade do material utilizado com as necessidades orgânicas e fisiológicas do receptor, permitindo alta durabilidade e ausência de cuidados

especiais com o material utilizado; desenho e desempenho que reproduza fielmente ou o mais próximo disso, a anatomia e a fisiologia do mesmo e por fim considerar o custo, a disponibilidade e a facilidade de sua utilização. No presente estudo objetivamos avaliar os dois últimos aspectos e deliberadamente foi mantido o tratamento padrão do pericárdio bovino pelo glutaraldeído visto que temos o controle histórico do seu uso em ovinos, que é um modelo animal já estabelecido e largamente utilizado nesse tipo de pesquisa<sup>43,44</sup>.

Sripathi e cols.<sup>63</sup> evidenciaram que o anel aórtico complacente favorece uma abertura simétrica e suave dos folhetos determinando maior área efetiva valvar e gradientes transvalvares mínimos o que implica em uma resposta mais fisiológica às demandas de exercício. A meta-análise publicada por Kunadian et al.<sup>71</sup> mostra que as biopróteses sem suporte proporcionam gradientes aórticos menores, maiores áreas valvares efetivas e melhor nível de regressão de massa do ventrículo esquerdo. O CVAP aqui estudado, pelo seu desenho, pela flexibilidade do material utilizado em sua confecção (folhetos de pericárdio bovino fixados a um conduto de mesmo material) e ausência de um anel protético rígido ou semi-rígido apresentou desempenho extremamente satisfatório em comparação com uma bioprótese com suporte, como foi sugerido pelo resultado obtido no estudo hidrodinâmico. Os gradientes transvalvares do CVAP foram bem menores que os de uma bioprótese convencional com suporte.

Verificando a análise ecoDopplercardiográfica comparativa entre o Grupo Controle e o Grupo Teste evidenciamos diferença significativamente

estatística entre os diâmetros diastólicos e sistólicos do ventrículo esquerdo, enquanto que os demais parâmetros analisados foram semelhantes. Como no Grupo Teste havia dois animais com endocardite infecciosa com diferentes graus de incompetência valvar, imaginamos que esse fato certamente pudesse ser o responsável pelas diferenças. Então decidimos refazer o estudo estatístico retirando da amostra os dados dos dois animais com endocardite, cujo resultado encontra-se na íntegra no Anexo G. O re-estudo mostrou que a diferença entre os diâmetros diastólicos deixou de existir ( $p= 0,052$ ), fato este, explicado pela supressão dos dois animais com insuficiência valvar aórtica, que impacta fortemente na dilatação do ventrículo esquerdo. Em relação ao diâmetro sistólico a diferença ainda permaneceu com significância ( $p= 0,017$ ) apesar de ter diminuído o que muito provavelmente foi decorrente do sofrimento miocárdico durante o ato operatório que teve um tempo médio de isquemia de 100 minutos. Encontramos resultados semelhantes nas publicações de Grehan e cols.<sup>77</sup> e de Santos et al.<sup>80</sup> que realizaram o mesmo experimento animal com outros modelos de conduto aórtico valvado.

Ainda observando a análise ecoDopplercardiográfica, desta feita comparando o Grupo Teste entre 30 e 150 dias de pós-operatório, dentre os vários parâmetros analisados, encontramos diferenças entre: peso, espessura do septo interventricular, espessura da parede posterior do ventrículo esquerdo, gradiente transvalvar máximo, gradiente transvalvar médio, diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo e da fração de ejeção, o que no nosso entendimento deveu-se ao ganho pondero-estatural dos

animais estudados, visto que se tratavam ovinos jovens. Por outro lado vale ressaltar que as diferenças mostradas pela estatística, quando avaliadas acuradamente, demonstra que os valores das médias são numericamente muito pequenos, tal como o visto entre as médias da fração de ejeção que mostrou uma variação de 4% (70% para 66%, com  $p= 0,041$ ), o que provavelmente não teria repercussão clínica. O re-estudo estatístico sem os dois animais com endocardite nesta comparação de 30 com 150 dias não evidenciou diferença significativa nos valores da fração de ejeção (de 69% para 67%, com  $p= 0,129$ ), o que certamente foi devido a retirada das amostras com insuficiência valvar aórtica. Os demais parâmetros analisados não se modificaram significativamente.

Na Avaliação angiográfica foram observadas as imagens obtidas com as aortografias realizadas imediatamente após a cirurgia e as feitas imediatamente antes do sacrifício dos animais. Todas mostravam boa mobilidade valvar. Em dois aortogramas pré-explante evidenciou-se incompetência valvar, sendo que em um foi quantificada como severa no outro como moderada e correspondiam aos animais com endocardite, o que certamente foi o agente causador da disfunção protética.

Os valores dos parâmetros hemodinâmicos coletados após a indução anestésica e os de imediatamente antes do explante apresentaram diferença significativa em relação as pressões capilar e arterial pulmonar. Seguindo o mesmo raciocínio que tivemos quando da análise ecoDopplercardiográfica, repetimos o estudo estatístico retirando da amostra os animais com endocardite e verificamos que as diferenças anteriormente

descritas foram mantidas, mas no entanto o débito cardíaco aumentou significativamente de 3,39 l/min para 3,97 l/min com  $p= 0,028$  . Os dados completos do re-estudo estatístico encontram-se demonstrados no Anexo H. Acreditamos que esses achados podem ser explicados primeiro: a agressão cardíaca causada pelo tempo de isquemia miocárdica seria um dos responsáveis, segundo: o ganho pondero-estatural dos animais levou a algum grau de desproporção entre o tamanho do CVAP e a demanda hemodinâmica de cada animal e terceiro: a simples retirada da amostra dos animais que apresentaram disfunção protética foi impactante em relação ao débito cardíaco.

Diversos estudos<sup>48,49,50,51</sup> têm demonstrado que o processo de deterioração estrutural da matriz colagênica e a calcificação de biopróteses inicia nas regiões comissural e anular, que são as áreas de maior tensão e flexão dos folhetos e também nas linhas de sutura, onde há perda da continuidade e integridade do tecido biológico. Robicsek e Thubrikar<sup>48</sup> demonstraram que a perda da complacência da parede da aorta ao nível das comissuras, causa sobrecarga de tensão diminuindo a longevidade dos folhetos. Mais recentemente em 2002, estes mesmos autores publicaram artigo<sup>81</sup>, seguindo a mesma linha de estudo e concluem que a perda da complacência da parede da aorta na região dos seios acarreta uma sobrecarga de trabalho nos folhetos que desencadeia uma seqüência de eventos. Esses se iniciam com pequenas mudanças da sua microestrutura, são seguidos por esclerosamento das válvulas e culminam com calcificação grosseira e distorção das mesmas. Manji et al.<sup>82</sup> estudando a calcificação e

falha estrutural de condutos valvados bioprotéticos tratados pelo glutaraldeído, demonstraram que o glutaraldeído diminui, mas não elimina a antigenicidade do tecido heterólogo, o que causa rejeição celular e humoral levando a calcificação. Dito isto fica fácil entender os achados da avaliação macroscópica, onde a calcificação esteve presente em todos os CVAPs explantados, acometendo principalmente as linhas de sutura e foi menos freqüente no corpo do conduto. Além da calcificação a presença de vegetação, trombos e rotura dos folhetos só foram encontrados nos animais com endocardite.

A análise dos achados radiológicos é totalmente compatível com os da análise macroscópica e já eram esperados.

De Hart e cols.<sup>83</sup>, demonstraram que as fibras colagênicas não só reduzem o stress dos folhetos valvares durante a diástole como também o fazem durante a sístole reduzindo substancialmente a carga de trabalho sobre eles.

Liao et al.<sup>12</sup> demonstraram que o pericárdio bovino tratado pelo glutaraldeído quando implantados em subcutâneo de ratos, mantém a quantidade de colágeno praticamente inalterada após 90 dias, diferentemente da valva aórtica porcina. Vesely e Mako<sup>13</sup>, comprovaram a maior resistência do pericárdio bovino aos movimentos de torção e curvatura a que são submetidos os folhetos valvares, quando comparados com a válvula aórtica porcina e correlacionam esse achado com a melhor preservação do colágeno no pericárdio bovino. Paez e Jorge-Herrero<sup>48</sup> demonstraram que em biopróteses explantadas de humanos o cálcio se



acumula rapidamente nas camadas mais internas do tecido: na camada esponjosa da válvula porcina e na camada fibrosa do pericárdio bovino e que esse achado frequentemente comparado com calcificação óssea, pressupõe um processo multifatorial mediado pelos métodos de preservação e por fatores próprios do hospedeiro. Os achados da análise histológica no que se refere a microscopia óptica foram extremamente similares ao que descrevemos acima.

Mirnajafi et al.<sup>64</sup> demonstraram que na região das comissuras da valva aórtica a rigidez dos folhetos é um terço superior que no restante. Na sístole a rigidez cai e volta aumentar na diástole. Robicsek e Thubrikar<sup>48</sup>, comprovaram o postulado de Leonardo da Vinci de que a formação de vórtex nos seios de Valsalva é determinante para o perfeito fechamento da valva aórtica e baixo gradiente transvalvar. De Hart e cols.<sup>82</sup> estudando o papel das fibras de colágeno na movimentação dos folhetos valvares aórticos evidenciaram que elas sofrem estiramento e retornam ao tamanho normal, dependendo da fase do ciclo cardíaco, atendendo as demandas de trabalho a que são submetidas. Não encontramos na literatura nenhum relato com dados similares ao que obtivemos na análise histológica quando utilizada a microscopia eletrônica de transmissão. Sabendo que o pericárdio bovino utilizado nesse experimento não poderia ter sofrido multiplicação do seu conteúdo colagênico, imaginamos que a maior presença de colágeno na região das cúspides e dos seios, tenha sido motivada por uma reestruturação da disposição das fibras colagênicas. Estas ficaram mais espessas nas regiões de maior demanda de trabalho e mais afiladas onde

foram menos solicitadas. Outros estudos precisam ser realizados para confirmar e explicar esses achados.

Por tudo que já relatamos, o nosso trabalho sugere que o CVAP aqui estudado, poderia apresentar vantagens sobre os condutos que utilizam enxertos arteriais sintéticos e próteses mecânicas, por não necessitar de anticoagulação e apresentar desempenho hemodinâmico superior. Se compararmos o CVAP com condutos valvados que utilizem biopróteses com suporte ainda teríamos o ganho de melhor atuação hemodinâmica. Mesmo confrontando o CVAP com condutos valvados que utilizem valva aórtica porcina sem suporte ainda ficaria a vantagem de que o pericárdio bovino apresenta melhor resistência a calcificação e deterioração estrutural e também, como aponta a literatura já citada, a sua adaptação as demandas de trabalho de uma bioprótese é superior a de outros tecidos heterológos. Apesar dos homoenxertos terem maior resistência a deterioração estrutural, principalmente nos jovens e resposta hemodinâmica superior, ainda assim apresentam a barreira de sua menor disponibilidade para uso em larga escala.

Do ponto de vista técnico, a sua utilização em cirurgias para substituição da aorta ascendente e da valva aórtica, torna este procedimento sofisticado como sendo de fácil execução, pela flexibilidade e resistência do pericardio bovino, permitindo que todas as suturas sejam feitas de maneira contínua, resultando numa hemostasia muito satisfatória. Em caso de necessidade de re-operação por disfunção valvar, esta poderia ser feita de forma rotineira, substituindo-se a apenas a valva sem necessidade de

remoção do conduto arterial. O CVAP pode vir a ser confeccionado com diâmetros e comprimentos que se adaptem a qualquer necessidade.

Em relação a possibilidade do CVAP vir a entrar em uso clínico, creio que pela barreira da falta de um método de preservação tecidual ideal que proporcione longa durabilidade ao tecido heterólogo, não estamos autorizados a realizar esta proposição. Talvez em um grupo muito especial de pacientes, como os idosos, essa proposta possa ser cotejada. Com toda certeza devemos esperar os resultados dos estudos que utilizam engenharia de tecidos e descelularização tissular com repovoamento com células do hospedeiro.

Por fim, acreditamos que essa linha de pesquisa, deva ser continuada. Novas avaliações com estudos hidrodinâmicos poderiam aprimorar este modelo.

Toda pesquisa aponta para novas perguntas. Respostas interessantes poderiam surgir de confrontação deste modelo com outros. Provavelmente no futuro teremos as respostas.

## **7 CONCLUSÕES**

---

## 7. CONCLUSÕES

O conduto valvado aórtico utilizado no presente estudo mostrou que:

- 1- É tecnicamente viável para que se realize a cirurgia de substituição total da aorta ascendente e da valva aórtica com reimplante dos óstios coronarianos neste modelo animal de experimentação.
- 2- Apresenta desempenho hemodinâmico bastante satisfatório em relação aos parâmetros avaliados.
- 3- O pericárdio bovino tratado pelo glutaraldeído utilizado em sua confecção demonstra o mesmo comportamento em relação à preservação estrutural e calcificação daquele relatado na literatura.



## 8. ANEXOS

**Anexo A.** Dados de identificação dos animais de experimentação: número, registro, data de nascimento, idade, sexo, peso e categoria.

<b>Caso</b>	<b>Registro</b>	<b>DN</b>	<b>Idade</b>	<b>Sexo</b>	<b>Peso</b>	<b>Categoria</b>
1	041 AM	2/10/2005	5 meses	M	35kg	Teste
2	051 VD	5/9/2005	6 meses	M	28kg	Teste
3	160 VD	4/1/2006	5 meses	M	30kg	Teste
4	019 VD	8/1/2006	5 meses	F	28kg	Teste
5	052 VD	9/12/2006	6 meses	M	26kg	Teste
6	361 AM	10/1/2006	5 meses	M	26kg	Teste
7	184 AM	15/6/2007	5 meses	M	31kg	Teste
8	182 AM	12/6/2007	5meses	M	31kg	Teste
9	194 BR	7/2/2008	5 meses	M	31kg	Controle
10	191 AZ	10/1/2008	6 meses	M	35kg	Controle
11	2803 AM	12/2/2008	5 meses	M	26kg	Controle
12	187 AM	9/2/2008	5 meses	F	28kg	Controle
13	203 AZ	15/1/2008	6 meses	M	30kg	Controle

**Anexo B.** Dados intraoperatórios (data da cirurgia, tamanho das próteses, tempo de CEC e de clampeamento aórtico).

<b>Caso</b>	<b>Registro</b>	<b>Dat.Cir.</b>	<b>Nº CVAP</b>	<b>TCEC</b>	<b>Tcl</b>
1	041 AM	9/3/2006	17	75 min	61 min
2	051 VD	10/3/2006	19	71min	48 min
3	160 VD	5/6/2006	19	88 min	63 min
4	019 VD	15/6/2007	21	105 min	59 min
5	052 VD	16/6/2007	23	117 min	58 min
6	361 AM	16/6/2007	23	95 min	55 min
7	184 AM	8/11/2007	21	116 min	83 min
8	182 AM	9/11/2007	21	120 min	90 min



**Anexo C.** Variáveis ecodopplercardiográficas.

<b>Ecocardiograma dos carneiros normais - Grupo Controle</b>									
Caso	Peso	Esp. Sept.	Grad. Máx.	Grad. Méd	Area Vao	Esp. pp	DDVE	DSVE	FE
9	32kg	0,7cm	4,6mmHg	2,7mmHg	3,05cm <sup>2</sup>	0,7cm	38mm	26mm	60%
10	38kg	0,7cm	3,4mmHg	1,6mmHg	4,3cm <sup>2</sup>	0,7cm	44mm	26mm	71%
11	36Kg	0,7cm	2,7mmHg	1,5mmHg	3,1cm <sup>2</sup>	0,7cm	38mm	25mm	66%
12	35Kg	0,7cm	2,7mmHg	1,4mmHg	3,2cm <sup>2</sup>	0,7cm	38mm	24mm	62%
13	30Kg	0,6cm	3,0mmHg	1,5mmHg	2,9cm <sup>2</sup>	0,6cm	33mm	22mm	84%

<b>Ecocardiograma dos carneiros operados - Grupo Teste 30 dias de pós-op</b>									
Caso	Peso	Esp. Sept.	Grad. Máx.	Grad.Méd.	Area Vao	Esp. pp	DDVE	DSVE	FE
01	35kg	0,7cm	6,8mmHg	4,2mmHg	2,00cm <sup>2</sup>	0,7cm	42mm	31mm	60%
02	28kg	0,6cm	6,6mmHg	4,2mmHg	2,5cm <sup>2</sup>	0,6cm	38mm	28mm	70%
03	30kg	0,6cm	6,0mmHg	4,2mmHg	2,6cm <sup>2</sup>	0,6cm	40mm	28mm	72%
04	27kg	0,6cm	2,0mmHg	1,0mmHg	3,4cm <sup>2</sup>	0,6cm	42mm	24mm	70%
05	26kg	0,6cm	2,3mmHg	1,2mmHg	3,4cm <sup>2</sup>	0,6cm	44mm	29mm	73%
06	26kg	0,6cm	2,8mmHg	1,8mmHg	3,4cm <sup>2</sup>	0,6cm	38mm	28mm	68%
07	31kg	0,7cm	6,8mmHg	4,2mmHg	2,6cm <sup>2</sup>	0,7cm	42mm	34mm	75%
08	31kg	0,7cm	6,2mmHg	4,0mmHg	2,6cm <sup>2</sup>	0,7cm	40mm	30mm	68%

---

**Ecocardiograma dos carneiros operados - Grupo Teste Pré-sacrifício - 150 dias de pós-op**


---

<b>Caso</b>	<b>Peso</b>	<b>Esp. Sept.</b>	<b>Grad. Máx.</b>	<b>Grad. Méd.</b>	<b>Area Vao</b>	<b>Esp. pp</b>	<b>DDVE</b>	<b>DSVE</b>	<b>FE</b>
01	36kg	0,8cm	6,8mmHg	4,2mmHg	2,00cm <sup>2</sup>	0,7cm	42mm	31mm	60%
02	32kg	0,7cm	6,8mmHg	4,3mmHg	2,5cm <sup>2</sup>	0,7cm	40mm	32mm	65%
03	38kg	0,7cm	6,0mmHg	4,2mmHg	2,6cm <sup>2</sup>	0,7cm	43mm	29mm	70%
04	35kg	0,7cm	2,3mmHg	1,2mmHg	3,2cm <sup>2</sup>	0,7cm	44mm	25mm	68%
05	38kg	0,9cm	2,5mmHg	1,5mmHg	3,2cm <sup>2</sup>	0,7cm	47mm	31mm	70%
06	30kg	0,7cm	3,1mmHg	2,2mmHg	3,2cm <sup>2</sup>	0,7cm	40mm	30mm	65%
07	32kg	0,8cm	6,8mmHg	4,2mmHg	2,8cm <sup>2</sup>	0,7cm	63mm	50mm	60%
08	35kg	0,7cm	6,4mmHg	4,1mmHg	2,5cm <sup>2</sup>	0,7cm	43mm	28mm	70%

---

**Anexo D.** Variáveis hemodinâmicas.

Caso	Parâmetros Hemodinâmicos pré-operatórios				Parâmetros hemodinâmicos pré-explante			
	PAM	PAP	PCP	DC	PAM	PAP	PCP	DC
01	72	9	4	2980	70	12	8	3900
02	80	10	6	3060	68	18	11	3000
03	68	9	4	3050	74	12	8	4000
04	85	8	3	3615	80	14	9	3980
05	75	10	7	3520	92	14	8	4100
06	70	8	4	3450	90	13	7	3700
07	82	10	7	3940	65	28	15	2880
08	90	12	8	3740	85	14	8	4150

PAM, PAP e PCP expressos em mmHg e DC expresso em ml/min

**Anexo E.** Achados macroscópicos.**ACHADOS MACROSCÓPICOS EXPLANTE DO ENXERTO - TROMBOS**

<b>Caso</b>	<b>Raiz</b>	<b>Folhetos</b>	<b>Anel</b>	<b>Seios</b>	
<b>01</b>	0	0	0	0	
<b>02</b>	0	1	0	1	endocardite
<b>03</b>	0	0	0	0	
<b>04</b>	0	0	0	0	
<b>05</b>	0	0	0	0	
<b>06</b>	0	0	0	0	
<b>07</b>	0	1	0	2	endocardite
<b>08</b>	0	0	0	0	

**ACHADOS MACROSCÓPICOS EXPLANTE DO ENXERTO - PEFURAÇÃO**

<b>Caso</b>	<b>Raiz</b>	<b>Folhetos</b>	<b>Anel</b>	<b>Seios</b>	
<b>01</b>	0	0	0	0	
<b>02</b>	0	1	0	0	endocardite
<b>03</b>	0	0	0	0	
<b>04</b>	0	0	0	0	
<b>05</b>	0	0	0	0	
<b>06</b>	0	0	0	0	
<b>07</b>	0	2	0	0	endocardite
<b>08</b>	0	0	0	0	

**ACHADOS MACROSCÓPICOS EXPLANTE DO ENXERTO - CALCIFICAÇÃO**

<b>Caso</b>	<b>Raiz</b>	<b>Folhetos</b>	<b>Anel</b>	<b>Seios</b>	
<b>01</b>	0	1	1	1	
<b>02</b>	0	1	1	1	endocardite
<b>03</b>	0	0	1	0	
<b>04</b>	0	1	1	1	
<b>05</b>	0	1	0	1	
<b>06</b>	2	1	0	0	
<b>07</b>	0	0	1	0	endocardite
<b>08</b>	0	1	1	1	

**Anexo F.** Percentual de área por contagem de pontos em fotografias de microscopia eletrônica de transmissão.

N° Animal	N° Foto	Quantidades			Total	Percentual de area			
		Colágeno	Água	Célula		Colágeno	Água	Célula	TOTAL
01	1A	406	100	54	560	73%	18%	10%	100%
01	1B	416	94	50	560	74%	17%	9%	100%
01	1C	223	330	7	560	40%	59%	1%	100%
01	2A	167	377	16	560	30%	67%	3%	100%
01	2B	367	159	34	560	66%	28%	6%	100%
01	2C	430	60	70	560	77%	11%	13%	100%
01	3A	343	158	59	560	61%	28%	11%	100%
01	3B	365	151	44	560	65%	27%	8%	100%
01	3C	329	195	36	560	59%	35%	6%	100%
01	4A	427	122	11	560	76%	22%	2%	100%
01	4B	470	71	19	560	84%	13%	3%	100%
01	4C	221	332	7	560	39%	59%	1%	100%
01	5A	344	206	10	560	61%	37%	2%	100%
01	5B	399	154	7	560	71%	28%	1%	100%
01	5C	348	153	59	560	62%	27%	11%	100%
01	6A	274	250	36	560	49%	45%	6%	100%
01	6B	258	182	120	560	46%	33%	21%	100%
01	6C	207	317	36	560	37%	57%	6%	100%
02	1A	484	70	6	560	86%	13%	1%	100%
02	1B	414	57	89	560	74%	10%	16%	100%
02	1C	146	372	42	560	26%	66%	8%	100%
02	2A	201	337	22	560	36%	60%	4%	100%
02	2B	332	194	34	560	59%	35%	6%	100%
02	2C	245	255	60	560	44%	46%	11%	100%
02	3A	135	417	8	560	24%	74%	1%	100%
02	3B	410	132	18	560	73%	24%	3%	100%
02	3C	295	255	10	560	53%	46%	2%	100%
02	4A	337	193	30	560	60%	34%	5%	100%
02	4B	521	33	6	560	93%	6%	1%	100%
02	4C	443	105	12	560	79%	19%	2%	100%
02	5A	364	192	4	560	65%	34%	1%	100%
02	5B	295	236	29	560	53%	42%	5%	100%

*Continua*

N° Animal	N° Foto	Quantidades			Total	Percentual de area			
		Colágeno	Água	Célula		Colágeno	Água	Célula	TOTAL
02	5C	348	176	36	560	62%	31%	6%	100%
02	6A	307	207	46	560	55%	37%	8%	100%
02	6B	351	197	12	560	63%	35%	2%	100%
02	6C	230	286	44	560	41%	51%	8%	100%
03	1A	320	138	102	560	57%	25%	18%	100%
03	1B	297	158	105	560	53%	28%	19%	100%
03	1C	195	333	32	560	35%	59%	6%	100%
03	2A	343	158	59	560	61%	28%	11%	100%
03	2B	412	121	27	560	74%	22%	5%	100%
03	2C	340	122	98	560	61%	22%	18%	100%
03	3A	205	346	9	560	37%	62%	2%	100%
03	3B	394	150	16	560	70%	27%	3%	100%
03	3C	335	177	48	560	60%	32%	9%	100%
03	4A	363	173	24	560	65%	31%	4%	100%
03	4B	459	86	15	560	82%	15%	3%	100%
03	4C	347	205	8	560	62%	37%	1%	100%
03	5A	302	231	27	560	54%	41%	5%	100%
03	5B	294	235	31	560	53%	42%	6%	100%
03	5C	216	276	68	560	39%	49%	12%	100%
03	6A	358	191	11	560	64%	34%	2%	100%
03	6B	247	238	75	560	44%	43%	13%	100%
03	6C	219	298	43	560	39%	53%	8%	100%
04	1A	262	234	64	560	47%	42%	11%	100%
04	1B	390	86	84	560	70%	15%	15%	100%
04	1C	343	174	43	560	61%	31%	8%	100%
04	2A	336	137	87	560	60%	24%	16%	100%
04	2B	418	118	24	560	75%	21%	4%	100%
04	2C	292	172	96	560	52%	31%	17%	100%
04	3A	288	264	8	560	51%	47%	1%	100%
04	3B	331	174	55	560	59%	31%	10%	100%
04	3C	292	216	52	560	52%	39%	9%	100%
04	4A	374	181	5	560	67%	32%	1%	100%
04	4B	513	39	8	560	92%	7%	1%	100%
04	4C	431	114	15	560	77%	20%	3%	100%

Continua

N° Animal	N° Foto	Quantidades			Total	Percentual de area			
		Colágeno	Água	Célula		Colágeno	Água	Célula	TOTAL
04	5A	419	123	18	560	75%	22%	3%	100%
04	5B	414	57	89	560	74%	10%	16%	100%
04	5C	380	157	23	560	68%	28%	4%	100%
04	6A	344	201	15	560	61%	36%	3%	100%
04	6B	348	201	11	560	62%	36%	2%	100%
04	6C	241	257	62	560	43%	46%	11%	100%
05	1A	343	158	59	560	61%	28%	11%	100%
05	1B	255	271	34	560	46%	48%	6%	100%
05	1C	292	216	52	560	52%	39%	9%	100%
05	2A	399	106	55	560	71%	19%	10%	100%
05	2B	412	121	27	560	74%	22%	5%	100%
05	2C	412	121	27	560	74%	22%	5%	100%
05	3A	376	164	20	560	67%	29%	4%	100%
05	3B	276	243	41	560	49%	43%	7%	100%
05	3C	216	276	68	560	39%	49%	12%	100%
05	4A	358	191	11	560	64%	34%	2%	100%
05	4B	326	198	36	560	58%	35%	6%	100%
05	4C	301	209	50	560	54%	37%	9%	100%
05	5A	351	192	17	560	63%	34%	3%	100%
05	5B	410	134	16	560	73%	24%	3%	100%
05	5C	343	174	43	560	61%	31%	8%	100%
05	6A	374	181	5	560	67%	32%	1%	100%
05	6B	256	267	37	560	46%	48%	7%	100%
05	6C	230	286	44	560	41%	51%	8%	100%
06	1A	405	143	12	560	72%	26%	2%	100%
06	1B	390	86	84	560	70%	15%	15%	100%
06	1C	293	257	10	560	52%	46%	2%	100%
06	2A	389	157	14	560	69%	28%	3%	100%
06	2B	399	159	12	570	70%	28%	2%	100%
06	2C	397	145	18	560	71%	26%	3%	100%
06	3A	345	180	35	560	62%	32%	6%	100%
06	3B	296	194	70	560	53%	35%	13%	100%
06	3C	431	108	21	560	77%	19%	4%	100%
06	4A	412	121	27	560	74%	22%	5%	100%

Continua

N° Animal	N° Foto	Quantidades			Total	Percentual de area			
		Colágeno	Água	Célula		Colágeno	Água	Célula	TOTAL
06	4B	413	58	89	560	74%	10%	16%	100%
06	4C	256	267	37	560	46%	48%	7%	100%
06	5A	370	140	50	560	66%	25%	9%	100%
06	5B	389	157	14	560	69%	28%	3%	100%
06	5C	210	315	35	560	38%	56%	6%	100%
06	6A	424	104	32	560	76%	19%	6%	100%
06	6B	399	159	12	560	71%	28%	2%	102%
06	6C	400	140	20	560	71%	25%	4%	100%



**Anexo G.** Re-estudo estatístico da análise ecoDopplercardiográfica com a supressão dos Animais 2 e 7, portadores de Endocardite Infecciosa.

Valores descritivos das variáveis do ECO e peso, segundo os grupos de estudo (comparação entre o Grupo Controle e Grupo Teste).

Variável	Grupo	n	Média	Dp	Mínimo	Máximo	P25	Mediana	P75	p
<b>Peso</b>	<b>Controle</b>	5	34,20	3,19	30,00	38,00	31,00	35,00	37,00	0,662
	<b>Estudo</b>	6	35,33	2,94	30,00	38,00	33,75	35,50	38,00	
<b>Esp.Sept.</b>	<b>Controle</b>	5	0,68	0,04	0,60	0,70	0,65	0,70	0,70	0,247
	<b>Estudo</b>	6	0,75	0,08	0,70	0,90	0,70	0,70	0,83	
<b>Grad. Máx.</b>	<b>Controle</b>	5	3,28	0,79	2,70	4,60	2,70	3,00	4,00	0,662
	<b>Estudo</b>	6	4,52	2,10	2,30	6,80	2,45	4,55	6,50	
<b>Grad. Méd.</b>	<b>Controle</b>	5	1,74	0,54	1,40	2,70	1,45	1,50	2,15	0,329
	<b>Estudo</b>	6	2,90	1,43	1,20	4,20	1,43	3,15	4,20	
<b>AV</b>	<b>Controle</b>	5	3,31	0,56	2,90	4,30	2,98	3,10	3,75	0,429
	<b>Estudo</b>	6	2,78	0,50	2,00	3,20	2,38	2,90	3,20	
<b>Esp. pp</b>	<b>Controle</b>	5	0,68	0,04	0,60	0,70	0,65	0,70	0,70	0,662
	<b>Estudo</b>	6	0,70	0,00	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	
<b>DDVE.</b>	<b>Controle</b>	5	38,20	3,90	33,00	44,00	35,50	38,00	41,00	0,052
	<b>Estudo</b>	6	43,17	2,32	40,00	47,00	41,50	43,00	44,75	
<b>DSVE</b>	<b>Controle</b>	5	24,60	1,67	22,00	26,00	23,00	25,00	26,00	0,017
	<b>Estudo</b>	6	29,00	2,28	25,00	31,00	27,25	29,50	31,00	
<b>FE</b>	<b>Controle</b>	5	0,69	0,10	0,60	0,84	0,61	0,66	0,78	0,931
	<b>Estudo</b>	6	0,67	0,04	0,60	0,70	0,64	0,69	0,70	

(\*) nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Mann-Whitney

O grupo estudo apresenta valor significativamente maior do diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo quando comparado ao grupo controle.

**Anexo H.** Valores descritivos das variáveis de Eco e peso dos animais nos momentos 30 e 150 dias de estudo (Grupo Teste). Re-estudo sem os animais com Endocardite.

Variável	Momento	n	Média	dp	Mínimo	Máximo	P25	Mediana	P75	p
<b>Peso</b>	<b>30 dias</b>	6	29,17	3,54	26,00	35,00	26,00	28,50	32,00	<b>0,027</b>
	<b>150 dias</b>	6	35,33	2,94	30,00	38,00	33,75	35,50	38,00	
<b>Esp.Sept.</b>	<b>30 dias</b>	6	0,63	0,05	0,60	0,70	0,60	0,60	0,70	<b>0,034</b>
	<b>150 dias</b>	6	0,75	0,08	0,70	0,90	0,70	0,70	0,83	
<b>Grad.Màx.</b>	<b>30 dias</b>	6	4,35	2,20	2,00	6,80	2,23	4,40	6,35	0,063
	<b>150 dias</b>	6	4,52	2,10	2,30	6,80	2,45	4,55	6,50	
<b>Grad.Méd.</b>	<b>30 dias</b>	6	2,73	1,56	1,00	4,20	1,15	2,90	4,20	0,068
	<b>150 dias</b>	6	2,90	1,43	1,20	4,20	1,43	3,15	4,20	
<b>AV</b>	<b>30 dias</b>	6	2,90	0,59	2,00	3,40	2,45	3,00	3,40	0,059
	<b>150 dias</b>	6	2,78	0,50	2,00	3,20	2,38	2,90	3,20	
<b>Esp. pp</b>	<b>30 dias</b>	6	0,63	0,05	0,60	0,70	0,60	0,60	0,70	<b>0,046</b>
	<b>150 dias</b>	6	0,70	0,00	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	
<b>DDVE</b>	<b>30 dias</b>	6	41,00	2,10	38,00	44,00	39,50	41,00	42,50	<b>0,038</b>
	<b>150 dias</b>	6	43,17	2,32	40,00	47,00	41,50	43,00	44,75	
<b>DSVE</b>	<b>30 dias</b>	6	28,33	2,42	24,00	31,00	27,00	28,50	30,25	0,334
	<b>150 dias</b>	6	29,00	2,28	25,00	31,00	27,25	29,50	31,00	
<b>FE</b>	<b>30 dias</b>	6	0,69	0,05	0,60	0,73	0,66	0,69	0,72	0,129
	<b>150 dias</b>	6	0,67	0,04	0,60	0,70	0,64	0,69	0,70	

(\*) nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Wilcoxon

Pela tabela acima observamos que:

Há acréscimo significativo do peso do momento 30 dias para o momento 150 dias.

Há acréscimo significativo da Espessura Septal., Espessura da parede posterior e Diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo do momento 30 dias para o momento 150 dias.

Não há alteração significativa do Gradiente transvalvar máximo., Gradiente transvalvar médio, Diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo, Fração de ejeção e da área valvar aórtica.

**Anexo I.** Re-estudo estatístico dos Resultados hemodinâmicos sem os Animais com Endocardite.  
Valores descritivos dos valores hemodinâmicos nos momentos 0 e 150 dias de estudo.

Variável	Momento	N	Média	dp	Mínimo	Máximo	P25	Mediana	P75	p
<b>PAM</b>	<b>30 dias</b>	6	76,67	8,85	68,00	90,00	69,50	73,50	86,25	0,344
	<b>150 dias</b>	6	81,83	8,77	70,00	92,00	73,00	82,50	90,50	
<b>PAP</b>	<b>30 dias</b>	6	9,33	1,51	8,00	12,00	8,00	9,00	10,50	0,027
	<b>150 dias</b>	6	13,17	0,98	12,00	14,00	12,00	13,50	14,00	
<b>PCP</b>	<b>30 dias</b>	6	5,00	2,00	3,00	8,00	3,75	4,00	7,25	0,042
	<b>150 dias</b>	6	8,00	0,63	7,00	9,00	7,75	8,00	8,25	
<b>DC</b>	<b>30 dias</b>	6	3392,50	308,96	2980,00	3740,00	3032,50	3485,00	3646,25	0,028
	<b>150 dias</b>	6	3971,67	160,05	3700,00	4150,00	3850,00	3990,00	4112,50	

(\*) nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Wilcoxon

Pela tabela acima observamos que:

Há acréscimo significativo da Pressão arterial pulmonar, da Pressão capilar pulmonar e do Débito cardíaco do momento 0 para o momento 150 dias.

Não há alteração significativo da Pressão arterial média.

## **9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

---

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bentall H, De Bono A. A technique for complete replacement of the ascending aorta. *Thorax*. 1968; 23: 338-9.
2. Radu NC, Kirsch EWM, Hiltion ML, Lagneau F, Drouet L, Loisançe D. Embolic and bleeding events after modified Bentall procedure in selected patients. *Heart*. 2007; 93: 107-12.
3. David TE, Feindel CM, Bos J. Repair of the aortic valve in patients with aortic insufficiency and aortic root aneurysm. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1995; 109: 345-52.
4. Yacoub MH, Gehle P, Chandrasekaran V, Birks EJ, Child A, Radley-Smith R. Late results of a valve-preserving operation in patients with aneurysms of the ascending aorta and root. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1998; 115: 1080-90.

5. Ross DN: Observations on homografts aortic valves. *Guys Hosp Reports*. 1969;118: 5-11.
6. Kouchoukos NT. Aortic and pulmonary autografts for replacement of the aortic valve and aortic root. *Ann Thorac Surg*. 1999; 67: 1846-8.
7. Hilgenberg AD, Mora BN. Composite aortic root replacement with a bovine pericardial conduit. *Ann Thorac Surg*. 2003; 75: 1338-9
8. Urbansky PP. Replacement of the ascending aorta and aortic valve with a valved stentless composite graft. *Ann Thorac Surg*. 1999; 67: 1501-2.
9. Piwnica A, Westaby S. Why stentless valve? In: Piwnica A; Westaby S, editors. *Bioprosthesis Stentless*. Oxford, UK: Isis Medical media Ltd.; 1995. p.3-16.
10. Vrandecic M, Gontijo Filho B, Fantini F, Barbosa J, Martins I, de Oliveira OC, Martins C, Max R, Drumond L. Use of bovine pericardial tissue for aortic valve and aortic root replacement: long-term results. *J Heart Valve Dis*. 1998; 7(2): 195-201.

11. Carrel TP, Berdat P, Englberger L, Eckstein F, Immer F, Seller C, Kipfer B, Schmidt J. Aortic root replacement with a new stentless aortic valve xenograft conduit; preliminary hemodynamic and clinical results. *J Heart Valve Dis.* 2003; 12: 75
12. Liao K, Seifert E, Hoffman D, Yellin EL, Frater RW. Bovine pericardium versus porcine aortic valve: comparison of tissue biological properties as prosthetic valves. *Artif Organs.* 1992;16:361-5.
13. Vesely I, Mako WJ. Comparison of the compressive buckling of porcine aortic valve cusps and bovine pericardium. *J Heart Valve Dis.* 1998; 7:34-9.
14. Xu Yj, Westaby S. Pericardial and Porcine Stentless Aortic Valves: Are They Hemodynamically Different? *Ann Thorac Surg.* 2001; 71:S311-4.
15. Gao G, Wu Y, Grunkemeier GL, Furnary AP, Starr A. Durability of pericardial versus porcine aortic valves. *J Am Coll Cardiol.* 2004; 44:384-8.
16. Mavrilas D, Kapolos J, Koutsoukos PG, Dougenis D. Screening biomaterials with a new in vitro method for potential calcification:

- porcine aortic valves and bovine pericardium. *J Mater Sci Mater Med.* 2004; 15:699-704.
17. Bottio T, Tarzia V, Rizzoli G, Gerosa G. The changing spectrum of Bioprosthesis hydrodynamic performance: considerations on in vitro tests. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2008;7:750-4.
18. Gharib M, Kremers D, Koochsfahani MM, Kemp M. Leonardo's vision of flow visualization. *Experiments in Fluids.* 2002; 33:219-223.
19. Carrel A. On the Experimental Surgery of the Thoracic Aorta and Heart. *Ann Surg.* 1910;52:83-95
20. Harken DW, Curtis LE. Heart surgery: legend a long look. *Am J Cardiology.* 1967; 19: 393-400.
21. Hufnagel CA, Harvey WP. The surgical correction of aortic insufficiency. *Bull Georgetown U Med.* 1953; 6:60.
22. Murray G. Homologous aortic valve segment transplants as surgical treatment of aortic and mitral insufficiency. *Angiology.* 1956; 7:446.



23. Starr A. Total mitral valve replacement: fixation and thrombosis. *Surg Forum* 1960; 11:258.
24. Lam CR, Aram HH, Munnell ER. An experimental study of aortic valve homografts. *Surg Gynaecol Obstets*. 1952; 94:129-35.
25. Piwnica A; Westaby S. Why stentless valves?. In: Piwnica A; Westaby S, editors. *Bioprosthesis Stentless*. Oxford, UK: Isis Medical Media Ltd.; 1995. p.3-16.
26. Barrat-Boyes BG. Homograft aortic valve replacement in aortic incompetence and stenosis. *Thorax*. 1964; 19:131-5.
27. Ross DN. Homograft replacement of the aortic valve. *Lancet*. 1962; 2:487.
28. Carpentier A. From valvular xenograft to valvular bioprosthesis:1965-1970. *Ann Thorac Surg*. 1989; 48:S73-S74.
29. Senning A. Fascia lata replacement of aortic valves. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1967; 54:465-70.
30. Puig LB, Verginelli G, Belotti G, Kawabe L, Frack CC, Pileggi F, Décourt LV, Zerbini EJ. Homologous dura mater cardiac valve:

- preliminary study of 30 cases. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1972;64:154-60.
31. Carpentier A, Lemaigre G, Robert L, Carpentier S. Biological factors affecting long-term results of valvular heterografts. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1969; 58:467-482.
  32. Ionescu MI, Pakrashi BC, Holden MP, Mary DA, Wooler GH. Results of aortic valve replacement with frame-supported fascia lata and pericardial grafts. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1972; 64:340-53.
  33. Barrat-Boyes BG, Roche AH, Whitlock RM. Six year review of the results of freehand aortic valve replacement using an antibiotic sterilized homograft valve. *Circulation.* 1977; 55:353-361.
  34. Strickett MG, Barrat-Boyes BG, Macculloch D. Desinfection of human heart valve allografts with antibiotics in low concentration. *Pathology.* 1983; 15:457-462.
  35. Barratt-Boyes BG, Roche AH, Subramanyan JR, Pemberton JR, Whitlock RM. Long-term follow-up of patients with the antibioticsterilized aortic homograft valve inserted freehand in the aortic position. *Circulation.* 1987; 75:768-777.

36. Ardito RV, Santos JLV, Mayorquim RC, Greco OT, Zaiantchic M, Soto HG, Jacob JLB, Braile DM. Substituição completa da aorta ascendente e da valva aórtica com tubo valvulado de pericárdio bovino. *Rev. Bras. Cir. Cardiovasc.* 1987; 2:129-138.
37. Burman SO. Heterologous heart valves: past, present, and future. *Ann Thorac Surg.* 1989; 48(supplem):75-76.
38. Peacock JA. An in vitro study of the onset of turbulence in the sinus of Valsalva. *Circulation Research.* 1990; 67:448-460.
39. Grimm M, Eybil E, Grabenwoger M, Griesmacher A, Losert U, Bock P, Muller M, Wolner E. Biocompatibility of aldehyde-fixed bovine pericardium. An in vitro and in vivo approach toward improvement of bioprosthetic heart valves. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1991;102:195-201.
40. Gontijo B, Vrandecic M, Fantini F, de Paula e Silva JA, Barbosa JT, Ferrufino AB, Alcocer EO, Castro MF, Drumond LS, Barbosa MR, et al. Replacement of the ascending aorta and aortic arch with bovine pericardial grafts. A preliminary report. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1995;9:127-132.

41. Malashenkov AL, Rusanov NI, Muratov RM, Movsesian RA, Fursov BA, Bykova VA, Tsoukerman GI. Eight years clinical experience with the replacement of the ascending aorta using composite xenopericardial conduit. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2000;18: 168-73.
42. Neves J, Monteiro C, Santos R, Martins A, Ramos S, Ramos T, Calta C, Rueff J, Melo JQ. Histologic and genetic assessment of explanted allograft valves. *Ann Thorac Surg.* 1995; 60: S141-145.
43. Cardiovascular implants – cardiac valve Prostheses; International Standard ISO 5840, 3<sup>rd</sup> edition, 1996. Ref.no.: ISO 58340:1996(E).
44. Ali MI, Kumar P, Bjornstad K, Duran MG. The sheep as an animal model for heart valve research. *Cardiovascular Surgery.* 1996; 4:543-549.
45. Kumar S, Kumar M, Ali M, Becker A, Duran C. critical role of the Sinuses of Valsalva in the Durability of Valved Conduits. *J Heart Valve Dis.* 1996;5:160-167.
46. Jin X, Zhang ZM, Gibson D, Yacoub M, Pepper J. Effects of Valve Substitute on Changes in Left Ventricular Function and

- Hypertrophy After Aortic valve Replacement. *Ann Thorac Surg.* 1996;62: 683-90.
47. Ouyang DW, Salerno CT, Pederson TS, Bolman III RM, Bianco RW. Long-term Evaluation of Orthotopically Implanted Stentless Bioprosthetic Aortic Valves in Juvenile Sheep. *J Invest Surg.* 1998;11:175-83.
48. Robicsek F, Thubrikar M. Role of Sinus Wall Compliance in Aortic Leaflet Function. *Am J Cardiol.* 1999;84: 944-46.
49. Paez J, Jorge-Herrero E. Assessment of Pericardium in cardiac Bioprostheses. *A Review J Biomater Appl.* 1999;13:351-388.
50. Schoen FJ, Levy RJ. Tissue heart valves: current challenges and future reserch perspectives. *J Biomed Mater Res.* 1999; 47:439-465.
51. Schmidt CE, Baier JM. Acellular vascular tissues: natural biomaterials for tissue repair and tissue engineering. *Biomaterials.* 2000; 21:2215-31.
52. Zehr K, Thubrikar M, Gong G, Headrick J, Robicsek F. Clinical Introductio of a Novel Prosthesis for Valve-preserving Aortic Root

- Reconstruction for Annuloaortic Ectasia. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2000; 120: 692-98.
53. Thubrikar M, Robicsek F, Gong G, Fowler B. A New Aortic Root Prosthesis with compliant Sinuses for Valve-Sparing Operations. *Ann Thorac Surg.* 2001;71:S318-22.
54. Urbanski PP, Hacker RW. Replacement of the aortic valve and ascending aorta with a valved stentless composite graft: technical considerations and early clinical results. *Ann Thorac Surg.* 2002;73:695-6.
55. De Paulis R, Matteis G, Nardi P, Scaffa R, Buratta M, Chiariello L. Opening and Closing Characteristics of the Aortic Valve after Valve-Sparing Procedures Using a New Aortic Conduit. *Ann Thorac Surg.* 2001;72:487-94.
56. Silberman S, Shaheen J, Merin O, Fink D, Shapira N, Liviatan-Strauss N, Bitran D. Exercise Hemodynamics of Aortic Prostheses: comparison Between Stentless Bioprostheses and Mechanical Valves. *Ann Thorac Surg.* 2001;72:1217-21.
57. Jin X, Westaby S. Pericardial Stentless Aortic Valves: Are They Hemodinmically Different?. *Ann Thorac Surg.* 2001;71:S311-4.

58. Akar A, Szafranek A, Alexious C, Janas R, Jasinski M, Swannevelder J, Sosnowski A. Use of Stentless Xenograft in the Aortic Position: Determinants of Early and late Outcome. *Ann Thorac Surg.* 2002;74:1450-8.
59. De Paulis R, Matteis G, Nardi P, Scaffa R, Buratta M, Chiariello L. Analysis of Valve Motion After the Reimplatation Type of Valve-Sparing Procedure (David I) with a New Aortic Root Conduit. *Ann Thorac Surg.* 2002;74:53-7.
60. Carrel TP, Berdat P, Englberger L, Eckstein F, Immer F, Seiler C, et al. Aortic root replacement with a new stentless aortic valve xenograft conduit: preliminary hemodynamic and clinical results. *J Heart Valve Dis.* 2003;12:752-7.
61. Siniawski H, Lehmkuhl H, Weng Y, Pasic M, Yankah C, Hoffmann M, et al. Stentless aortic valves as an alternative to homografts for valve replacement in active infective endocarditis complicated by ring abscess. *Ann Thorac Surg.* 2003;75:803-8.
62. Hemmer W, Botha C, Bohm J, Herrmann T, MD, Starck C, Rein J-G. Replacement of the aortic valve and ascending aorta with an

- extended root stentless xenograft. *Ann Thorac Surg.* 2004;78:2150-3.
63. Sripathi V, Kumar R, Balakrishnan K. Further insights into normal aortic valve function: Role of a compliant aortic root on leaflet opening and valve orifice area. *Ann Thorac Surg.* 2004;77:844-51.
64. Aybek T, Sotiriu M, Wohleke T, Miskovic A, Simon A, Doss M, Dogan S, Wimmer-Greinecker G, Moritz A. Valve opening and closing dynamics after different aortic valve-sparing operations. *J Heart Valve Dis.* 2005; 14:114-20.
65. Mirnajafi A, Raymer J, McClure L, Sacks M. The flexural rigidity of the aortic valve leaflet in the commissural region. *J Biomech.* 2006; 39:2966-73.
66. Ali A, Halstead J, Cafferty F, Sharples L, Rose F, Coulden R, Lee E, Dunning J, Argano V, Tsui S. Are stentless valves superior to modern stented valves? A prospective randomized trial. *Circulation.* 2006; 114(SI):I535-40.
67. Maselli D, De Paulis R, Scaffa R, Weltert L, Bellisario A, Salica A, Rissi A. Sinotubular junction size affects aortic root geometry and aortic valve function in the aortic reimplatation procedure: An in



- vitro Study using the Valsalva graft. *Ann Thorac Surg.* 2007; 84: 1214-8.
68. Pomerantzeff PMA, Brandão CMA, Guedes MAV, Braile DM. “Less Stented” Bovine Pericardial Xenograft: A New Concept. *Artificial Organs.* 2007;31:70-86.
69. Etz C, Homann T, MS, Rane N, Bodian C, Di Luozzo G, Plestis K, Spielvogel D, MD, Griep R. Aortic root reconstruction with a bioprosthetic valved conduit: A consecutive series of 275 procedures. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2007;133:1455-63.
70. Morell V, Wearden P. Experience with bovine pericardium for the reconstruction of the aortic arch in patients undergoing a Norwood procedure. *Ann Thorac Surg.* 2007;84:1312-5.
71. Kunadian B, Vijayalakshmi K, Thornley A, Belder M, Hunter S, Kendall S, Graham R, Stewart M, Thambyrajah J, Dunning J. Meta-analysis of valve hemodynamics and left ventricular mass regression for stentless versus stented valves. *Ann Thorac Surg.* 2007;84:73-9.
72. Carrel TP, Schoenhoff FS, Schmidt J, Stalder M, Eckstein FS, Engleberger L. Deleterious outcome of No-react-treated stentless

- valved conduits after aortic root replacement: why were warnings ignored? *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2008; 136:52-7.
73. Kirsch M, Ooka T, Zannis K, Deux J-F, Loisançe D. Bioprosthetic replacement of the ascending thoracic aorta: What are the options? *Eur J Cardiothorac Surg.* 2009;35:77-82.
74. Bayne K. Revised guide for the care and use of laboratory animals available. *The Physiologist.* 1996; 3:205-211.
75. Brasil. Presidência da República. Lei n. 6.638, de 08 de maio de 1979. Diário Oficial da União, Brasília (DF). 1979
76. New York: ITHACA, editor. Nomina anatomica veterinaria.: 1983
77. Khaghani A; Amersham (GB). *Valve Prosthesis.* United States patent US 2009/0118826 A1. 2009 May 7.
78. Grehan JF, Casagrande I, Oliveira EL, Santos PC, Pessa CJ, Gerola LR, Buffolo E, Mrachek J, Norris ME, Lahti MT, Bianco RW. A Juvenile Sheep Model for the Long-term Evaluation of Stentless Bioprosthesis Implanted as Aortic Root Replacements. *J Heart Valve Dis.* 2001;10:505-12.

79. Rosner B. - Fundamentals of Biostatistics - Boston, PWS Publishers, Second edition, 1986, 584pp.
80. Santos PC, Gerola LR, Pessa CJN, Branco JN, Casagrande I, Buffolo E. Implante de tubo valvulado bioprótese “stentless” em posição aórtica: estudo experimental em ovinos. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2002;17:90-98.
81. Robicsek F, Thubrikar M, Fokin A. Cause of Degenerative Disease of the Trileaflet Aortic Valve: Review of Subject and Presentation of a New Theory. *Ann Thorac Surg* 2002;73:1346-54.
82. Manji R, Zhu L, Nijjar N, Rayner D, Korbitt G, Churchill T, Rajotte R, Koshal A, Ross D. Glutaraldehyde-Fixed Bioprosthetic Heart Valve Conduits Calcify and Fail From Xenograft Rejection. *Circulation* 2006;114:318-327.
83. De Hart J, Peters G, Schreurs P, Baaijens F. Collagen fiber reduce stress and stabilize motion of aortic valve leaflets during systole. *Journal of Biomechanics* 2004;37:303-311.