

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

Hernando Emilio González Hormiga¹

RESUMO

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

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

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

ABSTRACTS

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

Keywords: Histometry, phlebotomy, thrombophlebitis, hemostasis.

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

RESUMEN

Evaluación morfológica de la vena cefálica de cinco equinos saludables sometida a pinzamiento fue realizada. Las pinzas hemostáticas evaluadas fueron Diffenbach bulldog, De Bakey Bulldog, Rochester recta y De Bakey cremallera. Después de 15 minutos de aplicadas las pinzas

¹ Centro de Veterinaria y Zootecnia. Grupo de Investigación INCA-CES. Universidad CES. Colômbia. Correspondência. nanoarts@hotmail.com

mencionadas fue realizada la flebectomía y los diferentes cortes histológicos de las venas fueron preparados y coloraciones de Hematoxilina-Eosina y Tricrimico de Mansson fueron evaluadas por microscopia de luz. El análisis morfológico de la vena fue realizado usando una escala de lesiones vasculares post pinzamiento. Las pinzas hemostáticas con serrillamiento transversal y cierre de tipo cremallera fueron las que generaron mas cambios, marcada vacuolizacion de las células musculares en la túnica media y perdida evidente del numero de células endoteliales en la túnica intima de la vena estudiada.

Palabras clave: Histometria, flebectomía, tromboflebitis, hemostasia.

INTRODUÇÃO

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

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

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

MATERIAIS E MÉTODOS

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

O procedimento cirúrgico com a colocação das pinças hemostáticas na veia cefálica de cada animal se deu após jejum de 12 horas, com os animais mantidos em tronco e tranquilizados com 1 mg/kg de xilazina 10%¹, por via intravenosa. Em seguida, realizou-se o bloqueio anestésico regional com 5 ml de cloridrato de lidocaína 2% sem vasoconstritor². Após antisepsia foi realizado o acesso cirúrgico à veia cefálica por incisão da pele com bisturi sobre a veia em questão, posicionado em sentido axial ao rádio, com comprimento aproximado de dez centímetros. Em seguida foi realizada a divulsão dos tecidos adjacentes com tesoura Mayo romba, fazendo a exposição de segmento venoso de aproximadamente seis centímetros. A sequência de aplicação das pinças de proximal para distal foi realizada mediante alternância em substituição onde P1 (Difffenbach bulldog), P2 (De Bakey bulldog), P3 (Rochester reta) ao P4 (De Bakey com cremalheira) representam as pinças e o Segmento Sem Pinçamento (SSP) foi controle comparativo com os demais segmentos pinçados. As pinças com cremalheira

¹ Sedomin 10% cloridrato de xilazina. Fco x 20 ml König

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

(Rochester e De Bakey) foram aplicadas empregando o máximo ponto de fechamento. O segmento SSP foi sempre localizado um centímetro mais proximal que a primeira pinça e a distância entre as pinças foi de cinco milímetros. A distribuição variada da aplicação das pinças teve por intenção a não ocorrência de interferências entre elas na repetição do posicionamento destas no vaso.

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

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

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

O grau de lesão da parede foi qualificado a partir de uma escala adaptada de 0 a 3, descrita por Margovsky et al. (7,8), onde “0” corresponde à ausência de lesão e “3” a lesão grave, para fazer a adaptação da escala foram retiradas as observações da lamina elástica dada a ausência desta estrutura nas veias.

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

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

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

RESULTADOS

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

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

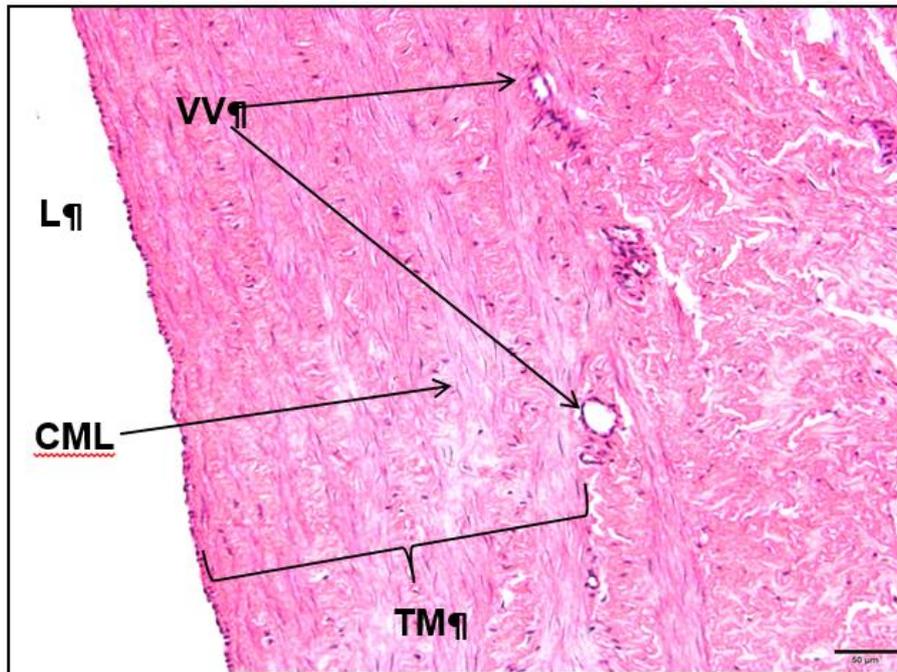


Figura 1. Fotomicrografia do segmento sem pinçamento da veia cefálica do Animal A1 no aumento de 20X e na coloração de HE, (L) Luz do vaso; (TM) Túnica média; (VV) *Vasa Vasorum* e (CML's) Células Musculares Lisas.

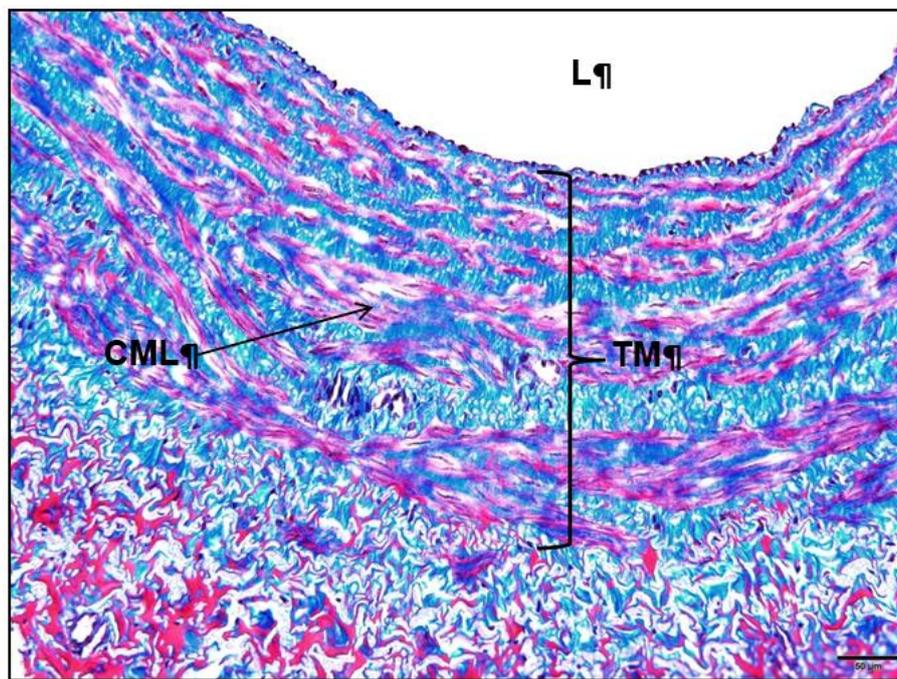


Figura 2. Fotomicrografia do segmento sem pinçamento da veia cefálica do Animal A5 no aumento de 20X e na coloração de TM: (L) Luz do vaso; (TM) Túnica média e (CML's) Células Musculares Lisas.

Do lado da luz do vaso é possível identificar o endotélio. Nele ressaltam os núcleos das células endoteliais dispostas em uma única camada celular plana e ininterrompida. A túnica média apresenta as fibras musculares lisas com os seus núcleos alongados e fusiformes e alguns com aparência de saca-rolhas quando contraídos.

As lâminas dos segmentos de veia cefálica foram avaliadas na microscopia óptica e cada uma classificada segundo o escore adaptado para veias desenvolvido pelo Margovsky et al. (7)

de grau 0 a grau 3 como descritos nas figuras 3, 4, 5, 6 sendo os resultados apresentados na Tabela 1.

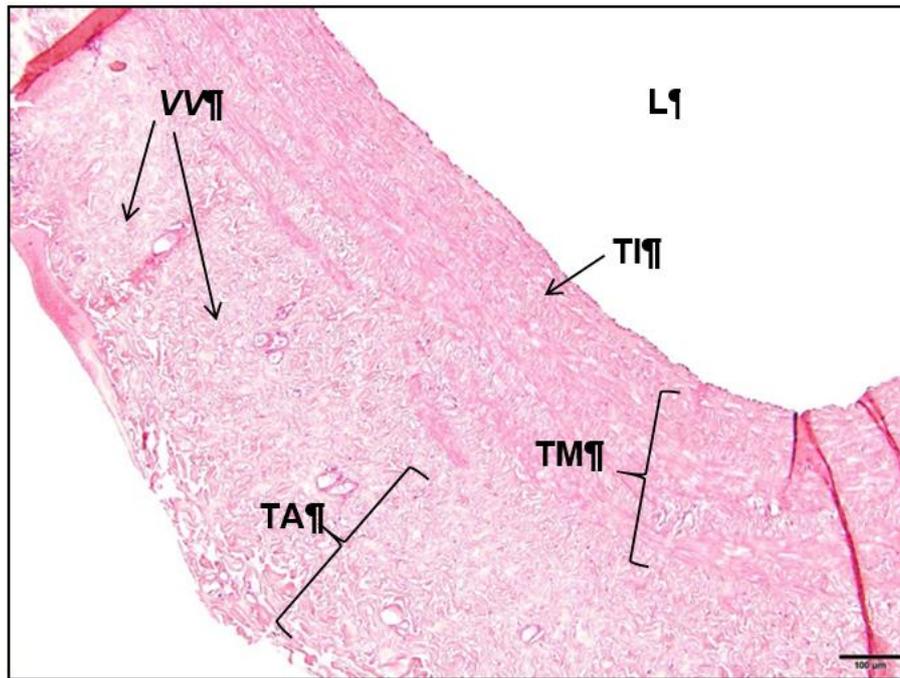


Figura 3. Fotomicrografia do segmento sem pinçamento da veia cefálica do Animal A5 no aumento de 10X e na coloração HE. Grau 0 (Sem lesão), não são observados danos nas túnicas íntima (TI), média (TM) ou adventícia (TA). Os Vasa Vasorum (VV) indicados pelas setas e a Luz do vaso (L).

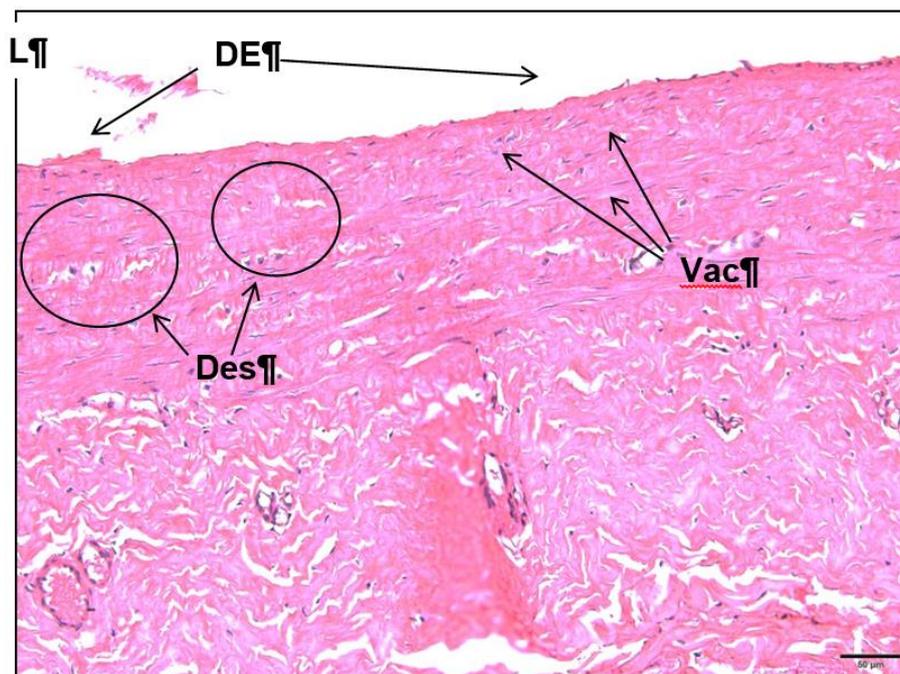


Figura 4. Fotomicrografia de veia cefálica do animal A3 pinçado com a pinça P2 no aumento de 20X e na coloração HE. Grau 1 (Lesão leve), Dano leve no endotélio (DE), leve vacuolização (Vac), desarranjo das células musculares na túnica média (Des) e a Luz do vaso (L).

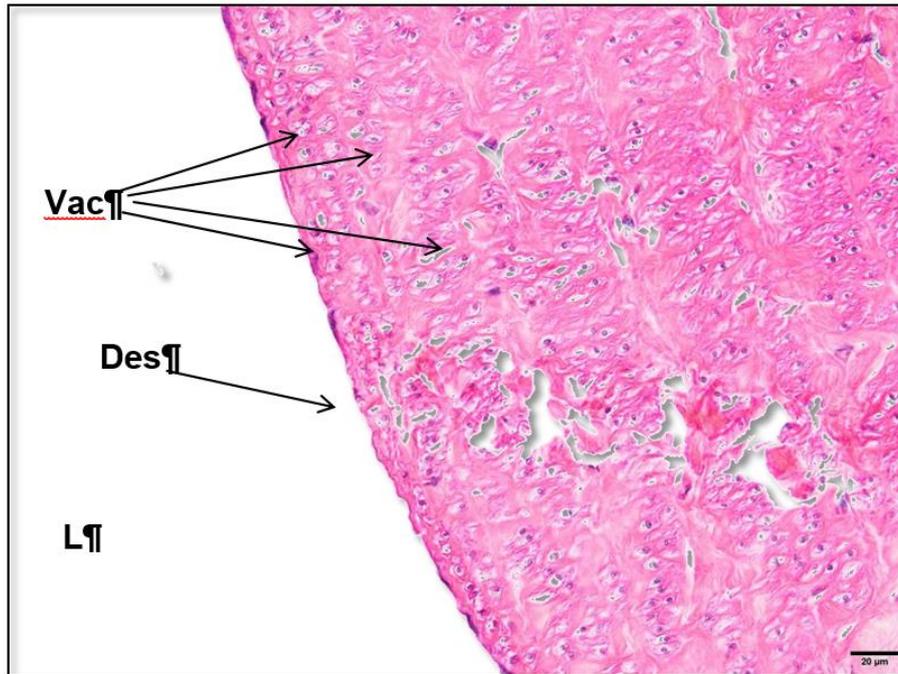


Figura 5. Fotomicrografia de veia cefálica do animal A1 pinçado com a pinça P4 no aumento de 40X e na coloração HE. Grau 2 (Lesão moderada), Vacuolização (Vac) das células musculares na média, (Des) desarranjo da túnica média, ruptura parcial e perda significativa de células endoteliais e a Luz do vaso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

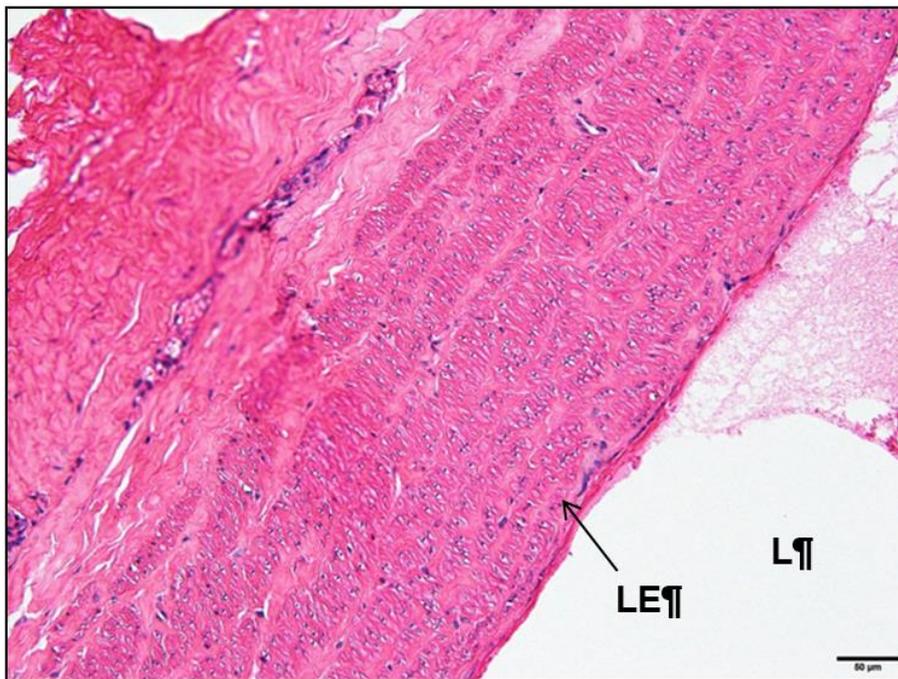


Figura 6. Fotomicrografia de veia cefálica do animal A2 pinçado com a pinça P4 no aumento de 20X e na coloração HE Grau 3 (Lesão grave), Vacuolização das células musculares na média, ruptura parcial e (Des) desarranjo marcado da túnica média, perda significativa de células endoteliais e a Luz do vaso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

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

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

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

DISCUSSÃO

Como observado nas laminas os segmentos sem pinçamento apresentaram características de normalidade comparáveis com o descrito na literatura, tornando-se este segmento o padrão comparativo para cada segmento pinçado.

A avaliação morfométrica nos segmentos sem pinçamento das túnicas média e adventícia foi diferente em todos os animais, mas a espessura da sua íntima e a porcentagem de colágeno foram iguais. Quando avaliados os segmentos pinçados, foi observado que as pinças que causaram maior lesão foram as com fechamento tipo cremalheira (Rochester reta e DeBakey com cremalheira), onde a maior força foi gerada pelas pinças laparoscópicas com este tipo de fechamento.

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

Pinças com fechamento autoestático ou tipo Bulldog causaram menor lesão, pois a força de fechamento é menor que a que aplicada no primeiro ponto de fechamento de pinças tipo cremalheira, como observado por Kuo et al. (6).

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

Os escores mais altos na escala de Margovsky et al. (8) foram obtidos pelas pinças tipo cremalheira e no comparativo do serrilhamento foi o transversal que causou mais alterações na parede da veia cefálica. É importante destacar que a pinça Rochester apresentou, além, fragmentação das túnicas média e adventícia em alguns indivíduos, mesmo com o maior grau na escala de Margovsky et al. (8) foram observados danos adicionais, e pode se afirmar que sua aplicação na oclusão temporária esta contraindicada. A força gerada pelas pinças com fechamento tipo cremalheira foi suprafisiológica.

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

O aprimoramento das técnicas cirúrgicas precisa da experimentação na busca do aperfeiçoamento, diferentes técnicas inovadoras para o controle da pressão das pinças (15,10) poderiam oferecer alternativas para diminuir o impacto das oclusões temporárias. A oclusão feita empregando o balão intraluminal no trabalho de Ozalp et al. (17) quando comparado com a pinça De Bakey, foi a técnica de oclusão com menor dano na parede vascular, isto pode ser determinante ainda mais quando as intervenções cirúrgicas são feitas em vasos acometidos por vasculopatias. No estudo de Moore et al. (18), as laçadas elásticas foram ainda menos traumáticas que a oclusão feita com o balão intraluminal. Dobrin (15) reportou melhores resultados quando comparada com a pinça De Bakey.

Segundo Dujovny et al. (4), a força necessária para conseguir a oclusão temporária efetiva e segura de um vaso poderia resultar de um cálculo matemático onde participam a pressão sanguínea, o diâmetro do vaso, a elasticidade da parede e a superfície de contato da pinça com o vaso. No caso das veias a mínima força de oclusão vascular será menor quando comparadas com artérias de calibre similar só pelo fato de que a pressão sanguínea venosa é menor do que a arterial, porém, as alterações produzidas pela pinça De Bakey com cremalheira nas veias cefálicas dos equinos neste trabalho foram as mesmas que descritas por Margovsky et al. (7), em artérias carótida e femoral de ovelhas.

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

Neste estudo a aplicação das pinças foi realizada em equinos sadios pelo que os resultados poderiam ser diferentes quando os vasos estejam sob a influência de algum tipo de alteração. No trabalho de Slayback et al., (16) o pinçamento de artérias de coelhos resultou em maiores lesões em coelhos alimentados com dietas aterogênicas.

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

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

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aukland A, Hurlow RA. Carotid stenosis due to clamp injury. *Br Med J.* 1981;282(6281):2013.
2. Jackiewicz TA, McGeachie JK, Tennant M. Structural recovery of small arteries following clamp injury: a light and electron microscopic investigation in the rat. *Microsurgery.* 1996;17(12):674-80.
3. Manship LL, Moore WM, Bynoe R, Bunt TJ. Differential endothelial injury caused by vascular clamps and vessel loops. II. Atherosclerotic vessels. *Am Surg.* 1985;51(7):401-6.
4. Dujovny M, Wakenhut N, Kossovsky N, Gomes CW, Laha RK, Leff L, et al. Minimum vascular occlusive force. *J Neurosurg.* 1979;51(5):662-8.

5. Gersak B, Trobec R, Krisch I, Psenicnik M. Loss of endothelium-mediated vascular relaxation as a response to various clamping pressures. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1996;10(8):684-9.
6. Kuo J, Ramstead K, Salih V, Coumbe A, Graham TR, Lewis CT. Effect of vascular clamp on endothelial integrity of the internal mammary artery. *Ann Thorac Surg.* 1993;55(4):923-6.
7. Margovsky AI, Chambers AJ, Lord RS. The effect of increasing clamping forces on endothelial and arterial wall damage: an experimental study in the sheep. *Cardiovasc Surg.* 1999;7(4):457-63.
8. Margovsky AI, Lord RS, Meek AC, Bobryshev YV. Artery wall damage and platelet uptake from so-called atraumatic arterial clamps: an experimental study. *Cardiovasc Surg.* 1997;5(1):42-7.
9. Babin-Ebell J, Gimpel-Henning K, Sievers HH, Scharfschwerdt M. Influence of clamp duration and pressure on endothelial damage in aortic cross-clamping. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2010;10(2):168-71.
10. Zhang Y, Kanetaka H, Sano Y, Kano M, Kudo T, Sato T, et al. Pressure controlled clamp using shape memory alloy for minimal vessel invasion in blood flow occlusion. *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 2013;19(1):35-42.
11. Minderjahn A, Dahm HH. Scanning electron microscope observations of microvascular anastomosis in the rat carotid artery. *J Maxillofac Surg.* 1979;7(3):225-34.
12. Darcin OT, Cengiz M, Ozardali I, Andac MH. Pressure-controlled vascular clamp: a novel device for atraumatic vessel occlusion. *Ann Vasc Surg.* 2004;18(2):254-6.
13. Moore WM, Manship LL, Bunt TJ. Differential endothelial injury caused by vascular clamps and vessel loops. I. Normal vessels. *Am Surg.* 1985;51(7):392-400.
14. Pabst TSR, Flanigan DP, Buchbinder D. Reduced intimal injury to canine arteries with controlled application of vessel loops. *J Surg Res.* 1989;47(3):235-41.
15. Dobrin PB, McGurrin JF, McNulty JA. Chronic histologic changes after vascular clamping are not associated with altered vascular mechanics. *Ann Vasc Surg.* 1992;6(2):153-9.
16. Slayback JB, Bowen WW, Hinshaw DB. Intimal injury from arterial clamps. *Am J Surg.* 1976;132(2):183-8.
17. Ozalp B, Canbaz S, Huseyinova G, Duran E. Histopathological comparison of vascular wall damage created by external cross-clamp and intraluminal balloon occlusion techniques. *J Cardiovasc Surg.* 2009;50(4):545-53.
18. Moore Jr WM, Bunt TJ, Hermann GD, Fogarty TJ. Assessment of transmural force during application of vascular occlusive devices. *J Vasc Surg.* 1988;8(4):422-7.

Recebido em: 01/11/2016

Aceito em: 13/09/2017