

UFRRJ

INSTITUTO DE VETERINÁRIA

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA

VETERINÁRIA

PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS

DISSERTAÇÃO

UTILIZAÇÃO DO PERICÁRDIO CAPRINO

(*Capra hircus*) NA CORREÇÃO DE FALHA

ABDOMINAL EXPERIMENTAL EM RATOS

(*Rattus norvegicus*)

MICHEL ALVES DA SILVA

2011



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

UTILIZAÇÃO DO PERICÁRDIO CAPRINO (*Capra hircus*) NA
CORREÇÃO DE FALHA ABDOMINAL EXPERIMENTAL EM RATOS
(*Rattus norvegicus*)

MICHEL ALVES DA SILVA

Sob a orientação da Professora

Marta Fernanda Albuquerque da Silva

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**, no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Patologia e Ciências Clínicas.

Seropédica, RJ

Agosto de 2011

617.954

S586u

T

Silva, Michel Alves da, 1978-

Utilização do pericárdio caprino (*Capra hircus*) na correção de falha abdominal experimental em ratos (*Rattus norvegicus*) / Michel Alves da Silva - 2011.

27 f. : il.

Orientador: Marta Fernanda Albuquerque da Silva.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária.

Bibliografia: f. 21-27.

1. Preservação de órgãos, tecidos etc - Teses. 2. Membranas (Biologia) - Conservação - Teses. 3. Próteses vasculares - Teses. 4. Rato como animal de laboratório - Teses. I. Silva, Marta Fernanda Albuquerque da, 1962-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. III. Título.

Bibliotecário: _____

Data: ___/___/_____

*A minha esposa Raquel,
meu maior incentivo e
amor da minha vida.*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, JORGE FERREIRA DA SILVA e JUDITE ALVES DA SILVA, que sempre incentivaram os meus estudos, apoiaram as minhas decisões e são responsáveis pelo homem o qual me tornei.

A minha esposa RAQUEL MOREIRA PIRES DOS SANTOS MELO, pelo carinho, incentivo e companheirismo constantes. Você é a razão da minha vida.

Aos meus irmãos MAICO ALVES DA SILVA e MONIQUE ALVES DA SILVA por fazerem parte da minha vida e me proporcionarem GUILHERME e ISABELA, meus sobrinhos tão amados.

A minha sogra JANETE MOREIRA PIRES DOS SANTOS e meu cunhado GABRIEL MOREIRA RODRIGUES, por me acolherem como filho e irmão.

A minha orientadora professora MARTA FERNANDA ALBUQUERQUE DA SILVA, pelos ensinamentos e por sempre acreditar e incentivar o meu trabalho.

Ao professor do CCA/UFPB MÁRCIO DE CASTRO MENEZES, por compartilhar idéias e pela ajuda, sem a qual este trabalho não seria realizado.

Aos professores VALDIR DE ANDRADE BRAGA, FABÍOLA NUNES BRAGA e LUIS FELIPE SOUZA DA SILVA, pelo acolhimento, amizade e pela oportunidade de realizar o meu trabalho no laboratório de fisiologia do CCA/UFPB.

Todos os DOCENTES do CURSO DE GRADUAÇÃO e PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA da UFRRJ pelo apoio durante a graduação e o mestrado, em especial aos professores AGUINALDO EMILIANO DOS SANTOS, RICARDO SIQUEIRA DA SILVA, HELOÍSA JUSTEN MOREIRA DE SOUZA e HAROLDO ALMEIDA SANTOS FILHO, por serem os meus mestres desde os primeiros passos na anestesia e cirurgia veterinária, e hoje colegas de profissão e amigos.

Ao HVPA da UFRRJ e em especial ao seu diretor JOÃO CARLOS SENA MAIA e as servidoras ANA LÚCIA e VANILDA, pela amizade sincera.

Aos amigos, BRUNO GOMES DE CASTRO, JÚLIO ISRAEL FERNANDES, FRANCISCO DE ASSIS RIBEIRO, THIAGO IGNÁCIO WAKOFF e ALINE DA SILVA ROSA entre tantos outros que fazem parte da minha vida desde a graduação.

Aos amigos que fiz durante minha passagem na Universidade Federal da Paraíba, entre eles RAFAEL LIMA, DANIELA LAFETÁ, ROBERTA VALESKA, SAULO EDUARDO, KARLA MALTA, RUY BRAINER, GEORGE LUÍS e ANA LUZIA.

Aos amigos de Arapiraca que fazem parte do meu cotidiano na Universidade Federal de Alagoas, entre eles SIMONE FERREIRA, VANNINA ASSIS, BRUNO GIUDICELLI, JANAÍNA MARTUSCELO, DANIEL NORONHA, MIGUEL MARTUSCELO, DANIELA CAVALCANTE, ANDRÉ GALVÃO, ARNALDO TENÓRIO, PAMELA BARROS e RICARDO BRAINER, a amizade de vocês é essencial para minha felicidade.

Aos ANIMAIS, em especial VIRGULINO, DONNA, MAGGIE, TAMMY, BROWN, ZECA, ATHINA, GUIÇA, CINDY, DARA, SORVETE, HEINEKEN, MEL, MILADY, BIG, GABI, LILICA, SUNNY, LUBA, que são o começo, meio e fim na minha profissão e vida.

Muito obrigado.

BIOGRAFIA

Michel Alves da Silva, filho de Jorge Ferreira da Silva e Judite Alves da Silva,. nascido em 08 de fevereiro de 1978 no município do Rio de Janeiro, RJ.

Cursou o ensino fundamental no Instituto Santo Antônio e o ensino médio no Colégio e Curso Martins.

Ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRRJ) no ano de 1996, concluindo-o em 2001. Através de novo vestibular, ingressou em 2001 no Curso de Medicina Veterinária da mesma Instituição, graduando-se em 2005.

Foi estagiário do Hospital Veterinário de Pequenos Animais (HVPA) de 2002 à 2003, monitor das disciplinas de Anestesiologia e Técnica Cirúrgica de maio de 2003 à março de 2004 e Patologia e Clínica Cirúrgica de maio de 2004 à setembro de 2005.

Foi Médico Veterinário Residente em Cirurgia do HVPA da UFRRJ de abril de 2006 à fevereiro de 2009.

Em 2009 foi aprovado, através de processo de seleção, para o Mestrado do Curso de Medicina Veterinária da UFRRJ sob orientação da professora Dr^a. Marta Fernanda Albuquerque da Silva.

No ano de 2009 foi aprovado em concurso público para o cargo de Médico Veterinário do Hospital Veterinário da Universidade Federal da Paraíba, cargo que exerceu de janeiro de 2010 à junho de 2011.

Em julho de 2011 foi redistribuído para a Universidade Federal de Alagoas, onde exerce desde então o cargo de Médico Veterinário do Biotério Central.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 Parede abdominal	2
2.2 Membranas biológicas	3
2.2.1 Pericárdio	4
2.3 Meios de preservação	5
2.3.1 Glicerina	6
3. MATERIAL E MÉTODOS	8
3.1 Obtenção do material	8
3.2 Tratamento do material	8
3.3 Seleção dos animais	9
3.4 Anestesia	9
3.5 Cirurgia	9
3.6 Coleta e preparo do material implantado	10
3.7 Avaliações clínica, macroscópica e microscópica	11
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
5. CONCLUSÃO	20
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

%	Porcentagem
α	Alfa
cm ²	Centímetro quadrado
°C	Graus centígrados
FDA	Food and Drug Administration
h	Hora
mgKg ⁻¹	Miligramas por quilo
mm	Milímetros
PP	Polipropileno
PVPI	Polivinilpirrolidona

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Parede abdominal de ratos, contendo os músculos que a compõem e sua disposição. Figura modificada de acordo com o original de :BROWN, S. H. M.; BANUELOS, K.; WARD, S. R.; LIEBER, R. L. Architectural and morphological assessment of rat abdominal wall muscles: comparison for use as a human model. **Journal of Anatomy**, v.217, p.196-202, 2010.pg.2
- Figura 2:** Pericárdio caprino conservado em glicerina a 98% por pelo menos 30 dias, antes e depois de ser hidratado com solução fisiológica. pg.8
- Figura 3:** Pericárdios bovino e caprino hidratados em solução fisiológica.pg.8
- Figura 4:** Parede abdominal de rato imediatamente após a realização de dois defeitos cirúrgicos e sua correção com pericárdio caprino (teste) e bovino (controle positivo), além da incisão e rafia da parede abdominal (controle negativo).pg.10
- Figura 5:** Face subcutânea da parede abdominal de rato 7 dias após a cirurgia para produção de dois defeitos cirúrgicos e sua correção com pericárdio caprino (teste) e bovino (controle positivo), além da incisão e rafia da parede abdominal (controle negativo).pg.13
- Figura 6:** Face peritoneal da parede abdominal de rato abatido 7 dias após a cirurgia para produção de dois defeitos cirúrgicos e sua correção com pericárdios caprino (teste) e bovino (controle positivo), além da incisão e rafia da parede abdominal (controle negativo).pg.14
- Figura 7:** Face peritoneal da parede abdominal de rato abatido 14 dias após a cirurgia para produção de dois defeitos cirúrgicos e sua correção com pericárdios caprino (teste) e bovino (controle positivo), além da incisão e rafia da parede abdominal (controle negativo).pg.14
- Figura 8:** Face peritoneal da parede abdominal de rato abatido 21 dias após a cirurgia para produção de dois defeitos cirúrgicos e sua correção com pericárdios caprino (teste) e bovino (controle positivo), evidenciando a origem das aderências.pg.15

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Distribuição dos animais e classificação das aderências de acordo com o sistema de escore usado por Jenkins (1983).pg 16

RESUMO

Silva, Michel Alves da. **Utilização do pericárdio caprino (*Capra hircus*) na correção de falha abdominal experimental em ratos (*Rattus norvegicus*)**. 2011. 29p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

O objetivo deste estudo foi avaliar a aplicabilidade do pericárdio caprino conservado em glicerina a 98% na correção de defeitos abdominais em ratos. Foram utilizados 9 ratos Wistar, nos quais foram produzidos defeitos cirúrgicos na parede abdominal, reparados com o pericárdio caprino ou com o pericárdio bovino, como controle positivo, conservados em glicerina a 98% por pelo menos 30 dias à temperatura ambiente. Os animais foram divididos em 3 grupos que sofreram abate aos 7, 14 e 21 dias após a implantação dos enxertos. Foram realizadas avaliações macroscópicas quanto à presença de aderências abdominais nas membranas implantadas e, através de análise histopatológica, avaliou-se qualitativamente a interface membrana/parede muscular quanto à presença de células inflamatórias, neovascularização e absorção do implante. Nas avaliações, não se observou sinais de rejeição para o pericárdio caprino e os resultados das análises qualitativas mostraram-se iguais para ambos os implantes. Podemos concluir que o pericárdio caprino conservado em glicerina a 98% por um período mínimo de 30 dias pode ser utilizado no reparo de defeitos abdominais, pois demonstrou ter as mesmas características que o pericárdio bovino no processo reparatório da parede abdominal de ratos.

PALAVRAS CHAVE: Bioprótese, Membrana Biológica, Glicerina.

ABSTRACT

Silva, Michel Alves da. **Usage of caprine (*Capra hircus*) pericardium to correct experimental abdominal wall failure in rats (*Rattus norvegicus*)**. 2011. 29p. Dissertation (Master in Veterinary Medicine) Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

The objective of this study was to evaluate the applicability of caprine pericardium preserved in glycerin 98% in the correction of abdominal defects in rats. Nine Wistar rats were used, surgical defects were made in the abdominal wall and repaired with goat pericardium or bovine pericardium, as positive control, preserved in glycerin at 98% at least 30 days at room temperature. The animals were divided into three groups that were slaughtered at 7, 14 and 21 days after implantation of the grafts. Macroscopic assessments were made for the presence of adhesions and qualitative histopathology evaluated the membrane / wall muscle interface and the presence of inflammatory cells, neovascularization and absorption of the implant. There were no signs of rejection to the caprine pericardium and qualitative analysis proved to be equal for both implants. We can conclude that the caprine pericardium preserved in glycerin at 98% for a minimum period of 30 days can be used in the repair of abdominal defects, since it has demonstrated behavior characteristics similar to those of bovine pericardium in the healing process of the abdominal wall of rats.

KEYWORDS: Bioprosthesis, Biological Membrane, Glycerin

1 INTRODUÇÃO

Membranas biocompatíveis são muito úteis no tratamento de enfermidades na Medicina Veterinária, Medicina Humana e Odontologia. Vêm sendo empregadas desde a década de 1960, funcionam como eficientes enxertos biológicos para diversos usos, como: traqueoplastia, hernioplastias e rupturas diafragmáticas, no tratamento da regeneração óssea guiada, enxertos vasculares e valvulares, regenerador de cápsula articular, implantes em ressecções cirúrgicas. Associada a essas características, soma-se ainda a facilidade em sua obtenção, baixo custo, preparo simples, esterilização viável, facilidade na estocagem, pouca e/ou nenhuma reação tecidual.

O uso de enxertos sintéticos como substitutos de tecidos orgânicos ou como carreadores de células vêm obtendo resultados satisfatórios, entretanto a maioria das membranas sintéticas são caras, de difícil processamento, não maleáveis e nem flexíveis, e dificultam o manuseio. Além disso, o número de reações de corpo estranho bem como a formação de aderências em órgãos internos é grande, o que não ocorre na mesma proporção com o uso de algumas membranas biológicas como o pericárdio bovino, sendo esta última, portanto, mais indicada para utilização em cavidades.

A manutenção estrutural das membranas biológicas estocadas em glicerina 98% sem que haja perda de sua qualidade bem como riscos de contaminação é uma grande vantagem quando comparadas com as membranas sintéticas. Soma-se a essas características o baixo custo e fácil manuseio, podendo ser armazenadas por longos períodos.

A importância da utilização de membranas biológicas está no grande auxílio que as mesmas oferecem no processo de cicatrização ou consolidação dos tecidos, principalmente nas situações de grande perda tecidual tais como queimaduras e ressecções neoplásicas malignas bem como na substituição de tecidos com lesões irreversíveis ou graves, como nos aneurismas, nas próteses vasculares e nos transplantes valvulares. Com a utilização das membranas, o tecido lesado poderá se recompor usando o biomaterial como base ou mesmo incorporá-lo na sua constituição como tecido de preenchimento sem que desenvolvam reações de rejeição. Em alguns casos, a biomembrana é fragmentada e absorvida pelo organismo, por se constituir de proteínas e tecido conjuntivo de sustentação, sem deixar resquícios da mesma.

Apesar da grande quantidade de pesquisas envolvendo principalmente membranas biológicas bovinas, caninas, suínas e também equinas, há relatos escassos de dados sobre a caracterização e utilização de membranas de caprinos, que, apesar de serem ruminantes, possuem características anatômicas e teciduais distintas dos bovinos.

Os caprinos encontram-se distribuídos por todo o território brasileiro, são utilizados para as mais diversas finalidades, entre elas a produção de carne, leite e couro. O pericárdio caprino é uma membrana com poucos relatos de sua utilização como biomaterial em pesquisas. Nas regiões em que ocorre a criação de caprinos para a produção de carne, é um material de fácil obtenção e de baixo custo, pois é um material desprezado durante o processo de abate.

Há necessidade na busca de novos materiais para serem utilizados no desenvolvimento de pesquisas vitais para a Medicina Veterinária. O uso do pericárdio caprino submetido aos mais diversos tratamentos químicos pode ser um biomaterial bastante útil para ser utilizado pelo Médico Veterinário em procedimentos cirúrgicos.

Objetivou-se neste trabalho avaliar a aplicabilidade do pericárdio de caprinos preservado em glicerina a 98% na correção de defeitos abdominais em ratos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Parede Abdominal

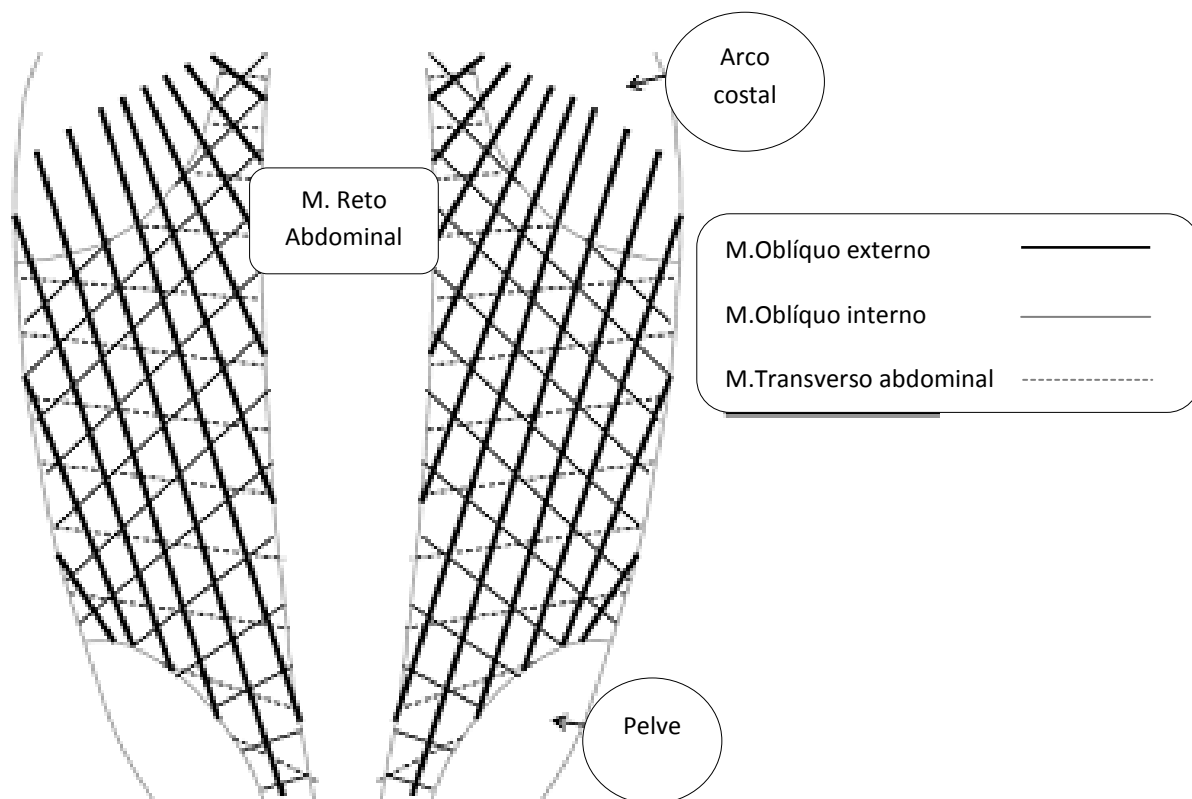


Figura 1: Parede abdominal de ratos, contendo os músculos que a compõem e sua disposição. Figura modificada de acordo com o original de :BROWN, S.H.M.; BANUELOS, K.; WARD, S.R.; LIEBER, R.L. Architectural and morphological assessment of rat abdominal wall muscles: comparison for use as a human model. *Journal of Anatomy*. v. 217, p.196-202. 2010.

A parede abdominal é composta por quatro músculos (reto abdominal, oblíquo externo, oblíquo interno e transverso abdominal), os quais são importantes para a estabilidade mecânica da espinha e da pélvis (BROWN et al., 2010). É essencialmente músculo-aponeurótica, revestida, de ambos os lados, por fâscias, tecido adiposo e epitelial, numa configuração homóloga (espelhada). É responsável pela manutenção da postura, além da contenção e dinâmica viscerais, envolvendo, sobretudo, os aparelhos: digestório, geniturinário e respiratório. Por conter tantos órgãos e não dispor de um arcabouço ósseo protetor, um grande número de doenças e traumatismos pode acometer a parede abdominal, do que decorrem inúmeras intervenções (FERREIRA, 2007). Ela é considerada uma estrutura dinâmica, por possuir complexa morfologia, vascularização e inervação entre os músculos, que desempenha um papel fundamental nas funções respiratórias e digestivas (GIROTTI et al., 2003).

Defeitos na parede abdominal podem surgir decorrentes de traumas, necroses, neoplasias entre outras causas, que acometem todas as espécies. A utilização de biomateriais é recomendada quando não há a possibilidade de fechamento adequado dos defeitos, e com isso

o biomaterial possibilita reparo livre de tensão que resulta em redução significativa da dor pós operatória (AMID, 1997)

Na Medicina Veterinária os defeitos cirúrgicos abdominais são comuns; eles podem surgir de predisposições genéticas (hérnias), neoplasias (carcinomas, mastocitomas e outros tumores), traumatismos (mordeduras, atropelamentos) ou criados temporariamente como parte do tratamento (não aproximação completa da sutura para lavagem abdominal). A utilização de membranas é indicada quando a tensão sobre a musculatura é muito grande, podendo acarretar na ruptura da linha de sutura, ou levar ao afastamento dos músculos abdominais com a conseqüente formação de hérnia incisional.

Martins (2009) afirma que o procedimento cirúrgico reconstrutivo da parede abdominal deve considerar a perda dos diferentes planos anatômicos que a constituem e, a função de suporte perdida deve ser restabelecida sempre que possível.

Segundo Dibello e Moore (1996) a obtenção ou desenvolvimento de um biomaterial para utilização na parede abdominal deve seguir alguns conceitos: prevenir a eventração; incorporar o remanescente da parede abdominal; prover suporte muscular dinâmico; promover a aproximação livre de tensão e assegurar que a parede reconstruída tenha sua força aumentada ao longo do tempo. Entre as diversas funções das membranas biológicas, estão a de fornecer arcabouço para orientação e para desenvolvimento de novos tecidos, mediante processos de reparação que restabeleçam a estrutura e a função do órgão afetado (BATISTA et al., 1996), ou podem ser moldadas para substituírem definitivamente determinada estrutura (MAZZANTI et al., 2001).

Diversos materiais naturais e sintéticos são utilizados na correção de defeitos da parede abdominal (BADYLAK et al., 2002; JENKINS et al., 1983). Testes são aplicados para avaliar a biocompatibilidade, formação de aderências viscerais (QUITZAN et al., 2003), reações inflamatórias (BRUN et al., 2002b).

2.2 Membranas Biológicas

Na década de 1960, o trabalho realizado por Pigossi (1964) com a utilização de duramáter canina conservada em glicerina foi o primeiro a utilizar membrana biológica como implante no Brasil. Desde então, as membranas biocompatíveis são muito úteis no tratamento de enfermidades na medicina veterinária, medicina humana e odontologia, funcionando como eficientes implantes biológicos para diversos usos, como: traqueoplastia (BRUN et al., 2002b), hernioplastias e rupturas diafragmáticas, no tratamento da regeneração óssea guiada (GASQUE et al., 2008), enxertos vasculares (GRECA et al., 2005) e valvulares (COSTA et al., 2005; CARPENTIER, 1977), regenerador de cápsula articular (BRANDÃO et al., 2006), implantes em ressecções cirúrgicas (HOELL et al., 2007). Associada a essas características, soma-se ainda a facilidade em sua obtenção, baixo custo, preparo simples, esterilização viável, facilidade na estocagem, pouca e/ou nenhuma reação tecidual (ALVARENGA, 1992), podem ser conservadas por anos, conforme estudo realizado utilizando o pericárdio equino como implante após um período de conservação de 11 anos em solução de glicerina a 98%, manteve as suas características anti-sépticas e anti-imunogênicas (BRUN et al., 2002b).

As membranas utilizadas na reparação cirúrgica podem ser de natureza inorgânica ou orgânica (PIGOSSI et al., 1971), absorvíveis ou não-absorvíveis, de origem biológica ou sintética, permanência temporária ou permanentemente, apresentam como principal característica a capacidade de se incorporarem ao tecido receptor sem causar reações que promovam sua rejeição e conseqüente eliminação (ALVARENGA, 1992; BASTOS et al.,

2005). Os implantes de origem biológica podem ser classificados segundo a relação doador-receptor, nos seguintes tipos: autógeno, homogêneo, isógeno e xenógeno. Autógeno, quando o receptor é o seu próprio doador. Nos implantes homogêneos, o receptor e o doador são da mesma espécie, contudo não compartilham antígenos de histocompatibilidade. Os implantes isógenos são quando doador e receptor possuem antígenos de histocompatibilidade. Os implantes classificados como xenógenos ocorrem quando o receptor e doador pertencem a espécies diferentes (ALVARENGA, 1992).

O uso de enxertos sintéticos como substitutos de tecidos orgânicos ou como carreador de células obtêm resultados satisfatórios, entretanto a maioria das membranas sintéticas são caras, de difícil processamento, não maleáveis e nem flexíveis, de difícil manuseio. Além disso, o número de reações de corpo estranho bem como o desenvolvimento de aderências em órgãos internos é grande quando materiais sintéticos são utilizados na parede abdominal (BADYLAK et al., 2001; MENON et al., 2001; SOIDERER et al., 2004; SILVER e MASS, 1994), não ocorre na mesma proporção em algumas membranas biológicas como o pericárdio bovino, portanto, estas últimas são mais indicadas por alguns autores para utilização em cavidades (FILHO et al., 2004, BASTOS et al., 2005).

As membranas biológicas mais estudadas como implantes são a fâscia lata, pericárdio, centro frênico, dura-máter, peritônio e túnica albugínea. Em estudos realizados por Guimarães (2006) e Guimarães et al. (2007), os autores avaliaram as propriedades tensiométricas do centro tendíneo, peritônio e pericárdio bovinos conservados em glicerina e a fresco, o pericárdio conservado em glicerina se mostrou a membrana mais resistente à estudos de tração.

2.2.1 Pericárdio

O pericárdio é um material anisotrópico composto principalmente por fibras colágenas e elastina imersas em uma matriz amorfa, a qual é constituída de ácido hialurônico e proteoglicanos. As fibras colágenas estão arrançadas em camadas, e em cada camada o seu direcionamento dar-se-á em diferentes direções; isto confere uma característica mecânica bastante peculiar ao pericárdio, pois o mesmo possui a habilidade de sofrer uma grande deformação durante o funcionamento do organismo.

É composto por dois folhetos: O pericárdio fibroso (folheto parietal) e o pericárdio seroso (folheto visceral ou epicárdio). O pericárdio fibroso é composto por um arranjo frouxo de fibras colágenas e fibras elásticas (tecido conectivo frouxo), enquanto o pericárdio seroso é composto por mesotélio contendo uma lâmina basal recobrimdo uma estreita camada de tecido conectivo frouxo (HOLT, 1970).

Demonstrou-se que a remoção de camadas pericárdicas, em pacientes que apresentam pericardite constritiva crônica, não é acompanhado de incapacidade reconhecível, portanto, sugere-se que o pericárdio não é essencial para a vida (SHABETAI et al., 1979).

O pericárdio apresenta certas funções protetoras. Por exemplo, a insuficiência mitral ou tricúspide piora mais rapidamente nos corações sem pericárdio e o edema pulmonar aparece mais facilmente. É um dos responsáveis por fazer o coração ocupar a posição funcional ideal, além de proteger os pulmões do traumatismo causado pelos batimentos cardíacos (DIDIO, 1985).

O colágeno consiste em uma proteína formada por uma tripla hélice. Esta configuração única é resultado da geometria espiralada de três polipeptídeos (denominados de cadeias α) (STEPLEWSKI et al., 2004). Atualmente têm-se identificados 22 tipos de

colágeno, o mais abundante no pericárdio bovino é o tipo I, sendo este formado por duas cadeias $\alpha 1$ e uma cadeia $\alpha 2$.

Segundo Braile et al. (1992; 1998) e Simionescu et al. (1993), o saco pericárdico bovino não consiste de uma malha homogênea de colágeno e elastina, mas é formado por regiões de espessura variável, que possuem maior ou menor riqueza de fibras, infiltrados ou degenerações

Apesar da boa biocompatibilidade do pericárdio bovino observada por alguns autores (GASQUE, et al., 2008), houve rápida degradação do colágeno quando a membrana não tinha sido tratada com substâncias que induzem a formação de ligações cruzadas tal como a glicerina e o glutaraldeído.

2.3 Meios de Preservação

A procura por métodos de conservação tecidual ocorre há séculos. Inicialmente a busca foi por substâncias para conservação de peças anatômicas, e desde a década de 1960 para a conservação de materiais biológicos (modificando ou não sua estrutura química e celular) para utilização em cirurgias reconstrutivas e reparadoras (MOTA et al., 2002).

Os meios de preservação devem ser capazes de conservar os biomateriais por longos períodos (BRUN et al., 2002a), preservar a integridade celular e impedir o crescimento de microorganismos (ALVARENGA, 1992). Ainda segundo Schmidt e Baier (2000), para o uso de materiais biológicos existe a necessidade de utilizar-se procedimentos físicos ou químicos para aumentar a resistência tecidual à degradação química e enzimática, reduzir a imunogenicidade do material, esterilizar e manter a integridade mecânica.

Os métodos de conservação para os diferentes tecidos podem ser classificados em duas categorias: os que mantêm a vitalidade celular e os que não mantêm (LEITE et al., 1979). A ausência de vitalidade da membrana é uma condição que não interfere no sucesso de sua implantação, pois este está diretamente relacionado à reação de reparação do tecido hospedeiro (PIGOSSI, 1964, 1967).

O uso de meios de conservação com a finalidade de aumentar a durabilidade dos tecidos fez com que fosse perdida a capacidade regenerativa do tecido tratado, o que permitiu que dispositivos pudessem ser criados a partir de tecidos biológicos (o principal componente destes tecidos é o colágeno); esses dispositivos foram denominados por Carpentier et al. (1969) de biopróteses. Vulcani et al. (2009) definiram que os biomateriais modernos não devem apenas preencher espaço, mas sim, estar associados a uma resposta biológica específica, disparada por sinais que incluem: correntes elétricas, distribuição eletrônica, conformação molecular, estado de agregação ou propriedades físico-químicas locais particulares, características essas que podem ser introduzidas por arranjos especiais de grupos funcionais sobre uma estrutura polimérica, reações de reticulação, propriedades particulares de superfícies e arranjos macromoleculares.

O primeiro agente químico utilizado no tratamento de membranas biológicas no Brasil foi a solução de glicerina (PIGOSSI, 1964); durante muitos anos foi a única solução utilizada e ainda hoje na medicina veterinária é a mais usada.

Como métodos de conservação alternativos de baixo custo, temos a solução alcoólica de tintura de timersol 1:1000 (ALVARENGA, 1992; MOTA et al, 2002); polivinilpirrolidona

(PVPI) (NETO et al., 2000; MOTA et al, 2002); solução hipersaturada de açúcar (COSTA NETO et al, 1997; MAZZANTI et al., 2001; MOTA et al, 2002), mel não processado (AMENDOLA & SHOSSLER, 2000) e solução hipersaturada de sal (BRUN et al., 2002a).

O glutaraldeído é o agente químico mais bem sucedido e por isso amplamente aceito, ele age reduzindo as propriedades imunogênicas e antigênicas e prolongando a integridade estrutural e mecânica, contudo a calcificação e citotoxicidade decorrente de resíduos do glutaraldeído (GOLOMB et al., 1987), tem levado pesquisadores a busca de conservantes químicos mais seguros, além de métodos enzimáticos ou físicos que possam ser empregados para minimizar as complicações decorrentes do tratamento por glutaraldeído.

A principal vantagem dos tratamentos físicos é a não introdução de materiais químicos, consequentemente não há a produção de resíduos por este método de tratamento, contudo podem ocorrer efeitos indesejáveis no material biológico (MIYATA et al., 1992).

Na medicina humana após o tratamento químico dos tecidos biológicos, é realizada a esterilização deste material para a sua aplicação clínica, pois quando existe a contaminação da bioprótese, dependendo da virulência da bactéria, podem ocorrer elevadas taxas de mortalidade, além do custo e risco de uma nova intervenção cirúrgica para substituir a prótese (SHAMIS et al., 2009). Com isso o emprego de técnicas de esterilização é de fundamental importância para eliminar estes riscos.

Sung et al. (1997) relatam que os diferentes métodos de esterilização empregados para biomateriais oriundos de pericárdio bovino, como o calor seco, vapor pressurizado e radiação gama, não são totalmente recomendados, pois acarretam modificações nas ligações cruzadas, o que torna o material mais frágil, reduz a sua força de tensão e acelera o processo de degradação. O óxido de etileno tem a possibilidade de deixar resíduos, que mesmo em pequenas quantidades são considerados prejudiciais para os tecidos. A busca por novos métodos é constante, conforme o trabalho de Shamis et al. (2009) com o uso de microondas não térmico, no qual demonstrou que houve a inativação de 97% das bactérias patogênicas presentes em um biomaterial de pericárdio bovino, sem que houvesse modificações nas propriedades mecânicas e térmicas do biomaterial avaliado.

2.3.1 Glicerina

A glicerina é uma pequena molécula de três átomos de carbono com três grupamentos hidroxila, desidrata os tecidos através da remoção da água intracelular, sem alterar as concentrações iônicas das células, e é um eficaz fixador e protetor da integridade celular. Tem ação antimicrobiana conforme observado por Rodaski et al. (2000), exceto contra formas esporuladas. É biologicamente inerte e aprovada pelo Food and Drug Administration (FDA) na composição de cosméticos e medicamentos de uso tópico (WELLS et al., 2006). Após a implantação, os materiais biológicos mantidos em glicerina atuam como uma estrutura de sustentação temporária e orientam o crescimento do tecido vivo no leito receptor (PIGOSSI, 1964, 1967).

Comparado com os demais métodos de preservação tecidual, a glicerina é comprovadamente um método relativamente simples e pode ser armazenado por mais de 5 anos a 4°C (RICHTERS et al., 1996). A glicerina a 98% é um meio de conservação bastante utilizado em membranas, pois, apresenta como vantagens o baixo custo e propriedade antisséptica (ALVARENGA, 1992; OLIVEIRA, et al., 2009), reduz a antigenicidade dos tecidos conservados e assim dispensa a necessidade de utilizar fármacos imunossupressores

durante os períodos trans e pós-operatórios, além de preservar a textura do tecido e aumentar a resistência à tração, sem alterar o grau de elasticidade (PIGOSSI, 1967; OLIVEIRA et al., 2009).

Pigossi et al. (1971), relataram a impossibilidade de investigação da transmissão de partículas virais por meio de membranas biológicas tratadas com glicerina 98% por motivos técnicos, no entanto consideram esta solução de tratamento capaz de inativar partículas e evitar a transmissão de moléstias a vírus quando em conservação prolongada e à temperatura ambiente. Porém, Trani (2006) demonstrou que, mesmo à temperatura ambiente e por período de 30 dias, o vírus rábico foi mantido em pelo menos 50% das amostras tratadas.

Brun et al. (2004) avaliaram a utilização do centro frênico canino preservado em glicerina a 98% na reparação de defeito da parede abdominal de ratos e constataram que o mesmo foi sendo substituído progressivamente pelo tecido do hospedeiro, o que comprovou que o centro frênico conservado nesse meio serve como arcabouço para o desenvolvimento do tecido vivo. Da mesma forma aconteceu no estudo de Mazzanti et al. (2000) que utilizaram cordão umbilical bovino conservado em glicerina a 98%, o mesmo foi substituído progressivamente por tecido de granulação e regenerou um defeito cirúrgico traqueal em cães.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção do material:

Foram coletados pericárdios oriundos de caprinos e bovinos recém abatidos no Abatedouro Municipal da Cidade de Esperança, localizada no estado da Paraíba. As membranas foram estocadas em solução fisiológica 0,9% para transporte até o Laboratório de Fisiologia Aplicada do Departamento de Ciências Veterinárias da Universidade Federal da Paraíba onde foram processadas com objetivo de retirar sujidades, tecidos adjacentes e adiposo, separadas por espécie, estocadas e conservadas em solução de glicerina a 98% por, no mínimo, 30 dias antes de sua utilização.

3.2 Tratamento do Material:

As membranas foram acondicionadas em frasco estéril, contendo glicerina a 98% por um período mínimo de 30 dias e mantidas à temperatura ambiente. Após o tempo de estocagem das membranas e antes de seu uso, elas foram lavadas copiosamente e hidratadas por, no mínimo, 15 minutos em solução fisiológica (Figs. 2 e 3)

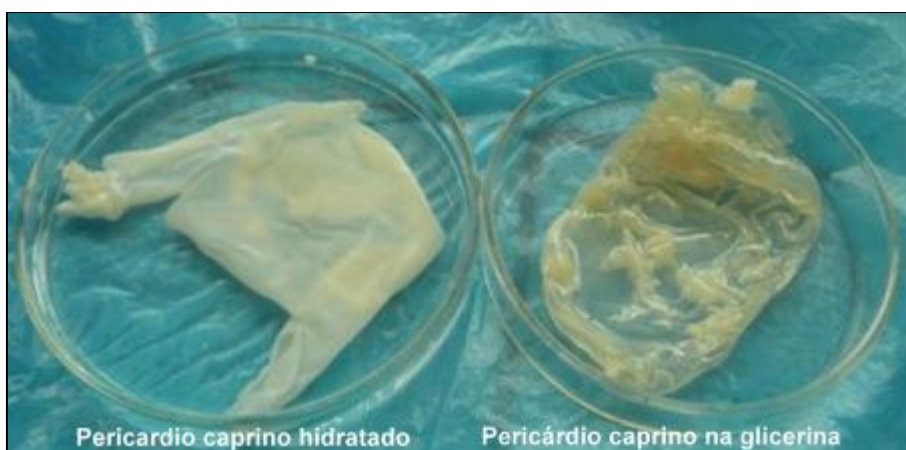


Figura 2: Pericárdio caprino conservado em glicerina a 98% por pelo menos 30 dias, antes e depois de ser hidratado com solução fisiológica.

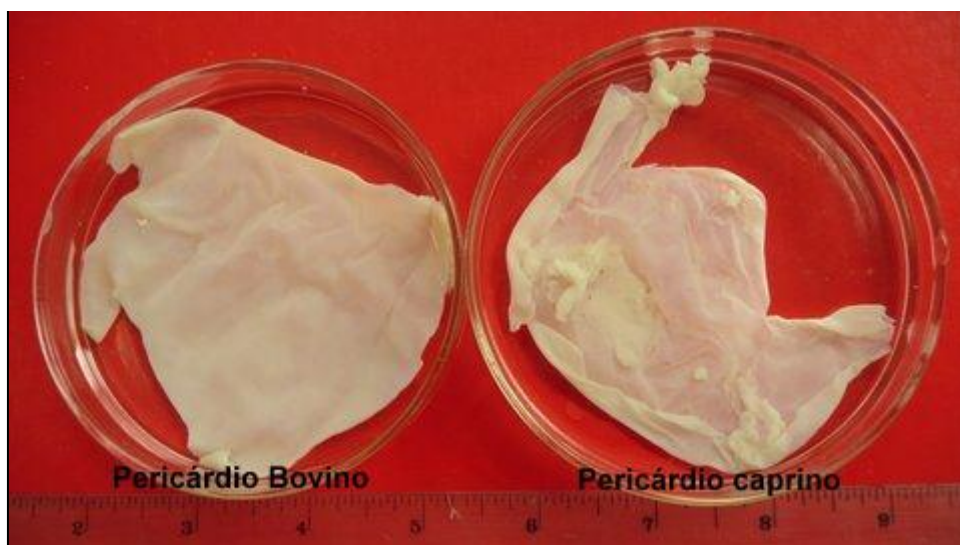


Figura 3: Pericárdios bovino e caprino hidratados em solução fisiológica.

3.3 Seleção dos Animais:

Os animais utilizados foram oriundos do biotério do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba, onde eram mantidos em gaiolas individuais até o dia do procedimento cirúrgico.

Para elaboração deste estudo foram obedecidas as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Foram selecionados 9 ratos Wistar, saudáveis, divididos em três grupos contendo 3 animais em cada grupo de acordo com a descrição abaixo:

- GRUPO I: animais implantados com pericárdios bovino e caprino mantidos em glicerina 98% e abatidos aos 7 dias após a implantação;
- GRUPO II: animais implantados com pericárdios bovino e caprino mantidos em glicerina 98% e abatidos 14 dias após a implantação;
- GRUPO III: animais implantados com pericárdios bovino e caprino mantidos em glicerina 98% e abatidos aos 21 dias após a implantação.

3.4 Anestesia:

Para a realização da cirurgia, os animais foram anestesiados (após jejum de 12h) com tiopental sódico na dose de 40mg.kg^{-1} , pela via intraperitoneal. Após atingido o plano anestésico, o animal era colocado em decúbito dorsal, tricotomizado na região abdominal e realizada a antissepsia.

3.5 Cirurgia:

A incisão cirúrgica iniciou-se próxima à região xifóide e estendeu-se até próximo à região inguinal. Dois segmentos com o tamanho de $2,0\text{ cm}^2$ cada um (tamanho definido com o emprego de molde confeccionado previamente), correspondentes a região inguinal esquerda e direita, contendo a musculatura abdominal associada ao peritônio, foram removidos, para substituição pelo biomaterial (o qual foi confeccionado no tamanho de $20 \times 10\text{ mm}$ imediatamente antes do ato cirúrgico com o uso de molde igual ao utilizado na cirurgia) que foi cuidadosamente suturado aos músculos com fio de sutura náilon monofilamentoso 3-0 em um padrão contínuo simples. No defeito localizado no lado esquerdo do animal foi utilizado o pericárdio caprino (membrana teste) e no lado direito o pericárdio bovino (controle positivo). Na região retroumbilical, cranialmente localizada aos dois defeitos inguinais, foi realizada uma incisão puntiforme na linha alba até acessar a cavidade abdominal e, com o uso de uma tesoura de íris, a incisão foi ampliada em aproximadamente 1cm para o lado direito e 1 cm para o lado esquerdo e posteriormente suturada com fio náilon monofilamentoso 3-0 em padrão contínuo, sendo utilizado como controle negativo (Fig. 4)

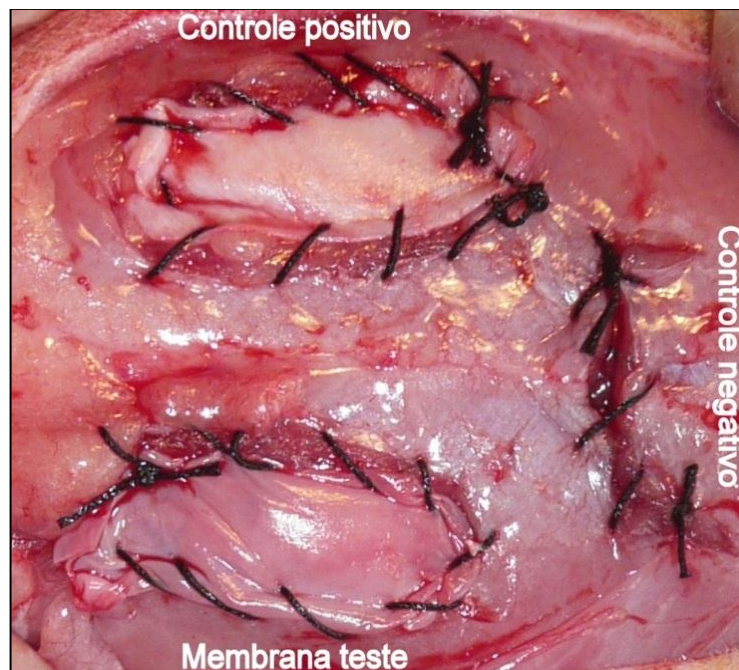


Figura 4: Parede abdominal de rato, imediatamente após a realização de dois defeitos cirúrgicos e sua correção com pericárdios caprino (teste) e bovino (controle positivo), além da incisão e rafia da parede abdominal (controle negativo).

Após o procedimento de implantação das membranas, a pele foi rafiada com fio de náilon monofilamento 3-0 em padrão contínuo. A analgesia pós-operatória foi realizada com aplicação de buprenorfina na dose $0,1\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$, por via intramuscular.

Diariamente ao ser realizado o manejo, procedeu-se a limpeza das feridas cutâneas com o uso de gaze e PVPI tópico até o 3º dia de pós operatório.

3.6 Coleta e preparo do material implantado:

Após o tempo determinado para cada grupo, os animais foram abatidos através de deslocamento cervical. A sutura da pele foi retirada e logo em seguida realizada dissecação delicada através da cicatriz cutânea utilizando-se uma tesoura de Metzemaum, com a pele sendo cuidadosamente separada da musculatura. Toda a parede abdominal foi retirada, com as áreas operadas incluídas para avaliação macroscópica.

Posteriormente foram separadas as porções do controle negativo (cicatriz da incisão cranial suturada com fio náilon monofilamento) e de cada um dos implantes (pericárdio caprino ou bovino), com a musculatura adjacente, e fixadas em formol 10% em frascos individualizados e devidamente identificados.

Foram coletadas 3 amostras teciduais de cada animal:

- controle positivo com a parede abdominal adjacente;
- controle negativo com a parede abdominal adjacente;
- membrana teste com a parede abdominal adjacente.

Todas as amostras foram conservadas, fixadas e identificadas, em seguida foram desidratadas, diafanizadas e embebidas em parafina. Os blocos com as amostras foram seccionados em micrótomo, a 5 micrômetros de espessura e coradas com Hematoxilina-Eosina.

3.7 Avaliações clínica, macroscópica e microscópica.

No período trans-cirúrgico foram avaliadas a facilidade de manipulação e de implantação das membranas biológicas.

Os animais foram observados diariamente para observação de sinais de inflamação, além de complicações como infecção e deiscência de sutura.

Na avaliação macroscópica procedeu-se o exame das superfícies peritoneais quanto ao desenvolvimento de novo peritônio, vascularização e tecido conectivo, bem como para a detecção de complicações da cicatrização como infecções, hérnias, fistulas, adesões, seromas, ruptura dos implantes e perdas teciduais.

A força das aderências foi avaliada de acordo com o sistema de escore utilizado por Jenkins (1983):

- (-) – Sem aderências;
- (+) – Frouxamente aderido, sendo facilmente rompida a adesão;
- (++) – Moderadamente aderido, sendo liberado através de dissecação romba;
- (+++) – Firmemente aderido, sendo liberado somente com o uso de material cortante.

As lâminas histológicas foram observadas à microscopia de luz e fotografadas. Foram avaliadas quanto às reações inflamatórias agudas e crônicas bem como presença de fibrose, encapsulamento ou reabsorção do material.

Os padrões inflamatórios foram classificados de acordo com a intensidade da reação inflamatória em:

- leve (até 5 células inflamatórias por campo);
- moderado (de 5 a 10 células inflamatórias por campo);
- intenso (mais de 10 células inflamatórias por campo).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A manipulação das membranas para o corte, nos tamanhos de 2cm², foi realizado após as mesmas terem sido lavadas e hidratadas por no mínimo 15 minutos. O pericárdio bovino, por ter espessura maior que o pericárdio caprino, foi manipulado de forma mais fácil por se manter firme na hora do corte, enquanto o pericárdio caprino por ser bastante flexível necessitou de mais habilidade manual para ser cortado no tamanho pré-estabelecido.

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados sem intercorrências; no momento de suturar-se os pericárdios à parede abdominal, o pericárdio caprino se mostrou de melhor manipulação, pois a agulha do fio de sutura 3-0 penetrava facilmente o tecido, e a borda de sutura mostrava-se melhor aproximada em decorrência da maior maleabilidade da membrana. No pericárdio bovino a agulha enfrentava resistência em penetrar a membrana, o que levava à necessidade de modificar-se a pegada no porta agulha e a colocação de mais força para realização da sutura.

Talvez essa maleabilidade possa vir a ser modificada, pois segundo Abrahão et al. (1992) o aumento do tempo de conservação em glicerina promove a diminuição da rigidez do material, aumentando sua elasticidade. Reyes (1993), comparando membranas biológicas sem conservação e conservadas em glicerina a 98%, com grupos de membranas mantidos a temperatura ambiente e congeladas (- 16°C), concluiu que nos grupos em que as membranas foram conservadas em glicerina a 98% por 30 e 40 dias independentes da temperatura de armazenamento, tiveram aumentos significativos nos valores de alongamento quando comparadas com as membranas não preservadas. Guimarães (2006) afirmou que a glicerina diminuiu a rigidez das membranas testadas (pericárdio, peritônio e centro tendíneo bovinos) sem interferir na resistência dos mesmos.

Os sinais de inflamação (hiperemia, hipertermia, dor à palpação) foram discretos e não eram mais observados ao 3º dia de pós-operatório, quando interrompeu-se então os curativos diários. O animal 1 do grupo II (14 dias) apresentou deiscência de sutura de pele três dias após a cirurgia, sendo a mesma tratada como ferida aberta através da limpeza com solução fisiológica e PVPI tópico diluído a 0,01%. Aos 10 dias de pós operatório a região estava completamente cicatrizada, com exceção de pequena área próxima à cicatriz umbilical.

O animal 3 do grupo II (14 dias) apresentou aumento de volume na região inguinal esquerda 5 dias após o procedimento cirúrgico, que à palpação apresentava consistência firme, sem sinal de dor. Foi realizado o acompanhamento visual e o mesmo foi regredindo progressivamente até não ser mais notado, aos 10 dias de pós-operatório. No momento da coleta, o implante estava no local adequado sem deiscência de sutura. Foi observada a presença de pequeno acúmulo de material purulento bilateralmente na região cranial ao qual cada membrana estava suturada

Em todos os animais o tecido subcutâneo estava aderido à musculatura, mesmo sem a realização de sutura de aproximação para redução de espaço morto. Os animais que foram abatidos aos 7 dias demonstraram aderência mais firme que os demais grupos, fato esse relacionado ainda a fase inflamatória inicial. Ao exame macroscópico, foi possível reconhecer em todos os animais a localização dos implantes, tanto pela sua coloração diferenciada quanto pela presença do fio de sutura. Em todos os casos o defeito muscular estava adequadamente preenchido pelo pericárdio, não sendo observadas reação de eliminação da membrana (Fig. 5).

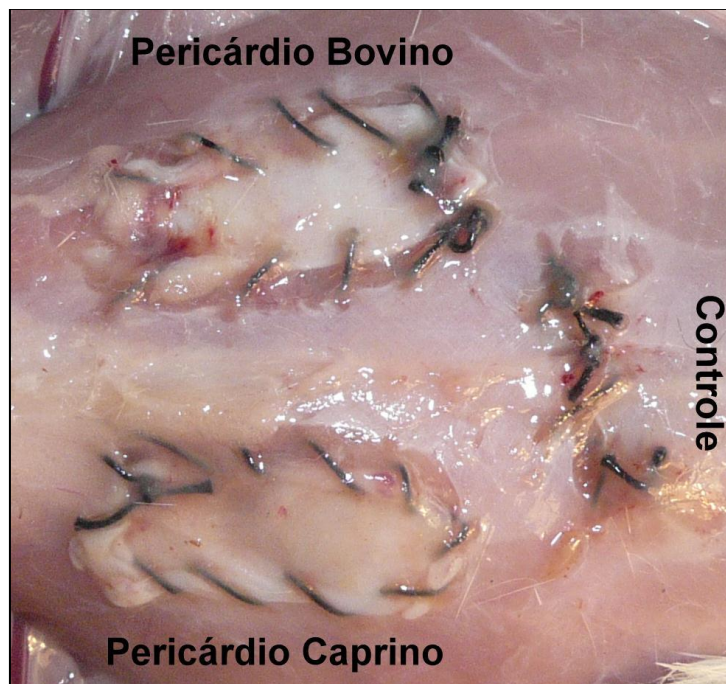


Figura 5: Face subcutânea da parede abdominal de rato 7 dias após a cirurgia para produção de dois defeitos cirúrgicos e sua correção com pericárdios caprino (teste) e bovino (controle positivo), além da incisão e rafia da parede abdominal (controle negativo).

Na face peritoneal, foram observadas aderências individuais nos locais onde o pericárdio estava implantado, sendo constituída essa aderência do omento. Era nítida a neovascularização sobre as membranas. Não havia aderências difusas entre os implantes (Figs. 6, 7 e 8).

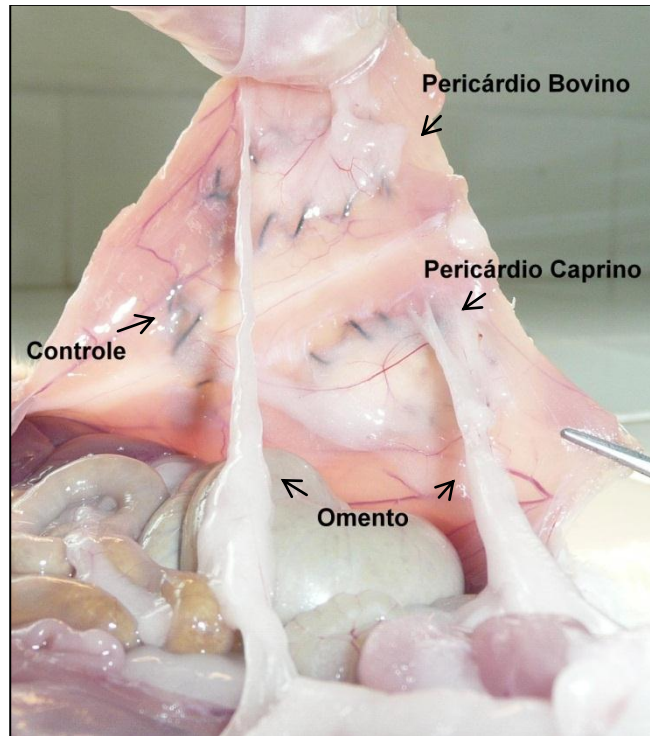


Figura 6: Face peritoneal da parede abdominal de rato abatido 7 dias após a cirurgia para produção de dois defeitos cirúrgicos e sua correção com pericárdios caprino (teste) e bovino (controle positivo), além da incisão e rafia da parede abdominal (controle negativo).

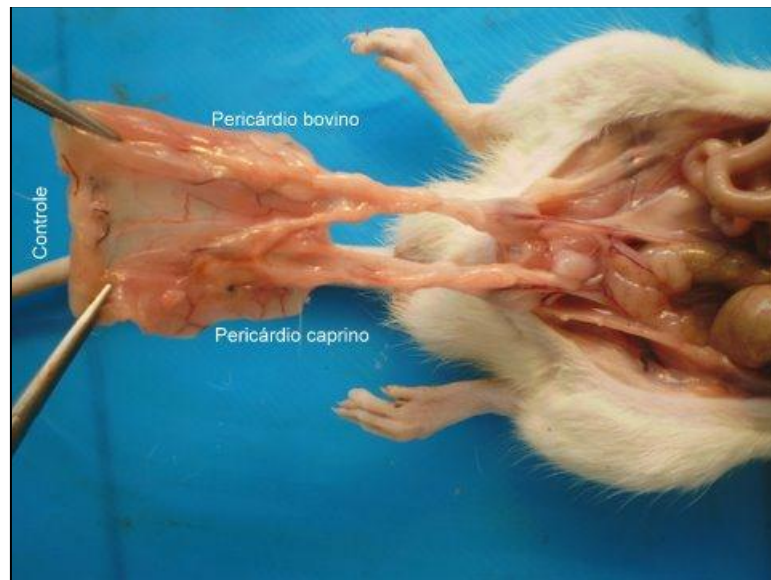


Figura 7: Face peritoneal da parede abdominal de rato abatido 14 dias após a cirurgia para produção de dois defeitos cirúrgicos e sua correção com pericárdios caprino (teste) e bovino (controle positivo), além da incisão e rafia da parede abdominal (controle negativo).

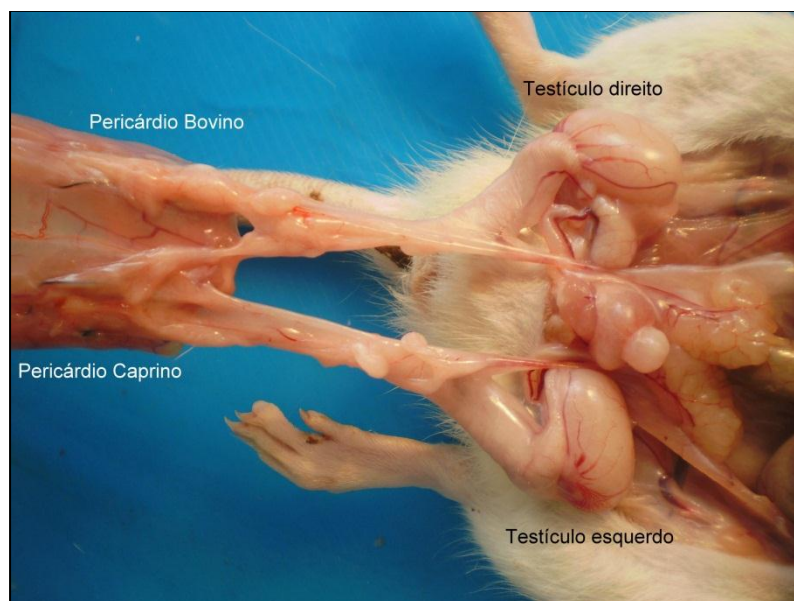


Figura 8: Face peritoneal da parede abdominal de rato abatido 21 dias após a cirurgia para produção de dois defeitos cirúrgicos e sua correção com pericárdios caprino (teste) e bovino (controle positivo), evidenciando a origem das aderências.

As aderências viscerais podem ser formadas por diversos fatores, entre eles: trauma mecânico, isquemia tissular, infecção e presença de corpo estranho, e está relacionada a processo inflamatório que produz exsudato rico em fibrinogênio (GONÇALVES et al., 2000). A fibrina formada induz a adesão de superfícies distintas juntamente com a proliferação de tecido de granulação (SCALES, 1953). Segundo Costa (2009), este fato pôde ser justificado pelo contato do omento com a junção do implante ao músculo, tendo contato, conseqüentemente, com o exsudato rico em fibrinogênio produzido na reação inflamatória, inclusive tal aderência ocorre no uso de enxertos homólogos como relatado por Pinto Filho et al. (2003). O omento é a principal estrutura aderida quando do uso de pericárdio como implante (COSTA, 2009; SANTILLÁN-DOHERTY et al., 1995; QUITZAN et al., 2003), o que pode ser observado também em nosso estudo.

Segundo Amico (2005), a aderência com o omento é até desejada em humanos, como nas situações em que não há peritônio para o fechamento da cavidade e a prótese é colocada na cavidade abdominal livre, pois a aderência dos implantes nas vísceras é geralmente indesejável, sendo motivo de complicações futuras.

Observamos que na maioria das aderências ocorreram próximas ao testículo (figs. 7, 8), mais especificamente o local onde se encontra o epidídimo. Não foram encontradas referências com relação a essa origem. Uma explicação possível seria que, como os defeitos localizavam-se caudalmente no abdômen, praticamente na região inguinal, estariam mais próximos dos testículos, além de estes serem muito móveis.

Os animais foram inclusos em uma tabela classificatória (tabela 1) de acordo com o escore pré-estabelecido para aderências:

Grupo I (7 dias)	P. Bovino	P.Caprino	Controle
Animal 1	+	+	-
Animal 2	+	+	-
Animal 3	+	+	-

Grupo II (14 dias)	P. Bovino	P.Caprino	Controle
Animal 1	+	+	-
Animal 2	+	+	-
Animal 3	+	+	-

Grupo III (21 dias)	P. Bovino	P.Caprino	Controle
Animal 1	++	++	-
Animal 2	++	++	-
Animal 3	++	++	-

Tabela 1: Distribuição dos animais e classificação das aderências de acordo com o sistema de escore usado por Jenkins (1983)

Raftery et al. (1973) analisaram, através de microscopia eletrônica, a regeneração do peritônio no intervalo de tempo entre 12 horas e 14 dias após a criação de defeitos peritoneais em ratos. Aos três dias de pós-operatório, os autores observaram o surgimento de célula mesenquimal primitiva na superfície de peritônio lesado. Após cinco dias, células maduras com microvilosidades eram identificadas, e após oito dias, tornava-se evidente uma camada completa de células mesoteliais, cobrindo completamente o defeito. Mais recentemente e com modelo experimental muito interessante, Baptista et al. (2000) comprovaram o papel da mesotelização na prevenção do desenvolvimento de aderências. Os autores estudaram ratos submetidos a ressecções de parede abdominal e implante intraperitoneal de próteses de polipropileno (PP) através de repetidas laparoscopias realizadas com 1, 3, 7, 14 e 28 dias após a cirurgia. Com 24 horas da cirurgia, algumas aderências entre a prótese e o omento estavam invariavelmente presentes; no sétimo dia, a área envolvida com aderências aumentara consideravelmente. Aos 14 e 28 dias, não foi observado aumento na extensão das aderências já estabelecidas na primeira semana de pós-operatório. A microscopia eletrônica mostrou que aos sete dias já existe a cobertura completa de células mesoteliais com abundantes microvilosidades sobre a prótese, o que parece explicar o fato de não se formarem novas aderências após a primeira semana.

A divisão em três momentos diferentes de coleta das membranas, serviu para que a análise de biocompatibilidade pudesse ser acompanhada de acordo com a evolução, para avaliação das reações inflamatórias agudas e crônicas bem como possível fibrose, encapsulamento ou reabsorção do material.

Quanto a análise histopatológica, a descrição foi a seguinte:

- Grupo I (membrana caprina): a membrana se apresentou íntegra formada por feixes acidofílicos de tecido conjuntivo denso e modelado, com grande quantidade de tecido cicatricial formado por fibroblastos e fibrócitos em meio a uma matriz colágena, a qual penetra intimamente em toda extensão da membrana, mas estando em maior concentração na periferia da membrana. Boa coaptação na interface membrana/músculo e ausência de rejeição. O tecido aderido à membrana observado microscopicamente se constituiu de tecido adiposo formado por adipócitos bem dispostos e bem aderidos à membrana, exibindo evidente neovascularização e discreto infiltrado inflamatório neutrofílico e eosinofílico, principalmente na face da membrana voltada para dentro do peritônio. As células inflamatórias presentes estavam em pouca quantidade, predominantemente neutrófilos e eosinófilos, e poucos macrófagos. Presença de alguns vasos com grande quantidade de hemácias no seu interior,

indicando vasodilatação inflamatória, que evidentemente pode ser associada à neovascularização observada no tecido adiposo aderente.

- Grupo II (membrana caprina): idem ao grupo I, mas com infiltração inflamatória bem menos evidente, com menor quantidade de eosinófilos e neutrófilos, porém, com uma quantidade maior de macrófagos e linfócitos. Observada menor quantidade de membrana (o que pode indicar maior absorção).

- Grupo III (membrana caprina): idem aos grupos I e II. Uma quantidade de membrana ainda menor foi encontrada. Presença de diferentes células inflamatórias, predominância de macrófagos, linfócitos e células gigantes. Excelente coaptação na interface membrana/músculo indicando boa biocompatibilidade e evidente incorporação da membrana à musculatura.

- Grupos I, II e III (membranas bovinas): foram encontradas as mesmas alterações presentes na membrana caprina em cada grupo, ou seja, não houve diferença microscópica entre elas. Uma observação significativa é quanto à maior espessura da membrana bovina, quando comparada à membrana caprina.

O controle negativo se comportou da mesma maneira em todos os animais. O uso deste local de avaliação, foi para descartar possíveis infecção ou interferências na cirurgia em relação à técnica e procedimentos. Observou-se completa cicatrização da incisão, com perfeita união das duas extremidades musculares incisadas, presença de tecido conjuntivo frouxo e predominância de fibroblastos e fibrócitos em grande quantidade e pouco infiltrado inflamatório neutrofilico.

O número de neutrófilos constitui uma das principais características da reação inflamatória aguda. Com o decorrer do processo inflamatório reparacional, a quantidade dessas células tende a diminuir, cedendo lugar a outros componentes que caracterizam mais a fase crônica (ou reparadora) (HADDAD FILHO et al., 2007), conforme aconteceu no presente trabalho, demonstrando-se na fase inicial (sete dias) um número de neutrófilos maior do que aos 14 dias e praticamente inexistente aos 21 dias.

No estudo de Haddad Filho et al. (2004) com pericárdio bovino, os autores observaram uma tendência de aumento das células de fase crônica no decorrer dos períodos de sete a trinta dias. Além de macrófagos, a presença de células gigantes ao redor dos implantes no Grupo III (21 dias) de forma leve, é característica de processo inflamatório crônico, conforme outros autores afirmam ter sido observadas ao redor de muitos tipos de implantes de biomateriais (TANG et al., 1995; FILADELPHO et al, 2009).

O grupo teste (membrana caprina) se comportou de maneira muito semelhante ao grupo controle positivo (membrana bovina) apresentando estrutura e biocompatibilidade semelhantes ao não exibir grande infiltrado inflamatório e boa coaptação na interface membrana/músculo. A diferença na espessura entre as duas espécies (o pericárdio bovino é aproximadamente 3 vezes mais espesso), sugere que o material de origem caprina possa ser utilizado em procedimentos cirúrgicos mais delicados ou em animais de menor porte, nos quais existe a indicação de uso do pericárdio bovino.

O modelo experimental utilizado foi uma tentativa de reduzir o número de animais empregados e refinar a forma de avaliação, buscando a empregabilidade sempre que possível do princípio dos 3 Rs de Russell e Burch (1959) (Replace (substituir), Reduce (reduzir), Refine (refinar)). Não foram encontrados na literatura relatos deste modelo experimental em ratos. Clarke et al. (1996) utilizaram um modelo similar comparando os implantes de submucosa intestinal e malha de polipropileno no abdômen de cães e Vulcani et al. (2008) realizaram o implante cirúrgico na fáscia interna do músculo reto do abdome de equinos, amostras tratadas em solução alcalina seguida de liofilização, amostras tratadas em solução de glicerina a 98% e amostras apenas liofilizadas para serem retiradas com uma, nove e 18

semanas após a implantação a fim de verificar a formação de aderência tecidual, mas não houveram aderências viscerais.

Como os estudos para avaliação de biomateriais em parede abdominal geralmente recorrem à criação de grandes defeitos únicos e a utilização de um único biomaterial por grupo, pensou-se que a redução do tamanho dos defeitos abriria a possibilidade de implantar mais do que um biomaterial por animal, de modo que ele possa ter seu próprio controle positivo.

A visualização, à necrópsia, da migração individual do omento para o local onde foram implantados os pericárdios, sem comunicação entre as áreas, além da não ocorrência de aderência no local onde foi realizada a sutura sem implante, sugere que a resposta ocorre individualmente para cada implante. Um fato que possibilitou a utilização deste modelo, foi que as membranas foram conservadas com a mesma substância química, caso fossem substâncias diferentes, a chance de interferência no resultado de cada implante deveria ser considerada. Houve dúvida se haveria interferência da proximidade entre os locais escolhidos para o implante e os biomateriais utilizados, mas de acordo com o trabalho de PINTO et al. (1993) a distância de 7mm entre implantes subcutâneos de pericárdio bovino e dacron, foi suficiente para não ocorrência de interferência através de avaliações histológicas. No trabalho de Filho et al. (2004), pericárdio bovino e politetrafluoroetileno expandido foram introduzidos no dorso de ratos, por meio de duas incisões paralelas que distavam 2cm uma da outra, para que não houvesse comunicação entre elas, e na avaliação histológica não houve interferência com relação a reação inflamatória entre os implantes.

Apesar da uniformidade das colônias de animais de laboratório (algumas inclusive de animais isogênicos), existe a variação que cada indivíduo manifesta, causando alterações no resultado. Com o emprego deste modelo experimental também respeitou-se a individualidade de cada animal, pois a resposta do indivíduo foi a mesma para as três áreas avaliadas.

A escolha do fio de sutura náilon monofilamentar de número 3-0 foi em decorrência do seu diâmetro pequeno e a sua baixa reatividade, para interferir o mínimo possível com os implantes.

Com relação à origem natural do biomaterial, Banerjee et al. (2011) expõem sobre o potencial da utilização de colágeno de origem caprina como alternativa para utilização em engenharia tecidual, haja visto a possibilidade de transmissão de príons com a utilização de material de origem bovina, não havendo relato de casos com outras espécies.

Apesar da grande quantidade de pesquisas envolvendo principalmente membranas biológicas bovinas (BATISTA et al., 1996; FILHO, et al., 2004; GRECA, et al., 2005; BRANDÃO, et al., 2006; GUIMARÃES, et al., 2007; HOELL et al., 2007; GASQUE, et al., 2008; COSTA, 2009; MARTINS, 2009), caninas (BATISTA et al., 1996; BRUN, et al., 2002a; BRUN, et al., 2004), suína (BATISTA et al., 1996; GRECA, et al., 2005), equina (BATISTA et al., 1996; BRUN, et al., 2002b), e de pacas (CAMARGO, 2009), há relatos escassos de dados sobre a caracterização e utilização de membranas de caprinos (ALMEIDA, 1996) que, apesar de serem ruminantes, apresentam pericárdio com características anatômicas e teciduais distintas dos bovinos.

Segundo Abílio et al. (2003), a Medicina Veterinária tem um campo enorme de estudo sobre materiais e procedimentos de baixo custo, de forma que possam ser utilizados na rotina. A utilização de materiais biológicos de origem animal e vegetal que ainda não foram explorados é um campo de amplas possibilidades.

Vulcani et al. (2009) relatam que o desenvolvimento de novas técnicas de alteração de tecidos orgânicos animais e vegetais proporcionaram melhor aceitação dos implantes pelos hospedeiros, em relação aos materiais sintéticos. É esperado que a preocupação principal não seja a origem sintética ou natural dos biomateriais, mas sim a reprodutibilidade aliada aos custos e biofuncionalidade. Muito provavelmente a hibridação, a formação de compósitos,

seja alvo no desenvolvimento de novos materiais, desde que cumpram a função de estimulação celular adequada. Dessa forma, modificações químicas podem ser realizadas no pericárdio de origem caprina elevando o seu potencial, melhorando ou modificando as propriedades do colágeno presente, sejam elas alterações mecânicas, estruturais ou físico-químicas, e esse biomaterial resultante pode ter desde aplicações genéricas até uma utilidade reparadora bem específica.

Considerando-se a disponibilidade deste biomaterial em locais distantes dos grandes centros, uma vez que a criação e abate de caprinos está bastante pulverizada em várias regiões do país, pode-se avaliar a conveniência da utilização do pericárdio caprino na prática cirúrgica veterinária, desde que sejam observados os cuidados de seleção criteriosa da membrana a ser utilizada, limpeza cuidadosa do pericárdio e o armazenamento adequado em glicerina a 98% ou em outro método de conservação pelo período adequado.

5 CONCLUSÃO

O pericárdio caprino conservado em glicerina 98% implantado na parede abdominal de ratos mostrou-se biocompatível e com características similares ao pericárdio bovino, podendo substituí-lo como biomaterial no reparo de defeitos abdominais.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ABÍLIO, E. J. Ileoplastia em Cães - Estudo Experimental. 2003. 38p. **Tese** (Doutorado em Ciências) -, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro – RJ.

ABRAHÃO, M. S.; SHIMANO, A. C.; PAULIN, J. B. P.; DALECK, C. R. Estudo comparativo da resistência a tração do peritônio de bovino a fresco e conservado em glicerina. In: Fórum Nacional de Ciência e Tecnologia em Saúde, 1., 1992, Caxambu, MG. **RESUMO EXPANDIDO**. Caxambu: SBEB, p.22-25, 1992.

ALMEIDA, E. L. Reconstrução do esôfago cervical de cães com pericárdio de caprino conservado em glicerina a 98% ou refrigerado em solução fisiológica a 0,9% - Estudo experimental. São Paulo - SP., 1996. 72 p. **Tese** (Doutorado em Medicina Veterinária) - Curso de Pós-graduação em Cirurgia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. São Paulo.

ALVARENGA, J. Possibilidades e limitações da utilização de membranas biológicas preservadas em cirurgia. In: DALECK, C.R.; BAPTISTA, L.C.; MUKAI, L.S. **Tópicos em cirurgia de cães e gatos**. Jaboticabal: FUNEP-UNESP, p.33-42, 1992.

AMENDOLA, G. F.; SCHOSSLER, J.E.W. traqueoplastia em coelhos com centro frênico canino conservado em mel. In: IV Congresso Brasileiro de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, 2000, Goiânia. **Anais**, 2000.

AMICO, E. C. Correção de defeitos ventrais em ratos com próteses de polipropileno e politetrafluoroetileno expandido: análises histológica, biomecânica e da resposta aderencial. **Tese** (doutorado). Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2005.

AMID, K. F. Classification of biomaterials and their related complications in abdominal wall hernia surgery. **Hernia**, v.1, p. 15-21, 1997.

BADYLAK, S.; KOKINI, K.; TULLIUS, B.; SIMMONS-BYRD, A.; MORFF, R. Morphologic study of small intestinal submucosa as a body wall repair device. **Journal of Surgical Research**, v.103, p.190-202, 2002.

BADYLAK, S.; KOKINI, K.; TULLIUS, B.; WHITSON, B. Strength over time of a resorbable bioscaffold for body wall repair in a dog model. **Journal of Surgical Research**, v.99, p.282-287, 2001.

BANERJEE, I.; MISHRA, D.; DAS, T.; MAITI, S.; MAITI, T. K. Caprine (goat) collagen: A potential biomaterial for skin tissue engineering, **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v.22, n.14, 2011.

BASTOS, E. L. S.; FAGUNDES, D. J.; TAHA, M. O.; NOVO, N. F.; SILVADO, R. A. B. Peritônio bovino conservado na correção de hérnia ventral em ratos: uma alternativa para tela cirúrgica biológica. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgia**. Rio de Janeiro, v.32, n.5, p.256-260, setembro/outubro, 2005.

BAPTISTA, M. L.; BONSACK, M. E.; FELEMOVICIUS, I.; DELANEY, J. P. Abdominal adhesions to prosthetic mesh evaluated by laparoscopy and electron microscopy. **Journal of the American College of Surgeons**, v.190, n.3, p.271-280, 2000.

BATISTA, L. C.; DALECK, C. R.; SHIMANO, A. C.; ALESSI, A. C.; ABRAHÃO, M. S. Estudo comparativo da resistência à tração do peritônio (bovino, eqüino, suíno, canino) a fresco e conservado em glicerina. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, v.33, suplemento, p.305-312, dezembro, 1996.

BRAILE, D. M.; SOARES, M. J. S.; SOUZA, D. R. S.; RAMIREZ, V. A.; SUZIGAN, S. GODOY, M. F. Mapping of bovine pericardium: physical and histopathology tests. **Journal of Heart Valve Disease**, v.7, p.202-206, 1998.

BRAILE, D. M.; SOARES, M. J. S.; SOUZA, D. R. S.; RAMIREZ, V. A.; SUZIGAN, S. LOURENÇO, M. F. Expectativa funcional de biopróteses valvulares: testes biofísicos e histopatológicos para aproveitamento de regiões do pericárdio bovino. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v.59, p.169-175, 1992.

BRANDÃO, C. V. S.; MINTO, B. W.; ROCHA, N. S.; PEREIRA, G. J. C.; RANZANI, J. J. T.; MOTTA, T. Avaliação macro e microscópica da reconstituição da cápsula articular utilizando pericárdio bovino na luxação coxofemural experimental em cães. **Veterinária e Zootecnia**, v.13, n.1, p.73-83, 2006.

BROWN, S. H. M.; BANUELOS, K.; WARD, S. R.; LIEBER, R. L. Architectural and morphological assessment of rat abdominal wall muscles: comparison for use as a human model. **Journal of Anatomy**, v.217, p.196-202, 2010.

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. Solução hipersaturada de sal como conservante de pericárdio canino utilizado na reparação do músculo reto abdominal de ratos Wistar. **Ciência Rural**, v.32, n.6, p.1019-1025, 2002 (a).

BRUN, M. V.; PIGATTO, J. A. T.; DRIEMEIER, D.; OLIVEIRA, L. O.; BECK, C. A. C.; AGUIAR, E. V.; FREIRE, C. D.; GAIGA, L. H. Traqueoplastia em cães com pericárdio equino conservado em glicerina por um período de 11 anos. **Revista FZVA**, v.9, n.1, p.133-142, 2002 (b).

BRUN, M. V.; PIPPI, N. L.; DRIEMEIER, D.; CONTESINI, E. A.; BECK, C. A. C.; CUNHA, O.; FILHO, S. T. L.; ROEHSIG, C.; STEDILE, R.; SILVA, T. F. Solução hipersaturada de sal ou de glicerina a 98 % como conservante de centros frênicos caninos utilizados na reparação de defeitos musculares em ratos Wistar. **Ciência Rural**, v.34, p.147-153, 2004.

CAMARGO, A. D. Propriedades morfológicas e tensiométricas do peritônio de paca (*Agouti paca*, LINNAEUS 1776) a fresco, e conservados em glicerina. **Tese**. UNESP, campus de Jaboticabal, novembro, 2009.

CARPENTIER, A. From valvular xenografts to valvular bioprosthesis (1965-1977). **Medicine Instrumentals**, v.11, p.98-101, 1977.

CARPENTIER, A.; LEMAIGRE, G.; ROBERT, L.; CARPENTIER, S.; DUBOST, C. Biological factors affecting long-term results of valvular heterografts. **Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, v.58, p.467-483, 1969.

CLARKE, K. M., LANTZ, G. C., SALISBURY, S. K., BADYLAK, S. F., HILES, M. C., VOYTIK, S. L. Intestine submucosa and polypropylene mesh for abdominal wall repair in dogs. **Journal of Surgical Research**, v.60, p.107-114, 1996.

COSTA, C. B. Anatomohistopatologia de implantes de pericárdio bovino conservados em diferentes concentrações de glutaraldeído em parede abdominal de camundongos. 87 p. 2009. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária, Patologia Animal) Instituto de Veterinária. Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica-RJ.

COSTA, J. N. L.; POMERANTZEFF, P. M. A.; BRAILE, D. M.; RAMIREZ, V. A.; GOISSIS, G.; COSTA, N. A. G. S. Comparison between the decellularized bovine pericardium and the conventional bovine pericardium used in the manufacture of cardiac bioprosthesis. **Brazilian Journal Cardiovascular Surgery**, v.20, n.1, p.14-22, 2005.

COSTA NETO, A. A. C.; PAES, J. L. L.; CARVALHO, R. G. Concentração bactericida do açúcar em culturas de *Escherichia coli*. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v.24, p.151-154, 1997.

DIBELLO, J. N.; MOORE J. H. Sliding myofascial flap of the rectus abdominus muscles for the closure of recurrent ventral hernias. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v.98, p.464-699, 1996.

DIDIO, L. J. A. Anatomia aplicada do pericárdio humano. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.44, n.6, p.373-376, 1985.

FERREIRA, P. G. Avaliação do efeito da membrana de látex de *Hevea brasiliensis* no reparo de defeito da parede abdominal de rato. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alfenas-MG), 2007.

FILADELPHO, A. L.; ARTONI, S. M. B.; ORSI, A. M.; DIAS, L. G. G. G.; CABRINI, T. M.; BARIANI, M. H.; LOT, R. F. S. Aspectos histológicos do implante de matrizes de colágeno no tecido subcutâneo de ratos. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, ano VII, n.12, 2009.

FILHO, D. H.; MARQUES, A.; KAFEJIAN-HADDAD, A. P.; ZVEIBEL, D. K. Estudo comparativo das reações teciduais ao implante de pericárdio bovino e a inclusão de politetrafluoroetileno expandido em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.19, n.2, p.131-135, 2004.

GASQUE, K. C. S.; OLIVEIRA, R. C.; CEOLIN, D. S.; CESTARI, T. M.; TAGA, R.; TAGA, E. M.; CORRÊA, A. Avaliação da biocompatibilidade de uma membrana de pericárdio bovino acelular e seu potencial como carreador de osteoblastos. **Ciência Odontológica Brasileira**, v.11, p.58-66, 2008.

GIROTTO, J. A.; CHIARAMONTE, M.; MENON, N. G.; SINGH, N.; SILVERMAN, R.; TUFARO, A. P.; NAHABEDIAN, M.; GOLDBERD, N. H.; MANSON, P. N. Recalcitrant abdominal wall hernias: long-term superiority of autologous tissue repair. **Plastic and Reconstructive Surgery**. Baltimore, v.112, p.106-114, 2003.

GOLOMB, G.; SCHOEN, F. J.; SMITH, M. S.; LINDEN, J.; NIXON, M.; LEVY, R. J. The role of glutaraldehyde-induced cross-links in calcification of bovine pericardium used in cardiac valve bioprosthesis. **American Journal of Pathology**, v.127, p.122-130, 1987.

GONÇALVES, R. M.; ESQUERDO, C. R. M.; PETROIANU, A.; BARBOSA, A. J. A. Influência de aderências peritoneais e fio cirúrgico na tensão de ruptura da parede abdominal em ratos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgões**, v.27, n.3, Rio de Janeiro, maio/junho, 2000.

GRECA, F. H.; NORONHA, L.; COSTA, F. D. A. SOUZA FILHO, Z. A.; SOCCOL, A. T.; FERES, A. N.; DUDA, J. R.; ADAMS, E. Estudo comparativo da biocompatibilidade da submucosa intestinal porcina e pericárdio bovino usados como enxertos na veia cava de cães. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.20, n.4, p.317-322, 2005.

GUIMARÃES, G. C. Propriedades morfológicas e tensiométricas comparadas de centro tendíneo, pericárdio e peritônio bovinos a fresco e conservados em glicerina. **Tese**, Universidade estadual paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2006.

GUIMARÃES, G. C.; SCAVONE, A. R. F.; MACHADO, M. R. F.; CRUZ, C.; CAPALBO, A. C.; SANTOS, A. L. Q. Avaliação histológica de membranas biológicas bovinas conservadas em glicerina e a fresco. **Bioscience Journal**, v.23, n.3, p.120-127, 2007.

HADDAD FILHO, D.; ZVEIBEL, D. K.; ALONSO, N.; GEMPERLI, R. Comparison between textured silicone implants and those bonded with expanded polytetrafluoroethylene in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, vol.22, n.3, p.187-194, 2007.

HADDAD FILHO, D.; MARQUES, A.; KAFEJIAN-HADDAD, A. P.; ZVEIBEL, D. K. Estudo Comparativo das reações teciduais ao implante de pericárdio bovino e a inclusão de politetrafluoroetileno expandido em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v.19, n.2, p.131-135, 2004.

HOELL, T.; HOHAUS, C.; HUSCHAK, G.; BEIER, A.; MEISEL, H. J. Total dura substitute in the spine: double layer dural substitute made from polylactide layer and bovine pericardium. **Acta Neurochirurgica**, v.149, n.12, p.1259–1262, 2007.

HOLT, P. J. The normal pericardium, **American Journal of Cardiology**, v.26, n.455, 1970.

JENKINS, S. D.; KLAMER, T. W.; PARTEKA, J. J.; CONDON, R. E. A comparison of prosthetic materials used to repair abdominal wall defects. **Surgery**, v.94, p.392-398, 1983.

LEITE, J. B. F.; MARQUES, A. F.; GOMES, O. M.; PIGOSSI, N. A. glicerina e a preservação dos tecidos. **Revista Paulista de Medicina**, v.93, n.3-4, p.81-84, mai./jun., 1979.

MARTINS, C. R. P. Avaliação anatomopatológica de rins, fígado e baço de camundongos submetidos ao reparo de ferida cirúrgica em parede abdominal com fragmentos de pericárdio bovino conservado com glicerina e glutaraldeído. 45p. 2009. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária) Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

MAZZANTI, 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. Músculo diafragma homólogo conservado em solução supersaturada de açúcar para a reparação de grande defeito no diafragma de cão. **Ciência Rural**, v.31, n.2, p.277-283, 2001.

MAZZANTI, A.; PIPPI, N.; RAISER, A. G.; GRAÇA, D. L.; SILVEIRA, A. F.; EURIDES, D.; FARIA, R. X.; GONÇALVES, G. F.; GUEDES, A. G. P.; RIOS M. V. Restauração da Traquéia de Cães com Membrana do Cordão umbilical de Bovino Conservada em Glicerina. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.37, n.4, 2000.

MENON, N. G.; RODRIGUEZ, E. D.; BYRNES, C. K.; GIRITTO, J. A.; GOLDBERG, N. H.; SILVERMAN, R. P. Revascularization of human acellular dermis in full thickness abdominal wall reconstruction in the rabbit model. **Annals Surgery**, v.23, p.400-408, 2001.

MIYATA, T.; TAIRA, T.; NOISHIKI, Y. Collagen engineering for biomaterials use. **Clinical Materials**, v.9, p.139-148, 1992.

MOTA, F. C. D.; EURIDES, D.; BELETTI, M. E.; FREITAS, P. M.; MASTRANTONIO, E. C.; SUIMIZU, B. J.; CARDOSO, J. R.; MARTINS, A. K. Análise ultraestrutural de túnica muscular do intestino delgado de cães preservados em diferentes meios. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.39, n.1, p.13-17, 2002.

NETO, J. M. C.; DALECK, C. R.; VICENTI, F. A. M.; ALESSI, A. C.; FANTINATTI, A. P.; SÁ, M. J. C. Ligamento nucal de bovino conservado em glicerina 98%, como biomaterial para enxertos. Congresso Brasileiro de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, 2000, Goiânia. CBCAV/EV-UFG, **Ciência Animal Brasileira**, v.1, suplemento, p.98, 2000.

OLIVEIRA, L. L.; SOUZA, D. B.; ABÍLIO, E. J.; CARVALHO, E. C. Métodos de preservação de membranas biológicas para uso cirúrgico. **Jornal Brasileiro de Ciência Animal**, v.2, n.3, p.175-188, 2009.

PIGOSSI, N. Implantação de dura-máter homogênea conservada em glicerina – estudo experimental em cães. 41p. 1964. **Tese** (Doutorado em Medicina). Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo.

PIGOSSI, N. Implantação da dura-máter homogênea conservada em glicerina. Estudo experimental em cães. **Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo**, v.22, p.204-212, 1967.

PIGOSSI, N.; RAIA A ALEX A.; GAMA A. H.; SOMOSEN O.; HADDAD J.; STOLF, N. A.G.; ZERBINI, E. J.; MINITI, A.; TENUTO, R. Estudo experimental e clínico de dura-máter homogênea conservada em glicerina à temperatura ambiente. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.17, n.8, p.263-278, 1971.

PINTO FILHO, S. T. L.; BRONDANI, J. T.; GRAÇA, D. L.; SCHOSSLER, J. E. Restauração do diafragma de felino com enxerto autólogo de pericárdio. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.18, n.5, Set-Out, 2003. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/acb>.

PINTO, T. J. A.; SAITO, T.; GLERAN, A. Biocompatibilidade de materiais empregados na confecção de próteses cardiovasculares: comparação entre pericárdio bovino e Dacron^(R). **Revista Saúde Pública**, v.27, n.3, p.185-189, 1993.

QUITZAN, G. Q.; RAHAL, S. C.; ROCHA, N. S.; CROCCI, A. J. Comparação entre o pericárdio bovino preservado em glicerina e malha de poliéster no reparo de falhas da parede abdominal em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira** [serial online]. 18 (4), Julho-agosto, 2003. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/acb>.

RAFTERY, A. T. Regeneration of parietal and visceral peritoneum: an electron microscopical study. **Journal of Anatomy**, v.115, p.375-392. 1973.

REYES, E. E. F. Testes físicos comparativos de membranas biológicas preservadas em glicerina, congeladas e a fresco. 85p. 1993. **Dissertação** (Mestrado em Cirurgia Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

RICHTERS, C. D.; HOEKSTRA, M. J.; VAN BAARE, J.; PONT, J. S.; KAMPERDIJK, E. A. Morphology of glycerol-preserved human cadaver skin. **Burns**. v.22, p.113-116, 1996.

RODASKI, S.; GUÉRIOS, S. D.; PERRONI, M. A.; NARDI, A. B.; SILVA, C. A. M. Esfínteroplastia anal externa experimental com membrana de peritônio bovino preservada em glicerina a 98% em cães. **Archives of Veterinary Science**, v.5, p.55-60, 2000.

RUSSELL, W. M. S., BURCH, K. L. **The principles of humane experimental technique**. 1959. Disponível em: http://altweb.jhsph.edu/pubs/books/humane_exp/het-toc

SANTILLÁN-DOHERTY, P.; JASSO-VICTORIA, R.; SOTRES-VEGA, A.; OLMOS, R.; ARREOLA, J. L.; GARCIA, D.; VANDA, B.; GAXIOLA, M. Reparación de defectos de pared tóracoabdominal de perros con bioprótesis de pericárdio bovino. **Revista Investigacion Clinica**, v.47, p.439-446, 1995.

SCALES, J. Tissue reaction to synthetic materials. **Proceeding of the Royal Society of Medicine**, v.46, n.647, 1953.

SCHMIDT, C. E.; BAIER, J. M. Acellular vascular tissues: natural biomaterials for tissue repair and tissue engineering. **Biomaterials**, v.21, p.2215-2231, 2000.

SHABETAI, R.; MANGIARDI, L.; BHARGAVA, V.; ROSSA, J. J. R.; HIGGINS, C. B. The pericardium and cardiac function. **Progress in Cardiovascular Disease**, v.22, n.107, 1979.

SHAMIS, Y.; PATEL, S.; TAUBE, A.; MORSI, Y.; SBARSKI, I.; SHRAMKOV, Y.; CROFT, R. J.; CRAWFORD, R. J.; IVANOVA, E. P. A New Sterilization Technique of Bovine Pericardial Biomaterial Using Microwave Radiation. **Tissue Engineering: Part C**, v.15, n 3, 2009.

SILVER, F. H.; MASS, C. S. Biology of synthetic facial implant materials. **Facial Plastic Surgery Clinicals of North America**. v.2, p.241-253, 1994.

SIMIONESCU, D.; SIMIONESCU, A.; DEAC, R. Mapping of glutaraldehyde-treated bovine pericardium and tissue selection for bioprosthetic heart valves, **Journal of Biomedical. Material. Research**, v.27, p.697–704, 1993.

SOIDERER, E. E.; LAUTZ, G. C.; KAZACOS, E. A.; HODDLE, J. P.; WIEGAND, R. E. Morphologic study of three collagen materials for body wall repair. **Journal of Surgical Research**, v.118, p.161-175, 2004.

STEPLEWSKI, A.; ITO, H.; RUCKER, E.; BRITTINGHAM, R. J.; ALABYEVA, T.; GANDHI, M.; KO, F. K.; JIMENEZ, S. A.; FERTALA, A. Position of single amino acid substitutions in the collagen triple helix determines their effect on structure of collagen fibrils. **Journal of Structural Biology**, v.148, n.3, p.326-337, 2004.

SUNG, H. W.; HSU, H. L.; HSU, C. S. Effects of various chemical sterilization methods on the crosslinking and enzymatic degradation characteristics of an eoxy fixed biological tissue. **Journal of Biomedical Material Research**, v.37, n.376, 1997.

TANG, L.; EATHON, J.W. Inflammatory responses to biomaterials. **American Journal of Clinical Pathology**, v.103, n.4, p. 466-471, 1995.

TRANI, R. A. S. Eficácia das soluções de Glicerina 98% e Glutaraldeído 0,625% na desinfecção de pericárdio de camundongos (*Mus musculus*) experimentalmente inoculados com vírus da Raiva.. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária, Patologia Animal). Instituto de Veterinária, Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 68p, 2006.

VULCANI, V.A.S.; MACORIS, D.G.; PLEPIS, A.M.G. Biomateriais para reparação cirúrgica da parede abdominal em animais domésticos revisão. **Arquivos. Em Ciências. Veterinárias e Zoologia**. Unipar, Umuarama, v.12, n.2, p.141-147, jul./dez. 2009.

VULCANI, V.A.S.; MACORIS, D.G.; PLEPIS, A.M.G. Membranas biológicas homólogas preservadas em solução alcalina seguida de liofilização, glicerina a 98% e por liofilização para implantação em eqüinos. **Ciência Rural**, v.38, n. 5, p.1329-1334, 2008.

WELLS, P.B.; YEH, A.T.; HUMPHREY, J.D. Influence of glycerol on the mechanical reversibility and thermal damage susceptibility of collagenous tissues. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, v.53, n.4, April, 2006.