

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ADESIVO DE FIBRINA DERIVADO DE VENENO DE
SERPENTE COMO PROMOTOR DA CICATRIZAÇÃO
TENDÍNEA EM CÃES. ESTUDO HISTOPATOLÓGICO E
BIOMECÂNICO**

Gisela Cristiane Ferraro

Médica Veterinária

JABOTICABAL – SP – BRASIL

2003

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ADESIVO DE FIBRINA DERIVADO DE VENENO DE
SERPENTE COMO PROMOTOR DA CICATRIZAÇÃO
TENDÍNEA EM CÃES. ESTUDO HISTOPATOLÓGICO E
BIOMECÂNICO**

Autora: Gisela Cristiane Ferraro

Orientadora: Profa. Dra. Julieta Rodini Engrácia de Moraes

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária (Patologia Animal).

Jaboticabal – SP
Junho – 2003

FICHA CATALOGRÁFICA (verso 2ª capa)

F376a Ferraro, Gisela Cristiane
Adesivo de fibrina derivado de veneno de serpente como promotor da cicatrização tendínea em cães. Estudo histopatológico e biomecânico / Gisela Cristiane Ferraro -- Jaboticabal, 2003
xii, 55f.: il..; 28 cm

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2003
Orientadora: Julieta Rodini Engrácia de Moraes
Banca Examinadora: Silvia Regina Catharino Sartori Barraviera, Antônio Carlos Shimano.
Bibliografia

1. Cicatrização tendínea. 2. Adesivo de fibrina. 3. Histopatologia. I. Título. II. Jaboticabal - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias

CDU 619:616.75:636.7

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – Unesp, câmpus de Jaboticabal.

E-mail: gcferraro@hotmail.com.br



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: ADESIVO DE FIBRINA DERIVADO DE VENENO DE SERPENTE COMO PROMOTOR DA CICATRIZAÇÃO TENDÍNEA EM CÃES. ESTUDO HISTOPATOLÓGICO E BIOMECÂNICO

AUTORA: **GISELA CRISTIANE FERRARO**

ORIENTADORA: **Dra. JULIETA RODINI ENGRACIA MORAES**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE em MEDICINA VETERINÁRIA (PATOLOGIA ANIMAL) pela Comissão Examinadora:

Dra. JULIETA RODINI ENGRACIA MORAES

Dra. SILVIA REGINA CATHARINO SARTORI BARRAVIERA

Dr. ANTÔNIO CARLOS SHIMANO

Data da realização: 24 de junho de 2003.

Presidente da Comissão Examinadora
Dra. JULIETA RODINI ENGRACIA MORAES

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

GISELA CRISTIANE FERRARO – Natural de São Paulo – SP, nascida aos 02 de setembro de 1970; ingressou no curso de Graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp, Câmpus de Jaboticabal, em março de 1996, concluindo-o em dezembro de 2000. Em março de 2001 iniciou o curso de mestrado em Medicina Veterinária (Patologia Animal) na mesma Universidade, concluindo-o em junho de 2003.

“Embora isso esteja esquecido, o caminho para a inteligência passa pelas mãos. Pensamos para ajudar as mãos. Das mãos nascem as perguntas. Da cabeça nascem as respostas. Se a mão não pergunta, a cabeça não pensa. Laboratório vem de *laborare* – trabalhar com as mãos, que é essa cooperação entre mãos e inteligência...”

RUBEM ALVES

Dedico,

aos meus pais (*in memoriam*),
pelo amor que nos une...

e

à tia Rosária,
por saber que sua presença em momento
algum me deixou só, nesta caminhada que
Deus graciosamente traçou para minha
vida... OBRIGADA !

*“ Ah, se pudéssemos contar
As voltas que a vida dá
Pra que a gente possa encontrar
Um grande amor*

*É como se pudéssemos contar
Todas as estrelas do céu
Os grãos de areia desse mar
Ainda assim*

*Pobre coração, o dos apaixonados
Que cruzam o deserto em busca de um oásis em flor
Arriscando tudo por uma miragem
Pois sabe que há uma fonte oculta nas areias
Bem-aventurados os que dela bebem
Porque para sempre serão consolados*

*Somente por amor
A gente põe a mão
No fogo da paixão
E deixa se queimar
Somente por amor
Movemos terra e céus
Rasgando os sete véus
Saltamos no abismo
Sem olhar pra trás
Somente por amor
A vida se refaz*

*E a morte não é mais
Pra nós... “*

A miragem - Marcus Viana

Ofereço,

**com todo amor,
àquele que foi (e me é)
essencial... Mauro.**

“Eu também... mas, bastantão continua
sendo muito mais que muito?...”

(...)

Então, tá bom!”

“Vi quanto é bom ser amiga dos cães

Eles farejam os humanos

Eles ampliam a fidelidade

Eles dimensionam o amor...”

Susana Viliça

Aos animais,

a todos os cães deste estudo,
que generosamente fizeram tudo, apesar de tudo,
valer a pena...

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

“A verdadeira fidalguia é a ação.
O que fazeis, isso sois, nada mais.”

Padre Antônio Vieira

À professora Dra. Julieta R. E. de Moraes, pela oportunidade e pela confiança.

Ao professor Dr. Flávio R. de Moraes, pelas correções no decorrer deste trabalho.

Aos professores Dr. José C. de Lacerda Neto e Dr. Wilter R. R. Vicente; Dr. Antônio C. Shimano e Dra. Silvia R. C. S. Barraviera, pelas participações na banca examinadora da qualificação e defesa e, pelas sugestões para a melhoria deste trabalho.

Às residentes da obstetrícia, Daniela Paura, Ana Paula e Aline, por todos os auxílios prestados sempre que necessário.

Aos funcionários do Departamento de Patologia Animal: Moema, Chica, Lia, Tel, Edgar, D. Cida, Sr. Antônio, D. Isaura, João e Ronaldo, por todo carinho e cooperação.

À Heloísa e aos funcionários do CPPar, por toda ajuda.

Aos funcionários do HV, Eugênio, Flávia e Luíza, por toda colaboração.

Aos funcionários da Pós-graduação, Biblioteca, Funep, UAD e demais setores, pela atenção e prestatividade.

Ao colega Fabrício, pela elaboração do *summary*.

Aos colegas da pós-graduação, em especial à Jesus, pelo o quê compartilhamos...

Aos colegas, Aline, Dani, Daniela, Fabrício, Simone e Tatiana, pelos encontros gastronômicos, bate-papos e boas risadas...

À Cindy, Donna, Layna, Luli, Loura, Mila e Tati, porque sem vocês não seria tão bom...

À Dona Olympia, pela torcida sempre...

À Ana, Clau, Eves, Mara, Paty e Taís, pela amizade...

Ao Sr. Camargo e D^a. Yolanda e família, pelo carinho...

Ao Leo e Vini, pela existência...

À Deus, por tudo... e por todos que de alguma forma contribuíram com a realização deste trabalho...

MUITO OBRIGADA !!

AGRADECIMENTOS

À FAPESP, pelo suporte financeiro.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Unesp, Jaboticabal e ao seu curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, pelo ensejo da realização do mestrado.

Ao Departamento de Patologia Animal da FCAV, na pessoa do chefe de departamento, Profa. Dra. Julieta R. E. de Moraes, pelo uso das instalações para a execução da parte experimental deste estudo.

Ao Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos – CEVAP, Unesp, Botucatu, na pessoa da diretora, Profa. Dra. Silvia R. C. S. Barraviera, pelo fornecimento do veneno de serpente.

Ao Laboratório de Micologia Clínica do Departamento de Análise Clínica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Unesp, Araraquara, nas pessoas da Profa. Dra. Maria J. S. M. Giannini e da técnica Elaine T. Miranda, pelo fracionamento do veneno de serpente.

Ao Departamento de Zootecnia da FCAV, nas pessoas do Prof. Dr. Humberto Tonhati e dos seus orientados, pelo fornecimento do sangue de búfalo e, pela cooperação na sua coleta.

Ao Laboratório de Fracionamento do Hemocentro da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, Ribeirão Preto, nas pessoas da Profa. Dra. Eugênia M. A. Ubialli e dos técnicos Edson L. Moretto e Claudia H. A. Magnano, pela inestimável colaboração no preparo do crioprecipitado.

Ao Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, Ribeirão Preto, na pessoa do Prof. Dr. Carlos A. Shimano, pela realização dos ensaios de tração e, pela orientação na análise dos mesmos.

Ao Laboratório de Histopatologia do Departamento de Patologia Animal da FCAV, nas pessoas das auxiliares técnicas, Francisca de A. Ardisson e Maria Inês Y. de Campos, pela confecção das lâminas histológicas.

Ao Departamento de Ciências Exatas da FCAV, na pessoa do Prof. Dr. Gener T. Pereira, pela orientação e execução da análise estatística.

Ao Laboratório de Imunopatologia do Departamento de Patologia Animal da FCAV, nas pessoas dos professores Dr. Gervásio H. Bechara e Dr. Mathias P. J. Szabó, pela autorização do uso dos microscópios multiobservador e com ocular integradora para digitalização de fotos histológicas e contagem de células, respectivamente.

Ao Departamento de Patologia Animal e CPPar da FCAV, nas pessoas dos professores Dr. Alvimar J. da Costa e Dr. Mathias P. J. Szabó, pela autorização do uso de canis, durante a parte experimental deste estudo.

Ao Laboratório de Ornitopatologia do Departamento de Patologia Animal da FCAV, nas pessoas do Prof. Dr. Ângelo Berchiere Jr. e dos auxiliares técnicos Antônio J. dos Santos e Aparecida R. Baptista, pela esterilização de material cirúrgico durante toda a parte experimental deste estudo.

Ao Laboratório de Patologia Clínica do HV da FCAV, nas pessoas do Prof. Dr. Áureo E. Santana e dos seus auxiliares técnicos, pelos exames realizados.

Ao Laboratório de Leptospirose Animal do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da FCAV, nas pessoas do Prof. Dr. Raul J. da S. Gírio e do seu auxiliar técnico, pelos exames sorológicos realizados.

Ao Setor de Obstetrícia do HV da FCAV, nas pessoas dos professores Dr. Wilter R. R. Vicente e Gilson H. Toniollo, pela autorização do uso das instalações do setor para realização das biopsias e castrações.

Ao Biotério Central da Unesp, Botucatu e Canil da Prefeitura de Araraquara, pelo “fornecimento” dos animais.

Ao Dr. Aduari B. de Camargo, pelo fornecimento dos jogos de seringas necessários para a manipulação da cola.

À Dra. Izolete A. Thomazini Santos, pela orientação para a manipulação da cola.

À Fort-Dodge[®], nas pessoas das médicas veterinárias Dra. Ingrid Menz e Luciana E. Parra, pelo fornecimento das vacinas necessárias aos cães deste estudo.

À Fri-Ribe[®], na pessoa do Sr. José Renato C. Seichas, pelo fornecimento de ração para os cães, durante toda a realização da parte experimental do estudo.

À Scherring-Plough[®], na pessoa da médica veterinária Andresa F. Fávoro, pelo fornecimento dos endoparasiticidas necessários aos cães deste estudo.

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
Cicatrização tendínea	1
Adesivo de fibrina	3
Ensaio biomecânicos	8
Referências	9
CAPÍTULO II – ADESIVO DE FIBRINA DERIVADO DE VENENO DE SERPENTE COMO PROMOTOR DA CICATRIZAÇÃO TENDÍNEA EM CÃES. ESTUDO HISTOPATOLÓGICO E BIOMECÂNICO	20
Resumo	20
Summary	21
Introdução	22
Material e Métodos	22
Animais	22
Delineamento experimental	23
Cola biológica	23
Procedimentos cirúrgicos	24
Pós-operatório	24
Avaliação do processo inflamatório e cicatricial	25
Análise macroscópica	25
Análise microscópica	25
Histopatologia	25
Morfometria celular	26
Avaliação biomecânica	26
Ensaio de tração	26
Propriedades biomecânicas avaliadas	27
Análise estatística	27

	Página
Resultados	32
Avaliação do processo inflamatório e cicatricial	32
Análise macroscópica	32
Análise microscópica	32
Histopatologia	32
Morfometria celular	39
Avaliação biomecânica	41
Ensaio de tração	41
Propriedades biomecânicas avaliadas	41
Discussão	45
Considerações finais	49
Conclusões	49
Referências	50

CAPITULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS

Cicatrização tendínea

As lesões tendíneas geralmente são de origem traumática e seu tratamento efetivo requer conhecimento básico dos princípios envolvidos na recuperação tendínea e sua aplicação no ambiente biomecânico específico do tendão lesado. A recuperação tendínea ideal deve, além de reconstituir morfolologicamente o tecido lesado, preservar a função de deslizamento do tendão ajudando a manter sua capacidade de movimentação (SPURLOCK, 1989).

A cicatrização tendínea é limitada pela ocorrência da ruptura dos fios cirúrgicos e pela presença de aderência decorrente do excesso de formação de tecido conectivo fibroso, entre o local do reparo e os tecidos adjacentes ao tendão, ou do estabelecimento de falhas entre os cotos tendíneos no pós-operatório (DEFINO, 1985; MANSKE, 1988; SILFVERSKIÖLD et al., 1992; MORAES et al., 2000).

Por muitos anos considerou-se a presença de tecido conectivo de aderência parte integrante do processo de cicatrização dos tendões. Observou-se que a resposta inicial à lesão ocorria no epitendão quando as células inflamatórias migravam para o foco lesado iniciando o processo de reparo (POTENZA, 1962; MANSKE, 1988; SLATTER, 1993; WOJCIAK & CROSSAN, 1993; HATAKA, 1999). Consumou-se a hipótese de que a bainha do tendão e os fibroblastos extrínsecos seriam as principais fontes de células produtoras de tecido cicatricial (POTENZA, 1962; MANSKE & LESKER, 1984; WOJCIAK & CROSSAN, 1993). Até então, desconhecia-se a capacidade intrínseca do tendão em induzir a proliferação de fibroblastos para a sua recuperação (MANSKE et al., 1984; MANSKE & LESKER, 1984; ABRAHAMSSON et al., 1992).

A formação de aderência entre o local da lesão tendínea e os tecidos adjacentes permanece como grande obstáculo para a recuperação total na função de deslizamento

do tendão afetado (SILFVERSKIÖLD et al., 1992; WOJCIAK & CROSSAN, 1993; GREENWALD et al., 1994).

A utilização de movimentos passivos controlados no período pós-operatório impede ou limita a formação de aderência. Por esse motivo, realiza-se a fisioterapia com movimentos passivos, seguidos por movimentação ativa. Alguns autores sugerem ainda que a mobilização passiva controlada pode destruir mecanicamente o tecido aderido e estimular a migração e a proliferação de células intrínsecas, além de fornecer força de tensão ao local de reparo (GELBERMAN et al., 1982; EDINBURG et al., 1987; ELLIOT et al., 1994).

O estudo da cicatrização de tendões flexores de cães, submetidos à tenorrafia e reabilitação pós-operatória, mostrou que o refinamento das técnicas de sutura minimizou a formação de espaço entre os cotos tendíneos. A movimentação passiva produz afastamento moderado dos cotos (< 2 mm) em baixos níveis de resistência tendínea (até 5 N), suficiente para inibir a formação de aderência e promover a cicatrização e, o aumento desta força (> 5 N) não acelera o processo cicatricial (SILVA et al., 2002).

A investigação dos efeitos da imobilização pós-operatória em oposição à mobilização, em tendões calcâneos de ratos, mostrou que a mobilização resultou em resistência precoce, contínua e significativa quando comparada à imobilização, recuperando a resistência à tração após 112 dias. A observação histológica, da fase mais tardia do processo cicatricial, mostrou que a mobilização permitiu reorganização estrutural e funcional mais adequada quando comparada ao outro grupo (PALMES et al., 2002).

A cicatrização tendínea é um fenômeno complexo e pode ser modulada por vários fatores como o tipo de tendão lesado, o tempo decorrido da lesão até o reparo, a técnica e o tipo de fios empregados na cirurgia, o regime de reabilitação realizado no pós-operatório e a limitação de movimentos impostos ao paciente. Para que a cicatrização ocorra de forma adequada, todos os fatores supra citados devem ser considerados para que a integridade morfológica e funcional do tendão seja restabelecida por completo (HATAKA, 1998).

O tendão do músculo flexor profundo dos dedos do cão está exposto aos vários tipos de forças de tração e compressões ao longo de seu trajeto, representados por regiões morfológicas diferentes quanto ao aspecto, composição da matriz e propriedades funcionais. Considerando-se as propriedades bioquímicas, histológicas e biomecânicas, seis zonas anatômicas podem ser caracterizadas nesses tendões. As propriedades biomecânicas, as deficiências funcionais do tendão canino e suas alterações em resposta às lesões variam de acordo com a zona anatômica do tendão atingida e a diferença do processo de reparação nessas áreas (NESSLER et al., 1992).

Na cicatrização tendínea experimental em cães, a resposta celular nas regiões vascular e avascular, independentemente da quantidade de vasos, é semelhante, diferenciando-se apenas na fase aguda da resposta inflamatória. Entretanto, a identificação de metaplasia no tecido conectivo sugere que as características biofísicas do tendão, avaliadas pela força de tração, podem mostrar diferenças entre as duas regiões (HATAKA, 1998).

O processo regenerativo tecidual envolve inicialmente a migração e a proliferação celular, a liberação de fatores de crescimento e a elaboração de componentes da matriz extracelular tentando o restabelecimento da arquitetura original (SCHAFFER & NANNEY, 1996). A migração e a adesão de fibroblastos são fatores importantes na cicatrização dos tendões e estão associadas às substâncias quimiotáticas como a fibronectina (GELBERMAN et al., 1991).

Adesivo de fibrina

A fibrina tem papel central na cicatrização pela formação de uma verdadeira rede, que une as bordas da ferida, permitindo e facilitando o trânsito, a aderência, a migração, a proliferação e a diferenciação das células de reparo como fibroblastos e células endoteliais. Além disso, liga-se de maneira cruzada à fibronectina através do fator XIII (fator estabilizador de fibrina), reforçando a adesão aos fibroblastos que iniciam a deposição de colágeno, particularmente tipo I na arquitetura estrutural da rede

de fibrina junto com o recém-formado tecido de granulação (THOMAZINI-SANTOS, 2000).

A fibrina exógena produzida por crioprecipitado, que é um concentrado rico em fibrinogênio (NESS & PERKINS, 1979) e glicoproteínas, quando utilizada como bioadesivo, mimetiza e amplifica os últimos passos fisiológicos da coagulação (STOLF, 1999).

Há tempos são realizadas pesquisas de substâncias adesivas e hemostáticas sanguíneas. O uso da fibrina como adesivo biológico foi primeiramente descrito por BERGEL (1909), quando este relatou seu efeito hemostático. O uso do adesivo de fibrina em hemorragias cerebrais e hepáticas é descrito desde o início do século XX (GREY, 1915; HARVEY, 1916). Depois, foram necessárias mais de duas décadas para que essa idéia fosse redescoberta e o adesivo utilizado na anastomose experimental de nervos (YOUNG & MEDAWAR, 1940; TARLOV & BENJAMIN, 1943). Devido à instabilidade das colas biológicas, este método de síntese de tecidos não foi considerado satisfatório. A concentração inadequada de fibrinogênio e a falta de antifibrinolíticos eram supostamente os responsáveis pela insuficiente adesividade e estabilidade dos coágulos. Em adição, o fator XIII só foi conhecido no final da década de 40 por LAKI & LORANO (1948).

A combinação entre o fibrinogênio e a trombina para uso na fixação de enxertos cutâneos foi utilizada na década de 40 (CRONKITE et al., 1944; TRIDRICK & WARNER, 1944). Nessa mesma década, também utilizou-se plasma enriquecido com fibrinogênio heterólogo e, mais tarde, com fibrinogênio homólogo como adesivo biológico, porém sem muito sucesso (STOLF citado por THOMAZINI-SANTOS, 2000).

A inibição da fibrinólise e a degradação precoce de fibrina foram resolvidas pela introdução da aprotinina que foi primeiramente isolada por KUNITZ & NORTHROP (1936).

As pesquisas com adesivos de fibrina reiniciaram na década de 70 quando foi utilizado crioprecipitado com alta concentração de fibrinogênio e fator XIII na anastomose de nervos periféricos de cobaias (MATRAS et al., 1972). Posteriormente, foi relatada a primeira aplicação com sucesso do adesivo em nervos humanos

(MATRAS et al., 1976). O uso de cola de fibrina produzida a partir de um “pool” de plasma humano e trombina extraída de sangue bovino foi amplamente utilizada (STAINDL, 1979).

Enquanto a eficácia da cola de fibrina na cicatrização cutânea foi demonstrada, sua influência na cicatrização óssea permaneceu controversa. Resultados clínicos satisfatórios em rupturas do tendão calcâneo e sua ação hemostática em hemofílicos foram comprovados. O adesivo de fibrina facilita a hemostasia, a fixação de tecido conectivo, aumenta a plasticidade do material implantado e estimula o crescimento de fibroblastos. Embora seu efeito na osteogênese direta permaneça questionável, a cola de fibrina mostrou-se uma ferramenta excelente dentro da ortopedia cirúrgica (SCHLAG & REDL, 1988).

A influência do adesivo de fibrina na cicatrização precoce de tendão calcâneo de coelhos foi investigada por meio de estudos biomecânico e histológico. Os resultados mostraram que não houve incremento na capacidade do tendão em suportar a força-peso. As diferenças entre os grupos de tendões coaptados com e sem o adesivo de fibrina não foram significativas tanto para a força máxima quanto para as características histológicas (BOSCH et al., 1981). Por outro lado, outros estudos mostraram resultados satisfatórios com o uso da cola de fibrina associada ao material de sutura absorvível em rupturas traumáticas de tendões calcâneos (RUPP & STEMBERGER, 1978; RUPP, 1982).

No estudo comparativo da cicatrização de tendões patelares de coelho, com e sem o uso de cola de fibrina, foi evidenciado que o uso da cola tornou a cicatrização mais homogênea em quatro semanas. Por outro lado, a cicatrização nos tendões suturados mostrou-se rica em tecido fibroso desorganizado. Microscopicamente a aplicação de cola mostrou estratificação precoce e formação de tecido cicatricial altamente fibroso. A demora na cicatrização foi atribuída à excessiva e espessa camada de fibrina presente na cicatriz (GLUCKERT & PESCH, 1982; GLUCKERT et al., 1984).

Os adesivos de fibrina ajudam a manter melhor regeneração anatômica, sendo, muitas vezes, necessária apenas uma sutura de fixação estabilizante. A combinação de sutura com adesivo em rupturas patológicas do tendão calcâneo é tida como vantajosa.

Essa vantagem decorre do fato de as fibras tendíneas rompidas e seladas serem tão bem entrelaçadas quanto às somente suturadas. Além disso, o tempo cirúrgico é menor e a força alcançada maior, sendo desnecessária em alguns casos a imobilização (VOLLMAR, 1982). Resultados vantajosos também foram encontrados pela associação da cola de fibrina com sutura absorvível no epitendão e imobilização do membro por seis semanas (THYREGOD & SKOJOLDBORG, 1983; PAAR & BERNETT, 1984).

O uso do adesivo de fibrina ao redor do local de sutura não restringiu a mobilidade e o deslizamento de tendões em coelhos (FRYKMAN et al., 1993). Entretanto, quando aplicada antes da sutura, não se observou diferença significativa na análise histológica e força de tensão entre os grupos com e sem cola (LUSARDI & CAIN, 1994).

Ensaio biomecânico com tendão calcâneo de coelhos, tratados com sutura, adesivo de fibrina ou por método conservador mostraram que o uso do adesivo incrementou a tenacidade e a força de tração máxima (THERMANN et al., 1995; THERMANN et al., 2001).

Avaliação histológica, imunoistoquímica e ultra-sonográfica da cicatrização tendínea em coelhos, em três grupos tratados com reparação primária funcional, tenorrafia e cola de fibrina demonstrou que o espaço secundário entre os cotos foi detectável após uma semana nos três grupos e, após quatro semanas, o adesivo foi reabsorvido sem influenciar essencialmente a cicatrização. Os autores identificaram equivalência entre os métodos de sutura e o conservador, após 12 semanas, quando a avaliação histológica dos três grupos mostrou padrão de normalidade. A ultra-sonografia detectou aumento na densidade até quatro semanas e a ecogenicidade mostrou aumento na homogeneidade e paralelismo, nos três grupos. Pela imunoistoquímica todos mostraram reação positiva para colágeno Tipo-III, após uma a duas semanas. A contagem de fibroblastos foi máxima, após uma semana para o grupo conservador e após duas semanas para os dois outros grupos (THERMANN et al., 1999; THERMANN et al., 2002).

A avaliação da eficácia da cola de fibrina na redução de aderências após cirurgia experimental de tendões flexores de coelhos mostrou que não existe diferença

significativa na força necessária para remoção tendínea, quando se compara os grupos com e sem utilização da cola. Além disso, existe diferença significativa nesta força quando comparados os grupos sem a aplicação de cola e com dígitos não operados, sugerindo o efeito benéfico da cola (JONES et al., 2002).

O adesivo de fibrina disponível no mercado é produzido à base de trombina extraída do sangue bovino (componente I) e fibrinogênio humano (componente II). Porém, há relatos de pacientes que desenvolveram anticorpos para a trombina bovina e apresentaram reação cruzada destes contra fatores de coagulação humana (REDL et al., 1982; BANNINGER et al., 1993; ISRAELS & ISRAELS, 1994). Além disso, apesar da evolução tecnológica no fracionamento do fibrinogênio a partir do sangue humano, não pode ser excluída a possibilidade da transmissão de doenças infecciosas (THOMAZINI-SANTOS, 2000).

Baseando-se nisso, a idéia de produzir um novo adesivo a partir de veneno de serpente foi proposta em 1989 por um grupo de pesquisadores do Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos (CEVAP), Unesp, Botucatu, SP. O objetivo principal do projeto era o de produzir um novo adesivo de fibrina que não utilizasse derivados do sangue humano. Em 1993, relataram que o veneno da cascavel ou jararaca poderia aumentar muito a eficiência das colas biológicas existentes, a partir de uma enzima “tipo-trombina”, isolada por RAW et al. (1986), capaz de soldar os tecidos biológicos. Assim, produziram uma cola biológica de fibrina que além de evitar o risco de transmissão de doenças, pois substitui o fibrinogênio humano pelo bovino; substitui a trombina bovina pela da cascavel, que mostrou ser mais eficaz na cicatrização (IUAN et al., 1993). Este adesivo mimetiza os últimos passos da coagulação sanguínea. O fibrinogênio bovino interage com a fração “tipo-trombina” do veneno de serpente, liberando fibrina monomérica. Esta, na presença de cálcio e do fator XIII, transforma-se em polímero com propriedades adesivas. Mais tarde os pesquisadores verificaram que o crioprecipitado de bubalino é o que apresenta maior nível de fibrinogênio quando comparado com outras espécies de animais (THOMAZINI-SANTOS et al., 1999).

A aplicabilidade do adesivo derivado da fração de veneno de serpente e fibrinogênio bubalino foi testada em diferentes situações, tanto em animais (LEITE et

al., 1994; VITERBO et al., 1994; IUAN et al., 1995; SARTORI-FILHO et al., 1998; CHALHOUB et al., 2000; LEITE et al., 2000; REIS, 2000; THOMAZINI-SANTOS, 2000; VICENTE et al., 2000; CORREIA, 2001), quanto em seres humanos (STOLF et al., 1993; STOLF, 1999; OLIVEIRA 2001), sendo a proposta deste nosso estudo mais um exemplo de sua utilização.

Ensaio biomecânicos

Para a determinação das propriedades biomecânicas em materiais biológicos a forma mais confiável requer a utilização de ensaios padronizados que proporcionam resultados comparáveis e reprodutíveis, denominados de ensaios mecânicos. Geralmente os músculos, ligamentos ou tendões, são solicitados aos esforços de tração, portanto os ensaios a serem realizados são os mecânicos de tração, que podem ser classificados em ensaios destrutivos e estáticos (SHIMANO & SHIMANO, 2000).

Para ensaio mecânico estático utiliza-se a Máquina Universal de Ensaio. Para materiais biológicos a dificuldade deve-se à sua não homogeneidade e anisotropia. Normalmente, confecciona-se um acessório para cada material a ser ensaiado. Os parâmetros importantes que devem ser considerados para avaliação são a velocidade de aplicação da carga, a pré-carga e o tempo de acomodação (SHIMANO & SHIMANO, 2000).

No ensaio mecânico de tração, o material é submetido à ação de duas forças opostas, aplicadas em pontos diferentes e em sentidos contrários, provocando alongamento no sentido longitudinal e encurtamento no sentido transversal. Deste, obtém-se a curva *carga x deformação*. A fase elástica corresponde às deformações proporcionais às forças, seguida de uma parte nitidamente curva (fase plástica), na qual deixou de haver proporcionalidade das deformações para com as forças (BRUHAT & FOCCK, 1964).

As principais propriedades biomecânicas dos materiais são forças no limite máximo, forças no limite de elasticidade, rigidez, resiliência e tenacidade (SHIMANO & SHIMANO, 2000).

Quanto maior o número de características biomecânicas agrupadas em um dado material biológico em ensaios mecânicos, mais conclusivo é o ensaio, uma vez que se acredita estar mais próximo das condições reais de funcionamento (MORAES, 2001).

Tendo em mente as considerações supra, este ensaio teve por objetivos avaliar as condições clínicas do deslizamento tendíneo, a cinética celular do processo inflamatório e cicatricial e a força na regeneração do tendão do músculo flexor profundo dos dedos do membro torácico de cães ao longo de três períodos, quando se utiliza cola derivada da associação de veneno de serpente e fibrinogênio bubalino em substituição da tenorrafia convencional.

REFERÊNCIAS

ABRAHAMSSON, S.O.; LUNDBORG, G.; LOHMANDER, L.S. Restoration of the injured flexor tendon surface: a possible role for endotenon cells. A morphological study of the rabbit tendon in vivo. **Journal of Hand Surgery (Br)**, Edinburgh, v.17, n.5, p.553-560, 1992.

BANNINGER, H.; HARDEGGER, T.; TOBLER, A.; BARTH, A.; SCHUPBACH, P.; REINHART, W.; LAMMLE, B.; FURLAN, M. Fibrin glue in surgery: frequent development of inhibitors of bovine thrombin and human factor V. **British Journal of Haematology**, Oxford, v.85, n.3, p.528-532, 1993.

BERGEL, S. Uber wirkung des fibrins. **Deutsche Medizinische Wochenschrift**, Berlin, v.35, p.633, 1909.

BOSCH, P.; HERTZ, H.; LINTNER, F.; NOWOTNY, R. Does the fibrin glue accelerate the healing of tendons? **Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery**, New York v.98, n.4, p.305-310, 1981.

BRUHAT, G.; FOCCK, A. **Curso de Física Geral** - mecânica II. 6.ed. São Paulo: Difusão Européia do Livro, 1964. p.371-373.

CHALHOUB, M.; PRESTES, N.C.; LOPES, M.D.; ROCHA, N.S.; THOMAZINI-SANTOS, I.A.; MENDES-GIANNINI, M.J.S. The use of snake venom derived fibrin glue in hysterorrhaphy of ovine caesarean surgery. **The Journal of Venomous Animals and Toxins**, Botucatu, v.6, n.2, p.220-237, 2000. Disponível em: <www.scielo.com.br>.

CORREIA, P.H.A. **Avaliação histopatológica da cicatrização uterina em cadelas utilizando cola de fibrina derivada de veneno de serpente**. 2001. 39f. Dissertação (Mestrado em Patologia Animal). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2001.

CRONKITE, E.P.; LOZNER, E.L.; DEEVER, J.M. Use of thrombin and fibrinogen in skin grafting. **Journal of the American Medical Association**, Chicago, v.124, p.976-978, 1944.

DEFINO, H.L.A. **Estudo experimental comparativo das técnicas de Kessler e Tsuge para sutura tendinosa**. 1985. 75f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia, Ortopedia e Traumatologia). Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1985.

EDINBURG, M.; WIDGEROW, A.D.; BIDDULPH, S.L. Early postoperative mobilization of flexor tendon injuries using a modification of the Kleinert technique. **Journal of Hand Surgery (Am)**, Saint Louis, v.12, n.1, p.34-38, 1987.

ELLIOT, D.; MOIEMEN, N.S.; FLEMMING, A.F.; HARRIS, S.B.; FOSTER, A.J. The rupture rate of acute flexor tendon repairs mobilized by the controlled active motion regimen. **Journal of Hand Surgery (Br)**, Edinburgh, v.19, n.5, p.607-612, 1994.

FRYKMAN, E.; JACOBSSON, S.; WIDENFALK, B. Fibrin sealant in prevention of flexor tendon adhesions: an experimental study in the rabbit. **Journal of Hand Surgery (Am)**, Saint Louis, v.18, n.1, p.68-75, 1993.

GELBERMAN, R.H.; KHABIE, V.; CAHILL, C.J. The revascularization of healing flexor tendons in the digital sheath. A vascular injection study in dogs. **Journal of Bone and Joint Surgery (Am)**, Boston, v.73, n.6, p.868-881, 1991.

GELBERMAN, R.H.; WOO, S.L.; LOTHNINGER, K.; AKESON, W.H.; AMIEL, D. Effects of early intermitent passive mobilization on healing canine flexor tendons. **Journal of Hand Surgery (Am)**, Saint Louis, v.7, n.2, p.170-175, 1982.

GLUCKERT, K.; PESCH, H.J. Tierexperimentelle untersuchungen zum vergleich von fibrinklebung und chirurgischer naht bei sehnenlasionen. In: COTTA, H.; BRAUN, A. **Fibrinkleber in orthopadie und traumatologie**. Stuttgart: Thieme-Verlag, 1982. p.127.

GLUCKERT, K.; PESCH, H.J.; WESELOH, G. Fibrinklebung bei sehnenlasionen-experimentelle erfahrungen und klinische aspekte. In: SCHEELE, J. **Fibrinklebung**. Berlin: Springer-Verlag, 1984. p.221.

GREENWALD, D.P.; HONG, H.Z.; MAY Jr., J.W. Mechanical analysis of tendon suture techniques. **Journal of Hand Surgery (Am)**, Saint Louis, v.19, n.4, p.641-647, 1994.

GREY, E.G. Fibrin as a hemostatic in cerebral surgery. **Surgery Gynecology and Obstetrics**, Chicago, v.21, p.452, 1915.

HARVEY, S.C. The use of fibrin paper and forms in surgery. **Boston Medical and Surgical Journal**, Boston, v.174, p.658, 1916.

HATAKA, A. **Cinética vascular e celular na cicatrização tendínea experimental em cães (Canis familiaris)**. 1998. 63f. Dissertação (Mestrado em Patologia Animal).

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1998.

HATAKA, A.; MORAES, J.R.E.; PAURA, D.; FAVARO, A.F.; MORAES, F.R.; PERECIN, D. Evolution of the vascular pattern in deep flexor tendon healing an experimental study. **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, Campinas, v.16, n.2, p.203-208, 1999.

ISRAELS, S.J.; ISRAELS, E.D. Development of antibodies to bovine and human factor V in two children after exposure to tropical bovine thrombin. **American Journal of Pediatric Hematology Oncology**, Hagerstown, v.16, n.3, p.249-254, 1994.

IUAN, F.C.; THOMAZINI-SANTOS, I.A.; MENDES-GIANNINI, M.J.S.; TOSCANO, E.; VITERBO, F.; MORAES, R.A.; BARRAVIERA, B. Cola de fibrina derivada de veneno de cobra e processo para a sua reparação. Patente requerida junto ao Instituto Nacional de Propriedade Industrial. **Revista da Propriedade Industrial**, Rio de Janeiro, v.21, n.1165, p.27, 1993.

IUAN, F.C.; THOMAZINI-SANTOS, I.A.; MENDES-GIANNINI, M.J.S.; TOSCANO, E.; VITERBO, F.; MORAES, R.A.; BARRAVIERA, B. Reparation of peripheral nerves with fibrin glue prepared from snake venom. Preliminary results. **Revista Paulista de Medicina**, São Paulo, v.113, n.5, p.1000-1002, 1995.

JONES, M.E.; BURNETT, S.; SOUTHGATE, A.; SIBBONS, P.; GROBBELAAR, A.O.; GREEN, C.J. The role of human-derived fibrin sealant in the reduction of postoperative flexor tendon adhesion formation in rabbits. **Journal of Hand Surgery (Br)**, Edinburgh, v.27, n.3, p.278-282, 2002.

KUNITZ, M.; NORTHROP, J.H. Isolation from beef pancreas of crystalline trypsinogen, trypsin, a trypsin inhibitor, and an inhibitor trypsin compound. **The Journal of General Physiology**, New York, v.19, p.991, 1936.

LAKI, K.; LORANO, L. On the solubility of fibrin clots. **Science**, v.108, p.280, 1948.

LEITE, C.V.S.; NARESSE, L.E.; SAAD, L.H.C.; THOMAZINI, I.A.; BARRAVIERA, B.; KOBAYASI, S. Cicatrização intestinal – efeito da cola de fibrina derivada de veneno de cobra na anastomose do cólon de ratos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE COLO-PROCTOLOGIA, 43., 1994, Recife. **Anais...** Recife, 1994. p.117.

LEITE, C.V.S.; NARESSE, L.E.; ARANTES, H.L.; LOPES, A.F.; THOMAZINI-SANTOS, I.A.; MENDES-GIANNINI, M.J.S.; MERCADANTE, M.C.; BARRAVIERA, B.; KOBAYASI, S. An evaluation by rat colon anastomosis of the efficacy of fibrin glue derived from snake venom. **The Journal of Venomous Animals and Toxins**, Botucatu, v.6, n.2, p.180-193, 2000. Disponível em: <www.scielo.com.br>.

LUSARDI, D.A.; CAIN, J.E.Jr. The effect of fibrin sealant on the strength of tendon repair of full thickness tendon lacerations in the rabbit Achilles tendon. **The Journal of Foot and Ankle Surgery**, Towson, v.33, n.5, p.443-447, 1994.

MANSKE, P.R. Flexor tendon healing. **Journal of Hand Surgery (Br)**, Edinburgh, v.13, n.3, p.237-245, 1988.

MANSKE, P.R.; LESKER, P.A. Histologic evidence of intrinsic flexor tendon repair in various experimental animals – an in vitro study. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, Philadelphia, v.182, p.297-304, 1984.

MANSKE, P.R.; GELBERMAN, R.H.; VANDE BERG, J.S.; LESKER, P.A. Intrinsic flexor-tendon repair. A morphological study in vitro. **Journal of Bone and Joint Surgery (Am)**, Boston, v.66, n.3, p.385-396, 1984.

MATRAS, H.; KUDERNA, H.; MARCHAC, D. Glueing nerve anastomoses with clotting substances. In: INTERNATIONAL CONGRESS PLASTIC SURGERY, 6., 1976, Paris. **Proceedings...** Paris: Masson Verlag, 1976. p.134.

MATRAS, H.; DINGES, H.P.; LASSMANN, H.; MAMOLI, B. Suture-free interfascicular nerve transplation in animal experiments. **Wiener Medizinische Wochenschrift**, Wien, v.122, n.37, p.517-523, 1972.

MORAES, J.R.E. **Estudo comparado dos aspectos morfofuncionais de tendões na constituição normal e na evolução do processo cicatricial**, 2001. 172f. Tese (Livre Docência). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2001.

MORAES, J.R.E.; HATAKA, A.; PAURA, D.; MORAES, F.R. Efeito da localização do nó de sutura na recuperação morfofuncional do tendão flexor digital profundo do membro anterior do cão após tenorrafia experimental. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v.37, n.1, p.00-00, 2000. Disponível em: <www.scielo.br>.

NESS, P.M.; PERKINS, H.A. Cryoprecipitate as a reliable source of fibrinogen replacement. **Journal of the American Medical Association**, Chicago, v.241, n.16, p.1690-1691, 1979.

NESSLER, J.P.; AMADIO, P.C.; BERGLUND, L.J.; AN, K.N. Healing of canine tendon in zones subjected to different mechanical forces. **Journal of Hand Surgery (Br)**, Edinburgh, v.17, n.5, p.561-568, 1992.

OLIVEIRA, M.D.B. **Aplicação de adesivo de fibrina derivado de veneno de serpente para a imobilização de enxertos gengivais livres: estudo clínico e histológico.**

2001. 63f. Tese (Doutorado em Odontologia). Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, Bauru, 2001.

PAAR, O.; BERNETT, P. Therapy of Achilles tendon rupture in athletes advantages of fibrin gluing. **Fortschritte der Medizin**, Munchen, v.102, n.43, p.1106-1108, 1984.

PALMES, D.; SPIEGEL, H.U.; SCHNEIDER, T.O.; LANGER, M.; STRATMANN, U.; BUDNY, T.; PROBST, A. Achilles tendon healing: long-term biomechanical effects of postoperative mobilization and immobilization in a new mouse model. **Journal of Orthopaedic Research**, New York, v.20, n.5, p.939-946, 2002.

POTENZA, A.D. Tendon healing within the flexor digital sheath in the dog – An experimental study. **Journal of Bone and Joint Surgery (Am)**, Boston, v.44, p.49-69, 1962.

RAW, I.; ROCHA, M.C.; ESTEVES, M.I.; KAMIGUTI, A.S. Isolation and characterization of a thrombin-like enzyme from *Crotalus durissus terrificus*. **Brazilian Journal of Medical Biological Research**, Ribeirão Preto, v.19, n.3, p.333-338, 1986.

REDL, H.; SCHLAG, G.; DINGES, H.; KUDERNA, H.; SEELICH, T. Background and methods of “fibrin sealing”. In: WINTER, G.D.; GIBBONS, D.F.; PLENK Jr., H. **Biomaterials**. London: Wiley, 1982. p.669-676.

REIS, F.A. A comparative study of axonal sprouting from the *vagus nerve* in the autologous grafts. **The Journal of Venomous Animals and Toxins**, Botucatu, v.6, n.1, p.120-120, 2000. Disponível em: <www.scielo.com.br>.

RUPP, G. Die fibringeklebte Achillessehnenruptur. In: COTTA, H.; BRAUN, A. **Fibrinkleber in orthopädie und traumatologie**. Stuttgart: Thieme-Verlag, 1982, p.140.

RUPP, G.; STEMBERGER, A. Treatment of fresh ruptures of the Achilles tendon with resorbable suture materials and a fibrin adhesive. **Medizinische Welt**, Stuttgart, v.29, n.19, p.796-798, 1978.

SARTORI-FILHO, R.; PRESTES, N.C.; THOMAZINI-SANTOS, I.A.; MENDES-GIANNINI, M.J.S.; TOSCANO, E.; CANAVESI, A.M.O.; BARRAVIERA, B. Use of fibrin glue derived from snake venom in testicular biopsy of rams. **The Journal of Venomous Animals and Toxins**, Botucatu, v.4, n.1, p.123-25, 1998. Disponível em: <www.scielo.com.br>.

SCHAFFER, C.J.; NANNEY, L.B. Cell biology of wound healing. **International Review of Cytology**, New York, v.169, p.151-181, 1996.

SCHLAG, G.; REDL, H. Fibrin sealant in orthopedic surgery - Review. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, Philadelphia, v.227, p.269-285, 1988.

SHIMANO, A. C.; SHIMANO, M. M. Ensaios tecnológicos de materiais biológicos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA BIOMÉDICA, 17., 2000, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, 2000. p.15-21.

SILFVERSKIÖLD, K.L.; MAY, E.J.; TÖRNVALL, A.H. Gap formation during controlled motion after flexor tendon repair in zone II: a prospective clinical study. **Journal of Hand Surgery (Am)**, Saint Louis, v.17, n.3, p.539-546, 1992.

SILVA, M.J.; BOYER, M.I.; GELBERMAN, R.H. Recent progress in flexor tendon healing. **Journal of Orthopaedic Science**, Tokyo, v.7, n.4, p.508-514, 2002.

SLATTER, D. **Textbook of small animal surgery**. 2.ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1993. v.2, p.2006-2020.

SPURLOCK, G.H. Management of traumatic tendon lacerations. **The Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, Saint Louis, v.5, n.3, p.575-590, 1989.

STAINDL, O. Tissue adhesion with highly concentrated human fibrinogen in otolaryngology. **Annals of Otolaryngology, Rhinology and Laryngology**, v.88, n.3-1, p.413-418, 1979.

STOLF, H.O. The use of fibrin adhesive derived from snake venom and the evaluation of skin grafting using skin from the patient's nasolabial fold. **The Journal of Venomous Animals and Toxins**, Botucatu, v.5, n.2, p.227-227, 1999. Disponível em: <www.scielo.com.br>.

STOLF, H.O.; BARRAVIERA, S.R.C.S.; THOMAZINI-SANTOS, I.A.; MENDES-GIANNINI, M.J.S.; BARRAVIERA, B. Cola de fibrina derivada de veneno de cobra. Uso experimental em cirurgia dermatológica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE DERMATOLOGIA, 48., 1993, Curitiba. **Anais...** Curitiba, 1993. p.168.

TARLOV, I.M.; BENJAMIN, B. Plasma clot and silk suture of nerves. **Surgery Gynecology and Obstetrics**, Chicago, v.76, p.366, 1943.

THERMANN, H.; FRERICHS, O.; BIEWENER, A.; KRETTEK, C. Healing of the Achilles tendon: an experimental study. **Foot and Ankle International**, Baltimore, v.22, n.6, p.478-483, 2001.

THERMANN, H.; FRERICHS, O.; HOLCH, M.; BIEWENER, A. Healing of Achilles tendon, an experimental study: part 2--Histological, immunohistological and ultrasonographic analysis. **Foot and Ankle International**, Baltimore, v.23, n.7, p.606-613, 2002.

THERMANN, H.; FRERICHS, O.; BIEWENER, A.; KRETTEK, C.; SCHANDELMEIER, P. Functional treatment of acute Achilles tendon rupture. An experimental biomechanical study. **Archiv Orthopadische Unfallchirurgie**, Berlin, v.98, n.10, p.507-513, 1995.

THERMANN, H.; BECK, A.; HOLCH, M. BIEWENER, A.; BOSCH, U.; FRERICHS, O. Functional treatment of acute Achilles tendon rupture. A histological, immunohistological and ultrasonographic analysis of the animal model. **Archiv Orthopadische Unfallchirurgie**, Berlin, v.102, n.6, p.447-457, 1999.

THOMAZINI-SANTOS, I.A. **Adesivo de fibrina derivado de veneno de serpente: efeito da adição do ácido epsilon-aminocapróico, do ácido tronexâmico e da aprotinina na coaptação das bordas cirúrgicas em incisões de pele de ratos**. 2000. 132f. Tese (Doutorado em Medicina Tropical). Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.

THOMAZINI-SANTOS, I.A.; GIANNIN, M.J.S.M., TOSCANO, E.; MACHADO, P.E.A.; LIMA, C.R.G., BARRAVIERA, B. The evaluation of clotting time in bovine thrombin, reptilase and thrombin-like fraction of *Crotalus durissus terrificus* venom using bovine, equine, ovine, bubaline and human cryoprecipitates. **The Journal of Venomous Animals and Toxins**, Botucatu, v.4, n.2, p.120-136, 1999. Disponível em: <www.scielo.com.br>.

THYREGOD, H.C.; SKOJOLDBORG, H. Fibrin adhesion system in the treatment of ruptured tendo Achilles. In: SCIENTIFIC WORKSHOP, 82., 1983, Denmark. **Proceedings...** Denmark, 1983. p.58.

TRIDRIK, R.T.; WARNER, E.D. Fibrin fixation of skin transplants. **Surgery**, Saint Louis, v.15, n.1, p.90, 1944.

VICENTE, E.J.D.; RODRIGUES, A.C.; REIS, F.A.; THOMAZINI-SANTOS, I.A. Suture versus fibrin adhesive: a comparative study in the peripheral nerve repair. In: WORKSHOP INTERNATIONAL DE MICROCIRURGIA DE MÃO, 5., 2000, Botucatu. **Resumos ...** Botucatu, 2000. p.14.

VITERBO, F.; IUAN, F.C.; THOMAZINI-SANTOS, I.A.; MENDES-GIANNINI, M.J.S.; FERRARI, N.; PALHARES, A.; BARRAVIERA, B.; ROSA, G. "Reparação de nervo periférico com cola de fibrina feita com veneno de cobra e fibrinogênio de búfalo, cavalo, boi e humano. Trabalho experimental em ratos". In: CONGRESSO SOBRE CIRURGIA EXPERIMENTAL RELACIONADO À CIRURGIA PLÁSTICA, 30., 1994, Botucatu, **Anais...** Botucatu, 1994. 14p.

VOLLMAR, D. Kombination fibrinklebung mit chirurgischer naht bei Achillessehnenruptur. In: COTTA, H.; BRAUN, A. **Fibrinkleber in orthopadie und traumatologie**. Stuttgart: Thieme-Verlag, 1982, p.138.

YOUNG, J.Z.; MEDAWAR, P.B. Fibrin suture of peripheral nerves. **The Lancet (Br)**, London, v.1, p.126, 1940.

WOJCIAK, B.; CROSSAN, J.F. The accumulation of inflammatory cells in synovial sheath and epitenon during adhesion formation in healing rat flexor tendons. **Clinical and Experimental Immunology**, Oxford, v.93, n.1, p.108-114, 1993.

CAPITULO II – ADESIVO DE FIBRINA DERIVADO DE VENENO DE SERPENTE COMO PROMOTOR DA CICATRIZAÇÃO TENDÍNEA EM CÃES. ESTUDO HISTOPATOLÓGICO E BIOMECÂNICO

RESUMO – O objetivo deste estudo foi avaliar as condições clínicas do deslizamento tendíneo, a cinética celular do processo inflamatório e cicatricial e a força na regeneração do tendão do músculo flexor profundo dos dedos do membro torácico de cães, quando se utiliza cola derivada da associação de veneno de serpente e fibrinogênio bubalino em substituição da tenorrafia convencional. Os tendões de 30 membros foram seccionados parcialmente para a aplicação da cola de fibrina. Aos 7, 15 e 30 dias do pós-operatório foram realizadas biopsias para o estudo anátomo-patológico e biomecânico dos tendões. A análise dos resultados demonstrou que 71,7% dos tendões estudados apresentaram retração dos cotos e 21,7% aderência com grau moderado a excessivo, comprometendo o deslizamento. Houve diferença significativa para o número de células inflamatórias entre os três tempos estudados ($P < 0,05$), e o infiltrado inflamatório foi máximo aos 15 dias. Os resultados histopatológicos revelaram processo inflamatório característico do tendão aos 7, 15 e 30 dias, com menor grau de inflamação na fase aguda, facilitando a fase de maturação cicatricial. Pela avaliação biomecânica, a cicatrização tendínea ganhou, com o tempo, resistência progressiva para a força de tração máxima e deformações permanentes, possuindo aos 15 dias resultados satisfatórios para a rigidez e resiliência, quando comparados com os outros dois tempos estudados. Assim, o adesivo de fibrina derivado de veneno de serpente pode ser usado como substância alternativa em tenorrafias para rupturas completas, ou na substituição dessas para rupturas parciais de tendões de cães.

Palavras-chave: adesivo de fibrina, cão, ensaio de tração, regeneração tecidual, tendão, veneno de serpente

FIBRIN GLUE DERIVED FROM SNAKE VENOM AS INDUCER OF TENDINEOUS HEALING IN DOGS. HISTOPATHOLOGICAL AND BIOMECHANICAL STUDY

SUMMARY – The aim of this research was to evaluate the clinical conditions of the tendineous sliding, the cellular kinetics of the inflammatory and healing process and the force in the regeneration of the digital deep flexor tendon in the thoracic limb of dogs, when glue derived from the association of snake venom and buffalo fibrinogen was used instead of conventional tenorrhaphy. Tendons of 30 limbs were partially sectioned for fibrina glue application. Biopsies were performed at 7, 15 and 30 days after surgery so the anatomopathological and biomechanical studies of the tendons were conducted. The results analysis demonstrated that 71.7% of the tendons presented stumps retraction and 21.7% moderate to excessive adherence, what affected the sliding. There was significant difference as for the number of inflammatory cells in all studied times ($P < 0.05$) and the inflammatory infiltration was maximum at 15 days. The histopathological results demonstrated typical inflammatory process of the tendon at 7, 15 and 30 days after surgery, occurring a lower inflammation level in the acute phase, what made easier the healing maturation phase. In the biomechanical evaluation, as time went by the tendineous healing got progressive resistance for the maximum traction force and permanent deformations and demonstrated satisfactory results for rigidity and resilience at 15 days, when compared to the other two analyzed times. Therefore, the fibrina glue derived from snake venom can be used as an alternative substance in tenorrhaphies of complete ruptures or in substitution of these for partial ruptures of dogs tendons.

Keywords: dog, fibrin glue, mechanical properties, snake venom, tissue regeneration, tendon

INTRODUÇÃO

As adesões peritendíneas na cirurgia de tendões flexores são ainda um grande desafio para as cirurgias dos membros, tanto na prática clínica quanto na experimental (FRYKMAN et al., 1993).

Na tentativa de reduzir a formação de aderências no reparo de tendões várias substâncias são aplicadas experimentalmente no local da ferida cirúrgica com algum sucesso. Estas incluem dextran 70, hialuronato de sódio, 5-fluorouracil, FGF-2 e adesivos de fibrina (JONES et al., 2002).

Os adesivos de fibrina são usados correntemente no tratamento cirúrgico de rupturas tendíneas traumáticas e experimentais. A hipótese fundamental que justifica o seu uso é a presença de superfície lisa no local da lesão, prevenindo a formação de aderências durante o processo de cicatrização (EIVEM et al., 1975) e, em adição, aumentando a força de reparo (LUSARDI & CAIN, 1994).

Objetivou-se neste estudo, avaliar as condições clínicas do deslizamento tendíneo, a cinética celular do processo inflamatório e cicatricial e a força na regeneração do tendão do músculo flexor profundo dos dedos (TMFPD) do membro torácico de cães ao longo de três períodos, quando se utiliza cola derivada da associação de veneno de serpente e fibrinogênio bubalino em substituição da tenorrafia convencional.

MATERIAL e MÉTODOS

Animais

Para cumprir os objetivos propostos foram utilizados 30 membros torácicos, direito ou esquerdo, de cães hípidos, sem raça definida, adultos, machos ou fêmeas, provenientes do Biotério Central da Unesp, Botucatu, SP e do canil da Prefeitura de Araraquara, SP.

Para a seleção dos cães foram realizados exames físico e laboratoriais (hemograma, bioquímica sérica e sorologia para leptospirose), incluindo-se nos grupos experimentais aqueles com parâmetros normais, com comportamento dócil e com peso corpóreo entre 10 e 15 Kg. Os animais passaram por um período de adaptação (no mínimo 15 dias) onde receberam vacinação¹ e anti-parasitários (endoparasiticidas² e ectoparasiticidas³), além de dieta à base de ração balanceada⁴ e água *ad libitum*. Os animais foram alojados em canis individuais durante o período experimental.

Delineamento experimental

Foram constituídos três grupos randômicos, compostos por 10 membros cada, referentes aos dias de observação. Aos 7^o, 15^o e 30^o dias do pós-cirúrgico foram realizadas biopsias dos dedos operados para avaliação da cinética da reparação tendínea, pelas análises clínico-cirúrgica, anátomo-patológica (2^o dedo) e biomecânica (5^o dedo).

Cola biológica

A cola biológica é composta por duas frações. Uma delas proveniente do Laboratório de Micologia Clínica, do Departamento de Análise Clínica, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Unesp, Araraquara, SP, onde se extraiu a fração “tipo-trombina” da porção do veneno de cascavel, fornecido pelo Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos – CEVAP, Unesp, Botucatu, SP. A outra fração foi obtida do crioprecipitado, a partir de sangue de búfalos; do rebanho bubalino do Departamento de Zootecnia, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Jaboticabal, SP; processado no Laboratório de Fracionamento do Hemocentro da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, Ribeirão Preto, SP.

¹ Galaxy DA2 P+L[®], Raí-Vac I[®] – Fort Dodge[®]

² Endal-Plus[®] – Schering-Plough[®]

³ Amipur cães[®] – Agribrands; Ivomec[®] – Merck Sharp & Dohme[®]

⁴ Fri Dog Premium Carne[®] – Fri-Ribe[®]

Para a aplicação utilizou-se uma seringa em forma de Y misturando-se as frações [300 µL crioprecipitado (seringa 1); 250 µL cloreto de cálcio 0,025 M e 50 µL fração do veneno de cascavel (seringa 2)], no momento do ato cirúrgico.

Procedimentos cirúrgicos

Após jejum alimentar de seis e hídrico de três horas, os animais foram submetidos à tricotomia da região dorso-lateral da mão. A seguir, foram tratados com penicilina benzatina⁵ (na dose de 40.000 UI/Kg de peso corpóreo, por via subcutânea, repetindo-se a dose a cada 48 horas, no total de quatro aplicações).

Os animais receberam medicação pré-anestésica (cloridrato de levomepromazina⁶, na dose de 1 mg/Kg de peso corpóreo, por via intravenosa), cloridrato de buprenorfina⁷ (na dose de 0,01 mg/Kg de peso corpóreo, por via subcutânea) e anestesia geral dissociativa (associação de tiletamina e zolazepam⁸, na dose de 10 mg/Kg de peso corpóreo, por via intramuscular).

Um garrote foi colocado no membro para diminuição do aporte sanguíneo na mão, durante a cirurgia.

Após assepsia, a cútis e tecido subcutâneo da região lateral do 2º e 5º dedos foram incisados; seguida pela divulsão dos tecidos adjacentes, incisão da bainha sinovial, localização do TMFPD, tenotomia transversal parcial (em aproximadamente 2/3 do diâmetro), entre o 2º e 3º ligamento anular, secagem dos cotos tendíneos, aplicação da cola biológica de fibrina, aproximação dos cotos tendíneos durante o tempo de dois minutos e sutura da cútis (Figuras 1 e 2).

Pós-operatório

Após limpeza da ferida cirúrgica foi realizado curativo compressivo com pomada⁹ e bandagem protetora, revestida por algodão ortopédico. Realizou-se a troca do

⁵ Bactopen® – EMS®

⁶ Neozine® – Rhodia®

⁷ Temgesic® – Schering-Plough®

⁸ Zoletil 50® – Virbac®

⁹ Furacin® – Schering-Plough®

curativo diariamente, até a retirada dos pontos aos sete dias da cirurgia; depois a cada 48 horas.

O membro do animal foi imobilizado com molde de PVC, posicionado em ângulo de 90°, na articulação do carpo, para proteção do mesmo contra tensão, durante o movimento. Utilizou-se, também, um colar do tipo “elizabetano” para restringir os movimentos da cabeça do cão (Figura 3).

Os animais foram submetidos ao tratamento fisioterápico diário, realizando-se movimentos passivos controlados de flexão e extensão dos dígitos operados, durante cinco minutos.

No dia de cada coleta, os animais foram novamente submetidos à antibioticoterapia e, aos procedimentos anestésicos e cirúrgicos, já descritos, a fim de que se pudesse realizar biópsia dos TMFPD operados (Figura 2).

Avaliação do processo inflamatório e cicatricial

Análise macroscópica

Alterações macroscópicas do processo de reparo tecidual foram avaliadas no momento da coleta dos tendões, considerando-se a formação de aderência e deslizamento do tendão. Ato contínuo às biopsias, os segmentos foram lavados em solução salina 0,9% e fotografados¹⁰.

Análise microscópica

1. Histopatologia

Segmentos tendíneos, do 2º dedo, de aproximadamente 5 mm foram processados pelas técnicas habituais para inclusão em parafina ou historesina¹¹.

De cada segmento foram feitos cortes longitudinais com micrótomo¹², de 5 µm de espessura. Cinco cortes, no mínimo, foram montados em lâmina histológica e corados pela hematoxilina-eosina e tricrômico de Masson.

¹⁰ Estereomicroscopio Stemi SV 6 MC 80 DX® – Carl Zeiss®

¹¹ Kit Historesin – Jung 70-2218-500®

¹² Micrótomo Rotativo Universal – RM 2145 – Leica® / Micrótomo Jung Autocut 2055 – Leica®

Cada segmento foi analisado morfológicamente quanto ao seu padrão cicatricial. Os tipos celulares, a presença de vasos e demais alterações foram descritas e posteriormente digitalizadas¹³.

2. Morfometria Celular

A contagem de células inflamatórias foi realizada em microscópio binocular de luz, empregando-se uma ocular integradora 6,3x¹⁴ e objetiva 40, totalizando um aumento de 252x. A área delimitada pela ocular integradora foi determinada em 0,0324 mm² através de um micrômetro¹⁵. Foram contados 10 campos microscópicos, focados ao acaso na região da cicatriz, em cinco cortes de cada lâmina, representante de cada animal em cada dia de observação.

Avaliação biomecânica

Ensaio de tração

Os segmentos tendíneos do 5º dedo foram identificados, imersos em solução salina 0,9% e congelados até o momento dos ensaios mecânicos de tração.

Os ensaios mecânicos foram realizados em Máquina Universal de Ensaio (MUE), do Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, SP (Figura 4). Foi utilizada uma célula de carga¹⁶, com capacidade de 50 Kgf; e uma ponte de extensimetria¹⁷ acoplada a MUE para realização das leituras das cargas. A velocidade de aplicação da carga foi de 0,8 mm/min. Foi conectado um relógio comparador¹⁸, com precisão de 0,01 mm, para a medida das deformações, sendo a carga registrada a cada 0,05 mm. Uma pré-carga de 0,1 kgf foi utilizada para todos os ensaios, com tempo de acomodação de 30 segundos. A pré-carga é utilizada para evitar as possíveis folgas no sistema máquina, acessório e modelo ensaiado. Um comprimento livre inicial de 10 mm, com secção tendínea central, foi padronizado para a montagem dos ensaios.

¹³ Microscópio BX 50 CCD® – Olympus® / Tris color video camera DXC 1074® – Sony® / Image - Pro Plus - the proven solution 3.0®, Media Cybernetica®, 1993.

¹⁴ West Germany Kpl 6,3 mm – Carl Zeiss®

¹⁵ Olympus®

¹⁶ Kratos®

¹⁷ Sodmex®

¹⁸ Mitutoyo®

Propriedades biomecânicas avaliadas

- a. *limite de elasticidade* – é a máxima carga onde cessada a aplicação dos esforços o material ensaiado volta às condições iniciais. As cargas e deformações podem ser determinadas como sendo o último ponto do segmento reto da curva;
- b. *limite máximo* – é a carga máxima que o material pode suportar antes da ruptura. Pode ser determinado a partir da deformação e carga máxima, registradas em cada ensaio;
- c. *rigidez* – é uma propriedade particular de cada material e, numericamente igual ao módulo da elasticidade, o qual relaciona a carga e deformação, na fase elástica do material. Pode ser determinada pela tangente da inclinação da reta na fase linear do material;
- d. *resiliência* – é a capacidade do material absorver energia de deformação na fase elástica. Pode ser determinada pela área do triângulo retângulo formado abaixo da reta na fase elástica do material (Figura 5).

Análise Estatística

Para avaliação do efeito dos tratamentos, sobre o número de células inflamatórias e as quatro propriedades biomecânicas avaliadas, foi considerado o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três tratamentos e 10 e 8 repetições, respectivamente. Os resultados foram interpretados por meio de Análise de Variância, em que as médias foram comparadas pelo teste F, ao nível de 1% de probabilidade. Constatadas diferenças significativas, foram executados os contrastes de médias através do teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade (SAS, 1995). Os valores estão referidos como média \pm erro padrão.

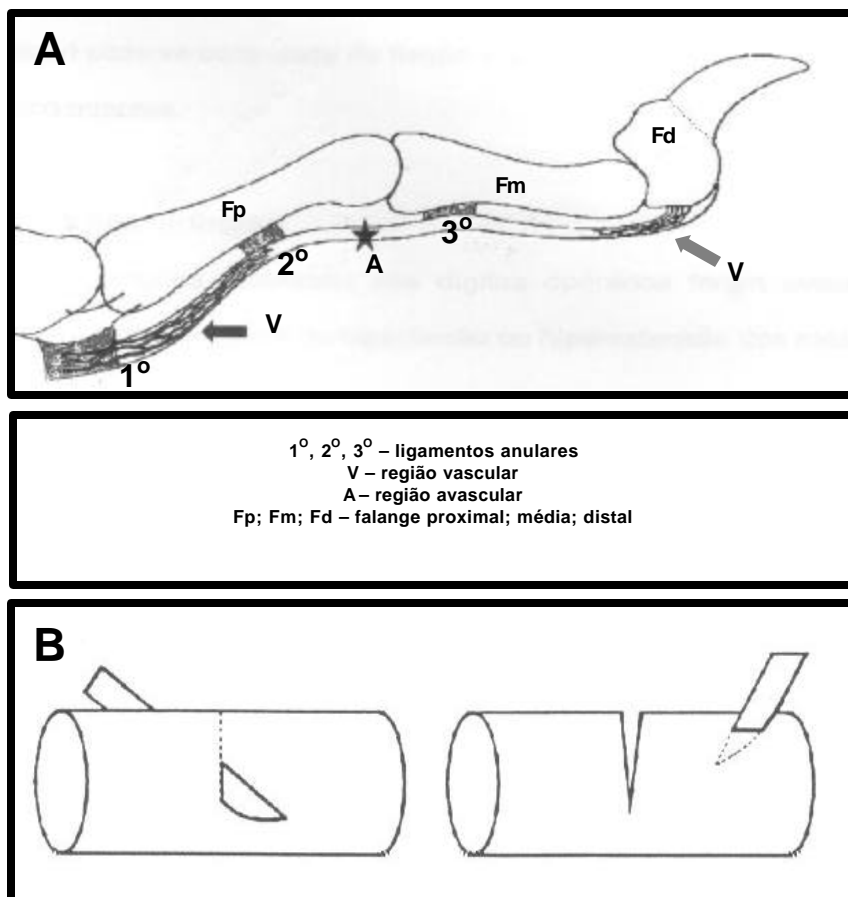


FIGURA 1. (A) ilustração do local da região de secção - entre o 2° e 3° ligamento anular, dos TMFPD do membro torácico de cães, para a aplicação da cola de fibrina derivada de veneno de serpente. (B) ilustração da secção transversal parcial (aproximadamente 2/3 do diâmetro) dos tendões.

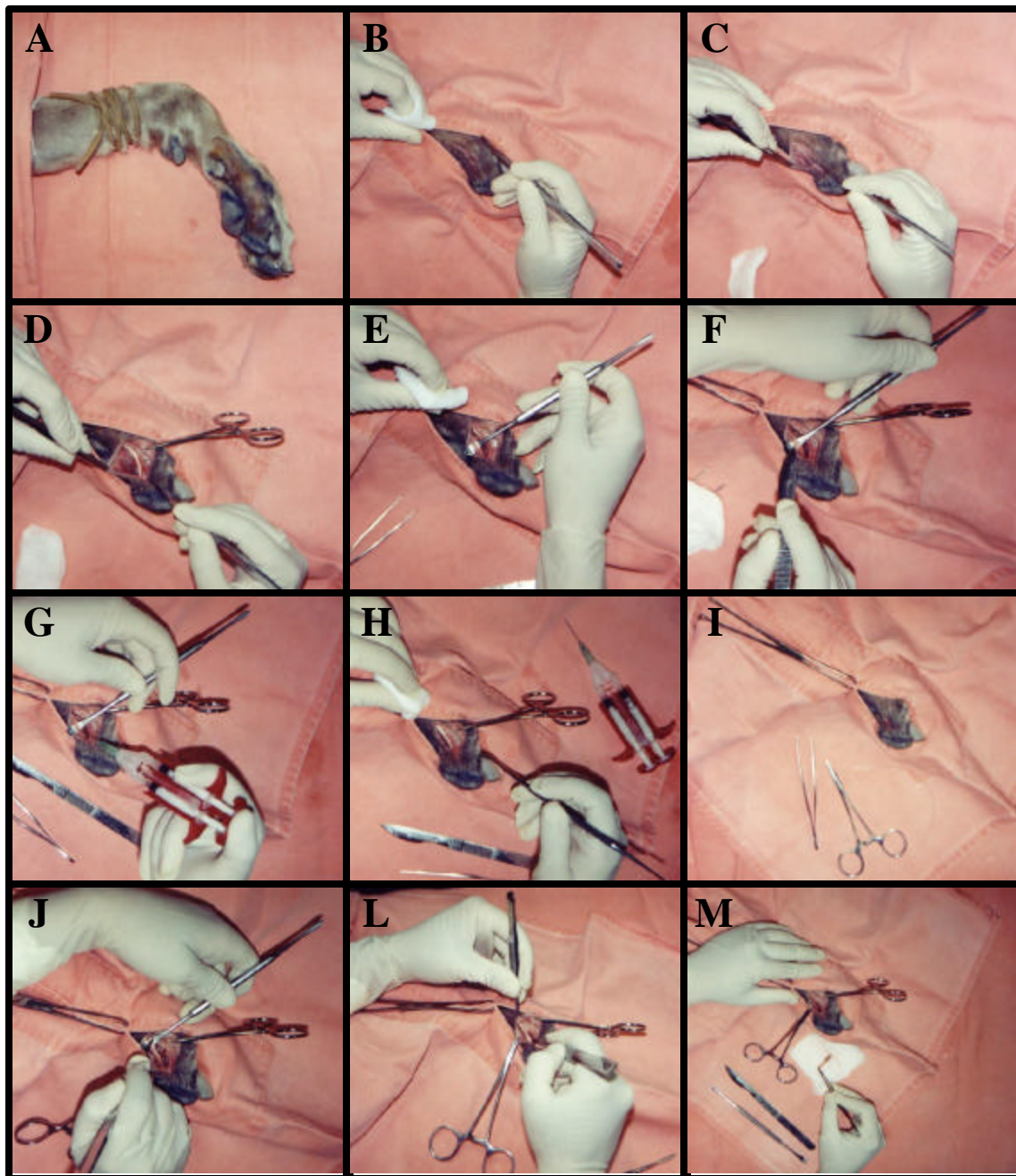


FIGURA 2. Fotografias ilustrando a seqüência dos procedimentos cirúrgicos para aplicação da cola biológica (A - I) e biopsia (A - E; J - M e I) dos segmentos tendíneos operados. **A.** tricotomia das regiões dorsal e medial dos dedos, garroteamento do membro; **B.** assepsia e incisão da cútis; **C.** divulsão dos tecidos adjacentes; **D.** incisão da bainha sinovial e localização do TMFPD; **E.** exposição do tendão; **F.** tenotomia transversal parcial na região determinada; **G.** secagem dos cotos, aplicação da cola biológica e aproximação dos cotos durante 2 minutos; **H.** liberação do tendão; **I.** sutura da cútis; **J.** tenotomia transversal total na região cranial (5 - 10 mm) à cicatriz cirúrgica; **L.** tenotomia transversal total na região caudal (5 - 10 mm) à cicatriz cirúrgica; **M.** segmento tendíneo coletado.



FIGURA 3. Fotografia de um cão com imobilização pós-cirúrgica do membro torácico direito, utilizando-se molde de PVC, posicionado em ângulo de 90° na articulação do carpo.

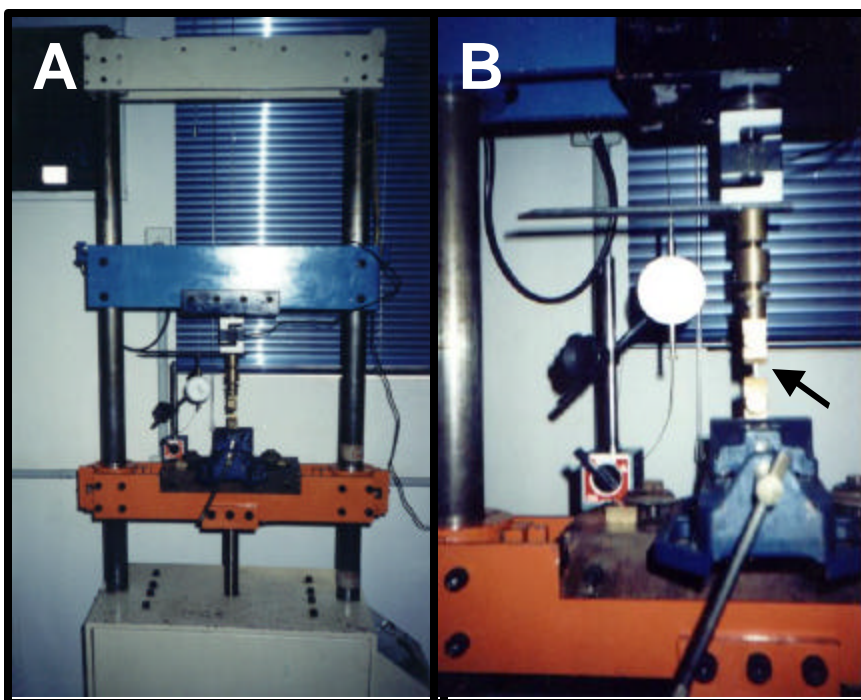


FIGURA 4. Fotografias da Máquina Universal de Ensaios, do Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, SP; na qual os ensaios de tração foram realizados. (A) vista global; (B) detalhes dos acessórios empregados (seta).

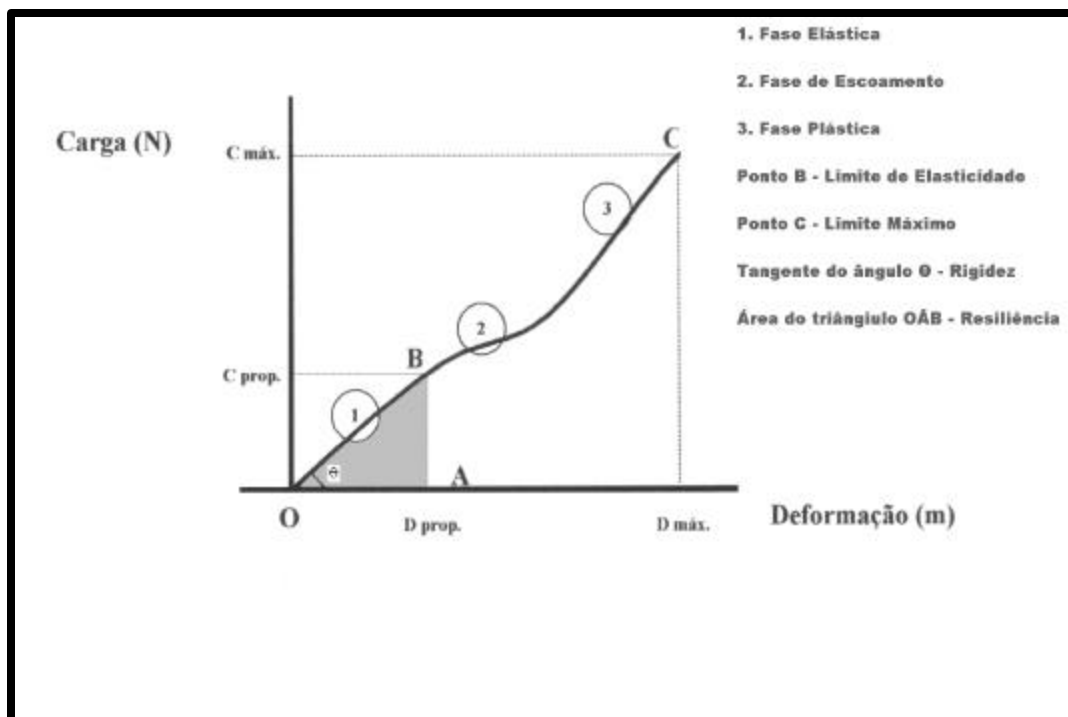


FIGURA 5. Ilustração da curva *carga x deformação* do ensaio de tração, para análise das propriedades biomecânicas.

RESULTADOS

Avaliação do processo inflamatório e cicatricial

Análise macroscópica

Dos 60 tendões avaliados, 71,7% (43) apresentaram retração dos cotos em grau leve a moderado (aproximadamente 2 mm), observada no momento da coleta. Os tendões aos 30 dias do pós-operatório apresentaram melhor coaptação (Figura 6).

Dos 60 tendões operados, representantes dos três grupos experimentais, 31,7% (19) apresentaram aderência leve à bainha sinovial e aos tecidos adjacentes, e 21,7% (13) apresentaram aderência classificada como grau moderado a excessivo, comprometendo seu deslizamento (Figura 7).

Observou-se durante as biopsias, em todos os tendões estudados, retração tendínea de modo que o local de acesso cirúrgico não correspondia anatomicamente ao local da cicatriz cutânea.

Análise microscópica

1. Histopatologia

Aos sete dias do pós-operatório, observou-se retração do tecido na fenda tendínea, epitendão variando de normal a espessado e presença de raro infiltrado inflamatório, composto por polimorfonucleares no epitendão e região de secção. Células fibrocartilagosas foram observadas no endotendão, principalmente no coto proximal. Substância amorfa, rica em fibrina, fibroblastos e hemáceas foram observados na região da cicatriz (Figura 8).

Aos 15 dias, verificou-se que a espessura do epitendão variava de normal a aumentada, havendo infiltrado inflamatório acentuado. Presença de células mononucleares e fibrocartilagosas no coto proximal foram observadas, havendo sinais de reorganização das fibras colágenas com tecido conectivo denso modelado jovem, tecido cicatricial (tecido conectivo frouxo proliferativo) ricamente celular, presença de neovasos e fibroblastos (Figura 9).

Aos 30 dias, observou-se retração da fenda tendínea na área da cicatriz, com preenchimento de tecido conectivo frouxo, com numerosas fibrilas de colágeno, orientadas livremente, criando uma configuração de tecido areolar e cicatriz em organização. Espessamento e moderada celularidade do epitendão e presença de neovasos espiralados e tortuosos também foram identificados (Figura 10).

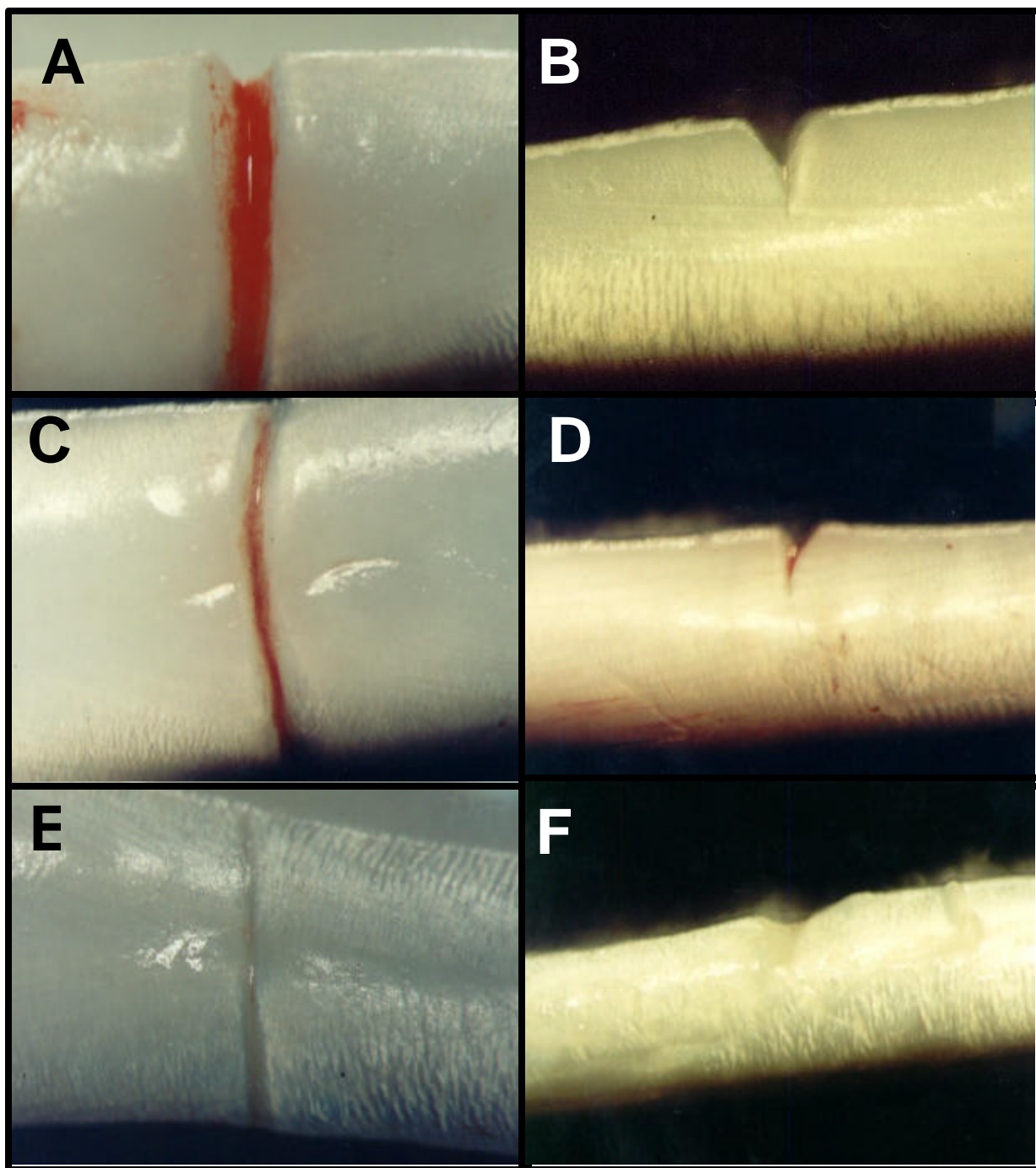


FIGURA 6. Fotomacrografias de segmentos do TMFPD do membro torácico de cães, com o uso do adesivo de fibrina derivado de veneno de serpente, aos sete (A, B), 15 (C, D) e 30 (E, F) dias do pós-operatório. Verificar retração dos cotos tendíneos. Vista palmar (A, C, E) e lateral (B, D, F). Estereomicroscópio, aumento 25x.

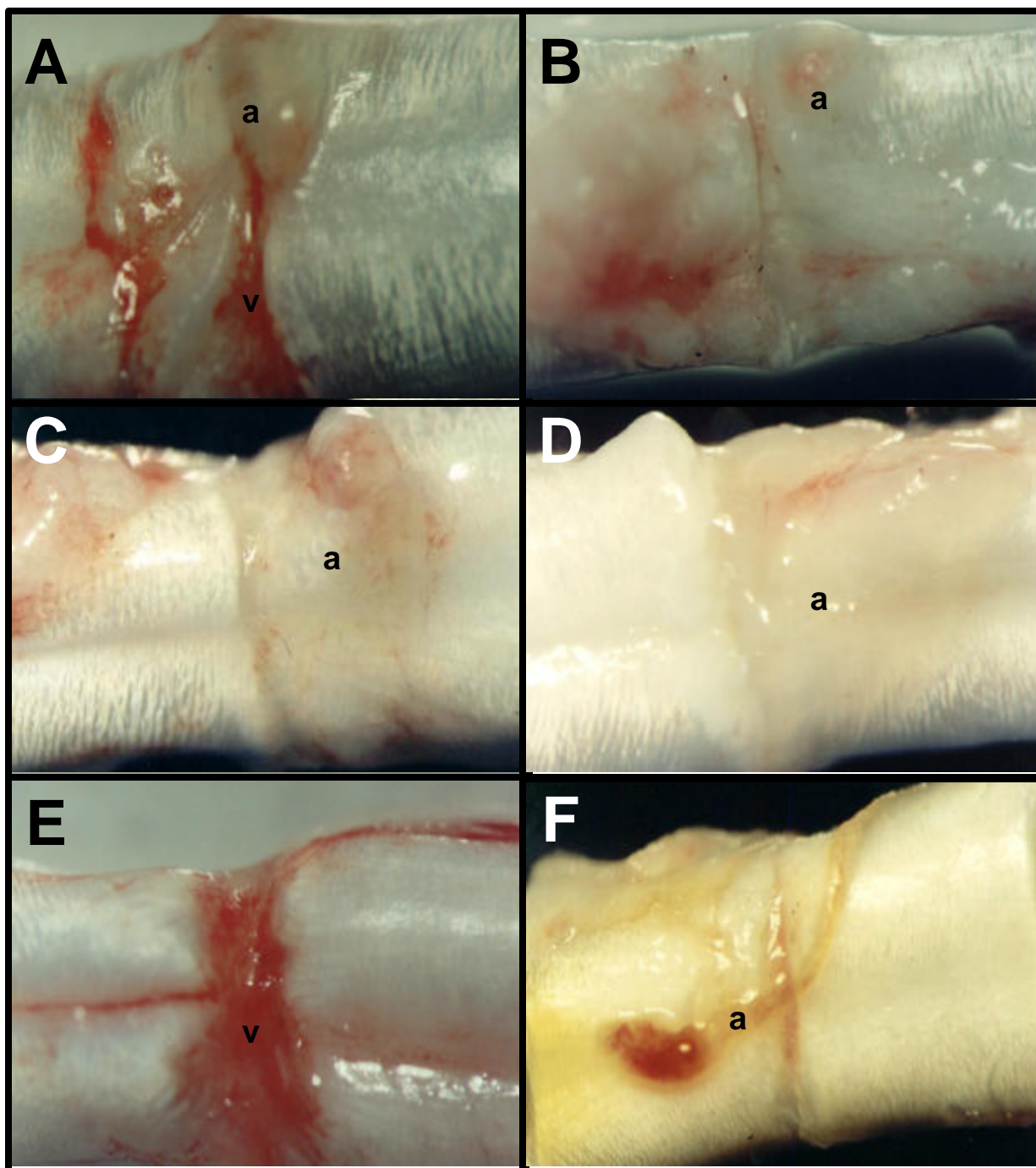


FIGURA 7. Fotomacrografias de segmentos do TMFPD do membro torácico de cães, com o uso do adesivo de fibrina derivado de veneno de serpente; aos sete (A, B), 15 (C, D) e 30 (E, F) dias do pós-operatório. Verificar aderência (a) e vascularização intensa (v). Vista palmar. Estereomicroscópio, aumento 25x.

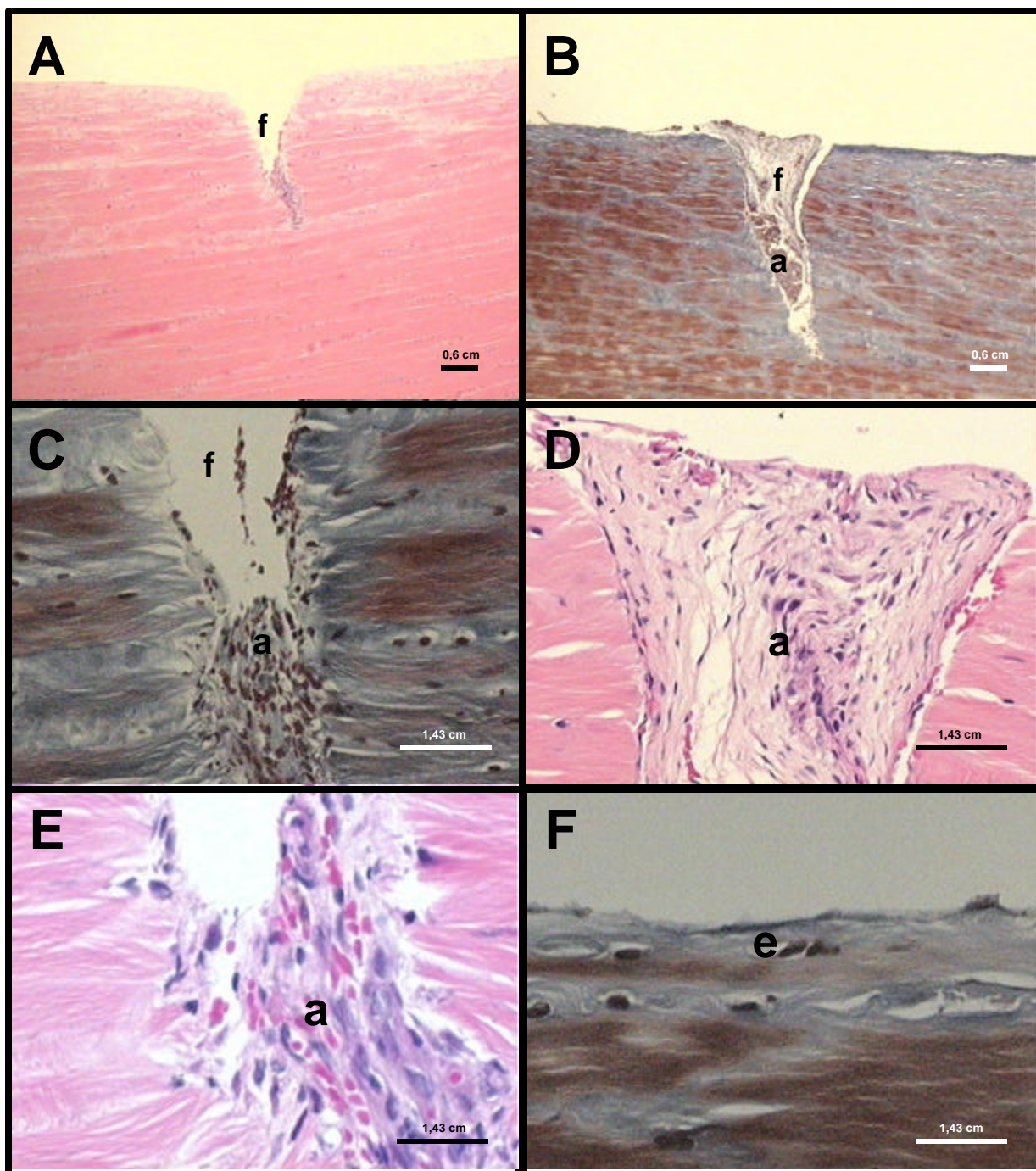


FIGURA 8. Fotomicrografias de segmentos do TMFPD do membro torácico de cães, com o uso do adesivo de fibrina derivado de veneno de serpente; aos sete dias do pós-operatório. Barras 100 μm (A, B, C), 50 μm (D, E) e 25 μm (F, G). Verificar retração da fenda tendínea (f), epitendão (e) e tecido amorfo cicatricial (a). Inclusão em parafina. Coloração HE (A, D, E) e TM (B, C, F).

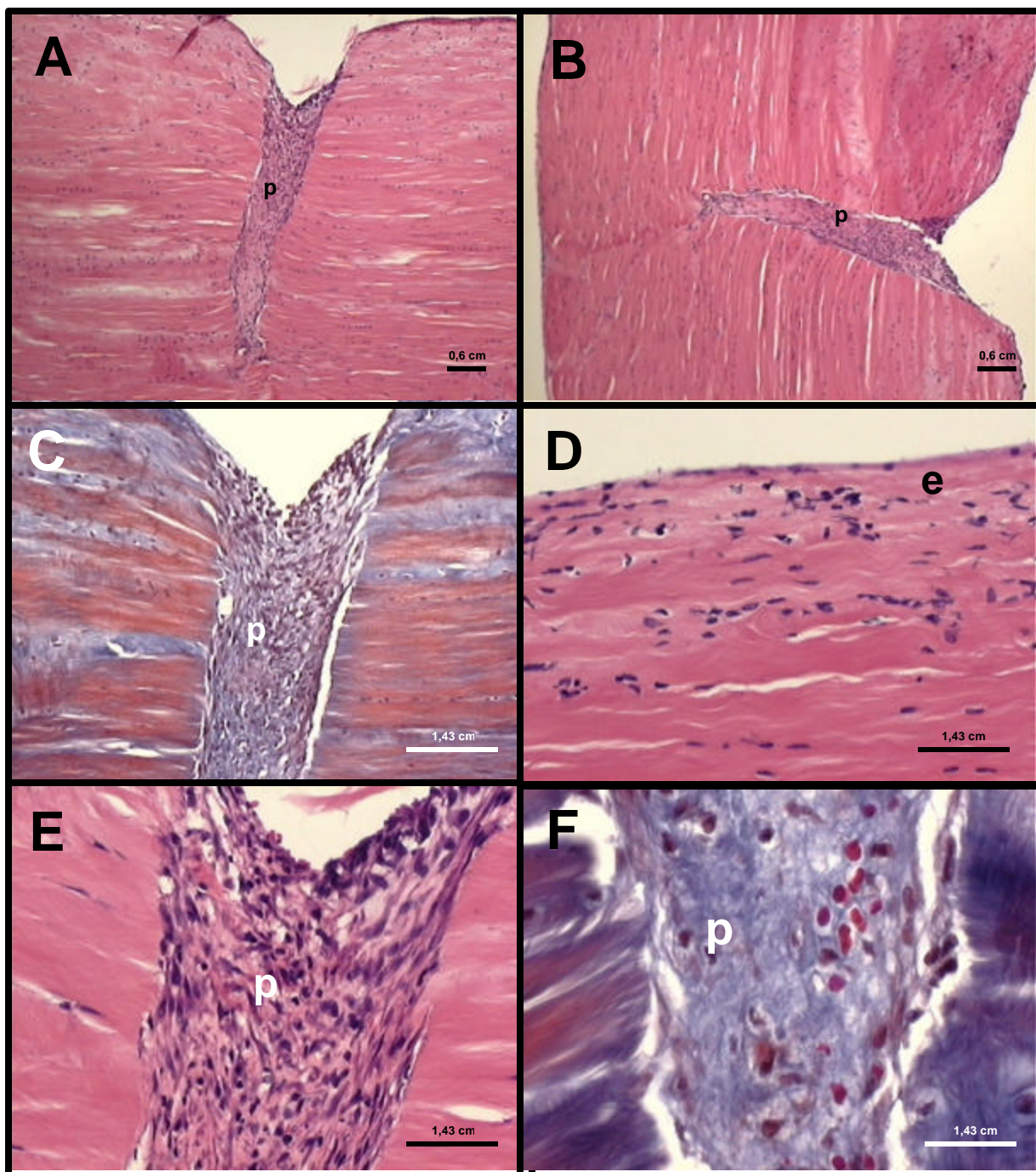


FIGURA 9. Fotomicrografias de segmentos do TMFPD do membro torácico de cães, com o uso do adesivo de fibrina derivado de veneno de serpente; aos 15 dias do pós-operatório. Barras 100 μ m (A, B, C), 50 μ m (D, E) e 25 μ m (F). Verificar tecido conectivo frouxo proliferativo, ricamente celular (p) e epitendão (e). Inclusão em parafina. Coloração HE (A, B, D, E) e TM (C, F).

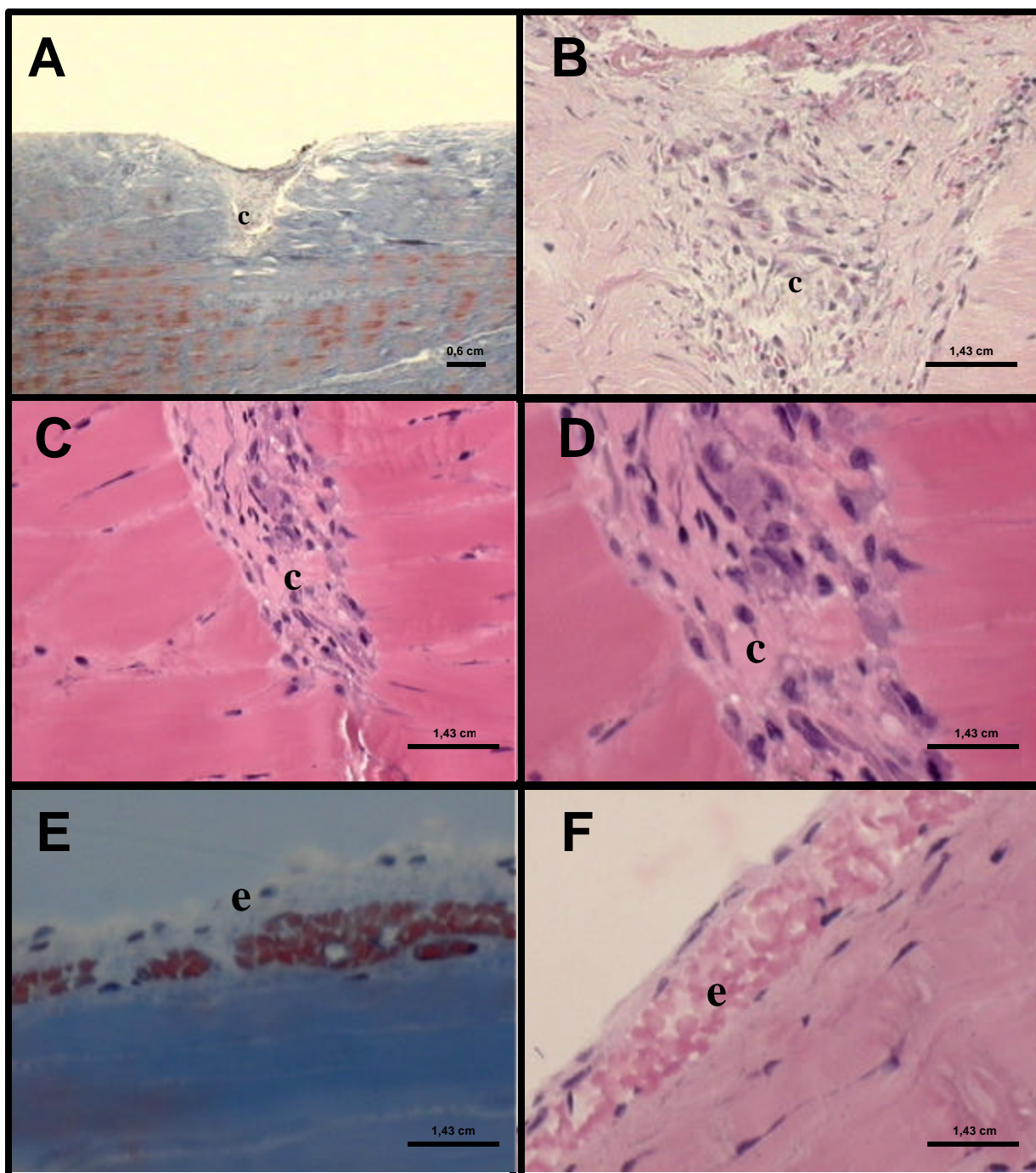


FIGURA 10. Fotomicrografias de segmentos do TMFPD do membro torácico de cães, com o uso do adesivo de fibrina derivado de veneno de serpente; aos 30 dias do pós-operatório. Barras 100 μm (A), 50 μm (B, C) e 25 μm (D, E, F). Verificar cicatriz em organização (c) e epitendão com neovascularização acentuada (e). Inclusão em parafina (A, B) e historesina (C, D, E, F). Coloração HE (B, C, D, F) e TM (A, E).

2. Morfometria celular

Pela análise de variância houve diferença significativa ($P < 0,01$) para a contagem do número de células inflamatórias/mm², entre os três tempos de tratamento estudados (Tabela 1).

A maior média da contagem do número de células inflamatórias/mm² foi aos 15 dias do pós-operatório (898 ± 71), seguido pelas médias aos 30 dias (41 ± 6) e aos sete dias (4 ± 1) (Tabela 2; Figura 10). Pelo teste de Tukey, comparando-se as médias dos três tempos de tratamento, verificou-se diferença significativa somente aos 15 dias ($P < 0,05$) (Figura 11).

O modelo matemático ajustado para este estudo é definido pela função quadrática $y = - 7,34 x^2 + 273,24 x - 1549,49$ (Figura 12).

Tabela 1 . Análise de variância da contagem do número de células inflamatórias/mm²; na regeneração do tendão do músculo flexor profundo do dedo do membro torácico de cães, com o uso do adesivo de fibrina derivado de veneno de serpente; aos 7, 15 e 30 dias do pós-operatório; segundo um delineamento inteiramente casualizado. Jaboticabal, 2003.

Causa de Variação	gl	SQ	QM	F
Tratamento	2	5112410,11	2556205,06	151,9 *
Resíduo	27	454361,56	16828,21	
Total	29	5566771,67		

n = 30

* significativo a 1% de probabilidade

Tabela 2 . Média e erro padrão da contagem do número de células inflamatórias/mm²; na regeneração do tendão do músculo flexor profundo do dedo do membro torácico de cães, com o uso do adesivo de fibrina derivado de veneno de serpente; aos 7, 15 e 30 dias do pós-operatório. Jaboticabal, 2003.

Dias de Tratamento	Média ± Erro
7	4 ± 1
15	898 ± 71
30	41 ± 6

n = 30

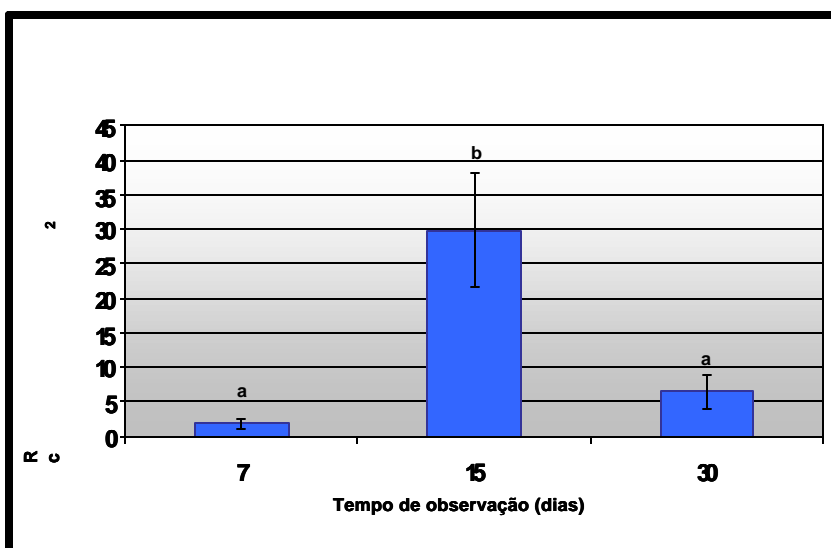


FIGURA 11. Variação da média da contagem do número de células inflamatórias/mm², quantificadas na região da cicatriz cirúrgica dos segmentos do TMFPD do membro torácico de cães, com o uso do adesivo de fibrina derivado de veneno de serpente; aos sete, 15 e 30 dias do pós-operatório. As barras verticais indicam o erro padrão. Médias com letras minúsculas iguais, sobre as barras, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

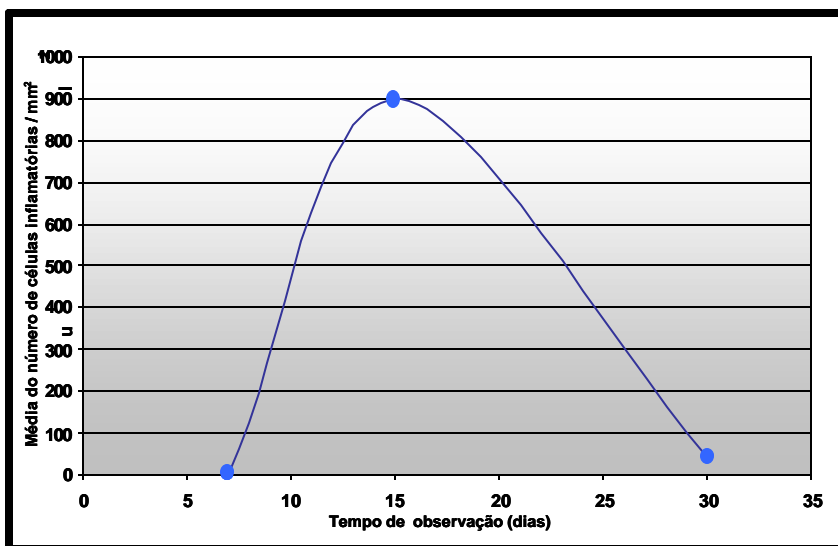


FIGURA 12. Função quadrática do Modelo Matemático do DIC, ajustado para a contagem do número de células inflamatórias/mm², quantificadas na região da cicatriz cirúrgica dos segmentos do TMFPD do membro torácico de cães, com o uso do adesivo de fibrina derivado de veneno de serpente; aos sete, 15 e 30 dias do pós-operatório.

Avaliação Biomecânica

Ensaio de tração

Dos 30 ensaios mecânicos de tração realizados, seis tendões falharam durante os ensaios, sendo descartados, obtendo-se, então, a curva *carga x deformação* de oito tendões por tempo de tratamento (Figura 13).

Propriedades biomecânicas avaliadas

Pela análise de variância, houve diferença significativa ($P < 0,01$) para as quatro propriedades avaliadas, entre os três tempos de tratamento (Tabela 3).

Observou-se que no limite de elasticidade a maior média para deformação foi aos 30 dias ($1,48 \pm 0,09 \times 10^{-3}$ m), seguida pelas médias aos 15 dias ($0,96 \pm 0,03 \times 10^{-3}$ m) e sete dias ($0,92 \pm 0,07 \times 10^{-3}$ m). Para a carga, a maior média também foi aos 30 dias ($39,83 \pm 1,68$ N), seguida pelas médias aos 15 dias ($23,97 \pm 0,65$ N) e sete dias ($16,03 \pm 1,12$ N) (Tabela 4; Figura 14). Pelo teste de Tukey, as deformações médias foram coincidentes aos sete e 15 dias ($P > 0,05$), sendo significativamente diferente aos 30 dias ($P < 0,05$). Enquanto, para as cargas médias, houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os três tempos de tratamento estudados (Figura 14).

Quanto ao limite máximo, a maior média para deformação foi aos 30 dias ($2,63 \pm 0,09 \times 10^{-3}$ m), seguida pelas médias aos sete dias ($1,61 \pm 0,08 \times 10^{-3}$ m) e 15 dias ($0,16 \pm 0,07 \times 10^{-3}$ m). Para a carga, a maior média foi aos 30 dias ($55,94 \pm 1,96$ N), seguida pelas médias aos 15 dias ($31,88 \pm 0,95$ N) e sete dias ($21,45 \pm 1,09$ N) (Tabela 4; Figura 14). Pelo teste de Tukey, as deformações médias foram coincidentes aos sete e 15 dias ($P > 0,05$), sendo significativamente diferente aos 30 dias ($P < 0,05$). Para as cargas médias, houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os três tempos de tratamento estudados (Figura 14).

Na rigidez, a maior média foi aos 30 dias ($31362,87 \pm 1511,83$ N/m), seguida pelas médias aos 15 dias ($28076,04 \pm 1121,63$ N/m) e sete dias ($18396,12 \pm 687,43$ N/m) (Tabela 4; Figura 14). Pelo teste de Tukey, as médias aos 15 e 30 dias foram

coincidentes ($P>0,05$), sendo significativamente diferente aos sete dias ($P<0,05$) (Figura14).

Para a propriedade resiliência, a maior média também foi aos 30 dias ($12,43 \pm 1,35 \times 10^{-3}$ J), seguida pelas médias aos 15 dias ($5,18 \pm 0,44 \times 10^{-3}$ J) e sete dias ($3,69 \pm 0,54 \times 10^{-3}$ J) (Tabela 4; Figura 14). Pelo teste de Tukey, as médias aos sete e 15 dias foram coincidentes ($P>0,05$), sendo significativamente diferente aos 30 dias ($P<0,05$) (Figura 14).

Tabela 3 . Análise de variância para as quatro propriedades biomecânicas avaliadas, nos ensaios de tração dos segmentos de tendões do músculo flexor profundo do dedo do membro torácico de cães, com o uso do adesivo de fibrina derivado de veneno de serpente; aos 7, 15 e 30 dias do pós-operatório; segundo um delineamento inteiramente casualizado. Jaboticabal, 2003.

PROPRIEDADES		F
<i>Limite de Elasticidade</i>	Deformação (m)	40,6 *
	Carga (N)	126,7 *
<i>Limite Máximo</i>	Deformação (m)	16,7 *
	Carga (N)	78,6 *
<i>Rigidez (N/m)</i>		27,1 *
<i>Resiliência (J)</i>		22,8 *

n = 24

* significativo a 1% de probabilidade

Tabela 4 . Média e erro padrão das quatro propriedades biomecânicas avaliadas nos ensaios de tração dos segmentos de tendões do músculo flexor profundo do dedo do membro torácico de cães, com o uso do adesivo de fibrina derivado de veneno de serpente; aos 7, 15 e 30 dias do pós-operatório. Jaboticabal, 2003.

PROPRIEDADES / TEMPO		7	15	30
Limite de Elasticidade	Deformação ($\times 10^{-3}$ m)	$0,92 \pm 0,07$	$0,96 \pm 0,03$	$1,48 \pm 0,09$
	Carga (N)	$16,03 \pm 1,12$	$23,97 \pm 0,65$	$39,83 \pm 1,68$
Limite Máximo	Deformação ($\times 10^{-3}$ m)	$1,61 \pm 0,08$	$1,60 \pm 0,07$	$2,63 \pm 0,09$
	Carga (N)	$21,45 \pm 1,09$	$31,88 \pm 0,95$	$55,94 \pm 1,96$
Rigidez (N/m)		$18396,12 \pm 687,43$	$28076,04 \pm 1121,63$	$31362,87 \pm 1511,83$
Resiliência ($\times 10^{-3}$ J)		$3,69 \pm 0,54$	$5,18 \pm 0,44$	$12,43 \pm 1,35$

n = 24

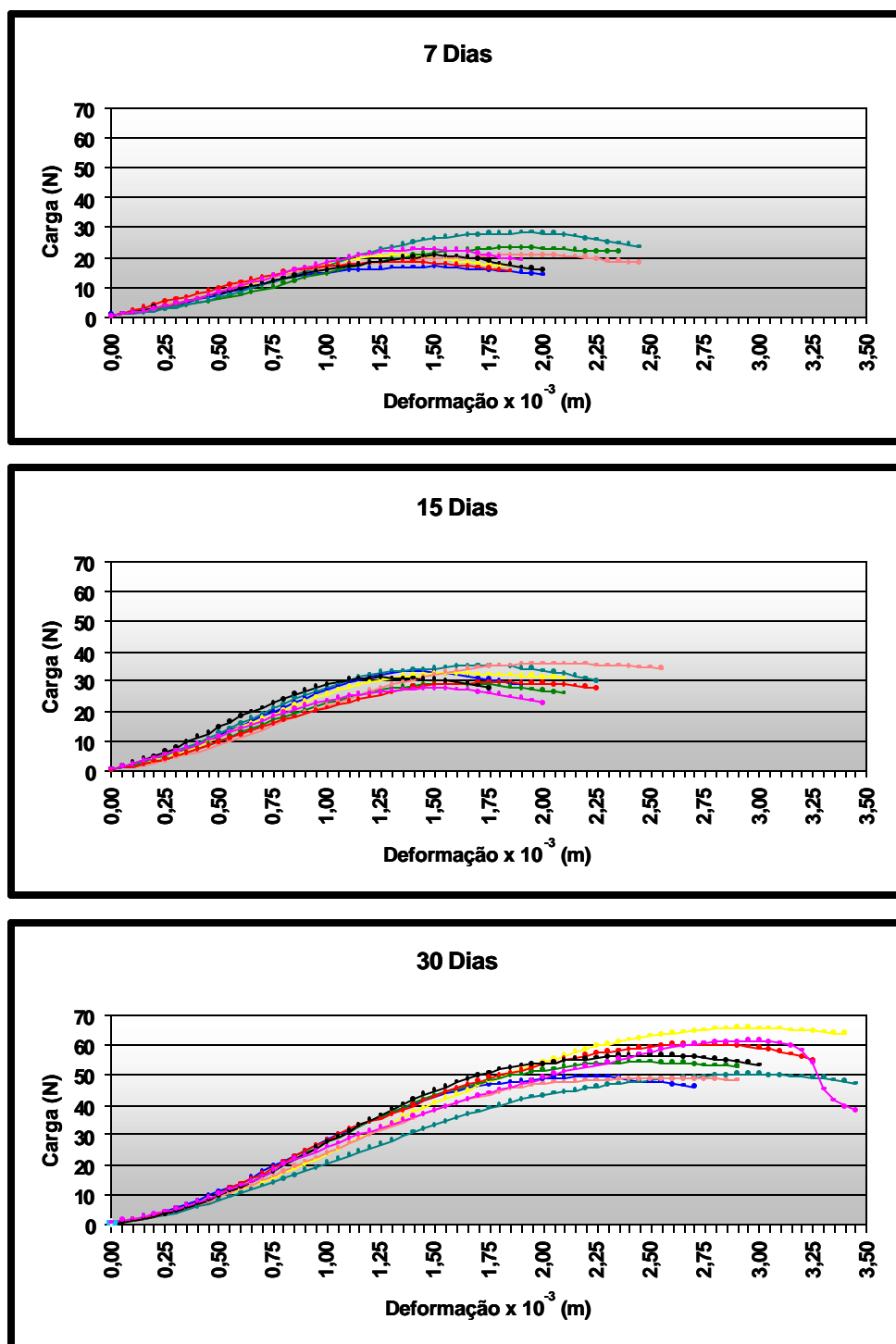


FIGURA 13. Gráficos *carga x deformação* dos ensaios de tração dos oito segmentos do TMFPD do membro torácico de cães, com o uso do adesivo de fibrina derivado de veneno de serpente, em cada tempo de observação.

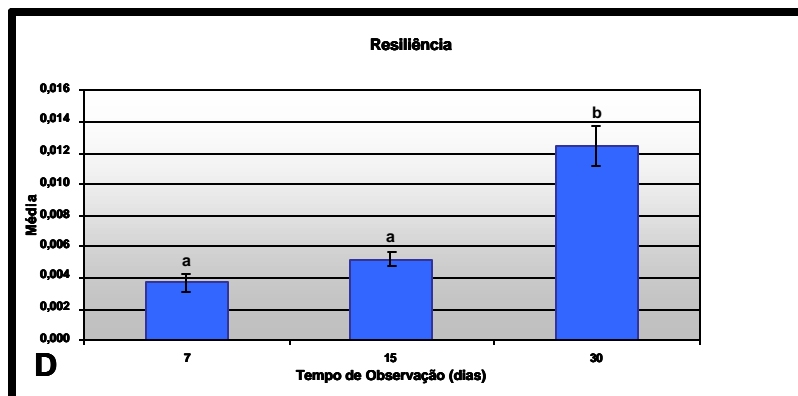
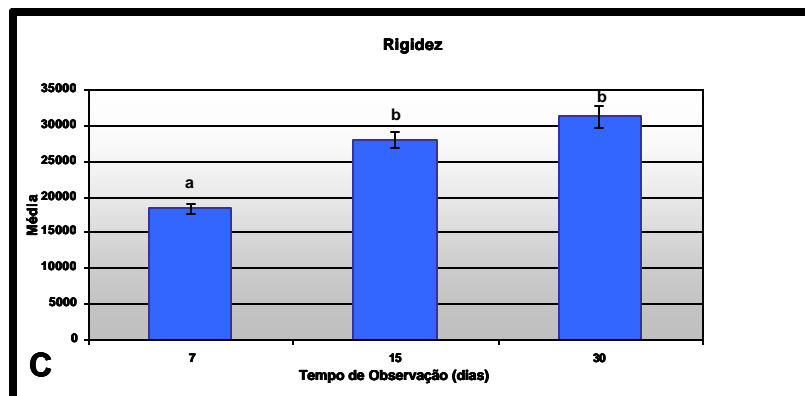
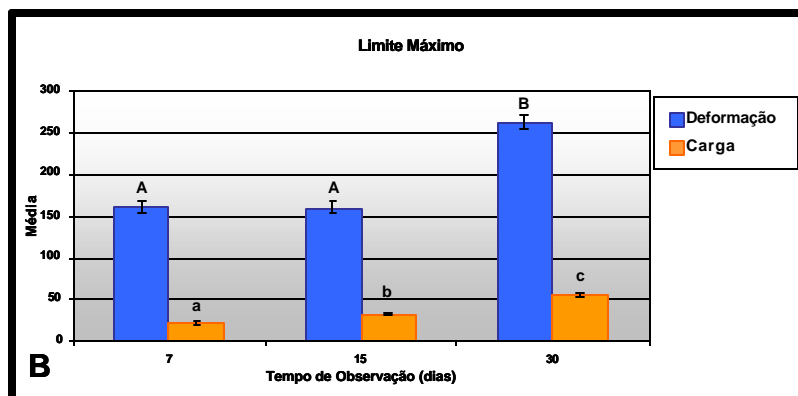
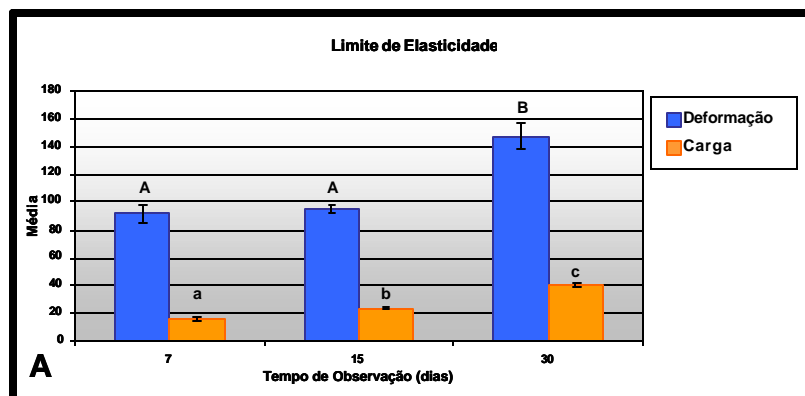


FIGURA 14. Variação da média das quatro propriedades biomecânicas avaliadas nos ensaios de tração dos oito segmentos do TMFPD do membro torácico de cães, com o uso do adesivo de fibrina derivado de veneno de serpente, em cada tempo de observação. (A) Carga [N] e Deformação $\times 10^{-5}$ [m] no Limite de Elasticidade; (B) Carga [N] e Deformação $\times 10^{-5}$ [m] no Limite Máximo; (C) Rigidez [N/m] e (D) Resiliência [J]. As barras verticais indicam o erro padrão. Médias com letras maiúsculas ou minúsculas iguais, sobre as barras, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

DISCUSSÃO

O reparo de tendões flexores é limitado pela formação de aderências, que restringem a mobilidade e reduzem a função do membro em uma proporção significativa dos casos (GELBERMAN & MANSKE, 1985). Estas, porém, somente desenvolvem-se se a combinação da tenorrafia, imobilização e injúria concorrente na bainha tendínea ocorrer inadequadamente (MATTHEWS & RICHARDS, 1976).

A cicatrização do tendão pode ser afetada por alguns fatores mecânicos. Um dos mais importantes é a quantidade de tecidos moles traumatizados, que se correlacionam com a cicatrização predominantemente extrínseca, rica em tecido conectivo. Técnicas cirúrgicas deficientes podem aumentar a formação de aderências e, bandagens aplicadas inadequadamente, que comprometem a drenagem venosa e o fluxo linfático, podem causar edema e claudicação pós-cirúrgica (WANG, 1998).

Nossos resultados mostraram que 21,7% dos tendões apresentaram aderência em grau variando de moderado a excessivo. Essa ocorrência pode ser atribuída à manipulação excessiva dos tendões durante a cirurgia e/ou à própria cola de fibrina que, pela baixa viscosidade, infiltrava-se nos tecidos adjacentes ao local de secção em função da técnica empregada.

O fator mais importante para recuperar a função deslizante não é a prevenção de aderências aos tecidos adjacentes, mas a redução na fenda cicatricial, ou seja da quantidade de tecido fibroso. Essa redução requer traumatismo mínimo; ausência de hematoma e abscesso e repouso para permitir ótima cicatrização. A ruptura de aderências reagudiza o processo de inflamação e a formação de cicatriz. O tendão regenerado com preservação da função de deslizamento indica a ocorrência de uma remodelação do tecido cicatricial com manutenção da arquitetura morfológica suficiente para não prejudicar sua função deslizante. Portanto, é importante não romper as aderências, mas remodelar a cicatriz (JOHNSTON, 1985).

A cicatrização tendínea requer imobilização do tendão por três semanas após a cirurgia, para que o suprimento vascular seja adequado para dar início ao processo cicatricial e forme-se mínima cicatriz ao redor do tendão. O movimento restrito, após

três semanas, remodela o tecido peritendíneo. Quando for permitido movimento ativo após três semanas de imobilização, o ganho de resistência será, na quinta semana, três vezes maior que na terceira semana (JOHNSTON, 1985).

A imobilização do membro pode ser externa, com o uso de canaletas (GUERIN et al., 1998; BAIOTTO et al., 1998; RAISER, 2000) ou interna, com fixação da articulação por meio de implantes metálicos (SCHMITT et al., 1993; COSTA NETO et al., 1999; RAISER, 2000). A interna é mais rígida e, conseqüentemente, minimiza o afastamento dos segmentos anastomosados. Na externa, apesar de haver afastamento preenchido por tecido conectivo proliferante, ocorre orientação longitudinal mais precoce das fibras colágenas permitindo recuperação mais rápida da resistência à tração (PALMES et al., 2002). Entretanto, a diminuição da irrigação dos tecidos moles pode lesá-los e, se houver afastamento significativo, há o risco de aumentar o grau de extensão articular (RAISER, 2001).

Neste estudo, os resultados obtidos demonstraram que a imobilização, associada à movimentação passiva diária e adequada dos dedos operados, também ajudou a prevenir a formação excessiva de aderência com os tecidos vizinhos, favorecendo menor formação de tecido conectivo fibroso e possibilitando melhor deslizamento na maioria dos tendões operados, como também observado em outros estudos em várias espécies experimentais (WOO et al., 1981; GELBERMAN et al., 1982; EDINBURG et al., 1987; PRUITT et al., 1996 e HATAKA, 1998).

A aderência em tendões lesados é comum, pois o tecido de reparo inclui vários tipos celulares que se organizam como uma única unidade (PEACOCK & VAN WINKLE, 1984). A formação de espaço favorece a migração de tecido conectivo fibroso, comprometendo o deslizamento do tendão (GREENWALD et al., 1994; PACKER et al., 1994; PRUITT et al., 1996). A técnica de Kessler modificada, com adição de sutura periférica no epitendão, impede o afastamento dos segmentos tendíneos seccionados (MORAES et al., 2002).

Neste estudo, a secção parcial do tendão promoveu retração secundária entre os cotos tendíneos em 71,7% dos tendões estudados. Este fato pode ser atribuído à alta tensão exigida nas extremidades do tendão, uma vez que a cola não conferiu

resistência suficiente na área rompida para suportar a tração sofrida; à técnica cirúrgica ou ao regime de reabilitação durante o pós-operatório. Entretanto, estudos prévios relatam que, o afastamento secundário de cotos, menores ou iguais a 2 mm, não comprometeu a cicatrização de tendões flexores de cães submetidos a tenorrafia e fisioterapia pós-operatória (SILVA et al., 2002).

A seqüência de eventos inflamatórios nos tendões começa no trauma e estende-se por três dias, iniciando-se com a formação de coágulo de fibrina e fagocitose das células e fragmentos de colágeno (EARLEY, 1981). A fase fibroblástica, na qual a ferida começa a ganhar resistência, dura até 21 dias. Os fibroblastos predominam e secretam colágeno livremente, com mínima resistência; passando, durante a segunda semana, a ter orientação perpendicular ao feixe longitudinal do tendão (WANG, 1998). A angiogênese, que ocorre intrinsecamente no epitendão também alcança seu pico durante esse período (EARLEY, 1981).

Na fase de remodelação, até os 28 dias, os fibroblastos e colágeno próximos ao tendão passam a orientarem-se paralelamente devido ao estresse direcional imposto aos tecidos; enquanto a cicatriz mais afastada permanece desorganizada (WANG, 1998). Alterações na arquitetura da cicatriz são mais notáveis em situações em que o tendão precisa restabelecer a função deslizante (MADDEN, 1970).

Nossos resultados histopatológicos revelaram epitendão reativo com baixa densidade celular aos sete dias após a cirurgia. Presença de células mononucleares, características do processo inflamatório crônico e formação de tecido cicatricial entre os cotos tendíneos foram identificados, aos 15 dias. Aos 30 dias, observou-se neovascularização acentuada e os vasos sanguíneos no epitendão espiralados e tortuosos. O colágeno na cicatriz mostrou-se orientado em feixes paralelos substituindo o tecido conectivo de reparo e fibrilas colágenas e com orientação livre criavam uma configuração de tecido areolar frouxo. Com exceção da baixa densidade celular no infiltrado inflamatório, aos sete dias do pós-operatório, esses resultados também foram observados por outros autores em tendões de cães (NESSLER et al., 1992; HATAKA, 1998).

No período pós-operatório imediato, a resistência da reparação depende predominantemente do número de pontos de sutura (WANG, 1998). Nas primeiras 24 h após a lesão, uma ferida apropriadamente coaptada apresenta resistência devido à formação de coágulo de fibrina e, logo depois pela presença de novos capilares e substância básica recém formada. Após quatro a seis dias, aumenta significativamente para alcançar máxima resistência no 14^o a 16^o dia, quando está associada à fibroplasia e produção de colágeno (JOHNSTON, 1985). A resistência no tendão aumenta 15 vezes por 10 dias e atinge um pico entre o 14^o e 28^o, alcançando nível 22 vezes acima do normal. O seu declínio é lento com o nível ainda 15 vezes o normal aos 84 dias de evolução (EARLEY, 1981).

Neste estudo, pela avaliação das quatro propriedades biomecânicas, podemos verificar que a cicatrização tendínea ganhou resistência progressiva, com o tempo, para a força de tração máxima e deformações permanentes, possuindo aos 15 dias resultados satisfatórios para a rigidez e resiliência, quando comparado com os outros dois tempos estudados. Tais resultados podem ser considerados uma resposta direta dos achados histopatológicos durante a fase proliferativa da cicatrização tendínea, onde a migração fibroblástica associada à angiogênese e síntese de colágeno no local da cicatriz foram acentuadas.

Vários estudos sugerem benefícios na aplicação de adesivos de fibrina em rupturas traumáticas (RUPP & STEMBERGER, 1978; RUPP, 1982; VOLLMAR, 1982; THYREGOD & SKOJOLDBORG, 1983; GLUCKERT et al., 1984; PAAR & BERNETT, 1984), e experimentais (GLUCKERT & PESCH, 1982; THERMANN et al., 1995; THERMANN et al., 1999; THERMANN et al., 2001; THERMANN et al., 2002; JONES et al., 2002) de tendões em diferentes espécies. Referem-se que estes adesivos atuam como uma superfície que favorece a migração fibroblástica, apresentando influência mitogênica, que aumenta a secreção colágena, bem como sua precoce estratificação (HEDELIN et al., 1983; GLUCKERT et al., 1984; PEACOCK & VAN WINKLE, 1984); além de incrementar a força de reparo, diminuir o tempo cirúrgico e tornar possível a mobilização pós-cirúrgica, em alguns casos (VOLLMAR, 1982; THERMANN et al., 1995; THERMANN et al., 2001). Entretanto, nem todos relatam seus efeitos benéficos

na cicatrização tendínea (BOSCH et al., 1981; BOSCH et al., 1982; FRYKMAN et al, 1993; LUSARDI & CAIN, 1994); conquanto admitam possíveis falhas no delineamento pré-estabelecido ou na técnica empregada (GLUCKERT et al., 1984; LUSARDI & CAIN, 1994).

Considerações finais

Os resultados, histopatológicos e biomecânicos deste estudo, apontam para a aplicação satisfatória do adesivo de fibrina derivado de veneno de serpente, na cicatrização de tendões flexores de cães. Destacamos, ainda, que a mudança da técnica empregada na aplicação da cola, passando-se a utilizar um isolante estéril, afim de que se mantenha o local cirúrgico separado dos tecidos vizinhos, durante o tempo de reação dos seus componentes, como descrito por FRYKMAN et al. (1993) e JONES et al. (2002), poderá efetivamente reduzir o percentual de adesões encontradas.

CONCLUSÕES

O uso do adesivo de fibrina derivado de veneno de serpente:

1. Impediu a formação excessiva de aderência, associado à imobilização externa e à movimentação passiva dos dedos operados.
2. Apresentou infiltrado inflamatório menos proeminente aos sete dias do pós-operatório e facilitou as fases de maturação do processo cicatricial tendíneo.
3. Proporcionou aumento progressivo da resistência para a força de tração máxima e deformações permanentes.
4. Pode ser usado como substância alternativa em tenorragias para rupturas completas ou na substituição dessas, para rupturas parciais de tendões flexores digitais de cães.

REFERÊNCIAS

BAIOTTO, G.C.; ZINN, L.L.; RAISER, A.G. Proposição de molde para imobilização externa da articulação do tarso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIRURGIA E ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA, 3., 1998, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: CBCAV, 1998. 161p. p.89.

BOSCH, P.; HERTZ, H.; LINTNER, F.; NOWOTNY, R. Does the fibrin glue accelerate the healing of tendons? **Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery**, New York v.98, n.4, p.305-310, 1981.

BOSCH, P.; HERTZ, H.; LINTNER, F.; NOWOTNY, R.; ENGEL, A. Experimentelle Sehnenklebung. In: COTTA, H.; BRAUN. **Fibrinkleber in orthopadie und traumatologie**. Stuttgart: Thieme-Verlag, 1982, p.187.

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

EARLEY, T.D. Tendon disorders. In: BOJRAB, M.J. **Pathophysiology in small animal surgery**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1981. p.5851-5866.

EDINBURG, M.; WIDGEROW, A.D.; BIDDULPH, S.L. Early postoperative mobilization of flexor tendon injuries using a modification of the Kleinert technique. **Journal of Hand Surgery (Am)**, Saint Louis, v.12, n.1, p.34-38, 1987.

EIKEN, O.; LUNDBORG, G.N.; RANK, F. The role of the digital synovial sheath in tendon grafting. An experimental and clinical study on autologous tendon grafting in the digit. **Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery**, Stockolm, v.9, n.3, p.182-189, 1975.

FRYKMAN, E.; JACOBSSON, S.; WIDENFALK, B. Fibrin sealant in prevention of flexor tendon adhesions: an experimental study in the rabbit. **Journal of Hand Surgery (Am)**, Saint Louis, v.18, n.1, p.68-75, 1993.

GELBERMAN, R.H.; MANSKE, P.R. Factors influencing flexor tendon adhesions. **Hand Clinics**, Philadelphia, v.1, n.1, p.35-42, 1985.

GELBERMAN, R.H.; WOO, S.L.; LOTHINGER, K.; AKESON, W.H.; AMIEL, D. Effects of early intermitent passive mobilization on healing canine flexor tendons. **Journal of Hand Surgery (Am)**, Saint Louis, v.7, n.2, p.170-175, 1982.

GLUCKERT, K.; PESCH, H.J. Tierexperimentelle untersuchungen zum vergleich von fibrinklebung und chirurgischer naht bei sehnenlasionen. In: COTTA, H.; BRAUN, A. **Fibrinkleber in orthopadie und traumatologie**. Stuttgart: Thieme-Verlag, 1982, p.127.

GLUCKERT, K.; PESCH, H.J.; WESELOH, G. Fibrinklebung bei sehnenlasionen-experimentelle erfahrungen und klinische aspekte. In: SCHEELE, J. **Fibrinklebung**. Berlin: Springer-Verlag, 1984. p.221.

GREENWALD, D.P.; HONG, H.Z.; MAY Jr., J.W. Mechanical analysis of tendon suture techniques. **Journal of Hand Surgery (Am)**, Saint Louis, v.19, n.4, p.641-647, 1994.

GUERIN, S.; BURBIDGE, E.; FIRTH, E. Achilles tenorrhaphy in five dogs: a modified surgical technique and evaluation of a cranialhalf cast. **Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology**, Stuttgart, v.11, p.205-210, 1998.

HATAKA, A. **Cinética vascular e celular na cicatrização tendínea experimental em cães (Canis familiaris)**. 1998. 63f. Dissertação (Mestrado em Patologia Animal). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1998.

HEDELIN, H.; LUNDHOLM, K.; TEGER-MILLSON, A.C.; PETERSON, H.I.; PETTERSSON, S. Influence of local fibrin deposition on granulation tissue formation. A biochemical study in the rat. **European Surgical Research**, Basel, v.15, n.6, p.312-316, 1983.

JOHNSTON, D.E. Tendons, skeletal muscles, and ligaments in health and disease. In: NEWTON, C.D.; NUNAMAKER, D.M. **Textbook of small animal orthopaedics**. Philadelphia: Lippincott, 1985. p.65-76.

JONES, M.E.; BURNETT, S.; SOUTHGATE, A.; SIBBONS, P.; GROBBELAAR, A.O.; GREEN, C.J. The role of human-derived fibrin sealant in the reduction of postoperative flexor tendon adhesion formation in rabbits. **Journal of Hand Surgery (Br)**, Edinburgh, v.27, n.3, p.278-282, 2002.

LUSARDI, D.A.; CAIN, J.E.Jr. The effect of fibrin sealant on the strength of tendon repair of full thickness tendon lacerations in the rabbit Achilles tendon. **The Journal of Foot and Ankle Surgery**, Towson, v.33, n.5, p.443-447, 1994.

MADDEN, J.W. Current concepts of wound healing as applied to hand surgery. **Orthopedic Clinics of North America**, Philadelphia, v.1, n.2, p.325-334, 1970.

MATTHEWS, P.; RICHARDS, H. Factors in the adherence of flexor tendons after repair: an experimental study in the rabbit. **Journal of Bone and Joint Surgery (Br)**, London, v.58, n.2, p.230-236, 1976.

MORAES, J.R.E.; FERRARO, G.C.; SHIMANO, A.C.; BUENO DE CAMARGO, M.H.; MORAES, F.R. Propriedades mecânicas de três padrões de sutura no reparo de tendão do músculo flexor profundo do dedo em eqüinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v.39, n.2, p.97-102, 2002. Disponível em: <www.scielo.br>.

NESSLER, J.P.; AMADIO, P.C.; BERGLUND, L.J.; AN, K.N. Healing of canine tendon in zones subjected to different mechanical forces. **Journal of Hand Surgery (Br)**, Edinburgh, v.17, n.5, p.561-568, 1992.

PAAR, O.; BERNETT, P. Therapy of Achilles tendon rupture in athletes advantages of fibrin gluing. **Fortschritte der Medizin**, Munchen, v.102, n.43, p.1106-1108, 1984.

PACHER, D.L.; DOMBI, G.W.; YU, P.Y.; ZIDEL, P.; SULLIVAN, W.G. An in vitro model of fibroblast activity and adhesion formation during flexor tendon healing. **Journal of Hand Surgery (Am)**, Saint Louis, v.19, n.5, p.769-776, 1994.

PALMES, D.; SPIEGEL, H.U.; SCHNEIDER, T.O.; LANGER, M.; STRATMANN, U.; BUDNY, T.; PROBST, A. Achilles tendon healing: long-term biomechanical effects of postoperative mobilization and immobilization in a new mouse model. **Journal of Orthopaedic Research**, New York, v.20, n.5, p.939-946, 2002.

PEACOCK, E.E.; VAN WINKLE, W. **Wound repair**. 3.ed. Philadelphia: WB Saunders, 1984. p.263-278.

PRUITT, D.L.; AOKI, M.; MANSKE, P.R. Effect of suture knot location on tensile strength after flexor tendon repair. **Journal of Hand Surgery (Am)**, Saint Louis, v.21, n.6, p.969-973, 1996.

RAISER, A.G. **Homoimplante ortotópico de tendão calcâneo comum, preservado em glicerina a 98%, e tratado com radiação laser Arseneto de Gálio, sob dois métodos de imobilização em cães**. 2000. 88f. Tese (Doutorado em Cirurgia). Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2000.

RAISER, A.G. Reparação do tendão calcâneo em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.2, p.351-359, 2001.

RUPP, G. Die fibringlebte Achillessehnenruptur. In: COTTA, H.; BRAUN, A. **Fibrinkleber in orthopädie und traumatologie**. Stuttgart: Thieme-Verlag, 1982, p.140.

RUPP, G.; STEMBERGER, A. Treatment of fresh ruptures of the Achilles tendon with resorbable suture materials and a fibrin adhesive. **Medizinische Welt**, Stuttgart, v.29, n.19, p.796-798, 1978.

SAS INSTITUTE. **SAS/SAT User's guide** - version 6. Cary: NC, 1995.

SCHMITT, I.; RAISER, A.G.; GRAÇA, D.L. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v.30, n.2, p.145-149, 1993.

SILVA, M.J.; BOYER, M.I.; GELBERMAN, R.H. Recent progress in flexor tendon healing. **Journal of Orthopaedic Science**, Tokyo, v.7, n.4, p.508-514, 2002.

THERMANN, H.; FRERICHS, O.; BIEWENER, A.; KRETTEK, C. Healing of the Achilles tendon: an experimental study. **Foot and Ankle International**, Baltimore, v.22, n.6, p.478-483, 2001.

THERMANN, H.; FRERICHS, O.; HOLCH, M.; BIEWENER, A. Healing of Achilles tendon, an experimental study: part 2--Histological, immunohistological and ultrasonographic analysis. **Foot and Ankle International**, Baltimore, v.23, n.7, p.606-613, 2002.

THERMANN, H.; FRERICHS, O.; BIEWENER, A.; KRETTEK, C.; SCHANDELMEIER, P. Functional treatment of acute Achilles tendon rupture. An experimental biomechanical study. **Archiv Orthopädische Unfallchirurgie**, Berlin, v.98, n.10, p.507-513, 1995.

THERMANN, H.; BECK, A.; HOLCH, M. BIEWENER, A.; BOSCH, U.; FRERICHS, O. Functional treatment of acute Achilles tendon rupture. A histological, immunohistological and ultrasonographic analysis of the animal model. **Archiv Orthopadische Unfallchirurgie**, Berlin, v.102, n.6, p.447-457, 1999.

THYREGOD, H.C.; SKOJOLDBORG, H. Fibrin adhesion system in the treatment of ruptured tendo Achilles. In: SCIENTIFIC WORKSHOP, 82., 1983, Denmark. **Proceedings...** Denmark, 1983. p.58.

VOLLMAR, D. Kombination fibrinklebung mit chirurgischer naht bei Achillessehnenruptur. In: COTTA, H.; BRAUN, A. **Fibrinkleber in orthopadie und traumatologie**. Stuttgart: Thieme-Verlag, 1982, p.138.

WANG, D.E. Tendon repair. **Journal of Hand Therapy**, Philadelphia, v.11, n.2, p.105-110, 1998.

WOO, S.L.-Y.; GELBERMAN, R.H.; COBB, N.G.; AMIEL, D.; LOTHINGER, K.; AKESON, W.H. The importance of controlled passive mobilization on flexor tendon healing. A biomechanical study. **Acta Orthopaedica Scandinavica**, Copenhagen, v. 52, n.6, p.615-622, 1981.