

## ESTUDO DA DURA-MATER HOMÓLOGA IMPLANTADA NA VIA DE SAÍDA DO VENTRÍCULO DIREITO COM SUA FACE PERIOSTAL OU ARACNÓIDEA VOLTADA PARA A CAVIDADE

NOEDIR A. G. STOLF, LIBERATO DIDIO, DELMAS ALLEN, EDUARDO CAETANO DE LIMA, GERALDO VERGINELLI, EGAS ARMELIN, E. J. ZERBINI, ADIB D. JATENE

---

*Foi realizado estudo experimental em 12 cães, em que um enxerto de dura-mater homóloga, composto de metades com a face aracnóideia ou periostal voltada para a cavidade, foi suturado à via de saída do ventrículo direito. Os animais, em grupos de três, foram sacrificados ao fim de 1, 4, 6 e 8 semanas. O enxerto retirado foi estudado pela microscopia óptica e eletrônica de transmissão e eletrônica de varredura. Verificou-se que o enxerto original permanece íntegro no período de estudo, no entanto, apresenta infiltrado de células sanguíneas (monócitos, plasmócitos, linfócitos) e especialmente de fibroblastos. Esse aparecimento de células inicialmente ocorre em camada de fibrina depositado na face luminal do tecido, porém posteriormente progride juntamente com os vasos para a profundidade do enxerto. Não se observaram alterações degenerativas. Conclui-se que nesse período de estudo, o tecido é adequado para o fim a que se destina, devendo-se posicionar o enxerto com a face aracnóideia voltada para a cavidade.*

---

A dura-mater conservada em glicerina, estudada experimentalmente por Pigossi em 1967<sup>1</sup>, demonstrou-se mais resistente e menos antigênica que quando fresca. Foi, posteriormente, empregada em várias condições<sup>2</sup> sendo usada em cirurgia torácica pela primeira vez em 1967 por Stolf e col. para corrigir falhas da parede torácica e do diafragma<sup>3</sup>. A partir de 1971, passou a ser empregada na confecção de válvulas cardíacas implantadas em grande número de pacientes por Puig<sup>4</sup> e, experimentalmente, para corrigir defeitos do septo interatrial<sup>5</sup>. Entre outros usos da dura-mater homóloga conservada em glicerina em cirurgia cardíaca, está a ampliação da via de saída do ventrículo direito. Embora os resultados sejam bons, nenhum estudo clínico ou experimental mais detalhado foi realizado.

O objetivo da presente investigação experimental foi o estudo morfológico acurado da dura-mater implantada na via de saída do ventrículo direito e a influência da orientação da face aracnóideia ou periostal para a cavidade ventricular.

### MATERIAL E MÉTODOS

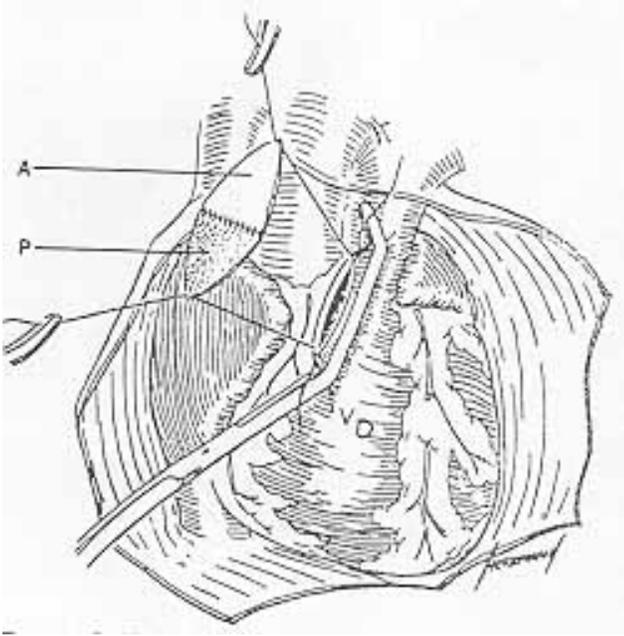
A dura-máter do cão, obtida assepticamente, foi preservada em glicerina a 98%, à temperatura ambiente, por período mínimo de 12 dias antes de

ser implantada na via de saída do ventrículo direito (VD). Os enxertos utilizados eram elípticos e constituídos de metades, uma delas com a face periostal e a outra com a face aracnóideia orientada para o lado luminal. Os 12 cães utilizados no experimento, após anestesia, toracotomia ântero-lateral, esquerda, pericardiotomia tinham a via de saída do VD e o tronco pulmonar expostos e pinçados lateralmente. Uma incisão ampla era feita na via de saída do VD e estendia-se até o tronco pulmonar. O retalho elíptico de dura-mater, previamente preparado, foi suturado, como mostra o esquema 1.

Grupos de três cães foram sacrificados no fim de 1, 4, 6 e 8 semanas. Os enxertos recuperados nesses períodos foram preparados para estudo com microscopia óptica após coloração pelo azul de metileno-fucsina básica e fixados em solução glutaraldeia do 30% para, em seqüência, ser processados para microscopia eletrônica de varredura e de transmissão.

### RESULTADOS

Grandes diferenças foram observadas tanto no tecido colágeno corno nas células da dura-mater implantada, nos vários períodos, através da microscopia óptica e eletrônica, quando comparado com a du-



Esquema da técnica operatória o pinçamento tangencial da via de saída do VD e tronco pulmonar e o retalho preparado de dura-mater com suas faces periosteal (P) e aracnoideia e a ser fixado na incisão da porção exclusiva pela pinça.

ra-mater não implantada<sup>6</sup>. Em conjunto, verificou-se que, especialmente na face luminal, ocorrem alterações progressivas que transformam o enxerto de uma estrutura praticamente acelular e avascular em tecido infiltrado por células sanguíneas e atravessado por vasos.

No estudo por microscopia óptica, verificou-se, no fim de uma semana, que se deposita, na face luminal, uma camada de fibrina com células sanguíneas seja ela a periosteal (fig. 1.1) seja a aracnoideia (fig. 1.2) da dura-mater. Na face aracnoideia, essa camada foi menos uniforme e menos organizada.

Após 4 e 6 semanas, a espessura da face luminal aumentou por depósito adicional de fibrina e de células sanguíneas, mas passou a haver organização do tecido com aparecimento de fibras colágenas (fig. 1.3).

Após 8 semanas, notaram-se vasos (capilares e arteríolas), células inflamatórias (linfócitos, monócitos e plasmócitos) e fibroblastos na camada depositada na íntima e região mais interna do enxerto original de dura-mater (fig. 1.4 a 6).

Com microscopia eletrônica de transmissão e varredura, depois de uma semana, observou-se, na face luminal do enxerto, o depósito de uma camada de fibrina com células sanguíneas, e material amorfo granular (fig. 2 e 3).

As diferenças observadas nas metades da face luminal pareceram devidas mais à morfologia original do que à exposição ao sangue. Na face aracnoideia, observaram-se as trabéculas aracnoideias e, na face periosteal, cavidades arredondadas remanescentes dos vasos arrancados durante a separação da dura-máter do osso (fig. 4 e 5).

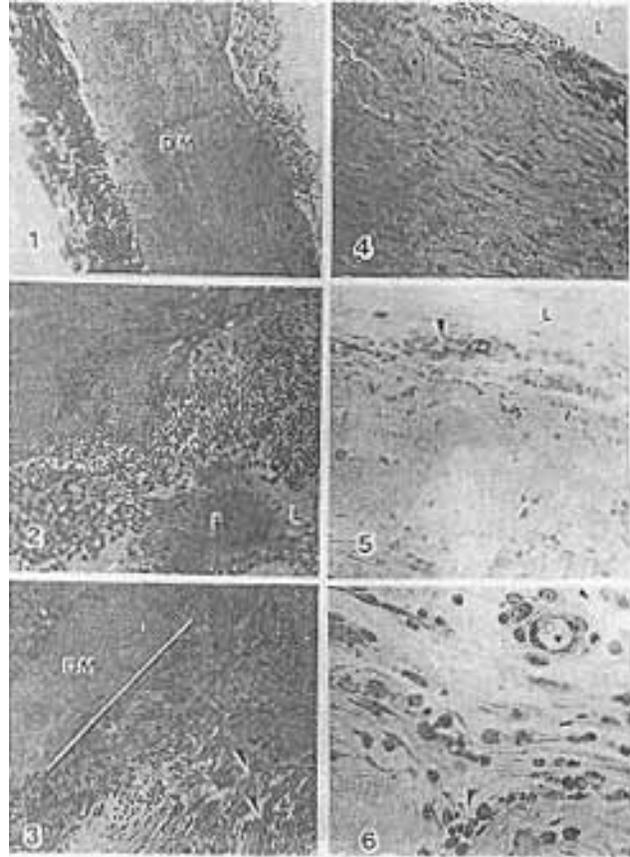


Fig.1 - 1) Implante de 1 semana. Nota-se depósito de fibrina na face luminal periosteal (f), tecido colágeno íntegro, e a face aracnoideia (externa) com as trabéculas (E); 2 - implante de 1 semana - face aracnoideia luminal com fibrina e células sanguíneas menos organizadas; 3 - implante de 4 semanas - a face periosteal do enxerto original separado por uma linha, tem depósito de fibrina remodelado com fibras colágenas; 4 - implante de 8 semanas - o campo mostra apenas a região luminal remodelada de um enxerto na face aracnoideia; 5 - implante de 8 semanas - a face periosteal teve sua camada adicional de fibrina organizada e com vasos sanguíneos (setas) com células inflamatórias (leucócitos, monócitos, plasmócitos) que penetram o enxerto original; 6 - em maior aumento, visibilizando vasos e células penetrando o enxerto.

Após 4 semanas, observou-se um processo de remodelamento da face luminal. Embora ainda existisse fibrina, existia grande número de macrófagos, fibroblastos e colágeno (fig. 6, 7 e 8). Algumas áreas da face luminal apresentavam uma camada de células recobrindo o enxerto (fig. 9).

Após 6 semanas, observaram-se numerosos fibroblastos, colágeno recentemente sintetizado, material escuro que pode corresponder a componentes de tecido conjuntivo recentemente sintetizado, depósito de fibrina ou colágeno em degeneração (fig. 10 e 11). Observaram-se células com aspecto de macrófago em processo ativo de fagocitose (fig. 12 e 13).

Finalmente, após 8 semanas de implante, a dura-mater tornou-se infiltrada por células sanguíneas e vasos. Entre as células, estão fibroblastos, leucócitos, linfócitos, monócitos e plasmócitos (fig. 14 e 15). Esses últimos tinham as cisternas e o retículo endoplasmático rugoso, distendidos.

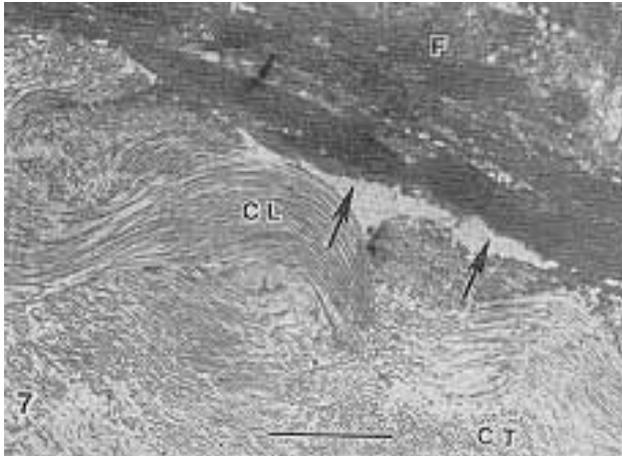


Fig.2 - Implante de 1 semana. Face periostal luminal, mostrando a camada amorfa de fibrina (F) e as fibras colágenas cortadas transversalmente (CT) ou longitudinalmente (CL).

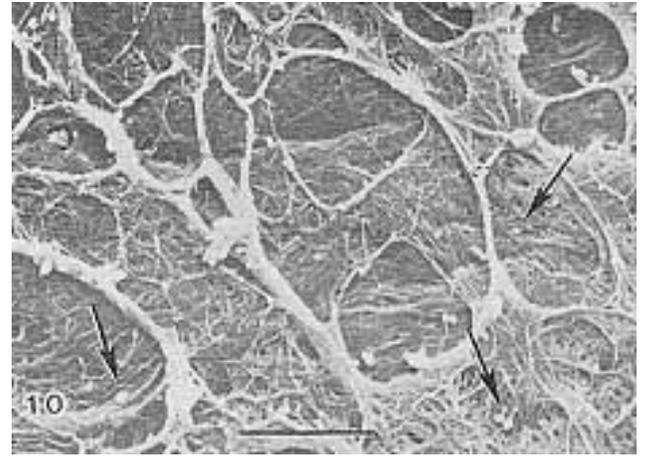


Fig.5 - Implante de 1 semana. Face aracnóidea luminal à microscopia de varredura mostrando trabéculas aracnóideas colapsadas porém intactas. Células sangüíneas (setas) circundadas por fibrina.

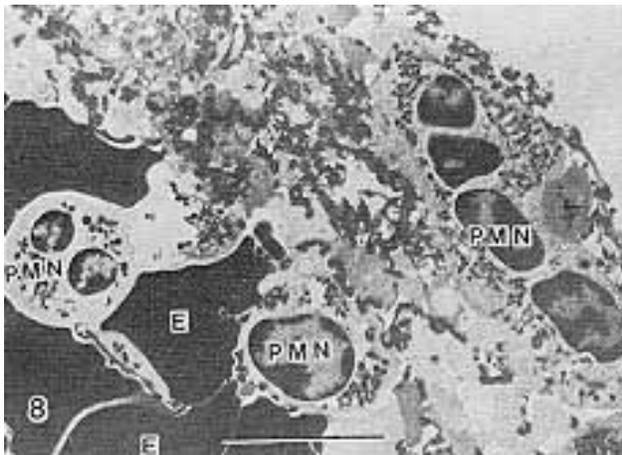


Fig.3 - Implante de 1 semana. Face periostal luminal, mostrando fibrina (setas), eritrócitos (E) e leucócitos (PMN).

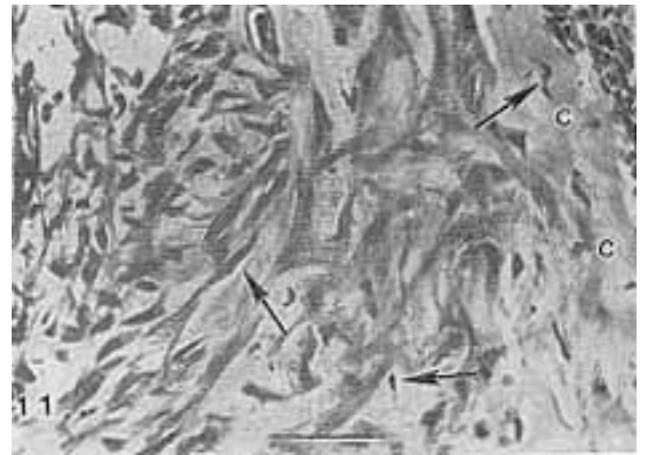


Fig.6 - Implante de 4 semanas. Face periostal luminal mostra uma área de remodelação abaixo da superfície luminal (S) do implante com macrófagos, fibroplastos (setas) e colágeno novo (C).

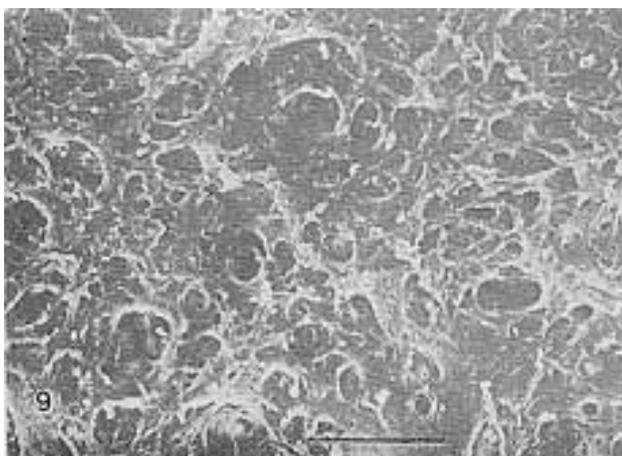


Fig.4 - Implante de 1 semana. Face periostal luminal à microscopia de varredura com o aspecto de pequenas cavidades remanescentes dos vasos.

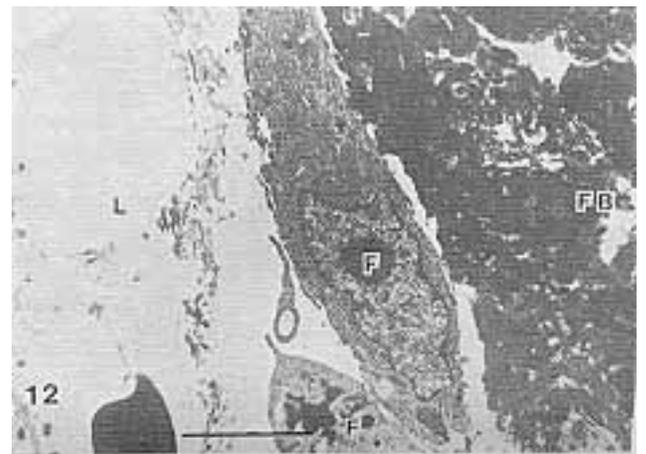


Fig.7 - Implante de 4 semanas com a face luminal. Observa-se acúmulo de fibrina (FB), aumento de fibroplastos ativos (F) demonstração pela abundância de retículo endoplasmático rugoso.



Fig.8 - Implante de 4 semanas com face periostal luminal. Microscopia de varredura mostrando fibroplastos (F), macrófagos (M) entre fibras colágenas (+) e células sanguíneas (B).

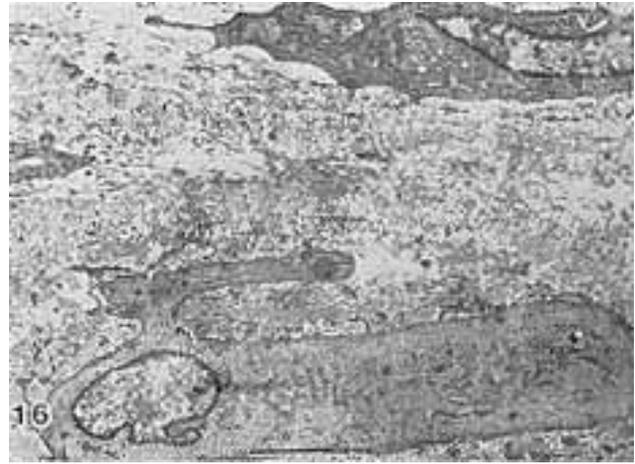


Fig.11 - Implante de 6 semanas. Face aracnóidea luminal. Notam-se 2 fibroplastos ativos.

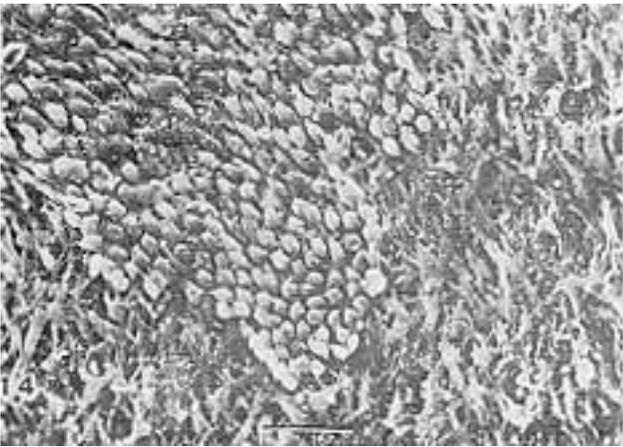


Fig.9 - Implante de 4 semanas com face periostal luminal. Microscopia de varredura que mostra área de camada de células únicas representando provavelmente endotelização.



Fig.12 - Implante de 6 semanas. Face aracnóidea luminal. Nota-se uma célula fagocítica com seu núcleo (N), vacúolos (V), processos protoplasmáticos (setas) e fagocitando uma partícula de fibrina.



Fig.10 - Implante de 6 semanas com face aracnóidea luminal. Notam-se fibroplastos ativos com núcleo alongado (N), fibroplastos (F), colágeno normal (C) e material amorfo escuro de natureza definida (vide texto).

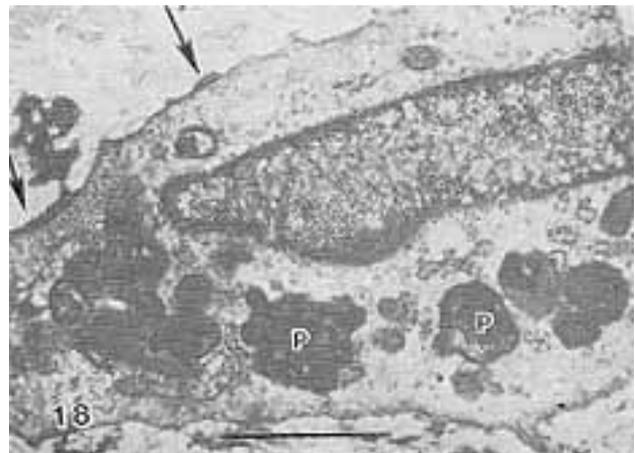


Fig.13 - Implante de 6 semanas com a face aracnóidea luminal. Nota-se parte do macrófago contendo fagossomas (P).



Fig.14 - Implante de 8 semanas. Região média do enxerto com infiltrado profundo de elementos sanguíneos em região que era acelular. Observam-se linfócitos (L), monócitos (M) e plasmócitos (P).

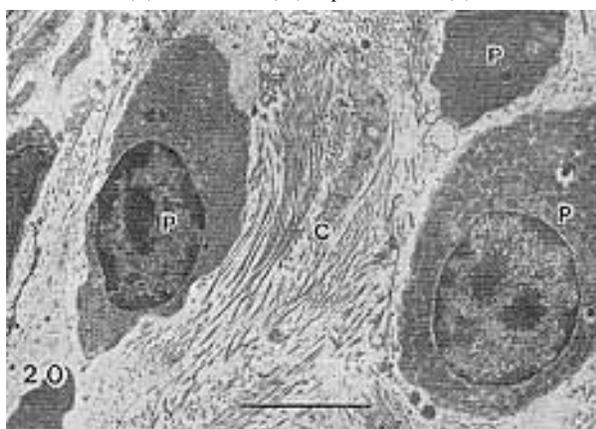


Fig.15 - Mesmo aspecto da figura 14 em maior aumento que demonstra tecido colágeno normal (C) e plasmócito (P) com retículo endoplasmático com cisternas distendidas sugerindo síntese ativa de anticorpos.

## DISCUSSÃO

O amplo uso de dura-máter homóloga conservada em glicerina em cirurgia cardiovascular justifica o estudo morfológico do tecido nas várias posições em que tem sido empregado. Na via de saída do ventrículo direito, quando utilizado para correção da estenose pulmonar, os resultados clínicos foram bons. No entanto, não existem estudos aprofundados.

Na presente investigação, a comparação entre a dura-máter do cão e a recuperação após implante na via de saída do ventrículo direito mostrou significativas diferenças morfológicas. As fibras colágenas dos enxertos permaneceram basicamente inalteradas durante o período de estudo mas o número de células neles aumentou muito. Essas células eram provavelmente provenientes da corrente sanguínea ou das paredes adjacentes, especialmente, da primeira. O acúmulo dessas células, em princípio, foi

favorecido pela presença de um recesso na região do implante, pelo caráter não contrátil do enxerto e pela reação ao corpo estranho que ele representa.

A maior parte das células foi identificada como fibroblastos ou macrófagos. O número dessas células aumenta com o tempo de implante e algumas delas apresentam características intermediárias entre fibroblastos e macrófago, sugerindo que a mesma célula possa dar origem aos dois tipos. Semelhante tipo de célula foi descrito na dura-máter do cão<sup>6</sup>.

Sobre a superfície luminal da dura-máter, seja ela a aracnóideia, seja periostal, depositou-se uma camada de fibrina que se infiltra de células sanguíneas, macrófagos e fibroblastos. Aparentemente, as células infiltram as camadas mais distantes da luz.

Por ser de superfície mais lisa, o que ficou bem evidente na microscopia de varredura, sugere-se que a face aracnóideia deve ser a face voltada para a corrente sanguínea e que seja ela liberada das membranas e trabéculas para diminuir a probabilidade de depósito de microtrombos.

Algumas áreas da face luminal apresentam centenas de células, processo interpretado como endotelização e que progredindo deverá dar um caráter liso a essa face do enxerto.

No enxerto, ainda notam-se outras células como linfócitos e plasmócitos, esses últimos com cisternas de retículo sarcoplasmático distendidos, sugerindo síntese ativa de anticorpos, provavelmente, como resposta ao tecido do enxerto homólogo de dura-máter.

Finalmente, verificou-se que, ao fim de 8 meses de implante, a dura-máter homóloga ainda apresentava processo ativo de remodelação, com infiltrado de células sanguíneas. O tecido colágeno permanecia íntegro. Esse caráter evolutivo sugere que período maior de seguimento é necessário para avaliar o aspecto final do enxerto.

Conclui-se que, no período de seguimento estudado, a dura-máter homóloga conservada em glicerina, implantada na via de saída do VD, não apresenta alterações degenerativas e que o modelo experimental é excelente para o estudo de outros tipos de tecido na mesma posição.

## SUMMARY

The authors present an experimental study in dogs in which a duramater graft was implanted in the wall of right ventricle outflow tract. The graft was constructed with two parts, one with the arachnoidal and the other with the periostal surface oriented to the ventricular cavity. In groups of three dogs, the grafts were recovered after one, four, six and eight weeks and studied by optical, scan electron microscopy and transmission electron microscopy.

The original graft remains without major alterations but becomes infiltrated by blood cells and specially by fibrocytes. This infiltrate initially occurs in the fibrin layer deposit in the depth of the graft together with the vessels.

The authors conclude that in the period of study the tissue is adequate for the use in the right ventricle outflow tract and that the aracnoidal surface ought to be oriented as the luminal one.

#### REFERÊNCIAS

1. Pigossi, N. W. - A glicerina na conservação de dura-máter. - Estudo experimental. São Paulo, 1967. (Tese, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo).
2. Pigossi, N.; Raia, A.; Lex, A.; Gama, A. H.; Simonsen, O.; Haddad, J.; Stolf, N. A.; Zerbini, E. J.; Miniti, A.; Tenuto, R. - Estudo experimental e clínico sobre o emprego como implante, da dura-máter homogênea conservada em glicerina a temperatura ambiente. Rev. Assoc., Med. Bras. 17: 263, 1971.
3. Stolf, N. A. G.; Aun, F.; Curí, N.; Pigossi, N.; Zerbini, E. J. - Homologous dIuramater used to close thoracic wall and diaphragmatic defects. International Surg. 61: 604, 1976.
4. Puig, L. B. - Substituição de valva mitral por valva de dura-máter homogênea, Resultados tardios. São Paulo, 1976. (Tese, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo).
5. S. Stolf, N.; Aun, F.; Tariki, J. Y.; Racha, F. L. C.; Cutatt, R.; Behmer, O. A.; Zerbini, E. J. - O fechamento de comunicação interatrial com dura-máter homogênea preservada em glicerina. Estudo experimental. Rev. Assoc. Med. Bras. 19: 175, 1973.
6. Allen, D. J.; Low, F. N. - Scanning electron microscopy of the subarachnoid space in the dog. J. Com. Neurol. 161: 515, 1975.