

Prevenção de aderências pericárdicas pós-operatórias com uso de carboximetilquitosana termoestéril

Prevention of postoperative pericardial adhesions using thermal sterile carboxymethyl chitosan

Luiz Renato Dias DAROZ¹, Jackson Brandão LOPES², Luis Alberto Oliveira DALLAN³, Sérgio Paulo CAMPANA-FILHO⁴, Luiz Felipe Pinho MOREIRA⁵, Noedir Antônio Groppo STOLF⁶

RBCCV 44205-1020

Resumo

Objetivo: Este trabalho tem como objetivo avaliar alterações físico-químicas da carboximetilquitosana após termoesterilização e sua eficácia na prevenção de aderências pericárdicas pós-esternotomia.

Métodos: Após ser submetida a termoesterilização em autoclave, a carboximetilquitosana termoestéril (CMQte) foi submetida a análises físico-químicas. Doze animais foram divididos em dois grupos e submetidos à pericardiotomia e a protocolo de indução de aderências. A seguir, foi aplicada de forma tópica a CMQte ou solução salina. Após 8 semanas, foi realizada esternotomia e avaliação macroscópica do grau de aderências, tempo de dissecação e quantidade do uso de dissecação cruenta e avaliação microscópica.

Resultados: As análises físico-químicas não mostraram diferença entre a CMQ e CMQte. A avaliação macroscópica mostrou que a intensidade das aderências foi significativamente menor no grupo CMQte ($P=0,007$). O tempo de dissecação e o uso de dissecação cruenta também apresentaram reduções significativas ($P=0,007$, $P=0,008$; respectivamente).

Conclusão: O método de esterilização empregado não alterou as propriedades físico-químicas da carboximetilquitosana. O uso de biopolímeros de barreira como a CMQte pode reduzir a intensidade das aderências pós-cirúrgicas no pericárdio, diminuindo as complicações da esternotomia em reoperações cardiovasculares.

Descritores: Aderências/prevenção & controle. Pericárdio. Quitosana. Esterilização/métodos. Procedimentos cirúrgicos cardíacos. Suínos.

Abstract

Objective: The aim of this study is to evaluate CMC physical-chemical alterations after thermal sterilization and its efficacy in preventing poststernotomy pericardial adhesions.

Methods: After autoclaving thermal sterilization, thermal sterile Carboxymethyl Chitosan (CMCts) was submitted to physical-chemical analysis. Twelve animals were divided into two groups and underwent pericardiotomy

1. Residência Médica em Cirurgia Cardiovascular; Cirurgião cardiovascular do Hospital Márcio Cunha Fundação São Francisco Xavier/USIMINAS.
2. Doutor em Ciências pela Disciplina de Cirurgia Torácica e Cardiovascular da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; Cirurgião cardiovascular do Hospital Márcio Cunha Fundação São Francisco Xavier/USIMINAS.
3. Professor Livre-Docente da Disciplina de Cirurgia Torácica e Cardiovascular da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; Diretor da Unidade Cirúrgica de Coronariopatias do Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
4. Professor Livre-Docente do Departamento de Físico-Química do Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo; Professor Associado do Departamento de Físico-Química do Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo.
5. Professor Livre-Docente da Disciplina de Cirurgia Torácica e Cardiovascular da Faculdade de Medicina da Universidade de São

- Paulo; Diretor da Unidade Cirúrgica de Pesquisa do Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
6. Professor Titular da Disciplina de Cirurgia Cardiovascular da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Trabalho realizado no Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil e Hospital Márcio Cunha - Fundação São Francisco Xavier/USIMINAS, MG, Brasil.

Endereço para correspondência:

Luiz Renato Dias Daroz

Avenida Engenheiro Kiyoshi Tsunawaki, s/n - Bairro das Águas - Ipatinga, MG - Brasil. CEP: 35160-158

E-mail: lrenatod@ig.com.br

Artigo recebido em 30 de maio de 2008
Artigo aprovado em 13 de outubro de 2008

and adhesion induction protocol. Afterward, topic CMCTs or saline solution was administered. After 8 weeks, a sternotomy was performed for adhesion score macroscopic evaluation, dissection time and the amount of recalcitrant dissection, and microscopic evaluation.

Results: Physical-chemical analysis showed no difference between CMC and CMCTs. A macroscopic analysis showed that the intensity of adhesions was significantly lower in the CMCTs group ($P=0.007$). Dissection time and use of recalcitrant dissection also decreased significantly ($P=0.007$, $P=0.008$; respectively). Microscopic results indicated a

significant reduction in the epicardium collagen area and in the total epicardium area ($P=0.05$) and ($P=0.03$).

Conclusion: The sterilization method did not change Carboxymethyl Chitosan physical-chemical properties. Using barrier bipolymer, such as CMCTs, can decrease the intensity of pericardium postoperative adhesions, reducing sternotomy complications in cardiovascular reoperations.

Descriptors: Adhesions/prevention & control. Pericardium. Chitosan. Sterilization/methods. Cardiac surgical procedures. Swine.

INTRODUÇÃO

A incidência crescente de reoperações cardiovasculares, que hoje representam 10% a 20% dos procedimentos nesta área [1,2], leva à preocupação da prevenção das aderências pericárdicas. Estas aderências aumentam substancialmente o risco de lesão cardíaca de grandes vasos ou dos enxertos extracardíacos durante a esternotomia, o que conseqüentemente contribui para maior morbidade e mortalidade nas reoperações [3-5].

Muitos já foram os métodos testados para reduzir as aderências [6-9], porém, apenas após o surgimento das barreiras poliméricas é que os resultados se tornaram mais consistentes e reprodutíveis [1,5,10,11].

A quitosana é um biopolímero com propriedades similares à matriz extracelular, abundante na natureza e derivada dos tecidos de sustentação de crustáceos, insetos e fungos. Ela apresenta semelhança na estrutura básica molecular ao ácido hialurônico e se destaca por suas propriedades biológicas como ação antibacteriana e atoxicidade [12-14], o que a caracteriza como um excelente agente para prevenção de aderências pós-cirúrgicas. Para utilização clínica é imprescindível que a carboximetilquitosana (CMQ) seja submetida ao processo de esterilização. Alguns processos físico-químicos, como a esterilização térmica, podem influenciar nas propriedades dos biopolímeros [15,16].

Este trabalho tem como finalidade avaliar a eficácia da carboximetilquitosana termoestéril (CMQte) na prevenção de aderências pericárdicas pós-cirúrgicas e possíveis alterações nas propriedades físico-químicas da CMQ após a esterilização em autoclave.

MÉTODOS

Animais

Para esta pesquisa foram utilizados 12 suínos da raça Large-White, com peso variando de 15 kg a 20 kg, que foram divididos em dois grupos de seis animais por meio de randomização estratificada gerada pelo programa SISA

(Simple Interactive Statistical Analysis), disponibilizado na Internet através do Protocolo de Transferência de Hipertexto: <http://home.clara.net/sisa/order.htm>. O protocolo deste estudo foi aprovado pelo comitê de ética do Instituto do Coração da Universidade de São Paulo. Todos os animais receberam os cuidados de acordo com o estabelecido pelo "Guide for Care and Use Laboratory Animals" publicado pelo Instituto Nacional de Saúde (NIH publication 85-23, revisado 1996) e nos princípios éticos na pesquisa com animais estabelecida pelo Colégio Brasileiro de Pesquisa com Animais (COBEA).

Preparo da carboximetilquitosana termoestéril

A CMQ foi produzida pela Dayang Chemicals Co., China, e submetida a esterilização em autoclave. A carboximetilquitosana em pó foi submetida a esterilização em autoclave da marca BAUMER. O processo consistiu em 5 minutos de pré-vácuo, 9 minutos de aquecimento até 134°C, 15 minutos de esterilização com calor úmido na pressão de 2,1 kgf/cm² e posterior secagem por 10 minutos com calor seco na mesma temperatura. Um volume de 15 ml do gel de CMQte na concentração de 3,2% foi preparado para o experimento. O mesmo volume de solução salina 0,9% foi utilizado como controle.

A carboximetilquitosana, na sua forma esterilizada e não-esterilizada, foi submetida a análises físico-químicas: análises termogravimétricas, espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (1H RMN), espectroscopia no infravermelho, mensuração do potencial hidrogeniônico (pH).

Os processos seguiram os métodos descritos nos estudos realizados pelo grupo de Campana-Filho [17,18].

Experimento animal

Após 12 horas de jejum, os animais foram submetidos a anestesia induzida com injeção intramuscular de 10 mg/kg de quetamina (Cristália, SP, Brasil) e 0,05 mg/kg de atropina (Citopharma, MG, BRASIL). A antibiótico-profilaxia foi realizada com solução veterinária contendo benzilpenicilina

potássica, benzilpenicilina procaína, penicilina benzatina e estreptomicina (Pentacilin C®, Fort Dodge, SP, Brasil), administrada conforme o peso do animal. Foi puncionada uma linha venosa na orelha do animal na qual foi infundida solução salina 0,9% (HalexIstar, GO, Brasil) a 3 ml/kg/h para reposição volêmica e perdas insensíveis. Todos os animais foram monitorizados com eletrocardiograma de duas derivações durante todo o procedimento cirúrgico. Após administração de 10mg/kg de tiopental sódico (Cristália, SP, Brasil) e 0,05 µg/kg cloridrato de fentanila (Cristália, SP, Brasil), realizou-se o posicionamento da cânula orotraqueal e conexão ao dispositivo de ventilação mecânica, que foi programado para oferecer um volume corrente de 10 ml/kg e fração inspirada de oxigênio de 100%. A anestesia foi mantida com isoflurane 0,5-2% (Cristália, SP, Brasil).

Após anti-sepsia com Chlorohex® degermante e Chlorohex® alcoólica (Johnson Diversey, SP, Brasil), a região operatória foi delimitada com campos estéreis. Realizou-se toracotomia ântero-lateral direita no quinto espaço intercostal de aproximadamente 5 cm. A pericardiotomia foi realizada anterior ao nervo frênico e o coração exposto com auxílio de 6 pontos de reparo no pericárdio.

Suturas em bolsa, utilizando fio de poliéster 2-0 (Mersilene®, Ethicon, SP, Brasil), foram realizadas na aurícula direita, na aorta ascendente e próximo à veia cava inferior. O epicárdio e a superfície interna do pericárdio parietal foram submetidos a abrasão mecânica, por meio de 10 movimentos consecutivos nas seguintes regiões do coração: átrio direito; faces anterior e inferior do ventrículo direito (VD); e faces anterior, lateral e inferior do ventrículo esquerdo (VE). Este agente abrasivo consistiu em uma lixa d'água (Adalox® T 223, Norton Abrasivos, SP, Brasil), com granulometria 280, montada sobre uma extremidade de uma espátula de madeira com área de 1,5 x 1,0 cm. O conjunto lixa-espátula foi previamente montado e levado à autoclave para esterilização.

Vinte centímetros cúbicos de sangue autólogo, obtidos através de punção do átrio direito, foram aplicados na cavidade pericárdica, permanecendo nesta durante 30 minutos sendo, então, posteriormente aspirados.

Um cateter multifenestrado de cloreto de polivinila (PVC) foi implantado, por contra-abertura, na cavidade pericárdica e posicionado de modo que os orifícios estivessem em contato com a superfície de todas as faces do coração.

O pericárdio foi fechado mediante uma linha de sutura única, em chuleio contínuo, com fio de polipropileno 4-0. Antes do fechamento da toracotomia, as soluções foram injetadas pelo cateter de acordo com a randomização. Ao final da administração das substâncias, o cateter foi retirado e seu orifício suturado de forma que não houvesse escape significativo da solução aplicada. O hemitórax direito foi drenado a dois espaços intercostais abaixo da incisão, com um dreno tubular de diâmetro de 18 French e conectado a

um dispositivo de selo d'água. As atelectasias foram retiradas por meio da insuflação manual dos pulmões. O espaço intercostal utilizado foi aproximado com três fios de algodão 2-0. A musculatura seccionada foi suturada com fio de Catgut® cromado 0. A pele foi fechada com sutura intradérmica de fio de nylon 2-0. O animal foi identificado e o plano anestésico superficializado e, ao despertar, foi realizada a retirada da cânula orotraqueal. O dreno torácico foi retirado após 20 min de cessação da saída de bolhas de ar no selo d'água.

O animal foi alimentado 6 horas após o final da anestesia e recebeu doses intermitentes de morfina intramuscular como analgésico.

Reoperação e eutanásia

A reoperação foi realizada oito semanas após o procedimento cirúrgico inicial. Após o mesmo protocolo anestésico, excetuando-se a antibiótico-profilaxia, os animais foram submetidos a toracotomia mediana. A intensidade das aderências foi avaliada em seis áreas predefinidas: superfície anterior, lateral e inferior dos ventrículos, sutura no átrio direito, sutura aórtica e linha de fechamento do pericárdio. As aderências foram graduadas pela sua intensidade, conforme um sistema de escore (Tabela 1), por um avaliador que não tinha conhecimento do grupo ao qual o animal pertencia.

Um escore de gravidade, denominado escore total de aderência, foi calculado somando-se o escore de cada segmento analisado.

Tabela 1. Sistema de classificação das aderências

Escore de aderência	Características
0	Sem aderências
I	Aderências frouxas: são facilmente desfeitas com dissecção romba; têm um plano espumoso característico entre as superfícies e apresentam pouco sangramento
II	Aderências intermediárias: são desfeitas com dissecção romba mais agressiva ou com utilização de pouca dissecção cortante; têm um plano identificável entre as superfícies e resulta em sangramento moderado
III	Aderências firmes: só se desfazem com dissecção cortante; não têm um plano bem definido entre as superfícies e sangram facilmente

O tempo desde a abertura do pericárdio até o fim da lise das aderências foi contado em cronômetro digital.

Duas câmeras (FUJI FINEPIX S9600) foram posicionadas para gravação das imagens e posterior quantificação do número absoluto de vezes em que foi utilizado um instrumento cortante na lise das aderências.

Após a lise das aderências, a eutanásia do animal foi realizada com a administração de thiopental, na dose já descrita, seguido de 20 ml de cloreto de potássio 19,1% em *bolus*.

Foi obtido um fragmento de tecido a meia distância entre veia cava superior e inferior, o qual foi imerso em paraformaldeído 10%. Este espécime foi constituído pela parede do átrio direito, tecido de aderências e pericárdio parietal.

Estudo anatomopatológico

Após processamento histológico habitual, foram confeccionados os blocos de parafina. Nos grupos controle e CMQte, cortes de 5 µm de espessura foram obtidos e corados com Sirius Red [19,20].

As lâminas foram recodificadas de maneira que o observador não reconhecesse o grupo ao qual o animal pertencia, para evitar bias durante a análise.

Para tal, as lâminas foram avaliadas em microscópio óptico conectado a um sistema de análise de imagem (Quantimet-Leica, Leica Cambridge Ltd., Cambridge, Reino Unido). Para avaliação dos fragmentos, uma objetiva com 5x de magnificação foi utilizada.

A avaliação morfométrica consistiu na medida da espessura do pericárdio parietal, área de adesão e análise quantitativa do conteúdo de colágeno no epicárdio, aderência e pericárdio parietal.

Análise estatística

As variáveis categóricas são apresentadas como mediana (min.-max.) e as variáveis contínuas, como média ± desvio padrão. A análise de dados foi realizada com o *software* GraphPad Prisma, versão 5.01. O escore de gravidade, o tempo de dissecação, o número de vezes que foi utilizado um instrumento cortante na lise das aderências e avaliação dos parâmetros histológicos foram avaliados pelo teste Mann-Whitney. Para correlações não-paramétricas foi utilizado o teste Spearman. Uma regressão não linear foi aplicada para avaliar a relação entre o escore de aderência, o tempo de dissecação e a quantidade de utilização de dissecação cortante.

A significância estatística foi considerada com $P < 0,05$.

RESULTADOS

Houve um óbito no grupo dos animais que receberam a CMQte, devido a infecção respiratória. Um animal do grupo

controle apresentou laceração extensa do ventrículo direito durante a esternotomia mediana e, conseqüentemente, a aquisição dos dados referentes ao tempo de dissecação e a quantificação da dissecação cruenta, nesse animal foram prejudicadas.

Análise da carboximetilquitosana termoestéril

Análise termogravimétrica

Os valores e as curvas resultantes são mostrados na Tabela 2 e na Figura 1. As amostras se comportaram de forma muito semelhantes, diferindo somente quanto ao teor de umidade. As amostras submetidas a esterilização tinham um teor maior de água.

Tabela 2. Análise termogravimétrica. Variação da massa da amostra em função da temperatura

	Temperatura (°C)			
	25-100	100-310	31-550	550-750
CMQNEst	13,6	27,6	12,1	25,2
CMQEst	13,6	28,0	12,1	25,9

Os valores representam perda de massa (%)

CMQNEst - Carboximetilquitosana não esterilizada

CMQEst - Carboximetilquitosana esterilizada

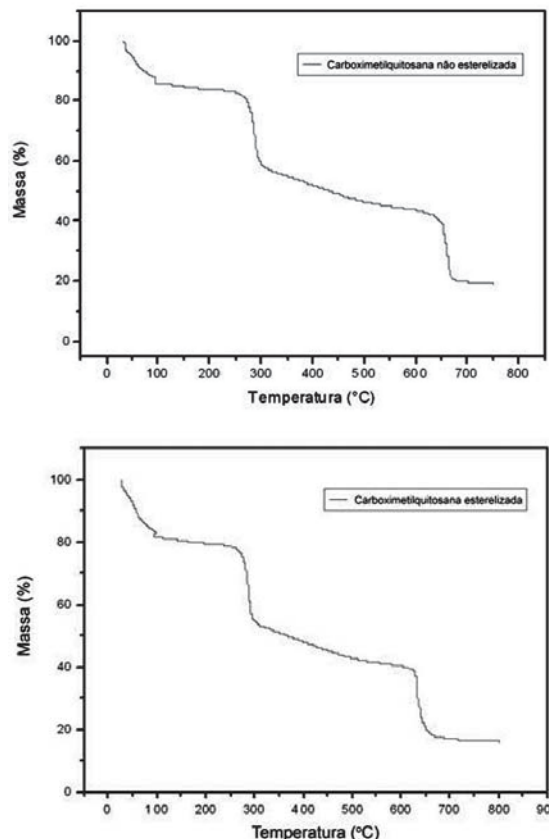


Fig. 1 – Valores e curvas obtidos pela análise termogravimétrica

A partir deste resultado, não se podem distinguir as amostras esterilizadas e não-esterilizadas quanto à decomposição e à estabilidade térmica.

Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio ($^1\text{H RMN}$)

A comparação dos espectros das amostras de CMQte e CMQ (Figura 2) não revela diferenças importantes. Os espectros das amostras também exibem semelhança com as amostras de Campana-Filho et al. [17,18]. Ainda na mesma figura, o sinal mais à direita ($\text{Hd}2,5\text{ppm}$) é bem pouco intenso e deve ser atribuído aos três átomos de hidrogênio dos grupos metila da acetamida, indicando que a quitosana empregada para preparar as amostras de CMQ é consideravelmente desacetilada.

Entre 3,5 ppm e 4,0 ppm estão os sinais atribuídos à introdução de um ou dois grupamentos de carboximetila em radicais amino da quitosana. Os sinais devido à introdução de grupamento carboximetila nas hidroxilas da quitosana de partida aparecem acima de 4,0 ppm e se superpõem a outros sinais, dificultando a identificação. Apesar disto, é possível caracterizar a amostra utilizada como O,N-carboximetilquitosana.

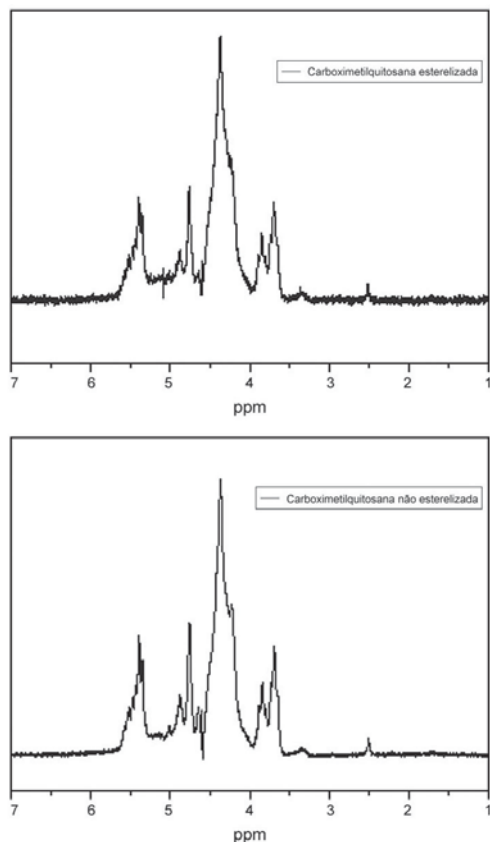


Fig. 2 - Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio ($^1\text{H RMN}$)

Espectroscopia no infravermelho

Também nesse caso, observa-se que os espectros são muito semelhantes entre as amostras, indicando que a esterilização não provocou alterações importantes na estrutura das amostras (Figura 3).

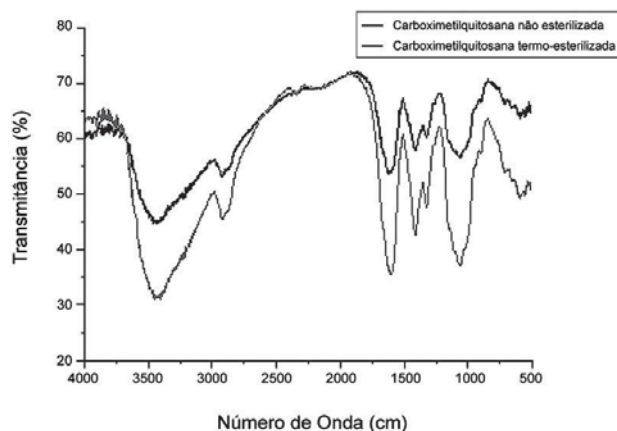


Fig. 3 - Espectroscopia no infravermelho, indicando que a esterilização não provocou alterações importantes na estrutura das amostras

Em comparação com as amostras preparadas por Campana-Filho et al. [17,18], pode-se afirmar que as amostras da Dayang Chemicals estão na forma sódica, o que é evidenciado pelas bandas intensas localizadas em aproximadamente 1410cm^{-1} e 1600cm^{-1} .

Em todos os espectros há uma banda muito intensa em aproximadamente 1100cm^{-1} que se refere às ligações glicosídicas, entre as unidades constituintes do polímero.

Mensuração do potencial hidrogeniônico (pH)

As medidas do pH foram realizadas após agitação magnética da CMQ 4% durante 3 dias à temperatura ambiente. Após esse período foi observado que a solução não esterilizada (CMQ) apresentava cor amarelo e a esterilizada (CMQte) cor marrom claro. Em ambas observou-se a presença de material insolúvel em suspensão. Foi utilizado pHmetro para as medidas. Os resultados não diferiram nas amostras, estando o pH igual a 8,9.

Análises do experimento animal

Análise macroscópica

Os resultados da análise da intensidade das aderências, baseada nas especificações da Tabela 1, foram expressos de acordo com cada sítio avaliado em valores de mediana, valor máximo e mínimo (Tabela 3). Quando comparadas separadamente, houve diferença estatística na região da face anterior e inferior do ventrículo esquerdo e na linha de sutura da aorta (teste de Mann-Whitney com $P=0,01$).

Tabela 3. Classificação macroscópica das aderências^a

Grupo	Face anterior	Face lateral	Face inferior	Linha de sutura	Sutura no átrio	Sutura na aorta
Controle	3,0 (2-3)	2,0 (2-3)	3,0 (2-3)	3,0 (3-3)	3,0 (3-3)	3,0 (2-3)
CMQ ^{te}	2,0 (1-2) ^b	2,0 (1-2) ^c	2,0 (1-2) ^b	3,0 (2-3) ^d	2,0 (1-3) ^e	2,0 (1-2) ^b

^a – Valores de mediana (max-min)

Análise comparativa entre grupo controle e CMQ^{te}

Teste de Mann-Whitney – ^b P=0,01 ^c P=0,07

Teste de Wilcoxon – ^d P=1,00 ^e P=0,17

CMQ^{te} – Carboximetilquitosana termo-estéril

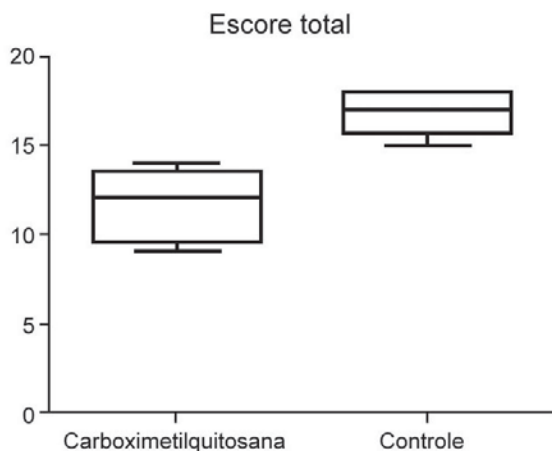


Fig. 4 - Análise macroscópica da intensidade das aderências com o escore total de gravidade

O resultado da análise macroscópica da intensidade das aderências com o escore total de gravidade está mostrada na Figura 4. A CMQte reduziu significativamente o escore total de aderências quando comparada ao controle ($P=0,007$).

Avaliação quantitativa do uso de dissecação cruenta e tempo de dissecação

A avaliação quantitativa do uso de dissecação cruenta, obtida pela média aritmética da contagem dos movimentos da tesoura registrados por cada câmera, mostrou redução significativa no grupo da CMQte. ($71,4 \pm 23$ vs. 291 ± 101 ; $P=0,008$).

O tempo de dissecação também mostrou redução no grupo CMQte, quando comparado ao grupo controle ($9,8 \pm 1,5$ min vs. $33,9 \pm 9,2$ min; $P=0,007$).

Existe correlação significativa entre o escore de aderência e o tempo gasto com a dissecação (Spearman $r=0,89$, $P=0,001$)

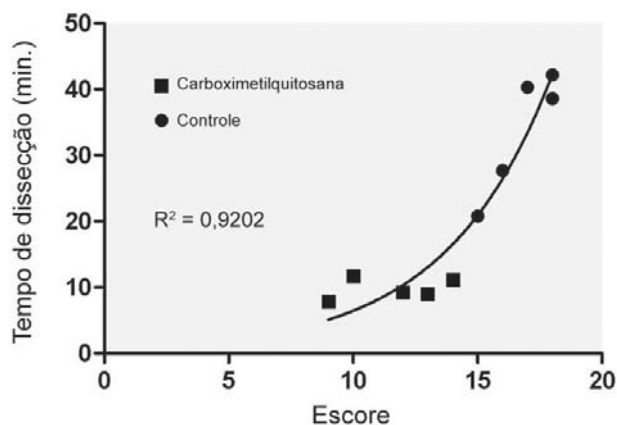


Fig. 5 - Curva de regressão linear entre gravidade das aderências e o tempo de dissecação

e também entre o escore de aderência e a quantidade do uso de dissecação cruenta (Spearman $r=0,87$; $P=0,001$).

A regressão linear identifica uma relação exponencial entre gravidade das aderências e o tempo de dissecação (Figura 5).

Análise morfológica das lâminas histológicas

A avaliação morfológica mostrou que a área de colágeno no epicárdio foi menor no grupo CMQte quando comparado ao grupo controle de forma significativa ($189.900 \pm 117.600 \mu$ vs. $440.100 \pm 223.000 \mu$; $P=0,05$), assim como a área total do epicárdio apresentou redução significativa no grupo CMQte ($652.700 \pm 257.500 \mu$ vs $296.300 \pm 183.300 \mu$; $P=0,03$).

A porcentagem de colágeno foi semelhante no grupo controle e CMQte, tanto no epicárdio, pericárdio e aderência. Não houve diferença significativa na comparação dos grupos quando avaliados área de pericárdio e aderência e

área de colágeno de pericárdio e aderência, apesar dos valores mostrarem tendência de redução no grupo CMQte.

DISCUSSÃO

Com o aumento do número de reoperações cardiovasculares (50.000 por ano nos EUA) [21], as complicações referentes à esternotomia assumem cada vez mais importância na avaliação do risco deste tipo de procedimento.

Várias técnicas, como o fechamento do pericárdio [7,22] e o uso de pericárdio heterólogo [6], já foram avaliadas para diminuir a intensidade das aderências e, conseqüentemente, diminuir a morbidade e a mortalidade causada por lesões cardíacas, grandes vasos e enxertos extracardíacos durante esternotomia para reoperações cardiovasculares, porém sem resultado eficaz e reprodutível.

O uso dos métodos de barreira com biopolímeros absorvíveis, como o ácido hialurônico, o polietileno glicol a carboximetilcelulose, demonstraram reduzir a intensidade das aderências pericárdicas pós-operatórias. Estes métodos permitem que o reparo de mesotélio ocorra com as serosas visceral e parietal separadas uma da outra. De forma similar a resultados de outros autores [23], que utilizaram a CMQ não esterilizada, os dados do presente estudo confirmam a efetividade deste biopolímero, mesmo após a aplicação do método de esterilização, em reduzir de forma significativa a intensidade das aderências.

O processo de esterilização de um biopolímero é crucial para sua aplicabilidade clínica. Este estudo demonstra que o método de termoeesterilização da carboximetilquitosana não altera suas principais características físico-químicas. Quando comparamos os resultados encontrados neste estudo com os de Krause et al. [23], que utilizou a CMQ não esterilizada, notamos que ambos encontraram redução estatisticamente significativa no escore de aderências com a aplicação deste biopolímero. Isto demonstra que, além das propriedades físico-químicas, as características biológicas da CMQ foram preservadas após a esterilização em autoclave.

Houve uma perda no grupo dos animais que receberam a CMQte, em decorrência de infecção respiratória, o que pode ter contribuído para não haver diferença estatística na avaliação morfométrica nos grupos quando avaliados área de pericárdio e aderência e área de colágeno de pericárdio e aderência. A porcentagem semelhante de colágeno nos grupos em todas as áreas avaliadas sugere que a CMQte não atua no processo de regeneração mesotelial e sim na formação e estrutura das aderências entre pericárdio visceral e parietal e demais estruturas.

A avaliação macroscópica, avaliação quantitativa do uso de dissecação cruenta e tempo de dissecação indicam de forma significativa uma redução na intensidade das

aderências, com conseqüente redução do tempo e dos riscos na esternotomia, em reoperações cardiovasculares. Apesar destas variáveis serem de caráter subjetivo, a utilização de um avaliador que não tinha conhecimento do grupo ao qual o animal pertencia, elimina consideravelmente o bias de avaliação.

CONCLUSÃO

Podemos concluir, primeiramente, que a termoeesterilização não altera as propriedades físico-químicas da carboximetilquitosana. Também concluímos que o uso de biopolímeros de barreira como a CMQte pode reduzir a intensidade das aderências pós-cirúrgicas no pericárdio, reduzindo as complicações da esternotomia em reoperações cardiovasculares.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Medicina do Vale do Aço, aos acadêmicos Flávia Luana Barbosa Rodrigues e Pedro Castro Mendes, à médica veterinária Diva Maria Almeida Oliveira e à técnica de laboratório Darcy Maria Botelho, pela colaboração durante a execução do experimento, à Cláudia Fajkarz, pela revisão do artigo e à Fundação São Francisco Xavier/Usiminas, pelo apoio técnico na proteção da propriedade industrial.

REFERÊNCIAS

1. Duncan DA, Yaacobi Y, Goldberg EP, Mines M, O'Brien D, Congdon F, et al. Prevention of postoperative pericardial adhesions with hydrophilic polymer solutions. *J Surg Res.* 1988;45(1):44-9.
2. Nkere UU, Whawell SA, Sarraf CE, Schofield JB, Thompson JN, Taylor KM. Perioperative histologic and ultrastructural changes in the pericardium and adhesions. *Ann Thorac Surg.* 1994;58(2):437-44.
3. Bennett SL, Melanson DA, Torchiana DF, Wiseman DM, Sawhney AS. Next-generation hydrogel films as tissue sealants and adhesion barriers. *J Card Surg.* 2003;18(6):494-9.
4. Garrett HE Jr, Matthews J. Reoperative median sternotomy. *Ann Thorac Surg.* 1989;48(2):305.
5. Seeger JM, Kaelin LD, Staples EM, Yaacobi Y, Bailey JC, Normann S, et al. Prevention of postoperative pericardial adhesions using tissue-protective solutions. *J Surg Res.* 1997;68(1):63-6.

6. Gallo JI, Artiñano E, Duran CM. Clinical experience with glutaraldehyde-preserved heterologous pericardium for the closure of the pericardium after open heart surgery. *Thorac Cardiovasc Surg.* 1982;30(5):306-9.
7. Milgalter E, Uretzky G, Siberman S, Appelbaum Y, Shimon DV, Kopolovic J, et al. Pericardial meshing: an effective method for prevention of pericardial adhesions and epicardial reaction after cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1985;90(2):281-6.
8. Vander Salm TJ, Okike ON, Marsicano TH, Compton C, Espinoza E. Prevention of postoperative pericardial adhesions. An animal study. *Arch Surg.* 1986;121(4):462-7.
9. Smith LO Jr. Prevention of surgically induced pericardial adhesions with combined dexamethasone and promethazine therapy. *J Fla Med Assoc.* 1968;55(5):413-7.
10. Konertz WF, Kostelka M, Mohr FW, Hetzer R, Hübler M, Ritter J, et al. Reducing the incidence and severity of pericardial adhesions with a sprayable polymeric matrix. *Ann Thorac Surg.* 2003;76(4):1270-4.
11. Robison RJ, Brown JW, Deschner WP, Highes B, King H. Prevention of pericardial adhesions with dextran 70. *Ann Thorac Surg.* 1984;37(6):488-90.
12. Qian G, Zhou J, Ma J, Wang D, He B. The chemical modification of *E. coli* L-asparaginase by N,O-carboxymethyl chitosan. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol.* 1996;24(6):567-77.
13. Rabea EI, Badawy ME, Stevens CV, Smagghe G, Steurbaut W. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromolecules.* 2003;4(6):1457-65.
14. Suzuki K, Okawa Y, Hashimoto K, Suzuki S, Suzuki M. Protecting effect of chitin and chitosan on experimentally induced murine candidiasis. *Microbiol Immunol.* 1984;28(8):903-12.
15. Jarry C, Leroux JC, Haeck J, Chaput C. Irradiating or autoclaving chitosan/polyol solutions: effect on thermogelling chitosan-beta-glycerophosphate systems. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 2002;50(10):1335-40.
16. Marreco PR, da Luz Moreira P, Genari SC, Moraes AM. Effects of different sterilization methods on the morphology, mechanical properties, and cytotoxicity of chitosan membranes used as wound dressings. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2004;71(2):268-77.
17. Abreu FR, Campana-Filho SP. Preparation and characterization of carboxymethylchitosan. *Polímeros.* 2005;15(1):79-83.
18. Santos JE, Soares JP, Dockal ER, Campana Filho SP, Cavalheiro ETG. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. *Polímeros.* 2003;13:242-9.
19. Borges LF, Taboga SR, Gutierrez PS. Simultaneous observation of collagen and elastin in normal and pathological tissues: analysis of Sirius-red-stained sections by fluorescence microscopy. *Cell Tissue Res.* 2005;320(3):551-2.
20. Junqueira LC, Bignolas G, Brentani RR. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochem J.* 1979;11(4):447-55.
21. Mayfield WR. Endoscopic repeat sternotomy. *Heart Surg Forum.* 1998;1(1):26-9.
22. Bailey LL, Ze-Jian L, Schulz E, Roost H, Yahiku P. A cause of right ventricular dysfunction after cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1984;87(4):539-42.
23. Krause TJ, Zazanis G, Malatesta P, Solina A. Prevention of pericardial adhesions with N-O carboxymethylchitosan in the rabbit model. *J Invest Surg.* 2001;14(2):93-7.