



UFRJ

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

PETHER NEVES FERNANDES

Técnicas de preenchimento do lúmen em esplanologia: aplicações
no ensino, pesquisa e extensão

Rio de janeiro

2016



UFRJ

PETHER NEVES FERNANDES

Técnicas de preenchimento do lúmen em esplancnologia: aplicações
no ensino, pesquisa e extensão

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de Mestrado Profissional de Formação para a Pesquisa Biomédica do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Daniela Uziel

Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Telma Sumie Masuko

Rio de janeiro

2016

CIP - Catalogação na Publicação

N363t Neves Fernandes, Pether
Técnicas de preenchimento do lúmen em
esplancnologia: aplicações no ensino, pesquisa e
extensão / Pether Neves Fernandes. -- Rio de
Janeiro, 2016.
55 f.

Orientadora: Daniela Uziel.
Coorientadora: Telma Sumie Masuko.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal
do Rio de Janeiro, Instituto de Biofísica,
Programa de Pós-Graduação em Biofísica, 2016.

1. Anatomia. 2. Preenchimento luminal. 3.
Vísceras. 4. Resinas. I. Uziel, Daniela, orient.
II. Sumie Masuko, Telma, coorient. III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

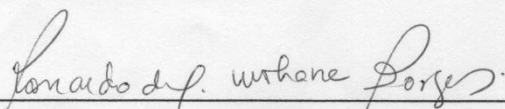
"TÉCNICAS DE PREENCHIMENTO DO LÚMEN EM ESPLANCOLOGIA:
APLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO"

PETHER NEVES FERNANDES

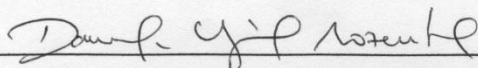
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO PROFISSIONAL DE FORMAÇÃO PARA A PESQUISA BIOMÉDICA
SUBMETIDA À UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO VISANDO A OBTENÇÃO DO
GRAU DE MESTRE EM FORMAÇÃO PARA A PESQUISA BIOMÉDICA.

APROVADA POR:

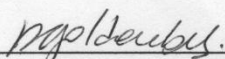
Rio de Janeiro, 29 de julho de 2016.



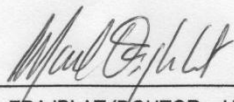
RONALDO DA SILVA MOHANA BORGES (DOUTOR – UFRJ)
(COORDENADOR DO CURSO DE MESTRADO PROFISSIONAL DE FORMAÇÃO PARA PESQUISA BIOMÉDICA)



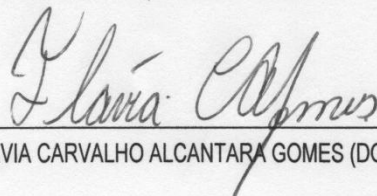
DRA. DANIELA UZIEL ROZENTAL (DOUTOR – UFRJ) – ORIENTADOR



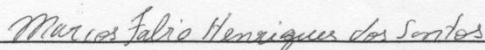
DRA. REGINA COELI DOS SANTOS GOLDENBERG (DOUTOR – UFRJ) – REVISOR



DR. MARCEL FRAJBLAT (DOUTOR – UFRJ)



DRA. FLAVIA CARVALHO ALCANTARA GOMES (DOUTOR – UFRJ)



DR. MARCOS FABIO HENRIQUES DOS SANTOS (DOUTOR – UFRJ)

DEDICATÓRIA

A minha mãe, Luzia com todo amor.

A meu pai, Artur por estar sempre do meu lado.

A minhas irmãs, Patrícia e Priscilla por todo apoio.

A minha esposa, Alinne pela paciência, compreensão e companheirismo.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que me permitiu realizar mais um sonho.

A minha orientadora, Prof.^a Daniela Uziel e a co-orientadora, Prof.^a Telma Sumie Masuko, por seu interesse, entusiasmo e disponibilidade para ensinar e me guiar neste caminho da ciência.

Aos Professores Marcel Frajblat, Flavia Gomes e Marcos Fabio, por aceitarem meu convite para compor a banca e contribuírem com meu aprendizado.

À Ludmila e Carol Batista, pelos conselhos, incentivos, conhecimento e apoio com todo o material, durante a fase experimental.

Ao Paulo Castelo Branco, por seu esforço em preencher os espaços que deixei no setor de trabalho e pela ajuda nas dúvidas que surgiam.

Aos amigos de mestrado do MPT, por estar sempre presente nesta jornada longa e difícil e pelas trocas de experiências que foi importante para o meu aperfeiçoamento acadêmico.

Aos professores do MPT, pelo carinho com que sempre fui recebido.

A todos meus familiares, pelo acolhimento e pelas palavras de incentivo nos momentos mais importante.

À Professora Jane Faria, pelo apoio e incentivo na realização do mestrado.

RESUMO

FERNANDES, Pether Neves. Técnicas de preenchimento do lúmen em esplanologia: aplicações no ensino, pesquisa e extensão. Rio de Janeiro, 2016. Dissertação (Mestrado Profissional de Formação para a Pesquisa Biomédica) – Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

O estudo anatômico precisa da confecção de material didático a partir de corpos, segmentos corporais e órgão. Técnicas específicas, como a repleção, são utilizadas para evidenciar estruturas luminais, com a injeção de diferentes tipos de resina, que podem evidenciar estruturas vasculares e tubulares como brônquios, vias urinárias e vias hepáticas. Estas técnicas utilizam peças frescas ou congeladas, que após injetadas o tecido é corroído por ácidos ou bases fracas, dispensando o uso de formol. O objetivo dessa dissertação foi estabelecer técnicas de preenchimento luminal para implantá-las na rotina de produção de peças no anatômico do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) para o ensino, pesquisa e extensão. Foram utilizadas diferentes substância de repleção em dois modelos animais para validação antes da utilização de material humano. Foram utilizados 20 ratos (*Rattus norvergicus*) da cepa Wistar e vísceras de porcos (coração, rim e pulmão) adquiridas frescas. Para o preenchimento arterial do sistema nervoso de ratos, utilizou-se resina Biodur E20, e após a injeção, as cabeças dos roedores foram conservadas em paraformaldeído a 4%, e os encéfalos seccionados utilizando dois protocolos diferentes para avaliação histológica. No primeiro, após crioproteção em soluções de sacarose, foram emblocados em OCT, congelados e seccionados em criostato a 30 µm ou 60 µm. Outra parte dos encéfalos foi seccionada a 100 µm utilizando um vibrátomo. Para confecção de moldes de coração e rins, foi injetada resina acrílica auto polimerizável colorida e os órgão foram submersos em ácido muriático comercial por sete dias para degradação do parênquima. Para confecção dos moldes da árvore traqueobrônquica, utilizou-se espuma de poliuretano comercial, e o espécime foi imerso em solução de KOH a 10%. Todos os moldes ficaram em ar ambiente por dias a semanas para secarem completamente e foram armazenados em recipiente plástico. O grau de preenchimento foi avaliado pela medição fotográfica da área de secção das estruturas preenchidas utilizando o programa Image J (NIH). Obtiveram-se com essas técnicas, peças anatômicas de coração, rim e pulmão adequadas ao uso em sala de aula e para a divulgação científica. Os resultados histológicos do encéfalo indicam que a repleção com resina biodur E20 ainda precisa ser aprimorada para propósito de ensino e pesquisa.

Descritores: Anatomia, Vísceras, Resinas.

ABSTRACT

FERNANDES, Pether Neves. Técnicas de preenchimento do lúmen em esplanologia: aplicações no ensino, pesquisa e extensão. Rio de Janeiro, 2016. Dissertação (Mestrado Profissional de Formação para a Pesquisa Biomédica) – Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

Anatomical studies demand production of cadaveric specimens, dissection of whole bodies, body segments and organs. Specific techniques, such as the repletion are available to study luminal structures by the injection of different sort of resins, that enable the identification of vascular as well as bronchi, billiary and renal tracts. Fresh or frozen specimens can be used to such techniques, which undergo corrosion by a weak acid or basic solution after injection and no formaline conservation is needed. The goal of this project is to establish injection techniques as routines in the anatomical laboratory from the Biomedical Science Institute of the Federal University of Rio de Janeiro to produce specimens for teaching, research and science communication. We used three different injection substances in two different animal models: pigs and rats to validate the protocols before ist use in human specimens. Twenty Wistar rats and fresh-frozen organs (hearts, kidneys and lungs) from pigs were used. Experimental procedures were approved by the Committee on Ethical Animal Use of the Health Sciences Center (Ceua-CCS) from the Federal University of Rio de Janeiro (Protocol number 013-15). For rat nervous system arterial filling Biodur E20 resine was injected and afterwards the whole head were kept 4% paraformaldehyde, and brain sectioned using two different protocols for histological analysis. In the first protocol, after a cryoprotection step in sucrose brains were embeded in OCT, frozen and cut in a cryostat at 30 μm or 60 μm thick. In the other protocol, brains were slices using a vibratome at 100 μm . Hearts and kidneys were injected with a self polymerizing acrylic resin and underwent corrosion in weak chloridric acid for 7 days or until all debris were removed. Lungs were injected with a comercial polyurethane foam to fulfill tracheobronchial tree and underwent corrosion in a 10% KOH solution. After injectin, all molds were kept for days to weeks at room air and temperature and then stored in plastic boxes. Filling rate was evaluated by photographic measures of the nolds and analysed using Image J software (NIH). By the use of these techniques it was possible to obtain heart, kidney and lung molds suitable for teaching and scientific communication. Results from histology indicate that the vascular bed was incompletely filled and some troubleshooting is still need for the technique to be used for research.

Keywords: Anatomy, Viscera, Resins

LISTA DE SIGLAS

ACE	Artéria Coronária Esquerda
AIA	Artéria Interventricular Anterior
AVB	Ramo Ventricular Anterior
AVNB	Ramo do Nó Atrioventricular
CEUA-CCS	Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências da Saúde
CXA	Artéria Circunflexa
CXB	Ramo Circunflexo
IP	Intraperitoneal
KOH	Hidróxido de Potássio
LA	Átrio Esquerdo
LBC	Ramo do Cone Esquerdo
LDA	Artéria Diagonal Esquerda
LMB	Ramo Marginal Esquerdo
LRVB	Ramo Retroventricular Esquerdo
LV	Ventrículo Esquerdo
OCT	Optimal Cutting Temperature
PIB	Ramo Interventricular Posterior
PMMA	Polimetilmetacrilato
RA	Átrio Direito
RCA	Artéria Coronária Direita
RMV	Ramo Marginal Direito
RV	Ventrículo Direito
SAB	Ramo do Nó Sinodial
TC	Tomografia Computadorizada
UFF	Universidade Federal Fluminense
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Vista anterior e da borda obtusa esquerda do coração de suíno.....	15
FIGURA 2	Vista anterior e posterior do coração de suíno.....	16
FIGURA 3	Vascularização venosa renal em suínos.....	18
FIGURA 4	Aspecto dorsal dos vasos sanguíneos do encéfalo de um roedor.....	19
FIGURA 5	Modelo em metacrilato da árvore traqueobrônquica humana.....	21
FIGURA 6	Fotos ilustrativas da face anterior e posterior do coração.....	34
FIGURA 7	Fotos ilustrativas do preenchimento vascular do coração.....	35
FIGURA 8	Fotos ilustrativas dos vasos de maior e menor calibre do rim, bem preenchido e com defeitos de preenchimento.....	37
FIGURA 9	Fotos ilustrativas da área de secção transversal dos vasos do rim.....	37
FIGURA 10	Fotos ilustrativas dos vasos de maior calibre do encéfalo, bem preenchidos.....	39
FIGURA 11	Fotos ilustrativas da área de secção transversal dos vasos do encéfalo.....	40
FIGURA 12	Fotos ilustrativas dos vasos do encéfalo apresentando falha de preenchimento.....	41
FIGURA 13	Fotos ilustrativas da face anterior e posterior do pulmão.....	43
FIGURA 14	Fotos ilustrativas da área de secção transversal da árvore brônquica.....	44
FIGURA 15	Imagem ilustrativa de vasos do córtex cerebral preenchidas com gelatina misturada à tinta nanquim.....	48

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Vantagens e desvantagens das técnicas de preparação de materiais didáticos para as aulas práticas de morfologia.....	13
TABELA 2	Diâmetro dos vasos arteriais.....	20
TABELA 3	Técnicas de repleção.....	23
TABELA 4	Quantidade e procedência das peças.....	28
TABELA 5	Preparo dos corações de suínos com resina autopolimerizável.....	29
TABELA 6	Preparo dos rins de suínos com resina autopolimerizável.....	30
TABELA 7	Preenchimento do lúmen arterial encefálico de roedores com resina biodur E20.....	31
TABELA 8	Preparo dos pulmões de suínos com resina de poliuretano.....	32
TABELA 9	Área de secção transversal das artérias cardíacas.....	36
TABELA 10	Área de secção transversal das artérias e veias renais.....	38
TABELA 11	Área da rede arterial dos encéfalos de roedores.....	40
TABELA 12	Área de secção transversal dos encéfalos de roedores.....	42
TABELA 13	Área de secção transversal da árvore brônquica.....	45

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	A conservação e a elaboração de peças anatômicas.....	12
1.2	Anatomia do sistema vascular.....	12
1.2.1	Sistema vascular arterial do coração.....	14
1.2.2	Sistema vascular do rim.....	17
1.2.3	Sistema vascular arterial do encéfalo.....	18
1.3	Anatomia do sistema respiratório.....	20
1.4	Técnicas de estudo do sistema vascular e de outras estruturas tubulares.....	22
1.4.1	Resina auto-polimerizável.....	24
1.4.2	Resina Biodur E20.....	24
1.4.3	Resina de Poliuretano.....	25
1.5	Anatomia para o ensino, pesquisa e extensão.....	25
2	OBJETIVOS	27
2.1	Objetivo geral.....	27
2.2	Objetivos específicos.....	27
3.	MÉTODO	28
3.1	Etapas do processo de injeção.....	28
3.1.1	Preparo dos corações de suínos com resina autopolimerizável.....	28
3.1.2	Preparo dos rins de suínos com resina autopolimerizável.....	29
3.1.3	Preparo dos encéfalos de roedores com resina Biodur E20.....	30

3.1.4	Preparo dos pulmões de suínos com resina de poliuretano.....	31
3.2	Registro e avaliação das peças após seu preenchimento.....	32
4	RESULTADOS.....	33
4.1	Coração.....	33
4.2	Rim.....	36
4.3	Encéfalo.....	38
4.4	Pulmão.....	43
5	DISCUSSÃO.....	46
6	CONCLUSÃO.....	51
	REFERÊNCIAS.....	52
	ANEXO I - APROVAÇÃO PELO CEUA/CCS.....	55

1 INTRODUÇÃO

1.1 A conservação e a elaboração de peças anatômicas

As várias técnicas de preservação de cadáveres têm por objetivo principal manter as características morfológicas de maneira semelhante ao que encontramos em um ser vivo. Para a escolha dessas técnicas, devemos considerar seu custo, a facilidade do manuseio após o preparo, a toxicidade e a necessidade de manutenção das peças (OLIVEIRA *et al.*, 2013). Os laboratórios de anatomia utilizam peças anatômicas cadavéricas a partir de técnicas de formolização, plastinação, glicerinação, entre outras sendo importante o manuseio delas para o melhor aproveitamento no processo de ensino-aprendizagem (CURY; CENSONI; AMBROSIO, 2013).

As técnicas de formolização e glicerinação são as mais conhecidas e utilizadas. O formoldeído atua como fixador e conservante e é o mais utilizado no Brasil por apresentar um menor custo e com uma eficácia mais rápida, mas, como as peças precisam ficar imersas em solução de formol a 10%, o transporte e o manuseio ficam prejudicados, além de ser uma solução irritante para o trato respiratório, mucosa ocular e com um grande potencial cancerígeno (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

A glicerina atua principalmente no combate contra fungos e bactérias gram-negativas e gram-positivas, menos em formas esporuladas. A sua vantagem está em manter a coloração das peças mais próximas do normal melhorando também o transporte e o seu manuseio e, principalmente, por ser um produto menos tóxico (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Estas técnicas são utilizadas em estudos anatômicos da anatomia dos órgãos e sistemas de uma forma geral (Tabela 1). Para se estudar estruturas tubulares, como vasos e ductos aéreos, utiliza-se técnicas de preenchimento, as quais abordaremos com mais detalhe adiante, visto que são o sujeito desta dissertação (SILVA *et al.*, 2011).

1.2 Anatomia do sistema vascular

O sangue deve alcançar todos os órgãos do animal, servindo como uma via para fornecimento de substratos usados pelas células e levando aos órgãos de excreção as substâncias que não são mais necessárias ao organismo (MARÍN-PADILLA; KNOPMAN, 2011). Para fazer esta nobre função, temos o sistema circulatório com os seus vasos

sanguíneos distribuídos entre artérias, veias e a microcirculação que entram na intimidade dos tecidos mantendo a integridade homeostática corporal (COSTA; SANTOS, 1999).

Tabela 1. Vantagens e desvantagens das técnicas de preparação de materiais didáticos para as aulas práticas de morfologia

Técnica	Utilidade	Custo	Tempo de Preparo	Durabilidade	Toxicidade	Manutenção
Osteotécnicas Química (maceração)	Útil para conservação de esqueletos.	O custo é elevado.	O tempo é curto (menos de um mês).	Tem 100% de durabilidade da peça.	Alguns produtos da maceração química são tóxicos.	Não é necessário.
Osteotécnicas Mecânica (maceração)	Útil para conservação de esqueletos.	O custo não é elevado.	O tempo é curto (menos de um mês).	Tem 100% de durabilidade da peça.	Atóxico.	Não é necessário.
Osteotécnicas Biológica (maceração)	Útil para conservação de esqueletos.	O custo não é elevado.	O tempo é elevado (2-3 meses).	Tem 100% de durabilidade da peça.	Atóxico.	Não é necessário.
Fixação e conservação em meio líquido.	Útil para estabilizar as proteínas teciduais, preservando as estruturas do modo mais próximo ao do animal vivo.	Baixo.	Curto.	Faz-se necessária a manutenção para que a peça dure 100%.	O formol e o fenol são tóxicos.	É necessário fazer a troca de glicerina, álcool ou formol.
Diafanização	Permite observar o tecido ósseo e cartilaginoso, com muita acuidade.	O custo é baixo.	O tempo é médio (1 -2 meses).	Faz-se necessária a manutenção para que a peça dure 100%.	Considerada de baixa toxicidade, mesmo utilizando: o formol, peróxido de hidrogênio e a alizarina que são tóxicos.	Para a diafanização, faz-se necessária a troca de glicerina e a adição de cristais de timol.
Plastinação	Útil para manter os corpos conservados, sem custos adicionais para sua conservação.	Elevado.	Elevado. Dura meses para sua finalização.	Longa duração.	Alguns produtos utilizados na preparação são tóxicos, porém, a peça pronta é atóxica.	Mínimo.

O sistema circulatório é formado pelo coração e uma complexa rede de vasos sanguíneos e linfáticos (DÂNGELO E FATTINI, 2006). É através dos vasos sanguíneos que o sangue, rico em oxigênio e nutrientes, é transportado para todas as células do nosso organismo e o dióxido de carbono e os restos metabólicos são retirados dessas células e depois eliminados (ARONE; PHILIPPI, 2004).

As artérias são os vasos centrífugos, isto é, a partir do centro do sistema circulatório, que é o coração, levam o sangue para toda a periferia e iniciam com grande calibre a partir da artéria aorta e diminuem até chegar a tamanhos microscópicos, tendo uma arteríola aproximadamente 0,1 mm de diâmetro e os capilares entre 5 e 10 μm de diâmetro. A diminuição deste diâmetro ao longo deste trajeto visa manter constante a pressão sanguínea, imposta pelo fluxo que sai do coração, que funciona como uma bomba propelindo o sangue para os tecidos. (FRANDSON; WILKE; FAILS, 2005).

1.2.1 Sistema vascular arterial do coração

As aulas práticas de anatomia do sistema vascular arterial do coração são importantes para entendermos como este sistema atua levando o sangue para o miocárdio através das artérias coronárias. Estas artérias emergem da aorta logo após sua saída do ventrículo esquerdo e são o único ramo e sua porção ascendente (COSTA; SANTOS, 1999).

O estudo minucioso da anatomia e da relação entre as estruturas cardíacas é fundamental para a identificação clínica das cardiopatias, bem como no auxílio a procedimentos cirúrgicos. (JATENE *et al.*, 1999). Com o grande aumento dos métodos de diagnósticos e de tratamento das doenças cardíacas, acaba tornando importante um melhor conhecimento sobre todas as estruturas e os ramos das artérias coronárias (ORTALE *et al.*, 2005). Além disso, a anatomia macroscópica de artérias coronárias é de suma importância para o auxílio em cirurgias cardíacas, sendo variações anatômicas, embora em número pouco expressivo, citadas na literatura especializada. (FALCI JUNIOR, 1996).

De uma forma geral, em mamíferos, as coronárias emitem um ramo circunflexo e um ramo interventricular a cada lado, direito e esquerdo. A coronária direita origina o ramo circunflexo direito e o ramo interventricular subsinuoso que dá origem aos ramos septais. A coronária esquerda emite o ramo circunflexo esquerdo, o ramo interventricular paraconal e em 20% dos casos emite um terceiro ramo chamado de diagonal. A partir desses ramos diminutos, a divisão permeia a intimidade do miocárdio criando uma complexa e relacionada

rede anastomótica que atravessa todo o órgão e que aumenta com a idade a partir do processo de neoangiogênese (FRANDSON; WILKE; FAILS, 2005).

A artéria coronária esquerda (ACE) em suínos irriga o átrio esquerdo, ventrículo esquerdo e o septo interventricular. Ela se origina do seio aórtico esquerdo, passa posteriormente ao tronco pulmonar e se bifurca em artéria interventricular anterior (AIA) e artéria circunflexa (CXA). Ocasionalmente a coronária esquerda (entre 9-55% em humanos e 20% em suínos) dá origem também a um terceiro ramo a artéria diagonal esquerda (LDA). A AIA emite ramos septais, ramo do cone esquerdo (LBC) e ramos ventriculares e se estende até o ápice cardíaco (Figura 1A). Como se observa na Figura 1B, a CXA dá origem também ao ramo marginal esquerdo (LMB) (GÓMEZ; BALLESTEROS, 2014).

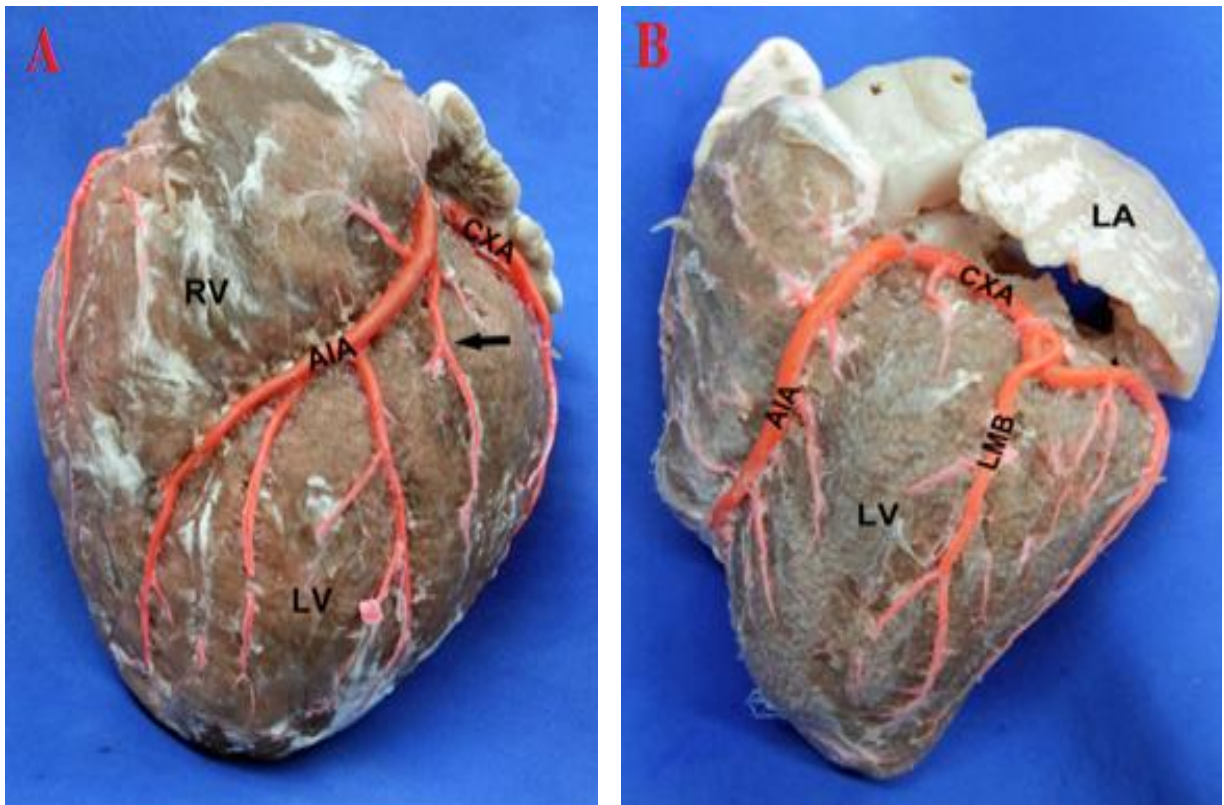


Figura 1. (A) Vista anterior do coração de suíno após preenchimento arterial. LV – Ventrículo esquerdo; RV – Ventrículo direito; AIA – Artéria interventricular anterior; CXA – Artéria circunflexa; Seta – Ramo Antero superior. (B) Vista da borda obtusa esquerda do coração após preenchimento arterial. LA – Átrio esquerdo; LV – Ventrículo esquerdo; AIA – Artéria interventricular anterior; CXA – Arteria circunflexa; LMB – Ramo marginal esquerdo. Adaptado de Gómez e Ballesteros, 2014.

A ACE, em suínos, possui um diâmetro de aproximadamente 1,37 mm e a AIA possui na região proximal um diâmetro de aproximadamente 0,73 mm e na região distal aproximadamente 0,36 mm. O LBC tem um diâmetro de aproximadamente 0,39 mm, enquanto a CXA possui na região proximal um diâmetro de aproximadamente 0,79 mm e na

região distal aproximadamente 0,55 mm. O LMB possui na região proximal um diâmetro de aproximadamente 0,55 mm e na região distal aproximadamente 0,32 mm; a LDA tem um diâmetro de aproximadamente 0,72 mm (GÓMEZ; BALLESTEROS, 2014).

A artéria coronária direita (RCA) em suínos irriga o átrio e o ventrículo direito e se origina do seio aórtico direito. Esta artéria dá origem a um ramo do nó sinoatrial (SAB), ramo ventricular anterior (AVB) e um ramo marginal direito (RMV) na vista anterior do coração, em quase todos os casos, ocorrendo variações ocasionais (Figura 2A). Já na visão posterior (Figura 2B), temos a origem do ramo retroventricular esquerdo (LRVB) e o ramo interventricular posterior (PIB) que origina os ramos ventriculares direito e esquerdo e os ramos septais e o LRVB dá origem ao ramo do nó atrioventricular (AVNB), de forma geral (GÓMEZ; BALLESTEROS, 2013).

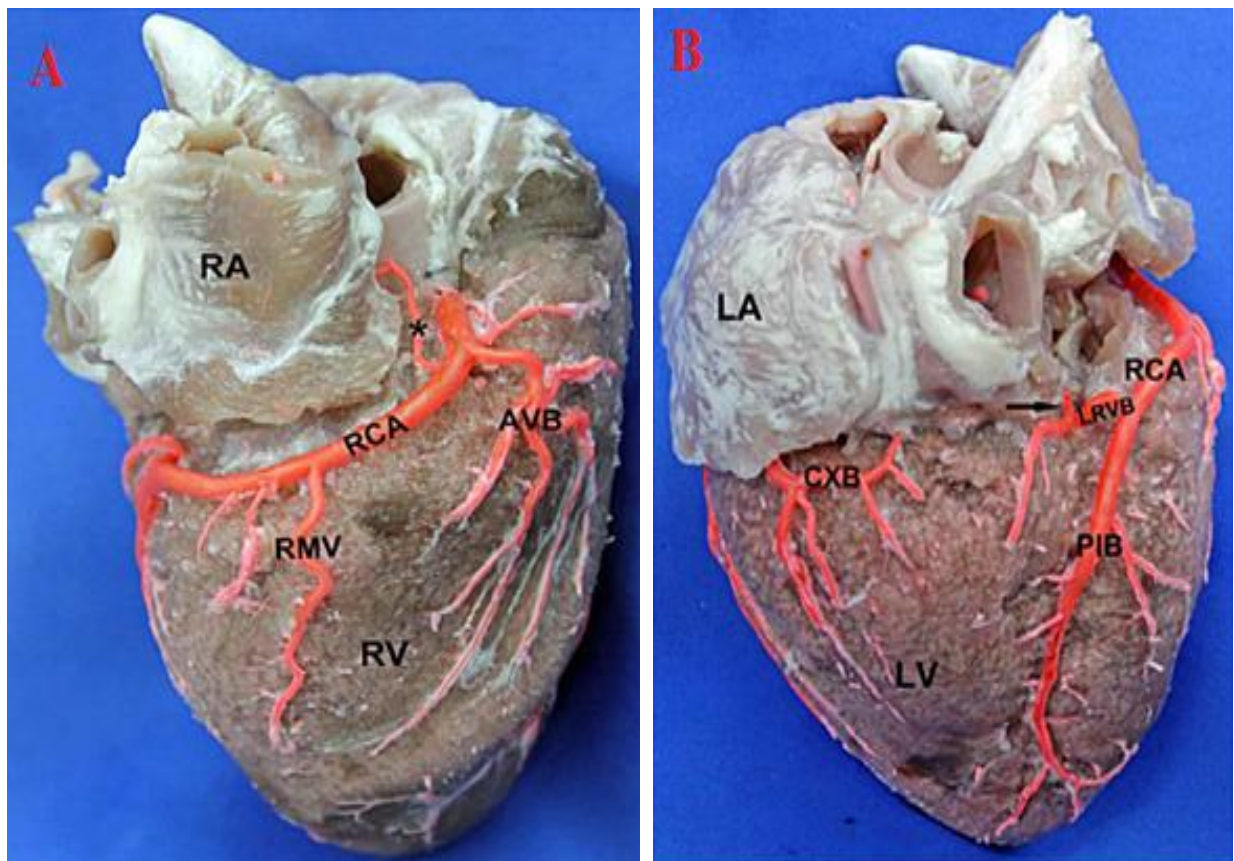


Figura 2. (A) Vista anterior do coração de suíno após preenchimento arterial. RV – Ventrículo direito; RA – Átrio direito; RCA – Artéria coronária direita; AVB – Ramos ventricular anterior; RMV – Ramo marginal direito; * - Ramo do nó sinoatrial. (B) Vista posterior do coração de suíno após preenchimento arterial. LA – Átrio esquerdo; LV – Ventrículo esquerdo; RCA – Artéria coronária direita; PIB – Ramo interventricular posterior; LRVB – Ramo retroventricular esquerdo; Flexa – Ramo do nó atrioventricular; CXB – Ramo circunflexo. Adaptado de Gomez e Ballesteros, 2013.

A RCA possui um diâmetro proximal de aproximadamente 3,85 mm e um diâmetro distal de aproximadamente 2,79 mm, enquanto o SAB apresenta um diâmetro médio de 1,11

mm. O RMV possui um diâmetro médio de 1,30 mm. O PIB tem um diâmetro superior de aproximadamente 2,75 mm e inferior de 1,42 mm e dá origem a uma média de 3,3 ramos ventriculares que irrigam o ventrículo direito e uma média de 2 ramos para a face posterior do ventrículo esquerdo, e o AVNB apresenta um diâmetro médio de 1,16 mm (GÓMEZ; BALLESTEROS, 2013).

1.2.2 Sistema vascular do rim

Pela grande importância funcional, o estudo da morfologia do rim é um assunto de relevância principalmente por causa das variações relacionadas com a sua organização estrutural, encontradas em diferentes espécies de animais, tendo como maior destaque sua vascularização (CARVALHO *et al.*, 2008).

O rim é suprido pela artéria renal principal, com posição e trajeto relativamente constantes até formar o hilo renal. Sua origem é na aorta abdominal entre os níveis de L1 e L2, sendo a direita de menor trajeto que a esquerda na maioria das espécies, mas aproximadamente do mesmo tamanho em suínos (FRANDSON; WILKE; FAILS, 2005). As duas dividem-se nas proximidades do hilo em dois, três ou quatro ramos terminais, sendo que, a maioria deles, passa anteriormente à pelve renal. A partir de cada artéria renal temos a origem de um ramo para o ureter, uma ou mais artérias suprarrenais inferiores, além de diversos ramos para o tecido adjacente e retroperitônio (PALMIERI *et al.*, 2011). Essas variações na origem das artérias renais têm sido relatadas desde o século XVII. Entretanto, temos a ocorrência de menos de 25% dos casos da descrição clássica da vascularização renal, que é formada apenas por uma artéria e uma veia, sendo essas variações bem documentadas para a espécie humana.

O diâmetro da artéria renal, em humanos, foi estudado por Saldarriaga, Pinto e Ballesteros (2008), onde a artéria renal do lado esquerdo (em casos de apenas uma artéria renal) apresentou um diâmetro de 4,93 mm e a artéria do lado direito 4,8 mm; em rins que apresentam artérias renais adicionais o diâmetro medido na artéria principal do lado direito foi de 3,98 mm e 4,28 mm na artéria do lado esquerdo.

O sistema venoso é satélite do sistema arterial, ou seja, para cada ramo arterial corresponde uma veia de mesmo nome e topografia, sendo a veia renal tributária da veia cava caudal (PALMIERI *et al.*, 2011).

As veias interlobares são formadas a partir de 2 a 8 vasos chamados de veias intermediárias primárias que vão se juntar e formar a veia renal, mas em alguns casos as veias intermediárias primárias vão formar as veias intermediárias secundárias para depois formar a veia renal (Figura 3). O diâmetro do lúmen das veias intermediárias secundárias apresenta uma variação muito grande dessa medida: 3,95 a 13,4 mm (em média 7,96 mm) e o lúmen das veias intermediárias primárias apresenta uma medida: 2,45 a 14,75 mm (em média 6,7 mm) e o diâmetro da veia renal foi de 3,0 a 14,75 mm (SZYMANSKI *et al.*, 2015).

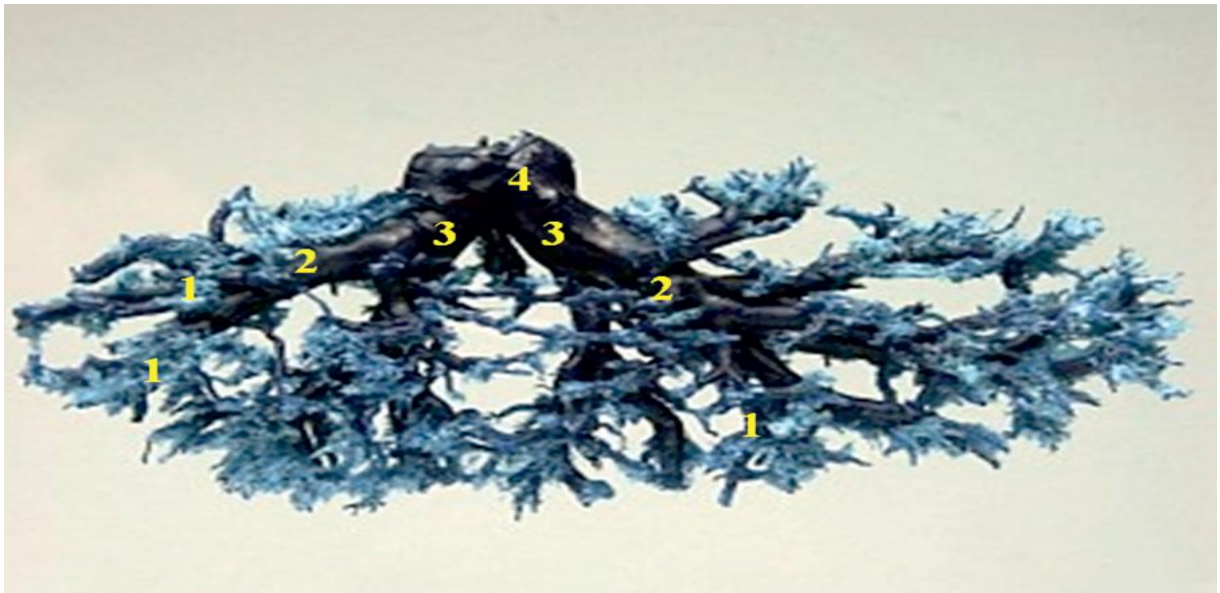


Figura 3. Vascularização venosa renal em suínos; 1 – veias interlobares; 2 – veias intermediárias primárias; 3 – veias intermediárias secundárias; 4 – veia renal. Adaptado de Szymanski, et al., 2014.

1.2.3 Sistema vascular arterial do encéfalo

O conhecimento da rede vascular encefálica é primordial para a compreensão de todo o funcionamento neural, tanto em condições normais quanto em condições de doença (CHILINGARYAN, A.; CHILINGARYAN, A. M.; MARTIN, 2006). A vascularização encefálica é bastante conhecida, mas dentre todos os sistemas e aparelhos corporais, é o sistema circulatório o que apresenta maior variabilidade anatômica. A Figura 4 mostra a organização anatômica do encéfalo de um roedor, nosso modelo experimental, com as principais artérias e veias.

São quatro as principais artérias responsáveis por nutrir o cérebro, tronco cerebral, e, cerebelo: duas artérias carótidas comuns (uma esquerda e outra direita) e duas artérias vertebrais (uma esquerda e outra direita). As artérias carótidas comuns originam-se do arco

aórtico à esquerda e do tronco braquiocefálico à direita e se dividem em carótidas externa e interna. A interna é responsável pela vascularização encefálica. As artérias vertebrais originam-se das artérias subclávia, e ascendem em direção ao crânio passando pelos forames transversos das vértebras cervicais (SCREMIN, 2004). Desta forma, o sistema vascular encefálico consiste em vasos anteriores e posteriores. A circulação anterior consiste em duas artérias carótidas internas, que originam os ramos das artérias cerebrais posteriores e, em seguida, bifurca-se em artéria cerebral média e artéria cerebral anterior. A circulação posterior consiste em duas artérias vertebrais que se juntam na artéria basilar. As duas circulações são ligadas por pequenos vasos comunicantes bilaterais chamados de comunicantes anteriores e posteriores, que formam o chamado polígono de Willis (GHANAVATI *et al.*, 2014).

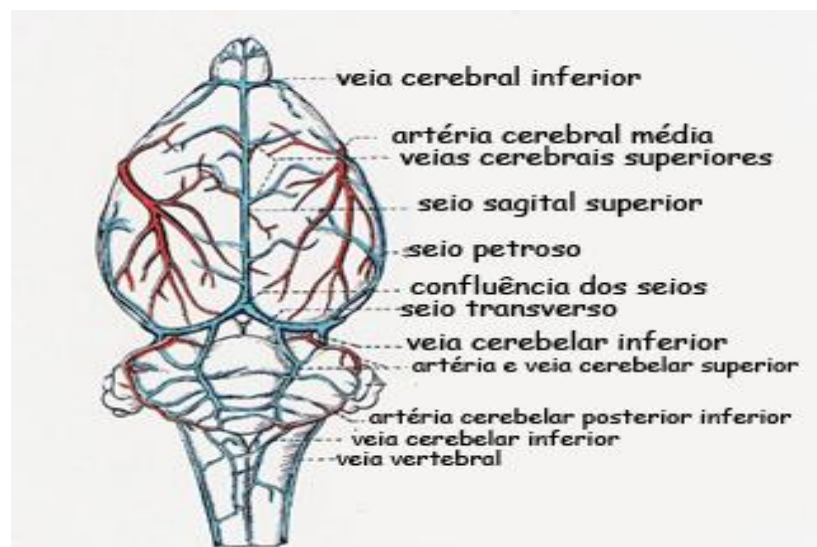


Figura 4 – Aspecto dorsal dos vasos sanguíneos do encéfalo de um roedor. Adaptado de Greene, 1955.

O avanço de técnicas para a análise da rede microvascular do encéfalo desempenha um papel importante no estudo quantitativo da função encefálica e suas alterações. Essas rotulagens da microvasculatura são pré-requisito para a análise subsequente do esqueleto microvascular cerebral (HUANG *et al.*, 2012).

O diâmetro arterial é objeto de estudo em animais vivos, para relatar as alterações vasomotoras relacionadas ao uso de drogas ou a alterações fisiológicas diante de fatores externos, entretanto o estudo morfológico relacionado a cadáveres não apresenta o mesmo interesse, sendo a literatura escassa (FARACI *et al.*, 2006). Existem críticas quanto as técnicas que utilizam injeção retrógrada de grande volume do meio de contraste, o que resulta em enchimento em ambos os meios carótidas e artérias vertebrais, o que aumenta a pressão do lúmen rapidamente de maneira não fisiológica. No entanto, para preenchimento do leito vascular para descrição anatômica, esse fator não é um problema, sendo na verdade

interessante por permitir o trânsito do líquido contrastante para segmentos distantes do vaso (KIDOGUCHI *et al.*, 2006).

Estudos angiográficos foram usados para mapeamento vascular, entretanto o diâmetro dos vasos não pode ser avaliado por esta técnica de imagem. Usando um sincontron, foi possível mensurar o diâmetro arterial dos vasos cerebrais de roedores, da forma como segue nos camundongos C57BL/6 sob normocapnia: a média +/- desvio padrão é: 142,5 +/- 7,90 μm para a artéria cerebral média; 138,3 +/- 9,35 μm para a artéria cerebral anterior; 120,5 +/- 5,53 μm para a artéria cerebral posterior; e 162,6 +/- 10,87 μm para a artéria carótida interna. Esta medida é um procedimento bastante difícil, sendo necessário o uso de um cateter por microcirurgia para a injeção da substância de contraste, sendo relatada na literatura uma grande variedade de valores de diâmetro (KIDOGUCHI *et al.*, 2006).

A tabela 2 apresenta os diâmetros (média +/- desvio padrão) medidos a partir de reconstrução de imagens de camundongos C57BL/6 e BALBc (SCHAMBACH *et al.*, 2009).

Tabela 2. Diâmetro dos vasos arteriais

Artérias	C57BL/6	BALBc
Basilar	221 +/- 27 μm	154 +/- 4 μm
Vertebral	191 +/- 30 μm	118 +/- 8 μm
Cerebelar superior	164 +/- 18 μm	109 +/- 11 μm
Carótida interna proximal	197 +/- 27 μm	196 +/- 32 μm
Carótida interna distal	177 +/- 24 μm	169 +/- 22
Cerebral média	157 +/- 25 μm	141 +/- 10 μm
Cerebral anterior	144 +/- 27 μm	131 +/- 27 μm
Cerebral posterior	149 +/- 17 μm	175 +/- 16 μm

1.3 Anatomia do sistema respiratório

A principal função do sistema respiratório é efetuar a troca gasosa entre o sangue e o ar atmosférico, mantendo assim uma alta concentração de oxigênio no sangue, necessária para as reações metabólicas, e ainda eliminar o dióxido de carbono produzido por reação bioquímica nas células. Este sistema consiste de um trato respiratório superior formado por nariz, cavidade nasal, faringe, laringe e parte superior da traqueia; e o trato respiratório inferior formado pela parte inferior da traqueia, brônquios, bronquíolos e alvéolos (ROCHA; ALVES; SÁ, 2013).

A traqueia divide-se em dois brônquios principais ou fonte (direito e esquerdo), e estes apresentam sua estrutura bem próxima da traqueia, majoritariamente cartilaginosa. Cada brônquio principal origina pequenos brônquios lobares (brônquios secundários) que ventilam os lobos pulmonares. Os suínos e ruminantes, antes que o brônquio principal (direito e esquerdo) se divida, possuem uma particularidade, que consiste na origem de um brônquio traqueal emitido da traqueia, para o lobo cranial direito do pulmão. São os brônquios lobares que vão originar os brônquios segmentares (brônquios terciários), cuja função consiste em ventilar áreas independentes relativamente grandes dentro de um segmento pulmonar (Figura 5) (MONTEIRO; SMITH, 2014).

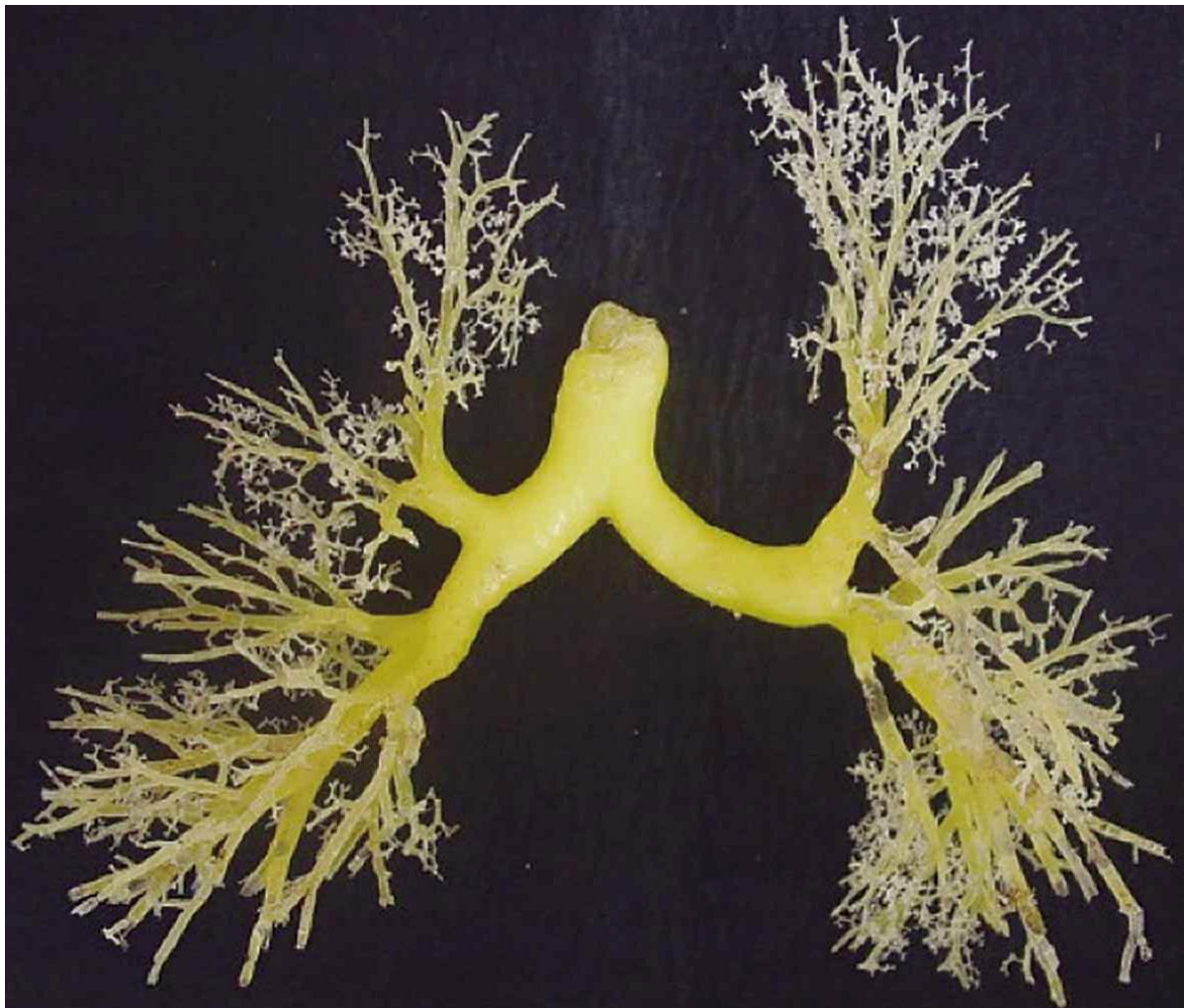


Figura 5. Modelo em metacrilato da árvore traqueobrônquica humana. Adaptado de Monteiro e Smith, 2014.

Os brônquios são estruturas tubulares que se ramificam com contínuo decréscimo de seus diâmetros. As ramificações dos brônquios e bronquíolos dão uma aparência semelhante a uma árvore, por este motivo esta estrutura é chamada de árvore brônquica. Na última porção condutora do sistema respiratório têm-se os bronquíolos terminais que se subdividem dando

origem aos bronquíolos respiratórios, os quais marcam a transição para a porção respiratória. A extremidade desses bronquíolos contém alvéolos que são minúsculos sáculos de ar que constituem o final das vias respiratórias, e tem como função a troca de oxigênio e dióxido de carbono através da membrana capilar alvéolo-pulmonar (ROCHA; ALVES; SÁ, 2013).

O tamanho circunferencial da árvore traqueobrônquica guarda relação direta com a massa corpórea, sendo tão menor nas espécies de menor massa (MONTEIRO; SMITH, 2014.), entretanto os estudos nessa área se limitam as primeiras origens bronquiais, não se estendendo até o nível dos bronquíolos, para a maioria das espécies, com a exceção da espécie humana, onde trabalhos relatam o diâmetro dessa porção da árvore traqueobrônquica. Nos suínos, em estudo realizado por Monteiro e Smith (2014), a luz da traqueia é 16.04 +/- 2,75 mm e dos brônquios principais direito e esquerdo 11.09 +/- 2.31 mm e 11,19 +/- 2,31 mm, respectivamente. Essas divisões bronquiais vão continuar até que o diâmetro fique em torno de 0,5 e 1,0 mm e o tubo passa a ser chamado de bronquíolo, que não apresenta cartilagem, nos humanos (ROCHA; ALVES; SÁ, 2013).

1.4 Técnicas de estudo do sistema vascular e de outras estruturas tubulares

Para o estudo dos vasos sanguíneos, existem várias técnicas, como repleção com meio de contraste radiopaco, para avaliação radiográfica, meios de contraste para uso em tomografia computadorizada (TC), radiofármacos para uso em medicina nuclear, látex para estudo macroscópico em anatomia, dentre outros (CURY; CENSONI; AMBROSIO, 2013). Esses métodos têm vantagens e desvantagens (Tabela 3) que vão desde o preço dos insumos até a dificuldade de dissecação dos vasos sanguíneos (SILVA *et al.*, 2011).

A utilização de soluções coloridas para o preenchimento de vasos sanguíneos é útil para os estudos da vascularização de vários órgãos e tecidos. Essas angiotécnicas são importantes para a identificação de estruturas cardíacas podendo ser utilizadas substâncias corantes, radiopacas e mercuriais e ainda fazer a corrosão para uma melhor visualização (SOUSA *et al.*, 2013).

A repleção consiste no preenchimento da luz de estruturas tubulares por substância de repleção, que pode ser de vários tipos, de acordo com o objetivo da técnica de preenchimento. Em anatomia usualmente usa-se a repleção para evidenciar vasos sanguíneos, sendo também usada para confecção de moldes por corrosão de outras estruturas tubulares, como a árvore brônquica, os sinusoides hepáticos ou o sistema pielocalicial. No caso do sistema circulatório

a repleção pode ser usada para estudo radiográfico, para estudo anatômico através da imagem de radiografias contrastadas, onde o meio de repleção é radiopaco, ou radioativo, no caso da medicina nuclear. Pode também ser usado látex ou resina para preenchimento permanente do leito vascular após endurecimento da substância de preenchimento, que neste caso serve para estudo macroscópico diretamente pela observação à vista desarmada ou com auxílio de microscópio estereoscópico ou de luz, o que favorece a dissecação (CURY; CENSONI; AMBROSIO, 2013).

Tabela 3. Técnicas de repleção

Utilidade	Estudo e visualização das estruturas tubulares dos diferentes órgãos.
Custo	Baixo custo.
Tempo de preparo	Curto, dura aproximadamente um mês.
Durabilidade	*****
Toxicidade	Alguns produtos, para a preparação são tóxicos.
Manutenção	Depois da diafanização (pela técnica de Wolff) é necessário manter a peça em uma solução de salicinato de metila e benzoato de benzila.

A utilização de látex natural, borracha siliconada e polímeros como o acetato de vinil no preenchimento de vasos sanguíneos, linfáticos, biliares, urinárias, reprodutoras e brônquios são os mais utilizados pelos anatomistas, pelo seu grau elevado de penetração. Esta técnica de injeção possui uma vantagem de não interferir na espessura natural dos vasos fazendo com que a substância se acomode bem em todo o sistema vascular, não causando retração ou dilatação (CURY; CENSONI; AMBROSIO, 2013). Um estudo comparativo com o uso de látex de neoprene e acetato de vinil demonstrou que cada um deles possui vantagens e desvantagens: o látex de neoprene apresentou uma boa visualização para as estruturas com calibres maiores e a resina de vinil teve resultados significativos em estruturas com calibres menores (SILVA; MIRANA; BRITO, 2000).

A resina de poliéster insaturada é muito utilizada em estudos de anatomia por dar veracidade nas estruturas injetadas e o seu poder de penetração é muito eficaz e ainda possui um baixo índice de refração, originando materiais com ótima qualidade, fácil manuseio e boa visualização das estruturas (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

A busca por novas substâncias que sirvam de meio de repleção tem sido feita por diversos pesquisadores em Morfologia, como injeção de gelatina corada com nanquim (GRIVAS *et al.*, 2003), pois a consistência do material mais comumente utilizado, que é o látex, é muito viscosa para preenchimento de vasos com diâmetro quase microscópico, além de ser relativamente caro, de difícil obtenção e manuseio desagradável.

Para obter maiores visualizações de arteríolas, capilares e vênulas é necessária a utilização de técnicas de injeção e rotulagem específica dos vasos. A injeção pode ser feita com gelatina e nanquim proporcionando ótimas imagens da vasculatura cerebral, mas este método tem três desvantagens: não consegue distinguir artérias de veias; pode ocorrer o enchimento desigual de alguns vasos; e alguns vasos podem ser artificialmente abertos por causa da pressão de perfusão (CHILINGARYAN, A.; CHILINGARYAN, A. M.; MARTIN, 2006).

1.4.1 Resina Auto-polimerizável

Tanto em estudos cadavéricos humanos quanto em animais, a utilização de polímeros de metilmetacrilato é diversificada, sendo este material de baixo custo, leve, e que dificilmente se associa a reações adversas dos tecidos (GOELZER *et al.*, 2003).

O polimetilmetacrilato (PMMA) não apresenta nenhuma estrutura aderente, mas quando é injetado em áreas irregulares, acaba atuando como uma cola. Esta resina deve sempre ser injetada na forma líquida na qual irá atingir aproximadamente 100 °C durante todo o processo e leva em torno de 10 minutos para endurecer. O PMMA exala um odor muito forte, mas foi verificado que o mesmo não é tóxico (ALIEVI *et al.*, 2008).

1.4.2 Resina Biodur E20

A resina biodur E20 é uma resina epóxi, que é um plástico termofixo que endurece quando se mistura com um agente catalisador. Essa propriedade é útil no preparo de peças anatômicas vasculares e constitui-se em um modelo permanente, fidedigno, da arquitetura vascular local, pois após o preenchimento da luz vascular ocorre, pela adição de substância catalisadora, o endurecimento do produto assumindo a forma e evidenciando o trajeto da artéria. O molde é obtido quando o conjunto arterial repleto pela resina endurecida sofre desnaturação e quebra das estruturas orgânicas pela imersão em ácido ou peróxido, mantendo apenas o molde epóxi. No estudo da vascularização encefálica de murinos, o processo que melhor conserva a estrutura cortical é a injeção da resina na artéria aorta com posterior fixação do espécime em solução formalina a 10%, com a cavidade craniana intacta, bem como seu conteúdo, que deve ser removido, apenas após completo endurecimento da resina e

do tecido pelo líquido conservante, pois a delicadeza das estruturas nervosas de ratos é um impeditivo para a fixação inicial do encéfalo fora da cavidade craniana. A viscosidade das substâncias de repleção determinam a necessidade de níveis pressóricos aumentados para a perfeita distribuição das substâncias dentro do leito vascular homogeneamente; entretanto, comumente nesse processo ocorre a ruptura dos vasos mais tênues, exatamente pelo aumento da pressão, criando uma condição técnica contraditória, onde altas pressões são necessárias para a perfusão, mas também levam a descontinuidade vascular, o que prejudica a perfusão, sendo portanto necessário uma viscosidade baixa para perfeita perfusão com baixos níveis pressóricos e manutenção da estrutura vascular para a criação de molde fidedigno (RIEPERTINGER; HEUCKENDORF, 1993), objetivo perseguido nesse trabalho.

1.4.3 Resina de Poliuretano

O Poliuretano é um polímero que compreende uma cadeia de unidades orgânicas unidas por ligações uretânicas. A resina de poliuretano ao endurecer se expande vagarosamente, sendo frequentemente utilizada com a mistura de dois componentes em partes iguais que esquentam durante o processo. Este material possui grande fluidez podendo produzir um material muito preciso. A resina de poliuretano endurece em minutos, mas a sua principal desvantagem está relacionada com a validade que dura: em torno de seis meses a um ano após a primeira utilização (PRZYBYSZ; CUNHA, 2011).

A espuma de poliuretano é muito utilizada na construção civil preenchendo diversas estruturas localizadas entre o concreto e a madeira e também para isolamento acústico e térmico. Para a confecção de peças anatômicas em taxidermia a espuma é utilizada em substituição a serragem de madeira e da parafina ralada, tornando a peça mais leve e de fácil manipulação (PRZYBYSZ; CUNHA, 2011).

1.5 Anatomia para o ensino, pesquisa e extensão

O sistema vascular sobretudo o venoso é o que apresenta maior variação anatômica entre todos os outros sistemas corporais, levando a uma dificuldade de ensino e de aprendizagem por conta de diversos ramos e sub-ramos inconstantes em várias peças anatômicas. O desenvolvimento da técnica de repleção com preenchimento do leito vascular

dos vasos mais distais contribui para uma melhor compreensão das anastomoses existentes nos órgãos e tecidos e permite uma descrição mais detalhada da angioarquitetura, mostrando a diversidade de conexões arteriais e venosas observadas atualmente, apenas nos vasos mais proximais, contribuindo para a pesquisa em angiologia e anatomia vascular aplicada, (CURY; CENSONI; AMBROSIO, 2013). A divulgação dos conhecimentos adquiridos nos programas de pós-graduação serve de substrato para o desenvolvimento das ações direcionadas à graduação, aumentando o escopo dos programas e ementas trabalhados com esses alunos, que têm acesso às informações mais atuais e detalhadas sobre as diversas áreas do saber. No caso da Morfologia, com o desenvolvimento de equipamentos e de processos de novas descobertas que têm sido feitas nessa área, que sempre inspirou investigações e pesquisas em tempos pretéritos, mas que recentemente tem o estudo macroscópico negligenciado pela proposição de que o mapeamento macroscópico corporal já atingiu um patamar em que novas descobertas ficam a cargo do estudo de ultra-estruturas, hoje um campo promissor e em efervescência, entretanto muito ainda será descrito a nível macroscópico com o desenvolvimento de técnicas de angioanatomia, com destaque para a elaborada nesse projeto. As peças confeccionadas a partir da técnica proposta servirão para o uso na disciplina de Anatomia, para os diversos cursos da área de saúde, além de serem usadas em projetos de extensão universitária, como o Projeto Ciência sobre Rodas, Ciência sob Tendas, Ciência para Pequenos Curiosos e Museu Itinerante de Neurociências, que usam material anatômico para divulgação e ensino aos alunos das escolas de ensino básico da rede pública no Estado o Rio de Janeiro.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Implantar no Laboratório Anatômico do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) técnicas de preenchimento luminal em diversas estruturas anatômicas para a produção de peças para o ensino, pesquisa e extensão.

2.2 Objetivos específicos

Implantar a técnica de perfusão com resina Biodur E20 em vascularização encefálica de roedores para o uso em pesquisa, inicialmente, pois o processo é inovador e de custo ainda elevado para uso genérico, entretanto almeja-se sua difusão para uso em ensino e extensão.

Produzir peças de animais de grande porte com preenchimento do sistema circulatório cardíaco, renal e preenchimento da árvore brônquica pulmonar para criação de acervo anatômico para auxílio no ensino e a extensão.

3 MÉTODO

Para realização desta pesquisa foram utilizados, 20 ratos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar. Os animais foram obtidos da colônia do biotério de roedores do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Os roedores foram mantidos em caixas próprias, em número adequado para idade e sexo dos animais, contendo ração e água *ad libitum*, em ambiente com temperatura controlada entre 23-25 °C e fotoperíodo de 12/12h claro/escuro. O protocolo foi aprovado pela Comissão de ética no uso de animais do Centro de Ciências da Saúde (CEUA-CCS) em 14/04/2015 sob o número 013-15 (Anexo I).

As vísceras de porcos foram adquiridas frescas na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), na Universidade Federal Fluminense (UFF) e em abatedouros e foram mantidas em freezer a -20 °C até o momento da utilização. Os espécimes oriundos da UFRRJ destinavam-se a consumo interno, os de abatedouros para o comércio de carnes e os da UFF eram utilizados em pesquisa, sendo as carcaças descartadas. Todos os animais tiveram sua sanidade atestada por médico veterinário ante e post mortem, sendo as carcaças consideradas inócuas para consumo, atendidos os processos tradicionais de preparo de carnes. Todo material destinado a perfusão foi utilizado, mesmo os espécimes que apresentavam grandes lacerações e destruição parcial do parênquima foram destinados a refinamento das técnicas apresentadas. Na tabela 4 está apresentado a quantidade e a procedência de todas as peças utilizada.

Tabela 4. Quantidade e procedência das peças

	Coração	Rim	Pulmão	Encéfalo
UFRRJ	5	2	2	-
UFF	2	4	-	-
Abatedouro	3	4	3	-
UFRJ	-	-	-	20

3.1 Etapas do processo de injeção

3.1.1 Preparo dos corações de suínos com resina autopolimerizável

Após descongelamento, foi feita a remoção hidromecânica de debris teciduais e coágulos sanguíneos com vigorosa compressão do órgão; depois foi realizada a dissecação para exposição das artérias coronária esquerda e direita e utilizada sonda uretral número 10 ou 14

para canulação das artérias através de seus óstios aórticos. Em cada coronária foi injetado 10 ml de solução salina 9% com heparina a 3%, seguida de 30 ml de solução salina 9% para remoção de resíduos menores, utilizando-se uma seringa de 50 ml. A resina acrílica auto polimerizável foi misturada com o catalisador e a tinta automotiva vermelha dentro de um béquer envolto por massiva quantidade de gelo para evitar a polimerização imediata. A resina foi injetada utilizando uma seringa de 50 ml nas coronárias usando pressão manual constante até completa repleção (sob inspeção visual) e por fim foram retiradas as sondas e amarrada as coronárias com cordonê.

Os espécimes foram mantidos à temperatura ambiente por 2 horas e o coração repleto foi submerso em ácido clorídrico diluído (por uma facilidade de compra, foi usado o ácido muriático comercial, cuja concentração e pureza não são definidas). Após sete dias de imersão, foi retirado para ser verificado o grau de corrosão, realizando escovação sob pressão constante de água até o ponto desejado. Após essa primeira análise, o processo foi repetido a cada 24 horas até completa dissolução dos tecidos orgânicos. As peças ficaram em ar ambiente para secar e depois os moldes foram armazenados em recipiente transparente. A tabela 5 apresenta o tempo total de preparo das peças de corações.

Tabela 5. Preparo dos corações de suínos com resina autopolimerizável

Hora 0	Hora 2	Dia 7	Dia 15	Dia 17
Preenchimento com a resina autopolimerizável.	Submersão do órgão em ácido muriático.	Verificação do grau de corrosão e repetição a cada 24 horas.	Retirado o molde para secar.	Molde pronto.

3.1.2 Preparo dos rins de suínos com resina autopolimerizável

Após descongelamento, foi feita a remoção hidromecânica de debris teciduais e coágulos sanguíneos com vigorosa compressão do órgão. Depois foi realizada a dissecação para exposição das artérias, veias e pelve renal e utilizada sonda uretral número 10 ou 14 e foram injetados 10 ml de solução salina 9% com heparina a 3%, seguida de 30 ml de solução salina 9% na artéria, veia e pelve renal para remoção de resíduos menores, com uma seringa de 50 ml. A resina acrílica auto polimerizável foi misturada com o catalisador e a tinta automotiva vermelha (para a artéria renal), amarela (para a pelve renal) ou azul (para a veia renal) dentro de um béquer envolto por massiva quantidade de gelo. A resina foi injetada utilizando uma seringa de 50 ml na artéria, e/ou na veia e/ou na pelve renal, a injeção dessas

estruturas dependeu de como se encontrava o hilo renal de cada peça, usando pressão manual constante até completa repleção (sob inspeção visual) e por fim foram retiradas as sondas e amarrada as estruturas com cordonê; O fator determinante para a escolha das estruturas a serem preenchidas foi a qualidade do material recebido, visto que fatores como o tempo entre a evisceração e o preenchimento, e o cuidado na hora da retirada dos blocos anatômicos dos respectivos cadáveres determinou a possibilidade ou impossibilidade de aproveitamento das estruturas de interesse para o trabalho.

Os espécimes foram mantidas à temperatura ambiente por 2 horas e o rim repleto foi imerso em ácido, seguindo o processo descrito anteriormente para o coração. A tabela 6 apresenta o tempo total de preparo das peças de rim.

Tabela 6. Preparo dos rins de suínos com resina autopolimerizável

Hora 0	Hora 2	Dia 7	Dia 10	Dia 12
Preenchimento com a resina autopolimerizável.	Submersão do órgão em ácido muriático.	Verificação do grau de corrosão e repetição a cada 24 horas.	Retirado o molde para secar.	Molde pronto.

3.1.3 Preparo dos encéfalos de roedores com resina biodur E20

Os animais (*Rattus norvegicus* da cepa Wistar) foram cedidos pelo biotério, sendo todos adultos com peso aproximado de 400 g, ambos os sexos (se fêmea, não gestante) e saudáveis. Os ratos foram anestesiados com Tiopental sódico (150 mg/kg) e lidocaína (2 mg/kg) por via IP (Intraperitoneal) e em seguida levados a câmara de CO₂ para eutanásia. Após a cessação das incursões respiratórias e a redução acentuada da perfusão capilar evidenciada por cianose periférica, o animal foi colocado em decúbito dorsal e imobilizado em uma base de cortiça, pela transfixação das superfícies palmares e plantares por alfinete entomológico. A cavidade torácica foi acessada através de toracotomia na junção costochondral bilateral a partir da região xifoide. O plastrão esternal foi elevado com o auxílio de uma pinça hemostática de modo a permitir a visualização das estruturas intratorácicas, e com o uso de uma pinça hemostática os blocos viscerais pré-diafragmáticos foram isolados dos pós-diafragmáticos pela obliteração do leito luminal das estruturas comuns a cavidade torácica e abdominal, tais como veia cava caudal, esôfago, ramo esofágico da artéria gástrica esquerda, artéria aorta descendente, veia ázigos e ducto torácico. Este procedimento evita o desperdício da resina.

O ventrículo esquerdo foi canulado com uma agulha conectada a um *scalp* (G-23) e levado até a aorta ascendente sob inspeção visual em um microscópio estereotáxico Olympus SZ61. Injetou-se 10 ml de solução salina 9% com heparina 3% com o auxílio de uma seringa de 50 ml, seguida de 30 ml de solução salina 9% para lavagem do leito vascular. O sistema foi aberto fazendo uma secção no átrio direito, por onde drenou o conteúdo de sangue e solução salina. A resina Biodur E20 foi diluída em seu catalisador A4 na proporção 2 para 1 em gelo e injetada aproximadamente 20 ml da solução, sob inspeção visual do preenchimento, utilizando como parâmetro a mudança de coloração das orelhas, olhos e língua. Após a perfusão o sistema foi fechado com pinças hemostáticas e depois foi verificada a boa perfusão pela presença da resina colorida nos olhos, língua e orelhas. Os espécimes foram mantidos em ambiente refrigerado a 4-8 °C por 48 horas para completa polimerização e foi feita a decapitação com retirada parcial do pescoço. A cabeça foi conservada em paraformaldeído a 4% em tampão fosfato por 5 a 15 dias, findo os quais se realizou craniotomia para retirada do encéfalo da caixa craniana e posterior imersão em solução de paraformoldeído 4% por 24 horas. A tabela 7 apresenta o tempo total do preparo dos encéfalos de roedores. A secção do tecido seguiu dois protocolos diferentes. No primeiro, após a fixação e passagem do encéfalo pelo gradiente de sacarose 10%, 20% e 30%, a peça foi emblocada em OCT (Optimal Cutting Temperature), congelada e seccionada em criostato (Leica CM 1860) a 30 µm ou 60 µm, montados em lâminas histológicas e mantidos a -20 °C. Outra parte dos encéfalos foi seccionada a 100 µm utilizando um vibrátomo (Leica VT 1000S), montados em lâminas histológicas, vedado e mantido a 4-8 °C.

Tabela 7. Preenchimento do lúmen arterial encefálico de roedores com resina biodur E20

Hora 0	Dia 2	Dia 7 a 17	Dia 18
Preenchimento com a resina Biodur E20.	Finalizado tempo de polimerização.	Cabeça conservada em paraformaldeído a 4% em tampão fosfato.	Craniotomia e posterior imersão em solução de paraformoldeído 4% por 24 horas.

3.1.4 Preparo dos Pulmões de suínos com resina de poliuretano

Após o descongelamento da peça foi feito o clampeamento da traqueia para que não ocorra o desperdício da resina e foi insuflado ar pela traqueia com o auxílio de uma bomba de ar Quimis (Q. 355 B2. VC) e fechada todas as regiões de vazamento do ar. Foi, então, introduzido e fixado o aplicador do tubo da espuma de poliuretano diretamente na traqueia

para repleção com a resina de poliuretano comercial (Cascola – fabricado por Henkel LTDA). O frasco foi agitado por 20 segundos e perfundida a resina de poliuretano através do aplicador. Após a perfusão o aplicador foi retirado, a traqueia fechada com barbante e o pulmão foi mantido suspenso em temperatura ambiente por 24 horas. Após esta etapa foi retirado o excesso de espuma que, eventualmente, extravasou.

O órgão foi imerso em solução de Hidróxido de Potássio (KOH) a 10% onde foi retirado após dez dias da imersão para ser verificado o grau de corrosão e após essa primeira análise o processo foi repetido a cada 24 horas até completa dissolução dos tecidos orgânicos. As peças permaneceram em ar ambiente para secar e depois os moldes foram armazenados em recipiente plástico de tamanho adequado. A tabela 8 apresenta o tempo total de preparo dos pulmões de suínos com resina de poliuretano.

Tabela 8. Preparo dos pulmões de suínos com resina de poliuretano

Hora 0	Hora 24	Dia 11	Dia 13	Dia 15
Preenchimento com a resina de poliuretano.	Submersão do órgão em Hidróxido de Potássio a 10%	Verificação do grau de corrosão e repetição a cada 24 horas.	Retirado o molde para secar.	Molde pronto.

3.2 Registro e avaliação das peças após seu preenchimento

Após o preenchimento, as peças de coração, rim e pulmão foram avaliadas seguindo três critérios: preservação visual do contorno do órgão, consistência e taxa de preenchimento do leito vascular. Para a análise do preenchimento do leito vascular foi utilizado um microscópio estereotáxico (Olympus SZ61) e tirado fotografias digitais de campos aleatórios dos corações, rins e pulmões injetados utilizando uma câmera digital acoplada ao microscópio e realizada as medições no programa Image J (Fiji). Foram medidas as áreas de corte transversal das estruturas tubulares disponíveis, escolhidas em campos aleatórios.

Para as secções de encéfalos, ambos os tipos de corte (criostato e vibrátomo) foram analisados em microscópio óptico Zeiss Axioimage, sendo as imagens capturadas por câmera fotográfica Zeiss AxioCam digital. Inicialmente, nosso objetivo era realizar a medida da densidade vascular no córtex cerebral, no entanto, como evidenciado em Resultados, não houve completo preenchimento do leito vascular. Assim, foi medida a área de corte transversal das estruturas tubulares disponíveis, escolhidas em campos aleatórios utilizando o programa Image J (Fiji).

4 RESULTADOS

As peças obtidas na UFF e UFRRJ estavam em melhores condições, pois não havia lacerações importantes no parênquima desses órgãos, o que contribuiu para produtos finais mais bem elaborados, quando comparados com aqueles produzidos a partir de peças obtidas em abatedouros.

Os procedimentos para injeção foram uniformes para todas as peças, seguindo as etapas descritas em Métodos. No entanto, o resultado não é homogêneo e para a avaliação da qualidade da peça após o preenchimento foram considerados: o contorno do órgão, o preenchimento do leito vascular e sua consistência. Entende-se por contorno do órgão o esboço do formato do órgão através da sua rede arterial, venosa, e/ou árvore brônquica. O preenchimento do leito vascular foi avaliado pela homogeneidade da distribuição do líquido de preenchimento ao longo de toda extensão das estruturas tubulares sendo feita a medição da área transversal tubular das extremidades, utilizando-se o programa Image J (Fiji). A consistência ideal do molde é aquela em que a resistência à pressão mecânica bidigital permite sua quebra, sem a geração de fragmentos úmidos e macios.

4.1 Coração

Os vasos arteriais diminuem de calibre à medida que se afastam da artéria aorta. No caso do coração as artérias coronárias são os ramos viscerais desse órgão, se ramificando extensamente, originando ramos progressivamente menores. O coração foi considerado adequado quando o preenchimento do leito vascular evidenciou o formato deste órgão. Foram preparadas 10 peças, sendo 7 satisfatórias e 3 insatisfatórias sob o aspecto visual e da medida do calibre do menor vaso identificado. A Figura 6 mostra um coração com o preenchimento satisfatório (A, B), permitindo observar que o contorno do órgão, visto através da arquitetura vascular, é semelhante ao de peças não corroídas; e insatisfatório (C, D), pois não é possível esboçar a forma original do órgão a partir desses espécimes, observando uma perda da densidade vascular com substituição por amplas lacunas e por amplas áreas de preenchimento contínuo.

Utilizando-se um microscópio (Olympus SZ61), foram feitas fotografias digitais de campos aleatórios dos corações injetados e realizadas medidas da área de corte transversal dos vasos disponíveis. A Figura 7 ilustra exemplos das imagens obtidas com seis diâmetros medidos, 3 maiores e 3 menores.

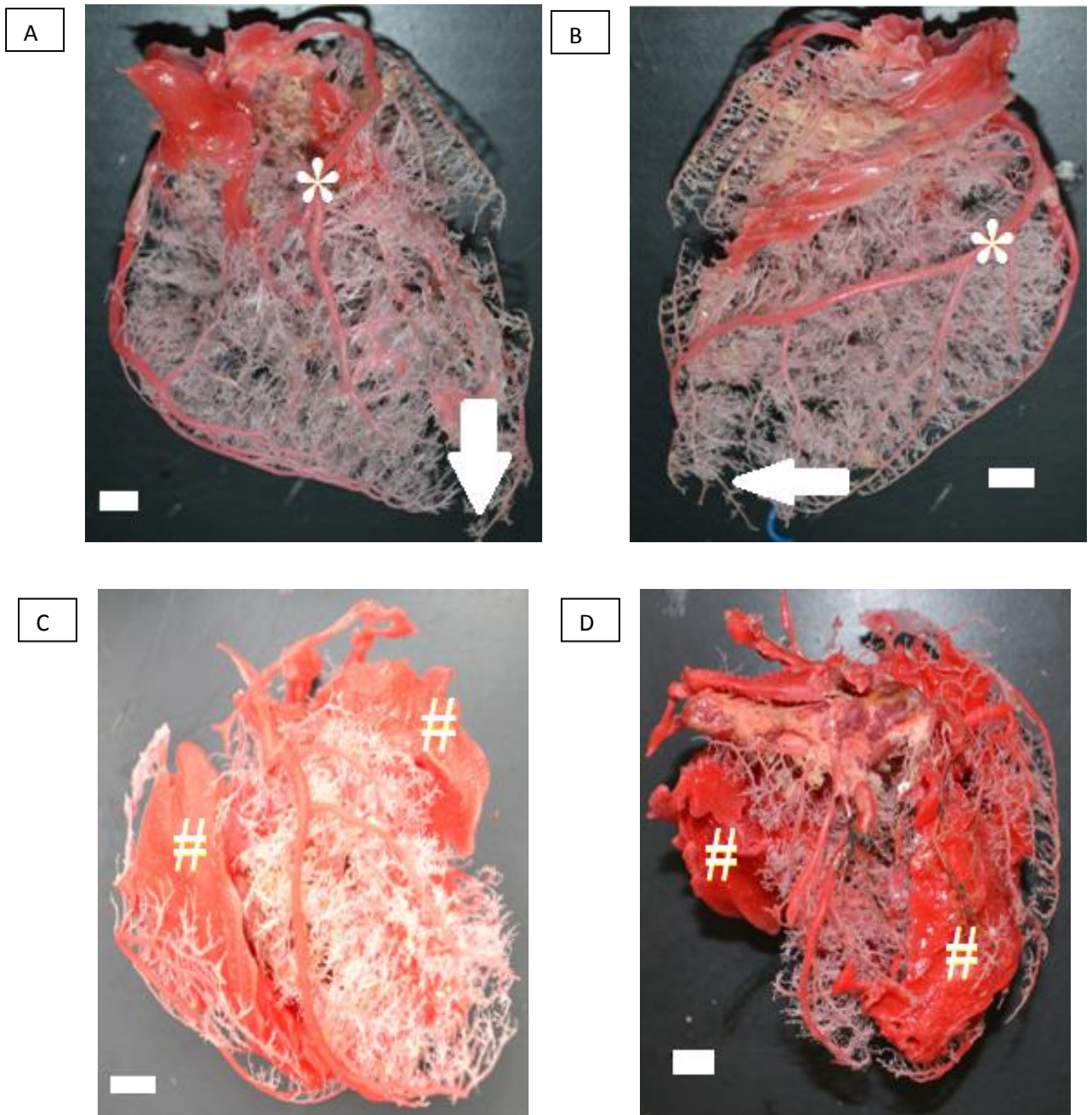


Figura 6: Fotos ilustrativas da face anterior (A,C) e posterior do coração (B,D). Note que os vasos de maior (*) e menor calibre (Seta) estão bem preenchidos em (A, B) e com defeitos de preenchimento (#) em (C, D). Barra de escala=1 cm.

Das dez peças de coração injetadas, devido a qualidade do preenchimento, em apenas oito foi possível escolher de forma aleatória os maiores e os menores diâmetros dos vasos preenchidos nas imagens obtidas, pois estas estavam com sua arquitetura vascular mais homogênea, não evidenciando múltiplas quebras ou discontinuidades no molde de resina a partir dos vasos sanguíneos, o que fora observado nos dois exemplares considerados imperfeitos, o que ocorre até mesmo pela simples lavagem hidromecânica por ocasião da retirada dos restos teciduais presentes ao final da etapa de corrosão.

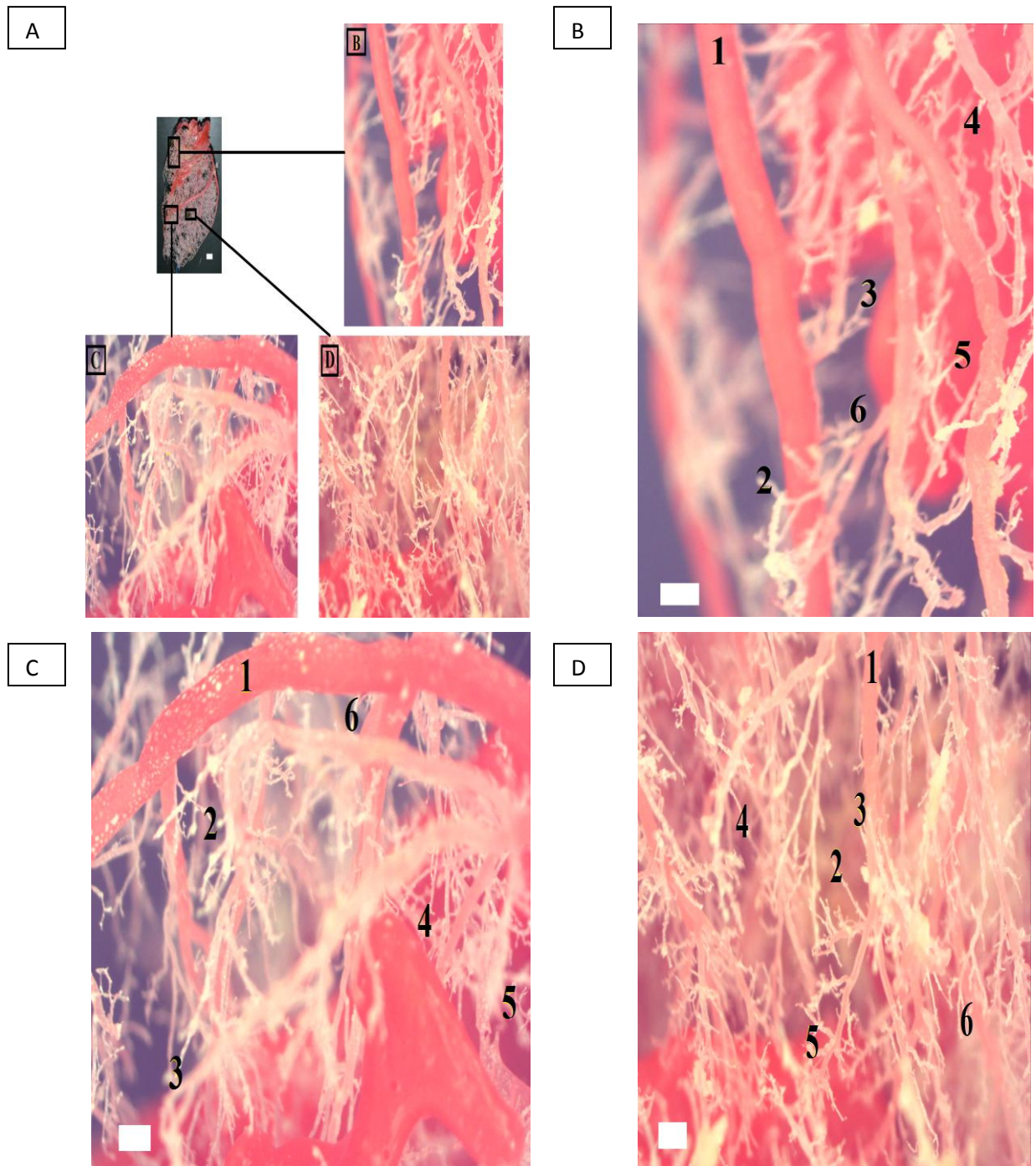


Figura 7: Fotos ilustrativas do preenchimento vascular do coração em menor aumento (A) e obtidas com o uso de um microscópio Olympus (B-C-D) evidenciando a ramificação vascular. Os números nas imagens (B-C-D) correspondem exemplos de vasos que tiveram sua área de corte transversal medida. Barra de escala= 1 cm (A) e 1 mm (B-C-D).

A Tabela 9 relata o diâmetro dos dois maiores e dos dois menores diâmetros encontrados em cada foto dos 7 órgãos satisfatórios. Nota-se que o menor vaso apresentava um diâmetro de 0,051 mm, tamanho compatível com arteríolas, apesar de não ter sido feito estudo histológico para esta afirmativa, sendo o tamanho citado o único elemento para esta conclusão, enquanto o maior de 2,742 mm, correspondendo ao tronco principal da coronária, em si.

Tabela 9. Área de secção transversal das artérias cardíacas

Órgão		Foto 1		Foto 2		Foto 3		Foto 4	
1	Maior	1.074 mm	0.802 mm	2.131 mm	1.802 mm	2.213 mm	1.713 mm	0.762 mm	0.547 mm
	Menor	0.138 mm	0.149 mm	0.089 mm	0.116 mm	0.061 mm	0.116 mm	0.087 mm	0.116 mm
2	Maior	1.770 mm	0.790 mm	2.068 mm	1.792 mm	1.050 mm	0.386 mm	-	-
	Menor	0.175 mm	0.137 mm	0.224 mm	0.214 mm	0.091 mm	0.189 mm	-	-
3	Maior	1.234 mm	0.133 mm	0.597 mm	0.150 mm	0.729 mm	0.078 mm	0.389 mm	0.175 mm
	Menor	0.078 mm	0.068 mm	0.081 mm	0.053 mm	0.059 mm	0.063 mm	0.079 mm	0.060 mm
4	Maior	0.660 mm	0.113 mm	1.182 mm	0.226 mm	1.210 mm	0.132 mm	1.231 mm	0.203 mm
	Menor	0.074 mm	0.061 mm	0.080 mm	0.130 mm	0.065 mm	0.075 mm	0.074 mm	0.081 mm
5	Maior	1.507 mm	0.126 mm	0.915 mm	0.147 mm	0.745 mm	0.142 mm	2.742 mm	0.164 mm
	Menor	0.066 mm	0.070 mm	0.098 mm	0.081 mm	0.067 mm	0.073 mm	0.070 mm	0.062 mm
6	Maior	0.948 mm	0.125 mm	1.419 mm	0.099 mm	0.615 mm	0.368 mm	0.584 mm	0.574 mm
	Menor	0.078 mm	0.051 mm	0.080 mm	0.067 mm	0.081 mm	0.088 mm	0.070 mm	0.068 mm
7	Maior	0.649 mm	0.518 mm	1.103 mm	1.206 mm	0.441 mm	0.607 mm	0.860 mm	0.582 mm
	Menor	0.073 mm	0.073 mm	0.096 mm	0.099 mm	0.068 mm	0.060 mm	0.074 mm	0.73 mm

Os 2 maiores e os 2 menores diâmetros encontrados em cada foto dos 7 órgãos satisfatórios e em destaque o maior e o menor diâmetro.

4.2 Rim

Com relação aos rins, os vasos principais são a artéria e veia renal, sendo que a artéria emite ramos interlobares, arqueados e interlobulares que penetram na intimidade do parênquima, sendo considerada ideal a perfusão capaz de evidenciá-los. Foram preparadas 10 peças, sendo 6 satisfatórias e 4 insatisfatórias sob o aspecto visual e da medida do calibre do menor vaso identificado. A Figura 8 mostra um rim com o preenchimento satisfatório (A, B), por evidenciar a forma do órgão a partir da sua angioarquitetura e insatisfatório (C, D), pois a partir desses espécimes não é possível, sequer supor tratar-se de um rim, tão descaracterizada está a sua forma.

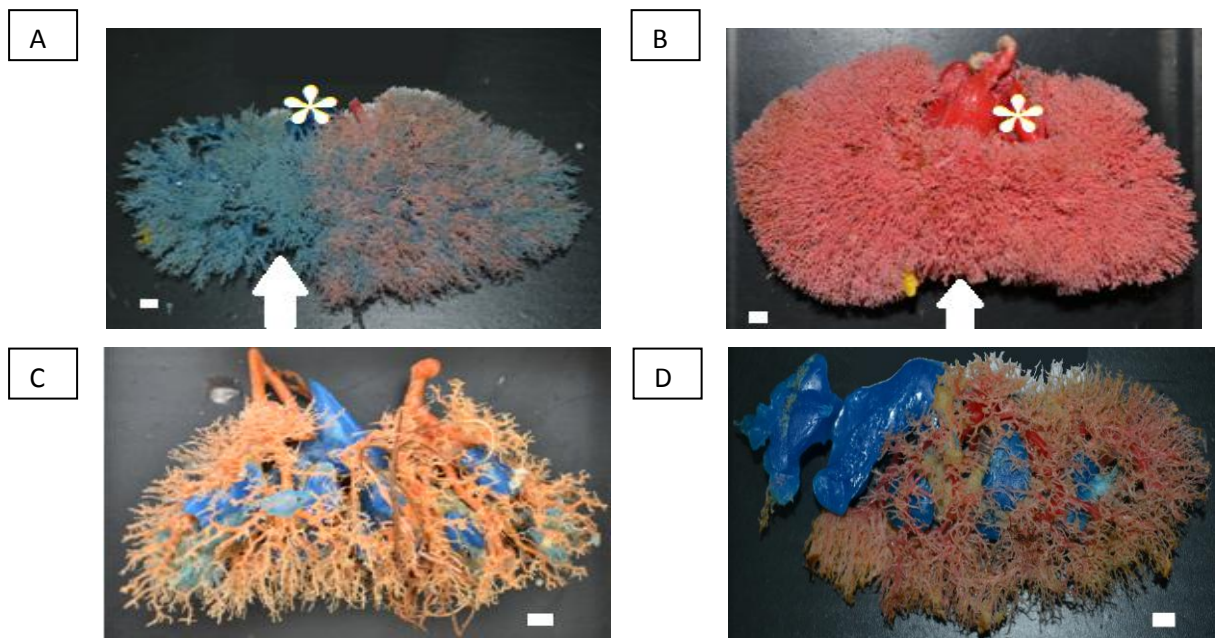


Figura 8: Fotos ilustrativas dos vasos de maior (*) e menor calibre (Seta) do rim, bem preenchidos (A, B) e com defeitos de preenchimento (C, D). Barra de escala= 5 mm. Cor vermelha – Sistema arterial, azul – Sistema venoso e Amarelo – Sistema coletor renal.

Utilizando-se um microscópio (Olympus SZ61), foram feitas fotografias digitais de campos aleatórios dos rins injetados e obtidas medidas da área de secção transversal dos vasos encontrados. A Figura 9 ilustra exemplos das imagens obtidas com seis diâmetros medidos, 3 maiores e 3 menores e a Tabela 10 relata o diâmetro dos dois maiores e dos dois menores diâmetros arteriais e/ou venoso encontrados em cada foto.

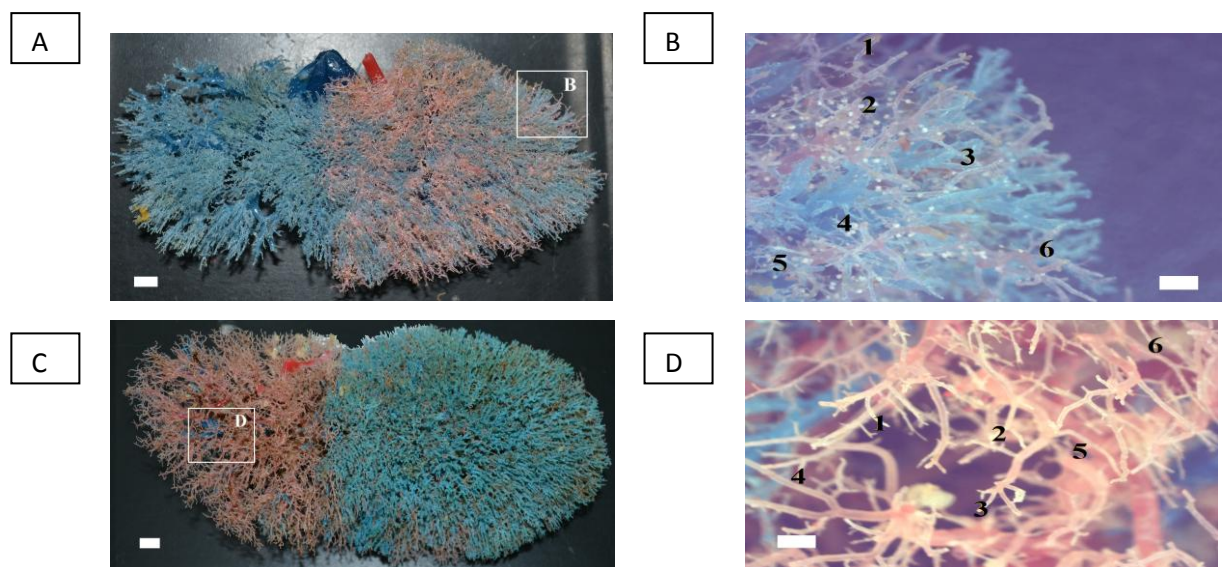


Figura 9: Fotos ilustrativas da área de secção transversal dos vasos do rim em menor aumento (A-C) obtidas com o uso de um microscópio Olympus (B-D). Os números nas imagens (B-D) correspondem a exemplos de vasos que tiveram sua área de corte transversal medida. Barra de escala= 5 mm (A-C) e 1 mm (B-D). Cor vermelha – Sistema arterial, azul – Sistema venoso e Amarelo – Sistema coletor renal.

Nota-se que o menor diâmetro arterial apresentava 0.062 mm, correspondendo a uma arteríola e o maior 1.449 mm, enquanto o menor diâmetro venoso apresentava 0.085 mm e maior 2.476 mm.

Tabela 10. Área de secção transversal das artérias e veias renais

Órgão	Foto 1				Foto 2				
	Artéria		Veia		Artéria		Veia		
1	Maior	0.195 mm	0.178 mm	-	-	0.334 mm	0,389 mm	0.439 mm	0.440 mm
	Menor	0.122 mm	0.136 mm	-	-	0.122 mm	0.075 mm	0.184 mm	0.186 mm
2	Maior	-	-	0.223 mm	0.207 mm	0.124 mm	0.127 mm	0.224 mm	0.221 mm
	Menor	-	-	0.100 mm	0.091 mm	0.077 mm	0.070 mm	0.147 mm	0.134 mm
3	Maior	1.449 mm	0.154 mm	-	-	0.672 mm	0.251 mm	-	-
	Menor	0.066 mm	0.099 mm	-	-	0.096 mm	0.063 mm	-	-
4	Maior	-	-	0.259 mm	0.230 mm	0.210 mm	0.195 mm	0.147 mm	0.136 mm
	Menor	-	-	0.143 mm	0.085 mm	0.119 mm	0.071 mm	0.121 mm	0.119 mm
5	Maior	0.158 mm	0.152 mm	-	-	0.166 mm	0.111 mm	-	-
	Menor	0.100 mm	0.062 mm	-	-	0.094 mm	0.078 mm	-	-
6	Maior	-	-	0.306 mm	0.247 mm	-	-	2.476 mm	0.841 mm
	Menor	-	-	0.160 mm	0.124 mm	-	-	0.194 mm	0.134 mm
7	Maior	-	-	-	-	-	-	-	-
	Menor	-	-	-	-	-	-	-	-
8	Maior	0.231 mm	0.246 mm	0.312 mm	0.202 mm	-	-	0.221 mm	0.188 mm
	Menor	0.077 mm	0.089 mm	0.195 mm	0.191 mm	-	-	0.145 mm	0.125 mm
9	Maior	0.330 mm	0.282 mm	-	-	0.313 mm	0.279 mm	-	-
	Menor	0.191 mm	0.146 mm	-	-	0.158 mm	0.120 mm	-	-

Os 2 maiores e os 2 menores diâmetros arteriais e/ou venoso encontrados em cada foto dos 9 órgãos e em destaque o maior e o menor diâmetro arterial e venoso.

4.3 Encéfalo

A verificação do preenchimento vascular do encéfalo foi feita inicialmente pela observação pelo uso de microscópio (Olympus SZ61) e após a secção do órgão com auxílio

de microscópio óptico (Zeiss Axio Imager). A medição da distribuição da rede arterial, conhecida para a espécie, foi feita utilizando o programa Image J (Fiji). Foram feitos 20 preenchimentos, sendo que em nenhum deles houve preenchimento completo da vasculatura, como desejado. Com isso, o objetivo inicial de se mensurar a densidade vascular em secções histológicas não foi possível, e optou-se por realizar apenas a medida da área de secção transversal dos vasos, semelhante ao que foi feito para os outros órgãos.

A etapa de preenchimento ao longo do desenvolvimento foi sendo alterada em função de insucessos iniciais. Observou-se que a sonda uretral numero 8, proposta inicialmente para a perfusão do cadáver, foi inadequada ao não fornecer preenchimento homogêneo, sendo trocada por um *scalp* (G-23). É importante também relatar que as peças foram ficando cada vez melhores a medida que houve um ganho na curva de aprendizagem. A polimerização considerada adequada foi a que utilizou resina e endurecedor na proporção de 2:1.

Utilizando-se um microscópio (Olympus SZ 61), foram tiradas fotografias digitais de campos aleatórios dos encéfalos injetados e feitas medidas do diâmetro dos vasos encontrados. A Figura 10 e 11 ilustram exemplos das imagens obtidas no microscópio da região cortical e a Tabela 11 demonstra os três maiores e os três menores diâmetros dos vasos preenchido nas diversas peças injetadas.

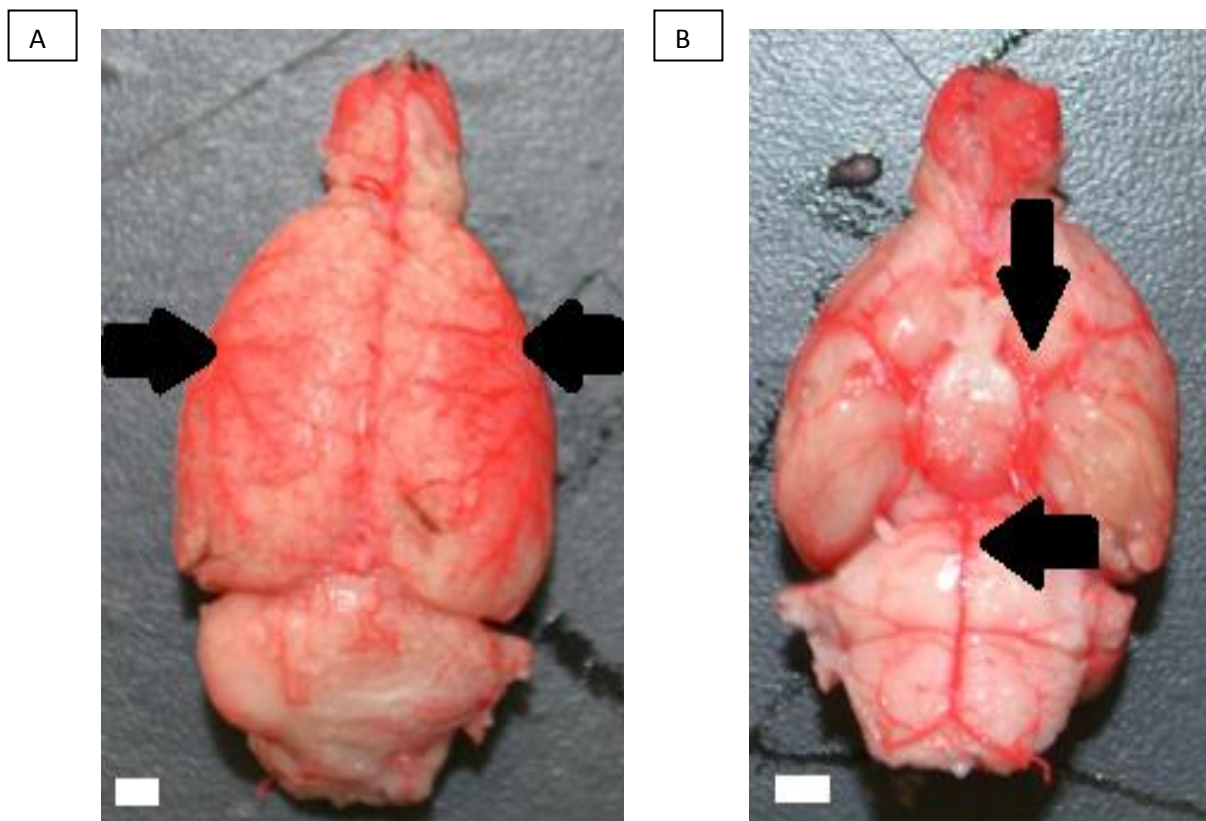


Figura 10: Fotos ilustrativas dos vasos de maior calibre (Seta) do encéfalo, bem preenchidos (A, B). Barra de escala= 5 mm.

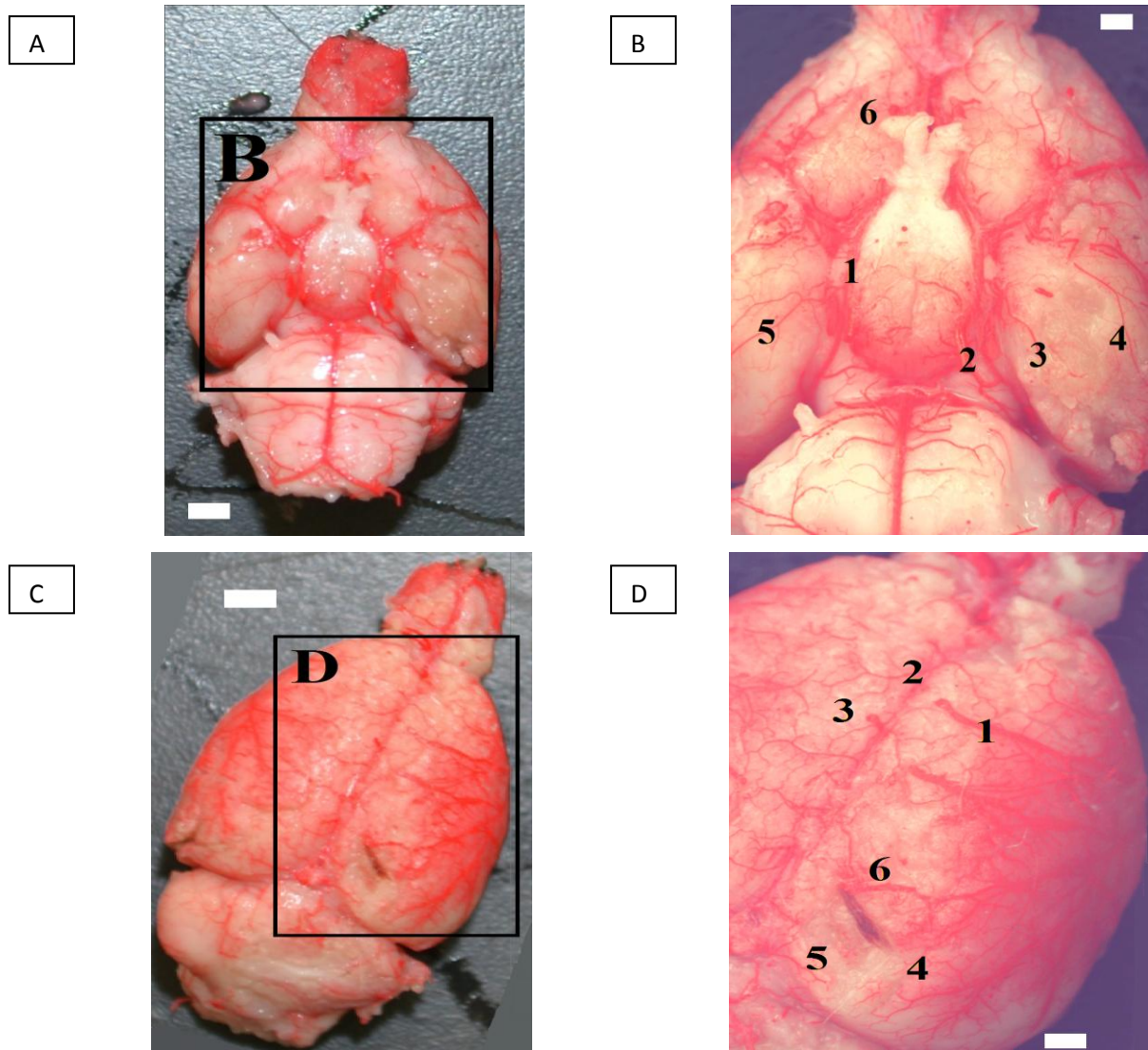


Figura 11: Fotos ilustrativas da área de secção transversal dos vasos do encéfalo em menor aumento (A-C) e obtidas com o uso de um microscópio Olympus (B-D). Os números nas imagens (B-D) correspondem exemplos de vasos que tiveram sua área de corte transversal medida. Barra de escala= 5 mm (A-C) e 1 mm (B-D).

Nota-se na tabela 11, que o menor vaso apresentava um diâmetro de 0.036 mm, correspondendo a uma arteríola, enquanto que o maior de 0.324 mm.

Tabela 11. Área da rede arterial dos encéfalos de roedores

Foto	Majores			Menores		
1	0.245mm	0.099 mm	0.070 mm	0.067 mm	0.064 mm	0.056 mm
2	0.270 mm	0.280 mm	0.056 mm	0.051 mm	0.044 mm	0.036 mm
3	0.225 mm	0.206 mm	0.059 mm	0.049 mm	0.040 mm	0.043 mm
4	0.112 mm	0.057 mm	0.070 mm	0.047 mm	0.044 mm	0.041 mm
5	0.247 mm	0.286 mm	0.061 mm	0.055 mm	0.042 mm	0.041 mm
6	0.275 mm	0.324 mm	0.068 mm	0.061 mm	0.042 mm	0.043 mm
7	0.177 mm	0.071 mm	0.169 mm	0.060 mm	0.042 mm	0.050 mm

Os três maiores e os três menores diâmetros dos vasos preenchido nas diversas peças injetadas e em destaque o maior e o menor diâmetro.

Utilizando-se um microscópio óptico modelo (Zeiss Axio Imager.A1), analisamos os encéfalos após secção no criostato e no vibrátomo. Observamos que nas secções de criostato, de 30 ou 60 μm , portanto mais finas do que as de vibrátomo (100 μm), havia muita fragmentação dos vasos e a maior parte deles aparecia em secção transversal e poucos em secção longitudinal. Desta forma, optamos pela secção em vibrátomo, acreditando que evidenciaríamos melhor a malha vascular, dado que as fatias são mais espessas. No entanto, como se observa na Figura 12, que ilustra exemplos das imagens obtidas a partir das três secções, não houve diferença aparente entre os dois métodos de secção.

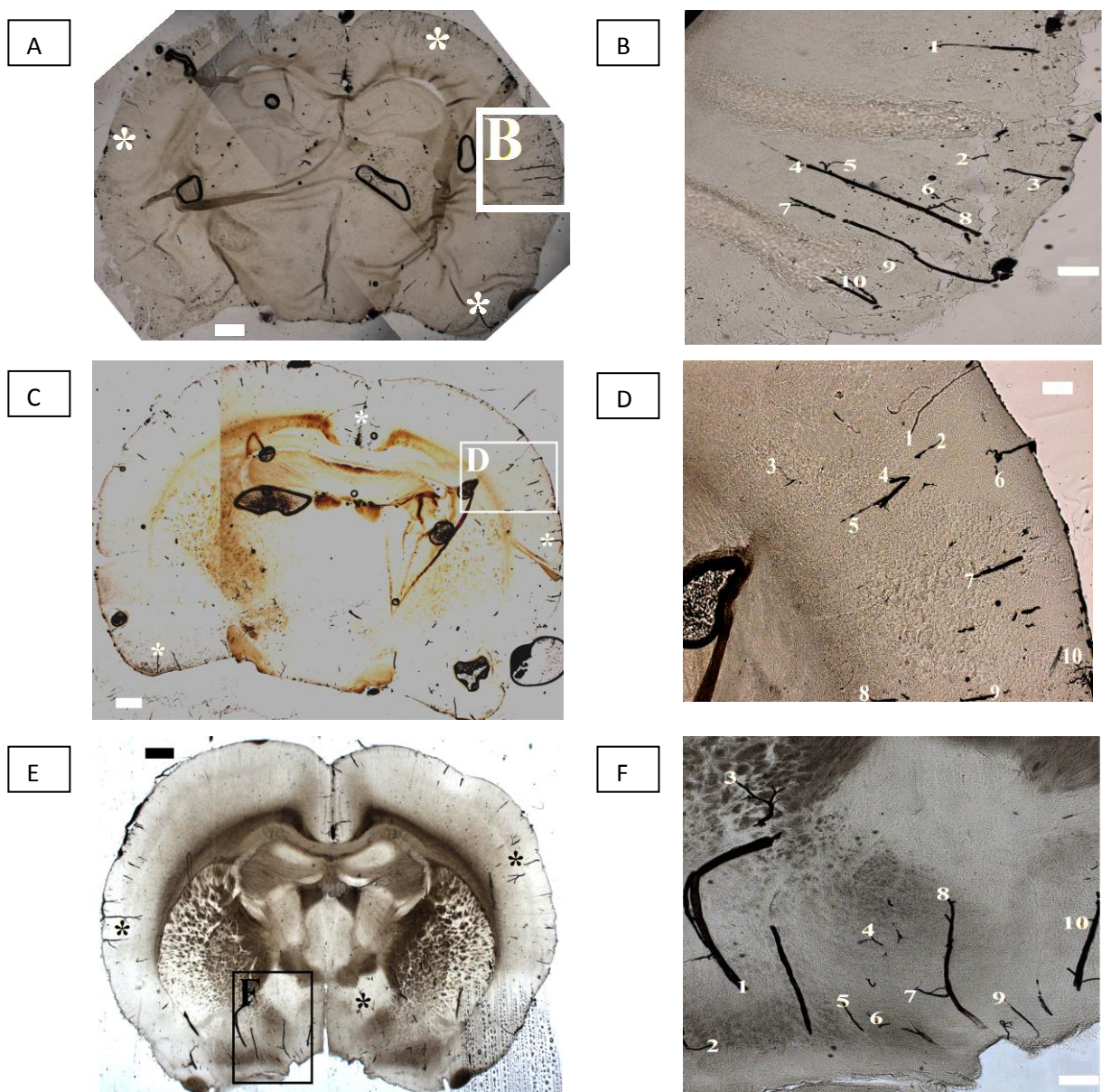


Figura 12: Fotos ilustrativas dos vasos do encéfalo apresentando falha de preenchimento (*) em secções no criostato a 30 μm (A e B), criostato a 60 μm (C e D) e vibrátomo a 100 μm (E e F) e visualizadas no microscópio. Os números nas imagens (B-D-F) correspondem exemplos de vasos que tiveram sua área de corte transversal medida. Barra de escala= 200 μm .

A partir das fotografias digitais tiradas de campos aleatórios dos encéfalos injetados foram feitas 10 medidas, em cada foto, dos diâmetros dos vasos encontrados e a Tabela 12 demonstra o diâmetro dos três maiores e dos três menores vasos preenchido nas diversas peças injetadas. Nota-se que o menor vaso na secção de 30 μm apresentava um diâmetro de 3,998 μm , menor que a menor medida de um vaso capilar que é entre 5 e 10 μm segundo Chilingaryan *et al* (2006) e o maior de 13,206 μm , enquanto que na secção de 60 μm o menor vaso apresentava um diâmetro de 4,847 μm e o maior de 30,903 μm e na secção de 100 μm o menor diâmetro foi de 3,565 μm e o maior de 44,926 μm .

Tabela 12. Área de secção transversal dos encéfalos de roedores

Foto	Secção	Maiores			Menores		
1	30 μm	9.950 μm	8.677 μm	8.550 μm	6.641 μm	5.618 μm	5.485 μm
2	30 μm	11.561 μm	13.206 μm	11.718 μm	6.519 μm	7.176 μm	6.854 μm
3	30 μm	6.124 μm	6.975 μm	6.128 μm	4.719 μm	4.200 μm	5.340 μm
4	30 μm	11.657 μm	10.565 μm	12.313 μm	7.611 μm	6.063 μm	6.012 μm
5	30 μm	9.344 μm	9.430 μm	9.871 μm	3.998 μm	4.248 μm	5.331 μm
6	60 μm	7.922 μm	18.696 μm	10.562 μm	4.962 μm	6.394 μm	6.144 μm
7	60 μm	10.204 μm	9.660 μm	10.040 μm	4.847 μm	4.857 μm	5.873 μm
8	60 μm	22.472 μm	22.125 μm	26.620 μm	8.904 μm	8.500 μm	9.978 μm
9	60 μm	30.903 μm	12.840 μm	8.925 μm	5.960 μm	5.289 μm	6.404 μm
10	60 μm	11.610 μm	9.759 μm	11.366 μm	7.775 μm	8.179 μm	5.817 μm
11	100 μm	44.926 μm	15.966 μm	19.161 μm	10.498 μm	8.552 μm	8.316 μm
12	100 μm	38.635 μm	37.924 μm	17.720 μm	6.383 μm	6.892 μm	7.169 μm
13	100 μm	10.120 μm	14.726 μm	9.601 μm	4.782 μm	6.135 μm	6.388 μm
14	100 μm	16.021 μm	8.590 μm	12.935 μm	5.984 μm	4.015 μm	5.263 μm
15	100 μm	33.695 μm	14.200 μm	11.929 μm	3.565 μm	5.981 μm	3.923 μm

Diâmetro dos três maiores e dos três menores vasos preenchido (seccionado a 30, 60 e 100 μm) nas diversas peças injetadas e em destaque o maior e o menor diâmetro.

A perfusão do córtex foi ideal, observada macroscopicamente, entretanto o interior do órgão não obteve o preenchimento esperado, fato cuja causa não é possível precisar, entretanto acredita-se que o diâmetro dos vasos nessa região seja de dimensão inferior a menor dimensão perfundível na forma como foi preparada a resina, fato que não diminui a aplicabilidade da técnica em estudos macroscópicos.

4.4 Pulmão

No caso do pulmão, evidenciou-se a arquitetura traqueobronquial, que diminuem de diâmetro à medida que se interioriza no parênquima, sendo considerada ideal a perfusão capaz de evidenciá-la até o nível das ramificações bronquiais (Bronquíolos terminais ou respiratórios). A repleção da árvore traqueobrônquica é verificada pelo extravasamento do líquido de preenchimento através do parênquima pulmonar devido à ruptura dos alvéolos pulmonares pelo aumento da pressão intraluminal. Foram preparadas 05 peças, 01 peça constituída pelos dois pulmões e as outras 04 apenas pelo direito ou pelo esquerdo, sendo 3 satisfatórias e 2 insatisfatórias sob o aspecto visual e da medida do calibre do menor vaso identificado. A Figura 13 mostra um pulmão com o preenchimento satisfatório (A, B), permitindo observar que o contorno do órgão, visto através da arquitetura da árvore brônquica, é semelhante ao de peças não corroídas; e insatisfatório (C, D), pois não é possível esboçar a forma original do órgão a partir desses espécimes, observando um extravasamento da resina de preenchimento.

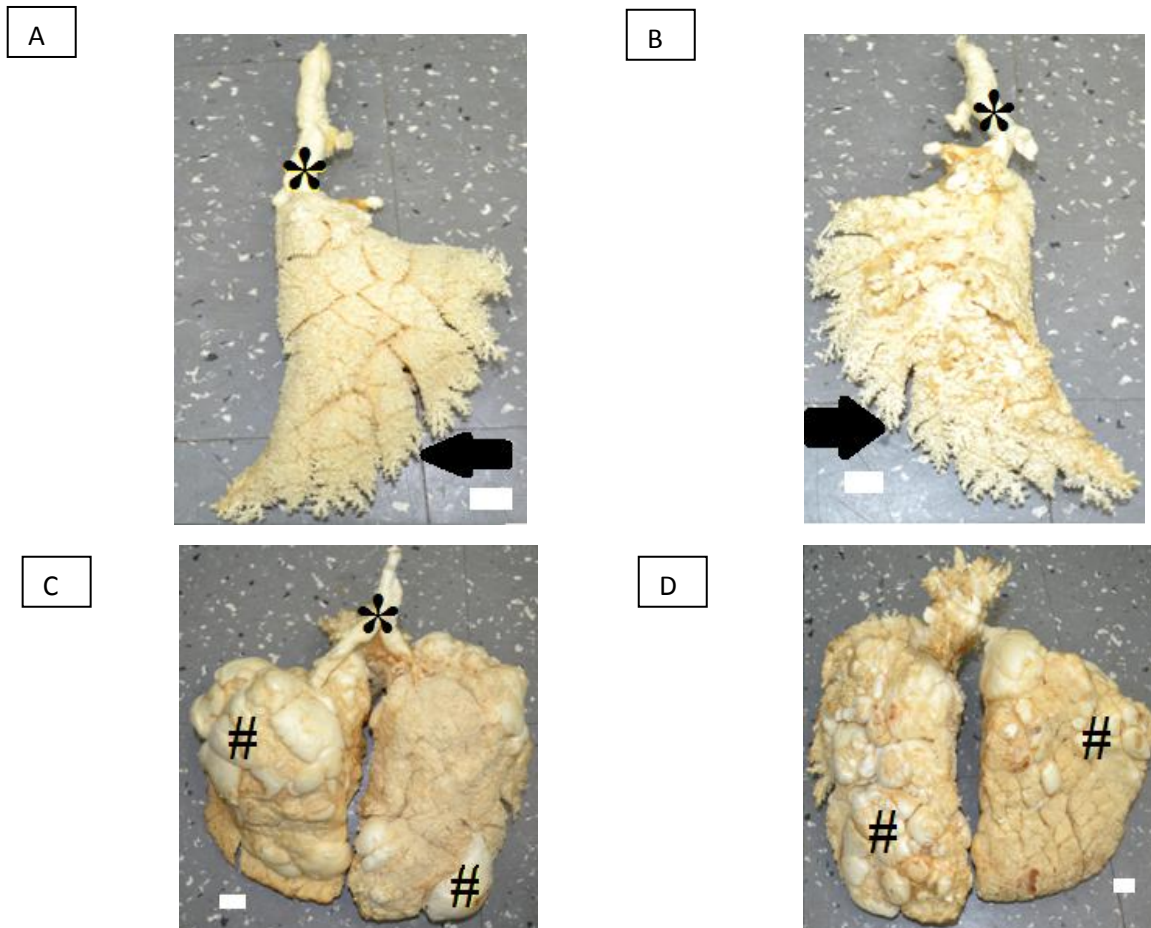


Figura 13: Fotos ilustrativas da face anterior (A-C) e posterior (B-D) do pulmão. Note que os ramos de maior (*) e menor calibre (Seta) estão bem preenchidos em (A-B) e com defeitos de preenchimento (#) em (C-D). Barra de escala= 2 cm.

Utilizando-se um microscópio (Olympus SZ 61), foram tiradas fotografias digitais de campos aleatórios dos pulmões injetados e feitas medidas do diâmetro da árvore brônquica encontrado. A Figura 14 ilustra exemplos das imagens obtidas com seis diâmetros medidos, 3 maiores e 3 menores e a Tabela 13 demonstra esses diâmetros dos ramos preenchido nas diversas peças injetadas.

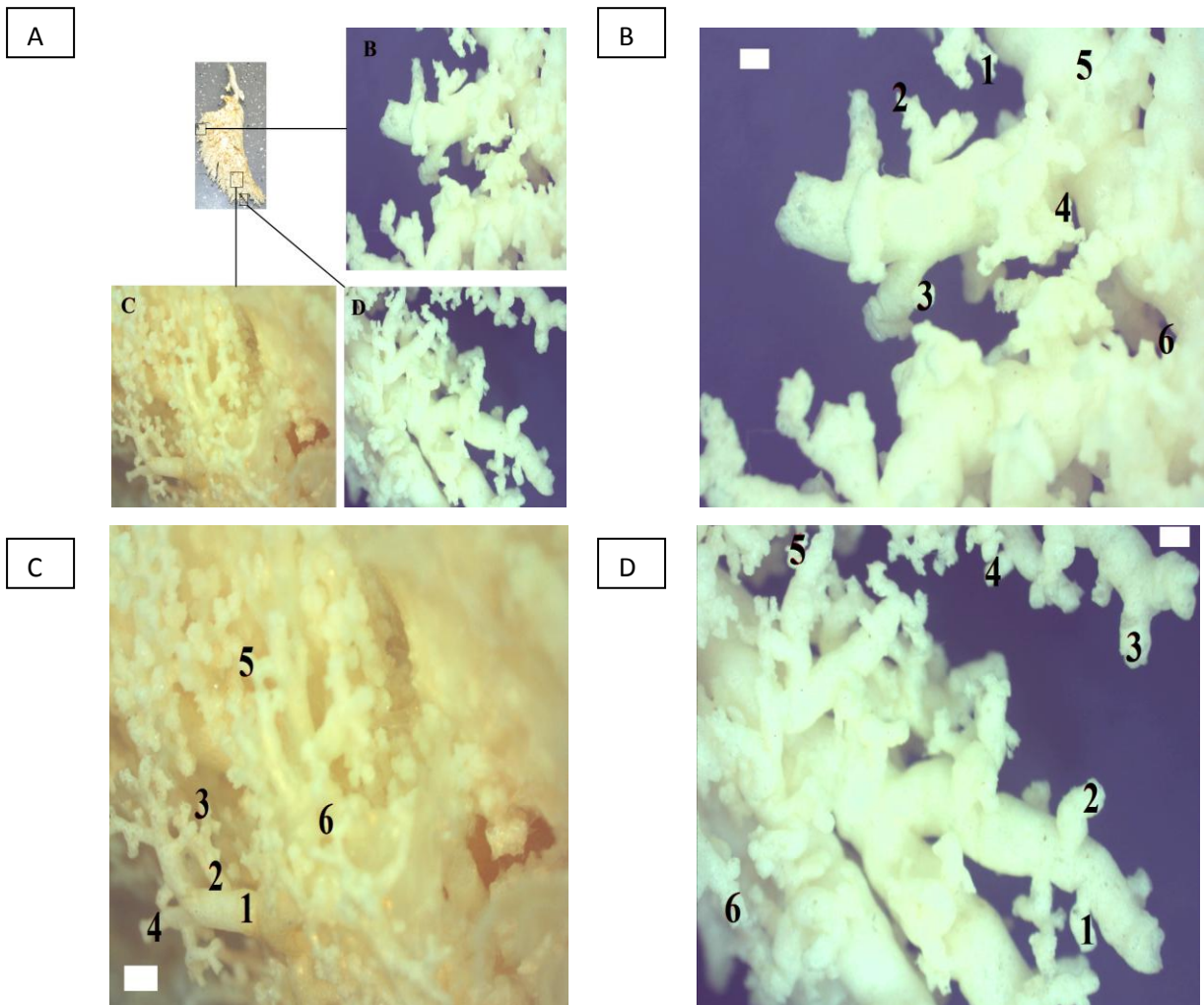


Figura 14: Fotos ilustrativas da área de secção transversal da árvore brônquica em menor aumento (A) e obtidas com o uso de um microscópio Olympus (B-C-D) evidenciando a árvore brônquica. Os números nas imagens (B-C-D) correspondem exemplos de ramos que tiveram sua área de corte transversal medida. Barra de escala= 2cm (A) e 1mm (B-C-D).

Nota-se que o menor ramo apresentava um diâmetro de 0,280 mm cabe salientar que em função da corrosão, perdem-se os elementos histológicos necessários a caracterização de segmentos mais distais da árvore traqueobrônquica, sendo o diâmetro e as ramificações os únicos elementos capazes de indicarem tal caracterização. Em função do tamanho do menor ramo observado é possível dizer tratar-se de um bronquíolo terminal ou um bronquíolo respiratório enquanto que o maior ramo encontrado foi de 1,552 mm.

Tabela 13. Área de secção transversal da árvore brônquica

Foto	Maiores			Menores		
1	0.560 mm	0.450 mm	0.384 mm	0.360 mm	0.280 mm	0.370 mm
2	1.006 mm	0.896 mm	0.709 mm	0.697 mm	0.620 mm	0.310 mm
3	0.976 mm	0.877 mm	0.817 mm	0.628 mm	0.814 mm	0.712 mm
4	1.492 mm	1.224 mm	1.231 mm	0.877 mm	0.780 mm	1.080 mm
5	0.554 mm	0.681 mm	0.514 mm	0.436 mm	0.513 mm	0.498 mm
6	0.929 mm	0.640 mm	0.606 mm	0.559 mm	0.569 mm	0.437 mm
7	1.332 mm	1.017 mm	1.552 mm	0.868 mm	0.935 mm	1.099 mm
8	0.922 mm	0.852 mm	1.179 mm	0.682 mm	0.760 mm	0.793 mm
9	0.708 mm	0.607 mm	0.495 mm	0.402 mm	0.378 mm	0.443 mm
10	1.004 mm	0.427 mm	0.463 mm	0.343 mm	0.390 mm	0.307 mm
11	1.328 mm	0.912 mm	0.669 mm	0.637 mm	0.417 mm	0.580 mm
12	0.953 mm	1.158 mm	0.761 mm	0.451 mm	0.443 mm	0.293 mm

Os 3 maiores e os 3 menores diâmetros dos ramos preenchido nas diversas peças injetadas e em destaque o maior e o menor.

5 DISCUSSÃO

A confecção de peças anatômicas é um processo artesanal, ficando os resultados vinculados a capacidade e ao requinte do dissecador. Esse fato determina uma heterogeneidade nos acervos dos laboratórios de anatomia, permitindo dizer que cada peça é única, singular. Isso, motivo de orgulho para quem as prepara é na verdade um problema, pois a confecção em larga escala de materiais didáticos a partir dessa matéria prima torna-se inviável. O aprimoramento de técnicas anatômicas visando a padronização dos meios de produção vem a diminuir a vinculação da qualidade da peça a qualidade de quem as disseca, permitindo a produção de um maior número de espécimes, com maior uniformidade, mesmo por pessoas pouco treinadas com as técnicas anatômicas, o que torna o processo mais rápido, mais preciso e mais barato.

O motivo para peças com qualidade tão diferente está relacionado com peças que apresentavam, por ocasião da evisceração, zonas de descontinuidade em seu parênquima, contribuindo para um preenchimento inadequado, somado ao fato da maior ou menor resistência, característica individual, à corrosão, determinando que peças que ficaram pelo mesmo período submersas em líquidos corrosivos apresentassem maior ou menor perda da arquitetura original. Então a qualidade do preenchimento está diretamente relacionada à integridade do sistema canalicular por onde fluirá o líquido de preenchimento, pois rupturas parciais que gerem descontinuidade ao longo das camadas desse sistema favorecerão o extravasamento do conteúdo luminal para os tecidos adjacentes, gerando alterações nessas localizações, além de determinarem preenchimento incompleto em regiões distais a essas lesões. Nesse sentido, tão importante quanto a fluidez da resina, é a seleção apropriada de peças anatômicas, preferindo para os trabalhos de repleção aquelas em que não são observadas lacerações, pois a etapa de evisceração é crucial para a obtenção de peças adequadas, sem perda da qualidade final.

A delicadeza dos vasos sanguíneos torna a dissecação dessas estruturas um processo minucioso, geralmente com resultados insatisfatórios, pois grande número de peças é descartado até se conseguir uma com a vascularização em condições de ilustrar uma aula prática. A técnica de preenchimento do leito vascular com substâncias moldantes, há muito tem sido feita, entretanto para as regiões mais distais e, portanto, de menor calibre a passagem da substância de preenchimento é difícil, seja por sua consistência, que impede sua progressão pela luz estreita, seja pela fragilidade dos vasos mais distais, que se rompem a medida que ocorre aumento da pressão intraluminal. Essas características e dificuldades encontradas nesse

trabalho, também foram percebidas e enfrentadas por Grivas *et al* (2003) e por Chilingaryan e *et al* (2006).

Neste trabalho buscamos realizar o preenchimento do lúmen vascular de coração e rim de porco, encéfalo de rato e o preenchimento da árvore traqueobrônquica de peças de porco. A escolha das espécies se deu pelo tamanho do órgão que facilitaria a injeção e a visualização das estruturas, no caso dos órgãos de porco e por uma limitação na quantidade de resina disponível no caso dos encéfalos. Além disso, desejava-se padronizar a utilização da resina Biodur E20 plus para o preenchimento vascular de ratos, já que, segundo o fabricante, a baixa densidade permite preenchimento do leito capilar (Biodur, 2015). No entanto, após buscas na literatura e segundo informações colhidas diretamente com o setor técnico da Biodur, não havia relatos de que trabalhos anteriores tivessem seccionado o tecido para visualização dos vasos intraparenquimatosos, apenas uso como contraste de vasos em espécimes plastinados ou para preenchimento de espécimes corroídos. Assim, buscamos padronizar o uso deste preenchimento, que aliado a técnicas eletrofisiológicas e bioquímicas (CHILINGARYAN *et al.*, 2006); (INSTITORIS *et al.*, 2015) poderiam auxiliar no estudo das características vasculares do sistema nervoso. A justificativa para a implementação desta técnica é que o corante e a gelatina até hoje utilizados com este fim (HASHIMOTO *et al.*, 2008) não se mantêm estáveis dentro do vaso, sendo susceptível a temperatura, por exemplo, o que muitas vezes impede sua associação com outras técnicas de investigação, como a imunohistoquímica. Na literatura levantada, encontramos apenas um trabalho que utiliza uma substância estável, PU4ii (vasQtec, Suíça) para preenchimento da árvore vascular em ratos (HEINZER *et al.*, 2008).

Para o preenchimento dos vasos sanguíneos do encéfalo, rim e coração foi necessária a cateterização prévia do sistema, ou pela artéria aorta, no caso do encéfalo ou pelo vaso principal do órgão no caso do coração (artéria coronária) e rim (artéria e veia renal). Essa etapa prévia é crucial para o resultado final da peça, devendo o vaso estar bem acoplado ao equipo por onde fluirá o líquido de preenchimento, sob o risco de extravasamento para regiões vizinhas. A resina usada nesse processo apresenta uma baixa viscosidade, o que permitiu sua progressão para regiões distais e de calibre reduzido, favorecendo a observação de segmentos vasculares de tamanho microscópico, permitindo dizer que essa resina deve ser reportada como substância padrão ouro para repleção vascular, tendo a vantagem de ser facilmente manuseável, entretanto o estudo histológico evidenciou falha de preenchimento. Nesse sentido teve mais êxito a pesquisadora Thelma Grossi F. Saraiva em seus resultados parciais de seu projeto de dissertação de mestrado, usando como substância de preenchimento gelatina

com nanquim (Figura 15), já bastante descrita na literatura (HASHIMOTO *et al.*, 2008). Comparando-se as imagens obtidas por nós com a da Figura 15, podemos afirmar que em nosso trabalho, o aspecto histológico está distante do esperado com os materiais e técnicas utilizados.

Uma possível explicação para a ineficácia de nossa técnica é que o diâmetro dos vasos nessa região seria de dimensão inferior a menor dimensão perfundível na forma como foi preparada a resina. No entanto, nossas medidas apontam que o menor vaso na secção de 30 μm em criostato apresentava um diâmetro de 3,998 μm , portanto menor que a menor medida de um vaso capilar que é entre 5 e 10 μm de acordo com Chilingaryan *et al* (2006) e Institoris *et al* (2015) e o maior de 13,206 μm , enquanto que na secção de 60 μm o menor vaso apresentava um diâmetro de 4,847 μm e o maior de 30,903 μm e na secção de 100 μm o menor diâmetro foi de 3,565 μm e o maior de 44,926 μm . O fato dos vasos do encéfalo terem ficado incompletamente preenchidos impossibilitou uma análise da densidade vascular.

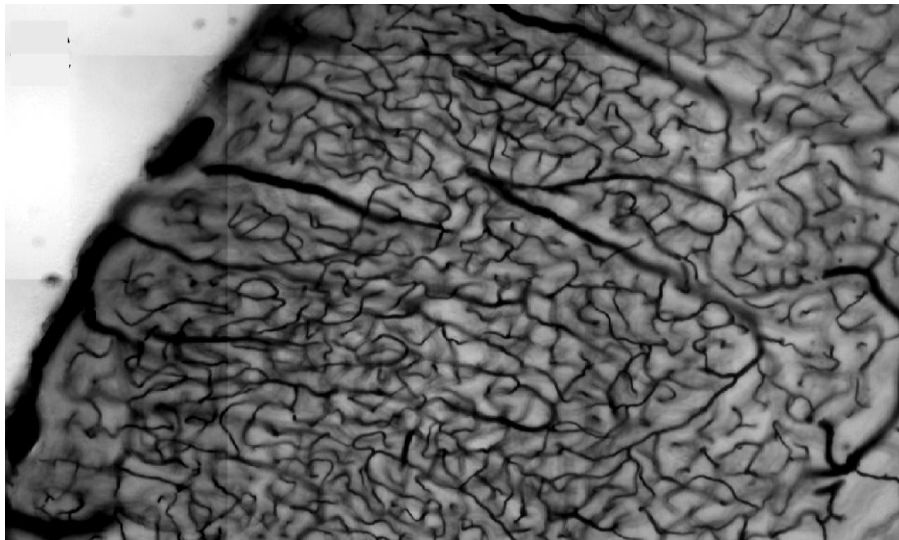


Figura 15. Imagem ilustrativa de vasos do córtex cerebral preenchidas com gelatina misturada à tinta nanquim feita por Thelma Saraiva e cedida pelo professor Jean Christophe Houzel.

Os rins e corações de porcos foram preenchidos por metacrilato, substância amplamente utilizada para este propósito e encontrada em diversas citações na bibliografia. Os resultados desse trabalho são similares ao de outros autores, como Monteiro & Smith (2014); Gómez & Ballesteros (2013; 2014), permitindo a criação de moldes que refletem muita semelhança com as peças originais, gerando produtos que podem ser usados em meio acadêmico para o ensino da anatomia ou para projetos de extensão para divulgação de Ciência, sendo inodoro, de aspecto agradável, entretanto frágil, devendo ser evitado o contato direto, sob o risco de dano à peça.

Conforme descrito em Métodos, o processo tem uma etapa inicial de preenchimento, seguido por um tempo de endurecimento do material de preenchimento, após o qual a peça é imersa em meio corrosivo com o objetivo de sofrer desnaturação e a quebra das estruturas orgânicas, sem que haja dano ao molde. Restos teciduais são removidos hidromecanicamente, (realizando escovação sob pressão constante de água até o ponto desejado) momento no qual se deve agir com delicadeza para não danificar os moldes, que no caso do sistema arterial, são muito frágeis se quebrando facilmente.

Os trabalhos acerca da descrição vascular do sistema sanguíneo de encéfalo de ratos remetem a outras substâncias, que não a resina biodur E20 plus, também não foram encontradas na literatura específica outros relatos usando tais produtos, de modo que este trabalho é inédito nesse sentido.

Para certificação da perfusão da resina para regiões distais do encéfalo, foram preparadas peças histológicas a partir de cortes do encéfalo dos roedores. A observação com microscópio óptico com objetivas de 1,25x, 5x, 10x e 20x permitiu a visualização da substância de preenchimento dentro do leito vascular evidenciado no corte, entretanto sem a homogeneidade percebida macroscopicamente. A proposta de estudo macroscópica com as técnicas citadas obteve êxito, tal como no trabalho de Riepertinger & Heuckendorf (1993), portanto a visualização microscópica do líquido de preenchimento permitiu concluir que para o uso macroscópico a perfusão foi satisfatória. Os melhores cortes do ponto de vista de integridade do tecido e visualização dos vasos em seu eixo longitudinal foram aqueles confeccionados com vibrátomo a 100 μm .

O trabalho de Monteiro & Smith (2014) sobre a anatomia da árvore traqueobrônquica de porcos não fez menção ao produto utilizado em nosso trabalho para preenchimento dessas estruturas tubulares.

No caso da árvore traqueobrônquica, onde existem diversas ramificações com calibres diminutos em suas regiões mais distais, interiorizando-se pelo parênquima do órgão, o preenchimento com posterior corrosão da matéria orgânica, cria um molde que permite o estudo detalhado dos brônquios em todas as suas porções. Diversas substâncias têm sido testadas para o preenchimento de estruturas tubulares, com resultados diferentes e atendendo a múltiplos objetivos. Nesse trabalho o uso da espuma expansiva para preenchimento da árvore traqueobrônquica originou um material inodoro, seco, de consistência delicada e resistente ao manuseio, a baixo custo e com simplicidade em seu preparo, bastando a injeção do produto diretamente na traqueia, seguida de corrosão. A espuma de poliuretano foi citada por Przybysz & Cunha (2011), como um material simples de se trabalhar com a vantagem de

permitir a confecção de moldes leves e precisos, fato também observado nesse trabalho. No que se refere ao aspecto final da peça, o metacrilato é superior a espuma de poliuretano com relação a similaridade com o espécime a ser moldado, o que pode ser visto no trabalho de Monteiro & Smith (2014). Em função do tamanho do menor ramo observado é possível dizer tratar-se de um bronquíolo terminal ou bronquíolo respiratório, pois apresenta um diâmetro menor do que o de um bronquíolo, que é entre 0,5 e 1,0 mm (ROCHA *et al.*, 2013).

6 CONCLUSÃO

Foi possível produzir peças anatômicas em condições para uso em sala de aula e para a divulgação científica, como demonstrado pelo o preenchimento do sistema vascular de corações e rins de porcos que foi adequado e pelo preenchimento da árvore traqueobrônquica de porcos, que permitiu visualizar suas ramificações macroscopicamente. O uso de espuma de poliuretano em árvore traqueobrônquica de suínos e a resina auto-polimerizável em coração e rim de porcos, se prestam a confecção de peças anatômicas de alto padrão, reputando estes produtos e estas técnicas como importantes, exequíveis, baratas e de fácil execução, devendo seu uso ser estimulado em substituição a outros meios de conservação de tecidos, como formol, por exemplo, por criarem produtos agradáveis aos sentidos, principalmente ao tato e ao olfato.

No entanto, a análise das lâminas histológicas de encéfalo de rato demonstrou que o preenchimento do sistema não foi satisfatório e que a repleção com resina biodur E 20 ainda precisa ser aprimorada neste sentido, visando sua utilização em projetos de pesquisa. Vale ressaltar que a anatomia microscópica tem sido cada vez mais solicitada nos métodos de diagnóstico por imagem, portanto a obtenção de cortes histológicos a partir de peças perfundidas será em um futuro próximo uma tecnologia indispensável à imaginologia.

REFERÊNCIAS

- ALIEVI, M. M. et al. Osteossíntese de úmero em pombos domésticos (*Columba livia*) associando-se pinos metálicos e polimetilmetacrilato intramedulares após osteotomia diafisária. **Arq Bras Med Vet Zootec**, Belo Horizonte, v. 60, n. 4, p. 843-850, jun. 2008.
- ARONE, E. M.; PHILIPPI, M. L. S. Enfermagem médico-cirúrgica aplicada ao sistema cardiovascular. 5.ed. São Paulo: Editora SENAC; 2004.
- BIODUR. Products GmbH. Services, Polymers, Equipment & Auxiliaries for Plastination. Catalogue. Disponível em: <http://www.biodur.de/assets/biodur_catalogue-2015.pdf>. Acesso em: 24 abr. 2016.
- CARVALHO, M. A. M. et al. Segmentos anátomo-cirúrgicos arteriais do rim de cutia (*Dasyprocta prymnolopha*), **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 5, p. 249-252, maio. 2008.
- CHILINGARYAN, A.; CHILINGARYAN, A. M.; MARTIN, G. G. The three-dimensional detection of microvasculature bed in the brain of white rat *Rattus norvegicus* by a Ca^{2+} - ATPase method. **Brain Research**, Los Angeles, v. 1070, p. 131–138, jan. 2006.
- COSTA, M. de la L. M.; SANTOS, M. T. Vivendo Ciências. São Paulo: FTD, 1999.
- CURY, F. S.; CENSONI, J. B.; AMBROSIO, C. E. Técnicas anatômicas no ensino da prática de anatomia animal. **Pesq. Vet. Bras.**, São Paulo, v. 33, n. 5, p. 688-696, Maio. 2013.
- DÂNGELO, J. G.; FATTINI, C. Anatomia humana sistêmica e segmentar. São Paulo: Atheneu, 2006.
- FALCI JÚNIOR, R. et al. Estudo comparativo do padrão de circulação coronariana entre peças anatômicas e pacientes cirúrgicos. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo**, São Paulo, v. 51, n. 6, p. 224-227, 1996.
- FARACI, F. M. et al. Selective cerebral vascular dysfunction in Mn-SOD-deficient mice. **J. Appl. Physiol.**, v. 100, n. 6, p. 2089-2093, jun. 2006.
- FRANDSON, R. D.; WILKE, L. W.; FAILS, A. D. Anatomia e fisiologia dos animais de fazenda. 6° ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005 454 p.
- GHANAVATI, S. et al. A perfusion procedure for imaging of the mouse cerebral vasculature by X-ray micro-CT. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 221, p. 70-77, set. 2014.
- GOELZER, L. P. et al. Acrílico auto-polimerizável associado ou não a retalho mucoperiosteal simples no tratamento de fístula oronasal experimental em cães. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 55, n. 5, p. 550-556, out. 2003.
- GÓMEZ, F. A.; BALLESTEROS, L. E. Anatomic Study of the Right Coronary Artery in Pigs: Feature Review in Comparison with the Human Artery. **Int. J. Morphol.**, Bucaramanga, v. 31, n. 4, p. 1289-1296, ago. 2013.
- GÓMEZ, F.A.; BALLESTEROS, L. E. Morphologic expression of the left coronary artery in pigs. An approach in relation to human heart. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, São José do Rio Preto, v. 29, n. 2, p. 214-220, abr./jun. 2014.

GRIVAS, I. et al. Vascular network of the rat hippocampus is not homogeneous along the septotemporal axis. *Brain Research*. v. 971, p. 245-249, maio. 2003.

HASHIMOTO, H.; KUSAKABE, M.; ISHIKAWA, H. A Novel Method for Three-Dimensional Observation of the Vascular Networks in the Whole Mouse Brain. *Microscopy research and technique*, Tokyo, v. 71, n. 1, p. 51-59, 2008.

HEINZER, S. et al. Novel three-dimensional analysis tool for vascular trees indicates complete micro-networks, not single capillaries, as the angiogenic endpoint in mice overexpressing human VEGF165 in the brain. *NeuroImage*, Zurique, v. 39, p. 1549-1558, Nov. 2008.

HUANG, Y. et al. An automated approach for cerebral microvasculature labeling in microscopy images. *Microscopy Research and Technique*, v. 75, n. 3, p. 388-396, set. 2012.

INSTITORIS, Á; ROSENEGGER, D. G.; GORDON, G. R. Arteriole dilation to synaptic activation that is sub-threshold to astrocyte endfoot Ca²⁺ transients. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, Canadá, v. 35, n. 9, p. 1411-1415, Sep. 2015.

JATENE, M. B. et al. Importância da anatomia da circulação coronária atrial na operação de Cox para controle da fibrilação atrial. *Rev Bras Cir Cardiovasc*, São Paulo, v. 14, n. 1, p. 32-38, Jan./Mar. 1999.

KIDOGUCHI, K. et al. In vivo x-ray angiography in the mouse brain using synchrotron radiation. *Stroke*, v. 37, n. 7, p. 1856-1861, jun. 2006.

MARÍN-PADILLA, M.; KNOPMAN, D. S. Developmental aspects of the intracerebral microvasculature and perivascular spaces: insights into brain response to late-life diseases. *J. Neuropathol Exp. Neurol*, v. 70, n. 12, p. 1060-1069, dez. 2011.

MONTEIRO, A.; SMITH, R. L. Bronchial tree architecture in mammals of diverse body mass. *Int. J. Morphol.*, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 312-318, fev. 2014

OLIVEIRA, Í. M. de et al. Análise de peças anatômicas preservadas com resina de poliéster para estudo em anatomia humana. *Rev. Col. Bras. Cir.* v.40, n. 1, p. 76-80, 2013.

ORTALE, J. R. et al. Anatomia dos ramos lateral, diagonal e ântero-superior no ventrículo esquerdo do coração humano. *Braz J. Cardiovasc. Surg.*, São Paulo, v. 20, n. 2, p. 149-158, maio. 2005.

PALMIERI, B. J. et al. Estudo do padrão arterial de 200 pedículos renais por meio de angiotomografias. *Rev Col Bras Cir.*, Rio de Janeiro, v. 38, n. 2, p. 116-121, mar./abr. 2011.

PRZYBYSZ, C. H.; CUNHA, W. L. da. Técnica de modelagem em resina de poliuretano na taxidermia de vertebrados. *Cesumar*, v. 13, n. 1, p. 81-88, jan./jun. 2011.

RIEPERTINGER, A.; HEUCKENDORF, E. E20 Color-injection and plastination of the brain. *J. Int. Soc. Plastination*, v. 7, n. 1, p. 8-12. 1993.

ROCHA, P. G. G. da; ALVES, J. B. N.; SÁ, F. B. de. Modelo anatômico da árvore brônquica pulmonar por técnica de injeção e corrosão. In: XIII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão – JEPEX, 2013, Recife: UFRPE, 2013.

SALDARRIAGA, B.; PINTO, S. A.; BALLESTEROS, L. E. Morphological Expression of the Renal Artery. A Direct Anatomical Study in a Colombian Half-caste Population. *Int. J. Morphol.*, v. 26, n. 1, p. 31-38, 2008.

SCHAMBACH, S. J. et al. Ultrafast high-resolution in vivo volume-CTA of mice cerebral vessels. *Stroke*, v. 40, n. 4, p. 1444-1450, abr. 2009.

SCREMIN, O. U. Cerebral vascular system. The human nervous system. 2^o ed. London: Elsevier, 2004; p. 1325–1348.

SILVA, R. K. A. da. et al. Vantagens e desvantagens das técnicas de preparação de materiais didáticos para as aulas práticas de morfologia. *REDSIS - Revista Didática Sistemica*, v.13, n.2, p. 24-41, 2011.

SILVA, V. A. da; MIRANDA, J. S. de; BRITO, M. V. H. Técnica para preparo angioarquitetônico hepático de ratos. *Acta Cirúrgica Brasileira*, São Paulo, v. 15, n. 3, p. 00-00, Jul./Ago./Set. 2000.

SOUSA, C. G. de. et al. Preparo de modelos anatômicos do sistema circulatório para uso didático e museológico. *Enciclopédia Biosfera: Centro Científico Conhecer*, Goiânia, v. 9, n. 17, p. 2845-2852, nov./dez. 2013.

SZYMANSKI, et al. Intermediate veins in swine (*Sus scrofa domestica*) kidney: authors' own anatomical classification. *Folia Morphol. (Warsz)*, v. 74, n. 2, p. 229-235, 2015.

ANEXO I – APROVAÇÃO PELO CEUA/CCS

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO – UFRJ
Centro de Ciências da Saúde - CCS

Rio de Janeiro, 14 de abril de 2015

Prezada Professora Daniela Uziel Rozental

A Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) em Experimentação Científica do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio de Janeiro registrada no Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) sobre o número de processo 01200.001568/2013-87 certifica que o projeto sob sua coordenação e intitulado: “Técnicas de preenchimento Anatômico para o Ensino, Pesquisa e Extensão.”, onde é prevista a utilização de 20 ratos e 10 suínos foi aprovado por esta comissão no dia 18/03/2015, sob o número de referência 013/15.

Esta aprovação é válida somente para os 30 animais descritos, até o prazo de 14/04/2016.

Atenciosamente;

Prof. Marcel Frajblat
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais - CCS