

ENXERTO DE TÚNICA ALBUGÍNEA BOVINA, CONSERVADA EM MEL, COMO  
REFORÇO DE PAREDE ABDOMINAL EM CÃES

**CARLOS MAGNO ANSELMO MARIANO**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE  
DARCY RIBEIRO - UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ  
2010

ENXERTO DE TÚNICA ALBUGÍNEA BOVINA, CONSERVADA EM MEL,  
COMO REFORÇO DE PAREDE ABDOMINAL EM CÃES

**CARLOS MAGNO ANSELMO MARIANO**

**Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal, na área de Sanidade Animal, subárea Patologia Cirúrgica.**

**Orientador: Prof. Edmundo Jorge Abílio**

**Co-orientador: Prof. Eulógio Carlos Queiróz de Carvalho**

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ

2010

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do **CCTA / UENF** 066/2010

Mariano, Carlos Magno Anselmo

Enxerto de túnica albugínea bovina, conservada em mel, como reforço de parede abdominal em cães / Carlos Magno Anselmo Mariano. – 2010.

48 f. : il.

Orientador: Edmundo Jorge Abílio

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2010.

Bibliografia: f. 39 – 48.

1. Cão 2. Túnica albugínea bovina 3. Mel 4. Xenoenxerto I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD – 636.7089

**CARLOS MAGNO ANSELMO MARIANO**

**ENXERTO DE TÚNICA ALBUGÍNEA BOVINA, CONSERVADA EM MEL, COMO  
REFORÇO DE PAREDE ABDOMINAL EM CÃES**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal na Área de Concentração em Sanidade Animal.

Aprovada em 22 de março de 2010

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Lio Moreira (Doutora, Ciência Animal) - UFES

---

Prof. Eulógio Carlos Queiroz de Carvalho (Doutor, Patologia) - UENF

---

Prof. José Frederico Straggiotti Silva (Doutor, Medicina Veterinária) - UENF

---

Prof. Prof. Edmundo Jorge Abílio (Doutor, Ciências) – UENF (Orientador)

**À minha família e aos amigos, em especial à  
minha Mãe, que me ensinou a amar e a ser  
incondicional;**

**Ao Edmundo, Mestre não só no seio  
universitário, mas em todo âmbito da vida.**

**Dedico**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado a vocação e permitido alcançar esse objetivo;

Ao meu orientador Professor Doutor Edmundo Jorge Abílio pela oportunidade, apoio irrestrito, confiança, orientação, ensinamentos, dedicação e amizade;

À Doutora Lio Moreira pela amizade, companheirismo, cumplicidade e orientação que se estende desde a monografia até a confecção desta dissertação;

Ao Professor Doutor Eulógio Carlos Queiróz de Carvalho, pela colaboração, atenção e carinho nos estudos anatomopatológicos desenvolvidos no experimento, e pelo exemplo de mestre;

À Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) e ao curso de Pós-Graduação em Ciência Animal pela disponibilização de espaço e equipamentos necessários para a realização deste trabalho;

Aos amigos Diogo Benchimol, Paulo Sérgio de Andrade, Letícia Leal, João Melo, Márcia Cruz e Gabriela Coelho pelo companheirismo e apoio constante na implementação deste trabalho;

A todos do Hospital Veterinário da UENF, em especial à amiga Marília Cipriano que se fez presente com toda a paciência, seriedade, cumplicidade, caráter e profissionalismo marcante;

A Jovana Campos, pelo excelente trabalho realizado frente à Coordenação de Pós-Graduação em Ciência Animal da UENF;

A todos os professores do Laboratório de Sanidade Animal da UENF pelas contribuições e ensinamentos;

Ao Centro de Controle de Zoonoses de Campos dos Goytacazes, pela cessão dos animais para a realização do experimento;

À equipe do Setor de Anatomia Patológica da UENF pela grande ajuda e solicitude;

Aos técnicos do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da UENF Josias Alves Machado e Orlando Augusto de Melo Junior pelo apoio laboratorial prestado;

E a todos que, direta ou indiretamente, participaram deste trabalho.

*Quanto mais alguém se aproxima da perfeição,  
menos a exige no outro.*

## RESUMO

Foram trabalhados doze cães adultos, sem raça definida, fêmeas e pesando de 15 a 20 kg. No grupo controle (30, 60 e 90 dias, sem xenoenxerto) foi realizado celiotomia longitudinal mediana retroumbilical de cinco centímetros, seguida de laparorráfia utilizando padrão de sutura interrompida em X, em plano único com fio Poliglactina 910 (Vicryl®, n° 2.0). Nos grupos 30, 60 e 90 dias (com implante) realizava-se o mesmo procedimento, empregando-se o mesmo padrão de sutura e fio, e posteriormente, aplicava-se a túnica albugínea bovina, conservada em mel em temperatura ambiente, sobre a sutura da parede abdominal como reforço da sutura. Esta era ancorada através de uma sutura contínua em guarda-grega com fio Poliglactina 910 (Vicryl®) n° 2.0. Em todos os grupos, era realizada a sutura da pele com pontos separados em “U”. As feridas cirúrgicas foram avaliadas macroscopicamente no período pós-operatório e microscopicamente, nos períodos propostos, utilizando-se um escore que levou em consideração o seu aspecto, grau de inflamação, fibrose, absorção e viabilidade do enxerto. Aparentemente não houve diferença entre os grupos controle; 30, 60 e 90 dias (com implante), quanto ao aspecto da ferida cirúrgica. A evolução das lesões, quando analisadas histologicamente, mostrou que inicialmente, houve uma inflamação aguda, seguida de proliferação fibroblástica. Esse processo foi auxiliado e orientado pelo enxerto. No que respeita à viabilidade do enxerto, este se apresentou viável em toda a experimentação. Observou-se que a túnica albugínea bovina orientou a deposição de tecido conjuntivo que começou a organizar-se na periferia desta membrana, servindo este de arcabouço para o desenvolvimento de um novo tecido. A xenoenxertia de túnica albugínea mostrou-se um biomaterial de fácil obtenção e utilização, sendo excelente substrato no reparo de parede abdominal em cães, quando conservada em mel.

Palavras-chave: cães, túnica albugínea bovina, mel, xenoenxerto.



## ABSTRACT

Twelve adult female mongrel dogs weighting between 15 and 20 Kg were studied. In control group (30, 60 and 90 days, without xenograft) a five cm median ceoliotomy was performed, followed by ceoliorraphy with interrupted “X” sutures with Poligalactin 910 (Vicryl®, n° 2.0). In groups of 30, 60 and 90 days (with graft) the same procedure was done, employing the same suture technique and then the bovine tunica albuginea was inserted, kept in honey at room temperature, over the abdominal wall suture as a suture strength. This was anchored with a continuous “U” suture with Poligalactin 910 (Vicryl®) n° 2.0. For all groups skin was suture with interrupted “U” suture. Surgical wounds were grossly evaluated postoperatively and microscopically at proposed periods, using a score system that considered aspect, inflammation score, fibrosis, absorption and graft viability. There were no difference between control groups; 30, 60 and 90 days (with graft), about surgical wound aspect. The evolution of lesions, when analysed histologically showed that initially there was acute inflammation followed by conjunctive proliferation. This process clearly guided by the graft. The graft presented viability during all the experimental period. It was observed that the bovine tunica albuginea stimulated conjunctive tissue deposition wich started to organize in the periferic region of this membrane, acting as a scaffold for a new tissue development. The xenograft of bovine tunica albuginea showed to be an easy acquisition biomaterial, with excellent substrate on abdominal wall healing in dogs.

**Key-Words:** Dogs, Bovine tunica albuginea, honey, xenograft

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	08
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	11
2.1. Anatomofisiologia do abdome .....	11
2.2. Hérnias.....	14
2.2.1. Hérnia incisionais .....	15
2.3. Tratamento.....	15
2.3.1. Uso das Próteses Sintéticas e Biológicas.....	16
2.4. Meios de preservação .....	18
2.4.1. Glicerina .....	19
2.4.2. Mel.....	20
2.5. Cicatrização de feridas.....	22
2.5.1. Fase de inflamação .....	23
2.5.2. Fase fibroblástica.....	24
2.5.3. Fase de remodelagem .....	26
<b>3. MATERIAIS E MÉTODO</b> .....	27
3.1. Colheita e preparo das túnicas albugíneas bovinas .....	27
3.2. Animais.....	27
3.3. Procedimento cirúrgico.....	27
3.4. Pós-operatório.....	28
3.5. Laparotomia para obtenção de amostra para biópsia.....	28
3.6. Histopatologia .....	29
3.7. Análise de dados .....	29
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	31
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	37
<b>PRANCHA I</b> .....	38
<b>PRANCHA II</b> .....	39
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	40

## 1. INTRODUÇÃO

A laparotomia mediana é a abordagem mais freqüente em ato cirúrgico, utilizada para operações gastrointestinais, assim como em outras especialidades cirúrgicas, como na angiologia, na ginecologia e na urologia. Em alguns casos, é realizada em caráter de urgência, e dependendo do tipo de intervenção, limpa ou contaminada, podem ocorrer complicações consideráveis, como por exemplo, deiscência aguda, acompanhadas por eventração ou evisceração, onde apresenta índice em torno de 16% , como nos casos de laparotomias medianas em humanos, e 18% em animais de grande porte. Dependendo da abordagem cirúrgica, de certos fatores predisponentes e da idade do paciente, podem exibir taxas de mortalidade variando entre 9% e 44% (BELLÓN *et al.*, 2005; BELLÓN-CARNEIRO, 2005; RAISER, 1999).

As hérnias abdominais são as causas mais freqüentes de defeito da parede abdominal (BELLÓN-CARNEIRO, 2005). As más oclusões cirúrgicas são causas importantes no estabelecimento de hérnias ou na geração de ruptura incisional e eventração, trazendo conseqüências extremamente sérias para os pacientes (PITREZ *et al.*, 1998).

Estudos nessa área vêm sendo contínuos na busca de materiais e técnicas que consigam reduzir o número de deiscência. Até o momento, acredita-se que uma forma interessante de prevenção dessas complicações, seria a aplicação de biomateriais como suporte das suturas convencionais, apesar de que alguns estudos estarem associados à recorrência de defeitos, devido às características do material e à tensão gerada na ferida cirúrgica (BELLÓN *et al.*, 2005; BELLÓN-CARNEIRO, 2005; RAISER, 1999).

Alguns biomateriais vêm sendo utilizados em reparos ou reforços de tecidos traumatizados ou desvitalizados da parede abdominal, como nos casos de enxertos em laparorráfias e das telas cirúrgicas nas herniorrafias abdominais (SMEAK, 1998).

As telas cirúrgicas apresentam algumas desvantagens, como pouca elasticidade, pois não acompanha o crescimento do indivíduo receptor, além de promover uma grande reação inflamatória quando usada em locais contaminados, e irritação de tecidos e órgãos adjacentes (SMEAK, 1998).

As membranas biológicas apresentam baixa antigenicidade (por serem constituídas quase que exclusivamente por colágeno), alta disponibilidade, baixo custo, preparo simples, esterilização viável, facilidade de estocagem e utilização, e mínima reação histológica e tecidual. Estas características favorecem sua escolha, quando comparadas com outros biomateriais (ALVARENGA, 1992).

O uso da túnica albugínea como um biomaterial, é facilitado por ser de fácil obtenção, processamento e utilização (WEFER *et al*, 2002; NUNES, 2007; OLIVEIRA, 2008), servindo como alicerce para a regeneração de tecidos (WEFER, 2002; OLIVEIRA, 2008). O enxerto de túnica albugínea autóloga utilizado como reforço da parede abdominal em cães, serviu como excelente substrato e promoveu a precocidade da cicatrização (NUNES, 2007).

Na busca de um meio de conservação alternativo que apresentasse características desidratantes, anti-sépticas e anti-imunogênicas semelhantes ou superiores à glicerina (hoje o meio mais utilizado na preservação de membranas biológicas), trabalhos foram desenvolvidos testando o mel não processado (ABRAMOV e MARKICHEVA 1983; SUBRAHMANYAN 1993; AMENDOLA *et al.*, 2000; AMENDOLA, 2001).

O objetivo deste experimento foi avaliar o comportamento morfológico e funcional da túnica albugínea bovina conservada em mel de abelha, como xenoenxerto no auxílio de reparos de parede abdominal.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Anatomofisiologia do abdome

O abdome é a porção do tronco situada caudalmente ao diafragma. Contém a maior das cavidades corpóreas, contínua em um plano que passa pelo promontório sacral e a borda púbica, com a cavidade pélvica mais caudal e muito menor. A cavidade abdominal possui geralmente o formato de um cone com a base cranial globosa. Seu eixo longitudinal inclina-se em sentido cranioventral, em um ângulo que varia dependendo da profundidade do tórax (DYCE, 2004). De acordo com MATERA (1948), o abdome animal imaginariamente é dividido em duas cavidades, abdominal e pélvica, é amplo e engloba as vísceras que constituem quase em sua totalidade, aparelho digestivo e geniturinário.

A cavidade abdominal do cão é dividida por planos e linhas imaginárias, delimitando regiões e sub-regiões. Anteriormente está a região epigástrica, medialmente (hemiabdome) a região mesogástrica e posteriormente a região hipogástrica (MATERA, 1948).

A parede abdominal consiste, ventralmente, nos músculos retos do abdômen e nas aponeuroses de três músculos; oblíquo interno, oblíquo externo e transverso. Superpostos em três camadas, são por necessidade, expansivos e relativamente finos (MATERA, 1948; SISSON e GROSSMAN, 1986; KONIG e LIEBICH, 2002; DYCE, 2004). A cavidade dorsalmente é formada pelos corpos das sete vértebras lombares e discos intervertebrais e pelos pilares do diafragma; lateralmente, pelos músculos psoas maior e ilieopsoas, formando o teto do abdome (MATERA, 1948; SISSON e GROSSMAN, 1986; DYCE, 2004).

Mais superficial, o músculo oblíquo externo do abdome, origina-se das superfícies laterais das costelas e da fáscia lombar com suas fibras (forma de leque) em sentido cranioventral e mais horizontal nas partes posteriores ao seu trajeto. A inserção se dá por uma aponeurose que se divide em duas partes (tendões) antes de inserir na borda lateral e caudal do músculo reto. A porção caudal é bastante espessada e se insere do íliaco até o púbis sendo chamado de ligamento inguinal (MATERA, 1948; SISSON e GROSSMAN, 1986; KONIG e LIEBICH, 2002; DYCE, 2004).

O segundo músculo, o oblíquo interno do abdome, se situa profundamente no músculo externo, possuindo as fibras em direção caudoventral cruzando com as fibras

do oblíquo externo formando um ângulo reto. Espalha-se em forma de leque. A porção cranial é robusta e insere-se ao longo do arco costal sobrepondo-se ao músculo reto caudalmente. O restante insere-se a uma aponeurose estreita no sentido caudal do músculo. (MATERA, 1948; SISSON e GROSSMAN, 1986; KONIG e LIEBICH, 2002; DYCE, 2004).

O músculo transverso, o mais profundo da parede lateral, origina-se ao longo do lado medial do arco costal e dos processos transversos das vértebras lombares. Suas fibras passam transversalmente e são sucedidas por uma aponeurose que passa dorsalmente ao reto do abdome unindo-se à linha alba. (MATERA, 1948; SISSON e GROSSMAN, 1986; KONIG e LIEBICH, 2002; DYCE, 2004).

O quarto músculo, o reto do abdome está situado de forma longitudinal entre as bainhas aponeuróticas externa e interna. É chato, longo, moderadamente largo principalmente em região medial. É observado característica muscular dupla, simétrica separadas apenas pela linha alba. Surge das superfícies ventrais das cartilagens ventrais costais externas, inserindo na borda púbica. (MATERA, 1948; SISSON e GROSSMAN, 1986; KONIG e LIEBICH, 2002; DYCE, 2004).

As aponeuroses dos músculos abdominais, em conjunto, de ambos os lados do corpo, formam a linha alba, uma união fibrosa na linha média ventral, que se estende da cartilagem xifóide até o tendão pré-púbico (BELLENGER, 1998; St. CLAIR, 1986).

É fundamental o entendimento do arranjo das aponeuroses dos músculos abdominais, juntamente com o músculo reto do abdômen e com a linha alba, para que seja obtida a oclusão firme na linha média e nas incisões paramedianas (BELLENGER, 1998).

Histologicamente, a linha alba é derivada do mesmo “pool” de células embrionárias mesenquimais das fibras musculares, apresentando como característica diferencial, uma grande quantidade de colágeno tipo I, além de fibroblastos residentes e capilares. A diferença entre a normalidade e um processo cicatricial que ocorra nessas estruturas é difícil determinar, uma vez que basicamente a mudança do tipo de colágeno que se desenvolve no processo cicatricial é do tipo III, enquanto o residente é do tipo I, dificultando assim a observação de alterações macroscópicas visíveis (HULLAND, 1992).

A parede do abdome é perfurada na região da virilha por uma passagem denominada anel inguinal. É uma abertura oval na aponeurose do músculo oblíquo externo, distando cranial ao púbis e medial à borda lateral do músculo reto. Este anel é

responsável por conduzir o testículo ao escroto antes ou após o nascimento. Em ambos os sexos o anel dá passagem a artéria, veia, vasos pudendo e nervos genitofemural (SISSON e GROSSMAN, 1986; KONIG e LIEBICH, 2002; DYCE, 2004).

A cicatriz umbilical é uma seqüela do desenvolvimento pós-natal. No momento do nascimento, o orifício umbilical é ocupado pela inserção do cordão, que se cicatriza rapidamente. Passa a ser um importante ponto de referência para os cirurgiões, dividindo a parede umbilical em dois segmentos; pré e retro-umbilical (MATERA, 1948).

O peritônio é a primeira estrutura encontrada após uma incisão completa da parede abdominal. Uma delicada serosa contendo pequena quantidade de líquido seroso, sendo constantemente renovado, facilitando o deslizamento das diferentes vísceras que reveste. Uma vez irritado, o peritônio reage não necessariamente no local da lesão, podendo levar à formação de aderências (MATERA, 1948; DYCE, 2004).

A cavidade abdominal está constantemente submetida à grande variação de pressões, que são responsáveis pelos fenômenos de respiração e de expulsão do conteúdo, tanto abdominal (na defecação, micção, parto e vômito) como de conteúdo da árvore respiratória, quando há estímulo da tosse. O esforço realizado varia com a espécie e as condições. (DYCE, 2004).

Excetuando-se pela passagem pélvica, a cavidade abdominal é um espaço fechado por estruturas resistentes à pressão: ossos, músculos e fâscias. Sua função principal é manter em conforto os órgãos contidos em seu interior. Ao permanecer em repouso estacional, os animais fazem pouco uso ativo da musculatura na sustentação das vísceras, onde tal sustentação é feita por tensão passiva. (MATERA, 1948; DYCE, 2004).

A rigidez do abdome produzida por contração pode ser empregada para proteção das vísceras. Cães em estresse contraem o abdome dificultando a tentativa para palpar seu abdome. A dor visceral pode provocar essa contração de modo espontâneo, generalizado ou local, evitando o possível deslizamento dos órgãos um contra o outro (DYCE, 2004).

A constituição especial, elástica, da parede abdominal faz com que esta seja submetida a uma força tangencial, que depende não só da pressão do abdômen, como também da forma e tamanho do mesmo. Isso é de grande importância no mecanismo gerador de deiscências ou hérnias, onde deficiências naturais ou criadas por



intervenções cirúrgicas fazem com que a parede abdominal não resista ao aumento da tensão, terminando por romper-se (READ, 2006).

A pressão abdominal alterada pelo esforço torna-se um fator importante nas eviscerações e hérnias. Atividades como tosse e o vômito também geram um aumento de pressão aumentando o risco de rupturas. Alterações na pressão aplicada pelos órgãos (por exemplo, hipertrofia prostática com hérnia perineal), tendência de alguns órgãos em se deslocar da sua posição normal e acúmulo de fluidos no interior do órgão são alguns fatores que predisõem os animais à herniação (HUNT, 2007).

Com a evolução da prenhez, o útero sofre extraordinárias modificações no tamanho, na estrutura e na posição. Inicialmente na cavidade pélvica, cresce em sentido cranioventral, deslocando as vísceras para o dorso e lados. Com este deslocamento, o reto fica em posição dorsal, isolado na pelve. O útero cresce na cavidade abdominal acomodando na parede ventral, a musculatura estira-se e a pressão abdominal aumenta até acomodar as necessidades do concepto em crescimento (HAFEZ, 2004). Possivelmente a expansão uterina poderia forçar o conteúdo abdominal através de um defeito existente no diafragma ou extensão de uma ruptura do diafragma durante um evento traumático (FREEMAN, 2005).

## **2.2. Hérnias**

Algumas regiões da parede do abdome apresentam uma constituição mais fraca (MATERA, 1948). Podendo as hérnias de parede abdominal ser desenvolvidas na cicatriz umbilical, linha alba, região inguinal e outros pontos de fraqueza muscular como na região lombar, no períneo e em cicatrizes de cirurgias anteriores (SCHWARTZ, 1987).

O canal inguinal, caracterizado por uma abertura oval na aponeurose do músculo oblíquo externo (SISSON e GROSSMAN, 1986), torna-se um ponto potencialmente predisposto à formação de hérnia. O enfraquecimento e separação dos músculos e fáscias que formam o diafragma pélvico resultam na hérnia perineal. O anel umbilical não involuído, predispõe a passagem de estruturas anatômicas da cavidade abdominal envolvidas pelo peritônio formando as hérnias umbilicais (KRAUS, 1996).

Causada por traumas bruscos, a maior parte das hérnias traumáticas envolve as regiões; inguinal ou pré-púbica e diafragmática (READ, 2006). O local e o tamanho da

ruptura dependerão da posição do animal no momento do impacto e da localização das vísceras (FOSSUM, 2005).

Após uma laparotomia, a celiorrafia deve promover aproximação das bordas livre de tensão com suporte muscular dinâmico (GIROTTO *et al.*, 2003), evitando falhas promotoras das hérnias incisionais ocorridas dentro dos primeiros sete dias após o fechamento da cavidade (RAISER, 1999).

### 2.2.1. Hérnia incisional

Segundo Lima (2002), mesmo obtendo sucesso na intervenção cirúrgica, a hérnia incisional é um problema eventualmente detectado, contribuído pela inadequação ou contaminação da sutura do plano anatômico que sustenta a integridade da parede abdominal. Fatores que provocam tensão sobre a linha de sutura, e outros como: tosse, vômito, obstipação intestinal, obesidade, gestação, distensão abdominal podem causar ruptura ou afastamento das bordas da ferida operatória. Silva (2006) e Bernard *et al.*, (2007), citaram que fatores locais (supuração, hematoma, edema e seroma) podem interferir no processo de cicatrização e tornar a incisão mais susceptível às forças de tensão.

A protrusão dos órgãos abdominais, através da deiscência, é mais comum em hérnias incisionais agudas. O sinal mais comum de deiscência é a descarga serossangüínea pela ferida cirúrgica, e em 50% dos casos a etiologia é a infecção. Complicações cirúrgicas são observadas em 40% dos cavalos submetidos a incisões abdominais, com drenagem incisional em 32 a 36%, deiscência em 3 a 5%, e formação de hérnia em 6 a 17% (TAYLOR e Mc GHEE, 1995) .

A hérnia incisional é comum a partir do quinto dia após a cirurgia, além da técnica operatória deficiente, o comprometimento da vascularização local, o uso inadequado de fios e de nós que desatam, o tipo de sutura e presença de infecção contribuem para essa afecção. Na celiorrafia, a sutura dos músculos retos deve ser restrita às suas lâminas interna e externa, sendo utilizado o fio de monofilamento inabsorvível ou absorvível de longa duração (RAISER, 1999).

## 2.3. TRATAMENTO

Independente da hérnia, o tratamento consiste de duas indicações básicas: redução do conteúdo herniário e reconstituição do defeito da parede abdominal (STAINKI, 2006). Segundo Smeak (1996), o tratamento cirúrgico das hérnias abdominais exige não somente a observação dos princípios cirúrgicos de oclusão do defeito sem tensão e incorporação de tecido, mas também corrigir as causas fisiopatológicas associadas à herniação do órgão, caso contrário, levará à recidiva ou óbito.

A cicatrização dos tecidos envolvidos na reconstrução da parede abdominal depende fundamentalmente da adequada aproximação das bordas da ferida operatória. A coaptação destas bordas depende em primeira instância do uso adequado do material de sutura, que deve suportar a tensão na linha de sutura até a formação de tecido cicatricial com quantidade adequada de tecido fibroso que possa dar suporte por si à ferida operatória (FAGUNDES, 1995).

Muitas vezes não é possível realizar a correção de defeitos na parede abdominal com pontos simples, em virtude tanto da escassez de tecidos quanto da alta tensão na linha de sutura, o que propicia a ocorrência de elevados índices de hérnias incisionais. Em tais casos, torna-se necessário o uso de próteses conhecidas como telas (LAMONT e ELLIS, 1988 apud RAMOS, 2002).

### 2.3.1. Uso das Próteses Sintéticas e Biológicas

O uso de malhas sintéticas para alcançar o reparo da “livre-tensão” tem resultado em significativa redução na dor pós-operatória, na duração do período de recuperação e no número de recidivas. Entretanto, as propriedades físicas dos implantes sintéticos podem causar conseqüências indesejáveis, como aumento do risco de infecção, formação de seroma, obstrução intestinal associada ao biomaterial, formação de fístula e falha do reparo desejado de contração da malha (AMID, 1997).

Ansaloni *et al.*, (2005), relataram que estes materiais não absorvíveis são extremamente biocompatíveis, embora quando implantados estimulem uma reação de corpo estranho dentro do hospedeiro. Inicialmente com uma reação inflamatória, intensa deposição de tecido fibrótico inespecífico e conclui com um permanente encapsulamento do material sintético no tecido hospedeiro. Estas bases fisiopatológicas explicam o sucesso da prótese de materiais sintéticos não absorvíveis em cirurgia de

hérnia, também sendo razões para complicações relativamente raras, que podem incluir infecção e dor crônica.

Ramos (2002) comparou a biocompatibilidade da tela de polipropileno e da submucosa intestinal de suíno (SIS) na correção de defeitos criados na parede abdominal de cães. Avaliações clínicas diárias foram realizadas durante 60 dias. Os índices de infecção, hematocisto, deiscência, incorporação do implante e formação de aderências foram semelhantes entre os materiais utilizados. A histologia e tensiometria foram realizadas a partir de um corpo de prova obtido da parede abdominal dos cães. Os resultados obtidos fizeram o autor concluir que a SIS e a tela de polipropileno são biocompatíveis na correção dos defeitos criados.

As membranas biológicas consistem em implantes de natureza orgânica, livre, inertes, e que têm como principal característica, uma constituição quase que exclusivamente de colágeno e por isso apresentam baixa toxicidade, causando poucos efeitos adversos, quando comparados com os implantes sintéticos (ALVARENGA, 1992).

O emprego de membranas biológicas deve-se, principalmente, à facilidade em sua obtenção, ao baixo custo, preparo simples, esterilização viável, pouca ou nenhuma reação tecidual e na fácil estocagem (ALVARENGA, 1992).

Para a coleta e preparo de membranas biológicas, deve-se remover resquícios de sangue e tecidos indesejáveis. Depois, são colocadas em frascos de vidro de boca larga, esterilizados e recobertas com solução esterilizante, datados e identificados, estocadas em temperatura ambiente por no mínimo 30 dias, período considerado satisfatório para serem utilizadas. Algumas dessas soluções são a glicerina 98%, álcool absoluto, vaselina, glutaraldeído, solução supersaturada de açúcar a 300% e polivinilpirrolidona a 5%, devendo a membrana permanecer embebida (ALVARENGA, 1992; DALECK *et al.*, 1992; COSTA NETO *et al.*, 1999).

Eventuais alterações de características do líquido conservante fazem com que o material seja descartado. Antes de serem utilizadas, as membranas são removidas do meio de conservação, lavadas em solução fisiológica e mantidas submersas nesta por período de cerca de 20 a 30 minutos. De modo geral, as membranas reidratadas tornam-se mais maleáveis e de fácil manipulação (ALVARENGA, 1992).

Várias membranas biológicas têm sido pesquisadas com o objetivo de reparar alterações anatômicas ou adquiridas na parede abdominal, fornecendo um arcabouço para o desenvolvimento de um novo tecido e restabelecendo as estruturas afetadas.

(WANTZ, 1991; ALVARENGA, 1992; QUITZAN, 2003; GRECA *et al.*, 2004; GUIMARÃES *et al.*, 2007).

Algumas complicações surgem sempre que houver falha técnica, especialmente pela diminuição da resistência por laceração das fibras quando a sutura é feita sob tensão exagerada, e necrose por exposição inadvertida da ferida operatória (ALVARENGA, 1992).

A túnica albugínea (espessa cápsula de tecido conjuntivo, que envolve o testículo, rico em fibras colágenas, conferindo-lhe boa resistência), tem seu uso facilitado por ser de fácil obtenção, processamento e utilização (NUNES, 2007 e WEFER *et al.*, 2002), servindo como alicerce para a regeneração de tecidos (WEFER *et al.*, 2002). O enxerto de túnica albugínea autóloga utilizado como reforço da parede abdominal em cães, serviu como excelente substrato e promoveu a precocidade da cicatrização (NUNES, 2007).

WEFER *et al.*, (2002) usaram o enxerto homólogo de túnica albugínea em coelhos como um biomaterial capaz de prover suporte para a regeneração peniana. Os autores relatam que, o enxerto apresenta-se mais espesso que a túnica albugínea vizinha, especialmente no grupo de um mês, não mostrando nenhuma diferença em relação ao número de células e conteúdo de colágeno entre a túnica dos animais controle e a dos enxertados. Os autores discutem a provável migração de fibrócitos do anfitrião que substituíriam as fibras elásticas perdidas e concluem que o enxerto de matriz acelular homólogo é um biomaterial de fácil processamento e controle durante a cirurgia, provê um suporte para a regeneração natural e parece ser satisfatório para enxertar defeitos de túnica albugínea. Além disso, o enxerto de túnica albugínea acelular serve como um bom modelo para avaliar auto-regeneração de órgãos.

#### **2.4. Meios de Preservação**

Durante muitos séculos, a procura por métodos para conservação de materiais biológicos vem sendo constante, seja pelo crescente uso dos transplantes homólogos e heterólogos em cirurgia restauradora, seja pelas suas vantagens sobre os demais materiais (LEITE *et al.*, 1979).

Vários estudos têm sido realizados a fim de se obter um meio ideal para preservação de tecidos biológicos, meio este que seja de fácil obtenção, transporte e sem custos elevados, facilitando o emprego cirúrgico das membranas biológicas em qualquer

situação. A solução preservadora deve possuir um alto poder estabilizador impedindo a total decomposição dos tecidos e o crescimento de microorganismos, manter ao máximo a integridade celular, aumentar a resistência à tração dos tecidos e atuar por um período de tempo prolongado (MOTA *et al.*, 2002).

Antes de se implantar uma membrana conservada em soluções desidratantes, é necessário realizar a sua hidratação, bem como remover o excesso desta substância (ALVARENGA, 1992; BRUN *et al.*, 2004).

#### 2.4.1. Glicerina

A glicerina a 98% é o meio mais utilizado na conservação de tecidos, destinados às cirurgias reconstrutivas, por apresentar propriedades anti-sépticas, rápida ação desidratante e fixadora, mantendo a integridade celular e a textura original dos tecidos (ALVARENGA, 1992).

Sendo empregada na conservação da dura máter, peritônio bovino, peritônio de cão, pericárdio de equino, traquéia de cão, cápsula renal de coelho, tendão calcâneo de cão, membrana do cordão umbilical de bovino, túnica vaginal, artéria carótida, ossos, ligamento nugal de bovino, músculo diafragma de cão, bexiga urinária de cão, e a túnica muscular do intestino delgado de cão (WANTZ, 1991; ALVARENGA, 1992; QUITZAN, 2003; GRECA *et al.*, 2004; GUIMARÃES *et al.*, 2007).

As membranas biológicas conservadas em glicerina à temperatura ambiente são muito utilizadas por ser facilmente manuseadas, ter baixo custo e bons resultados (PIGOSSI, 1967; ALVARENGA, 1992 e VICENTI *et al.*, 2002). Quando utilizadas dessa forma devem ficar por um período mínimo de 30 dias, antes do procedimento cirúrgico (RABELO *et al.*, 2004 e MAZZANTI *et al.*, 2004). O tempo mínimo de conservação do biomaterial na glicerina garante a atenuação imunogênica assim como o seu efeito antimicrobiano (MAZZANTI *et al.*, 2004).

A histologia revelou que o peritônio bovino em glicerina por 60 dias praticamente não sofre alterações. Somente as fibras musculares apresentavam-se mais acidófilas, retraídas e com núcleos condensados, achado compatíveis com a ação desidratante da glicerina (DALECK *et al.*, 1988).

Esta ação propicia seu poder antisséptico e ocorre por causa da sua acentuada hidrofília. Havendo assim uma ligação co-valente com as moléculas de hidrogênio presentes na água, ou seja, uma ligação eletrostática entre os átomos. Acredita-se que a

glicerina tenha contato com a água das células quando ela penetra nessas através dos poros existentes nas suas membranas, isto ocorreria porque as moléculas da glicerina têm tamanho muito pequeno (PIGOSSI, 1967 e PIGOSSI *et al.*, 1971).

Sabe-se que temperaturas altas destroem a maioria dos vírus e que as baixas podem exaltar sua virulência, mas, por outro lado os vírus não resistem à temperatura ambiente por períodos prolongados e variáveis. Sendo assim, como a conservação de tecidos pela glicerina é feita em temperatura ambiente e este biomaterial é conservado por longos períodos, este método pode evitar a transmissão de doenças com etiologia viral em material inadvertidamente contaminado (PIGOSSI, 1967 e PIGOSSI *et al.*, 1971).

#### 2.4.1. Mel

Na busca de um meio de conservação alternativo que apresentasse características desidratantes, anti-sépticas e anti-imunogênicas semelhantes ou superiores à glicerina, trabalhos foram desenvolvidos testando o mel não processado (AMENDOLA *et al.*, 2000; AMENDOLA, 2001).

O mel tem sido utilizado desde a antiguidade como substância capaz de conservar tecidos. Indígenas do Ceilão, após cortarem a carne dos animais e a impregnarem com mel, colocavam-nas em buracos de árvores à cerca de um metro do solo e esse alimento mantinha-se apto para o consumo por período de até um ano (IOIRISH, 1981; citado por AMENDOLA *et al.*, 2003).

GREENWOOD (1993), comentou que o mel teve uso no tratamento de enfermidades de seres vivos desde 2000ac., como relatam evidências encontradas no Egito. Nessa época já se sabia dos benefícios desse substrato em relação ao processo de reparação de feridas, promovendo a absorção de edema, limpeza de contaminação, promoção de crescimento de tecido e diminuição da produção de odores desagradáveis.

Alguns tecidos têm sido conservados em mel para posterior implantação em seres vivos. SUBRAHMANYAN (1993) utilizou o mel como conservante de pele para implante em humanos, acometidos por queimaduras e úlceras. Os implantes foram acondicionados em frascos com mel e mantidos à temperatura de 4°C e os resultados obtidos ao final do estudo foram satisfatórios, ainda que três pacientes necessitassem de nova internação para que houvesse adesão da pele implantada.

ABRAMOV e MARKICHEVA (1983) analisaram os resultados da ceratoplastia lamelar usando córnea conservada em solução contendo 100% de mel. A intervenção com propósitos curativos foi realizada em 43 humanos acometidos de queimaduras oculares, úlceras corneanas e ceratites. Os resultados obtidos foram satisfatórios, sendo que na maioria dos casos a córnea tornou-se transparente. Os autores recomendaram esse material para o uso em pacientes clínicos.

Segmentos ósseos conservados em mel apresentaram um aspecto físico variável, diferindo aparentemente apenas de sua coloração em relação ao momento em que foram coletados, pois se tornaram amarelados e era possível perceber a impregnação de conservante em todos os pequenos poros. A rigidez óssea foi mantida, pois não foram observadas fissuras longitudinais nem rachaduras durante o ato de serrar, nos diferentes períodos de conservação, ao contrário do que acontece com outros meios de conservação (AMENDOLA *et al.*, 2003).

Amendola *et al.*, (2003) verificaram a presença de bacilos na análise microbiológica do mel utilizado em seu trabalho, apesar de não haver acontecido nenhum sinal de infecção durante o decorrer do trabalho.

Embora o mel seja utilizado no tratamento de enfermidades em seres vivos desde 2000 a.C., como mostram evidências encontradas no Egito (GREENWOOD, 1993), e ter como principal indicação medicinal e tratamento de feridas (POSTMES *et al.*, 1993), a sua escolha como meio para a preservação da túnica albugínea bovina, além de ser uma opção tão eficaz quanto a glicerina a 98%, foi baseada principalmente nos resultados satisfatórios obtidos em pesquisas nas quais foi utilizado para a conservação de tecidos de pele (GUPTA, 1977; SUBRAHMANNAN, 1993), córnea (ABRAMOV e MARKICHEVA, 1983) e ossos (MSCHVIDOBADSE, 1978; AMENDOLA, 2001).

POSTMES *et al.*, (1993) comentaram que as propriedades antibactericidas do mel, assim como do açúcar, são derivadas da produção de um grande nível de osmolaridade local, dificultando a proliferação microbiana. Entretanto, no caso do mel, a atividade antimicrobiana pode ser atribuída também a um composto conhecido como peróxido de hidrogênio, produto final de uma reação enzimática entre a glicose oxidase da abelha com a glicose encontrada diluída no mel.

GREENWOOD (1993) relatou que méis oriundos de diferentes floradas possuem maior ou menor grau de ação sobre germes, além de atuar de forma seletiva em alguns casos, não destruindo um agente que o de outra flora destruiria. POSTMES *et*



*al.*, (1993) comentaram ainda que é muito importante o tipo de florada em que o mel foi obtido, sendo que menor importância tem o grau de diluição desse material. Em um estudo utilizando o método de diluição em Agar e tendo como agentes *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, consideraram que o produto originário de floradas de limeira demonstrou maior e mais ampla atividade bactericida quando comparados aqueles originários de floradas de outras árvores frutíferas e acácia. Não houve crescimento de nenhum dos microorganismos anteriormente citados quando foi utilizado o mel obtido de limeira.

O fato de um determinado tipo de mel possuir maior poder antimicrobiano, quando comparado ao de outra florada, é explicado por IOIRISH (1981) e GREENWOOD (1993), que comentaram que essas flores possuem diferentes substâncias antimicrobianas e conforme o tipo de mel a ser produzido pelas abelhas também apresentarão diferentes graus de atividade germicida.

POSTMES *et al.*, (1993) comentaram que muitas vezes são encontrados bacilos não patogênicos em diferentes tipos de méis. Os mesmos autores comentaram ainda que o mel utilizado para propósitos de conservação de tecidos deve ser obtido através de colméias livres de pesticidas e antibióticos, como a tetraciclina, pois podem apresentar resíduos. Ainda, a adição de 5% de sangue ovino ao mel apresentou completa inibição da atividade antimicrobiana, comprovado por exames laboratoriais. Esse fato que ressalta a importância da realização de uma boa toaleta de membranas biológicas antes de sua conservação neste meio.

## **2.5. Cicatrização de feridas**

Os tecidos lesionados curam-se por regeneração, reparo, ou a combinação destas duas modalidades. A regeneração tecidual é a reposição do tecido lesionado ou perdido com tecido que é estrutural e funcionalmente similar. O reparo tecidual é a formação do tecido cicatricial não funcional. Os animais das ordens superiores possuem capacidades regenerativas limitadas; portanto, a proliferação epitelial e fibroblástica substitui a regeneração (BRASILEIRO FILHO *et al.*, 1994).

A cura de uma ferida é uma cascata complexa de eventos bioquímicos e celulares em resposta à lesão tecidual. Para que um ferimento seja curado com êxito, esses eventos devem ser instituídos em uma seqüência apropriada, e o resultado final

(geralmente uma cicatriz de tecido conjuntivo) representa o somatório coletivo de todos esses eventos (PROBST, 1998).

O processo de cicatrização das feridas pode ser organizado didaticamente em: 1) Fase de inflamação, 2) Fase fibroblástica e 3) Maturação e Remodelagem. Estes eventos ocorrem de maneira ordenada, sendo parcialmente superpostos, dependendo de fatores intrínsecos e extrínsecos para acontecer (PROBST, 1998).

#### 2.5.1. Fase de inflamação

Em uma lesão tecidual (seja por um insulto térmico, químico, traumático, ou biológico), na maioria dos casos, ocorre uma solução de continuidade da integridade vascular da área lesionada, levando a respostas vasculares, celulares e químicas que limitam a perda de sangue e iniciam o reparo (COTRAN *et al.*, 2000).

Com isso ocorre a hemostasia da ferida com proteção física, já que o coágulo funciona como um selante da incisão, evitando desidratação e infecção da ferida (FOWLER, 1993).

A resposta imediata é a vasoconstrição no local lesionado. A lesão tecidual resulta na exposição dos constituintes do sangue ao colágeno e aos fatores teciduais, iniciando as vias da coagulação (FOWLER, 1993).

As plaquetas se agregam e liberam seus grânulos, os elementos teciduais tromboplásticos são liberados, iniciando-se o processo de coagulação e ativação do complemento. Os mecanismos da coagulação transformam a protrombina em trombina, que converte o fibrinogênio em fibrina, sendo sucessivamente polimerizada transformando-se em coágulo estável. O coágulo sanguíneo formado na ferida interrompe o sangramento e adere entre si às bordas da ferida, caso não haja defeitos teciduais. Além da sua contribuição pra a coagulação sanguínea, as plaquetas ativadas liberam fatores quimiotáticos e de crescimento, que estimulam a migração celular até a ferida, e auxiliam no reparo (COTRAN *et al.*, 2000)

Após, ocorre uma dilatação secundária dos pequenos vasos locais por ação das cininas, componentes do complemento e das prostaglandinas. Os leucócitos são atraídos até a ferida por várias substâncias. Visto que os neutrófilos e monócitos se deslocam até a ferida nas mesmas proporções com que se encontram na circulação geral, os neutrófilos inicialmente predominam. Cerca de 24 horas após a incisão, as margens da

ferida estão intumescidas por exsudato fluido e apresentam infiltrado neutrofílico (FOWLER, 1993). Sua principal função é a eliminação de bactérias que contaminam a ferida. Na ausência de bactérias, a inflamação neutrofílica se resolve mais rapidamente, deixando os monócitos como o principal tipo celular (FOWLER, 1993; COTRAN *et al.*, 2000).

Após penetrarem na ferida, os monócitos se tornam macrófagos, ou coalescem e formam células gigantes multinucleadas, que fagocitam bactérias, tecido necrosado e corpos estranhos. Os macrófagos também liberam uma série de substâncias biologicamente ativas, como os mediadores vasoativos, fatores de crescimento, agentes quimiotáticos e enzimas. Os fatores de crescimento são proteínas que ativam e atraem fibroblastos para iniciar suas funções de reparação. Portanto, o macrófago desempenha papel central na transição entre a inflamação e a fase fibroblástica (FOWLER, 1993; COTRAN *et al.*, 2000).

A vasodilatação local, o extravasamento de líquido para o espaço extravascular e a oclusão dos vasos linfáticos são responsáveis pelos sinais clássicos da inflamação: rubor, tumor (tumefação), e calor. A pressão, e talvez a estimulação química, produz o quarto sinal – a dor. A duração e a intensidade do processo inflamatório dependem da gravidade do traumatismo (PROBST, 1998).

### 2.5.2. Fase fibroblástica

Os processos de reparo têm início quase imediatamente após a ocorrência do ferimento à medida que coágulos sanguíneos e outros restos teciduais vão sendo removidos (estágio inflamatório). Neste estágio é formado o tecido de granulação, com o intuito de preencher o espaço da lesão e servir de base para diversos eventos importantes que resultarão na formação da cicatriz (ANDRADE, 1995).

Os macrófagos, agora em grande maioria, liberam fatores de crescimento e quimiotáticos, que induzem as células-tronco mesenquimais, basicamente associadas à adventícia dos vasos sanguíneos, a se diferenciar em fibroblastos, que em seguida migrarão para a ferida. As células endoteliais também respondem a estes estímulos, formando brotos de capilares. Os macrófagos, fibroblastos e capilares se deslocam para a ferida como unidade, empregando filamentos de fibronectina e fibrina como suporte (orientação por contato). Os capilares em brotamento liberam o ativador de plasminogênio, que dissolve os filamentos de fibrina à medida que vão sendo

produzidos o colágeno e a matriz extracelular pelos fibroblastos. A velocidade de produção do colágeno aumenta rapidamente, até a altura do 14º dia. Por volta de três semanas, a produção do colágeno fica estabilizada (FOWLER, 1993).

Os fibroblastos são seguidos de perto por novos capilares que têm função importante na formação do tecido de granulação. As células endoteliais proliferam por ação de agentes quimiotáticos e mitogênicos conhecidos como fatores angiogênicos. O endotélio dos capilares adjacentes emite filopódios que digerem a membrana basal e se alongam no espaço intersticial, formando prolongamentos que, após divisão celular, se destacam como uma nova célula endotelial. Esta célula sofre novas mitoses, formando brotos em direção ao coágulo que sela a ferida (RISAU, 1997). As pontas dos vasos em proliferação exibem extremidades dilatadas cujo lúmen é repleto de eritrócitos, plaquetas e poucos leucócitos. Os novos capilares são extremamente permeáveis, sangram facilmente e proliferam gradualmente em áreas limpas pelos macrófagos, juntando-se uns aos outros pra formar alças capilares. Dentro de poucos dias eles se desenvolvem em arteríolas, capilares verdadeiros ou vênulas, dependendo da pressão intravascular e do fluxo sanguíneo (COTRAN *et al.*, 2000).

À medida que os fibroblastos chegam e se difundem na ferida digerem o ácido hialurônico da MEC. Ao mesmo tempo, depositam colágeno em uma base de fibronectina e glicosaminoglicanos, de maneira desorganizada. A princípio, são dispostas radialmente em um único plano, mas outras camadas de fibras aparecem subsequente, de forma irregular, em ângulos retos com as primeiras. A disposição dessas fibras também parece ser influenciada pelas linhas de tensão da ferida. Os colágenos tipo I e III são os principais colágenos fibrilares comprometidos na MEC e podem ser vistos na ferida a partir do quinto dia, atingindo sua concentração máxima na terceira semana após o trauma (FOWLER, 1993). O colágeno tipo III é predominante nas feridas, e à medida que o ferimento se remodela o colágeno tipo I é depositado em quantidades crescentes, chegando a ser então o predominante. Ao mesmo tempo, começa a haver redução da síntese de glicosaminoglicanos, especialmente do ácido hialurônico. As células fagocitárias vão desaparecendo e o tecido de granulação passa a ser constituído por um tecido conjuntivo progressivamente mais denso e menos vascularizado, situado logo abaixo da epiderme já cicatrizada (ANDERSON e SCOTTI, 1980; BRASILEIRO FILHO *et al.*, 1994).

O tecido de granulação formado, tendo este nome pelo aspecto de grânulos da sua superfície, é caracterizado pelo aspecto avermelhado, sendo consequência da

divisão e migração das células reparativas formando um novo e rico leito capilar (angiogênese) (FERGUSON e LEIGH, 1998). Além disso, contém leucócitos e matriz extracelular (MEC) formada por fibras colágenas finas, ácido hialurônico e moderada quantidade de proteoglicanos (BRASILEIRO FILHO *et al.*, 1994).

### 2.5.3. Fase de remodelagem

Nesta fase, a densidade celular e a vascularização da ferida diminuem, ocorrendo ainda, remodelação do tecido cicatricial formado anteriormente. Alguns dos fatores de crescimento modulam a síntese e a ativação das metaloproteinases, enzimas produzidas pelos fibroblastos, cuja ação consiste em degradar componentes da MEC (COTRAN *et al.*, 2000). Ocorre reorganização e alinhamento das fibras aumentando a resistência do tecido e diminuindo a espessura da cicatriz, reduzindo deformidade (FERGUSON e LEIGH, 1998). Duas semanas após o trauma, a resistência da cicatriz corresponde a cerca de 10 a 20% da resistência da região lesada, aumentando progressivamente até atingir cerca de 80% da resistência original. Esse aumento se dá pela remodelação das fibras de colágeno, especialmente pelo aumento da quantidade das do tipo I e das ligações transversais entre as suas moléculas (BRASILEIRO FILHO *et al.*, 1994).

### **3. MATERIAL E MÉTODO**

#### **3.1. Colheita e preparo das túnicas albugíneas bovinas**

As túnicas albugíneas foram colhidas de bovinos saudáveis, mestiços, pesando em média 120 kg, criados no Colégio Estadual Agrícola Antônio Sarlo, situado na cidade de Campos dos Goytacazes no Estado do Rio de Janeiro.

Após orquiectomia, através de acesso escrotal, os testículos hígidos passaram por uma toaleta, segundo ALVARENGA (1992). Em seguida, as túnicas albugíneas, já destacadas, foram rigorosamente lavadas em solução fisiológica e transferidas para recipientes estéreis, contendo mel, onde foram mantidas por período de dois anos e seis meses antes de serem utilizadas como xenoinxerto.

Realizou-se uma avaliação histológica, da túnica albugínea conservada em mel, antes de sua utilização no referido experimento. Antes de sua implantação, foi lavada e imersa em solução fisiológica por quinze minutos.

#### **3.2. Animais**

Doze cães mestiços, fêmeas, com idade estimada entre um e dois anos, com peso variando entre 15 a 25 kg, provenientes do Centro de Controle de Zoonose (CCZ) da cidade de Campos dos Goytacazes no Estado do Rio de Janeiro. Os animais foram tratados segundo as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA, 2000).

Os animais foram submetidos a exame clínico e laboratoriais para constatação da higidez, permanecendo, alojados em canis (3mX3m), em condições de temperatura e de luminosidade naturais. Alimentados, duas vezes ao dia, com ração comercial (Bill Dog Power, Campinas, Brasil) e água potável *ad libitum* antes e após os procedimentos cirúrgicos.

#### **3.3. Procedimento cirúrgico**

Os animais foram avaliados clínica e laboratorialmente no pré-operatório. Após constatação do estado de saúde dos animais, estes passaram por um período de jejum alimentar de 12 horas e hídrico de 2 horas.

Como medicação pré-anestésica os animais receberam 0,05 mg/kg de acepromazina por via intramuscular (IM). Sob tranquilização, foi instituído o acesso venoso e a tricotomia da região ventral e lateral do abdome. A indução anestésica foi feita com propofol, na dose de 5 mg/kg via intravenosa (IV) e a manutenção anestésica com isofurano em circuito semifechado.

A equipe cirúrgica composta por cirurgião, auxiliar, instrumentador, enfermeiro e anestesista, permaneceu durante todos os procedimentos cirúrgicos.

Os animais foram posicionados em decúbito dorsal sendo realizada a anti-sepsia da região operatória com polivinilpirrolidona – iodo ativo 10%. Os cães foram divididos, aleatoriamente, em quatro grupos, contendo três animais cada grupo. No grupo I (controle) era realizado celiotomia longitudinal mediana retroumbilical (Prancha I, foto A), seguida de laparorráfia utilizando padrão de sutura interrompida em X (Prancha I, foto B), em plano único com fio Poliglactina 910 (Vicryl®, n° 2.0). No grupo II, grupo III e grupo IV, era realizada a celiotomia longitudinal mediana retroumbilical de cinco centímetros, seguida de laparorráfia empregando-se o mesmo padrão de sutura e fio. Posteriormente, aplicou-se a túnica albugínea (5cm) sobre a sutura da parede abdominal, como reforço da sutura. Esta era fixada por quatro pontos de reparo à parede, seguida da sutura contínua em guarda-grega (prancha I, fotos C e D) com fio Poliglactina 910 (Vicryl®) n° 2.0). Em todos os grupos, era realizada a sutura da pele com pontos separados em “U” (Prancha 1, fotos E e F).

Após a colocação do enxerto nos grupo II, III e IV, estes permaneceram com o implante por 30, 60 e 90 dias, respectivamente

### **3.4. Pós-operatório**

As feridas cirúrgicas foram avaliadas e graduadas durante todo o período pós-operatório quanto ao aspecto (deiscência de sutura, infecção e formação de seroma) em: satisfatório (ferida sem secreções e infecção ou sinais de deiscência) e Insatisfatório (ferida com secreções e infecção ou sinais de deiscência).

### **3.5. Laparotomia para obtenção de amostra para biópsia**

Após o período pós-operatório indicado para cada grupo, foi realizada uma nova laparotomia, onde se retirou a túnica albugínea e uma porção da parede abdominal próxima a esta. Em cada data estabelecida de coleta dos grupos testes, também foi coletado material de um animal do grupo controle.

### 3.6. Histopatologia

As amostras retiradas eram fixadas em formalina neutra tamponada a 10% e enviadas para o Setor de Morfologia e Anatomia Patológica da UENF e mantidas por um período mínimo de 48 horas para fixação plena.

Após a fixação, as peças eram clivadas (com atenção para o enxerto, os limites da ferida e a área de sutura) e desidratadas em soluções aquosas alcoólicas, de concentrações crescentes, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina histológica. Cortes teciduais de 5  $\mu$ m eram retirados em micrótomo semi-automático (*Leica – RM 2145 Digital*) em lâminas histológicas, que posteriormente eram coradas pela hematoxilina e eosina.

As seções teciduais eram avaliadas por microscopia óptica de luz branca e polarizadas (Olympus BX41, MI, USA).

### 3.7. Análise dos dados

Na avaliação microscópica foi utilizado um escore adaptado de Nunes (2007). Selecionaram-se os campos mais representativos com objetiva de 10x e em seguida com a de 40x, examinaram-se 3 campos, aplicando os seguintes escores:

**Grau de inflamação:** Segundo Nunes (2007), a reação inflamatória aguda é caracterizada por predominância de polimorfonucleares e a crônica por mononucleares.

= Zero (0) – considerado ausência de reação inflamatória devido a poucas células inflamatórias, com número inferior a 10 polimorfonucleares e mononucleares por campo.

= Um (1) – considerado reação inflamatória aguda leve caracterizada por predominância de polimorfonucleares com 10 a 50 células por campo, com raros mononucleares, inferior a 10 células por campo.



= Dois (2) – considerada reação inflamatória aguda acentuada com predominância de polimorfonucleares, com número superior a 50 células por campo e com raros mononucleares, inferiores a 10 células por campo.

= Três (3) – reação inflamatória crônica com predominância de mononucleares com número superior a 50 células por campo associada a polimorfonucleares.

= Quatro (4) – reação inflamatória crônica com predominância de mononucleares, superior a 50 células por campo.

**Granulação:** observou-se a presença de fibroblastos, neovascularização, síntese e deposição de colágeno para determinar o grau de fibrose na linha de sutura, tendo em vista o processo de cicatrização.

= Um (1) – Granulação em 1º estágio, ocorrência de tecido de granulação caracterizado por fibroblastos jovens e neovascularização.

= Dois (2) – Início de fibrose com granulação incipiente, representada pela presença de fibroblastos, não havendo sinais de deposição de colágeno.

= Três (3) – Fibrose densa com presença de raros fibroblastos e intensa deposição de colágeno, ou seja, cicatrização.

**Processo de absorção do enxerto:** verificando-se sinais de dissolução do enxerto.

Zero (0) – Considerado como ausência de processo de absorção, não havendo com isso sinais de dissolução do enxerto.

Um (1) – Início do processo de absorção, apresentando início da dissolução do enxerto.

Dois (2) – Absorção propriamente dita caracterizada por sinais intensos de hidrólise e dissolução.

Três (3) – Processo final de absorção com dissolução total do enxerto em meio ao processo de hidrólise.

**Viabilidade do enxerto:** Observou-se a ocorrência de fibroblastos, neovascularização, síntese e deposição de colágeno, considerando-se pelo menos duas características abaixo descritas:

I) Satisfatório: presença de fibroblastos ativos, com boa vascularização e maior síntese e deposição de colágeno;

II) Insatisfatório: presença de fibroblastos inativos, com vascularização comprometida e menor síntese e deposição de colágeno.

#### 4. RESULTADO E DISCUSSÃO

O mel utilizado neste trabalho foi analisado microbiologicamente e não apresentou microorganismos, e o mesmo foi encontrado por SUBRAHMANYAM (1993) e POSTMES *et al.*, (1993). Apesar de esses achados serem favoráveis, POSTMES *et al.*, (1993) comentaram que o mel não deve ser considerado uma substância estéril, sendo necessária a análise microbiana sempre que este meio for utilizado com propósitos conservadores e medicinais.

Assim como citado por COSTA (1996), para a glicerina 98%, por PINTO JR (1995), para tintura de iodo a 2%, e por ALIEVI *et al.*, (2007) para o mel, empregado na conservação de tecido ósseo, este último se mostrou eficiente na preservação de túnica albugínea bovina à temperatura ambiente. Alievi *et al.*, (2007) comentam que o mel apresenta baixo custo, fácil obtenção e dispensa equipamentos especiais para colheita e estocagem. Recomenda-se, porém, que os frascos utilizados para estocagem e conservação membrana sejam mantidos em local escuro e com temperatura amena, pois as altas temperaturas e a luz podem afetar as propriedades conservantes do mel (MATHEWS e BINNIGTON, 2002).

Segundo BRUN *et al.*, (2002), a capacidade de preservação de membranas biológicas em temperatura ambiente é garantida por até onze meses. Sendo que, no presente estudo a xenoenxertia com túnica albugínea bovina, conservada em mel, foi mantida em temperatura ambiente por dois anos e seis meses, mostrando-se ainda viável para a utilização em reparo de parede abdominal.

Os tecidos biológicos, sempre que possível a sua escolha, apresentam diversas vantagens quando comparados com outros materiais, pois existe a possibilidade desse tecido incorporar-se no organismo receptor ou servir de suporte durante o período de reparação (DALECK, 1988; RANZANTI, 1986). A conservação da túnica albugínea bovina em mel, foi satisfatória, mantendo sua elasticidade e aparente resistência.

A túnica albugínea conservada em mel, utilizada na presente investigação, macroscopicamente, apresentou-se amarelada, quando comparada ao seu aspecto no momento da coleta (natural), percebendo-se semelhança da coloração da túnica com a do conservante usado. Essas observações corroboram com as de AMENDOLA *et al.*, (2003), onde os segmentos ósseos conservados apresentavam-se amarelados, sendo observado a provável impregnação do meio conservante.

A microscopia desta túnica conservada em mel praticamente não sofreu alterações. Apresentou um aspecto desvitalizado, com as fibras colagênicas retraídas, moderadamente basofílicas e anucleadas. Esses aspectos são compatíveis com a ação desidratante do mel. DALECK (1988 e 1992) relata características histológicas semelhantes ao conservar em glicerina a 98%, o peritônio bovino; RANZANTI (1986) também descreve resultados semelhantes ao conservar o pericárdio em glicerina 98%. Estes autores descrevem bons resultados ao utilizarem essas membranas em cirurgias reparadoras em cães.

As túnicas mostraram aparência enrugada, conferida pelo poder desidratante do mel (MAZZANTI *et al.*, 2003; AMENDOLA *et al.*, 2003). Antes de sua utilização, as membranas foram removidas do meio de conservação, lavadas em solução fisiológica e mantidas submersas nesta por um período mínimo de quinze minutos. Após a reidratação a membrana perde a sua aparência enrugada, além de tornar-se mais maleável e de fácil manipulação (ALVARENGA, 1992). Optou-se pela não inclusão de antibióticos na solução hidratante, no presente experimento, pois poderia mascarar os resultados. Conduta semelhante adotada por GONÇALVES (2000) e MAZZANTI *et al.*, (2001) demonstra ser apropriada.

A sutura contínua em guarda-grega utilizada na fixação da túnica albugínea à parede abdominal nesta investigação, conferiu boa resistência, a membrana manteve-se adequada, reforçando a sutura realizada na referida região, o mesmo relatado por DALECK *et al.*, (1992). Ainda, mostrou-se elástica e aparentemente resistente, não sofrendo esgarçamento quando transfixada pelas suturas, de acordo com os achados de RODASK *et al.*, (2000).

Nenhum cão, do referido experimento, veio a óbito e também não foram evidenciados sinais de rejeição do xenoinxerto. Isto se justifica pela ação antigênica e anti-séptica do conservante tornando dispensável a utilização de imunossupressores, mesmo neste caso que se trata de um xenoinxerto, fato também constatado por AMENDOLA *et al.*, 2000; AMENDOLA, 2001.

No pós-operatório, os animais obtiveram pleno restabelecimento após seis horas, tornando-se ativos e com apetite, demonstrando que o protocolo anestésico estabelecido e o manejo empregado foram adequados, segundo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA, 2000).

Quanto à avaliação da ferida cirúrgica, estas apresentaram evolução satisfatória, sem evidente sensibilidade local, hipertermia ou quaisquer outros sinais, com um tempo

médio para a retirada dos pontos de oito dias, coincidindo com os relatados de MATERA (1981), RAISER (1999) e VICENTI *et al.*, (2002).

Na avaliação histopatológica da parede abdominal do grupo controle (sem túnica albugínea), nas preparações e coloração de rotina (hematoxilina e eosina), observaram-se características fisiológicas de inflamação, granulação e reparo tecidual, segundo BRASILEIRO FILHO *et al.*, (1994).

Os animais controle referentes a 30 e 60 dias, apresentaram tecido cicatricial incipiente, representado por neovascularização e granulação discretas. Aos 60 dias, havia resquícios de filamentos do fio poliglactina 910, quando comparada a integridade do fio observada aos 30 dias. Ao passo que, aos 90 dias, observou-se tecido cicatricial com granulação discreta no interior da cicatriz, caracterizando a fase de remodelagem.

O fio poliglactina 910 de acordo com FOSSUM (2005) e MAMM *et. al.*, (1996), é plenamente absorvido aos 60 dias, fato encontrado neste estudo, reforçado pela ausência do fio aos 60 e 90 dias, portanto não suscitando reação inflamatória tipo corpo estranho, não interferindo nos tratamentos experimentais subseqüentes.

O implante, aos 30 dias, foi facilmente identificado no momento da colheita e na análise histológica.

A microscopia óptica revelou que ao redor da túnica, principalmente na interface com a parede abdominal, havia um infiltrado inflamatório constituído por neutrófilos e por mononucleares. Associado, havia proliferação fibroblástica, deposição de colágeno na periferia do enxerto e neovascularização discreta, além de formação de cápsula de tecido conjuntivo margeando a túnica enxertada (nos períodos mais tardios, 90 dias). Algumas células inflamatórias e fibroblastos também eram encontrados entre as fibras da membrana enxertada. Estes resultados são semelhantes àqueles encontrados por DALECK *et al.*, (1988).

Aos 60 dias, o enxerto, macroscopicamente, não era facilmente identificável. Microscopicamente verificou-se uma maior população de células inflamatórias quando comparado com o material colhido aos 30 dias. A fibroplasia era mais evidente e as fibras conjuntivas e as células inflamatórias se entremeavam, de forma mais discreta, entre as fibras da túnica albugínea. Estas apresentavam uma ligeira dissociação, aparentemente em função do infiltrado inflamatório e conjuntivo.

Aos 90 dias, a túnica não foi identificada macroscopicamente, enquanto que histologicamente, pode-se observar infiltração de mononucleares e fibroblastos ao redor e entre as fibras da membrana enxertada, mantiveram as características iniciais, ou seja,

túnica albugínea desvitalizada, moderadamente basofílica e anucleada. No entanto, era evidente a sua dissociação, e o preenchimento do espaço entre elas por tecido conjuntivo cicatricial e raros mononucleares. Evidenciado também deposição de colágeno em partes do enxerto, formação de cápsula de tecido conjuntivo que a envolvia e neovascularização discreta no interior do mesmo (Prancha II, fotos A e B).

No decorrer da evolução do processo, ficou evidenciado, um aumento no número de células inflamatórias. Sendo que, aos trinta dias, reação inflamatória é considerada aguda, com predominância de polimorfonucleares e com raros mononucleares; aos sessenta dias, reação inflamatória crônica com predominância de mononucleares associada a raros polimorfonucleares; e, aos noventa dias, reação inflamatória crônica com predominância de mononucleares.

Neste estudo, o fio poliglactina 910 (Vicryl®) n° 2.0 mostrou-se resistente e de fácil manuseio, além de suportar o gradiente de pressão sobre a região. Em um animal do grupo controle (30 dias) e em um animal do grupo do implante 30 dias, constatou-se uma reação granulomatosa supurada, com ocorrência de células gigantes tipo corpo estranho, associada ao fio, evidenciada na região onde este ancorava a referida túnica (Prancha II, foto F).

EURIDES *et. al.*, (1994), utilizaram segmento livre de peritônio-muscular em reparo de defeito provocado no diafragma de cães. Estes autores verificaram, no mesmo período, células mononucleares, que foram atribuídas ao fio de sutura, o mesmo utilizado nesta investigação, e em menor escala ao implante. BARREIROS *et. al.*, (1996), também relatam o mesmo tipo de reação em sua experimentação (Prancha II, fotos E e G).

MAZZANTI *et. al.*, (2001), na avaliação microscópica no 30° dias de pós-operatório, verificaram ao redor dos filamentos Vicryl® e do implante muscular, um infiltrado discreto de polimorfonucleares e raros mononucleares. Na região de implantação, no entanto, onde havia ocorrido a substituição do implante por tecido fibromuscular, não foi notada ao redor do fio, infiltração de células inflamatórias, demonstrando que a reação encontrada possivelmente não foi pela presença do fio de sutura e sim pelo implante muscular.

A evolução das lesões, quando analisadas histologicamente, mostrou que inicialmente, houve uma inflamação aguda, seguida de proliferação conjuntiva. Esse processo foi auxiliado e orientado pelo enxerto. Observações semelhantes foram relatadas por GEEVER e MERENDINO (1952) utilizando a derme na reparação de

defeitos diafragmáticos; RANZANI (1986) ao substituir um fragmento diafragmático por pericárdio; DALECK *et. al.*, (1988), ao substituir um retalho diafragmático de cão por peritônio bovino conservado em glicerina.

Observou-se que a túnica albugínea bovina, presente nas amostras analisadas, provavelmente estimulou a deposição de tecido conjuntivo que começou a organizar-se na periferia desta túnica. Baseado nestes achados, pode-se sugerir que a túnica albugínea implantada serviu como arcabouço para o desenvolvimento de um novo tecido, o mesmo foi proposto por WEFER, 2002; NUNES, 2007 e OLIVEIRA, 2008. Os achados são similares aos achados de estudos anteriores com outras membranas biológicas, utilizadas na reparação de varias estruturas, como esôfago cervical (DALECK, 1988), diafragma torácico (DALECK *et. al.*, 1988), diafragma pélvico (DALECK *et. al.*, 1992), e tenoplastia do calcâneo (COSTA NETO *et. al.*, 1999) e semelhantes ainda, àqueles encontrados por outros autores (ALVARENGA, 1977; RANZANI, 1986; LANTZMAN, 1986) quando empregaram outros tipos de membranas na reconstrução de diversas estruturas, reforçando o ponto de vista de Alvarenga (1992) que afirmava que elas são incorporadas sem sinais de rejeição.

Quanto à viabilidade do enxerto, este apresentou viável em todo o período de experimentação. Fibroblastos ativos, neovascularização, síntese e deposição de colágeno foram observados em todos os grupos. Ambos inicialmente de forma discreta e na periferia do enxerto, mas em tempo mais tardio verificou-se de forma mais evidente e no interior da membrana enxertada. O mesmo foi verificado por OLIVEIRA *et. al.*, (2003), quando utilizaram tendão homólogo conservado em glicerina e associado a fio de nylon na reparação de ligamento cruzado cranial em cães.

Conforme Nunes (2007), ainda existe dificuldade na obtenção de referências bibliográficas sobre a aplicação de túnica albugínea como biomaterial. Apesar de existir muitos estudos na área de biomateriais, existe uma deficiência na obtenção de parâmetros comparativos a fim de avaliar a absorção e viabilidade do enxerto.

A utilização da túnica albugínea bovina, conservada em mel, mediante a avaliação de seu comportamento biológico no sitio de enxertia abre novas perspectivas para seu uso na rotina cirúrgica veterinária, e representa uma opção na reparação de tecidos lesionados.

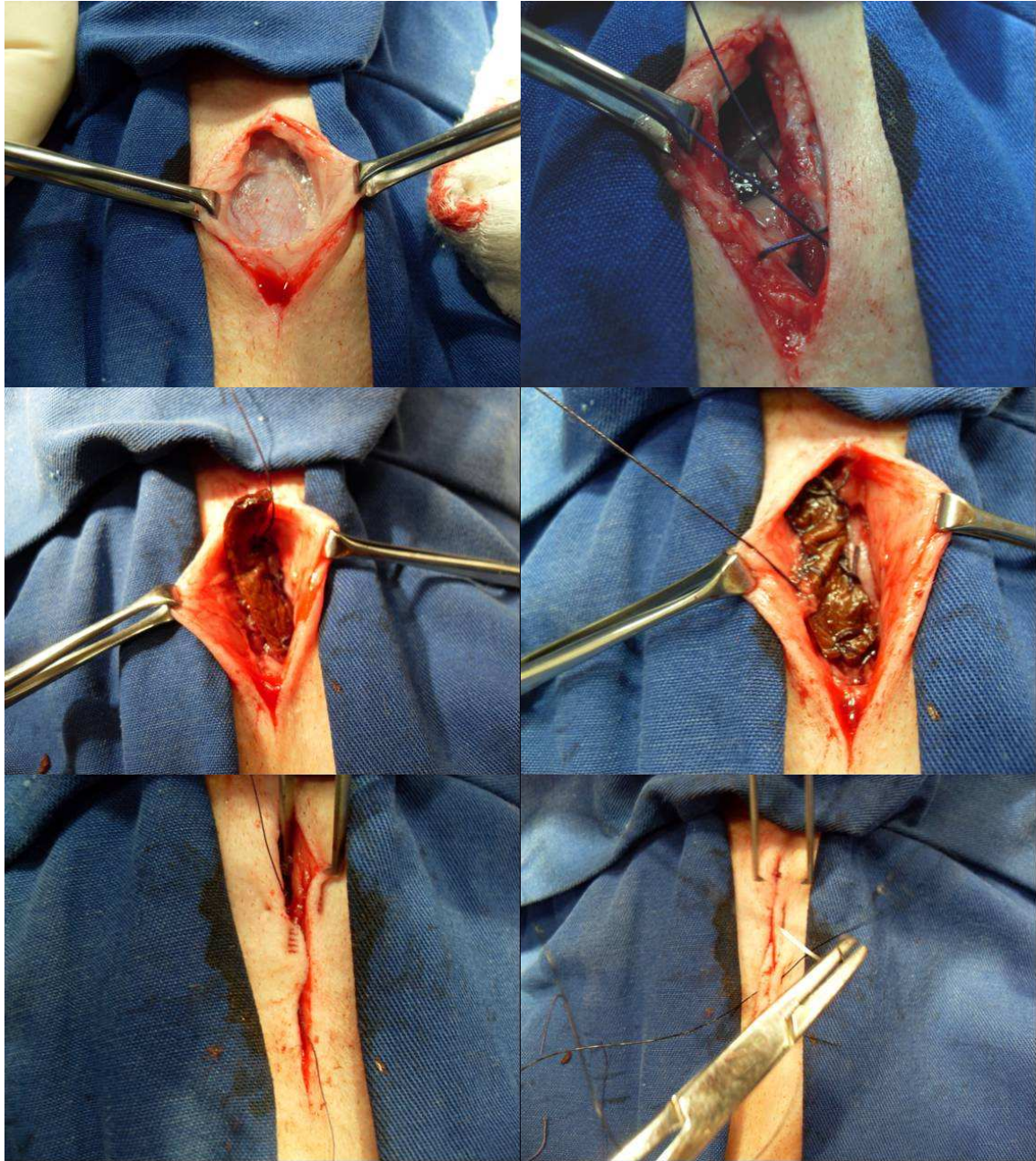
## 5. CONCLUSÕES

O mel foi eficiente na conservação de túnica albugínea bovina.

O enxerto de túnica albugínea bovina conservada em mel, como reforço da parede abdominal em cães é eficiente como arcabouço para a deposição de tecido conjuntivo cicatricial.

A xenoenxertia de túnica albugínea é um biomaterial de fácil obtenção e utilização.

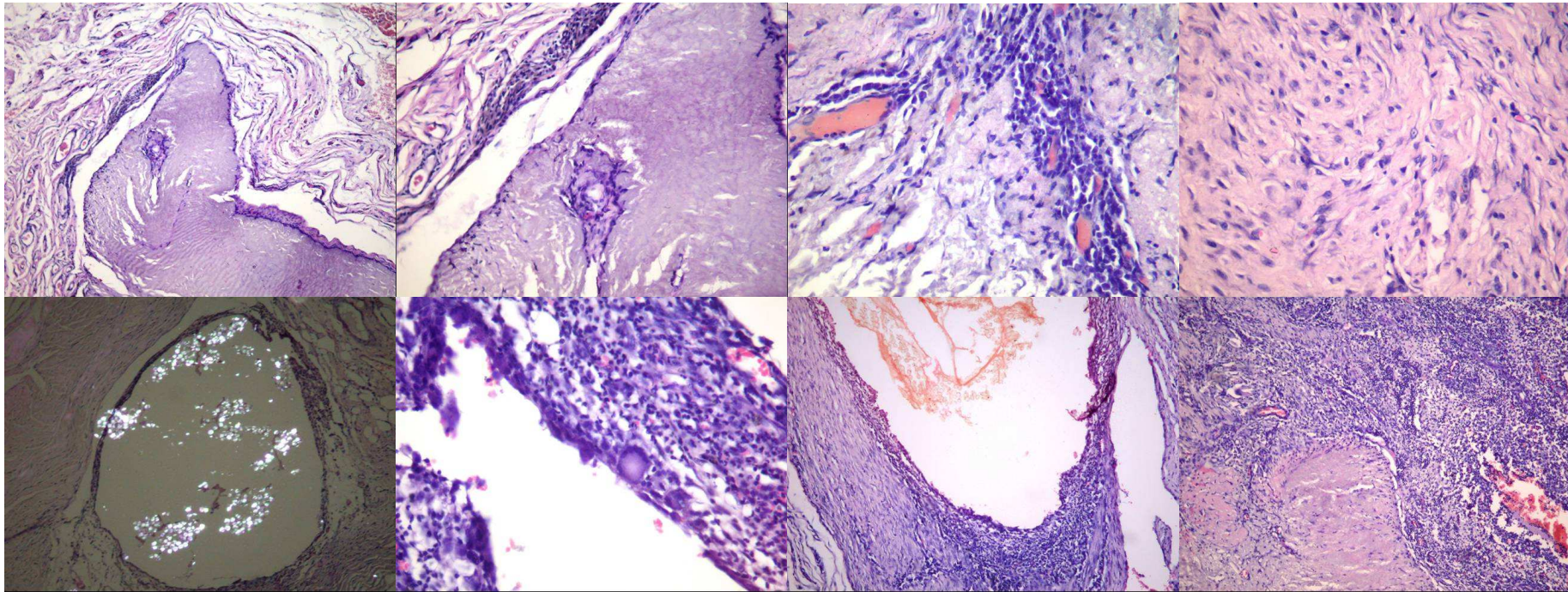
A túnica albugínea bovina mostrou-se excelente substrato no reparo de parede abdominal em cães.



<b>A</b>	<b>B</b>
<b>C</b>	<b>D</b>
<b>E</b>	<b>F</b>

PRANCHA 1. cão. Cirúrgico. A) Acesso cirúrgico para realização de celiotomia longitudinal mediana retroumbilical. B) Laparorráfia utilizando padrão de sutura interrompida em X, em plano único com fio Poliglactina 910 (Vicryl®, n° 2.0). C e D) Após laparorráfia, aplicou-se a túnica albugínea (5cm) sobre a sutura da parede abdominal, como reforço da sutura, esta foi ancorada utilizando-se uma sutura contínua em guarda-grega, com o mesmo fio já citado. E e F) Aproximação das bordas cirúrgicas e a dermorrafia da parede abdominal, com fio de nylon (n° 2.0) com pontos separados em “U”.





<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
<b>E</b>	<b>F</b>	<b>G</b>	<b>H</b>

PRANCHA 2. Fotomicrografia (COOLPIX 995-Nikon, Tóquio, Japão). A) Túnica Albugínea ancorada a musculatura, 90 dias após implantação. Observa-se o seqüestro desta, cápsula de tecido conjuntivo a envolvendo, neovascularização e infiltrado discreto, obj 10X e coloração hematoxilina / eosina. B) Túnica, 90 dias após implantação, apresentando ao seu redor um infiltrado com predominância de mononucleares, visualização de neovascularização no interior da membrana, obj 20 X e coloração hematoxilina / eosina. C) Túnica, 60 dias após implantação, observa-se neovascularização no interior desta, infiltrado com predominância de mononucleares e raros polimorfonucleares, obj 40 X e coloração hematoxilina / eosina. D) Observação de tecido cicatricial jovem, presença de fibroblastos. Túnica 60 dias após implantação, objt 40 X e coloração hematoxilina / eosina. E) Foto sobre luz polarizada, mostrando o fio de sutura, ainda presente, suscitando resposta inflamatória tipo corpo estranho. Túnica 30 dias de implantação, obj 10 X e coloração hematoxilina / eosina. F) Túnica 30 dias após implantação, reação granulomatosa gigantocitária, observando-se células gigantes (tipo corpo estranho), associada ao fio. Obj 40 X e coloração hematoxilina / eosina. G) Observação de resquícios do fio ao centro, suscitando resposta inflamatória. Túnica 30 dias após implantação, obj 10 X e coloração hematoxilina / eosina. H) Túnica albugínea, 30 dias após implantação, observando-se inflamação em sua direção, com predomínio de polimorfonucleares e raros mononucleares

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abramov, V.G.; Markicheva, N.A. Therapeutic lamellar keratoplasty with honey preserved material. *Oftalmol Zh*, v.38, n.2, P.81-83, 1983.

Alievi, M. M., Schossler, J. E. W., Guimarães, L. D., Oliveira, A. N. C., Traeslel, C. K., Ferreira, P. A. Implante ósseo cortical alógeno conservado em mel na reconstrução de falha óssea diafisária em fêmur de cães: avaliação clínica e radiográfica. *Ciências Rural*, Santa Maria, v. 37, n. 2, p. 450 – 457, 2007.

Alvarenga, J. (1992) Possibilidades e Limitações da Utilização de Membranas Biológicas Preservadas em Cirurgia. In: Daleck C.R., Baptista L.C., Mukai L.S.(eds.) Tópicos em Cirurgia de Cães e Gatos. Jaboticabal, FUNEP-UNESP, 113p.

Alvarenga, J. (1977) *Substituição de segmento de colédoco de cão por preparo de pericárdio homólogo conservado em glicerina. Estudo experimental.* Tese de livre docência, São Paulo – SP. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. 102 p.

Amendola, G.f. *Correção de defeito ósseo femoral em cães utilizando implante ósseo cortical homólogo conservado em mel.* 2001. 46 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria.

Amendola, G. F., Traqueoplastia em coelhos com centro frênico canino conservado em mel. *Ciência Animal Brasileira*, v. 1 suplemento, p. 111, 2000.

Amendola, G.F.; Ilha, M.; Berger, R.; Stedile, R.; Schossler. Correção de defeito ósseo femoral em cães utilizando implante cortical homólogo conservado em mel. *Acta cirúrgica Brasileira*, v. 18 (4), p. 302-307, 2003.

Amid, P.K. Classification of biomaterials and their related complications in abdominal wall hernia surgery. *Hérnia* n. 1 p. 15-21 1997

Ansaloni, L.; Catena, F.; Gagliardi, S.; Gazzotti, L.; D'Alessandro, A.; Pinna, D. Hernia repair with porcine small-intestinal submucosa. *Hernia*. n. 11: p. 321–326. 2007.

Anderson, W.A.D.; Scotti, T.M. Inflammation and repair. In: *Synopsis of Pathology*. 20ª ed. Mosby, 1980.

Andrade, Z. Tecido conjuntivo, reparo, regeneração e cicatrização. In: Montenegro, M.R.; Franco, M. *Patologia. Processos Gerais*. 3ª ed. Atheneu, 1995.

Barreiros, L. J.; Rodaski, S.; Susko, L, et al, C. Uso experimental do músculo grande dorsal autólogo na reparação dos grandes defeitos diafragmáticos no cão. *Revista do Setor de Ciências Agrárias*, v. 15, n. 1, p. 141-150, 1996.

Bellenger, C.R. Parede Abdominal. In: SLATTER, D., *Manual de Cirurgia de Pequenos Animais*; 2ª ed; São Paulo; Manole; 2V;V1; p.490-498; 1998.

Bellón-Carneiro, J.M. El cierre de lapatomía em la línea alba. *Cir Esp*, v. 77, n.3, p. 114-123, 2005.

Bellón, J.M; Serrano, N.; Rodriguez, M.; Garcia-Honduvilla, N.; Pascual, G.; Bujan, J. Prótesis compuestas en las reparaciones de defectos de pared abdominal. Estudio comparativo Del empleo de barreras físicas y/o químicas. *Cir Esp*, v. 77, n.6, p. 351-356, 2005.

Bernard, C.; Polliand, C.; Muteliga, L.; Champault, G. Repair of giant incisional abdominal wall hernias using open intraperitoneal mesh. *Hernia*, v. 11, n. 4, p. 315-320. 2007

Brasileiro Filho, G.; Pitella, J.E.H.; Pereira, F.E.L.; Bambirra, E.A.; Arbosa, A.J.A. Inflamação e cicatrização. In: Bogliolo *Patologia*. Guanabara Koogan, 5ª ed, 1994.

Brun M.V., Pippi N.L., Dreimeier D., Contesini E.A., Beck C.A.C., Cunha O., Filho S.T.L., Roehsig C., Stedile R. (2002) Solução Hipersaturada de Sal como

Conservante de Pericárdio Canino Utilizado na Reparação do Músculo Reto Abdominal de Ratos Winstar. *Ciência Rural*, 32(6): 1019-1025.

COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal). Princípios éticos na experimentação animal. São Paulo. 1991. Disponível em: URL: [www.meusite.com.br/cobea/index.htm](http://www.meusite.com.br/cobea/index.htm).

Costa J. L. (1996) *Reconstrução de grande falha óssea com enxerto cortical alógeno conservado em glicerina, fixado com placas e parafusos de aço inoxidável da série 304; Estudo experimental em cães*. Tese de Mestrado. Jaboticabal – São Paulo. Universidade Estadual de São Paulo – Jaboticabal.

Cotran, R.S.; Kumar, V.; Collins, T. Reparo dos tecidos: crescimento celular, fibrose e cicatrização das feridas. In: ROBBINS, S.L. Patologia estrutural e funcional. 6ª ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2000.

Crowe, D.T.; Bjorling, D.E. Peritônio e Cavidade Peritoneal. In: SLATTER, D., Manual de Cirurgia de Pequenos Animais; 2ª ed; São Paulo; Manole; 2V;V1; p.499-528; 1998.

Daleck C.R., Alessi A.C., Costa Neto J.M., Daleck C.L.M., Padilha Filho J.G. (1988) Substituição de um Retalho Diafragmático de Cão por Peritônio de Bovino Conservado em Glicerina: Estudo Experimental. *Ars Veterinária*, 4(1): 53-61.

Daleck C.R., Padilha Filho J.G., Daleck C.L.M., Costa Neto J.M. (1992) Reparação de Hérnia Perineal em Cães com peritônio de Bovino Conservado em Glicerina. *Ciência Rural*, 22(2): 179-183.

Dyce, K.M.; SACK, W.O.; WENSING, C.J.G. Abdômen dos carnívoros. In: Tratado de anatomia veterinária. 3ed. Rio de Janeiro. ELSEVIER, p. 407 – 424. 2004.

Eurides, D.; Nigro, A. J. T.; Goldenberg, S., et al. Reparo de defeito provocado no diafragma de cães com segmento livre peritônio-muscular. Estudo experimental. *Acta Cirurgia Brasileira*, v. 9, n.3, p. 134 – 135, 1994.

Fagundes, D.J. Bases técnicas para as laparotomias de urgência. In: BURHIAN E. *Emergências em Cirurgia*. São Paulo: Sarvier. 1995. p.217.

Ferguson, M.W.J.; Leigh, I.M. Wound healing. In: Champion, R.H.; Burton, J.L.; Burns, D.A.; Breathnach, S.M.; Rook, W, E,. *Textbook of Dermatology*. Blackwell Science, 6ª ed., 1998.

Fossum, T.W.; *Cirurgia de pequenos animais*; São Paulo; Roca; Cap. 9, 13 e 15; 2005.

Fowler, D. Principles of wound healing. In: HARARI, J. *Surgical complications and wound healing in the small animal practice*. W. B. Saunders Co., 1993.

Freeman, D.E. Peripartum colic. North American Veterinary Conference Proceedings. p 160 – 162. 2005. Disponível em: [www.ivis.org/proceedings/navc/2005/LA/073.pdf?LA=1](http://www.ivis.org/proceedings/navc/2005/LA/073.pdf?LA=1) Acesso em 10 de setembro de 2008.

Geever, E. D., Merendino, L. A., The repair of diaphragmatic defects with cutis grafts. *Surg. Gynec. Obstet.* 94: 308 – 16, 1952.

Giroto, J.A; Chiaramonte, M.; Menon, N.G.; Singh, N.; Silverman, R.; Tufaro, A.P.; Nahabedian, M.; Goldbeg, N.H.; Manson, P.N. Recalcitrant abdominal wall hernias: long-term superiority of autologous tissue repair. *Plast Reconstr Surg.* n. 112. p 106-114. 2003.

Greca, F.H.; Souza Filho, Z.A.; Rocha, S.L.; Borsato, K.S.; Fernandes, H.A.D.; Nilside, M.A. Submucosa de intestino delgado no reparo de defeito em parede abdominal de ratos. *Acta. Cir. Bras.* v. 19. n. 5. p. 471 – 477. 2004.

Gonçalves, G. R. (2000) *Ceratoplastia lamelar homóloga em cão com conservação em solução supersaturada de açúcar ou glicerina*. Tese mestrado, Santa Maria – RS. Universidade Federal de Santa Maria, 54p.

Greenwood, d. Honey for superficial wounds and ulcers. *Lancet*, v.341, n.8837, p.90-91, 1993.

Greer, R.T.; Pearson, P.T. Biomateriais. In: SLATTER, D., Manual de Cirurgia de Pequenos Animais; 2ª ed; São Paulo; Manole; 2V;V1; p.133-142;1998.

Guimarães, G. C.; Scavone, A. R. F.; Machado, M. R.; Cruz C. da; Capalbo, A. C.; Santos, A. L. Q.; Avaliação histológica de membranas biológicas bovinas conservadas em glicerina e a fresco. *Biosci. J.*, Uberlândia, v. 23, n. 3, p. 120-127. 2007.

Gupta, M. Preservation of split skin grafts in honey: a preliminary study. *Indian J. Surg*, v. 11, p. 591 – 598, 1977.

Hafez, B. Anatomia da reprodução feminina. In: Reprodução animal. São Paulo, Manole, 2004. p. 13-29.

Hulland, T.J. Muscle and Tendon. In: Jubb, K.V.F.; Kennedy, P.C.; Palmer,N. Pathology of Domestic Animals; 4a ed; San Diego; Academic Press, Inc.; 3V; V1; p.183-265; 1992.

Hunt G. B., Practical solutions to perennial problems: perineal hernia. Proceedings of the WSAVA Congress. Sydney, Australia, 2007. Disponível em: <http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2007&PID=18060&Category=2996&O=Generic>. Acesso em 08 de setembro de 2008.

Iorish N. As abelhas, farmacêuticas com asas. São Paulo: Mir; 1981.

König, H.E.; Maieri, J.; Liebich, H.G. Fáscia e músculos da cabeça e do tronco. In: KÖNIG, H.E.; LIEBICH, H-G. Anatomia dos animais domésticos: texto e atlas colorido. Porto Alegre: *Artmed*. v.1. 2002. p.125-129.

Kraus K.H. Hérnias. In: BOJRAB M. J. Técnicas atuais em cirurgia de pequenos animais. 3.ed. São Paulo: Roca. 1996. p.410-414.

Lantzman, M. (1986) *Utilização de pericardio equino conservado em glicerina na reparação cirúrgica do duodeno de cães (canis familiaris). Estudo experimental*, Tese de Mestrado. São Paulo – SP. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – USP. 60p.

Leite, J.B.F. et. Al. A glicerina e a preservação dos tecidos. *Revista Paulista de Medicina*, v.93, p.81-84,1979.

Lima J.M. Tratamento Cirúrgico das Hérnias Incisionais. *Rev.Col. Bras. Cir.* v. 29, n 2. 2002.

Mann, F.A.; Smeak, D.D. In: BOJRAB, M.J. Mecanismos da Moléstia na Cirurgia de Pequenos Animais. 2ª ed. São Paulo; Manole, p.114-120, 1996.

Matera, E.A. *Contribuição para a cirurgia abdominal do cão. Estudo e técnica das incisões da parede ventral*. 1948. 95f. Tese (livre-docência). Faculdade de Medicina Veterinária - USP. São Paulo.

Matera, A.; Barros, P.S.M.; Stopiglia, A.S. e cols. Hérnia perineal no cão: Tratamento cirúrgico mediante utilização de malha de polipropileno. *Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, v.18, n.1, p. 37-41, 1981.

Mazzanty A., Pippi N., Raiser A.G., Graça D.L., Silveira A.F., Eurides D., Faria R.X., Alves A.S., Gonçalves G.F., Stidile R., Braga F.A. (2001) Músculo Diafragma Homólogo Conservado em Solução Supersaturada de Açúcar para a Reparação de Grande Defeito na Diafragma de Cão. *Ciência Rural*, 31(2): 277-283.

Mazzanty A., Raiser A.G., Pippi N., Graça D.L., Alves A.S., Faria R.X., Alievi, F. A.; Braga F.A., Salbego, F. Z. (2003) Hernioplastia diafragmática em cão com pericárdio bovino Conservado em Solução Supersaturada de Açúcar. *Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec.* V. 55, n. 6.

Mazzanty A., Raiser A.G., Pippi N., Barros C.S.L., Brondani J.T., Marin A., Silva T.R., Hille R., Salbego F.Z., Stieven D., Rohde R., Dalmolin F. (2004) Homoimplante Ortotópico Conservado, Associado à Terapia “Soft Laser” na Reparação Tenopater em Cão. *Ciência Rural*, 34(2): 429-437.

Mota F.C.D., Eurides D., Belletti M.E., Freitas P.M., Mastrantonio E.C., Shimizu B.J., Cardoso J.R., Martins A.K. (2002) Análise Ultra-estrutural da Túnica Muscular do Intestino Delgado de Cães Preservado em Diferentes Meios. *Brasilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 39(1): 13-17.

Mschvidobadse V. M. Allogenic trnsplantation of sterilized bonés and halfjoints. *Zentralbl Chir*, 103: 1138 – 48; 1978.

Neto J.M.C., Daleck C.R., Alessi A.C., Braccialli C.S. (1999) Tenoplastia Experimental do Calcâneo em Cães com Peritônio Bovino Conservado em Glicerina. *Ciência Rural*, 29(4): 697-703.

Nunes V.A. (2007) *Enxerto de Túnica Albugínea como Reforço de Parede Abdominal em Cães*. Tese (Doutorado em Ciências) - Rio de Janeiro – RJ, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, 55p.

Oliveira, L. L., (2008) *Reconstituição vesical em cães: enxerto com túnica albugínea conservada*. Tese de mestrado, Campos dos Goytacazes – RJ. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 49p.

Oliveira S.T., Raiser A.G., Guedes A.G.P., Alves S.D.L., Gonçalves G.F., Mazzanti A., Beletti M.E., Stedile R., Silva T.R. (2003) Reparação do Ligamento Cruzado Cranial de Cães por Tendão Homólogo Conservado em Glicerina e Associado a Fio de Náilon. *Ciência Rural*, 33(4): 717-723.

Pigossi N. (1967) *A Glicerina na Conservação de dura-Máter. Estudo Experimental*. Tese (Livre-Docência) São Paulo - SP - Faculdade de Medicina de Universidade de São Paulo-USP, 36p.

Pigossi N., Raia A., Gama A.H., Simonsen O., Haddad J., Stolf N.A.G., Zerbini E.J., Miniti A., Tenuto R. (1971) Estudo Experimental e Clínico sobre o Emprego, como implante, da Dura-Máter Homógena Conservada em Glicerina à Temperatura Ambiente. *Rev. Ass.Med. Bras.*, 17(8): 263-278.



Pinto Jr H. S. (1995) *Utilização de enxerto ósseo cortical homólogo preservado em tintura de iodo a 2 % na reparação de fraturas cominutivas de ossos longos em cães*. Tese de mestrado, São Paulo – SP. FMVZ – USP.

Pitrez, F.B.; Alves, L.C.C.; Rhoden, E.L. e cols. Herniorrafia inguinal convencional e videolaparoscópica: qual a melhor abordagem? *Rev. Pes. Méd.*, v. 32, n.1, p. 63-67, 1998.

Postmes, T.; Van Den Bogaard, A. E.; Hazen, M. Honey for wounds, ulcers and ski graft preservation. *Lancet*, 341: 756 – 7; 1993.

Probst, C.W. Cicatrização das feridas e regeneração de tecidos específicos. In: SLATER, D. *Manual de Cirurgia de Pequenos Animais*. 2aed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2V,V.1, p. 66-78, 1998.

Quitzan G.Q, Rahal S.C, Rocha N.S, Crocci, A.J. Comparação entre pericárdio bovino preservado em glicerina e malha de poliéster no reparo de falhas da parede abdominal em ratos. *Acta. Cir. Bras.* n. 4. p. 18. 2003.

Ramos, E.J.B. *Biocompatibilidade da tela de polipropileno e da submucosa intestinal de porco na correção de defeitos criados na parede abdominal de cães. Estudo comparativo*. 2002. 62 f. Tese (Mestrado) - Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná – Curitiba.

Rabelo R.E., Tavares G.A., Paulo N.M., Silva L.A.F., Damasceno A.D., Andrade M.A., Martins F.G., Romani A.F., Silva O.C., Trindade B.R. (2004) Características Físicas e Microbiológicas do Centro Tendíneo Diafragmático Bovino Conservado em Glicerina a 98% e no Glutaraldeído a 4%. *Ciência Animal Brasileira*, 5(4):229-238.

Ranzani, J. J. T., (1986) *Substituição de segmento da porção muscular diafragmática de cão por pericárdio de equino conservado em glicerina: Estudo experimental*. Tese de doutorado. Botucatu – SP. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP, 57p.

Raiser, A.G. Hérnia pós-incisão em cães e gatos. *Ciência Rural*, v. 29, n.4; p.689-695, 1999.

Read, R.A. Managing hernias that present as emergencies. World Congress WSAVA/FECAVA/CSAVA. p. 734 - 735. 2006. Disponível em: [www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture25/Read3.pdf?LA](http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture25/Read3.pdf?LA). Acesso em 08 de setembro de 2008.

Risau, W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature*, v. 386, p. 671, 1997.

Rodaski, S; Guérios, S. D.; Perroni, M. A.; Nardi, A. B.; Silva, C. A. M. (2000) Esfincteroplastia anal externa experimental com membrana de peritônio bovino preservada em glicerina a 98 %, em cães. *Archives of Veterinary Science*, v. 5, p. 55-60.

Silva L.A.F.; Silva O.C.; Eurides D.; Sousa V. R.; Silva M. A. M.; Franco L. G.; Alcântara A. S.; Rabelo R. E.; Damasceno A. D.; Germano Júnior H. Hernioplastia umbilical em bovino: emprego de implante de cartilagem auricular homóloga e avaliação clínica dos resultados. *Acta Scientiae Veterinariae*. n. 33. v. 1. p. 57-62, 2005.

Sisson, R. Músculos do Equino. In: GUETTY, R. Anatomia dos Animais Domésticos; 5ª Ed; Rio de Janeiro; Interamericana; 2V; V2; p. 379-384; 1986.

Smeak, D.D. Hérnias Abdominais. In: SLATTER, D. Manual de Cirurgia de Pequenos Animais; 2ª ed; São Paulo; Manole; 2V; V1; p. 533-558; 1998.

St. Clair, L.E. Músculos do Carnívoro. In: GUETTY, R. Anatomia dos Animais Domésticos; 5ª Ed; Rio de Janeiro; Interamericana; 2V; V2; p. 1427- 1430; 1986.

Stainki, D. R. Redução de Hérnias. Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia, PUCRS. 2006. Disponível em <http://pucrs.campus2.br/~stainki/CirurgiaII/hernias.pdf>. Acesso em 08 de setembro de 2008.

Subrahmanyam, M. Storage of skin grafts in honey. *Lancet*, v.341, n.8836,p.63-64, 1993.

Taylor, R., McGhee, R. Postoperative care of the wound. In: Manual of small animal postoperative care. Williams & Wilkins. Baltimore. 1995. p. 36-47.

Vicenti F.A.M., Laus J.L., Neto J.M.C., Taglieri I.C., Campos C.F., Jorge A.T., Ferreira A.L., Fantinatti A.P. (2002) Use of na Allogenuous Túnica Vaginalis Conserved in 98% Glicerine for Keratoplasty in Dogs.*Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*, 9(3): 182-187.

Wantz, G.E. Incisional hernioplasty with Mersilene. *Surg Gynecol Obstet*. n. 172. p 129-137. 1991

Wefer J., Schlote N., Sekido N., Sievert K.D., Wefer A.E., Nunes L., Bakircioglu M.E., Dahiya R., Tanagho E.A. (2002) Tunica Albugínea Acellular Matrix Graft for Penile Reconstruction in the Rabbit: a Model for Treating Peyronie s Disease. *Brazilian Journal of Urology International*, 90: 326-331.