

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)

DISSERTAÇÃO

**AVALIAÇÃO DO GLUTARALDEÍDO A 1% NO PREPARO DO
PERICÁRDIO BOVINO PARA REPARO DE PAREDE ABDOMINAL
DE CAMUNDONGOS E INFLUÊNCIA DO CARPROFENO**

AMANDA SILVA PIMENTEL

2011



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)

AVALIAÇÃO DO GLUTARALDEÍDO A 1% NO PREPARO DO
PERICÁRDIO BOVINO PARA REPARO DE PAREDE ABDOMINAL
DE CAMUNDONGOS E INFLUÊNCIA DO CARPROFENO

AMANDA SILVA PIMENTEL

Sob a orientação do Professor

Fabio Fagundes da Rocha

e Co-orientação da Professora

Marta Fernanda Albuquerque da Silva

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, pelo Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, área de concentração Ciências Clínicas.

Seropédica, RJ

Junho/2011

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

AMANDA SILVA PIMENTEL

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração em Ciências Clínicas.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 30/06/2011.

Fábio Fagundes da Rocha MV, Dr.UFRRJ

Maria de Lourdes Gonçalves Ferreira MV, Dr. UFF

Vivian de Assunção Nogueira MV, Dr.UFRRJ

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, meu irmão e meu marido, pelo apoio e dedicação incondicionais.

Ao professor Fábio Fagundes Rocha, orientador, pela oportunidade, confiança, dedicação oferecidos.

À professora Marta Fernanda Albuquerque Silva, minha co-orientadora pela confiança, apoio e amizade.

À professora Vivian de Assunção Nogueira pelo apoio, disponibilidade durante a realização deste trabalho.

Aos professores Paulo Botteon e Rita Botteon pela paciência, dedicação, disponibilidade durante todos os períodos e por serem a base do curso de pós-graduação.

Aos amigos e professores Allan Kardec da Silveira e João Marcelo Silveira por pela confiança, amizade e pela orientação profissional.

A todas as pessoas que contribuíram de forma direta para a realização deste trabalho, em especial Francisco Nogueira, Silvia Cabeças, Evandro Toledo, Pablo, Daniel Trindade, Bruno Martini, Ornélia, Simone Salles, Gleizer Matias, Raquel Teixeira e Flávia Amaral.

Aos amigos de turma de mestrado Priscila Sena, Aline Rosa, Jahn Carlo por me acompanharem nesta caminhada.

RESUMO

PIMENTEL, Amanda Silva. **Avaliação do glutaraldeído a 1% no preparo do pericárdio bovino para reparo de parede abdominal de camundongos e influência do carprofeno.** 2011. 38 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2011.

Membranas biológicas vem sendo amplamente utilizadas em cirurgia reconstrutora com o objetivo de restabelecer a estrutura e função de tecidos lesados. Diversos tratamentos são aplicados a estas membranas causando resposta inflamatória exacerbada e rejeição do hospedeiro, inviabilizando o retorno da função normal. Este experimento teve como objetivo avaliar a interferência do carprofeno em camundongos que receberam enxertos de pericárdio bovino (PB) tratados com glutaraldeído a 1 % na parede abdominal lateral. Foram utilizados 102 animais distribuídos aleatoriamente em 12 grupos com 3 tipos de tratamentos: PB conservado em glicerina a 98% e administração do cloridrato de tramadol, PB conservado em glutaraldeído 1% e administração de cloridrato de tramadol e PB conservado em glutaraldeído e administração de anti-inflamatório. Após 7, 14, 30 e 60 dias do implante, os animais foram sacrificados para coleta e análise microscópica das amostras teciduais. Os resultados mostraram redução no processo inflamatório em todos os grupos estudados após sessenta dias de implante. Não houve diferenças significativas entre os diferentes tratamentos. Desta forma, confirma-se a viabilidade da utilização de glutaraldeído a 1% no tratamento do pericárdio bovino como alternativa ao uso da glicerina a 98 %, no entanto não houve vantagem relativa do uso de carprofeno em relação ao tramadol no período pós-operatório.

Palavras-chave: Bioprotese, Reação inflamatória, Enxerto.

ABSTRACT

PIMENTEL, Amanda Silva. Evaluation of 1% glutaraldehyde in the preparation of bovine pericardium for repair abdominal wall of mice and influence of carprofen. 2011. 38 p. Dissertação (Mestrado in Medicine Veterinary) Institute of Veterinary Medicine, Agricultural Federal University of Rio De Janeiro, Seropédica, RJ.2011.

Biological membranes has being widely used in reconstructive surgery with the objective to reestablish the structure and function of injured tissues. Several treatments are applied to these membranes causing an expressive inflammatory response and rejection of the host, making impracticable the return of the normal function. This experiment aimed to evaluate the interference of the carprofen in mice that had received grafts of bovine pericardium (PB) treated with 1% glutaraldehyde in lateral abdominal wall. One hundred and two animals were distributed randomly into 12 groups and three types of treatments had been used: PB preserved in 98% glycerin and administration of analgesic tramadol, PB preserved in glutaraldehyde 1% and administration of analgesic and PB preserved in 1% glutaraldehyde and administration of anti-inflammatory. After 7, 14, 30 and 60 days of the implantation, the animals were sacrificed for collection and microscopical analysis of the tissue samples. The results showed reduction in inflammation in all groups after sixty days of implantation. There were no significant differences between different treatments. Thus, this study confirms the viability of using 1% glutaraldehyde in the preparation of bovine pericardium as an alternative to the use of 98% glycerin, however there was no advantage on the use of carprofen in relation to tramadol in post operative period.

Word-key: Bioprotese, inflammatory Reaction, Enxerto.

LISTA DE ABREVIACOES E SMBOLOS

AINES: Anti-inflamatorios No Esteroidais
ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APECIH: Associação Paulista de Estudos e Controle de Infecção Hospitalar
COBEA: Colgio Brasileiro de Experimentao Animal
COX: Cicloxigenase
COX I: Cicloxigenase I
COX II: Cicloxigenase II
DNA: cido desoxirribonucleico
RNA: acido ribonucleico
g: Grama
MB: Membrana biológica
mg/Kg: Miligrama por quilo
mL: Mililtros
PBS: phosphate buffered saline

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1. Traçado da linha imaginária na região abdominal lateral esquerda do camundongo

12

FIGURA 2. Incisão de pele no sentido dorso ventral na região abdominal lateral esquerda do camundongo

13

FIGURA 3. Retirada porção abdominal lateral de camundongo incluindo todas as camadas

13

FIGURA 4. Fixação do pericárdio bovino na musculatura abdominal com fio de mononylon 6-0

14

FIGURA 5. Animais mantidos na câmara de CO₂ até depressão respiratória total

15

FIGURA 6. Avaliação macroscópica de animal do Grupo 3 que recebeu enxerto de pericárdio bovino tratado com glicerina a 98%, aos 30 dias observa-se ferida cirúrgica com completa cicatrização sem sinais de reação ao implante

16

FIGURA 7. Avaliação macroscópica antes da coleta do fragmento, animal com fragmento de pericárdio bovino conservado em glicerina, aos 30 dias observa-se sobreposição do tecido conjuntivo nos pontos e em parte do implante

16

FIGURA 8. Amostra de animal do Grupo 11 que recebeu implante de pericárdio bovino tratado com glutaraldeído e eutanasiado aos 30 dias

17

TABELA 1. Conversão da graduação em um escore
18

FIGURA 9. Graduação dos parâmetros inflamatórios em camundongos com implantes de pericárdio bovino conservado em glicerina 98% com administração de analgésico tramadol em diferentes tempos (piloto). Os pontos representam valores individuais de cada animal em relação ao parâmetro analisado histologicamente. O número de animais empregados foi de 5 para cada grupo experimental, tendo em vista que o teste de Kruskal-Wallis sugere a utilização de um número mínimo de 6 amostras, para o estudo finalístico a amostra foi ampliada para 6 animais
21

FIGURA 10. Graduação dos parâmetros inflamatórios em camundongos com implantes de pericárdio bovino conservado em glicerina 98% e administração de tramadol (analgésico) em diferentes tempos. Os pontos representam os valores individuais de cada animal em relação ao parâmetro analisado histologicamente. O número de animais empregados foi de 6 para cada grupo experimental, e os resultados obtidos foram testados a um nível $p < 0,05$ utilizando-se os testes entre grupos distintos de Kruskal-Wallis e o teste de múltiplas comparações de Dunns
22

FIGURA 11. Graduação de edema em camundongos com implante de pericárdio bovino submetidos aos diferentes tratamentos nos períodos de 7, 14, 30 e 60 dias. Os pontos representam os valores individuais de cada animal em relação ao parâmetro analisado histologicamente. O número de animais empregados foi de 6 para cada grupo experimental, os resultados obtidos foram testados a um nível $< 0,05$ utilizando-se os testes entre grupos distintos de Kruskal-Wallis e o teste de múltiplas comparações de Dunns
23

FIGURA 12. Graduação de infiltração neutrofílica em camundongos com implante de pericárdio bovino submetidos aos diferentes tratamentos nos períodos de 7, 14, 30 e 60 dias. Os pontos representam os valores individuais de cada animal em relação ao

parâmetro analisado histologicamente. O número de animais empregados foi de 6 para cada grupo experimental e os resultados obtidos foram testados a um nível $p < 0,05$ utilizando-se os testes entre grupos distintos de Kruskal-Wallis e o teste de múltiplas comparações de Dunns

24

FIGURA 13. Graduação de infiltração macrófágica em camundongos com implante de pericárdio bovino submetidos aos diferentes tratamentos nos períodos de 7, 14, 30 e 60 dias. Os pontos representam os valores individuais de cada animal em relação ao parâmetro analisado histologicamente. O número de animais empregados foi de 6 para cada grupo experimental, os resultados obtidos foram testados a um nível $p < 0,05$ utilizando-se os testes entre grupos distintos de Kruskal-Wallis e o teste de múltiplas comparações de Dunns

25

FIGURA 14. Graduação de presença de células gigantes em camundongos com implante de pericárdio bovino submetidos aos diferentes tratamentos nos períodos de 7, 14, 30 e 60 dias. Os pontos representam os valores individuais de cada animal em relação ao parâmetro analisado histologicamente. O número de animais empregados foi de 6 para cada grupo experimental, os resultados obtidos foram testados a um nível $p < 0,05$ utilizando-se os testes entre grupos distintos de Kruskal-Wallis e o teste de múltiplas comparações de Dunns

26

FIGURA 15. Graduação de neovascularização em camundongos com implante de pericárdio bovino submetidos aos diferentes tratamentos nos períodos de 7, 14, 30 e 60 dias. Os pontos representam os valores individuais dos parâmetros analisados histologicamente. O número de animais empregados foi de 6 para cada grupo experimental, os resultados obtidos foram testados a um nível $p < 0,05$ utilizando-se os testes entre grupos distintos de Kruskal-Wallis e o teste de múltiplas comparações de Dunns

27

FIGURA 16. Graduação de presença de fibrose em camundongos com implante de

pericárdio bovino submetidos aos diferentes tratamentos nos períodos de 7, 14, 30 e 60 dias. Os pontos representam os pontos individuais dos parâmetros analisados histologicamente. O número de animais empregados foi de 6 para cada grupo experimental, os resultados obtidos foram testados a um nível $p < 0,05$ utilizando-se os testes entre grupos distintos de Kruskal-Wallis e o teste de múltiplas comparações de

Dunns

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DA LITERATURA	03
2.1 Membranas biológicas	03
2.2 Tratamento de membranas biológicas	04
2.2.1 Meios de preservação e aplicação	04
2.2.2 Vantagens e desvantagens	06
2.3 Reparação tecidual	07
2.4 Anti-inflamatório não esteroidal (AINES)	08
2.4.1 Carprofeno	09
2.4.2 Efeitos adversos dos AINES	09
3. MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1 Preparação das soluções	11
3.2 Obtenção da membrana biológica	11
3.3 Tratamento e conservação dos pericárdios bovinos	11
3.4 Animais	11
3.5 Procedimentos experimentais	12
3.5.1 Implantação dos pericárdios	12
3.6 Avaliação temporal quantitativa da resposta inflamatória	14
3.6.1 Grupos experimentais e tratamentos	14
3.6.2 Coleta das amostras teciduais	15
3.6.3 Processamento e análise microscópica das amostras teciduais	17
3.7 Análise estatística	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
5. CONCLUSÕES	30
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

1. INTRODUÇÃO

Membranas biológicas consistem em implantes de natureza orgânica, livres, inertes, e que têm como principal característica serem constituídas quase que exclusivamente de colágeno. São utilizadas em procedimentos cirúrgicos para fornecer um arcabouço e orientar o desenvolvimento de novos tecidos, mediante processos de reparação, que restabeleçam a estrutura e a função dos tecidos lesados.

As membranas biológicas podem ser de tecidos autólogos (implante proveniente do próprio indivíduo), homólogos (implante proveniente de indivíduo da mesma espécie) e heterólogo (implante proveniente de indivíduo de espécie diferente).

Para que possam exercer sua função de forma adequada e segura, como por exemplo, em cirurgia reparadora da parede muscular e implante em áreas com grande perda de tecido, as membranas biológicas devem ser tratadas e conservadas corretamente.

No Brasil, a glicerina a 98% é amplamente utilizada na medicina veterinária para o tratamento e preservação de materiais biológicos, devido à facilidade de manejo e por ser de baixo custo. No entanto, existe uma grande preocupação com o fato de sua ação antimicrobiana ser restrita a bactérias e fungos, o que possibilita a transmissão de agentes virais ao animal receptor quando são utilizados enxertos homólogos ou heterólogos.

Outro agente empregado com frequência no tratamento dos materiais biológicos é o glutaraldeído, com ação esterilizante e não prejudicial à incorporação do implante nas concentrações de 0,5% a 1%.

Estudos desenvolvidos com o intuito de obter-se um biomaterial ideal, destacam que a solução conservadora deve manter ao máximo a integridade tecidual, atenuar a ação antigênica do tecido implantado, aumentar sua resistência à tração e atuar por um longo período. Neste sentido, vários agentes químicos vêm sendo utilizados para tratamento e conservação de tecidos biológicos, buscando-se principalmente eliminar a possibilidade de transmissão de microrganismos dos indivíduos doadores para os receptores.

Existe ainda, a preocupação com a toxicidade do glutaraldeído, que pode provocar reações locais como reação inflamatória exacerbada, podendo prejudicar a incorporação do enxerto. No entanto, desconhece-se a sua real capacidade de interferir no processo cicatricial de acordo com as diferentes concentrações nas quais é utilizado.

Considerando a relativa frequência com que a utilização de membranas biológicas é indicada em cirurgias tanto de animais quanto de humanos, torna-se necessária a investigação de métodos de tratamento e conservação de forma a obter maior segurança na utilização deste valioso instrumento da prática cirúrgica.

A inflamação é um evento intrínseco ao transplante, que induz o recrutamento de células inflamatórias ao sítio do enxerto. Se uma amplificação dessa resposta inflamatória ocorrer, mecanismos efetores da resposta imune podem levar à destruição do tecido.

Para controle do processo inflamatório e alívio da dor é indicado o uso de antiinflamatórios não-esteroidais (AINES) que inibem a cicloxigenase (COX-1 e COX-2) ou seletivamente a COX-2. Contudo, apesar de sua ação antiinflamatória e analgésica, muitos dos AINES apresentam efeitos colaterais. Todos parecem interferir no processo de cicatrização, embora os resultados obtidos em diferentes estudos sejam conflitantes. Estudar o efeito do AINES na incorporação de enxertos biológicos é uma forma de reconhecer as vantagens e desvantagens de seu uso para uma aplicabilidade mais adequada na rotina clínica-cirúrgica veterinária.

Este trabalho tem como objetivo geral avaliar a utilização de pericárdio bovino conservado em glutaraldeído a 1% no processo de incorporação de enxertos, bem como determinar um padrão de tratamento com menor interferência na reação inflamatória no processo cicatricial de implantes de membranas biológicas em parede abdominal. E tem como objetivos específicos: reconhecer e quantificar as alterações teciduais macro e microscópicas em parede abdominal, bem como avaliar a resposta inflamatória após implantes de pericárdio bovino tratados com glutaraldeído a 1% em parede abdominal de camundongos; identificar possíveis interferências na incorporação do enxerto e no processo de cicatrização devido aos efeitos da utilização de antiinflamatórios não-esteroidais.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 MEMBRANAS BIOLÓGICAS

A utilização de membranas biológicas como materiais de implante, para reparação de órgãos e tecidos vêm sendo praticada no Brasil desde a década de sessenta, com o trabalho pioneiro de Pigossi (1967).

Os diversos trabalhos envolvendo membranas biológicas buscam avaliar a sua viabilidade em procedimentos cirúrgicos nas diferentes regiões do organismo animal (ALVARENGA *et al.* 1992; DALECK *et al.* 1992; COSTA NETO *et al.* 1999).

O procedimento cirúrgico reconstrutivo da parede abdominal deve restaurar a perda dos planos anatômicos. A utilização de membranas biológicas tem como funções principais, fornecer arcabouço para orientação e para desenvolvimento de novos tecidos, mediante processos de reparação, que restabeleçam a estrutura e função do órgão afetado (BATISTA *et al.* 1996).

O enxerto biológico ideal deve ser de fácil manipulação, ter baixo custo de produção, promover o crescimento de tecido do hospedeiro, formação de tecido cicatricial adequado, não induzir resposta inflamatória exacerbada, não promover aderências, ser flexível, inerte, poroso e resistente (CERISE *et al.* 1974).

De acordo com Vámhidy *et al.* (1990) apud Raiser *et al.* (2001), qualquer enxerto não autólogo deve satisfazer os seguintes critérios: não ser antigênico ou carcinogênico; ser facilmente incorporado pelo hospedeiro e funcionar por toda a vida do receptor; além de estimular as propriedades mecânicas do segmento original e ser facilmente armazenado e implantável. Os implantes comumente utilizados na reconstrução da parede abdominal reúnem apenas uma ou outra destas características (PREVEL *et al.* 1995).

Dentre as membranas biológicas estudadas, destacam-se o centro tendíneo, a dura-máter, a fáscia lata, o pericárdio e o peritônio, que possuem como característica principal, a constituição quase que exclusivamente de colágeno (ALVARENGA *et al.* 1992). Entretanto, os tecidos colágenos apresentam rápida degradação e por isso necessitam ser estabilizados, a fim de prolongar a estrutura e integridade mecânica original e remover ou neutralizar suas propriedades antigênicas, para que possam ser empregados como biomateriais (BAUCIA *et al.* 2006).

Para não estimularem reação imunológica, estas membranas devem permanecer preservadas em glicerina por um período mínimo de 30 dias (DALECK *et al.* 1992; SARTORI FILHO *et al.* 1997; COSTA NETO *et al.* 1999).

O pericárdio é uma membrana que forma um saco fibroso, grosso, translúcido com dois folhetos. É composto por uma camada fibrosa externa (pericárdio parietal) que se adere ao esterno, aos grandes vasos e ao diafragma, e por uma camada serosa interna (pericárdio visceral). É constituído basicamente de fibras compactas de colágeno e fibras de elastina, o que confere capacidade viscoelástica ao tecido (HOLT, 1970 apud COVARRUBIAS *et al.* 2005).

O pericárdio bovino, material heterólogo, é um material de origem biológica altamente resistente, de fácil manejo cirúrgico, maleável e sem problemas de reação com corpo estranho. Além disso, é um tecido de fácil acesso e habitualmente representa um material de interesse no processo industrial de bovinos (IONESCU *et al.* 1979).

Segundo Anson & Marchand (1996), o pericárdio bovino após tratamento para remoção de restos celulares, proteínas degradáveis e lipídeos, consiste de uma malha de fibras colágenas. É um material de baixo custo, de fácil sutura, pouca antigenicidade e toxicidade, boa força, mínima elasticidade e ausência de irritação com outros materiais (YAMATOJI *et al.* 2005).

2.2. TRATAMENTO DE MEMBRANAS BIOLÓGICAS

2.2.1 Meios de preservação e aplicação

Slatter (2007) relata que os desinfetantes de modo geral destroem as bactérias, com exceção do bacilo da tuberculose e os esporos e vírus podem não ser destruídos por desinfetantes. O formaldeído é viável como formalina a 37% e água, mas embora seja capaz de destruir todas as bactérias, vírus e esporos, a formalina é extremamente irritante para pele e mucosas. Já o glutaraldeído em concentrações diluídas é menos tóxico que o formaldeído e possui amplo espectro de atividade semelhante.

Os meios de preservação utilizados para manter as membranas biológicas devem possuir alto poder estabilizador, para impedir a total decomposição dos tecidos e o crescimento de microorganismos, além de preservar ao máximo a integridade celular, aumentar a resistência à tração e atuar por um período de tempo prolongado (ALVARENGA *et al.* 1992; MOTA *et al.* 2002).

O meio de conservação mais utilizado é a glicerina a 98% mantida em temperatura ambiente que representa como vantagens baixo custo e propriedade anti-séptica (ALVARENGA *et al.* 1992).

Além da glicerina, outros meios como a solução alcoólica de tintura de timersal (ALVARENGA *et al.* 1992), polivinil pirrolidona a 5%, solução hipersaturada de açúcar a 300% (NETO *et al.* 2000), mel não processado (AMENDOLA, 2000) e solução hipersaturada de sal (BRUN *et al.* 2002) têm sido utilizados para conservação de membranas biológicas. A preservação de enxertos pode ainda ser feita por método de congelamento ou usando agentes químicos como soluções mercuriais, betapropiolactona e glutaraldeído.

Muitos experimentos foram e vêm sendo realizados com membranas biológicas conservadas em glicerina (PIGOSSI, 1967; PIGOSSI *et al.* 1971; BRUN *et al.* 2002; QUITZAN *et al.* 2003) e os resultados obtidos sempre foram satisfatórios tanto em nível de reação inflamatória quanto processo regenerativo. De acordo com Leite *et al.* (1979) este agente químico proporciona ausência de reações inflamatórias agudas dos implantes, o que indica a baixa antigenicidade do transplante mantido neste meio de conservação, e para Mota *et al.* (2002) a solução de glicerina a 98% é a que melhor mantém a integridade celular.

Nas últimas quatro décadas, a glicerina a 98% foi empregada na conservação de diferentes tecidos como dura-máter (PIGOSSI, 1964); peritônio bovino e canino (DALECK *et al.* 1992); pericárdio eqüino (RANZANI *et al.* 1990); diafragma e bexiga caninos (MAZZANTI *et al.* 2000).

A glicerina desidrata o tecido, substitui a maior parte da água intracelular, sem alterar a concentração iônica das células, atua como protetor da integridade celular. A glicerina reduz a antigenicidade e preserva a textura de peças de dura-máter canina e humana, nela conservadas; concluindo que, além de atuar como agente fixador e desidratante de atuação rápida, a glicerina tem ação anti-séptica com amplo espectro de ação atuando contra fungos e bactérias gram-negativas e positivas, com exceção de formas esporuladas (PIGOSSI, 1967; PIGOSSI *et al.* 1971). Tem ação anti-séptica, e na

concentração igual ou maior que 25% age como desinfetante. Quando concentrada, a glicerina destrói bactérias em 3 horas (SOLIMANN, 1957).

Recomenda-se que as membranas sejam conservadas em glicerina por período mínimo de 30 dias (DALECK *et al.* 1992; SARTORI FILHO *et al.* 1997; COSTA NETO *et al.* 1999) podendo se estender por seis (INATOMI *et al.* 1980) a sete meses (PIGOSSI, 1967).

O saco pericárdico conservado em glicerina é material biológico que apresenta as características de fácil obtenção, conservação e aplicação, além do baixo custo, tendo sido empregado na reparação de vários órgãos e estruturas com resultados favoráveis (RANZANI *et al.* 1990; BARROS *et al.* 1997).

Inatomi *et al.* (1980) avaliaram a implantação de dura-máter bovina e suína, conservadas em glicerina por mais de seis meses na bainha do músculo reto abdominal de cães, e demonstraram que houve aceitação das membranas pelo hospedeiro sem sinais de rejeição.

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, embora seja utilizada em concentrações menores para manutenção viral na rotina de laboratórios, capaz de inativar partículas e evitar transmissão de moléculas a vírus quando em conservação prolongada e à temperatura ambiente. Porém, Trani (2006), demonstrou que mesmo em temperatura ambiente e por período de 30 dias, o vírus rábico foi mantido em pelo menos 50% das amostras conservadas em glicerina.

Apesar de diversos agentes químicos terem sido utilizados no tratamento de tecidos colágenos, o glutaraldeído introduzido por Carpentier, no final dos anos 60, continua sendo o mais largamente empregado na fixação dos biomateriais (BAUCIA *et al.* 2006). Seu emprego contribui para a estabilização do colágeno e redução da rejeição (FERREIRA *et al.* 2007).

O glutaraldeído é um dialdeído saturado, encontrado amplamente em forma líquida, incolor ou amarelada, em solução aquosa a 50%, que tem sido amplamente utilizado no tratamento e conservação de materiais de uso médico, principalmente para reparo em paredes de cavidades, de órgãos ocos, em reconstrução vascular e valvular, dentre outros. Possui potente ação polivalente sendo, portanto bactericida, fungicida, virucida (sua atividade é devida a alquilação de grupos sulfidril, hidroxila, carboxila e amino dos microorganismos o que altera o seu DNA, RNA e síntese de proteínas) e esporicida (devido ao glutaraldeído reagir com a superfície do esporo, o que provoca o endurecimento das camadas externas e morte do esporo). É uma substância pouco poluente devido a sua rápida biodegradação, não bioacumulativa e de pouca persistência no ar, solo, água, além de ser um excelente fixador de tecidos para a microscopia eletrônica (APECIH, 1998; ANVISA, 2007).

A aplicação desta solução de tratamento e conservação abrange membranas biológicas como cartilagens (ADLINGTON *et al.* 1992), por exemplo, além de implantes de pele (ZHENG, 1991), colágeno (OLIVER *et al.* 1980) e pericárdios autólogos ou heterólogos, tendo então se mostrado eficiente em muitos estudos.

O pericárdio bovino, quando tratado em glutaraldeído, torna-se bioquimicamente mais estável, tornando-se mais resistente e sua antigenicidade é diminuída, permitindo sua incorporação biológica (WOODROF, 1979; SANTILLAN-DOHERTY *et al.* 1995). Com isso Santillan-Doherty *et al.* (1996) avaliaram o pericárdio bovino tratado com glutaraldeído, como uma bioprótese para reconstrução cirúrgica dos defeitos da parede abdominal, e concluíram que este tipo de membrana é um material biológico com resistência suficiente para ser utilizado nestes tipos de reparos.

2.2.2 Vantagens e desvantagens

Materiais bioprotéticos podem ter distintas vantagens sobre malhas sintéticas e retalhos autólogos ou técnicas de enxerto para reconstrução abdominal mural, pois acarretam danos teciduais no local do implante, e são usados com sucesso em feridas contaminadas devido à habilidade de resistir à infecção, tornando-se revascularizado e incorporado no tecido do hospedeiro, e reduzindo aderências a vísceras. A incorporação fibrovascular ao redor do tecido e remodelação do implante reduz os riscos associados a corpo estranho persistente, tal como infecção crônica, fístula enterocutânea e exposição cutânea (BUTLER, 2006).

Butler (2006) afirma também que as desvantagens do material bioprotético incluem alto custo relativo do implante à malha sintética, tamanho limitado de lâminas individuais em alguns casos, e o risco de formação de seroma.

O glutaraldeído é um produto químico industrial amplamente utilizado, e biocida, com o qual a pele pode entrar em contato, Werley et al. (1996) avaliaram o potencial de toxicidade desta solução e realizaram um experimento com 344 ratos Fischer. Parte destes receberam aplicações epicutâneas de solução aquosa de glutaraldeído a 2,5%, 5% e 7,5% em uma dose de 2 mL/kg/dia, sendo 20 aplicações por um período de 26 dias, e o grupo controle recebeu água filtrada na mesma dose. Os achados patológicos obtidos incluem acantoses, dermatites, hiperqueratoses, paraqueratoses, epidermites e fibrose dérmicas, não sendo obtida nenhuma evidência de toxicidade sistêmica.

A solução de glutaraldeído é tóxica para o organismo receptor, portanto, é extremamente importante a lavagem abundante com solução salina antes de a membrana biológica ser implantada (PINTO *et al.* 1993). Além disso, já foi considerado que qualquer variação no modo de preparação pode influenciar no balanço (equilíbrio) entre a reabsorção do implante e a deposição de fibrose no local (ADLINGTON *et al.* 1992).

De acordo com Santillan-Doherty et al. (1996) o pericárdio bovino preservado em glutaraldeído a 0,5% como bioprótese na reconstrução dos defeitos cirúrgicos torácico-abdominais murais é ideal, pois concentrações altas afetam negativamente resistência tênsil e alongamento.

A prótese de pericárdio bovino tratada previamente com glutaraldeído proporciona maior flexibilidade, melhor estabilidade bioquímica, tornando-o mais resistente, o que favorece sua incorporação biológica (WOODROOF, 1979).

A importância do tratamento prévio com glutaraldeído é que esta solução serve para esterilização e preservação da membrana, previne reação imunológica pela redução do potencial antigênico de cada tecido, previne desnaturação do colágeno criando grande estabilidade pela durabilidade das próteses. Baseada na estabilidade do material biológico, os tecidos tratados apresentam durabilidade de acordo com a regeneração tecidual das células do hospedeiro (CARPENTIER *et al.* 1969; CARPENTIER *et al.* 1974).

Outras vantagens observadas no pericárdio, quando tratadas com glutaraldeído, além da resistência é a ausência de rejeição como corpo estranho (SANTILLAN-DOHERTY *et al.* 1995), é de fácil manipulação cirúrgica e atua como base adequada sobre a qual proliferam fibroblastos com depósito de colágeno e formação de cicatriz em forma satisfatória (SANTILLAN-DOHERTY *et al.* 1996). Portanto, uma vez que a resposta tecidual local ao biomaterial é o critério mais importante para a determinação da biocompatibilidade (BURUGAPALLI *et al.* 2004), pode-se considerar o pericárdio bovino conservado em glutaraldeído um material biocompatível.

É fundamental que seja assegurada completa assepsia no uso de transplantes. Deijkers *et al* (1997) verificaram que a maior fonte de contaminação é exógena e citaram que a rinsagem com antibiótico é um procedimento comum, o qual diminui apenas a prevalência por bactérias de baixa patogenicidade.

2.3 REPARAÇÃO TECIDUAL

A inflamação pode ser definida como a reação do tecido vivo vascularizado à injúria local que pode ser de natureza química, física ou biológica. Esta reação pode ser encarada como um mecanismo de defesa do organismo (TIZARD, 2002).

Estímulos exógenos e endógenos provocam uma reação complexa no tecido conjuntivo vascularizado. Essa resposta inflamatória está interligada ao processo de reparação e serve para destruir (fagocitose), diluir (plasma extravasado) ou isolar o agente agressor (malha de fibrina), mas, promovem uma série de eventos que cicatrizam e reconstituem o tecido lesado (COTRAN *et al.* 2000). Entretanto, a inflamação pode ser potencialmente danosa, uma vez que em sua manifestação pode lesar o próprio organismo, às vezes de forma mais deletéria que o próprio agente injuriante (TIZARD, 2002).

A inflamação é um processo fisiológico que consiste na resposta orgânica diante da lesão tissular ou infecção, envolvendo uma ação coordenada entre o sistema imunológico e o tecido no qual ocorreu a lesão. A resposta inflamatória é essencial para a sobrevivência, por tentar proteger o organismo de estímulos nocivos. Em algumas situações e doenças, essa resposta pode se tornar excessiva, sem qualquer benefício e com sérios efeitos adversos (COTRAN *et al.* 2000).

De acordo com Carrel (1910) até hoje, foram descritas, reconhecidas e aceitas três fases no evento da cicatrização: inflamatória (até o quarto dia), fibroblástica ou proliferativa (até o 14º dia) e de maturação (após o 14º dia).

Com o objetivo de destruir ou inativar o agente nocivo e remover os debris celulares na área afetada para que o reparo tecidual possa ocorrer, diversos tipos de células são ativadas nos tecidos danificados ou infectados, promovendo a liberação de diversos mediadores, incluindo fatores de crescimento, citocinas, quimiocinas, eicosanóides e neuropeptídeos. No local da inflamação esses mediadores têm efeitos vasculares promovendo vasodilatação, a estase vascular e o aumento da permeabilidade capilar, garantem também a migração de leucócitos da circulação para o tecido inflamado e coordenam ainda as variadas respostas de defesa local (ROTH *et al.* 2009).

De acordo com Tizard (2002), a inflamação pode ser classificada de acordo com sua severidade e duração, em aguda ou crônica. A inflamação aguda é a resposta da microcirculação a lesão, com dilatação das arteríolas, conduzindo ao aumento do fluxo sanguíneo, aumento da permeabilidade dos capilares a proteínas plasmáticas, levando a fuga de plasma e edema local e movimento de leucócitos da circulação para o local da lesão. Caracteriza-se pela curta duração e apresenta os sinais cardeais que são a dor, o calor, o rubor, o tumor e a perda da função.

O processo inflamatório crônico, além de perdurar por um período indeterminado, não apresenta um padrão estereotipado, variando com os tipos de mediadores humorais e celulares envolvidos (SPINOZA *et al.* 2006) e onde frequentemente a inflamação ativa, destruição tecidual e tentativas de reparo estão ocorrendo simultaneamente (COTRAN *et al.* 2000).

A resposta celular inicia-se com a chegada dos leucócitos, que junto ao plasma, eritrócitos e tecido desvitalizado constituem o exsudato inflamatório, que se formam horas após a lesão, preenchendo o espaço da ferida.

Na fase proliferativa, o número de macrófagos na lesão diminui. Os fibroblastos, células endoteliais e queratinócitos sintetizam e secretam fatores de crescimento que estimulam a proliferação e síntese de matriz protéica extracelular e também a angiogênese (MAST; COHEN, 2000).

O fibroblasto é a célula que produz colágeno, fibras elásticas e substância fundamental, responsável pela aderência das feridas cirúrgicas nos primeiros seis dias de cicatrização (MODOLIN; KAMAKURA, 1981).

A migração de fibroblastos para o interior da ferida se faz ao longo de malhas de fibrina, que atuam como moldes para os elementos de reparação, formando um arcabouço para a deposição de fibroblastos. A fibrina é originada no exsudato inflamatório da ferida, tendo também propriedades hemostáticas (MAST; COHEN, 2000).

A maturação constitui a última fase da cicatrização e a mais longa. Começa na terceira semana após o trauma e persiste por meses e até anos. Durante este período, o tecido de granulação retrocede, o colágeno depositado se remodela e uma cicatriz madura se forma. O excesso de colágeno é degradado por diversas enzimas proteolíticas que associadas à maturação do tecido neoformado promoverão o completo reparo tecidual (COTRAN *et al.* 2000).

Ao se avaliar o processo inflamatório na utilização de enxerto de pericárdio bovino tratado com glutaraldeído, pode-se caracteriza-lo como crônico e moderado (GRECA *et al.* 2005). De acordo com Tang *et al.* (1995), respostas inflamatórias crônicas, acompanhadas de macrófagos e/ou acúmulo de células gigantes do organismo, têm sido observadas ao redor de muitos tipos de implantes de biomaterias e tem sido associadas com várias complicações que afetam tanto o receptor quanto ao implante por si mesmo (TANG *et al.* 1995). Durante a resposta inflamatória crônica ao implante, produtos da aderência de células inflamatórias podem ser gerados e danificar o implante e/ou reagir com o biomaterial e gerar catabólitos tóxicos (ZHAO & COURTNEY, 1999).

2.4 ANTIINFLAMATÓRIOS NÃO-ESTERÓIDES (AINES)

Os fármacos anti-inflamatórios são rotineiramente utilizados em medicina veterinária por constituírem um grupo terapêutico de interesse, pois tem propriedades analgésicas, antipiréticas e antiinflamatórias.

Em geral, esses fármacos inibem de forma variável as isoformas COX-I e COX II em suas dosagens terapêuticas, passando assim a serem caracterizados de acordo com sua capacidade de inibição COX I e II. Os fármacos que tem especificidade parcial para COX II são chamados de COX-II preferenciais, e são exemplos o carprofeno e o meloxicam (LESS *et al.* 2004).

O mecanismo de ação dos AINES consiste basicamente na inibição da cicloxigenase (COX), que acarretará na diminuição de endoperóxidos cíclicos, tais como prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos, importantes na mediação da dor e inflamação (RANG *et al.* 2007).

As prostaglandinas e os leucotrienos são potentes mediadores do tipo eicosanóides, derivados do ácido araquidônico, reconhecidos por estarem envolvidos em numerosas funções biológicas relacionadas à homeostase e a inflamação (COTRAN *et al.* 2000).

Apesar da inibição da síntese da prostaglandina ser o mecanismo mais importante de ação para a maioria dos AINES, pode haver outros mecanismos, alguns não totalmente estabelecidos, que também podem explicar as ações destas drogas. Por exemplo, alguns AINES, incluindo os salicilatos, podem inibir o fator nuclear kappa-B (NF-κB), um importante promotor de mediadores inflamatórios (PAPICH, 2008). Esses

fármacos também interferem na liberação de bradicinina, na resposta linfocitária ao estímulo antigênico, na fagocitose e na quimiotaxia de granulócitos e monócitos (VANE; BOTTING, 1998).

Outras drogas apresentam efeitos similares e como resultado de suas ações terapêuticas, estas drogas tendem a ser classificadas em um mesmo grupo genericamente chamados de “aspirin like”, isto é, semelhantes à aspirina. Mais adiante, tais drogas foram claramente diferenciadas dos glicocorticosteróides (o outro grande grupo de agentes usados no tratamento da inflamação) e então classificadas como drogas antiinflamatórias não-esteroidais (VANE; BOTTING, 1998).

2.4.1. Carprofeno

O carprofeno é um anti-inflamatório não esteroidal da classe do ácido propiônico, que inclui o ibuprofeno, o cetoprofeno e naproxeno. O mecanismo de ação deste composto é principalmente atribuído à atividade de inibição da cicloxigenase (COX), porém existem estudos que relatam a participação no mecanismo de inibição da fosfolipase A₂ (MCKELLAR *et al.* 1991).

O carprofeno é usado principalmente em cães e indicado para o alívio da dor e inflamação associadas com osteoartrite, bem como para o controle da dor pós-operatória em tecidos moles e procedimentos ortopédicos (CLARK, 2006).

2.4.2 Efeitos adversos dos AINEs

Os efeitos adversos dos AINEs parecem estar relacionados ao papel de cada cicloxigenase. Se for inibida a ação da COX-1, responsável por formar algumas prostaglandinas homeostáticas, consideradas protetoras da mucosa gástrica e também presentes nos tecidos renais, pode ocorrer toxicidade gastrointestinal e renal (WARNER; MITCHELL, 2004).

Outro possível efeito colateral indesejado relacionado ao uso dos AINEs é a alteração do processo de cicatrização. No entanto, devido a resultados conflitantes, não existe um consenso entre os autores.

Jones *et al.* (1999) demonstraram que tanto a COX-1 quanto a COX-2 são importantes na regulação da angiogênese e que inibidores seletivos para COX-2 inibem os efeitos da angiogênese completa das células endoteliais de maneira similar aos AINEs convencionais.

Segundo Futagami *et al.* (2002) a inibição da COX-2 provocou um retardo na reepitelização, principalmente em feridas crônicas e inibiu a angiogênese. Isso está provavelmente relacionado ao fato de que após a realização de uma ferida cirúrgica, uma resposta inflamatória é desencadeada, o que caracterizará mudanças no fluxo sanguíneo, aumento da permeabilidade vascular e do tráfego de células do sangue aos tecidos. A COX-2 parece ser induzida na área lesada dentro de 12 horas e essa indução persiste por até três dias após a lesão.

Giap *et al.* (2002) sugerem que tanto a COX-1 quanto a COX-2 estão envolvidas na cicatrização de feridas, com a via da COX-1 desempenhando um papel no processo basal da reepitelização e a via da COX-2 no processo de estimulação do fator de crescimento fibroblástico beta.

Outros estudos ainda sugerem que tanto a COX-1 quanto a COX-2 são importantes na formação do colágeno durante a cicatrização e sua deficiência pode produzir alterações no desenvolvimento do tecido de granulação e na reepitelização por inibição

da proliferação de queratinócitos (BERENGER *et al.* 2002; FUTAGAMI *et al.* 2002; LEE, 2003; WILGUS *et al.* 2003).

Em seus estudos, Hatazawa *et al.* (2007) observaram que o efeito do atraso na cicatrização pelo uso de AINEs possui participação dos inibidores COX-2 seletivos, o que sugere um importante papel da COX-2 e da prostaglandina E₂ no mecanismo de cicatrização.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES

A solução de glutaraldeído foi preparada no Laboratório de Fisiologia Animal da UFRRJ. Inicialmente, preparou-se uma solução PBS, composta de fosfato monopotássico, fosfato dissódico, cloreto de sódio e água destilada 2HPO_4 (11,88 g/mL - Solução B) e KH_2PO_4 (9,08 g/mL - Solução A) na proporção de 20% da solução A + 80% da solução B, sendo utilizada para preparação e tamponamento da solução de glutaraldeído a 1%. A obtenção das soluções foi através de volume por volume e o pH final 7,2 (TRANI, 2006).

A solução de glicerina utilizada foi a comercializada na concentração 98%.

As soluções foram acondicionadas em frascos contendo 100 mL de solução, conservadas a temperatura ambiente e ao abrigo da luz.

3.2 OBTENÇÃO DA MEMBRANA BIOLÓGICA

Os pericárdios bovinos foram obtidos de animais abatidos em matadouro de Fiscalização Estadual na cidade de Barra Mansa - RJ. Para a conservação durante o transporte até o laboratório, utilizaram-se sacolas plásticas novas para acondicionamento individual do pericárdio bovino em recipiente térmico contendo gelo, permitindo que os pericárdios permanecessem em temperatura de aproximadamente 10°C

3.3 TRATAMENTO E CONSERVAÇÃO DOS PERICÁRDIOS BOVINOS

No laboratório Multidisciplinar do Centro Universitário de Barra Mansa-RJ foi realizada a limpeza pericárdica, retirando-se a gordura para que o tratamento e conservação fossem iniciados.

Após a limpeza, os pericárdios foram divididos em fragmentos de 1 cm^2 e acondicionados individualmente em frascos estéreis contendo as soluções para os respectivos tratamentos. Os pericárdios do grupo controle foram imersos em glicerina 98% e os fragmentos restantes foram imersos em solução de glutaraldeído a 1% em PBS.

Os fragmentos tratados com glicerina e glutaraldeído foram armazenados em temperatura ambiente e sob proteção da luz por 30 e 18 dias, respectivamente (GOISSIS,1999).

3.4 ANIMAIS

Foram utilizados 102 camundongos machos, adultos, da linhagem Swiss, pesando entre 30 e 40 g fornecidos pelo Biotério do Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Os animais foram mantidos durante todo o período do protocolo experimental no Biotério do Centro Universitário de Barra Mansa-UBM em gaiolas de plástico com dimensões de 32 x 40, 5 x16 cm; em fotoperiodismo de 12 horas e recebendo ração própria (Labina®) e água pura de beber *ad libitum*. Todos os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRRJ sob número 082/2010.

3.5 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

3.5.1 Implantação dos pericárdios

Após o período de tratamento, os pericárdios foram retirados dos frascos e lavados com solução salina estéril (cloreto de sódio 0,9%) para retirada do excesso de solução conservante presente na membrana (PINTO *et al.* 1993). Foram realizadas três lavagens nos fragmentos tratados com glicerina (PINTO *et al.* 1993); e oito lavagens nas membranas que foram tratadas com glutaraldeído até completa remoção das soluções de tratamento e posteriormente imersão por 30 minutos na solução salina (PINTO *et al.* 1993; HADDAD FILHO *et al.* 2004).

Os camundongos foram mantidos em jejum alimentar de 12 horas previamente ao procedimento cirúrgico.

Após contenção mecânica do camundongo, aplicou-se a medicação pré-anestésica constando de diazepam na dose de 5 mg/Kg (PAIVA, 2005) por via intraperitoneal no quadrante inferior direito. Após cinco minutos o camundongo foi induzido com cloridrato de xilazina na dose de 15mg/kg associada a cloridrato quetamina na dose de 100mg/kg (PLUNKETT, 2006), com duração da anestesia de 25 a 40 minutos.

Em decúbito lateral direito, realizou-se tricotomia ampla da região abdomino-lateral esquerda, antisepsia com iodopovidona a 0,5% e colocação de panos de campo estéreis.

Após traçar uma linha imaginária que vai desde a borda caudal da última costela até a articulação fêmur-tíbio-patelar (figura 1), realizou-se incisão de pele sentido dorso ventral de aproximadamente 1,5 cm no centro da linha traçada (figura 2). Após divulsão do tecido subcutâneo, foram colocados pontos de reparo com fio de mononylon 6-0 no músculo oblíquo externo, para qual foi utilizado um molde plástico de 0,5 cm² delimitando as bordas da área a ser incisada. Retirou-se uma porção da musculatura abdominal de 0,5 cm² incluindo o músculo oblíquo externo, músculo oblíquo interno e transversal abdominal (figura 3).



Figura 1. Traçado da linha imaginária na região abdominal lateral esquerda do camundongo.



Figura 2. Incisão de pele no sentido dorso ventral na região abdominal lateral esquerda do camundongo.



Figura 3. Retirada da porção abdominal lateral de camundongo incluindo todas as camadas.

O fragmento de pericárdio bovino com a face lisa voltada para o interior da cavidade foi implantado empregando sutura simples com fio mononylon 6-0 utilizando quatro pontos em cada margem (figura 4).

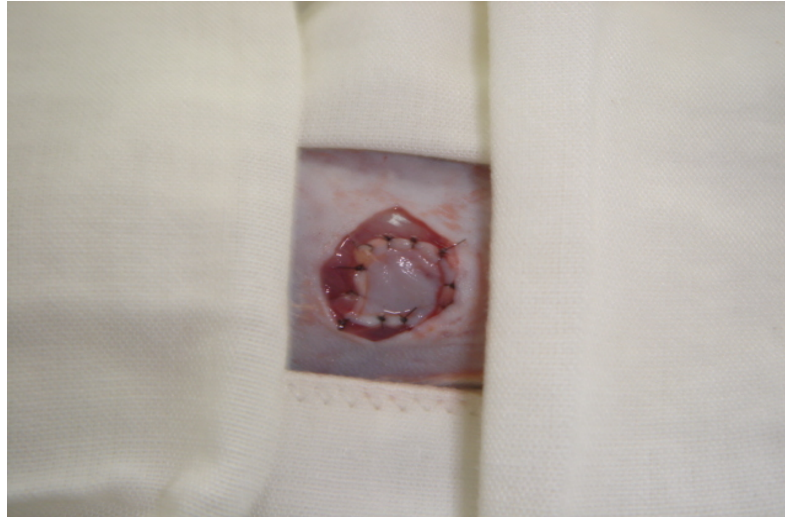


Figura 4. Fixação do pericárdio bovino na musculatura abdominal lateral com fio de mononylon 6-0.

A dermorrafia foi realizada por meio de sutura com pontos simples separados utilizando fio mononylon 6-0.

No pós-operatório em cada animal foi administrado 0,05 mL, por via intramuscular, de antibiótico composto associado de benzilpenicilina benzatina 1.200.000 U.I., benzilpenicilina procaína 600.000 U.I., benzilpenicilina potássica 600.000 U.I., diidroestreptomicina base 500 mg, estreptomicina base 500 mg em 6 mL (PLUNKETT, 2006).

3.6 AVALIAÇÃO TEMPORAL QUANTITATIVA DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA

Primeiramente, realizou-se o experimento piloto, com o objetivo de caracterizar a evolução da resposta inflamatória, avaliar o tempo de incorporação do enxerto, definir o “n” experimental adequado para análise quantitativa e padronizar a análise quantitativa. Onde seis grupos de cinco animais foram submetidos à cirurgia sendo implantados enxertos tratados com glicerina 98 % (tratamento padrão) e realizada a eutanásia aos 7, 14, 21, 30, 45 ou 60 dias, quando então foram retirados fragmentos da parede da região abdominolateral para análise histomorfológica.

A partir do dia 0 (implante do pericárdio bovino) os animais de todos os grupos foram medicados com cloridrato de tramadol em PBS, por via subcutânea, na dose de 40 mg/Kg, duas vezes ao dia, durante 02 dias.

Durante todo o período experimental, observou-se diariamente a atividade motora, ingestão de água e alimento dos camundongos.

Para eutanásia os animais passaram por indução anestésica em câmara hipersaturada com CO₂ até depressão respiratória total (figura 5) e posteriormente deslocamento cervical, de acordo com Olfert *et al.* (1993).

3.6.1 Grupos experimentais e tratamentos

Para comparar os dois tratamentos do pericárdio e possíveis influências de anti-inflamatórios não-esteroidais na incorporação dos enxertos preservados com glutaraldeído, grupos de 6 animais foram submetidos a três diferentes tratamentos: a) enxertos tratados com glicerina a 98%, e pós-operatório dos animais com cloridrato de

tramadol (controle); b) enxertos tratados com glutaraldeído a 1% e pós-operatório dos animais com cloridrato de tramadol e; c) enxertos tratados com glutaraldeído a 1% e pós-operatório dos animais com carprofeno. Em todos os tratamentos, grupos foram submetidos à eutanásia aos 7, 14, 30 ou 60 dias, constituindo um total de 12 grupos experimentais.

O cloridrato de tramadol, quando utilizado, foi administrado a partir do dia zero (implantação do enxerto) por via subcutânea, na dose de 40 mg/Kg, duas vezes ao dia, durante 02 dias. Enquanto o carprofeno foi administrado a partir do dia zero (implantação do enxerto) por via oral (gavagem), na dose de 10 mg/Kg, uma vez ao dia, durante 04 dias.



Figura 5. Animais mantidos na câmara de CO₂ até depressão respiratória total.

3.6.2 Coleta das amostras teciduais

Para eutanásia os animais passaram por indução anestésica em câmara hipersaturada com CO₂ até depressão respiratória total seguida de deslocamento cervical de acordo com as normas preconizadas pelo COBEA (lei nº 6338 de maio de 1979).

Na avaliação macroscópica observou-se escore corporal, aspecto da ferida cirúrgica (cicatrização da pele), presença de dermatite, integridade do enxerto e presença de aderências (figuras 6 e 7).



Figura 6. Avaliação macroscópica de animal do Grupo 3 que recebeu enxerto de pericárdio bovino tratado com glicerina a 98% , aos 30 dias observa-se ferida cirúrgica com completa cicatrização sem sinais de reação ao implante.

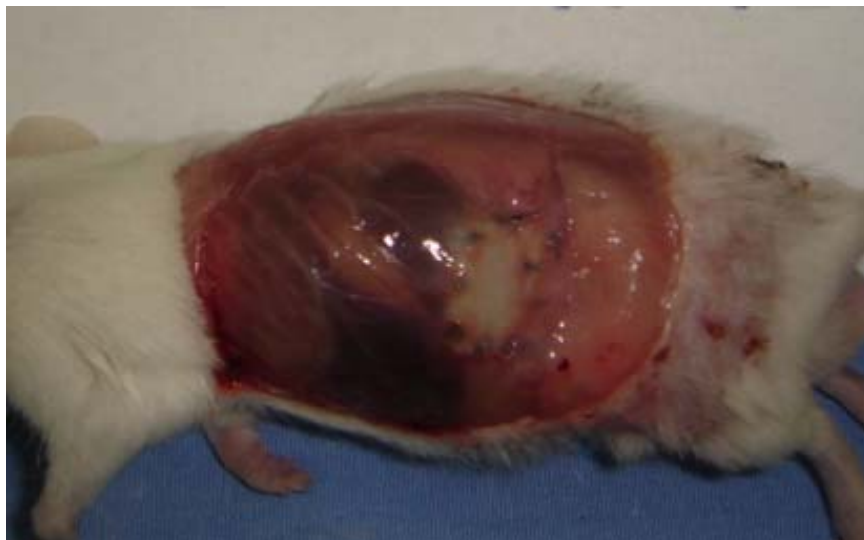


Figura 7. Avaliação macroscópica antes da coleta do fragmento, animal do experimento piloto com fragmento de pericárdio conservado em glicerina, aos 30 dias observa-se sobreposição do tecido conjuntivo nos pontos e em parte do implante.

Após a eutanásia, coletou-se fragmento de aproximadamente 2 cm de comprimento por 2 cm de largura na região abdominolateral (figura 8), de forma a retirar-se parte de tecido natural e parte do enxerto. Os fragmentos foram acondicionados em recipientes contendo formol tamponado a 10 % e processados para análise histomorfológica.

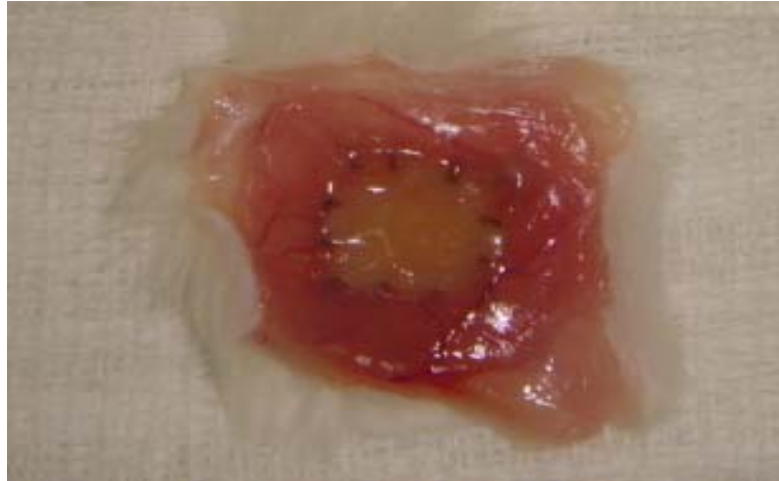


Figura 8. Amostra de um animal do Grupo 11 que recebeu implante de pericárdio bovino tratado com glutaraldeído e eutanasiado aos 30 dias.

3.6.3 Processamento e análise microscópica das amostras teciduais

As amostras teciduais devidamente fixadas (imersão em formol a 10%) e identificadas foram processadas no laboratório de Anatomia Patológica do Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Os fragmentos coletados foram desidratados, diafanizados e embebidos em parafina. Foram seccionados em micrótomo, montados em lâmina e corados com hematoxilina-eosina e tricrômico de Masson para avaliação histopatológica.

As amostras foram analisadas graduando-se os seguintes parâmetros: edema, infiltração neutrofílica, infiltração macrófaga, presença de células gigantes, neovascularização e fibrose. Sendo classificadas como:

- Ausente: -
- Discreta: (+)
- Leve: +
- Leve a moderada: ++
- Moderada: ++
- Moderada a acentuada: ++(+)
- Acentuada: +++

Posteriormente essa classificação foi adaptada baseando-se no proposto por Batista *et al.* (1996) que avaliou a qualidade da reação inflamatória comparando dois diferentes materiais de sutura no processo de cicatrização da aponeurose da parede abdominal de ratos, na qual o escore mais alto reflete maior reação inflamatória. A conversão em pontos foi obtida conforme a tabela 1.

Tabela 1. Conversão de graduação em um score.

	EDEMA	INFILTRAÇÃO NEUTROFÍLICA	INFILTRAÇÃO MACROFÁGICA	CÉLULAS GIGANTES	NEOVASCULA RIZAÇÃO	FIBROSE
Ausente -	0	0	0	0	0	0
Discreta (+)	1	1	1	1	1	1
Leve +	2	2	2	2	2	2
Leve a moderada +(+)	3	3	3	3	3	3
Moderada ++	4	4	4	4	4	4
Moderada a acentuada ++(+)	5	5	5	5	5	5
Acentuada +++	6	6	6	6	6	6

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados coletados foram planilhados no Excel e analisados estatisticamente com o auxílio do software Graphpad Prism® versão 4.0.

Os dados foram avaliados segundo método de análise de variância não paramétrico aplicando-se o teste de Kruskal-Wallis, seguido de teste de Dunn's de múltiplas comparações por meio da utilização do software.

Os dados foram testados a um nível de significância de 5% para 2 graus de liberdade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo utilizou como membrana biológica o pericárdio bovino, que segundo Alvarenga *et al.* (1992); Pinto *et al.* (1993); Santillan-Doherty *et al.* (1996); Pires *et al.* (1997); Greca *et al.* (2005); Pomerantzeff *et al.* (2007); apresenta como características principais fácil obtenção, maleabilidade, manejo cirúrgico adequado, justificando sua ampla utilização na rotina cirúrgica. Essas características foram comprovadas visto que o pericárdio foi obtido sem custo em matadouro com inspeção estadual, e a confecção dos fragmentos utilizados para implantação na parede abdominal através de um molde plástico de 0,5 cm² foi de fácil execução. Durante o procedimento cirúrgico o pericárdio bovino apresentou elevada resistência tênsil concordando com o relatado por Ionescu *et al.* (1979); Santillan-Doherty *et al.* (1995) e Covarrubias *et al.* (2005).

A escolha do tratamento ideal aplicado ao pericárdio bovino baseou-se em diversos autores considerando alguns fatores como facilidade de obtenção, custo, propriedade antibacteriana, antiviral e toxicidade. A escolha da glicerina a 98% como tratamento do grupo controle se deve a sua ampla utilização na prática cirúrgica veterinária (PIGOSSI *et al.* 1967; LANTZAN, 1986; COSTA NETO *et al.* 1999; CONTESINI *et al.* (2001) e do glutaraldeído 1% para os demais grupos devido a sua ação como solução fixadora, conservadora, biocida e desinfetante (SANTILLAN-DOHERTY *et al.* 1995; JAYAKRISHAN & JAMEELA, 1996; COSTA, 2009). O glutaraldeído quando utilizado no tratamento de membranas biológicas lhes confere biocompatibilidade satisfatória (HADAD FILHO *et al.* 2004; GRECA *et al.* 2005; MAIZATO *et al.* 2008), controla a degradação (MAIZATO *et al.* 2008) e reduz a antigenicidade (WOODROOF, 1979; SANTILLAN-DOHERTY *et al.* 1995).

A glicerina utilizada foi obtida na apresentação comercial concentrada a 98% e seus efeitos antibacterianos são considerados desde o trabalho inicial de Pigossi *et al.* (1967). Recentemente, questionou-se a utilização da glicerina no tratamento de bioimplantes devido à falta de ação viricida, de acordo com Coronado *et al.* (2000) no quais 98% dos felinos soronegativos que receberam enxertos homólogos de metatarsos conservados com glicerina a 98% provenientes de animais soropositivos, apresentaram positividade para o vírus da Leucemia Felina. Trani *et al.* (2008) também verificaram a ocorrência de vírus rábico em 50% das amostras positivas de pericárdio de camundongos após conservação em glicerina 98% por 30 dias.

Trani *et al.* (2008) relataram também que, no mesmo experimento anteriormente citado, obtiveram positividade do vírus rábico em pericárdios tratados com glutaraldeído a 0,625%, que é uma concentração considerada segura em vários estudos experimentais e descrições de utilização clínica.

No presente estudo, constatou-se a viabilidade da utilização do glutaraldeído 1% em uma concentração efetiva sem qualquer prejuízo ao receptor concordando com a afirmação de Costa (2009) que avaliou reações locais e incorporação dos implantes de pericárdio bovino em musculatura abdominal de camundongos tratados com solução de glutaraldeído a 0,625%, 1% e 1,5%, afirmando que as concentrações de 0,625% e 1% são viáveis.

Martins (2009) avaliou anatomopatologicamente o rim, fígado e baço de camundongos submetidos ao reparo de parede abdominal com pericárdio bovino conservado em glicerina 98% e glutaraldeído a 0,625%, 1% e 1,5% e não encontrou lesões compatíveis com possíveis efeitos tóxicos destas substâncias conservadoras, reforçando a segurança da utilização dessas concentrações.

O protocolo anestésico utilizado no presente estudo apresentou sedação e analgesia requeridas para a execução da técnica proposta, 80% dos animais que

alcançaram o plano anestésico adequado. No restante dos animais foi administrado pela via intraperitoneal 1/3 da dose indutora para ajuste do plano anestésico. O protocolo anestésico durou em média 35 minutos e os animais obtiveram recuperação anestésica total em até 80 minutos após administração da medicação pré-anestésica (VIANA, 2003; PAIVA, 2005; PLUNKETT, 2006).

A técnica cirúrgica empregada foi de fácil execução, utilizou-se um molde para a confecção do fragmento de pericárdio bovino permitindo assim a padronização dos fragmentos. O fio utilizado apresentou força tênsil adequada para fixação do implante na musculatura abdominal.

De acordo com Ramos (2002) outro fator de grande interferência no processo cicatricial recai sobre o tipo de fio de sutura utilizado, e considera o fio monofilamentar de nylon de escolha para fixação dos enxertos por apresentar menor reação tecidual e, portanto, menor interferência no processo cicatricial. No presente estudo utilizou-se fio nylon monofilamentar 6-0 já que a análise realizada incluiu avaliação da presença de infiltrado células mononucleares, polimorfonucleares e gigantes multinucleadas.

As avaliações clínicas diárias demonstraram que os animais apresentavam atividade motora assim como ingestão de água e alimentos normais e manutenção do peso corporal.

A análise temporal dos grupos experimentais foi definida na primeira parte do experimento. Após o implante de pericárdio bovino tratado com glicerina a 98% nos camundongos foram analisadas amostras nos períodos de 7, 14, 21, 30, 45 e 60 dias.

Comparando-se os resultados obtidos entre os períodos 14 e 21; 30 e 45 não se observaram diferença significativa ($p < 0,05$) conforme demonstrado na figura 9. A partir deste resultado, na segunda parte do experimento foram realizadas análises somente nos dias 7, 14, 30 e 60, com o intuito de minimizar o número de animais no presente experimento.

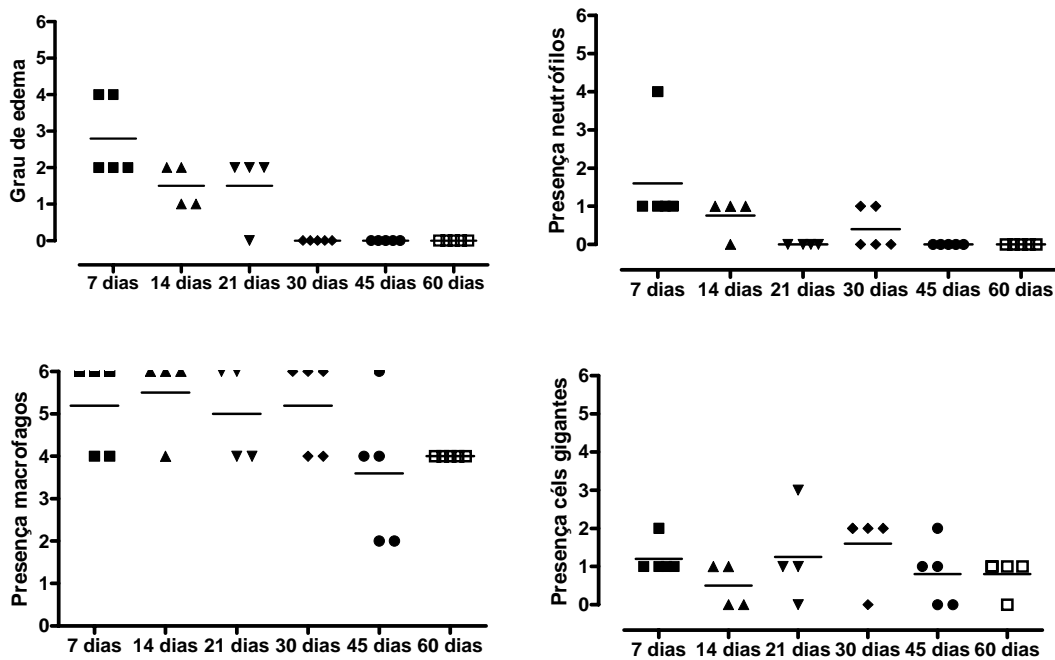


Figura 9. Graduação dos parâmetros inflamatórios em camundongos com implantes de pericárdio bovino conservado em glicerina 98% com administração de analgésico tramadol em diferentes tempos (piloto). Os pontos representam valores individuais de cada animal em relação ao parâmetro analisado histologicamente. O número de animais empregados foi de 5 para cada grupo experimental, tendo em vista que o teste de Kruskal-Wallis sugere a utilização de um número mínimo de 6 amostras, para o estudo finalístico a amostra foi ampliada para 6 animais.

Na avaliação macroscópica, todos os animais do segundo experimento apresentaram cicatrização normal da incisão da pele e todos os enxertos estavam íntegros. Com a retirada do fragmento da musculatura abdominal total contendo o enxerto no centro observou-se presença de leve aderência do omento maior ao implante em 33 % dos animais. Trauma mecânico, infecção, isquemia e presença de corpo estranho são situações que podem ocasionar formação de aderências relacionadas a processos inflamatórios com produção de exsudato rico em fibrinogênio. A fibrina formada induz a adesão de superfícies distintas juntamente com a proliferação do tecido de granulação (RAMOS, 2002). A aderência encontrada do omento maior ao implante em 33 % dos animais, não se configura como complicação e sim como um processo de defesa do organismo à presença de um corpo estranho.

Os AINEs são utilizados na rotina cirúrgica como tratamento pós-operatório devido aos seus efeitos anti-inflamatórios e analgésicos. Os AINEs bloqueiam a síntese de prostaglandinas por inibição da ciclooxigenase (COX) tipos 1 e 2, reduzindo assim a produção de mediadores da resposta inflamatória (COTRAN, 2002). Considerando que uma resposta inflamatória exacerbada compromete a incorporação do implante pelo hospedeiro, a utilização do anti-inflamatório modula essa resposta, minimizando a possibilidade de rejeição da membrana biológica.

No presente estudo a observação microscópica da qualidade da reação inflamatória avaliou parâmetros inflamatórios como edema, infiltração neutrofílica, infiltração macrófagica, presença de células gigantes, fibrose e neovascularização.

Conforme observado no experimento controle, após 60 dias de implante, animais

que receberam pericárdio bovino tratado com glicerina (98%), apresentaram uma clara redução da resposta inflamatória representada por uma redução significativa ($*p<0,05$) de infiltração neutrofílica (entre 7 e 30 dias) e na presença de macrófagos, presença de células gigantes e neovascularização (entre 7 e 60 dias). Não foram observadas diferenças significativas em relação ao grau de edema e fibrose conforme observado na figura 10.

GLICERINA CONTROLE

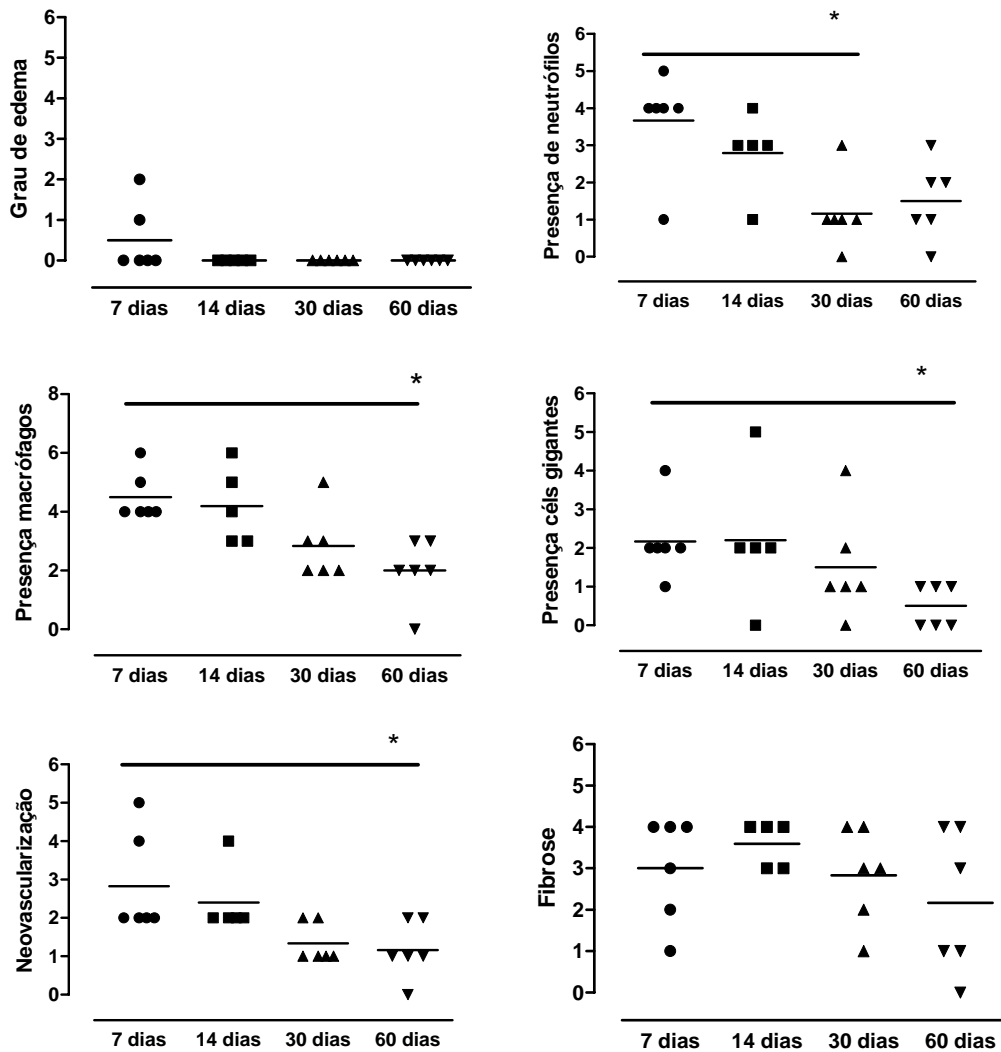


Figura 10. Graduação dos parâmetros inflamatórios em camundongos com implantes de pericárdio bovino conservado em glicerina 98% e administração de tramadol (analgésico) em diferentes tempos. Os pontos representam os valores individuais de cada animal em relação ao parâmetro analisado histologicamente. O número de animais empregados foi de 6 para cada grupo experimental, e os resultados obtidos foram testados a um nível $p<0,05$ utilizando-se os testes entre grupos distintos de Kruskal-Wallis e o teste de múltiplas comparações de Dunns.

Comparando-se os animais do grupo que receberam pericárdio tratado com glutaraldeído com administração do analgésico tramadol e do grupo que recebeu anti-

inflamatório carprofeno não observou-se diferença significativa a um nível $p < 0,05$ entre os parâmetros inflamatórios.

A análise comparativa entre os diferentes parâmetros nos diferentes tempos nos permite uma melhor comparação dos tratamentos.

O grau de edema dos grupos analisados durante os períodos de 7, 14, 30 e 60 dias em todos os tratamentos não mostrou diferença significativa entre os grupos de acordo com a figura 11. Todos os animais permaneceram com grau de edema leve, próximo a um, resultado esperado dentro do processo fisiológico da inflamação (COTRAN, 2000).

EDEMA (ANÁLISE TEMPORAL)

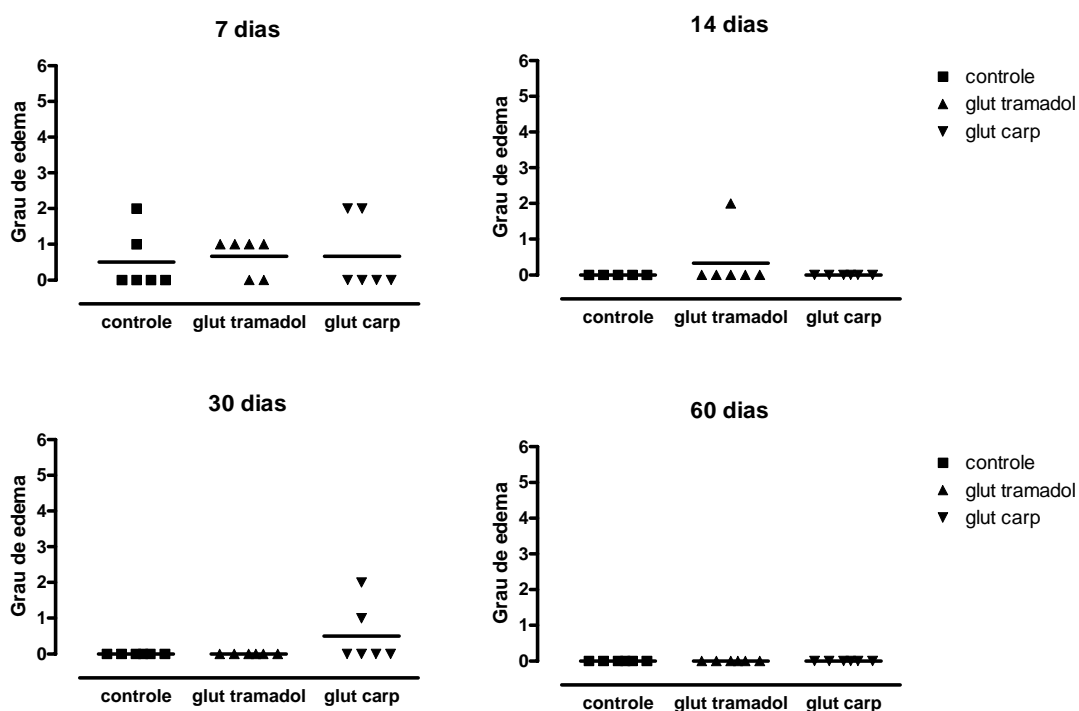


Figura 11. Graduação de edema em camundongos com implante de pericárdio bovino submetidos aos diferentes tratamentos nos períodos de 7, 14, 30 e 60 dias. Os pontos representam os valores individuais de cada animal em relação ao parâmetro analisado histologicamente. O número de animais empregados foi de 6 para cada grupo experimental, os resultados obtidos foram testados a um nível $< 0,05$ utilizando-se os testes entre grupos distintos de Kruskal-Wallis e o teste de múltiplas comparações de Dunns.

A presença de neutrófilos comparando-se os períodos de 7, 14, 30 e 60 dias, apresentou-se de forma incipiente, variando muito. Comparando-se os animais dos grupos em relação ao tipo de tratamento da membrana, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas. Não se observou significância a um nível $p < 0,05$ para a incidência de neutrófilos nos animais que receberam enxertos tratados com glutaraldeído, conforme representado na figura 12.

INFILTRAÇÃO NEUTROFÍLICA (ANÁLISE TEMPORAL)

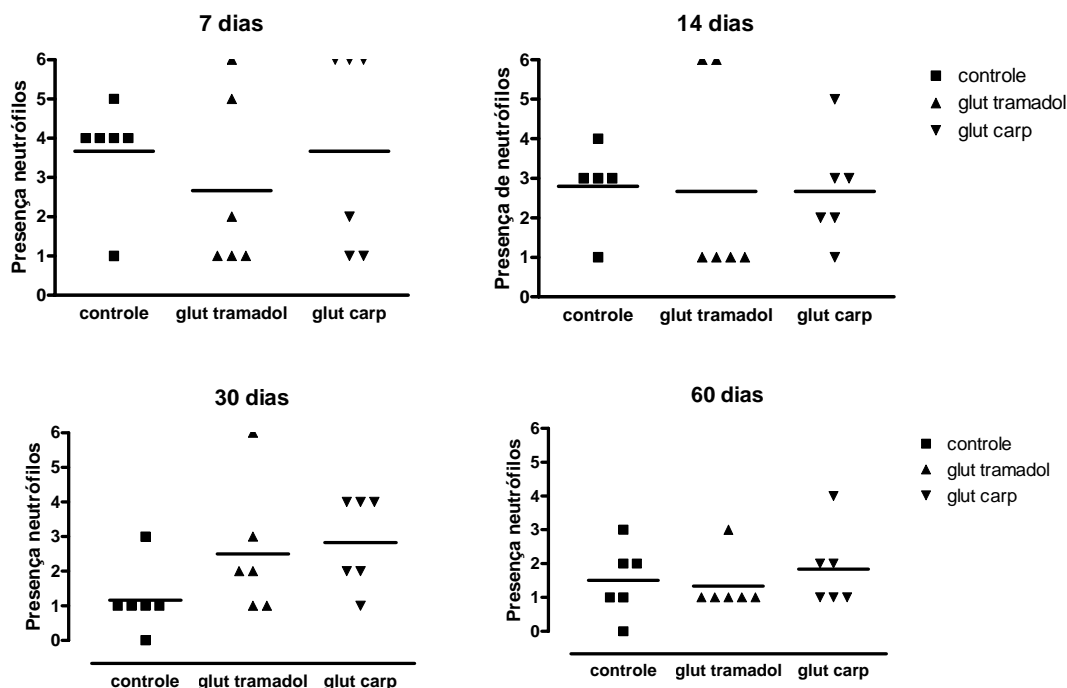


Figura 12. Gradação de infiltração neutrofílica em camundongos com implante de pericárdio bovino submetidos aos diferentes tratamentos nos períodos de 7, 14, 30 e 60 dias. Os pontos representam os valores individuais de cada animal em relação ao parâmetro analisado histologicamente. O número de animais empregados foi de 6 para cada grupo experimental e os resultados obtidos foram testados a um nível $p < 0,05$ utilizando-se os testes entre grupos distintos de Kruskal-Wallis e o teste de múltiplas comparações de Dunns.

O acúmulo de neutrófilos constitui uma característica de reação inflamatória aguda, que com o decorrer do processo inflamatório reparacional tende a diminuir, sendo substituído gradativamente por outros componentes que caracterizam a fase crônica ou reparadora (HADDAD FILHO *et al.* 2004). Entretanto, elas podem continuar ativas por meses quando induzidas pela presença de bactérias, ou por mediadores produzidos por macrófagos ou células necróticas, sendo que os macrófagos podem estar presentes desde a fase aguda até a crônica (ROBBINS, 2000). No presente trabalho não se observou diminuição da presença de macrófagos de acordo com a evolução do processo inflamatório de acordo com a figura 13. Resultado diferente foi encontrado por Haddad Filho *et al.* (2004) que observaram diminuição do número destas células no decorrer do período de sete a 30 dias, consoante a resolução do processo inflamatório. No presente trabalho neutrófilos e macrófagos estiveram presentes em todas as fases avaliadas de acordo com as figuras 12 e 13, que confirma a afirmação de Robbins *et al.* (2000) sobre a relação direta entre os mediadores produzidos pelos macrófagos e a persistência de neutrófilos na fase crônica da reação inflamatória.

INFILTRAÇÃO MACROFÁGICA (ANÁLISE TEMPORAL)

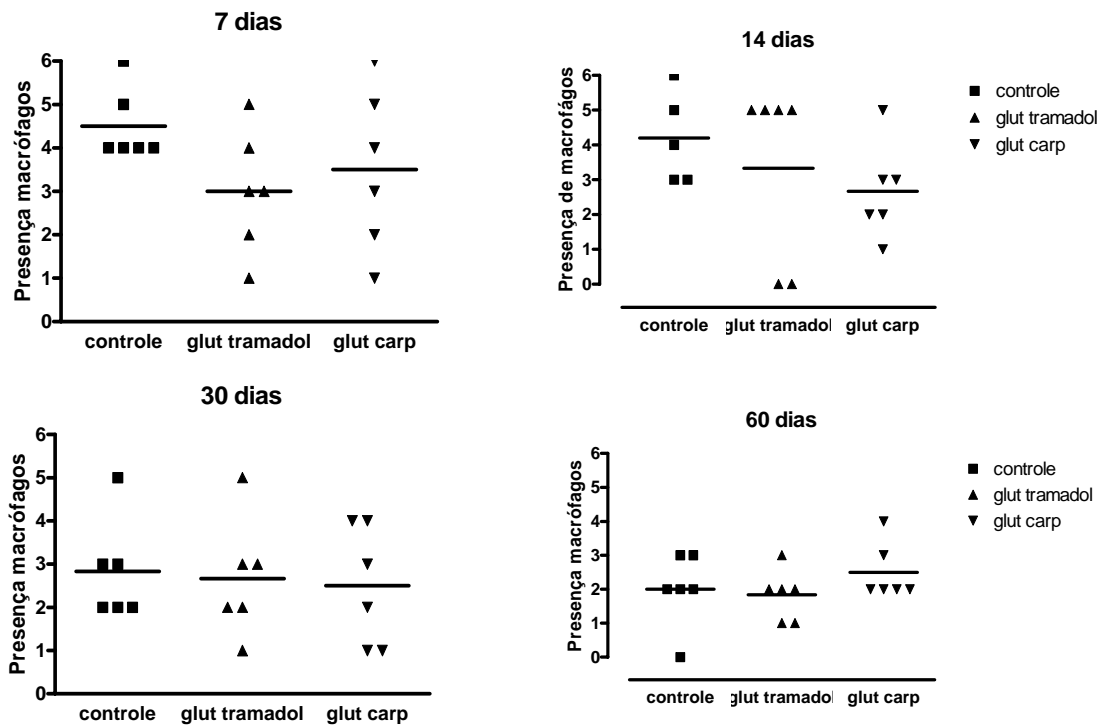


Figura 13. Graduação de infiltração macrófagica em camundongos com implante de pericárdio bovino submetidos aos diferentes tratamentos nos períodos de 7, 14, 30 e 60 dias. Os pontos representam os valores individuais de cada animal em relação ao parâmetro analisado histologicamente. O número de animais empregados foi de 6 para cada grupo experimental, os resultados obtidos foram testados a um nível $p < 0,05$ utilizando-se os testes entre grupos distintos de Kruskal-Wallis e o teste de múltiplas comparações de Dunns.

Em relação à presença de células gigantes comparando-se os períodos de 7, 14, 30 e 60 dias, e os animais dos grupos em relação ao tipo de tratamento da membrana, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas. Não se observou significância a um nível $p < 0,05$ para a presença de células gigantes, conforme representado na figura 14. As respostas inflamatórias crônicas, acompanhadas de macrófagos e acúmulo de células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho, têm sido observadas ao redor de muitos tipos de implantes de biomateriais (TANG *et al.* 1995).

PRESENÇA DE CÉLULAS GIGANTES (ANÁLISE TEMPORAL)

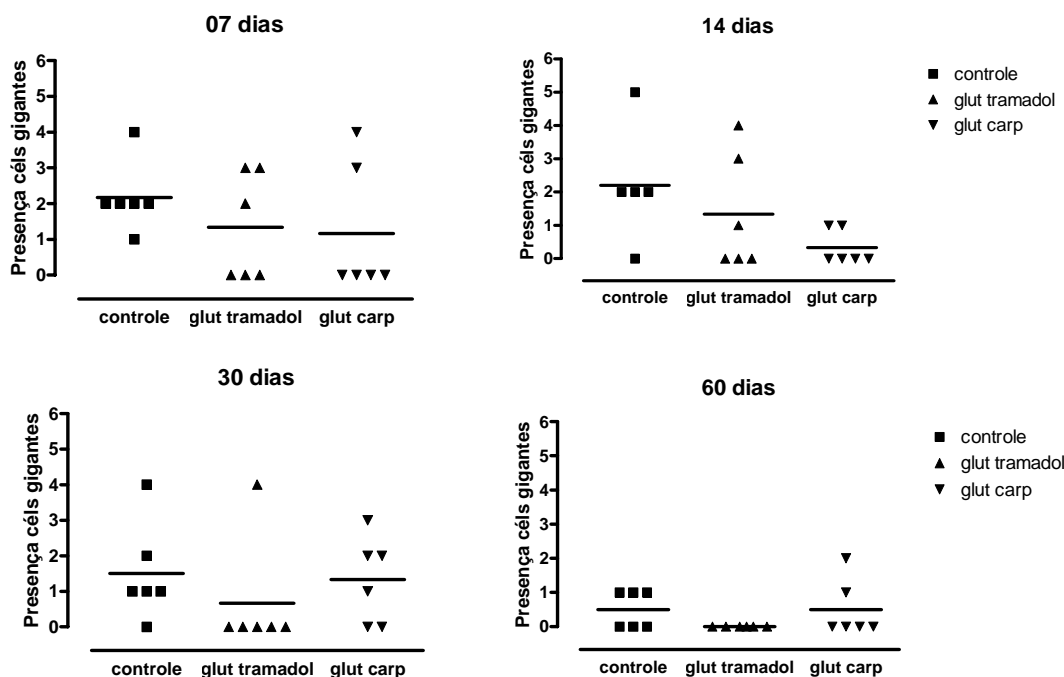


Figura 14. Graduação de presença de células gigantes em camundongos com implante de pericárdio bovino submetidos aos diferentes tratamentos nos períodos de 7, 14, 30 e 60 dias. Os pontos representam os valores individuais de cada animal em relação ao parâmetro analisado histologicamente. O número de animais empregados foi de 6 para cada grupo experimental, os resultados obtidos foram testados a um nível $p < 0,05$ utilizando-se os testes entre grupos distintos de Kruskal-Wallis e o teste de múltiplas comparações de Dunns.

A reparação tecidual começa quase que simultaneamente ao início da reação inflamatória. Nas primeiras 24 horas após a lesão inicial já tem-se proliferação de fibroblastos e células endoteliais vasculares que se proliferam para que seja formado o novo tecido de granulação, o qual se caracteriza pela angiogênese e proliferação de fibroblastos. A neovascularização é considerada um processo crítico para a inflamação crônica e fibrose (COTRAN, 2000). No presente estudo, observou-se diferença significativa ($*p < 0,05$), os animais que receberam implantes tratados com glutaraldeído apresentaram neovascularização mais intensa quando comparados com os animais que receberam implantes tratados com glicerina (controle) no período de 30 dias, conforme figura 15.

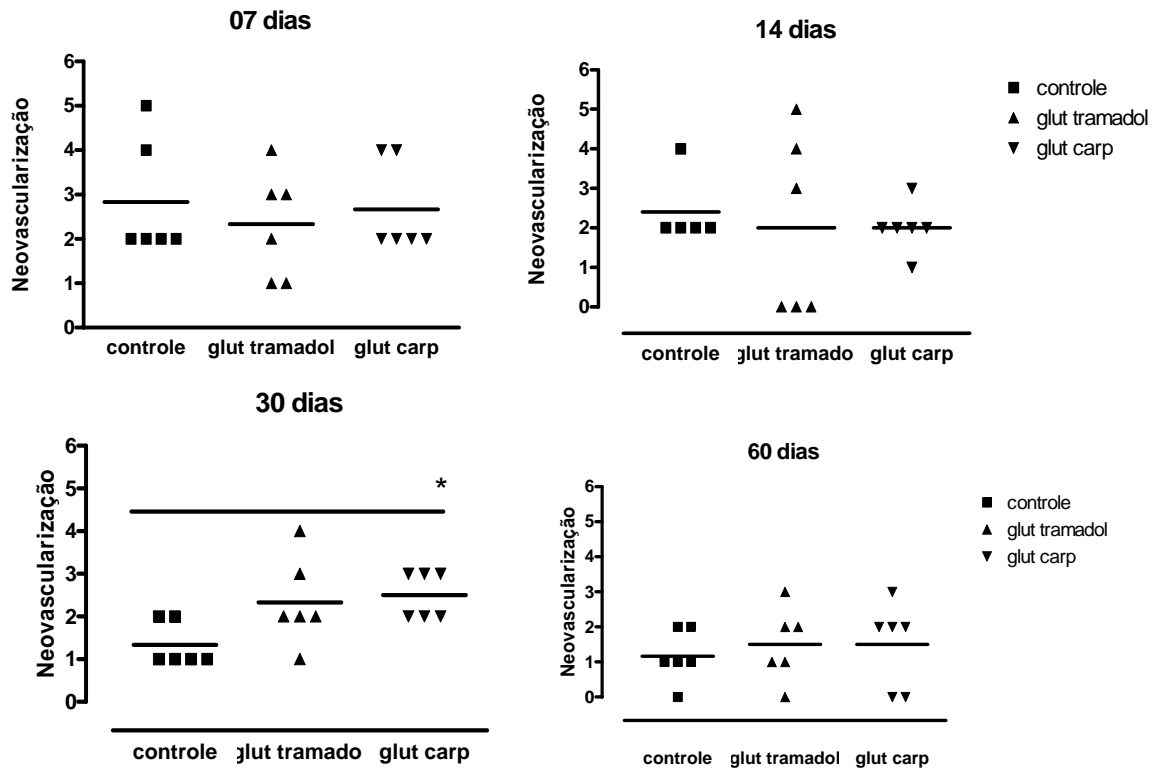


Figura 15. Graduação de neovascularização em camundongos com implante de pericárdio bovino submetidos aos diferentes tratamentos nos períodos de 7, 14, 30 e 60 dias. Os pontos representam os valores individuais de cada animal em relação ao parâmetro analisado histologicamente. O número de animais empregados foi de 6 para cada grupo experimental, os resultados obtidos foram testados a um nível $<0,05$ utilizando-se os testes entre grupos distintos de Kruskal-Wallis e o teste de múltiplas comparações de Dunns.

A resposta inflamatória tem início após o trauma e corresponde à primeira fase de cicatrização. Tal fenômeno é frequentemente estudado nas pesquisas experimentais que versem sobre cicatrização. Existem, porém, poucos estudos que analisam com técnica de H/E a reação da parede abdominal a diferentes tipos de enxertos. Gamba *et al.* (2002) em estudo que testou o uso de matriz acelular no reparo de defeitos de parede abdominal em coelhos, evidenciaram que o enxerto de diafragma homólogo acelular forneceu substrato para a migração de fibroblastos, deposição de colágeno neoformado e neovascularização, e o infiltrado celular incluiu polimorfonucleares e mononucleares.

O fibroblasto, principal célula produtora de colágeno dentro do processo inflamatório, é responsável pela produção de material orgânico a ser utilizado pelo organismo para a reparação devido a estas características, é esperado que o número deste tipo de célula aumente no início do processo de reparação e depois diminua, seja pela própria maturação ou por estar finalmente entre as fibras colágenas que produziu (HADDAD FILHO *et al.* 2004).

O presente estudo verificou que o pericárdio bovino forneceu substrato para a migração de fibroblastos em todos os grupos estudados. Em relação à presença de fibrose comparando-se os períodos de 7, 14, 30 e 60 dias, e os animais dos grupos em relação ao tipo de tratamento da membrana, não foram observadas diferenças

estatisticamente significativas. Não se observou significância a um nível $p < 0,05$ para a presença de fibrose, conforme representado na figura 16.

FIBROSE (ANÁLISE TEMPORAL)

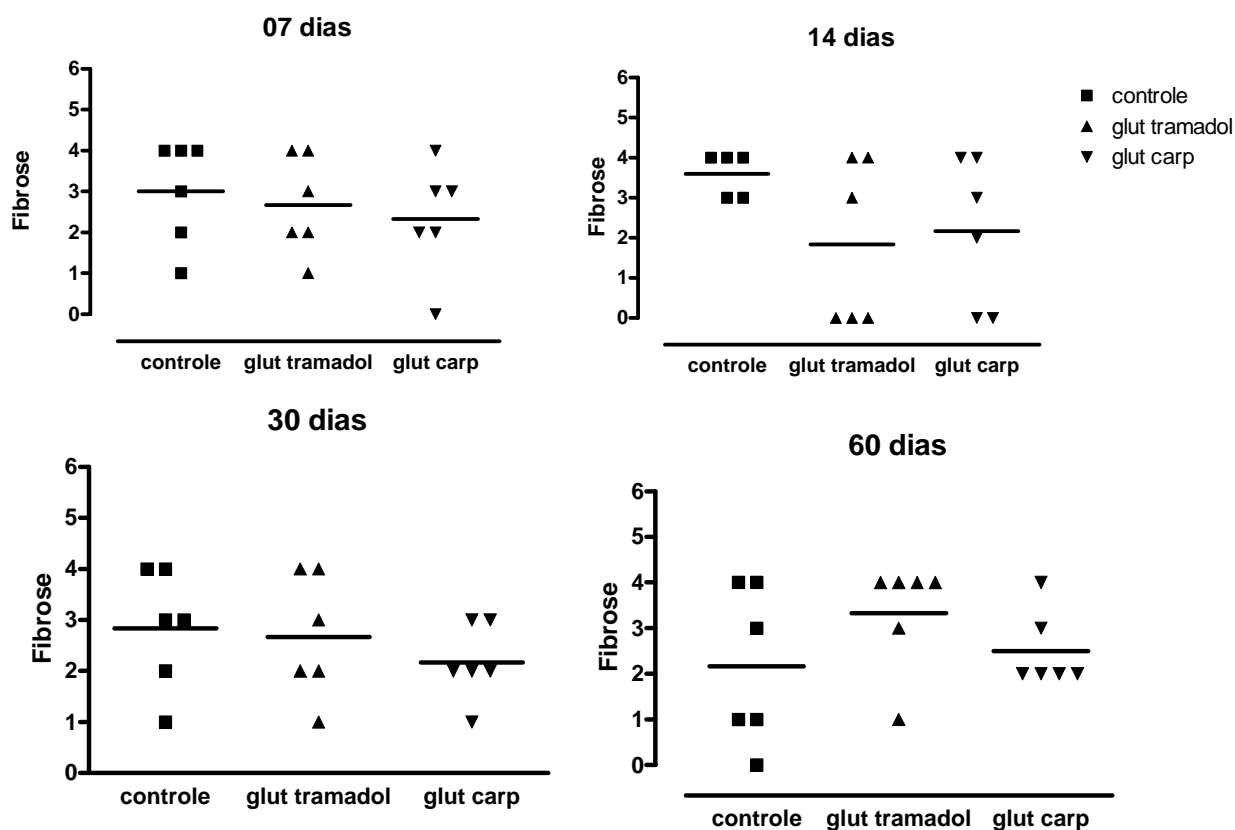


Figura 16. Graduação de presença de fibrose em camundongos com implante de pericárdio bovino submetidos aos diferentes tratamentos nos períodos de 7, 14, 30 e 60 dias. Os pontos representam os pontos individuais de cada animal em relação ao parâmetro analisado histologicamente. O número de animais empregados foi de 6 para cada grupo experimental, os resultados obtidos foram testados a um nível $p < 0,05$ utilizando-se os testes entre grupos distintos de Kruskal-Wallis e o teste de múltiplas comparações de Dunns.

O tipo de resposta inflamatória em situações de implantes, sejam sintéticos ou biomateriais, é sempre crônica (TANG *et al.* 1995). No presente estudo observou-se incorporação do enxerto pelo hospedeiro aos 60 dias em todos os grupos, confirmando o relato do autor.

O tratamento pós-operatório dos animais do grupo controle e grupo glutaraldeído + tramadol baseou-se em cloridrato de tramadol na dose de 40 mg/Kg, duas vezes ao dia, durante 02 dias (VIANA, 2003) e obteve resultados satisfatórios em relação a analgesia pós operatória. Os animais do grupo glutaraldeído com anti-inflamatório receberam carprofeno, por via oral (gavagem), na dose de 10 mg/Kg, uma vez ao dia, durante 04 dias seguindo recomendações de Pires (2009) que avaliou a eficácia de anti-inflamatórios sobre modelos de nocicepção e concluiu que o carprofeno

nessa dose foi eficaz em reduzir significativamente o número de contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos Swiss .

As complicações cirúrgicas avaliadas diariamente foram a presença de herniação, deiscência, evisceração e infecção da ferida operatória. Não houve casos de complicações cirúrgicas. Contrariamente aos resultados deste trabalho, Klinge *et al.* (1999) testando quatro diferentes tipos de telas na correção de defeitos da parede abdominal em 225 ratos, verificaram diferentes índices de complicações de acordo com o tipo de tela usada. Discordando também dos resultados aqui encontrados, Vant´t Riet *et al.* (2004) avaliando durante sete e 30 dias dois grupos de 28 ratos, sacrificaram dois animais no quinto dia que estavam com deiscência da ferida operatória por retenção urinária e sutura inadvertida do cólon.

O pericárdio bovino em todas as amostras analisadas estimulou rápida deposição de tecido conjuntivo que começou a organizar-se ao longo do eixo de estresse, servindo de arcabouço para o desenvolvimento de um novo tecido e restabelecendo a estrutura funcional. Esses achados são semelhantes aos encontrados em estudos anteriores por Lantzman (1986), Ranzani *et al.* (1990), Alvarenga *et al.* (1992) e Costa Neto *et al.* (1999). A utilização do pericárdio bovino tratado com a solução de tratamento glutaraldeído a 1%, mediante técnica cirúrgica empregada neste trabalho, associado à administração de anti-inflamatório não esteroideal conferindo menor reação inflamatória, abre novas perspectivas para seu emprego na rotina cirúrgica, e representa uma opção segura na recuperação funcional da parede abdominal.

5. CONCLUSÕES

Não houve diferença significativa entre os grupos tratados com carprofeno ou tramadol nas doses utilizadas, mostrando que a administração em curto prazo do

antiinflamatório não esteroidal não interfere no processo cicatricial em relação aos grupos controles, assim como não apresenta vantagem relativa.

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que o pericárdio bovino tratado com glutaraldeído a 1 % estimulou rápida deposição de tecido conjuntivo com mínima reação inflamatória, não provocando reação tipo corpo estranho e servindo de alicerce para o desenvolvimento de um novo tecido, restabelecendo estrutura e função da parede abdominal não diferindo do tratamento com glicerina a 98 %.

Considerando o maior espectro de ação antimicroorganismos do glutaraldeído a 1% em relação à glicerina 98 % e a ausência de diferenças significativas na reação ao implante, este estudo confirma a viabilidade desta preparação como alternativa para utilização na rotina cirúrgica.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADLINGTON, P.; ANSCOMBE, A.J.; PHILLIPS, J.J. Influence of the mode of preparation on the long-term efficacy of homologous costal cartilage implants. **Journal of Laryngology and Otology**, London, v.106, n.6, p.511-7, 1992.

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

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

ANSON, J.A.; MARCHAND, E.P. Bovine pericardium for dural grafts: clinical result in 35 patients. **Neurosurgery**, Baltimore, v.39, n.4, p.764-768. 1996.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Glutaraldeído em estabelecimentos de assistência a saúde. **Informe técnico n 04/07**, 14p. São Paulo, 2007.

APECIH (Associação Paulista de Estudos e Controle de Infecção Hospitalar). **Esterilização de artigos de unidades de saúde**, São Paulo. 1998.

BARROS, P.S.M.; SAFATLE, A.M.V.; RIGUEIRO, M. Uso do pericárdio de equino conservado em glicerina como enxerto penetrante da córnea de cães. Estudo experimental. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.34, p.138-141, 1997.

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

BAUCIA, J.A., NETO, R.M.L., ROGERO, J.R., NASCIMENTO, N. Tratamentos anticalcificantes do pericárdio bovino fixado com glutaraldeído: comparação e avaliação de possíveis efeitos sinérgicos. **Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery**, v.21 supl.2, p.180-187, 2006.

BERENGER, B; LASTRA, C.A.; MORENO, F.J.; MARTIN, M.J. Chronic gastric ulcer healing in rats subject to selective and non-selective ciclooxigenase-2 inhibitors. **European Journal of Pharmacology**, v.442.n.1-2.p125-135, 2002.

BRUN, M.V; PIPPI, N.L.; DREIMEIER, D.; CONTESINI, E.A.; BECK, C.A.C; CUNHA, O. FILHO, S.T.L.P.;ROEHSING, 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.

BURUGAPALLI, K.; KOUL, V.; DINDA, A.K.; Effect of composition of interpenetrating polymer network hydrogels based on poly (acrylic acid) and gelatine on tissue response: a quantitative in vivo study. **Journal Biomedical Mater Research**, v.68, n.2, p.210-8, 2004.

BUTLER, C.E. The role of bioprosthesis in abdominal wall reconstruction. **Clinics in Plastic Surgery**, v. 33.supl. 2. p. 199-211, 2006.

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**, Saint Louis, v.58, n.4, p.468-483.1969.

CARPENTIER, A.; DELOCHE, A.; RELLAND, J.; IANI, J.N.; FORMAN, J.CAMILLERI, J.P.; SOYER, R.; DUBOST, C.H.; MALM, J.R. Six-year follow-up of glutaraldehyde-preserved heterografts. **Journal of thoracic and cardiovascular surgery**. Sant Louis, v.68, n.5, p.771-782.1974.

CARREL, A. The treatment of wounds. **Journal of the American Medical Association**, Chicago, v.55, n.25, p.2148-50.1910.

CERISE, E.J.; BUSUTTIL, R.W.; GRAIGHEAD, C.C.; OGDEN, I.W. The use of mersilene mesh in repair of abdominal wall hernias. **Annals of Surgery**, Philadelphia, v.181, p.728-34, 1974.

CLARK, T.P. The clinical pharmacology of cicloxygenase-2-selective and dual inhibitors. **Veterinary Clinical Small Animal**, v.36, p.1061-1085.2006.

CONTESINI, E.A.; SALLES, M.S.; PIGATO, J.A.T.; PIPPI, N.L.; RAISER, A.G.; Reparação traqueal em case: transplante autógeno vs implante homogêno conservado em glicerina 98% de cartilagem da pina. **Ciência Rural**, v.31, n.4, p.633-637.2001.

CORONADO, G.S.Jr., SWENSON, C.L., MARTINEZ, S.A., BURKHARDT, K.S., ARNOCKY, S.P. Effects of a 98% solution of glycerol or sterilization with ethylene oxide on FeLV in bone allografts and effects on bone incorporation of allografts in cats. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.61, n.6, p.665-671.2000.

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 NETO, J.M., DALECK, C.R., ALESSI, A.C., BRACCIALLI, C.S.; Tenoplastia experimental do calcâneo em cães com peritônio bovino conservado em glicerina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, n.4, p.697-703, 1999.

COVARRUBIAS, D.P.; VEJA, A.S.; JASSO VICTORIA, R.; OLMOS ZÚÑIGA, J.R.; CALOCA, J.V.; SALGADO, J.A.S.; SANTILLÁN-DOHERTY, P. Uso del pericárdio bovino tratado com glutaraldeído. **Instituto Internacional de enfermedades respiratórias**, México, D.F. v.18, n.6, p.224-229, 2005.

DALECK, C.R., DALECK, C.L.M., PADILHA FILHO, J.G., et al. Reparação de hérnia perineal em cães com peritônio de bovino conservado em glicerina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.22, n.2, p.179-183, 1992.

DEJKERS, R.L.M., BLOEM, R.M., PETIT, P.L.C. et al. Contamination of bone allografts. Analysis of incidence and predisposing factors. **Journal of Bone Joint Surgery**, London, v.79-B, n.1, p.161-166, 1997.

FERREIRA, A.D.A., COSTA, F.D.A., SANTOS, E.A.A., SARDETO, E.A., GOMES, C.H.G., COLLATUSO, C., LOPES, S.A.V., PERRUZZO, A. COSTA, I.S.E.A. Ácido-glutâmico na prevenção da calcificação do pericárdio bovino fixado em glutaraldeído: estudo em ratos. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, v.22. n.3.p. 303-309, 2007.

FUTAGAMI, A.; ISHIZAKI, M.; FUKUDA, Y., KAWANA, S.; YAMANAKA, N. Wound healing involves induction of cyclooxygenase-2 expression in rat skin. **Laboratory Investigation**, v.82, n.11, p.1503, 2002.

GAMBA,P.G.; CONCONI, M.T.; PICCOLO, R.; ZARA, G.; SPINAZZI, R.; PARNIGOTTO, P.P. Experimental abdominal wall repaired with acellular matrix. **Pediatric Surgery International**,v.5.n.18, p.327-31.2002.

GIAP, A.P. TARNAWSKI, H.O.A.N.T.; AKOTIA, V.; MA, T,Y. NSAID inhibition of RGM1 gastric monolayer wound re-epithelialization: comparison of selective COX-2 versus non-selective cox-inhibitors. **Life Sciences**, v.70.n.25.p.3029-37, 2002.

GOISSIS, G.; BRAILE, D.M.;GIGLIOTI, A.F. Desenvolvimento do processo automático para reticulação progressiva de matrizes de colágeno com glutaraldeído.**Polímeros: Ciência e tecnologia**, São Carlos,v.9, n.4, p.92-97, 1999.

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 mucosa intestinal porcina e pericárdio bovino utilizados como enxertos na veia cava de cães. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo,v.20,n.4, p.317-22.2005.

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**, São Paulo,v.19,n.2,p.131-135, 2004.

HATAZAWA, R.; TANAKA, A.; ASHIDA, Y.; TAKEUCHI, K. Cyclooxygenase-2/prostaglandin E₂ accelerates the healing of gastric ulcers via EP4 receptors. **American Journal of Physiology: Gastrointestinal and Liver Physiology**, v.293.n.4.p.788-97, 2007.

INATOMI, L.S., PRANTONI, G.A., ARAÚJO, F.C.; RAISER, A.G., PEREIRA, S.N.; CARDOSO, G.; BARROS,S.S.; SANTOS, M.N. Implante de dura-máter heteróloga em cães. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, Santa Maria, v.10, n.3, p.291-297, 1980.

IONESCU, I.M.; TANDON, A.P. The Ionescu-Shiley pericardial xenograft heart valve. In: Ionescu MI (Ed). **Tissue heart valves**, London: Butterworth, p.201, 1979.

JAYAKRISHNAN, A.; JAMEELA, S.R. Glutaraldehyde as a fixative in bioprostheses and drug delivery matrices. **Biomaterials**, v.17, n.5, p.471-484, 1996.

JONES, M.K.; HONGATO, W.; PESKAR, B.M.; LEVIN, E.; ITANI, R.M.; SARFEH, I.J.; TAMAWSKI, A.S. Inhibition of angiogenesis by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: insight into mechanisms and implications for cancer growth and ulcer healing. **Nature Medicine**, v.5, n.12, p.1418-23, 1999.

KLINGE, U. KLOSTERHALFEN, B., MULLER, M., ANUROV, M., OTTINGER, A., SCHUMPELICK, V. Influence of polyglactin-coating on functional and morphological parameters of polypropylene-mesh modifications for abdominal wall repair. **Biomaterials**, v.7, n.20 .p.613-23.1999.

LANTZMAN, M. Utilização de pericárdio equino conservado em glicerina na reparação cirúrgica do duodeno de cães (canis familiaris): estudo experimental. São Paulo, 1986. **Tese Mestrado -FZEA**, 1986.

LEE, J.L.P.; MUKHTAR, H.; BICKERS, D.R.; KOPELOVICH, L.; ATHAR, M. Cyclooxygenases in the skin: pharmacological and toxicological implications. **Toxicological and Applied Pharmacological**, v.192, n.3. p.294-306, 2003.

LESS, P.; LANDONI, M.F.; GIRAUDEL, J.; TOUTAIN, P.L. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in species of veterinary interest. **Journal Veterinary Pharmacology Therapy**, v.27, p.479-490, 2004.

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

MAIZATO, M.J.S. PIRES, M.D.; CANZIAN, M.; HIGA, O.Z.; PITOMBO, R.M.N.; LEIRNER, A.A. Histological evaluation of biocompatibility of lyophilized bovine pericardium implanted subcutaneously in rats. **Artificial Organs**, v.32, n.4. 2008.

MARTINS, C.R.P. Avaliação anatomopatológica de rins, fígado e baço de camundongos submetidos ao reparo de parede abdominal com pericárdio bovino conservado em glicerina e glutaraldeído. 35 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.

MASTH, B.A.; COHEN, I.K. Normal wound healing. In: ACHAUER, B.M.; ERIKSSON, E. **Plastic Surgery: indications, operations and outcomes**, St. Luis: Mosby. cap.5. p.37-51. 2000.

MAZZANTY, A.; PIPPI, N.L.; RAISER, A.G.; GRAÇA, D.L.; SILVEIRA, A.F.; EURIDES, D.; FARIA, R.X.; GONÇALVES, G.S.; GUEDES, A.G.P.; RIOS,

M.V. Restauração da traquéia de cães com membrana de cordão umbilical de bovinos conservada em glicerina. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, São Paulo. v.37, n.4, p.1-19.2000.

MODOLIN, M.; KAMAKURA, L. Aspectos gerais da cicatrização de feridas. In: SUCENA, R.C. **Cirurgia Plástica: contribuição para o ensino da especialidade**, São Paulo. Fundo editorial da Sociedade Brasileira de Cirurgia Plástica. p.91-02.1981.

MOTA, F.C.D.; EURIDES, D.; BELLETTI, M.E.; FREITAS, P.M.C.; MASTRANTONIO, E.C.; SHIMIZO, B.J.; CARDOSO, J.R.; MARTINS, A.K.; Análise ultra-estrutural da túnica muscular do intestino delgado de cães preservado em diferentes meios. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo. v.39. n.1/6, p. 13-17, 2002.

OLFERT, E.V.; CROSS, B.M.; ANN MCWILLIAN, A. **Guide to the care and use of experimental animals**, v 1. Ottawa, Ontario. 1993.

OLIVER, R.F.; GRANT, R.A.; COX, R.W.; COOKE, A. A effect of aldehyde cross-linking on human dermal collagen implants in the rat. **British Journal of Experimental Pathology**, Oxford, v.61, n.5, p.544-9, 1980.

PAIVA, F.P.; MAFFILI, V.V.; SANTOS, A.C.S. **Curso de manipulação de animais de laboratório**, Fundação Oswaldo Cruz. Centro de Pesquisas Gonçalo Muniz. p.14. 2005.

PAPICH, M.G. An update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in Small Animals. **Veterinary Clinical Small Animals**, v.38, p.1243- 1266, 2008.

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

PIGOSSI, N. A glicerina na conservação de dura-máter: estudo experimental. 83 f. **Tese (Livre-Docência)**. Faculdade de Medicina de São Paulo, Universidade de São Paulo, 1967.

PIGOSSI, N.; RAIA, A.; LEX, A.; GAMA, A.H.; SIMONSEN, O.; HADDAD, J.; STOLF, N.; ZERBINI, E.J.; MINITI, A.; TENUTO, R. Estudo experimental e clínico sobre o emprego como implante da dura-máter homogênea conservada em glicerina à temperatura ambiente. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.7, n.8, p.263-278. São Paulo, 1971.

PINTO, T.J.A.; SAITO, T.; GLERAN, A. Biocompatibilidade de materiais empregados na confecção de próteses cardiovasculares: comparação entre pericárdio de bovino e dacron. **Revista de Saúde Pública**, v. 27, n. 3. São Paulo. 1993.

PIRES, A.C.; SAPORITO, W.F.; LEÃO, L.E.V.; FORTE, V.; CARDOSO, S.H.; RAMACIOTTI, O. Pericárdio bovino utilizado como remendo no sistema

cardiovascular. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, v.12,n.2, p.176-87,1997.

PIRES, P.A. Potencial analgésico, Anti-edematogênico, Anti-pirético e atividade Ulcerogênica de fármacos anti-inflamatórios em roedores. 82 p. 2009. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Patologia Animal) Instituto de Veterinária. Departamento de Ciências Fisiológicas. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica-RJ.

PLUNKETT, S.J. **Procedimentos de emergências em pequenos animais**, 2 ed. Ed: Revinter. Rio de Janeiro, 2006.

POMERANTZEFF, P.M.F.; BRANDÃO, C.M.F.; GUEDES, M.A.V.; BRAILE, D.M. 'Less stendend bovine pericardial xenograft: a new concept. **Artificial Organs**, v.31, n.1, p.70-86, 2007.

PREVEL, C.D.; EPPLEY, B.L.; SUMMERLIN, D.J.; JACKSON, J.R.; MCCARTY, M.; BADYLAK, S.F. Small intestinal submucosa: utilization for repair of rodent abdominal wall defects. **Annals of Plastic Surger**, Boston, v.35, p.374-80, 1995.

QUITZAN, J.G.; 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 Cirúrgica Brasileir**, v.18, n.4, p.297-301. 2003.

RAISER, A.G.; GRAÇA, D.L.; PIPPI, N.L; ZINN, L.L; SILVEIRA, D.S.; BORDIN, A .I.; BAIOTTO, G.C; RIOS, M.V; SILVEIRA, A.F. Homoimplante ortotópico de tendão calcâneo em cães. Conservação, assepsia e implantação. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v.31. n.1, p 89-94, 2001.

RAMOS, E.J.B. Estudo da biocompatibilidade da tela de polipropileno e da submucosa intestinal de porco na correção de defeitos criados na parede abdominal de cães- estudo comparativo. 75 p. 2002. **Dissertação (Mestrado em Medicina)** pela Universidade Federal do Paraná. Curitiba. PR.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; FLOWER, R. **Farmacologia**, 6ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2007.

RANZANI, J.J.T.; GANDOLFI, W.; FRANCO, M., CASTRO, G.B; NICOLETTI, J.L.M. Implante de pericárdio de equino preservado em glicerina em solução de continuidade do diafragma de cão. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v.27, p.75-81, 1990.

ROBBINS; COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Patologia Estrutural e Funcional**, 6ª ed. Ed. Guanabara Koogan, São Paulo. p. 44-45- 91-93, 2000.

ROTH, J.; RUMMEL, C.; BARTH, S.W.; GERSTBERGER, R.; HUBSCHLE, T.; Molecular aspects of fever and hyperthermia. **Immunology and Clinics of North América**, v.29, p.229-245, 2009.

SANTILLAN-DOHERTY, P.; JASSO-VICTORIA, R.; SOTRES-VEGA, A.; OLMOS, R.; ARREOLA, J.L; GARCIA, D.; VANDA, B; GAXIOLA, M. Repair of thoracoabdominal wall defects in dogs using a bovine pericardial bioprothesis. **Revista de Investigacion Clinica**, México City, v.47, n.6, p.439-46,1995.

SANTILLAN-DOHERTY, P.; JASSO-VICTORIA, R.; SOTRES-VEGA, A.; OLMOS, R.; ARREOLA, J.L; GARCIA, D.; VANDA, B; GAXIOLA, M.; SANTIBAÑEZ, A; MARTIN, S; CABELLO, R. Thoracoabdominal wall repair with glutaraldehyde-preserved bovine pericardium. **Journal of Investigative Surgery**, v.9, n.1.p.45-55. 1996.

SARTORI FILHO, R., GANDOLFI, W., BANDARRA, E.P. Emprego de membrana biológica (centro frênico) na reparação das lesões tendíneas em coelhos. **Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v.9, p.69-77, 1997.

SLATTER, D. **Manual de Cirurgia de Pequenos Animais**, vol.13 ed. Barueri.SP: Manole.p.161. 2007.

SPINOZA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M.**Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**, 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.,p.239-272. 2006.

TRANI, R.A.S. Eficácia das soluções de Glicerina a 98% e Glutaraldeído a 0,625% na desinfecção de pericárdios de camundongos (*Mus musculus*) experimentalmente inoculados com vírus da Raiva. 2006. 68p. 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.

TRANI, R.A.S.; COSTA, C.B.; FERREIRA, R.T.; PORTO, T.A.; GONÇALVES, P.C.; ANDRADE, C.M.; SILVA, M.F.A.Eficácia das soluções de glicerina 98% e glutaraldeído 0,625% na desinfecção de pericárdio de camundongos (*Mus musculus*) experimentalmente inoculados com o vírus da raiva.In: **VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE CIRURGIA E ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA**, Recife,2008.

TANG, L.; EATHON, J.W. Inflammatory responses to biomaterials. **American Journal Clinican and Pathhology**, Philadelphia, v.103, n.4, p. 466-71, 1995.

VÁMHIDY, L., STRAUCH, B., BIRÓ, V. Preserved tendon grafts in reconstructive hand surgery: a review. **Acta Chirurgical Hung**, Budapest, v.31, n.3, p.209-215, 1990.

TIZARD, I.R. **Imunologia Veterinária: uma introdução**, 6ed.São Paulo:Roca, p. 92- 114.2002.

VAN´T RIET, M., BURGER,J.W., BONTHUIS,F., JEEKEL,J., BONJER,H.J.Prevention of adhesion formation to polypropylene mesh by collagen coating: a randomized controlled study in a rat model of ventral hernia repair. **Surgical Endoscopy**, v.4.n.18. p.681-5.2004.

VANE, J.R.; BOTTING, R.M. Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **American Journal of Medicine**, v.104, n.3A , p.21-22.1998.

VIANA, F.A.B. **Guia terapêutico veterinário**, 1ed. ed: Cem.Belo Horizonte. 320p. 2003.

WARNER, T.B.; MITCHELL, J.A. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors and the lessons from the clinic. **The FASEB Journal**, v.18.p.790-804, 2004.

WILGUS, T.A.; VODOVOTZ, Y.; VITTADINI, E.; CLUBBS, E.A.; OBERYSZYN, T.M. Reduction of scar formation in full thickness wound whits topical celecoxib treatment. **Wound repair and regeneration**, v.11, n.1.p.25-35, 2003.,p.347, 2003.

WOODROOF, E. A.Use of glutaraldehyde and formaldehyde to process tissue heart valves.In: IONESCU,M.I. **Tissue heart valves**, London: Butterworth, p.347,1979.

YAMATOJI, R.S.; RAMAL, S.C.; GRANJEIRO, J.M.; CESTARI, T.M.; LIMA, A.F.M. Histologia da associação de membranas biológicas de origem bovina implantadas no tecido subcutâneo de ratos.**Ciência Rural**, v.35,n.4.Santa Maria, 2005.

ZHAO, X.; COURTNEY, J.M. Influence on blood of plasticized polivinil chloride: significance of the plasticizer. **Artificial Organs**,v.23,n.1,p.104-107.Cleveland,1999.