

# Considerações Técnicas no Treinamento de Anastomoses Microvasculares em Laboratório de Microcirurgia

## *Microvascular Anastomosis in the Laboratory – Technical Considerations*

Gustavo Rassier Isolan<sup>1</sup>  
 Paola Maria Brolin Santis-isolan<sup>2</sup>  
 Samuel Dobrowolski<sup>3</sup>  
 Marta Giotti Cioato<sup>4</sup>  
 Fabíola Schons Meyer<sup>5</sup>  
 Ápio Cláudio Martins Antunes<sup>6</sup>  
 Adamastor Humberto Pereira<sup>7</sup>  
 Frederico Falcetta<sup>3a</sup>  
 Pedro Mousquer<sup>3a</sup>

### RESUMO

Anastomoses microvasculares são um procedimento cirúrgico complexo e um armamento essencial utilizado em diversas subespecialidades. A primeira etapa de treinamento em anastomose microcirúrgica deve ser sempre no laboratório. Este artigo é uma revisão sobre os fatores envolvidos no para a realização de anastomoses microvasculares. Instrumental cirúrgico, microscópio, estrutura do laboratório, procedimentos cirúrgicos, questões éticas e parâmetros radiológicos e histológicos são discutidos.

**Palavras-chave:** anastomose microvascular, laboratório de microcirurgia, técnica operatória.

### ABSTRACT

Microvascular anastomosis is a complex surgical procedure and a paramount surgical armamentarium used in several subspecialties. The first step of training in microsurgical anastomosis must be always in the microsurgical laboratory. This article is a comprehensive review of all issues involved in laboratory to perform microvascular anastomosis. Surgical instruments, microscope, laboratory installations, surgical procedures, ethical issues, radiological and histological parameters are discussed.

**Keywords:** microvascular anastomosis, microsurgical laboratory, microsurgical techniques.

### INTRODUÇÃO

Os conhecimentos de microcirurgia têm importância em diversas especialidades, sendo dada grande ênfase na área de cirurgia pediátrica, neurocirurgia, cirurgia plástica e cirurgia vascular, onde as técnicas de microanastomoses vasculares em transplantes pediátricos e revascularização cerebral, para citar alguns exemplos, são um importante elemento no resultado final de, por exemplo, um transplante renal ou no tratamento de complexas patologias vasculares que acometem o sistema nervoso central ou a base do crânio<sup>14-18</sup>. Avanços técnicos têm permitido o reparo de vasos de 1mm de diâmetro ou menos. Dessa maneira, o treinamento de técnicas microvasculares no laboratório de microcirurgia é o primeiro passo para os cirurgiões que desejam tratar estas doenças<sup>1-13</sup>. Dentro do campo da neurocirurgia, por exemplo, o professor M.G. Yasargil, pioneiro da microneurocirurgia, recomenda treinamento em laboratório de microcirurgia em microanastomoses de pelo menos 3 meses<sup>18</sup> (Fig 1). O objetivo deste artigo é demonstrar as considerações técnicas necessárias para um efetivo treinamento em anastomoses microvasculares em laboratório de microcirurgia.

1- Neurocirurgião. Professor permanente do curso de pós-graduação em Medicina: Ciências Cirúrgicas - Hospital de Clínicas de Porto Alegre .

2- Cirurgiã pediátrica. Professora adjunta-doutora UFRGS, Serviço de Cirurgia Pediátrica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

3- Neurocirurgião, Doutor em Cirurgia (Instituto de Pesquisas Médicas da Faculdade Evangélica do Paraná)

3a- Acadêmicos da Faculdade de Medicina da UFRGS.

4- Enfermeira da Unidade de Experimentação animal do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

5- Médica veterinária da Unidade de Experimentação animal do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

6- Neurocirurgião. Professor Adjunto-doutor, UFRGS e chefe da Unidade de Neurocirurgia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

7- Cirurgião vascular. Professor Adjunto-doutor,UFRGS e chefe do Serviço de Cirurgia vascular do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

## TREINAMENTO MICRO CIRÚRGICO

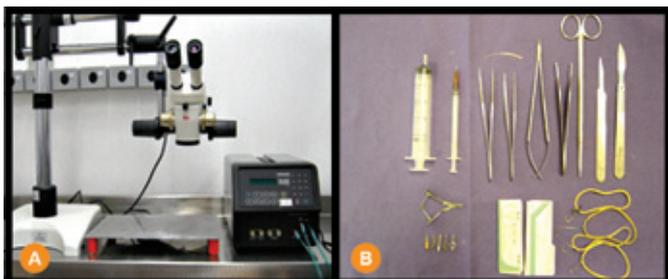
O sucesso do treinamento em técnicas microvasculares necessita de grande concentração e persistência, provocando sentimentos de frustração no início. O ambiente deve ser calmo e de preferência sem interrupções de qualquer natureza. Visando maximizar o treinamento e diminuir o tremor fisiológico, que quase todas as pessoas têm em algum grau, devem ser evitados exercícios de impacto da musculatura apendicular 24 horas antes do treinamento, bem como cafeína e nicotina. Além disso, deve-se sustar a atividade durante 5 minutos a cada hora de treinamento com o objetivo de diminuir a fadiga<sup>5,13</sup>.



**Fig. 1.** Unidade de Experimentação animal – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

O instrumental utilizado para anastomoses microvasculares consiste de micropinças de joalheiro, microtesoura, microclipes, seringa de 10 ml com agulha de insulina com a ponta romba e angulada a 90 graus, porta-clipe, bisturi número 11, retrautores e fios monofilametares. O tamanho dos fios deve ser 11-0 para vasos com diâmetro de 0,5 mm, 10-0 para vasos com diâmetro de 1.0 mm e 9-0 para vasos com diâmetro de 2.0 mm.

A engrenagem e o sistema de lentes do microscópio cirúrgico devem ser minuciosamente conhecidos, devendo o neurocirurgião reconhecer a magnificação que possibilite o melhor foco: uma combinação padrão é ocular de 12,5X de aumento associada a objetiva de 200-mm, o que permite magnificações de 4X a 25X. Visão binocular e o trabalho no centro do campo também são cruciais para uma boa técnica (Fig 2).



**Fig. 2.** A. Microscópio cirúrgico. B. Instrumental microcirúrgico.

## BIOTÉRIO PARA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

A Unidade de Experimentação Animal (UEA) faz parte do Centro de Pesquisa Experimental do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), cujas políticas de pesquisa são regulamentadas pelo Programa de Pesquisa e Pós-graduação (GPPG) da instituição. A UEA destina-se ao desenvolvimento de pesquisas com animais, estando integrada aos demais laboratórios temáticos, complementando ou auxiliando nas pesquisas. Engaja-se também no Programa de Pós-graduação em Medicina: Ciências Cirúrgicas na linha de pesquisa “Anatomia Microcirúrgica do Cérebro e da Base do Crânio relevante no Manejo das Patologias do Sistema Nervoso Central”.

Para a realização de um projeto de pesquisa na unidade, é necessário que ele seja aprovado pelo Comitê de Ética do GPPG do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Todos os procedimentos realizados com animais na UEA seguem a normas propostas pela Declaração Universal dos Direitos dos Animais (UNESCO – 27 de janeiro de 1978) e das Orientações Éticas Internacionais para Pesquisa Biomédica Envolvendo Animais (Council for International Organizations of Medical Sciences – CIOMS) para pesquisa com animais<sup>10</sup>.

A unidade oferece ao pesquisador uma área física de 900 m<sup>2</sup> distribuída para alojar os animais de acordo com as normas internacionais pré-estabelecidas para o bem estar dos animais de laboratório, além de disponibilizar materiais específicos para dar suporte técnico no manejo e nos procedimentos experimentais. A infra-estrutura é adequada para o manejo de animais de pequeno porte (camundongos, ratos, coelhos e peixes) e médio porte (ovelhas, suínos e cães). Dentro desta realidade, a unidade dispõe de salas de pré-experimentação, sala de bancadas, sala de recuperação, duas salas cirúrgicas, sala de necropsia, expurgo, sala de armazenamento, seis alojamentos para animais de pequeno porte e dois de alojamentos para animais de médio porte com divisão de baias para o manejo adequado ao porte do animal. Todos os alojamentos dispõem de controle de temperatura e umidade além de ciclo de luz diurno automatizado. A UEA disponibiliza aos pesquisadores instrumentais e equipamentos que podem ser utilizados de forma compartilhada em várias pesquisas, a fim de otimizar o desenvolvimento de diferentes projetos simultaneamente.

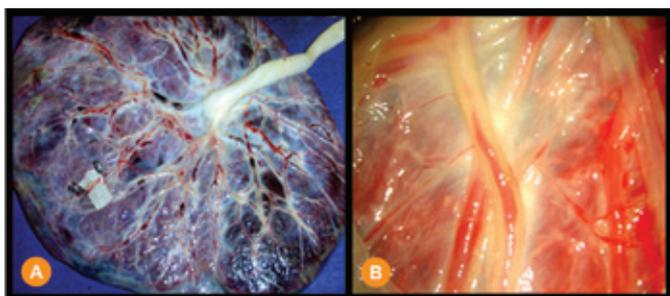
O suprimento de animais de pesquisa é providenciado pela instituição, pois não possuímos um biotério de produção, assim sendo permanecem por um período de quarentena de 14 dias com o objetivo de aclimação e identificação de possíveis patologias que poderiam ser transmitidas aos demais animais, para só então serem disponibilizados ao pesquisador.

No que se refere à biossegurança, a Unidade de Experimentação Animal busca prevenir, minimizar e ou eliminar os fatores

de riscos que podem vir a comprometer tanto o animal utilizado na pesquisa quanto o pesquisador e os funcionários. Assim, exige-se não só o emprego de equipamento de segurança específico (avental, luvas, propés, óculos protetores e touca), mas também a adoção de práticas seguras no manejo dos animais e normas de descarte de espécimes. Em relação ao uso e esterilização de materiais utilizados em animais, a unidade respeita os métodos recomendados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, em que os instrumentais são de uso exclusivo para esse fim e a sua esterilização é realizada a parte dos materiais utilizados em humanos, evitando assim as complicações por agentes infecciosos.

## EXERCÍCIOS EM PLACENTA

A placenta apresenta uma face fetal e outra materna, sendo que a primeira tem vasos placentários que possuem íntima relação com a membrana coriônica de forma similar àquela que os vasos cerebrais têm com a membrana aracnóide. Após retirada de parte da membrana coriônica com o instrumental microcirúrgico identificam-se artérias e veias, sendo que o reconhecimento das primeiras dá-se por 3 características principais que são as seguintes: as artérias cruzam sobre as veias, têm um calibre menor e uma parede vascular mais espessa (Fig 3).

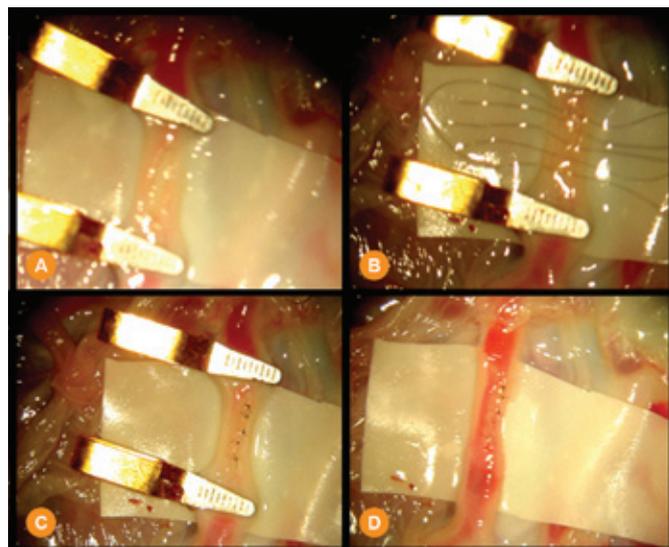


**Fig. 3.** A. Face fetal da placenta sobre a qual serão realizados os exercícios de microcirurgia. B. Artéria cruzando sobre veia.

Um primeiro exercício consiste de arteriotomia e síntese da parede arterial. Após identificação de uma artéria apropriada procede-se a microdissecção da transição entre o vaso selecionado e o estroma placentário em que este encontra-se aderido na extensão de aproximadamente 5 cm. Colocam-se então dois microclips: primeiro o proximal e após o distal. O próximo passo consiste em separar delicadamente a túnica adventícia da parede do vaso, realizando-se após a arteriotomia e a síntese com pontos simples. Liberam-se os microclips e testa-se a patência do vaso anastomosado (Fig 4).

Seleciona-se outra artéria para a realização do exercício se-

guinte, que consistirá na realização de uma anastomose término-término. As etapas são as mesmas do exercício anterior até a colocação dos microclips, quando então se realiza com a microtesoura incisão única e firme transversalmente na parede arterial a seguir irrigando-se os dois cotos vasculares com solução salina. Procede-se então a anastomose término-terminal. Os dois primeiros pontos são colocados nos pólos superior e inferior respectivamente, ou seja, as 12h e as 6h. Deixa-se parte do fio desses pontos para conseqüente tração com o objetivo de visualizar o emparelhamento das bordas do vaso para obtenção de uma sutura simétrica. Os próximos locais da sutura a serem realizados com pontos simples são aqueles correspondentes às 9h, 7:30h e 10:30h, ou seja, os da parede posterior do vaso. Para isso faz-se uma rotação de 180 graus de ambos cliques visando expor esta parede. O próximo passo é desfazer a rotação do vaso e suturar sua parede anterior com pontos simples às 3h, 1:30h e 4:30h. Finalmente retiram-se os microclips e ordenha-se a região da artéria com sangue em seu interior em direção a anastomose onde verifica-se a patência do vaso e o extravasamento ou não de sangue pelos pontos de sutura (Fig 5).



**Fig. 4** A-D. Etapas da arteriotomia em vaso placentário.



**Fig. 5.** A. Passam-se os fios inicialmente na parede posterior do vaso. B. A síntese da parede anterior é realizada no final.

## TREINAMENTO EM ANIMAIS DE LABORATÓRIO

Toda sociedade ética e consciente deve preocupar-se com o cuidado e o uso de qualquer espécie viva. Além disso, os indivíduos que trabalham com animais na pesquisa, no ensino ou em testes laboratoriais devem valorizar a vida animal, considerá-los seres sensíveis, procurar reduzir o sofrimento e ter a responsabilidade de assegurar que o cuidado dado aos animais seja sempre de excelente qualidade<sup>2,7,9,13</sup>. Assim sendo, é fundamental o emprego de técnicas anestésicas que confirmam, além de contenção química adequada, hipnose e analgesia para que o animal não apresente dor, permitindo ainda, se a pesquisa exigir avaliação pós-anestésica, rápida e suave recuperação da anestesia<sup>7,9,13</sup>. Os ratos são os animais mais comuns dentre as espécies utilizadas para microcirurgia. Por isso esse texto se detém a citar os aspectos mais importantes no manejo dessa espécie.

## ANATOMIA DO RATO

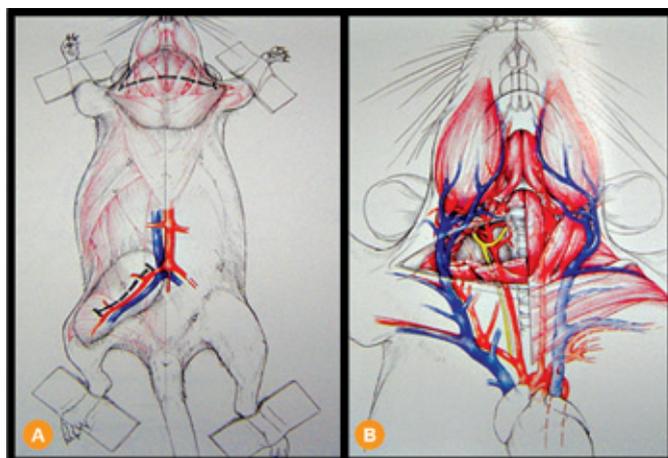
### REGIÃO INGUINAL

A região inguinal do rato, fazendo-se uma analogia embora grosseira, é semelhante a do homem, diferindo essencialmente no ângulo que esta faz com o eixo do corpo que no primeiro é de 135° enquanto que no homem é de 45°. Nessa região, além disso, a pele do rato é mais frouxa e móvel, possuindo uma fina camada de músculo e gordura (*panniculus carnosus*), que se conecta a derme. A gordura inguinal penetra no triângulo femoral e vai afilando-se em direção ao quadrante inferior do abdômen. O triângulo femoral é delimitado superiormente pelo ligamento inguinal, lateralmente pelos músculos extensores e medialmente pelos músculos adutores, sendo coberto por uma fáscia superficial. Os vasos e nervo femurais passam atrás do ponto médio do canal inguinal. Existe uma densa bainha que envolve estas estruturas, formando septos entre elas. A disposição do sentido medial ao lateral é veia (1-2 mm de diâmetro externo), artéria (0,6 – 1 mm de diâmetro externo) e nervo; normalmente estes vasos dão origem a ramos profundos (veia e artéria femoral profunda) (Fig 6.A).

### REGIÃO CERVICAL

Na região cervical do rato devem ser identificados na linha média os músculos esternohióideos, que cobrem os anéis traqueais. Ao elevarem-se as glândulas tiroideas visualiza-se o trígono formado pelos músculos esternohióideo (medial), esternocleidomastóideo (lâtero-inferior) e omohióideo (súpero-lateral); neste trígono encontramos a artéria carótida.

A artéria carótida comum direita origina-se da artéria inominada, inferior a articulação esterno-clavicular direita. A esquerda, por sua vez, tem origem na parte mais alta do arco aórtico, sendo mais extensa que a direita. Estas diferenças, contudo, não interferem na idêntica anatomia que ambas apresentam na região cervical, onde cada uma passa obliquamente acima e atrás da articulação esterno-clavicular em direção ao nível do bordo superior da cartilagem tireóide, onde se divide em artérias carótidas interna e externa. A artéria carótida comum possui uma bainha derivada da fáscia cervical profunda, que também envolve o nervo vago e a veia jugular interna, a qual está localizada lateralmente a artéria. O nervo vago situa-se em um plano posterior juntamente com a veia jugular interna, entre esta e a artéria carótida interna (Fig 6.B).



**Fig. 6.** A. Anatomia da região inguinal do rato. B. Anatomia da região cervical do rato. Extraído de YONEKAWA, Y.; et al., Laboratory training in microsurgical techniques and microvascular anastomosis. *Operative Techniques in neurosurgery* 2(3): 149-158, 1999

## PREPARO

Inicialmente faz-se uma inspeção geral do rato, pois estes são susceptíveis a infecção por *mycoplasma*, cujos sintomas são tosse, secreção ocular e nasal, podendo ir a óbito quando anestesiado na presença desta. Devem-se observar as condições gerais do animal, incluindo temperatura, peso, pelo e postura.

Quando o animal é oriundo de outro local, preconiza-se um período de aclimação de 24-72 horas antes de qualquer procedimento, para reduzir o estresse do transporte e do novo ambiente. Um animal estressado submetido à anestesia pode apresentar uma resposta totalmente imprevisível<sup>2,10</sup>.

Ratos pesando 250 mg normalmente terão vasos femurais de

aproximadamente 1 mm de diâmetro externo, que é um calibre apropriado para o treinamento de suturas microvasculares e realização de bypass em artéria carótida do rato. Ratos devem ser contidos firmemente, porém de forma gentil, para que a administração do anestésico seja conduzida sem risco para o pesquisador ou o animal. Quando o animal está agitado ou quando o pesquisador está inseguro, o animal pode ser coberto com um pano, facilitando a contenção. Além disso, o animal pode ser balanceado com movimentos amplos, suspenso pelo tórax, abaixo das patas dianteiras. Contendo o animal pelo corpo e segurando a cauda, apresenta-se a superfície abdominal a um assistente, que realiza a injeção intraperitoneal no quadrante inferior direito do animal.

Após verificar a não movimentação do animal fixa-se este em decúbito dorsal pelos quatro membros e a cauda com fita adesiva de uso hospitalar e estende-se a região cervical mediante tração dos dentes mais proeminentes da arcada superior com borracha elástica fixada a parte anterior da prancheta cirúrgica (Fig 7). A cirurgia pode ser iniciada quando houver a perda do reflexo de retirada e flexão do membro inferior ao ser realizado o pinçamento da pele interdígital.

A coleção de muco na traquéia do rato durante o treinamento pode ser minimizada tracionando-se sua língua e aspirando-se sua traquéia com um pequeno tubo plástico conectado a uma seringa de 10 ml. Outra técnica é proceder a traqueostomia logo após a anestesia.

## ANESTESIA

Para a obtenção de anestesia geral, podem-se fazer uso de substâncias inaláveis ou injetáveis. Os anestésicos injetáveis mais utilizados são os barbitúricos e os anestésicos dissociativos em combinação com benzodiazepínicos, agonistas de receptores  $\alpha_2$  adrenérgicos e opióides. A avaliação correta do peso é extremamente importante, pois um cálculo errado pode ser fatal.

O protocolo mais comumente utilizado é cloridrato de cetamina (80-100mg/kg) juntamente com xilazina (7-10mg/kg), induzindo anestesia cirúrgica por 20-60 minutos em ratos, quando administrados por via intraperitoneal. O uso isolado de cetamina não é recomendando, pois provoca excitação, hipertensão e hipertonia muscular. Por essas razões sempre associa-se cetamina com midazolam, diazepam ou xilazina.

Os barbitúricos promovem um padrão de anestesia geral propriamente dito, com grau de relaxamento muscular satisfatório para a maioria dos procedimentos cirúrgicos. Para ratos pesando 250 mg, injeta-se no abdômen intraperitoneal 0,6 ml de uma solução composta por 1gr. de Tiopental Sódico (Thionembu-

tal®), 23ml de Citrato de Fentanila e 14 ml de água destilada. Caso não se obtenha o efeito sedativo desejado, admistram-se doses complementares de 0,1 ml da solução. Deve-se atentar para os efeitos variáveis no sistema cardiovascular, que variam de acordo com a dose, a espécie e o estado volêmico do animal, e para a depressão respiratória. Além disso, o tiopental é considerado um agente extremamente irritativo quando utilizado por via intraperitoneal, não sendo recomendado o uso em animais que irão sobreviver ao procedimento<sup>7,9</sup>.

Os anestésicos inalatórios apresentam rápida indução e recuperação, proporcionando segurança no controle da profundidade anestésica. Em procedimentos longos a anestesia inalatória é a mais indicada, pois a constante reaplicação de anestésicos injetáveis não é segura, pelo efeito residual de alguns fármacos utilizados. As desvantagens do seu uso estão relacionadas com o treinamento dos pesquisadores, a monitoração constante do animal e a necessidade de equipamentos especializados, o que implica em custos maiores comparados aos dos anestésicos injetáveis. Atualmente os agentes mais utilizados são o halotano, o isoflurano e o sevoflurano. Observa-se um declínio progressivo do uso de halotano, pelas suas desvantagens e pelo maior acesso que se tem ao isoflurano. O uso de éter já está proscrito há alguns anos, por ser um agente inflamável, carcinogênico e irritativo para as mucosas<sup>7,9</sup>.

Segundo Gaertner et al<sup>9</sup>, isoflurano é o anestésico preferido para todos os roedores quando os equipamentos necessários estão disponíveis. A indução anestésica pode ser realizada com anestésico injetável e posterior manutenção em anestesia inalatória ou pode-se induzir a anestesia geral diretamente com o anestésico inalatório, dentro de uma câmara específica para esse fim ou adaptada para tal. A manutenção da anestesia pode ser realizada através de máscara facial ou pela intubação do animal e conexão a um ventilador específico para roedores.

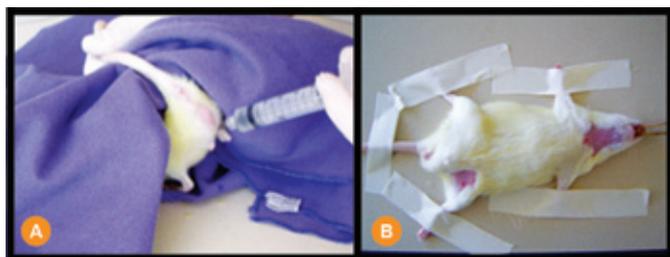
A monitoração da anestesia muitas vezes é limitada em ratos. A avaliação cardiovascular pode ser realizada auscultando o animal com um estetoscópio pediátrico. A frequência cardíaca é considerada ideal quando não é possível contar o número de batimentos por minuto (bpm), ou seja, está entre 250-450 bpm. Essa característica dificulta o uso de monitores de ECG humano, pois tais equipamentos detectam frequências cardíacas até 250-300 bpm. No entanto, sensores pequenos de oxímetros são facilmente adaptados nas patas traseiras ou cauda dos ratos, fornecendo dados de saturação de hemoglobina, também úteis para a monitoração anestésica.

A frequência respiratória deve ser mantida entre 50-80 movimentos por minuto (mpm), principalmente quando utiliza-se um ventilador artificial. Deve-se observar a coloração das mucosas, para identificar dificuldades respiratórias. Uma atenção especial deve ser destinada à monitoração e manutenção da temperatura corporal, através de colchões térmicos e outros

mecanismos de aquecimento. A hipotermia é uma das principais causas de mortalidade no período trans e pós operatório.

Para uma boa recuperação anestésica, deve-se prover ao animal um ambiente tranquilo e aquecido (28-30°C). Além disso, é importante considerar o grau de invasividade do procedimento, para que seja providenciada uma analgesia adequada. O reconhecimento da dor em animais requer maior atenção por parte dos pesquisadores e sua avaliação é feita com base na observação de comportamento, ingestão de água e ração, variação do peso corporal e na transposição da experiência humana em procedimentos cirúrgicos semelhantes.

Em procedimentos de baixo a médio estímulo doloroso, opta-se pela utilização de anti-inflamatórios não esteróides, como cetoprofeno (5mg/kg subcutâneo) e dipirona (150-600mg/kg intramuscular). Os analgésicos opióides podem ser administrados no período pré-operatório, para compor uma analgesia preemptiva, ou no período pós-operatório para alívio da dor, principalmente em procedimentos em que o nível de dor seja de moderado a severo. Na primeira situação os opióides mais comumente utilizados são a meperidina (10-20mg/kg), morfina (2-5mg/kg) e fentanil (0,01-1mg/kg), todos por via IP, e na segunda situação opta-se por tramadol (1mg/kg), pela sua ação mais prolongada que os anteriores (6-8 horas). O analgésico opióide de escolha para dor moderada em roedores é a buprenorfina<sup>7,9</sup>, no entanto esse fármaco não está disponível para aquisição no Brasil.



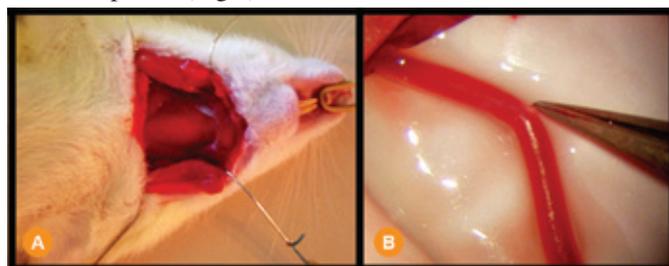
**Fig. 7.** A. Anestesia intraperitoneal. B. Fixação da cobaia na prancheta cirúrgica.

## TÉCNICAS DE ANASTOMOSE NO RATO

Inicia-se o procedimento realizando a tricotomia das regiões inguinal e cervical.

Quando se pretende realizar estudo angiográfico e/ou histológico das anastomoses, geralmente o que é feito no sétimo dia pós-operatório, não realiza-se traqueostomia, pois torna-se difícil conduzir com sucesso o pós-operatório destes animais. No entanto, quando este não é o objetivo procede-se a traqueostomia, a qual é, por si só, um excelente exercício microcirúrgico, esta inicia-se com uma incisão mediana do mento ao esterno,

seguido de delicada dissecação do subcutâneo e colocação de 4 afastadores nas margens da incisão. Devem-se reconhecer a seguir os seguintes elementos: na linha média o músculo esternohióideo (recobrando os anéis traqueais), acima e bilateralmente as glândulas tireoidianas, que ao elevá-las visualizaremos o triângulo formado pelos músculos esternohióideo (medial), esternocleidomastóideo (lâtero-inferior) e omohióideo (súpero-lateral). Neste triângulo encontra-se a artéria carótida. Após incisão do músculo esternohióideo, colocamos retratores e identificamos os anéis traqueais para a realização de uma traqueostomia ao nível dos 2º-3º anéis. Desta forma obtemos uma via aérea pérvia (Fig 8).



**Fig. 8.** A. Exposição da traquéia do rato. B. Cuidadosa manipulação da artéria carótida comum através sua adventícia.

## ANASTOMOSE TÉRMINO-TERMINAL

Visando uma exposição ampla da artéria carótida o músculo omohióide deve ser afastado súpero-lateralmente e o esternocleidomastóideo ínfero-lateralmente. Uma vez completados os passos anteriores, identifica-se e disseca-se com a microtesoura e movimentos de abertura das pinças a artéria carótida e a bainha carotídea, individualizando-a. A artéria carótida do rato geralmente tem o diâmetro de 1 mm. Nesse estágio o nervo vago deve ser cuidadosamente separado da artéria carótida para evitar o reflexo vagal. A manipulação dos vasos deve ser mínima para evitar espasmo e lesão da parede vascular, bem como o vaso deve ser sempre mobilizado por sua túnica adventícia. Segue-se com a colocação dos microclipes distal e proximal, respectivamente, realizando-se a seguir com a microtesoura uma incisão transversal completa na artéria carótida comum. Deve-se esperar com essa manobra a retração de aproximadamente 1/3 do vaso. Irriga-se o interior de ambos os cotos arteriais com soro fisiológico heparinizado. Procede-se a realização da anastomose conforme descrito nos exercícios com placenta, tendo sempre em mente que o padrão-ouro de uma sutura microvascular é a passagem da agulha por todas as camadas da parede arterial. Após completada a anastomose retira-se primeiro o clipe distal e com um algodão faz-se leve compressão sobre o local da sutura durante 2 minutos para aguardar a agregação plaquetária e, caso haja extravasamento de sangue entre os pontos da sutura, recoloca-se o clipe e corrige-se o local com outro ponto. O mesmo procedimento realiza-se após retirada do clipe proximal. A patência da anastomose é

testada ocluindo-se a região da artéria distal a anastomose com uma das pinças e com a outra ordenha-se distalmente o sangue no interior da artéria, mantendo-a ocluída, a seguir o ponto de oclusão proximal é liberado e verifica-se se o fluxo sanguíneo passará pela região onde o sangue foi ordenhado (Fig 9).

### ANASTOMOSE TÉRMINO-LATERAL

Este tipo de anastomose é o mais importante porque é o mais utilizado em neurocirurgia, podendo o enxerto ser arterial ou venoso. Após se obter enxerto da artéria femoral da zona inguinal do rato ou da veia jugular interna (localizada no tecido celular subcutâneo, lateralmente ao músculo esternocleidito), realizam-se duas incisões elípticas e horizontais na face superior da artéria carótida, respeitando o calibre do vaso doado. No segmento doado realizamos uma pequena incisão horizontal de aproximadamente 1 a 1,5 mm em um dos extremos a fim de aumentar o seu diâmetro. Prosseguimos com a realização da anastomose, com a sutura de ambos os meridianos em seu pólo proximal e distal, e a arteriorrafia dos vasos envolvidos, começando com a face posterior seguida pela face anterior, realizando-se de 3 a 4 pontos simples em cada face. Uma vez finalizado o exercício se comprova a patência da anastomose (Fig 10).



Fig. 10. A-B. Anastomose término-lateral.

### OUTROS EXERCÍCIOS

Vários outros exercícios de microanastomoses podem ser realizados no rato. Além dos apresentados aqui ainda pode-se realizar a anastomose término-terminal da própria artéria femoral na região inguinal, que possui um diâmetro de 0,5 mm, sendo um importante treinamento que simula procedimentos de revascularização cerebral direta em crianças com doença de Moya-moya. Outro exercício consiste em realizar uma anastomose término-lateral entre as artérias carótidas esquerda e direita, sendo uma delas transposta pela região anterior do pescoço para anastomose com a artéria contra-lateral e ligada em sua porção distal. Finalmente, outro exercício a ser realizado é proceder a uma laparotomia colocando o conteúdo visceral exteriormente a cavidade abdominal e então proceder a anastomose da aorta abdominal. Além disso, com a dissecação das membranas envolvendo os vasos abdominais cria-se uma reação inflamatória em torno deste que torna estas membranas, após 7 dias, mais espessas, deixando-as muito semelhante a aracnóide das cisternas da base do cérebro, quando os exercícios poderão então ser repetidos.

Quando o objetivo maior é trabalhar em campos profundos, bypass da artéria temporal superficial com a artéria cerebelar superior ou da artéria occipital com a artéria cerebelar anterior inferior, coloca-se sobre a cobaia uma prancheta com uma fenestração central de 4 cm de diâmetro a uma altura de 15 cm, sendo que a distância entre a borda da fenestração e a artéria carótida deve ser entre 6 e 10 cm. Instrumentos mais longos devem ser adaptados para a realização deste tipo de treinamento.

### CONSIDERAÇÕES TÉCNICAS

Para o sucesso de uma anastomose microvascular nas diversas subespecialidades médicas os seguintes fatores técnicos devem ser considerados<sup>4,6,13-18</sup>.

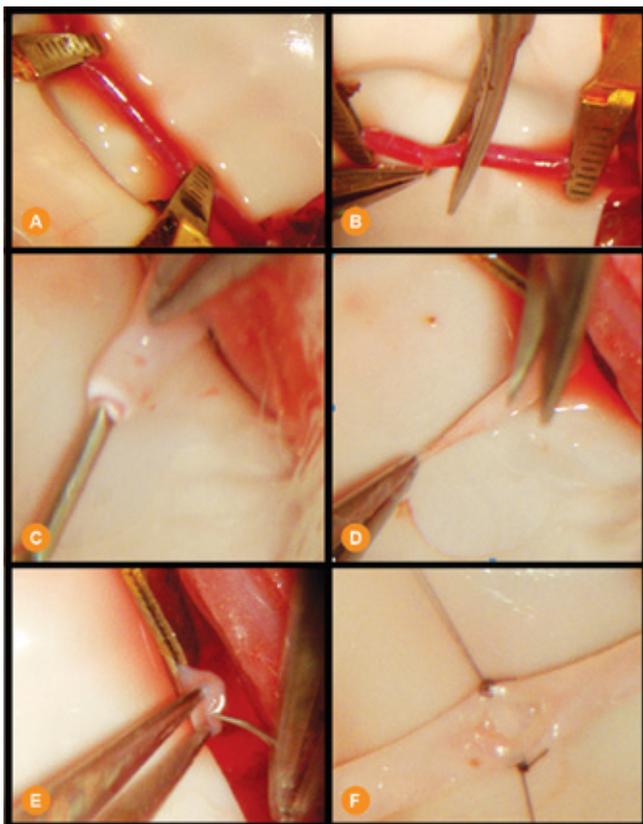


Fig. 9. A. Exposição e clipagem da artéria carótida comum. B. Diétese transversal do vaso. C. Irrigação dos cotos com solução salina heparinizada. D. Retirada da adventícia. E. Passagem do ponto pela parede do vaso sem pinçamento deste. F. Tração dos polos para verificar assimetria dos cotos.

### **SUTURA INADVERTIDA DAS PAREDES ANTERIOR E POSTERIOR DO VASO**

O risco de ocorrer este grave erro técnico pode ser minimizado utilizando-se um maior aumento no microscópio (40X), verificando se as paredes estão separadas no momento da sutura e inspecionando o lúmen vascular antes de finalizar a anastomose.

### **LESÃO TRAUMÁTICA DA PAREDE DO VASO**

A túnica íntima é muito susceptível a lesão pelo fato de ocorrer quebra do endotélio com conseqüente agregação plaquetária e trombose. A utilização de dispositivos para dilatar o lúmen do vaso não é recomendado. Outro erro muito comum é pinçar a parede do coto do vaso sem adventícia visando apresentá-la para sutura: a técnica correta é manipular o vaso pinçando-o delicadamente pela túnica adventícia intacta da porção mais posterior da parede arterial. Múltiplas tentativas de punção para realização da sutura bem como repetição desnecessária do teste para verificação da patência também contribuem para aumentar os riscos de lesão traumática da parede do vaso.

### **ASSIMETRIA DOS COTOS NO MOMENTO DA SUTURA**

Quando isso ocorre o colágeno da parede de um dos cotos entra em contato direto com o fluxo sanguíneo proveniente do outro coto levando a rápida formação de trombo. Outro erro técnico ocorre quando o ponto não envolve todas as túnicas do vaso, ou seja, não alcance a túnica interna, deixando espaços no endotélio entre os dois cotos que predispõem a trombose.

### **TENSÃO DA SUTURA INAPROPRIADA**

O excesso de tensão na linha de sutura causará estreitamento do lúmen, por outro lado, a pouca tensão da sutura pode causar intervalos nesta. Quando se prevê que a sutura ficará muito tensa deve-se colocar um enxerto de veia entre os dois cotos arteriais.

### **DOBRA DO VASO NO LOCAL DA ANASTOMOSE**

Não é o caso dos exercícios em artéria carótida do rato, mas pode ocorrer em anastomoses para retalhos. A solução é suturar a adventícia do vaso a tecidos adjacentes proximal e distal a anastomose.

### **FATORES DE FLUXO**

Irregularidades na direção do fluxo sanguíneo no local da anastomose pode levar a formação e propagação de trombos devido a turbulência no interior do vaso. No caso das anastomoses término-laterais isso é minimizado realizando um ângulo de 45 a 60 graus entre os dois vasos.

A estase é outro fator bem conhecido na formação de trombos. Para minimizar este fator, quando o vaso é reclampeado deve ser imediatamente irrigado com solução salina heparinizada.

### **ESPASMO**

As alterações no calibre do vaso são influenciadas por fatores locais e sistêmicos. Fatores locais que levam a espasmo são diminuição na temperatura do ambiente, mudanças na concentração de eletrólitos na parede do vaso, sangue no campo operatório, alterações no pH e várias outras substâncias, por exemplo, histamina. Os fatores sistêmicos são menos comuns e incluem catecolaminas endógenas, que podem estar aumentadas com aumento dos níveis de estresse. Procaina a 1% pode ser usada para reverter o vasoespasm, por outro lado, instilação de papaverina não é recomendada porque causa lesão da parede do vaso devido a seu baixo pH13.

### **SUTURA CONTÍNUA VERSUS NÃO CONTÍNUA**

Em relação ao tempo estima-se que a microanastomose vascular com sutura contínua depende metade do tempo do que a com sutura com pontos separados, entretanto, hesita-se em fazer a sutura contínua por dois motivos principais. Em primeiro lugar a sutura contínua diminuiria o lúmen no local da anastomose, limitaria a expansão sistólica e deixaria mais material de sutura em contato com o fluxo sanguíneo, facilitando a formação de trombos no interior do vaso. Em segundo lugar, embora o tempo de sutura contínua seja por unanimidade menor, há artigos com diferentes resultados quando o objetivo é estudar as complicações. Em neurocirurgia, até prove em contrário e devido às técnicas de proteção cerebral, se dará preferência pela anastomose com sutura não contínua. Evidentemente, o fator tempo é crucial no sucesso da anastomose, porém as evidências são de artigos no campo da cirurgia plástica, nos quais o risco de complicações para uma anastomose contínua somente se justificaria naqueles casos onde o fator tempo é priorizado, por exemplo, diversos enxertos venosos no reimplante de vários dedos de uma mão, em que o tempo de isquemia tecidual é um fator predominante<sup>4-6</sup>

### **ANASTOMOSE TÉRMINO-TERMINAL VERSUS TÉRMINO-LATERAL**

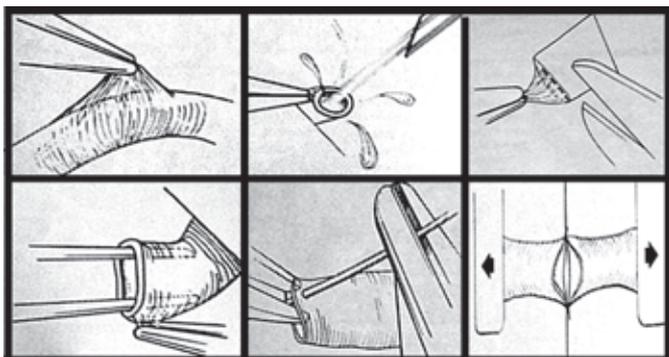
Do ponto de vista técnico a anastomose término-término é mais fácil de ser realizada, por outro lado, dá-se preferência para a anastomose término-lateral quando o fluxo sanguíneo distal deve ser totalmente mantido ou quando há discrepância no tamanho dos vasos a serem anastomosados. A maioria dos autores sugerem que esta última é superior, entretanto, há autores que observam não haver diferenças entre os dois tipos de anastomoses, sendo a técnica cirúrgica, presença de vaso-

espasmo, aterosclerose, mal alinhamento das paredes dos vasos, discrepância do tamanho dos vasos, adventícia interposta na linha de sutura ou lesão iatrogênica da túnica íntima fatores que se correlacionam de forma mais direta com trombose da anastomose. A maioria destes estudos, no entanto, foi realizado em laboratórios de microcirurgia de departamentos de cirurgia plástica e ortopedia cujos resultados são extrapolados para transplante de tecidos e reimplantes de membros<sup>4-6</sup>. Em neurocirurgia, devido à experiência acumulada, dá-se preferência sempre pela anastomose término-lateral<sup>13-18</sup>.

### EFEITO DA TORÇÃO NA PATÊNCIA DA ANASTOMOSE

Embora quase todos os detalhes para manter a patência de uma anastomose tenham sido estudados e definidos, ainda existem casos no quais mesmo seguindo-se com extremo rigor os princípios para uma anastomose efetiva e sem complicações observam-se complicações no resultado final<sup>13</sup>. Um item técnico classicamente mencionado na literatura diz respeito ao fato da torção do vaso aumentar os riscos de trombose, entretanto, tal questão nunca foi sistematicamente estudada. Topalan, et al., (2003) 17 realizaram 144 anastomoses de artéria femoral em ratos, dividindo-os em 7 grupos de acordo com o grau de torção, variando de 0 a 360 graus, não observando diferenças estatisticamente significativas no índice de complicações<sup>13</sup>.

Na opinião dos autores, os fatores técnicos que mais devem ser atentados para o sucesso da microanastomose são a cuidadosa manipulação da parede do vaso pela sua adventícia, a irrigação dos cotos, a remoção da adventícia do coto, o uso de pequena abetura da pinça dentro da luz do vaso para permitir a realização do ponto sem pinçar a parede do coto sem adventícia e, finalmente, a perfeita simetria das bordas (Fig 11).



**Fig. 11.** Desenho esquemático dos princípios da técnica de anastomose microvascular.

### CONSIDERAÇÕES HISTOLÓGICAS, ANGIOGRÁFICAS E COMPLICAÇÕES

O processo de cicatrização de uma anastomose vascular tem quatro estágios. O primeiro estágio, que é a fase de agregação plaquetária, inicia 1 minuto após completada a anastomose. A seguir ocorre o estágio II, também chamado fase da rede de fibrina, que inicia cinco minutos após completada a anastomose e estende-se por 3 a 4 dias. O próximo estágio consiste na fase migratória, em que há a formação da camada endotelial que estende-se do segundo ao sexto dias pós-operatórios. O último estágio ocorre com o fechamento da túnica íntima, onde o endotélio recobre totalmente a rede de fibrina, o que acontece do quarto ao sétimo dia.

A arteriografia, ao contrário do estudo histológico, que avalia as mudanças teciduais no local da anastomose, é a melhor técnica na mensuração do diâmetro do vaso, bem como na avaliação de estenoses e dilatações aneurismáticas deste<sup>5</sup>. A arteriografia pode ser realizada in vivo ou post-mortem, sendo que nesta última deve-se injetar 10 ml de formalina para prevenir a autólise, nos demais aspectos a técnica consiste de cateterização da artéria aorta abdominal pela artéria renal e injeção de 0,6, 0,2 e 0,2 ml de contraste para as projeções antero-posterior, posterior esquerdo oblíquo em 45° e posterior direito oblíquo em 45°, respectivamente (Fig 12).



**Fig. 12.** Radiografia com emprego de contraste intra-arterial na aorta abdominal do rato evidenciou patência de ambas artérias carótidas neste caso.

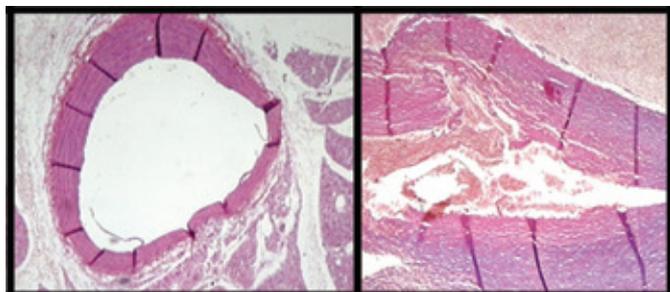
Na avaliação microscópica de uma anastomose com técnica de Hematoxilina/Eosina (H/E) dá-se ênfase para os seguintes achados:

- 1. Trombose:** embora presente colágeno, muitas vezes é difícil de diferenciar da hiperplasia.
- 2. Integridade endotelial:** a presença de pelo menos dois núcleos acima da lâmina elástica interna (aumento de 400X) é o critério de integridade endotelial.
- 3. Hiperplasia da íntima:** o critério estabelecido é celularidade acima da lâmina elástica interna com o mínimo de duas camadas de células.

**4. Necrose medial:** diminuição do número de núcleos, afilamento e degeneração fibrinóide.

**5. Reação celular da íntima:** aumento de fibroblastos e ocasionalmente macrófagos internamente à lâmina elástica externa.

**6. Reação da adventícia:** tecido de granulação e fibroblastos externamente a lâmina elástica externa<sup>3,5</sup> (Fig 13).



**Fig. 13.** Cortes histológicos corados com H/E em que se observa uma anastomose pérvia e outra com assimetria dos cotos e trombo intraluminal.

**Agradecimentos:** Um dos autores (GRI) é grato ao Laboratório de Microcirurgia do Hospital Beneficência Portuguesa de São Paulo, em especial ao Dr. Evandro de Oliveira, pelos treinamentos oferecidos em anastomoses microvasculares.

## REFERÊNCIAS

1. Abdo M, Krayenbuhl N, Isolan GR, Krisht A: Cerebral Revascularization: Part 1. *Contemp Neurosurg.* 2006, 28(27):1-5.
2. Andersen ML: *Princípios Éticos e Práticos do uso de animais de experimentação.* São Paulo: UNIFESP – Universidade Federal de São Paulo. 2004. 179 p.
3. Banic A, Nilsson U, Francis I. Magnification angiography and histology for the evaluation of microvascular anastomosis. *Microsurgery* 1980, 11:102-7.
4. Chen YX, Chen LE, Seaber AV, Urbaniak JR: Comparison of continuous and interrupted suture techniques in microvascular anastomosis. *J Hand Surg* 2001, 26 (3): 530-9.
5. Dobrowolski S, Ribas-Filho JM, Malafaia O, Isolan GR: Estudo comparativo da sutura contínua e sutura simples em anastomose microvascular da artéria carótida de ratos. *Rev Méd Paraná.* 2005, 62 (2):15-9.
6. Dotson RJ, Bishop AT, Wood MB, Schroeder A : End-to-end versus end-to-side arterial anastomosis patency in microvascular surgery. *Microsurgery* 1998, 18:125-8.
7. Fantoni DT, Otsuki, DA. Anestesia em animais de pesquisa. In: MANICA. J et al. *Anestesiologia: princípios e técnicas.* 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. cap 10, p. 137-53.
8. Firsching R, Terhaag PD, Müller W, Frowein RA: Continuous and interrupted-suture technique in microsurgical end-to-end anastomosis. *Microsurgery* 1984, 5:80-4.
9. Gaertner DJ: Anesthesia and Analgesia for Laboratory Rodents. In: Fish R, Brown MJ, Danneman DJ, Karas AZ. *Anesthesia and analgesia in laboratory animals.* 2nd ed. San Diego: Elsevier; 2008.
10. Goldim JR, Raymundo MM: *Pesquisa em saúde e direitos dos animais.* 2ª ed. Porto Alegre, HCPA/ GPPG1997; 30p.
11. Hou S, Seaber AV, Urbaniak JR. An alternative technique of microvascular anastomosis. *Microsurgery* 1987, 8:22-4.
12. Krayenbuhl N, Abdo M, Isolan GR, Krisht A: Cerebral Revascularization: Part 2. *Contemp Neurosurg.* 2006, 28(26):1-6.
13. Serafin D, Georgiade NG: *A laboratory manual of microsurgery.* Division of Plastic, Reconstructive Surgery and Maxillofacial Surgery, Duke University Medical Center, Durham North Carolina . Copyright, 1986, 51 p.
14. Sekhar LN, Wright DC, Olding M. Brain revascularization by saphenous vein and radial artery bypass grafting, in Sekhar LN de Oliveira E. (eds): *Cranial Microsurgery: Approaches and Techniques.* New York, Thieme Medical Publishers, Inc., 1999, pp 581-600.
15. Sekhar LN, Bucur SD, Bank WO, Wright DC: Venous and arterial bypass grafts for difficult tumors, aneurysms and occlusive vascular lesions: evolution of operative management and improved results. *Neurosurgery* 1999, 44:1207-24.
16. Sekhar LN, Kalavakonda C: Cerebral revascularization for aneurysms and tumors. *Neurosurgery* 2002, 50 (2): 321-31.
17. Topalan M, Bilgin SS, Ip WY, Chow SP: Effect of torsion on microarterial anastomosis patency. *Microsurgery* 2003, 23:56-9.
18. Yonekawa Y, Frick R, Roth P, Taub E, Imhof H: Laboratory training in microsurgical techniques and microvascular anastomosis. *Oper Tech Neurosurg* 1999, 2(3): 149-58.

## AUTOR CORRESPONDENTE

*Dr. Gustavo Rassier Isolan.*  
 Pós-graduação em Cirurgia.  
 Rua Ramiro Barcelos, 2400 - 2º andar , Bairro Bom Fim,  
 Porto Alegre - Rio Grande do Sul, CEP: 90035-003  
 Fone: 51 3308 5607 / Fax: 51 3308 5617  
 E-mail: ppgcirur@ufrgs.br