

BIOCOMPATIBILIDADE DE IMPLANTE DE POLIAMIDA EM TRAQUEIA DE COELHO (*Oryctolagus cuniculus*)

PIAZZOLO, Marcos¹
CUNHA, Olicies da²
ALENCAR, Allan Macedo³

RESUMO

O colapso traqueal é uma desordem respiratória comum em cães de raças pequenas e miniaturas. Apresenta caráter progressivo e pode ser congênita ou adquirida. Para graus severos, o implante de prótese que sustente o formato tubular da traqueia é o tratamento mais indicado. Atualmente, o implante helicoidal extraluminal de nitinol é o tratamento com melhor resultado, porém o alto custo da prótese é um empecilho na aplicação da técnica. O objetivo do trabalho foi averiguar a biocompatibilidade em modelo experimental (coelho) de prótese helicoidal extraluminal de poliamida modelada em impressora 3D. Para isso foram estudados 40 coelhos distribuídos em dois grupos e 4 blocos de tempos experimentais de 7, 14, 21 e 30 dias com 10 pacientes agrupados em cada bloco, sendo cinco para tratamento e cinco para controle. Vinte coelhos passaram por todo o processo cirúrgico sem receber a prótese (grupo controle - 7, 14, 21 e 30 dias) e 20 coelhos receberam a prótese (grupo tratamento - 7, 14, 21 e 30 dias). Após, as amostras de traqueia foram colhidas para exame histopatológico quanto a alterações de congestão, edema, fibrose, hemorragia, inflamação e necrose. Apenas um coelho apresentou deiscência de sutura. A maioria das amostras traqueais apresentaram alterações leves a moderadas quanto aos aspectos de biocompatibilidade, no entanto não houve diferença entre os grupos tratamento e controle. Conclui-se que a prótese traqueal helicoidal extraluminal confeccionada em poliamida por impressão em três dimensões nas características utilizadas provoca leve a moderada reação tecidual, sendo considerada biocompatível.

PALAVRAS-CHAVE: colapso traqueal, prótese de traqueia, impressão 3D, sinterização seletiva a laser.

BIOCOMPATIBILITY OF A POLYAMIDE IMPLANT IN THE TRACHEA OF RABBITS (*ORYCTOLAGUS CUNICULUS*)

ABSTRACT

Tracheal collapse is a common disorder when it comes to respiratory disorders in small and miniature breed dogs. The condition has a progressive character and can be congenital or acquired. For severe degrees of collapse, the implantation of a prosthesis that supports the tubular shape of the trachea is the most indicated treatment. Currently, the implant of nitinol extraluminal helical tracheal prosthesis is the treatment with the best results, but the high cost of the prosthesis is still an obstacle in the application of the technique. The objective of this work was to investigate the biocompatibility in an experimental model (rabbit) of an extraluminal helical polyamide prosthesis modeled on a 3D printer. For this, 40 rabbits were studied, divided into two groups and 4 blocks of experimental times of 7, 14, 21 and 30 days with 10 patients grouped in each block, being five for treatment and five for control in each block. Twenty rabbits underwent the entire surgical process without receiving the prosthesis (control group - 7, 14, 21 and 30 days) and another 20 rabbits received the prosthesis (treatment group - 7, 14, 21 and 30 days). After the follow-up period, trachea samples from each group were collected for histopathological examination for changes in congestion, edema, fibrosis, hemorrhage, inflammation and necrosis; Only one rabbit showed dehiscence. Most of the microscopically analyzed tracheal samples showed mild to moderate changes regarding biocompatibility aspects, however there was no difference between the groups that received the prosthesis and the groups that did not. Based on the results obtained, it is concluded that the extraluminal helical tracheal prosthesis made of polyamide by means of three-dimensional printing in the characteristics used in this work causes mild to moderate tissue reaction and is considered biocompatible.

KEYWORDS: Tracheal collapse. Tracheal prosthesis. 3D printing. Selective laser sintering.

¹ Médico veterinário discente do Programa de Pós Graduação em Ciência Animal - UFPR - setor Palotina. E-mail: piazzolo@gmail.com

² Professor doutor doscente do Programa de Pós Graduação em Ciência Animal - UFPR - setor Palotina. E-mail: olicies@gmail.com

³ Médico veterinário anestesiológista autônomo. E-mail: allanma1992@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O colapso traqueal é uma das principais causas de desordens respiratórias em cães de raças pequenas e miniaturas. Ela é caracterizada pelo enfraquecimento dos anéis traqueais e músculo traqueal dorsal levando ao achatamento dorsoventral da traqueia e, conseqüentemente, à diminuição da luz, causando desde sinais leves como tosse até a insuficiência respiratória grave e óbito, dependendo da severidade do colapso (Tappin, 2016; Deweese, 2019).

O diagnóstico do colapso traqueal leva em consideração sinais clínicos e exames de imagem. Radiografia, fluoroscopia e traquescopia são alguns dos exames de eleição tanto para diagnosticar quanto para determinar o grau de comprometimento da luz traqueal (Culp; O'donnell, 2016). O tratamento para o colapso é definido pela proporção da luz traqueal obstruída pelo achatamento traqueal, sendo tratamento conservativo medicamentoso para graus mais brandos de colapso (até 50% de obstrução da luz do órgão) e tratamento cirúrgico para os graus mais severos (obstrução maior que 50%) e também casos refratários ao tratamento clínico (Johnson; Pollard, 2010).

O implante cirúrgico de próteses extraluminais em liga de níquel-titânio (nitinol) em cães tem demonstrado bons resultado a longo prazo no tratamento de graus elevados de colapso traqueal (Suematsu, 2019), no entanto seu elevado custo ainda é fator limitante no uso desse material e, conseqüentemente inviabilizando a aplicação dessa técnica (Michelon, 2016).

A manufatura aditiva, popularmente conhecida por impressão 3D, está se revelando uma importante ferramenta no meio médico-cirúrgico, tanto para o planejamento pré-cirúrgico quanto para a fabricação de próteses e órteses personalizadas e precisas. Esse assunto tem motivado estudos de diversos materiais quanto à sua biocompatibilidade para poder oferecer dispositivos cirúrgicos com menor custo, maior grau de customização/adaptação às necessidades do paciente e rapidez na fabricação (Azevedo, 2018).

O objetivo do presente trabalho foi averiguar a biocompatibilidade de prótese traqueal helicoidal extraluminal confeccionada em poliamida por meio da impressão em três dimensões como possível alternativa para tratamento de colapso traqueal em cães.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 COLAPSO TRAQUEAL EM CÃES

A traqueia é formada por 35 a 45 anéis de cartilagem hialina incompletos em forma de “C” unidos por ligamentos anulares nas regiões ventrais e laterais, na região dorsal encontra-se a

membrana traqueal dorsal formada por tecido conjuntivo fibroso e pelo músculo traqueal, compondo um órgão flexível e semirrígido estendendo-se da cartilagem cricoide até a bifurcação dos brônquios pulmonares principais direito e esquerdo (Ettinger; Kantrowitz; Feldman, 2004; Fossum, 2013). O colapso desse órgão é causa comum na disfunção respiratória de cães de raças miniaturas e de pequeno porte, principalmente poodle, yorkshire terrier, spitz e outros, sem predisposição sexual.

A severidade dos sinais clínicos depende da proporção colapsada que dificulta ou impede a passagem do ar, podendo causar tosse, inflamação da mucosa traqueal, variados graus de dificuldade respiratória, taquipneia, intolerância a exercícios, angústia respiratória, síncope, entre outras desordens que trazem que diminuem a qualidade de vida e, em casos extremos, causam a morte desses animais (Maggiore, 2014; Yoon, 2017).

2.2 ETIOLOGIA DO COLAPSO TRAQUEAL

O colapso traqueal resulta do enfraquecimento dos anéis de cartilagem pela diminuição de glicosaminoglicanos, condroitina e glicoproteínas componentes da matriz cartilaginosa. Essa afecção tem caráter multifatorial e progressiva, podendo ser congênita ou adquirida. O colapso está associado à flacidez da membrana traqueal dorsal, que cede às pressões oscilatórias durante o ciclo respiratório e achata o lúmen traqueal tanto na região cervical quanto torácica, no sentido dorso ventral (Ferian; 2009; Maggiore, 2014; Tappin, 2016).

2.3 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico do colapso traqueal pode ser feito por meio do histórico do paciente, sinais clínicos, exame físico e levar em consideração a predisposição racial. Para confirmação do diagnóstico, localização e gravidade da doença são necessários exames de imagem como: radiografias cervicais e torácicas, fluoroscopia, ultrassonografia, traqueoscopia e tomografia computadorizada, sendo a traqueoscopia o método com maior grau de sensibilidade no diagnóstico e na determinação da gravidade do colapso (Macready *et al.*, 2007).

Conforme a proporção do lúmen traqueal obstruído o colapso pode ser classificado de I a IV. O grau I corresponde a uma redução de até 25% do lúmen traqueal, com os anéis traqueais ainda em formato circular e o músculo traqueal dorsal pouco pendular. O grau II corresponde à obstrução de 25 a 50% da luz do órgão, nesse caso os anéis traqueais já se encontram levemente achatados e o músculo traqueal torna-se pendular. Com 75% de obstrução, grau III de colapso, o músculo está mais pendular que no grau II e os anéis mais achatados. No grau IV os anéis traqueais se mostram

achatados, podendo estar invertidos com sua porção ventral entrando em contato com o músculo traqueal e a luz do órgão pode estar quase completamente obstruída (Johnson; Pollard, 2010; Padrid, 2011).

2.4 TRATAMENTO

O tratamento para essa desordem depende do grau de obstrução diagnosticada, no entanto, pacientes em angústia respiratória devem ser atendidos em regime de urgência com auxílio de oxigenoterapia, local calmo e com baixa temperatura. Casos mais graves sugere-se sedação e intubação endotraqueal para estabilização ventilatória antes de qualquer exame diagnóstico (Tappin, 2016).

Para os graus I e II o tratamento recomendado é conservativo e consiste em administração de medicamentos que visam a restauração das desordens de cartilagens dos anéis traqueais como: antitussígenos, anti-inflamatórios não esteroidais e esteroidais, antibioticoterapia, sedativos, exercícios leves e adequação da dieta para os pacientes acima do peso (Hawkins, 2009; Tappin, 2016).

Pacientes com elevado grau de colapso traqueal (graus III e IV) e pacientes refratários ao tratamento clínico são elegíveis ao tratamento cirúrgico visando reestabelecer o diâmetro natural da traqueia. Diversas técnicas cirúrgicas têm sido empregadas na tentativa de restaurar a patência e a redução da resistência traqueal à passagem do ar, dentre essas técnicas estão a condrotomia de anel traqueal, ressecção e anastomose de segmentos traqueais, plicatura da membrana traqueal dorsal e, mais recentemente, aplicação de stents intraluminais e próteses de suporte extraluminal (Durant *et al*, 2012).

A aplicação de stent intraluminal de liga metálica de níquel-titânio (nitinol) é uma técnica efetiva no reestabelecimento do diâmetro em qualquer região traqueal, pouco invasiva, de curto tempo cirúrgico e anestésico, no entanto tem a desvantagem da necessidade de equipamento de imagem em tempo real para sua aplicação (fluoroscópio), além de diversos efeitos colaterais relatados como: traqueíte bacteriana ou inflamatória, persistência da tosse, obstrução de fluxo mucociliar, estenose traqueal por exacerbada produção de tecido de granulação devido ao íntimo contato do stent com a mucosa traqueal, fratura do stent e perfuração traqueal, migração, problemas relacionados ao comprimento e diâmetro dos stents implantados (Brown *et al*, 2008; Raske *et al*, 2018).

Apesar do menor grau invasivo e tempo operatório na colocação dos stents intraluminais, seus efeitos colaterais pós-operatório são limitadores na sua utilização e o desenvolvimento de novas técnicas e materiais são necessários. Uma das alternativas são as próteses extraluminais, algumas delas utilizadas desde os anos 1990 (Kirby *et al*, 1991), feitas comercialmente de polipropileno em

formato de anel ou então confeccionadas a partir da secção de seringas. Tinga *et al* (2015) em trabalho retrospectivo comparativo entre anéis extraluminais e stents intraluminais não encontrou diferença entre as técnicas à respeito das complicações gerais pós-operatórias, no entanto, quando comparados os dois tratamentos a longo prazo o grupo que recebeu anéis extraluminais teve menor taxa de complicações e com maior tempo de sobrevida, assim, o desenvolvimento de prótese helicoidal extraluminal de nitinol tem se mostrado uma alternativa com bons resultados. Vale lembrar que dispositivos fabricados com esse material já são amplamente utilizados na ortopedia e cardiologia e tem boa biocompatibilidade (Santos-Junior, 2016).

Em termos gerais, a biocompatibilidade de um componente ou dispositivo está relacionada com a habilidade do organismo aceitar tal material, desse modo, o grau de biocompatibilidade está relacionada à extensão dessa reação tecidual na presença desses componentes, podendo ser mensurada pela magnitude e duração dos efeitos adversos nos tecidos receptores (Duerig, Pelton, Stockel, 1999; Anderson, 2019).

Apesar dos promissores resultados encontrados com a implantação de próteses intraluminais e extraluminais de nitinol em pacientes com colapso traqueal, o elevado custo da matéria prima desse modelo de prótese tem se revelado um empecilho para a popularização da técnica e aplicação em grande parte dos pacientes que necessitam de tal procedimento (Michelon, 2016). Para Moretto *et al.* (2016), a modelagem de próteses e dispositivos assistivos à por Manufatura Aditiva em impressoras tridimensionais (impressoras 3D) é uma alternativa às próteses de nitinol que já vem sendo amplamente explorada nos últimos anos e consequentemente, com gradativa diminuição de custos dos produtos (Tack *et al*, 2016).

2.5 IMPRESSÃO 3D APLICADA À SAÚDE

A Manufatura Aditiva ou Prototipagem Rápida (Rapid prototyping, RP) ou Fabricação de Formas Tridimensionais Livres (Solid Freeform Fabrication, SFF), popularmente conhecido como impressão 3D, é o processo pelo qual um objeto é criado baseando-se em um modelo digital computadorizado ou computer-aided design (CAD). A medida que a máquina lê os dados do modelo digital, deposita sucessivas camadas de material fundido e cada camada fusionada depositada equivale à uma seção transversal do modelo computadorizado, que ao final do processo forma o objeto sólido (Fink, 2019).

Na área médica, os modelos impressos em 3D incluem produção peças para visualização e planejamento cirúrgico, órteses, próteses e substratos para crescimento de células-tronco para regeneração de ossos, cartilagens, músculos, vasos sanguíneos, entre outros tecidos biológicos. A

principal vantagem dessa modalidade de modelagem é a produção de dispositivos de acordo com a anatomia e/ou condição específica do paciente com personalização do dispositivo, melhor adaptação às particularidades anatômicas do paciente e, no caso de implantes traqueais, trazendo impactos positivos tanto na redução do tempo cirúrgico quanto no sucesso da implantação da prótese por seu elevado grau de customização (Klein *et al.*, 2013; Jacotti *et al.*, 2014; Whitaker, 2014; Chia; Wu, 2015; Lee *et al.*, 2017; Vukicevic *et al.*, 2017).

Entre os diversos materiais amplamente utilizados neste processo de modelagem por impressão 3D está a classe das poliamidas (Borah, 2014). Poliamidas são compostos termoplásticos obtidos a partir da reação de polimerização de um ácido e uma diamina. A depender da variação no comprimento da cadeia polimérica e estrutura química, podem ser produzidos diversos tipos, a mais utilizada é a poliamida 12 (PA12) (Ebewelw, 2000). Várias são as suas aplicações, tanto na área industrial quanto na área médica por ter baixo custo, ser resistente à impactos, estabilidade dimensional, excelente resistência química e ser flexível (Bassani *et al.*, 2002). Na área médica, a poliamida é utilizada há muito tempo como um dos principais polímeros que compõem fios de sutura por provocar pequena ou nenhuma reação tecidual e ter fácil manuseio (Medeiros; Araújo-Filho; Carvalho, 2017).

Considerando as características de evolução dos processos de fabricação de dispositivos que visam melhorar a vida dos pacientes tanto na medicina quanto na medicina veterinária e que, para Rozenfeld *et al.*, (2006), o processo de desenvolvimento de um produto passa necessariamente pelo levantamento das necessidades e desejos dos possíveis consumidores para se traduzir esses dados em especificações do novo produto, a utilização de materiais biocompatíveis modelados por impressão 3D se mostra promissora na resposta a demandas já presentes no dia a dia da medicina veterinária (Gyles, 2019).

3. METODOLOGIA

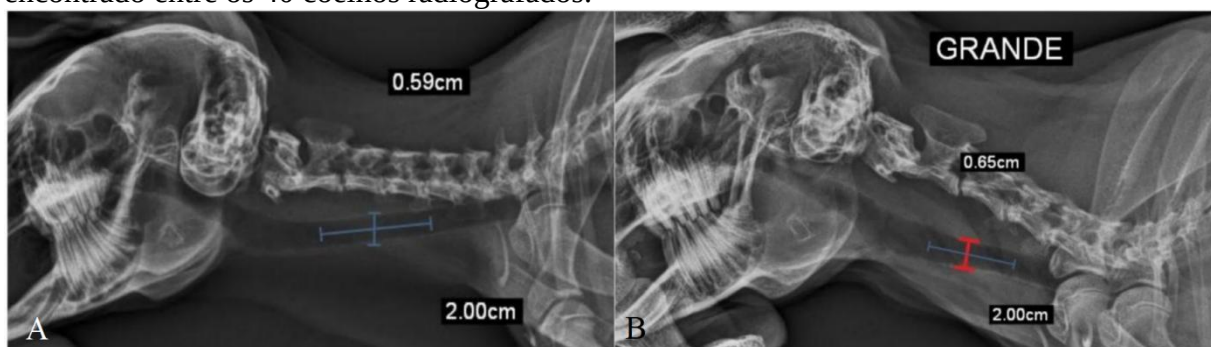
O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Paraná - Setor Palotina sob o Protocolo no 28/2020.

Foram estudados 40 coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) da linhagem Nova Zelândia Branco com pesos entre 3,2 e 3,5kg, fisicamente hígidos, independente de sexo, acondicionados em gaiolas individuais suspensas medindo 50x50x60cm em ambiente climatizado e mantido à temperatura de 24°C, com ciclos de luminosidade em torno de 12 a 14 horas diárias, fornecida água limpa e fresca à vontade e ração padrão comercial específica para espécie (Agramulti - Agrária Nutrição Animal,

Guarapuava - Brasil). Os pacientes permaneceram nessas condições durante 10 dias para adaptação ao ambiente e rotina de manejo antes do início dos procedimentos cirúrgicos.

Para definição do diâmetro e comprimento das próteses foram obtidas imagens radiográficas da região cervical de cada espécime e aferidas as medições do segmento médio da porção cervical dos mesmos por meio de sistema de radiografia computadorizada Fujifilm® (equipamento: FCR Prima T2 V), com medição em software computacional Radiant DICOM®. Houve variação de 0,06cm entre a maior e menor medição obtida nas imagens radiográficas (figura 1).

Figura 1 - Imagens radiográficas evidenciando menor e maior medida de diâmetro traqueal encontrado entre os 40 coelhos radiografados.



Fonte: o autor.

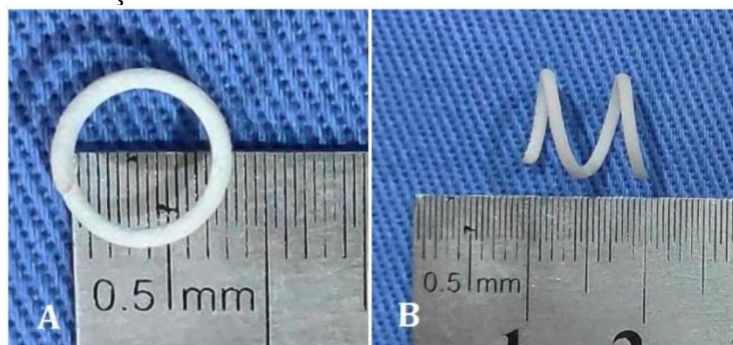
Notas: (A) Menor diâmetro traqueal observado no espécime 21, (0,59cm). (B) Maior diâmetro traqueal observado no espécime 13 (0,65cm).

As próteses impressas em 3D foram obtidas pelo processo de manufatura aditiva por sinterização seletiva a laser (SLS Printer, equipamento: Formiga P110 Velocis, fabricante EOS) em poliamida 12 (PA2200, fabricante EOS) a partir de modelo virtual projetada em software computacional SolidWorks®, com medidas de 0,70cm de diâmetro interno e 1cm de comprimento total e 0,1cm de espessura (figura 2) (Trideo - São Paulo - Brasil). Embaladas em envelope grau cirúrgico e esterilizadas em autoclave no ciclo rápido a 121°C por 15 minutos.

O estudo foi delineado em blocos ao acaso de tempos experimentais de 7, 14, 21 e 30 dias, com 10 pacientes agrupados aleatoriamente em cada grupo, sendo 5 para cada tratamento:

- controle (C) - apenas dissecação e exposição da traqueia;
- tratamento (P) - implante da prótese.

Figura 2 - Imagens das próteses helicoidais de poliamida modeladas em 3D pelo método de sinterização seletiva a laser.



Fonte: o autor.

Notas: (A) Vista superior demonstrando diâmetro interno de 0,70cm.

(B) Vista lateral, comprimento total de 1 cm. Espessura de 0,1 cm.

Os animais não foram submetidos a jejum hídrico ou alimentar pré-anestésico. No dia do procedimento cirúrgico, foram pré-medicados com associação de 15mcg/kg de dexmedetomidina (Dexdomitor - Zoetis, São Paulo - Brasil), 5mg/kg de cetamina (Cetamin - Syntec, Santana de Parnaíba - Brasil), 0,5 mg/kg de morfina (Dimorf - Cristália, Itapira - Brasil) e 0,5 mg/kg de midazolam (Dormire - Cristália, São paulo - Brasil), pela via intramuscular. Após acesso venoso na veia auricular, a anestesia foi induzida com propofol (Propovan - Cristália, Itapira - Brasil) dose-efeito. Seguiu-se intubação orotraqueal e manutenção anestésica com isoflurano (Isoforine - Cristália, Itapira - Brasil) em 100% de oxigênio e ventilação espontânea.

Durante a anestesia, os animais foram monitorados quanto a frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura corporal, eletrocardiografia, capnografia e pressão arterial sistólica, diastólica e média de forma invasiva com cateter posicionado na artéria auricular.

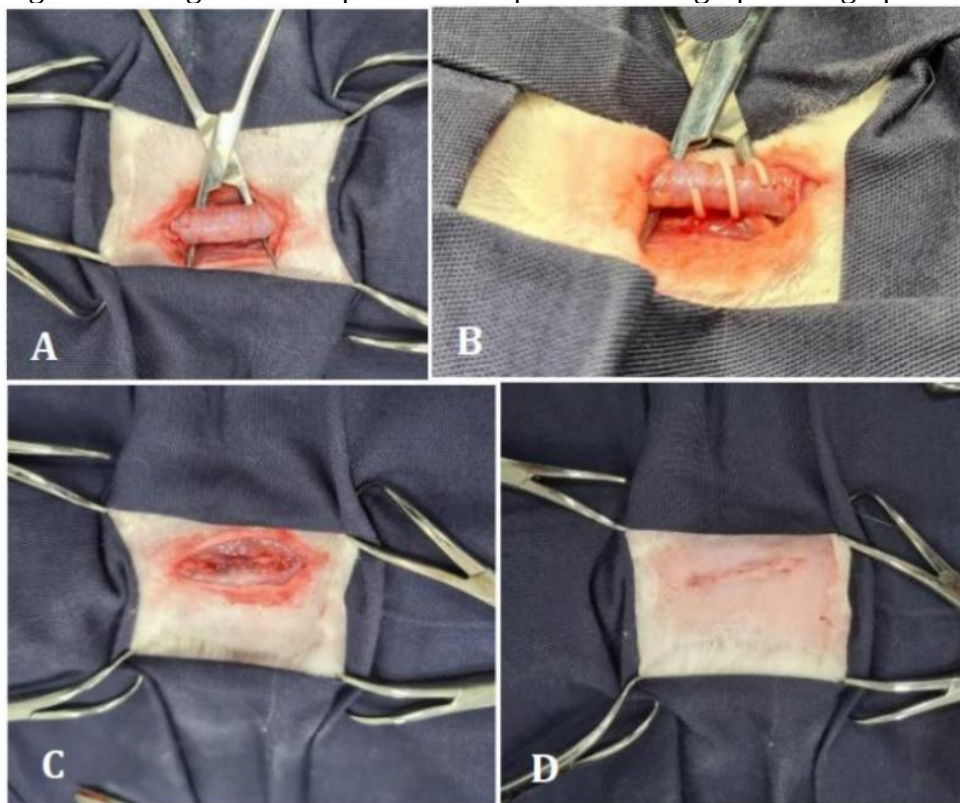
Foi realizada tricotomia ampla da região cervical ventral e preparo do campo operatório para cirurgia asséptica. Em seguida, foi realizada uma incisão na linha média ventral na região cervical, na altura da cartilagem cricoide até o manúbrio.

A dissecação de tecidos adjacentes à traqueia foram necessários para exposição de toda extensão cervical, desde seu início, caudal à cartilagem cricoide, até o manúbrio esternal, tomando-se o cuidado em não lesionar o nervo laríngeo recorrente que foi afastado e protegido para aplicação da prótese. Nos pacientes do grupo Controle a traqueia foi exposta durante dois minutos sem a colocação da prótese. Após dois minutos foram aproximados os músculos esterno-hióideo, esternocéfálico e tecido subcutâneo com fio 4.0 absorvível poligalactina 910 (VicPoint - Point Suture do Brasil, Fortaleza - Brasil) em sutura simples contínua e fechamento de pele em sutura subcuticular contínua com mesmo fio.

No grupo que recebeu o tratamento as próteses foram posicionadas em torno da traqueia na região média cervical em contato íntimo com o órgão evitando seu deslocamento cranial ou caudal,

porém sem comprometer seu suprimento sanguíneo ou nervoso. Após implantação da prótese foram aproximados os músculos esterno-hióideo, esterno-cefálico e tecido subcutâneo com fio 4.0 absorvível poligalactina 910 (VicPoint - Point Suture do Brasil, Fortaleza - Brasil) em sutura simples contínua e fechamento de pele em sutura subcuticular contínua com mesmo fio (figura 3).

Figura 3 - Imagens trans-operatórias de pacientes dos grupos C e grupo P.



Fonte: o autor.

Notas: Exposição traqueal durante dois minutos nos indivíduos do grupo C. (B) Prótese aplicada nos indivíduos do grupo P. (C) Aproximação de músculos afastados cirurgicamente. (D) Aproximação de tecido subcutâneo e pele.

No pós-cirúrgico imediato foi administrado uma dose de antimicrobiano enrofloxacino (Baytril injetável 5% - Bayer animal health, São Paulo - Brasil) 5mg/kg por via subcutânea, terapia analgésica com cloridrato de tramadol (Cronidor - Agener União, São Paulo - Brasil) na dose de 5 mg/kg e duas aplicações de anti-inflamatório não esteroidal meloxicam (Maxicam - Ouro Fino, Cajamar - Brasil) na dose de 0,2 mg/kg com intervalo de 24 horas. Logo após retorno anestésico completo os animais retornaram às suas respectivas gaiolas onde foram monitorados diariamente e observados quanto a qualquer alteração comportamental anormal referente à dor, alterações no padrão respiratório (dispneia, tosse, cianose ou alterações de sons na auscultação pulmonar) e também possíveis alterações na região da ferida cirúrgica como: secreções, edema, enfisema subcutâneo e alterações de coloração.

Os pacientes foram acompanhados por 7, 14, 21 e 30 dias após a cirurgia e submetidos à eutanásia para coleta de amostras de traqueia para posterior comparação histológica conforme demonstrado na figura 4 .

Figura 4 - Cronograma de rotina de tratamento, acompanhamento e coleta de amostras dos grupos experimentais.

Dias Grupos	Cronograma de acompanhamento e coleta de amostras				
	0	7	14	21	30
C7 e P7	Cirurgia	Coleta	-	-	-
C14 e P14	Cirurgia	Rotina	Coleta	-	-
C21 e P21	Cirurgia	Rotina	Rotina	Coleta	-
C30 e P30	Cirurgia	Rotina	Rotina	Rotina	Coleta

Fonte: o autor.

A eutanásia dos animais foi realizada com dexmedetomidina 15 mcg/kg e morfina 0,5 mg/kg por via intramuscular seguida pela administração de propofol dose-resposta até perda de reflexos palpebral e corneal e 10ml de cloreto de potássio 19,1% (Samtec, Ribeirão Preto - Brasil) por via endovenosa para indução à assistolia.

A coleta dos segmentos transversais da traqueia no local onde encontrava-se a prótese ocorreu logo após a eutanásia e foram acondicionadas em frascos contendo formol tamponado à 10% por 10 dias, seguida por desidratação seriada e emblocamento em parafina. Os cortes histológicos de 5 µm foram corados pela técnica de HE.

A análise macroscópica do sítio cirúrgico foi feita por inspeção direta durante todo o período pós-cirúrgico e no momento da eutanásia para coleta dos segmentos traqueais e avaliou-se a presença ou ausência de hematoma, hiperemia, hemorragia e formação de cáseo na pele, nos tecidos subcutâneo e peritraqueal. Os dados referentes a avaliação macroscópica de presença ou ausência de hematoma, hiperemia, hemorragia e formação de cáseo foram analisados de forma descritiva com valores expressos em percentuais.

As lâminas histológicas foram analisadas por avaliador treinado e encoberto, que anotou em planilha própria as características dos tecidos conforme os critérios:

- alterações extraluminais: inflamação, congestão, edema, hemorragia, fibrose e necrose;
- alterações intraluminais: grau de obstrução luminal em análise subjetiva aproximada, edema, hiperemia, hemorragia, metaplasia, hiperplasia e inflamação.

As alterações foram classificadas em: 0 (ausente), 1 (leve), 2 (moderada) e 3 (intensa), de acordo com o grau de acometimento dos tecidos, conforme orientação para descrição de lâminas do American College of Veterinary Pathologists (BARROS, 2020; apud Willians, 2001).

Com o resultado das análises histológicas tabuladas utilizou-se teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para comparação entre múltiplos grupos e, quando houve diferença entre os grupos, foi utilizado teste de Wilcoxon (comparação 2 a 2) para identificar grupos que apresentavam diferenças entre si. Esse tratamento foi aplicado para as variáveis de alterações extraluminais: inflamação, congestão, edema, hemorragia, fibrose e necrose. Alterações intraluminais: grau de obstrução luminal em análise subjetiva aproximada, edema, hiperemia, hemorragia, metaplasia, hiperplasia e inflamação. Todos os grupos tratados foram comparados com seus respectivos grupos controle. Todas as análises foram realizadas sob significância de 5% ($p \leq 0,05$). A análise estatística foi realizada com auxílio de software computacional GraphPad Prism® versão 9.1.2.

4. ANÁLISES E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

4.1 RESULTADOS

Um espécime do grupo C14 apresentou apatia, inapetência, diarreia e veio a óbito no segundo dia do período de adaptação não sendo possível identificar a causa. Seu recinto foi higienizado com detergente enzimático, hipoclorito de sódio a 2,5% e não foi reutilizado. Um paciente do grupo P14 apresentou assistolia e apneia durante indução anestésica e veio a óbito antes do início do procedimento cirúrgico, ao exame necroscópico não foi possível determinar a causa da morte. O protocolo anestésico permitiu procedimento cirúrgico sem outras intercorrências. No pós-cirúrgico imediato e em todo tempo experimental não foi observada qualquer alteração referente à dor e/ou alterações no padrão respiratório (dispneia, tosse, cianose ou alterações de sons na auscultação pulmonar).

Durante a avaliação macroscópica ao decorrer dos tempos experimentais, 2,63% dos 38 pacientes (um coelho do grupo P21) apresentou alterações no sítio cirúrgico, sendo: hematoma, hiperemia e hemorragia. Foi observado deiscência de sutura subcuticular no segundo dia pós-cirúrgico, sem comprometimento da sutura de aproximação dos músculos esterno-hióideo e esternocéfálico. A ferida cicatrizou por segunda intenção. Os resultados da análise microscópica das amostras traqueais foram tabulados em planilha própria e divididas em alterações traqueais (tabela 1).

Tabela 1: Resultado das análises histológicas das lâminas confeccionadas a partir de cortes transversais das seções traqueais que foram expostas cirurgicamente nos pacientes do grupo C e de seções traqueais dos pacientes que receberam a prótese, grupo P.

Grupos	Inflamação	Congestão	Edema	Hemorragia	Fibrose	Necrose
C7 (1)	1	2	0	1	0	0
C7 (2)	3	1	1	2	1	0
C7 (3)	1	2	2	0	0	0
C7 (4)	1	2	1	1	0	0
C7 (5)	0	1	1	0	0	0
C14 (1)	1	0	1	0	0	0
C14 (2)	1	1	1	2	0	0
C14 (3)	0	0	0	0	1	0
C14 (4)	0	0	0	0	0	0
C14 (5)	*	*	*	*	*	*
C21 (1)	0	0	0	0	0	0
C21 (2)	0	0	0	0	0	0
C21 (3)	0	0	0	0	0	0
C21 (4)	0	0	0	0	0	0
C21 (5)	0	0	0	0	1	0
C30 (1)	0	0	0	0	0	0
C30 (2)	0	0	0	0	0	0
C30 (3)	0	0	0	0	0	0
C30 (4)	1	1	0	0	1	0
C30 (5)	0	0	1	0	0	0
P7 (1)	1	1	1	0	3	0
P7 (2)	1	1	0	0	1	0
P7 (3)	2	0	0	0	1	1
P7 (4)	1	1	2	2	2	0
P7 (5)	1	0	2	0	2	0
P14 (1)	1	0	0	0	1	0
P14 (2)	1	1	0	0	1	0
P14 (3)	2	0	0	0	3	0
P14 (4)	1	1	1	1	2	0
P14 (5)	*	*	*	*	*	*
P21 (1)	1	1	1	0	2	0
P21 (2)	1	0	0	0	1	0
P21 (3)	1	0	0	0	1	0
P21 (4)	1	0	1	0	1	0
P21 (5)	3	0	2	0	3	0
P30 (1)	1	0	1	0	1	0
P30 (2)	1	0	1	0	1	0
P30 (3)	1	0	2	0	0	0
P30 (4)	1	0	0	1	0	0
P30 (5)	1	0	0	0	1	0

Fonte: o autor.

Notas: (0) Ausente. (1) Leve. (2) Moderada. (3) Intensa. (*) Óbito do paciente.

Após a tabulação dos dados, procedeu-se análise estatística aplicando-se teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para comparação entre múltiplos grupos. Os valores de p obtidos pelo teste de Kruskal-Wallis dos parâmetros congestão, edema, fibrose, hemorragia, inflamação e necrose entre os grupos C e P para os tempos experimentais de 7, 14, 21 e 30 dias estão expressos na tabela 2.

Tabela 2 - Valores de p obtidos pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para comparação entre múltiplos grupos C e P.

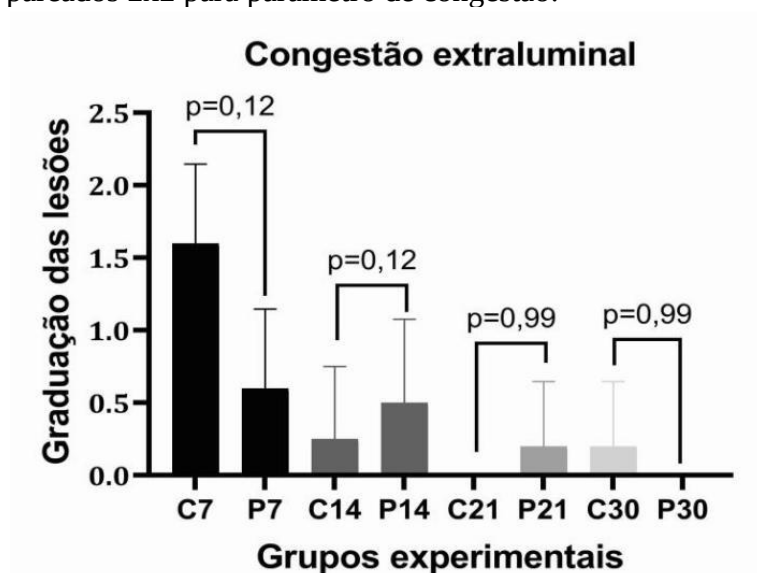
Parâmetros	Valores de <i>p</i>
Congestão	0,0051*
Edema	0,1864
Fibrose	0,0015*
Hemorragia	0,2638
Inflamação	0,0020*
Necrose	0,0594

Fonte: o autor.

Nota: *Estatisticamente significante quando $p \leq 0,05$

Aos grupos que apresentaram diferença no teste de Kruskal-Wallis foram aplicados teste de Wilcoxon (pareados 2x2) que revelou não haver diferença nos parâmetros de congestão, fibrose e inflamação conforme gráficos apresentados nas figuras 5, 6 e 7.

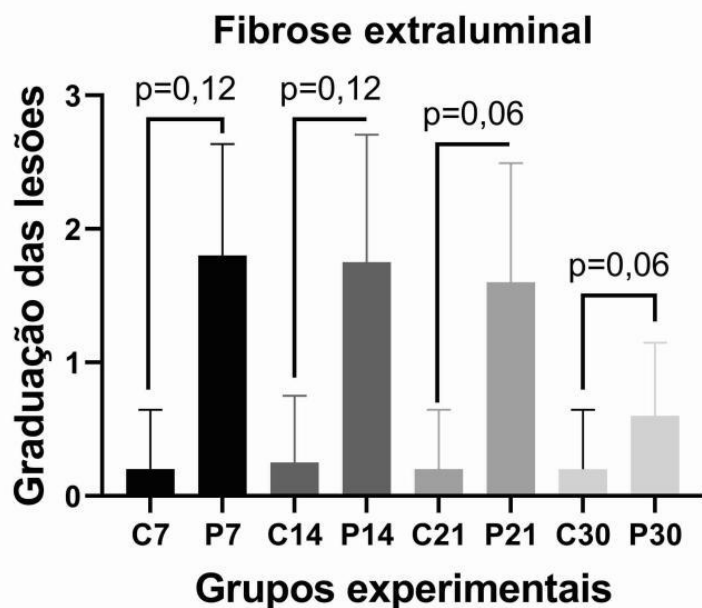
Figura 5 - Gráfico representando média e desvio padrão para cada tratamento nos períodos experimentais de 7, 14, 21 e 30 dias. Valores de p expressos no gráfico obtidos pelo teste de Wilcoxon pareados 2x2 para parâmetro de congestão.



Fone: o autor.

Nota: Significância estatística quando $p \leq 0,05$.

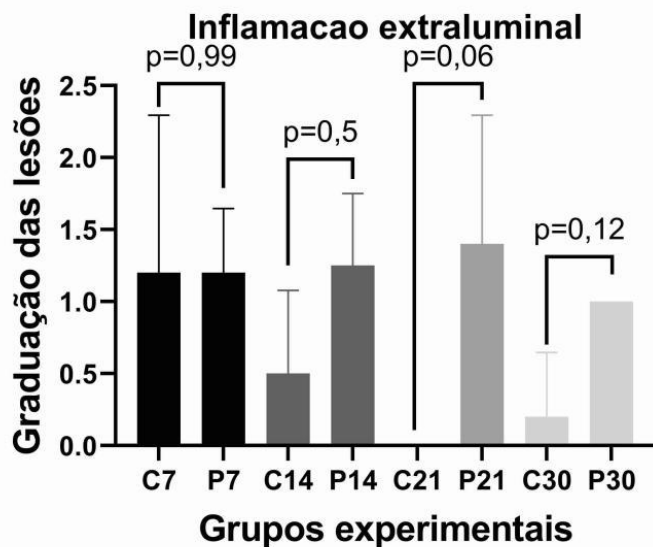
Figura 6 - Gráfico representando média e desvio padrão para cada tratamento nos períodos experimentais de 7, 14, 21 e 30 dias. Valores de p expressos no gráfico obtidos pelo teste de Wilcoxon pareados 2x2 para parâmetro de fibrose.



Fonte: o autor.

Nota: Significância estatística quando $p \leq 0,05$.

Figura 7 - Gráfico representando média e desvio padrão para cada tratamento nos períodos experimentais de 7, 14, 21 e 30 dias. Valores de p expressos no gráfico obtidos pelo teste de Wilcoxon pareados 2x2 para parâmetro de inflamação.



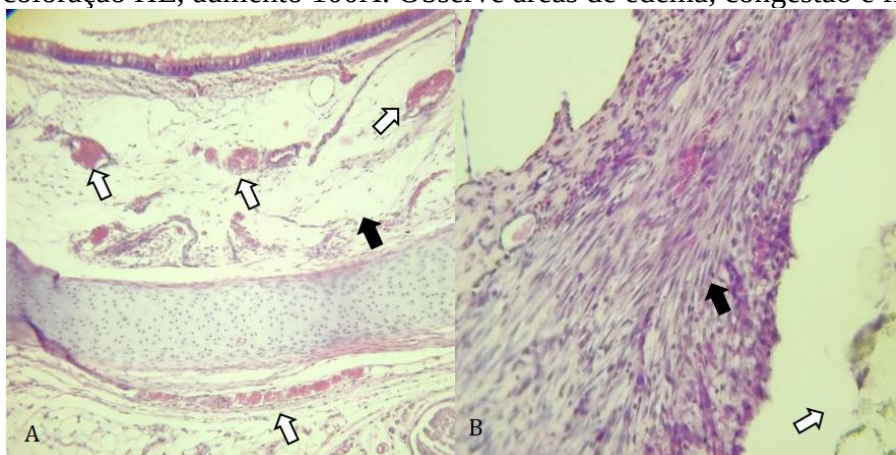
Fonte: o autor.

Nota: Significância estatística quando $p \leq 0,05$.

Foram observadas áreas de congestão e edema leve a moderado em submucosa nos grupos C e P (figura 8).

O infiltrado inflamatório presente foi variado, tanto no grupo controle quanto no grupo tratamento, destacando-se as células polimorfonucleadas. Apenas quatro lâminas analisadas apresentaram infiltrado de grau intenso (grau 3): uma do grupo C7 e uma do grupo P21 (figura 9). Todas as outras lâminas analisadas apresentaram ausência de infiltrado inflamatório, graus leves ou moderados (conforme tabelas 1 e 2).

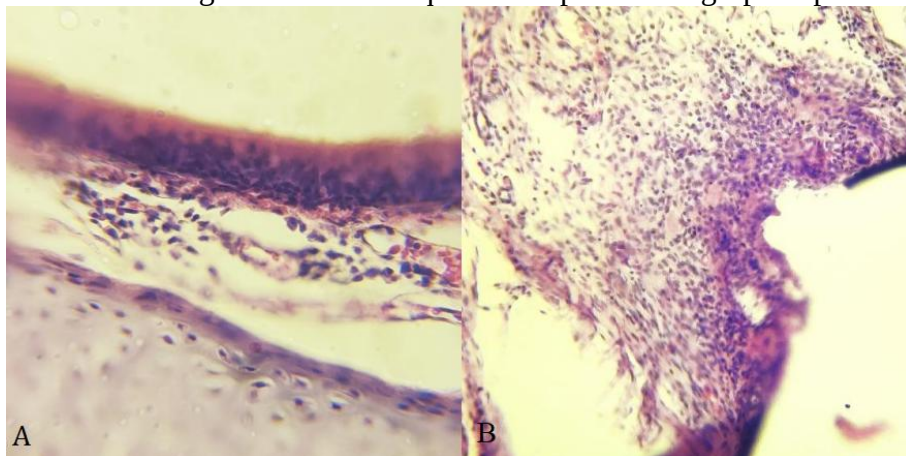
Figura 8 - Lâmina histológica de tecido traqueal de espécime do grupo experimental P7* em coloração HE, aumento 100X. Observe áreas de edema, congestão e fibrose



Fonte: o autor.

Nota: (A) Paciente P7(4), área de edema leve em submucosa (seta preta) e congestão moderada em região de pericôndrio e submucosa (setas brancas). (B) Paciente P7(1), área de fibrose intensa (seta preta) em local de contato com a prótese (seta branca). *P7: paciente acompanhado por sete dias após implantação da prótese.

Figura 9 - A - Lâmina histológica de tecido traqueal de espécime do grupo experimental C7*. B - Lâmina histológica de tecido traqueal de espécime do grupo experimental P21**. Coloração HE*.



Fonte: o autor.

Nota: (A) Área focal de infiltrado inflamatório leve, grupo C7 (aumento de 100X). (B) área de infiltrado inflamatório intenso, paciente P21(5). Aumento de 40X.

*C7: paciente do grupo controle acompanhado por 7 dias.

**Paciente acompanhado por 21 dias após implantação da prótese.

4.2 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

A definição do modelo animal experimental levou em consideração as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA (Brasil, 2013) e os princípios éticos na experimentação animal postulados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal - COBEA, (2013) que consideram o coelho um bom modelo experimental por suas características de fácil manejo, ser uma espécie dócil, fáceis de se obter e aceitar bem as condições de biotério. Nesse experimento optou-se pelo coelho também por ser maior em tamanho que ratos cobaias ou da linhagem wistar, o que facilita o procedimento cirúrgico (Andrade; Pinto; Oliveira, 2002).

Segundo Flecknel (2009) os coelhos não fazem êmese e tem metabolismo acelerado a ponto de não necessitar jejum prévio ao procedimento cirúrgico. Considerando essas características da espécie os animais foram preparados para o procedimento logo após receberem a medicação pré-anestésica evitando assim stresse e manipulação desnecessários.

Quanto à deiscência de sutura do paciente do grupo P21 suspeita-se de tenha ocorrido por infecção bacteriana em qualquer um dos momentos do experimento, Fossum *et al.* (2013) relata que essa é uma das principais causas de deiscência.

Foram observadas alterações leves a moderadas de congestão e edema tanto no grupo C quanto no grupo P (tabela 1) sem diferença estatística entre os mesmos e, como as alterações estão presentes em ambos os grupos experimentais podemos atribuir possivelmente ao trauma da manipulação cirúrgica dos tecidos. Quanto à fibrose, mesmo não apresentando diferença estatística, observou-se uma tendência maior de formação de fibrose nos grupos que receberam a prótese. Resultado semelhante foi encontrado por Silva (2017) em trabalho com próteses traqueais extraluminiais de nitinol. Medeiros; Dantas Filho (2016) atribuem as alterações de congestão e edema à vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular em resposta a injúria tecidual decorrente da dissecação cirúrgica e manipulação tecidual. Embora a fibrose seja produto de uma agressão ao tecido, ela pode se tornar uma vantagem no caso do colapso traqueal pois, quanto mais robusto o tecido peritraqueal maior será a sustentação da forma de tubo da traqueia, essa sustentação mecânica gerada pela fibrose pode auxiliar no alívio do grau de colapso permitindo melhor passagem do ar durante os movimentos de inspiração e expiração, no entanto devido ao tempo experimental total de 30 dias desse trabalho não se pode verificar se a fibrose se perpetuaria a longo prazo.

Em dois pacientes que receberam a prótese foi observado degeneração da cartilagem do anel traqueal no sítio de contato da prótese com a traqueia, um paciente do grupo P7 que apresentou substituição da cartilagem hialina por tecido com características de cartilagem elástica e um paciente

do grupo P30 que apresentou tecido com características intermediárias entre a cartilagem hialina e tecido conjuntivo denso (fibrocartilagem) onde ocorreu a compressão.

Montgomery (2015) em trabalho que comparou radiografia e tomografia computadorizada para obtenção de diâmetro e comprimento de traqueias de cães identificou diferenças nas medições, sendo que as imagens radiográficas subestimavam tais medidas. Desse modo, suspeita-se que esse processo de degeneração observado seja decorrente da compressão mecânica constante exercida pela prótese devido a possibilidade do seu diâmetro ter sido subestimado, pois a definição das dimensões da prótese foram baseadas em projeções radiográficas.

O estudo apresentou algumas limitações, sendo: o período máximo experimental de 30 dias, não possibilitando observar reações teciduais a longo prazo nos animais que receberam prótese e; a condução do estudo com paciente normorreativos, condição que pode afetar a maneira com que o organismo reage ao material do implante já que nos pacientes desse estudo não se esperava haver qualquer desordem traqueal que possa ser exacerbada ou suprimida pela presença da prótese.

Para trabalhos futuros sugere-se utilização de modelos experimentais livres de patógenos específicos, com período experimental maior, estudo de pacientes apresentando colapso traqueal de graus III ou IV e; utilização de métodos mais precisos para definição das dimensões da prótese.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos conclui-se que a prótese traqueal helicoidal extraluminal confeccionada em poliamida por meio da impressão em três dimensões nas características utilizadas nesse trabalho provoca leve a moderada reação tecidual sendo considerada biocompatível.

REFERÊNCIAS

ANDERSON, J. M. Biocompatibility and bioresponse to biomaterials In: ATALA, A. et al. (Ed.) **Principles of regenerative medicine**. 3ed. Elsevier, 2019. cap 39, p. 675-694.

ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. **Animais de laboratório criação e experimentação**. Rio de Janeiro: Editora Fio Cruz, 2002. 388p.

AZEVEDO, L. G. C. et al. Órteses e próteses aplicadas à tecnologia 3D na saúde: uma revisão sistemática. In: GUERRA NETO, C. L. B. et al. **Tecnologia 3D na saúde: uma visão sobre órteses, próteses, tecnologias assistivas e modelagem 3D**. Natal: SEDIS-UFPR, 2018. 95 p.

BARROS, C. S. L. **Orientação para descrição de lâminas**. Adaptado de material apresentado no Descriptive Veterinary Pathology Course no Armed Forces Institute of Pathology (AFIP) por Bruce Williams, Doctor in Veterinary Medicine (DVM), DACVP (diplomado pelo Colégio Americano de

Patologistas Veterinários/American College of Veterinary Pathologists – ACVP), no ano de 2001. Por sua vez, esse material foi modificado por Bruce Williams de um esboço elaborado em 1973 por Garret S. Dill, Jr, DVM, James B. Moe, DVM, PhD, e Ralph Blunte. Disponível em: <<http://abpv.vet.br/wp-content/uploads/2020/07/Orienta%C3%A7%C3%B5es-para-descri%C3%A7%C3%A3o-microsc%C3%B3pica.pdf>> Acesso em 21 jan, 2021.

BASSANI, A.; PESSAN, L. A.; HAGE JUNIOR, E. Propriedades mecânicas de blendas de nylon-6/acrilonitrila-EPDM-estireno (AES) compatibilizadas com copolímero acrílico reativo (MMA-MA). **Polímeros**, São Carlos, v. 12, n. 2, p. 102-108, 2002.

BORAH, S. 3D printer filament length monitor. **International Journal of Science, Technology and Society**, v. 2, n. 5, p. 129-132, 2014.

BRASIL. Resolução Normativa nº 12, de 20 de setembro de 2013. Baixa a Diretriz Brasileira para Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e didáticos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ed. 186, p. 52, 25 set. 2013.

BROWN, S. A.; WILLIAMS, J. E.; SAYLOR, D. K. Endotracheal stent granulation stenosis resolution after colchicine therapy in a dog. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, n. 22, p. 1052–1055, 2008.

CHIA, H. N.; WU, B. M. Recent advances in 3D printing of biomaterials. **Journal of Biological Engineering**. n. 9, 2015. Disponível em : <<https://jbioleng.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13036-015-0001-4>>. Acesso em 18 maio de 2020.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. **Guia Brasileiro de Boas Práticas para a Eutanásia em Animais**: conceitos e procedimentos recomendados. Disponível: <<http://portal.cfmv.gov.br/uploads/files/Guia%20de%20Boas%20Pr%C3%A1ticas%20para%20Eutanasia.pdf>>. Acesso em: 10 nov. 2019.

CULP, W. T. N.; O'DONNELL, M. D. Upper airway disease: tracheal collapse. In: ARONSON, L. R. **Small Animal Surgical Emergencies**, Hoboken: Wiley Blackell, 2016. cap 28, p. 289-296. DEWEESE, M. D.; TOBIAS, K. M. Tracheal collapse in dogs. **Clinician's Brief**. Disponível em: <<https://www.cliniciansbrief.com/article/tracheal-collapse-dogs>> Acesso em: 28 abr. 2019.

DUERIG, T.; PELTON, A.; STOCKEL, D. An overview of nitinol medical applications. **Materials Science and Engineering**, Amsterdã: Elsevier, 1999. p.149-160.

DURANT, A. M.; SUR, P.; ROHRBACH, B.; BOHLING M. W. Use of nitinol stents for end-stage tracheal collapse in dogs. **Veterinary Surgery**, Washington, n. 41, p. 807–817, 2012.

EBEWELE, R. O. **Polymer Science and Technology**, New York: CRC Press LLC, 2000. 483 p.

ETTINGER, S. J.; KANTROWITZ, B.; BRAYLEY, K. Doenças da traqueia. In: ETTINGER, S. J. **Tratado de medicina Interna**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2004. p.1096-1112.

FERIAN, P. E. **Avaliação histológica, histoquímica, morfométrica e radiográfica de traqueias de cães portadores de colapso traqueal**. 2009. 101 f. Tese. (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

- FINK, J. K. Methods of 3D printing in: **3D industrial printing with polymers**. Beverly: Wiley; Sons, Inc. and Scrivener Publishing, 2019. p. 1-60.
- FLECKNELL, P. A. Preparing for anesthesia. In: **Laboratory animal**. Oxford: Elsevier, 2009. p. 1-15.
- FOSSUM, T. W. Cirurgia do sistema respiratório superior. In: FOSSUM, T.W. **Cirurgia de pequenos animais**. 4 ed. São Paulo: Roca, 2013. p. 937 – 943.
- GYLES, C. 3D printing comes to veterinary medicine. **Canadian Veterinary Journal**, n . 60, p. 1033-1034, 2019.
- HAWKINS, E. C.; Colapso da traqueia. **Manual de medicina interna de pequenos animais**, Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. p. 279-80.
- JACOTTI, M.; BARAUSSE, C.; FELICE, P. Posterior atrophic mandible rehabilitation with onlay allograft created with CAD-CAM procedure: a case report. **Implant Dentistry**, n. 23, p. 22-28, 2014.
- JOHNSON, L. R.; POLLARD, R. E. Tracheal collapse and bronchomalacia in dogs: 58 cases. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, n. 24, p. 298–30, 2010.
- KIRBY, B. M.; BJORLING, D. E.; RANKIN, J. H. G., et al. The effects of surgical isolation and application of polypropylene spiral prostheses on tracheal blood flow. **Veterinary Surgery**, n. 20, p. 49 – 54, 1991.
- KLEIN, G. T.; LU Y.; WANG, M. Y. 3D Printing and neurosurgery ready for prime time? **World Neurosurgery**, n. 80, p. 233–235, 2013.
- LEE, H.; KOO, E.; YEO, M.; KIM, S.; KIM, G. GH. Recent cell printing systems for tissue engineering. **International Journal of Bioprinting**, v. 3, n. 1, p. 27-41, 2017.
- MACREADY, D. M.; JOHNSON, L. R.; POLLARD, R. E. Fluoroscopic and radiographic evaluation of tracheal collapse in 62 dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, n. 230, p. 1870–1876, 2007.
- MAGGIORE, A. D. Tracheal and airway collapse in dogs. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, n. 44, p. 117 – 127, 2014.
- MEDEIROS, A. C.; ARAÚJO-FILHO, I.; CARVALHO, M. D. F. Fios de sutura. **Journal of Surgical and Clinical Research**, v. 7, n. 2, p. 74-86, 2017.
- MEDEIROS, A. C.; FILHO, A. M. D. Cicatrização das feridas cirúrgicas. **Journal of Surgical and Clinical Research**. v. 7, n. 2, p. 87-102, 2016.
- MICHELON, M. D. **Estudo para obtenção de fios de NiTi através de metalurgia do pó**. 2. ed. São Paulo: Editora Edgard Blucher Ltda, 2016. 90p.
- MONTGOMERY, J. E. Comparison of Radiography and Computed Tomography for Determining Tracheal Diameter and Length in Dogs. **Veterinary Surgery**. V. 44. p. 114-118. 2015.

MORETTO, E. G.; COTO, N.; LOPES, R.; DIAS, R.; ZUFFO, M. Elaboração de próteses auriculares individualizadas por meio de manufatura auxiliada por computador. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE COMPUTAÇÃO APLICADA À SAÚDE, 16., 2016, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Computação, 2016. p. 1-10.

PADRID, P. A. Laryngoscopy and tracheobronchoscopy of the dog and cat. In: TAMS, T. R.; RAWLINGS, C. A. **Small Animal Endoscopy**, 3 ed. Missouri: Elsevier, 2011. p.339 – 359.

RASKE, M.; WEISSE, C.; BERENT, A. C. et al, Immediate, short, and long-term changes in tracheal stent diameter, length, and positioning after placement in dogs with tracheal collapse syndrome. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. n. 32, p. 782–791, 2018.

ROZENFELD, H. FORCELLINI, F. A.; AMARAL, D. C.; TOLEDO, J. C.; SILVA, S. L.; ALLIPRANDINI, D. H.; SCALICE, R. K. **Gestão de desenvolvimento de produtos: uma referência para a melhoria do processo**, São Paulo: Ed. Saraiva, 2006. 1175 p.

SANTOS-JUNIOR, M. B.; SILVA, S. J. Q.; SCHEFFER, J. P., et al. Innovative prosthesis for tracheal collapse resolution. **Jornal Brasileiro de Ciência Animal**, n. 9, p. 648 – 655, 2016.

SILVA, S. J. Q. **Nova Prótese em Nitinol Extraluminal de Traqueia**. 2017. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes , 2017.

SUEMATSU, M. et al. Long-term outcomes of 54 dogs with tracheal collapse treated with a continuous extraluminal tracheal prosthesis. **Veterinary Surgery**, n. 48, p. 825-834. 2019.

TACK, P.; VICTOR, J.; GEMMEL, P.; ANNEMANS, L. 3D-printing techniques in a medical setting: a systematic literature review. **Biomedical Engineering Online**. v. 15, n.1, out. 2016.

TAPPIN, S. W. Canine tracheal collapse. **Journal of Small Animal Practice**. n. 57 v. 1, p. 9-17, 2016.

TINGA, S.; MANKIN, K. M. T.; PEYCKE, L. E. Comparison of outcome after use of extra-luminal rings and intra-luminal stents for treatment of tracheal collapse in dogs. **Veterinary Surgery**, n. 44, p. 858 – 865, 2015.

VUKICEVIC, M.; MOSADEGH, B.; MIN. J. K.; LITTLE, S. H. Cardiac 3D printing and its future directions. **Journal of the American College of Cardiology: Cardiovascular Imaging**, v. 10, n. 2, p. 171-184, 2017.

WHITAKER, M. The history of 3D printing in healthcare, **Annals of The Royal College of Surgeons of England Bulletin**, v. 96, p. 228-229, 2014.

YOON, H. Y.; CHOI, J. W.; KIM, J. H. et al. Use of a double-wire woven uncovered nitinol stent for the treatment of refractory tracheal collapse in a dog: a case report. **Veterinarni Medicina**, n. 62, p. 98–104, 2017.