

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

**UTILIZAÇÃO DA BIOMEMBRANA DE LÁTEX DE
SERINGUEIRA (*Hevea brasiliensis*) EM LESÕES
DIAFRAGMÁTICAS DE COELHOS – ESTUDO
EXPERIMENTAL**

**Milena Friolani
Médica Veterinária**

**JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
2008**

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

**UTILIZAÇÃO DA BIOMEMBRANA DE LÁTEX DE
SERINGUEIRA (*Hevea brasiliensis*) EM LESÕES
DIAFRAGMÁTICAS DE COELHOS – ESTUDO
EXPERIMENTAL**

Milena Friolani

Orientador: Prof. Dr. Carlos Roberto Daleck

Co-orientador: Prof. Dra. Cláudia Sampaio Fonseca Repetti

**Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias, UNESP, Campus de
Jaboticabal, como parte das exigências para a
obtenção do Título de Mestre em Cirurgia
Veterinária (Cirurgia Veterinária).**

**JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
2008**

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

MILENA FRIOLANI – nascida em 19 de setembro de 1974, em Mauá, São Paulo, SP, é médica veterinária formada pela Universidade de Marília – UNIMAR, Marília – SP, em 29 de dezembro de 2002. Em 31 de janeiro de 2003, iniciou o Programa de Residência em Medicina Veterinária, na área de Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais, sob orientação do Prof. Dr. Celso Sanches Bracciali, junto ao Hospital Veterinário “Dr. Vicente Borelli” da Universidade de Marília – UNIMAR, na qual concluiu em 31 de janeiro de 2005. Em agosto de 2006, após aprovação em curso de seleção, iniciou o Programa de Pós-graduação em Cirurgia Veterinária, área de concentração em CIRURGIA VETERINÁRIA, Curso de Mestrado, na FCAV, UNESP, Campus de Jaboticabal, sob a orientação do Prof. Dr. Carlos Roberto Daleck.

Dedico e ofereço este trabalho

À minha mãe Suely e ao meu pai Armando, minhas estrelas guia, anjos que Deus colocou ao meu redor, incentivando-me, compartilhando da minha jornada, mesmo à distância, alimentando meus ideais.

À minha querida irmã Silmara pelo apoio, carinho, motivação, participação em todos os momentos de minha vida.

À minha tia Miriam pelo amor, carinho, estando sempre ao meu lado mesmo longe.

À minha avó Elide, minha segunda mãe, saudades por não estar mais entre nós, mas sei que sua luz continua iluminando meu caminho.

Ao “meu” André, que me fez acreditar mais ainda que Deus coloca em minha vida momentos especiais e pessoas abençoadas, pois com seu amor, alegria, companheirismo, carinho, mostrou paciência, compreensão e dedicação.

Aos animais, em especial aos coelhos do projeto, na qual dedico com prazer, a maior parte dos meus dias, pedindo sempre a Deus sabedoria e inteligência, tentando fazer desta forma sempre o melhor.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por conceder momentos e pessoas maravilhosas ao meu lado, e proporcionar alegria, felicidade, paz, mesmo nas horas mais difíceis.

Ao Prof. Dr. Carlos Roberto Daleck, pela orientação, compreensão quanto à minha ausência, e dedicação aceitando ser meu orientador.

À Prof^a Dr^a Cláudia Sampaio Fonseca Repetti, pois além da orientação, apoio, posso dizer hoje, amiga, sempre me apoiando nos momentos que mais precisei.

Ao Prof. Dr. Joaquim Coutinho Netto, pela sua simpatia, carisma, estímulo ao projeto, cedendo gentilmente parte do material.

Ao Prof. Carlo Rossi D' Carratore, na qual proporcionou a oportunidade de desenvolver o projeto, com todo seu apoio em relação aos animais e ao espaço.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Alessi, pela valiosa contribuição, apoio na conclusão das lâminas deste estudo.

À Prof^a Márcia Machado pela sua gentileza, sabedoria e esclarecimentos junto ao projeto desenvolvido.

Ao funcionário Gerson, sempre prestativo, atencioso ao cuidar e separar os animais utilizados no projeto.

À Prof^a Ariádine Augusta Maianti, que com toda sua alegria, simpatia, gentilmente anestesiou os animais.

Ao Prof. Dr. Alexandre Hataka acompanhando-me desde a vida acadêmica, tendo papel importante em minha formação profissional, e contribuindo muito com sua gentileza e sabedoria no esclarecimento do material histopatológico.

À residente Mônica, auxiliando, contribuindo para o desenvolvimento do projeto.

Às amigas Adriana, Melissa e Milena, pela presença em todos os momentos de minha vida.

Aos amigos da Pós graduação, pela compreensão, companheirismo quanto à minha ausência na maior parte dos dias no atendimento.

Às amigas Camila, Roberta, Vanessa, Sabrina “Recife”, Sabrina “Curitiba”, Simone, Paty, na qual passei e continuo passando momentos agradáveis.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Centro Clínico Veterinário, Dr^o Celso, Juliano, Célia, Tiago, Kátia, Lidiane e Cristiane, pelo apoio quando precisava ausentar-me, nas ajudas nos dias das cirurgias, na dedicação no desenvolvimento do projeto.

Aos amigos de Marília, pelo apoio em nunca desistir.

Aos funcionários do Hospital Veterinário da Universidade de Marília, pela simpatia, carinho, e ajuda no preparo dos animais.

Às funcionárias do Departamento de Patologia da Unesp – Jaboticabal, pelo carinho no preparo do material histopatológico.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista – Campus de Jaboticabal, em especial ao programa de Pós-Graduação em Cirurgia Veterinária pela oportunidade.

À Universidade de Marília, por ceder o Setor de Cunicultura, na qual os animais permaneceram instalados durante todo projeto.

Ao Hospital Veterinário “Vicente Borelli”, pelo espaço cedido para realização de parte do projeto.

A todos os que contribuíram para o desenvolvimento do projeto.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
RESUMO.....	xiii
SUMMARY.....	xiv
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	11
3.1 Animais.....	11
3.2 Biomembrana de látex.....	11
3.3 Procedimento cirúrgico.....	11
3.3.1 Pré-operatório.....	11
3.3.2 Trans-operatório.....	12
3.3.3 Pós-operatório.....	17
3.4 Critérios de avaliação.....	17
3.4.1 Avaliação clínica.....	17
3.4.2 Exame macroscópico.....	17
3.4.3 Exame microscópico.....	18
4. RESULTADOS.....	19
4.1 Avaliação clínico-cirúrgico.....	19
4.2 Aspectos macroscópicos.....	19
4.3 Aspectos microscópicos.....	26
5. DISCUSSÃO.....	33
6. CONCLUSÕES.....	38
7. REFERÊNCIAS.....	39
8. ANEXO.....	47

LISTA DE ABREVIATURAS

- BML:** biomembrana de látex
EICE: espaço intercostal esquerdo
EICD: espaço intercostal direito
IV: via intravenosa
HE: hematoxilina e eosina
IM: via intramuscular
MN: mononucleares
PMN: polimorfonuclear neutrófilos
SC: via subcutânea
TM: tricômio de Masson

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1	Fotografia da face lateral direita do tórax incisada, onde se observa parte da “Pars muscularis” do diafragma de coelho delimitada para posterior excisão (seta vermelha).....	13
Figura 2	Fotografia da face lateral direita do tórax incisada, onde se observa lesão induzida cirurgicamente após excisão de um segmento de parte da “ <i>Pars muscularis</i> ” do diafragma de coelho (seta vermelha).....	14
Figura 3	Fotografia da face lateral direita do tórax incisada, onde se observa a fixação da biomembrana de látex natural à lesão induzida de parte do diafragma de coelho por meio de quatro pontos de sustentação (seta vermelha).....	15
Figura 4	Fotografia da face lateral direita do tórax incisada, onde se observa o aspecto final da sutura contínua com poliglactina 910 / 3.0, fixando a biomembrana de látex natural à lesão induzida de parte do diafragma de coelho (seta vermelha).....	16
Figura 5	Aspecto macroscópico da região do implante da biomembrana de látex em diafragma de coelho, face abdominal quinze dias após a cirurgia. Observa-se presença de neoformação tecidual recobrindo a periferia do enxerto (seta azul).....	21
Figura 6	Aspecto macroscópico da região do implante da	

	biomembrana de látex em diafragma de coelho, onde se observa presença de secreção purulenta, em apenas um animal eutanasiado do grupo I, ao 15º dia (seta azul).....	22
Figura 7	Aspecto macroscópico da região do implante da biomembrana de látex em diafragma de coelho, face torácica trinta dias após a cirurgia. Observa-se maior retração da área de implante (seta azul).....	23
Figura 8	Aspecto macroscópico da região do implante da biomembrana de látex em diafragma de coelho, face abdominal sessenta dias após a cirurgia. Observa-se aderência do implante ao fígado (seta azul).....	24
Figura 9	Aspecto da região do implante da biomembrana de látex em diafragma de coelho, face torácica noventa dias de pós-cirúrgico. Observa-se aderência do enxerto ao pulmão (seta azul).....	25
Figura 10	Em A - Aspecto microscópico da região de implante da biomembrana de látex em diafragma de coelho, quinze dias de pós-cirúrgico. Observam-se células inflamatórias em profusão, tanto polimorfonuclear neutrófilos (PMN) quanto mononucleares (MN) (seta azul). HE, obj. 20x. Em B – Mesmo caso descrito em A, no entanto, com aumento de 100x. TM (seta amarela).....	28
Figura 11	Em A - Aspecto microscópico da região de implante da biomembrana de látex em diafragma de coelho, trinta	

	dias de pós-cirúrgico. Observam-se poucas células inflamatórias, predominando os MN (seta vermelha). TM, obj. 20x . Em B – Mesmo caso descrito em A, no entanto, com aumento de 100x. TM (seta amarela).....	29
Figura 12	Em A - Aspecto microscópico da região de implante da biomembrana de látex em diafragma de coelho, quarenta e cinco dias de pós-cirúrgico. Notam-se poucas células inflamatórias, encontrando-se células MN (seta vermelha) em focos ou dispersas. HE, obj. 20x. Em B – Células mononucleares dispersas, com aumento de 100x. TM (seta amarela).....	30
Figura 13	Em A - Aspecto microscópico da região de implante da biomembrana de látex em diafragma de coelho, sessenta dias de pós-operatório. Observa-se perfeita disposição paralela de fibras acompanhando a membrana implantada. A quantidade de células MN (seta vermelha) é reduzida e a disposição das células é difusa. HE, obj. 20x. Em B – Células mononucleares reduzidas, com aumento de 100x. HE (seta amarela).....	31
Figura 14	Em A - Aspecto microscópico da região de implante da biomembrana de látex em diafragma de coelho, noventa dias de pós-cirúrgico. Observa-se o limite da membrana deixando o tecido cicatricial com uma superfície perfeitamente definida (seta vermelha), fibroblastos e colágeno (seta amarela). Raras células MN são encontradas dispersas. TM, obj. 20x. Em B – Superfície definida, fibroblastos e colágenos com aumento de 100x.	

TM (seta amarela).....	32
------------------------	----

UTILIZAÇÃO DA BIOMEMBRANA DE LÁTEX DE SERINGUEIRA (*Hevea brasiliensis*) EM LESÕES DIAFRAGMÁTICAS DE COELHOS – ESTUDO EXPERIMENTAL

RESUMO – Tendo em vista as propriedades de aceleração do processo cicatricial com utilização da biomembrana de látex, este trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento de retallo de biomembrana natural de látex, em lesões diafragmáticas induzidas experimentalmente em coelhos. Utilizaram-se 15 coelhos sadios, raça Nova Zelândia, adultos, machos e fêmeas, tendo como acesso ao diafragma, o 8º espaço intercostal direito. Os animais foram divididos, aleatoriamente, em cinco grupos experimentais de três cada, e avaliados diariamente desde o dia da cirurgia até a eutanásia, quanto ao comportamento, frequência respiratória e cardíaca, cicatrização externa. Os animais foram eutanasiados aos 15, 30, 45, 60 e 90 dias de pós cirúrgico, obtendo-se uma avaliação macroscópica e microscópica do conjunto diafragma/enxerto. Todos os animais apresentaram evolução clínica satisfatória. Macroscopicamente, em todos os grupos experimentais observou-se boa cicatrização na região do implante, com exceção de um dos animais eutanasiados aos quinze dias. Após quinze dias, houve neoformação tecidual, e após trinta dias do ato operatório, em todos animais observou-se aderência do fígado e do pulmão na área de implante. As observações clínico-cirúrgicas complementadas pela análise das alterações histológicas, permitiram concluir pela indicação do emprego da membrana de látex em lesões diafragmáticas reparadoras, em razão da facilidade de obtenção, custo baixo, fácil aplicabilidade, resistência e resposta satisfatória em relação ao tempo de cicatrização.

Palavras-chave: biomembrana, látex, diafragma, coelho, implante, cicatrização.

THE USE OF RUBBER TREE LATEX BIO-MEMBRANE (*Hevea brasiliensis*) IN DIAPHRAGMATIC LESION IN RABBITS – AN EXPERIMENTAL STUDY

SUMMARY – Having in mind the acceleration properties of the cicatricial process by using the latex bio-membrane, the present paper was aimed at evaluating the behavior of the natural latex bio-membrane flap in diaphragmatic lesions experimentally induced in rabbits. Fifteen healthy New Zealand rabbits, adults, males and females were used, having the eighth right intercostal space as an access to the diaphragm. The animals were randomly assigned to five experimental groups, each with three rabbits. They were evaluated daily from the day of surgery to the day of euthanasia in relation to behavior, respiratory and cardiac frequencies and external cicatrization. The animals were euthanized in 15, 30, 45, 60 and 90 days after the surgery and it was obtained a macroscopic and microscopic evaluation of the set diaphragm/graft. All rabbits presented a satisfactory clinical evolution. Macroscopically, in all experimental groups it was observed a good cicatrization of the implant region, except for one animal that was euthanized in 15 days. After fifteen days, there was tissular neo-formation and thirty days after surgery in all animals it was observed the adherence of the liver and lungs in the implant area. The clinical surgical observations complemented by the analysis of histological alterations allowed the conclusion in favor of the indication of using the latex membrane in reparative diaphragmatic lesions because of the easy obtainment, low cost, easy applicability, resistance, and satisfactory response in relation to the cicatrization time.

Key words: bio-membrane, latex, diaphragm, rabbit, implant, cicatrization

1 INTRODUÇÃO

A incidência de hérnia diafragmática em pacientes veterinários é relativamente alta (MAZZANTI et al. 2001), sendo encontrada com frequência na rotina hospitalar de pequenos animais (TOULOUKIAN, 1978). As principais lesões no músculo diafragma, são causadas por traumatismos (LEVINE, 1987; HOSGOOD, 1996; BURTON & WHITE, 1997), cujo agente indutor são principalmente os acidentes automobilísticos (WILSON & HAYES, 1986).

Pelo fato da alteração presente nas rupturas diafragmáticas ser de natureza anatômica, o tratamento cirúrgico é o único indicado (RAISER, 1993; HAGE & IWASAKI, 2001). Na maioria das vezes as correções da ferida diafragmática de pequena extensão são executadas cirurgicamente por meio de suturas por aproximação das bordas da ferida (SPEIRS & REYNOLDS, 1976).

Quando há ausência ou perda tecidual tanto de origem congênita quanto traumática (JOHNSON, 1998), impedindo a aproximação das bordas do defeito, é indicada a utilização de implantes biológicos ou sintéticos (LEVINE, 1987; SWEET & WATERS, 1991; MAZZANTI et al., 2001), pois a aproximação por primeira intenção pode ocasionar tensão na linha de sutura e conseqüentemente deiscência da ferida (EURIDES et al. 1994). Grandes defeitos como necrose decorrente de infecção, traumatismo, extensa ressecção do músculo por neoplasia, e nas hérnias crônicas, a contração muscular e retração cicatricial não permitem aproximação das bordas para a síntese, sendo indicada hernioplastia (BARREIROS et al. 1996).

O tecido biológico, sempre que possível, deve ser o escolhido por apresentar certas vantagens quando comparado a outros materiais, principalmente a de permitir que o implante seja incorporado ao organismo receptor (DALECK et al. 1988), ou servir de suporte temporário para o processo cicatricial caracterizado basicamente pela formação de tecido conjuntivo fibroso (HUTSON & AZMY, 1985).

Os materiais sintéticos têm sido empregados, entre eles o látex. O látex da seringueira desde muito tempo é utilizado para fins industriais. A biomembrana de látex com finalidade terapêutica é confeccionada com o látex extraído da seringueira (*Hevea brasiliensis*), e banhada com polilisina, policação que aumenta a permeabilidade e o fluxo microvascular, apresenta importantes propriedades biológicas, tais como: atividade neoangiogênica, promoção de adesão celular e formação de matriz celular (MRUÉ, 1996), acelerando a reparação, proporciona sensível abreviação no tempo de tratamento com substancial vantagem econômica e de qualidade de vida (MRUÉ, 2000), também possui a vantagem de menor risco de transmissão de doenças em relação aos materiais provenientes de tecidos animais (MUGUERZA et al. 1996). Desenvolvida pelo Prof Dr Joaquim Coutinho Netto no Laboratório de bioquímica da Faculdade de Medicina da USP de Ribeirão Preto/SP e, no ano de 1996, foi reportado o primeiro resultado da utilização experimental como substituto do esôfago cervical de cães (MRUÉ, 1996).

O presente trabalho tem por objetivo avaliar o comportamento de retalho de biomembrana natural de látex em lesões diafragmáticas induzidas experimentalmente em coelhos. Desta forma, foram realizados exames macroscópicos e microscópicos da área de enxertia em diferentes tempos de pós-operatório.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O material considerado ideal para ser utilizado em enxertos, deve ser de baixo custo de produção, fácil manipulação, promover crescimento dos tecidos do hospedeiro, permitir que o tecido cicatricial tenha força igual do tecido normal, ser resistente às infecções, não induzir resposta inflamatória exacerbada, não promover a formação de aderências e fístulas e não ter suas características físicas alteradas pelos líquidos tissulares, tendo ainda que ser flexível, inerte, poroso e resistente (CERISE et al. 1974).

SCHAIRES & KEELEY (1957) usaram experimentalmente o enxerto homólogo de fáscia lata no reparo de defeitos diafragmáticos em cães, verificando reação inflamatória com presença de fibrina e infiltração celular no local do enxerto por curto período de tempo, ocluindo totalmente o defeito provocado.

RODGERS et al. (1981) utilizando dura-máter humana esterilizada em solução de betapropiolactona a 1%, conservada em solução salina plasma, verificaram reconstituição do diafragma, mediante formação de fibras colágenas na área de implantação. O enxerto foi bem tolerado pelo tecido receptor e manteve resistência por prolongado período de tempo.

Utilizando segmento de omento pediculado para reparação de rupturas diafragmáticas em cães, BRIGHT & THACKER (1982) observaram cicatrização na região do implante com total vedação do defeito diafragmático.

Testando pericárdio de bovino e suíno conservado em solução de glutaraldeído para reparação de defeitos diafragmáticos em cães, GALLO et al. (1982) verificaram boa vedação do defeito, após acessarem o diafragma de nove cães pelo 7º espaço intercostal direito e em seis cães, pelo esquerdo. Fixaram em quatro cães um segmento de pericárdio bovino e, em onze cães, pericárdio suíno, onde histologicamente observou-se a presença de camada de tecido conjuntivo sobre o implante nos dois grupos experimentais.

Para corrigir hérnias diafragmáticas crônicas em cães, HELPHREY (1982) utilizaram enxerto pediculado do músculo transverso do abdome e peritônio, observando integração do tecido com o diafragma.

Utilizando implante de segmento de peritônio bovino conservado em glicerina, DALECK et al. (1988) detectaram substituição do segmento peritoneal por tecido conjuntivo fibroso, na restauração de um retalho diafragmático em cães.

O uso do pericárdio de eqüino conservado em glicerina a 98% em cão foi estudado por RANZANI et al. (1990), onde depois de 60 dias observou-se restauração do diafragma com diminuição progressiva do implante em solução de continuidade no segmento muscular. O enxerto não desencadeou manifestações clínicas nos animais operados, sendo eficaz na obstrução da lesão induzida. O fragmento implantado permitiu a neoformação de membrana fibrosa, não restringindo a função diafragmática.

EURIDES et al. (1994) utilizando segmento de peritônio muscular autólogo para reparo de defeito de diafragma em cão, verificaram total substituição do implante de músculo diafragmático por tecido de granulação, caracterizando o processo cicatricial.

MATSUMOTO et al. (1996) utilizaram pericárdio homólogo de cão conservado em compostos de polipoxy, notando boa oclusão do defeito diafragmático em cães, e infiltração por tecido conjuntivo, fibroblastos e células inflamatórias na área de implantação.

MAZZANTI et al. (2001) observaram o comportamento do músculo diafragma homólogo conservado em solução supersaturada de açúcar a 300%, para reparação de defeito no diafragma de cão, verificando que as fibras musculares do implante foram quase totalmente substituídas por tecido de granulação, com união das bordas do defeito diafragmático.

Doze gatos domésticos, adultos, sem raça definida, foram utilizados por PINTO et al. (2003), para avaliar o uso do enxerto autólogo de pericárdio para correção de defeitos diafragmáticos, foi observado nos animais do grupo de trinta dias pós cirúrgico, substituição parcial e no grupo de sessenta dias pós cirúrgico,

substituição total do enxerto por tecido fibrovascular, permitindo o restabelecimento completo do diafragma. Macroscopicamente verificaram presença de aderência na cavidade torácica, com pulmão e pleura parietal e, na cavidade abdominal, com o fígado e omento, sem comprometimento clínico das estruturas envolvidas, concluindo então, que o enxerto autólogo de pericárdio de felino pode ser utilizado na reparação de defeitos diafragmáticos, pois suporta a diferença de pressão presente, sendo substituído por tecido cicatricial, sem apresentar sinais clínicos e histológicos de rejeição.

Criando um defeito na porção muscular do hemidiafragma esquerdo, MAZZANTI et al. (2003) avaliaram em sete cães o processo cicatricial do músculo diafragma na presença do implante de pericárdio bovino conservado em solução supersaturada de açúcar a 300%. Acessaram o 8º espaço intercostal esquerdo, fixando com fio poliamida nº 3.0, por meio de sutura simples contínua. Os animais na avaliação radiográfica apresentaram silhuetas diafragmáticas e cardíacas, sem evidências de vísceras abdominais no interior do tórax. Macroscopicamente, formou-se tecido conjuntivo fibroso semi-transparente, ocluindo o defeito diafragmático, sendo assim, o segmento de pericárdio bovino conservado em solução supersaturada de açúcar a 300%, em temperatura ambiente, foi substituído por uma fina camada de tecido conjuntivo fibroso promovendo a restauração do defeito no músculo diafragma.

FARIA et al. (1999) observaram que o músculo reto do abdome pediculado é indicado para correção de defeitos no músculo diafragma, havendo completa integração tecidual, apresentando apenas limitação quanto à sua largura, não podendo ser usado em defeitos largos, quanto ao comprimento, é um músculo longo o suficiente para corrigir defeitos dorso-craniais do diafragma através da cavidade abdominal.

MRUÉ (1996) substituiu o esôfago cervical em cães com o biomaterial de látex, evidenciando ser um importante indutor de cicatrização de paredes esofágicas lesadas, além da neoangiogênese, epiteliação, neoformação glandular submucosa e de fibras musculares.

SADER et al. (2000) estudaram o comportamento da membrana de látex natural como substituto parcial do pericárdio em dezesseis cães mestiços distribuídos em três grupos, no grupo A, o retalho de pericárdio foi removido e reimplantado imediatamente, no grupo B, o retalho substituído por outro, de látex natural, com área equivalente e espessura de 0,3mm, e o grupo C, um retalho de látex de 0,7mm de espessura, utilizou-se fio de polipropileno 5.0 ou 6.0, com sutura contínua. Tais autores afirmaram que a membrana de látex mostrou-se satisfatória para a substituição parcial do pericárdio de cães, propiciando regeneração do pericárdio nativo.

MENTE et al. (2001) implantaram a biomembrana de látex natural com e sem polilisina a 0,01% no subcutâneo de quatro ratos normais e em quatro ratos diabéticos, objetivando a indução da neovascularização e biocompatibilidade no local do implante. O transplante de pâncreas e de ilhotas pancreáticas vem apresentando grande desenvolvimento, o isolamento das ilhotas em cápsulas com membrana semi-permeável pode ser tratamento de escolha para o diabetes, dispensando o uso de imunossupressores. Quanto aos aspectos macroscópicos após vinte e um dias, os dois tipos de membranas mostraram-se biocompatíveis com o organismo nos animais diabéticos e normais, observando aumento da vascularização local, não havendo aderências com o tecido adjacente, onde a membrana era facilmente removível. Histologicamente houve formação de epitélio com células alongadas lembrando endotélio, e infiltrado mononuclear, discreta fibrose e aumento moderado da quantidade de capilares.

Utilizando a biomembrana de látex natural com polilisina como implante transitório para o fechamento da perfuração da membrana timpânica em 238 orelhas com perfuração de membrana timpânica por sequela de otite média crônica, OLIVEIRA et al. (2003) observaram a interação do material, biocompatibilidade, presença de reações alérgicas, possibilidade do uso da biomembrana como implante transitório em miringoplastias e a neovascularização. Ressaltaram a exuberante vascularização e hiperemia do enxerto e da membrana timpânica remanescente, também o sucesso do fechamento da perfuração,

verificado em 90,5% dos pacientes, e finalizando o tempo médio de fechamento das perfurações, sendo de 28 dias, com dois meses as membranas timpânicas já se mostravam normais.

PAULO et al. (2005) visando a oclusão do anel herniário perineal em cão, suturaram um fragmento circular de membrana de látex natural com polilisina a 0,1% aos músculos adjacentes utilizando ponto contínuo simples com fio náilon 3.0. A biomembrana permitiu o fechamento do anel, mas necessitou ser removida, deixando uma base tecidual.

Verificando o efeito da biomembrana de látex no processo de reparo da conjuntiva ocular, PINHO et al. (2004) promoveram a retirada de retângulos da conjuntiva nasal superior, de ambos os olhos de quinze coelhos adultos, nos olhos direitos foram implantadas biomembranas de látex com suturas contínuas presas às bordas da lesão cirúrgica. Nos esquerdos foram deixadas as escleras nuas. A sutura utilizada foi contínua com mononáilon 10.0, tendo a biomembrana de látex natural promovido a reconstituição conjuntival, quando comparada ao grupo controle, favorecendo assim a cicatrização conjuntival e a neoangiogênese.

Comparando o implante de membrana de látex da seringueira sem e com polilisina 0,1% e tela de márlax na reparação de defeitos abdominais iatrogênicos em ratos, PAULO et al. (2005) retiraram em bloco um segmento circular de aproximadamente três centímetros da parede muscular abdominal ventral de 31 ratos Wistar, preservando-se a pele. As principais alterações observadas nos grupos tratados com a membrana de látex sem e com polilisina 0,1% foram deiscência (21 animais), e evisceração (dois animais). A eliminação dos implantes nos grupos tratados com látex ocorreu, em média aos 13,8 dias, ocorrendo formação de tecido conjuntivo fibroso, assim como notadas também as aderências viscero-parietais em todos os grupos avaliados.

Avaliando a viabilidade do compósito de látex, poliamida e polilisina a 0,1% como implantes nas hernioplastias umbilicais recidivantes, RABELO et al. (2005) utilizaram doze bovinos, mestiços, machos, realizando a justaposição do compósito sob o anel herniário, sendo utilizado fios de poliamida nº 1, com sutura

em padrão simples contínua. Na colheita de material para histopatologia, observaram que a membrana compósita implantada mantinha seu formato original, não havendo retração ou enrugamento. Notou-se crescimento de tecido conjuntivo fibroso sobre a membrana de látex, poliamida e polilisina a 0,1%, havendo associação entre o tecido conjuntivo neoformado e o tecido muscular adjacente, promovendo assim, adequada estabilidade e reparação cicatricial.

SILVA et al. (2006) propuseram o desenvolvimento de filmes de látex e látex-modificada para utilização como membrana oclusiva em procedimentos de regeneração óssea guiada. A membrana atuando como uma barreira mecânica, impedindo a invasão de tecido epitelial no local da lesão óssea, o que dificulta sua cicatrização. A de látex modificada além da barreira mecânica, também atua como liberador gradativo de substâncias com potencial osteogênico, sendo que foram realizados defeitos em tíbia de quinze coelhos. Concluíram que o látex é um excelente candidato ao processo de cicatrização óssea, apresentando biocompatibilidade e acelerando o processo de reparo, explicado pelo seu poder angiogênico. A flexibilidade e a resistência mecânica contribuíram para o bom desempenho da membrana. Demonstraram também o potencial deste material para uso como sistema liberador gradativo de proteínas.

Tentando desenvolver um novo modelo de prótese vascular microperfurada, confeccionada em tecido recoberto com um composto derivado do látex natural da seringueira, avaliando sua perviedade, trombogenicidade, biocompatibilidade e o processo de cicatrização, além da adaptabilidade, elasticidade, impermeabilidade e possibilidade de sutura, utilizando como controle a prótese de politetrafluoretileno expandido, BRANDÃO et al. (2007) utilizaram quinze cães separados em três grupos. Concluíram então que a prótese de biomembrana de látex demonstrou propriedades mecânicas que favorecem seu uso como substituto vascular, em relação às propriedades biológicas, mostrou-se biocompatível no sistema arterial do cão, apresentando adequada integração tecidual e crescimento endotelial além das regiões de contato com a artéria nas anastomoses, sendo a neoíntima inteiramente revestida por endotélio.

SILVA (2006) utilizou a biomembrana de látex natural em sete cães, provocando um defeito no palato secundário, dos quais cinco foram recobertos com a biomembrana de látex, e os outros dois foram escolhidos como controle e tiveram o fechamento por segunda intenção. Quanto aos aspectos macroscópicos três dos animais que receberam biomembrana, mostraram fechamento completo do defeito no décimo dia de pós-operatório, nos demais o tempo de fechamento foi prolongado. A biomembrana manteve-se íntegra durante todo período em que permaneceu recobrindo o defeito, não apresentou qualquer tipo de deformação aparente, reação alérgica ou rejeição, sendo assim, a fixação da biomembrana por não necessitar deslocamento tecidual, pouco interferiu na vascularização local e garantiu o aporte sanguíneo necessário para que proporcionasse o reparo.

OLIVEIRA et al. (2007) implantaram um segmento da biomembrana de látex na bexiga de doze coelhos albinos, no intuito de avaliar o processo de reparação tecidual no que se refere a biocompatibilidade, capacidade de reparação e possíveis complicações. Observaram macroscopicamente aderências do peritônio parietal de parte da parede ventral do abdômen, duodeno, jejuno, testículo e ceco, além disso constatou-se a presença de cálculos, no 30º e 60º dias, o implante encontrava-se solto na luz do órgão. Microscopicamente presença de neovasos, infiltrado inflamatório, fibroblastos e áreas com debris celulares.

Testando a biocompatibilidade e resistência de três membranas de látex em seis cadelas, implantando a mesma entre os músculos cutâneo e reto do abdômen, submetendo posteriormente a exames histológicos, alterações clínicas e macroscópicas nas membranas, testes mecânicos de tração para determinação de deformação e resistência, ZIMMERMANN et al. (2007) concluíram que as diferentes formulações para as membranas de látex testadas oferecem resistência apropriada para implantação na reparação da bainha muscular em cães.

SOUSA et al. (2007) estudaram em 64 orelhas de pacientes submetidos à timpanomastoidectomia, o desempenho da biomembrana como uma interface entre o osso cruento e o material de tamponamento, analisando seu papel na epiteliação da neocavidade, sendo 10 orelhas grupo controle e 54 com uso da

biomembrana. O aspecto da neocavidade das 64 orelhas operadas foi avaliado no 14º, 30º e 60º dias de pós-operatório, observando que os pacientes nos quais utilizou-se o material biocompatível houve uma epitelização mais precoce da neocavidade, já com a presença de fibrina a partir do 14º dia.

FUGIMOTO et al. (2007) utilizaram a biomembrana de látex na ferida pós-exenteração orbitária por carcinoma basocelular em paciente de sexo masculino, de 72 anos, com o objetivo de estimular a cicatrização da cavidade orbitária, como apresentou em tratamento de úlceras por flebite crônica, permitindo melhora na vascularização e capacidade de indução angiogênica e consequentemente a reepitelização. Concluíram que a granulação da cavidade orbitária com o uso da biomembrana não mostrou-se satisfatória aos resultados esperados, não sabendo se esse resultado foi devido a grande área para que ocorresse a granulação ou se a membrana não promove a mesma.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Utilizaram-se quinze coelhos, adultos, raça Nova Zelândia, sendo cinco fêmeas e dez machos, com peso variando entre 3,0 e 3,5 Kg, clinicamente sadios, fornecidos pelo setor de cunicultura da Universidade de Marília – UNIMAR. Os animais foram observados clinicamente durante sete dias, e após serem vermifugados, foram mantidos em alojamentos individuais, alimentados com ração balanceada de acordo com as necessidades individuais e receberam água “*ad libitum*”.

Todos os animais foram submetidos a um procedimento cirúrgico induzindo modelo de hérnia diafragmática, através do acesso pelo oitavo espaço intercostal direito. Com a retirada de retalho em formato de disco da porção muscular do diafragma de aproximadamente 1,5 cm de diâmetro, o mesmo foi substituído por membrana de látex.

3.2 BIOMEMBRANA DE LÁTEX

A biomembrana de látex¹ foi doada pelo Professor Doutor Joaquim Coutinho Netto do Departamento de Bioquímica e Imunologia da FMRP-USP.

É fabricada e comercializada pelo laboratório Pele Nova Biotecnologia S/A em caixas de vinte unidades, embaladas individualmente com dimensões de 8x8 cm, esterilizadas em óxido de etileno.

3.3 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

3.3.1 Pré-operatório

Todos os animais foram submetidos a jejum hídrico e alimentar por respectivamente seis e doze horas. Como medicação pré-anestésica aplicou-se

¹Biomembrana de látex – BIOCURE

²Acepromazina – Acepran 0,2%® (Univet)

³Sulfato de morfina – Dolomorf® (União Química)

acepromazina² 0,2% na dose de 2mg/kg, associada a sulfato de morfina³ 10mg na dose de 2mg/kg intramuscular (IM). Quinze minutos após a administração da medicação pré-anestésica, os animais foram induzidos com Thiopental⁴ na dose de 12,5mg/kg endovenoso (IV), permitindo intubação endotraqueal, sendo mantidos sob anestesia inalatória com utilização de halotano⁵ diluído em oxigênio a 100%, em circuito semi-fechado. Todos receberam, por via intravenosa, solução fisiológica 0,9%⁶, durante o procedimento cirúrgico.

3.3.2 Trans-operatório

Os animais foram posicionados em decúbito lateral esquerdo para realização da tricotomia e anti-sepsia da região torácica. A anti-sepsia foi realizada com solução de álcool iodado a 5%.

O acesso ao diafragma foi feito mediante toracotomia pelo 8º espaço intercostal direito. Parte da porção muscular do diafragma foi apresentada pela aplicação de pinças de Allis (Fig. 1), sendo este imediatamente excisado, retirando um retalho em formato de disco de aproximadamente 1,5cm de diâmetro (Fig. 2), o qual foi substituído por um retalho de biomembrana de látex de igual tamanho.

Com a finalidade de se manter bem posicionado o implante e facilitar a sutura (implante/diafragma), com poliglactina 910⁷, número 3-0, foram colocados quatro pontos de sustentação (Fig.3). A sutura entre a biomembrana e diafragma foi efetuada de maneira simples contínua (Fig. 4).

A síntese da cavidade torácica foi realizada com sutura simples em pontos separados com mononáilon⁸ número 2.0, cada ponto sendo colocado entre duas costelas vizinhas, anterior e posterior à incisão. Antes do completo fechamento do tórax, os pulmões foram inflados para se evitar a presença de ar na cavidade torácica e restabelecer-se a pressão negativa intratorácica. Os músculos da região foram suturados através de sutura contínua com fio mononáilon número 2.0. A pele foi suturada com pontos separados e fio mononáilon⁹ 3.0.

⁴Thiopental – Abbott Lab. Do Brasil Ltda

⁵Halotano - Tanohalo® - Cristália

⁶Solução fisiológica 0,9% - Equiplex

⁷Poliglactina 910 – Polycryl 3.0® - Polysuture

⁸Mononáilon 2.0 – Brasuture

⁹Mononáilon 3.0 - Brasuture

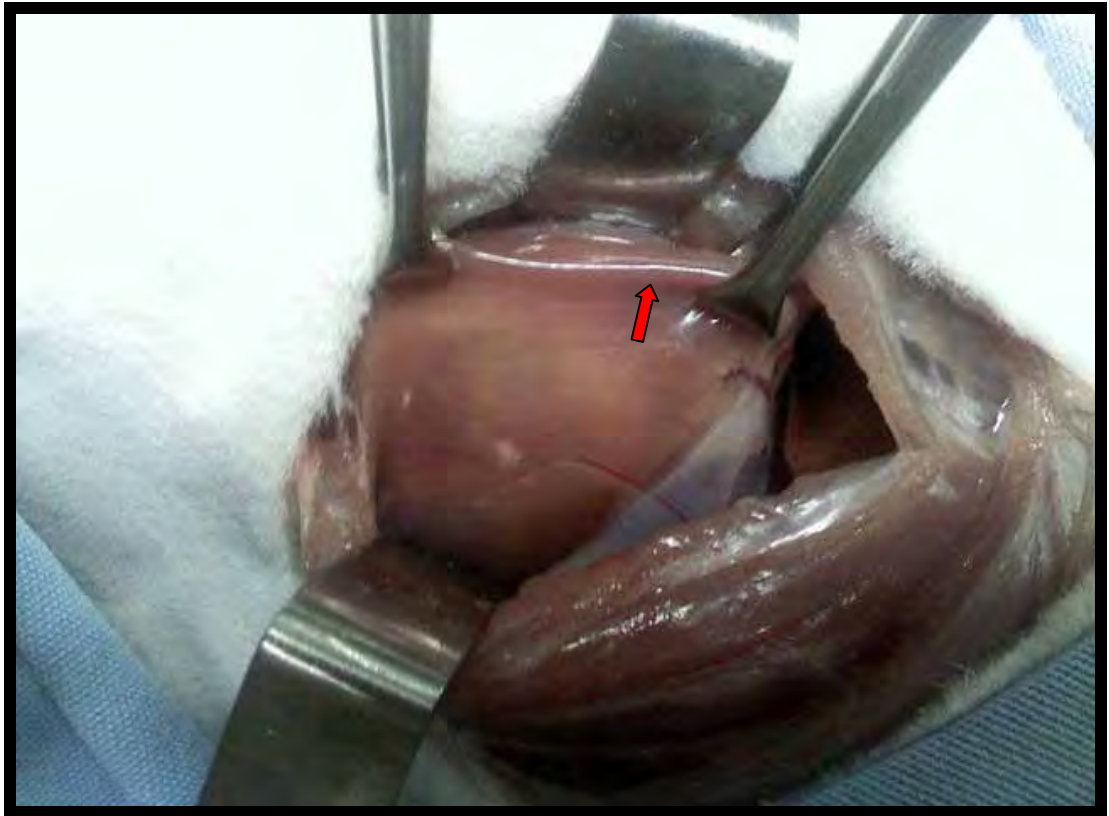


Figura 1: Fotografia da face lateral direita do tórax incisada, onde se observa parte da “Pars muscularis” do diafragma de coelho delimitada para posterior excisão (seta vermelha).

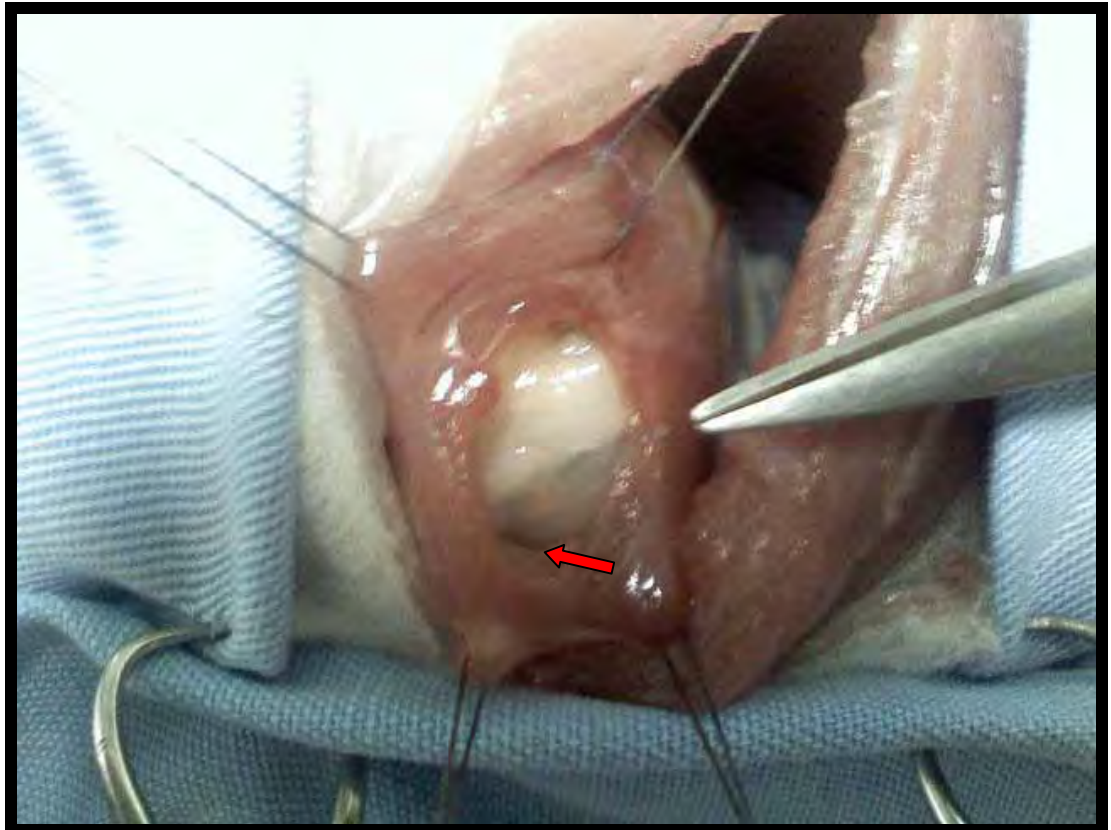


Figura 2: Fotografia da face lateral direita do tórax incisada, onde se observa lesão induzida cirurgicamente após excisão de um segmento de parte da "*Pars muscularis*" do diafragma de coelho (seta vermelha).

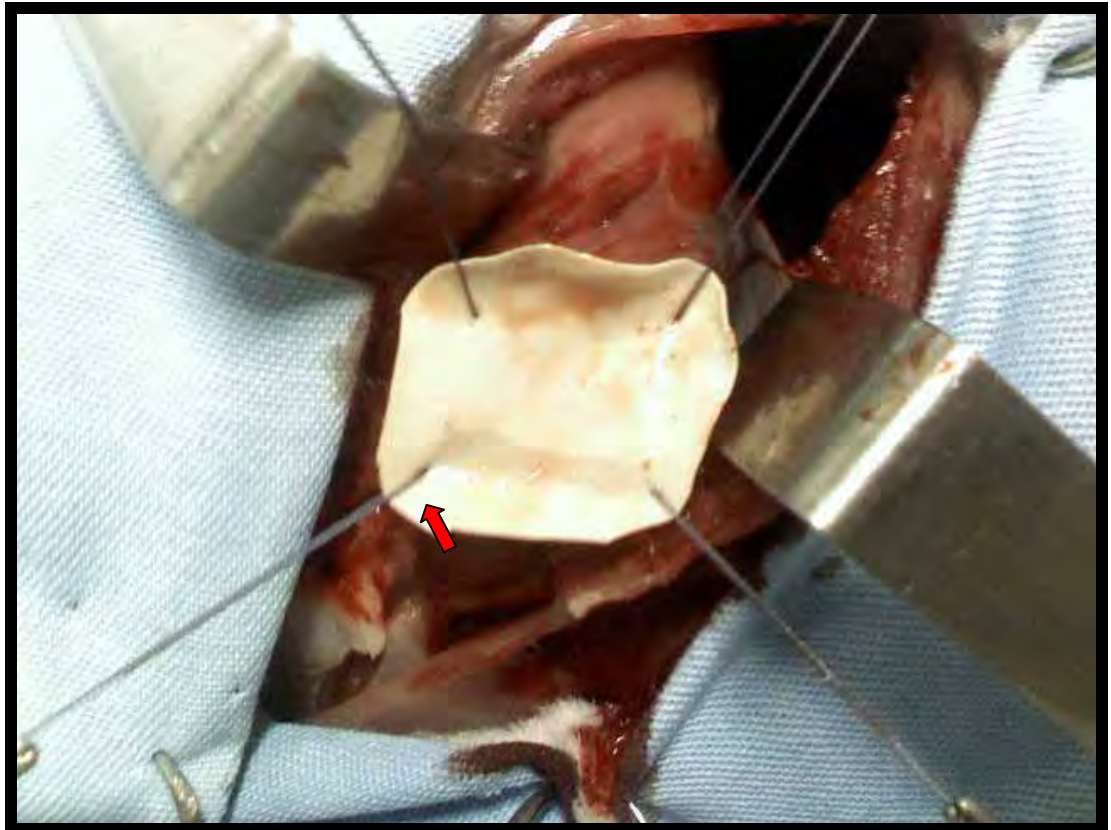


Figura 3: Fotografia da face lateral direita do tórax incisada, onde se observa a fixação da biomembrana de látex natural à lesão induzida de parte do diafragma de coelho por meio de quatro pontos de sustentação (seta vermelha).

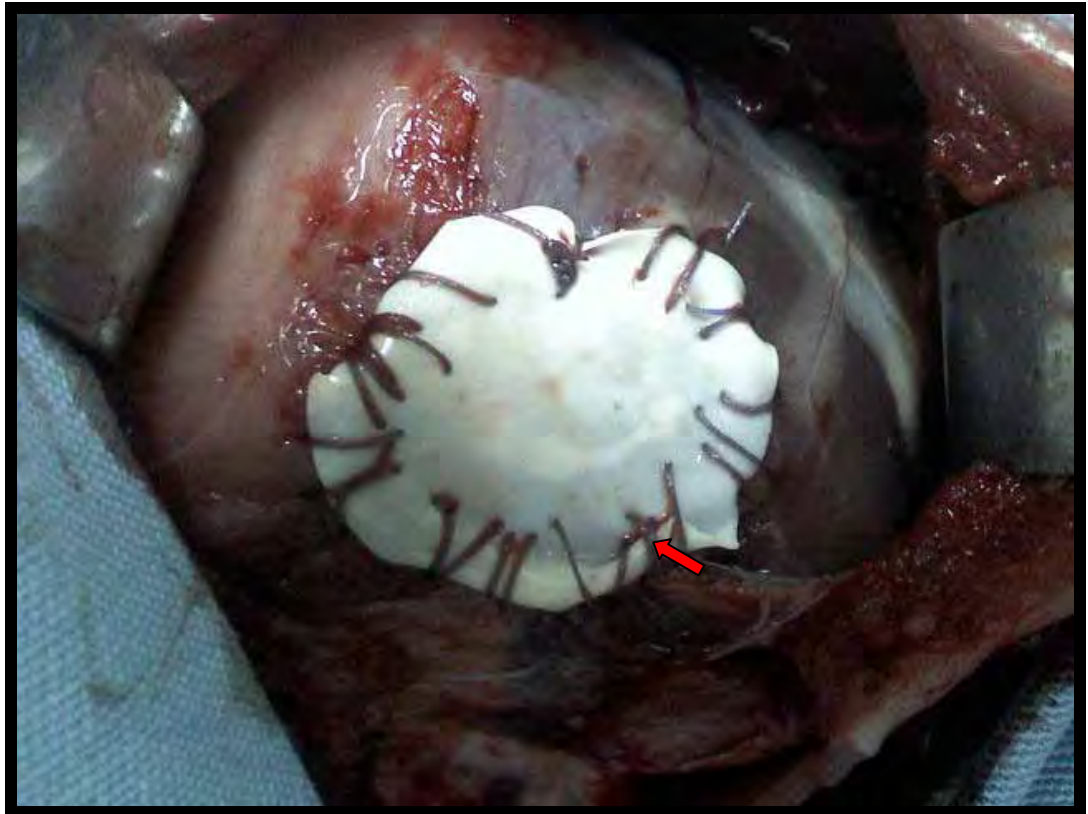


Figura 4: Fotografia da face lateral direita do tórax incisada, onde se observa o aspecto final da sutura contínua com poliglactina 910 / 3.0, fixando a biomembrana de látex natural à lesão induzida de parte do diafragma de coelho (seta vermelha).

3.3.3 Pós-operatório

Todos os animais receberam enrofloxacina¹⁰, na dose de 5mg/kg de peso corpóreo, por via subcutânea (SC) e flunixin meglumine¹¹ por via (SC), na dose de 1,1mg/kg, logo após o término da intervenção cirúrgica, e posteriormente, a cada 24 horas por sete e três dias consecutivos, respectivamente. Como protocolo de controle de dor utilizou-se sulfato de morfina na dose de 2mg/kg, nas primeiras 48 horas. Nesse período realizou-se especial atenção à respiração, e movimentos da parede torácica.

A ferida cirúrgica foi submetida diariamente a curativo local com gaze e solução fisiológica 0,9% durante sete dias, com bandagem compressiva, e após removidos os pontos cutâneos.

A eutanásia foi realizada com a administração de Thiopental na dose de 30mg/kg (IV), e após cloreto de potássio¹² na dose de 100mg/kg (IV). Deste modo os animais do grupo I foram sacrificados ao 15º dia, os do grupo II no 30º dia, os do grupo III no 45º dia, os do grupo IV no 60º dia e os animais do grupo V no 90º dia. No momento da eutanásia foram coletadas amostras do local implantado para exame histopatológico.

3.4 CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO

3.4.1 Avaliação clínica

Todos os coelhos foram observados diariamente durante sete dias até retirada dos pontos e administração do antibiótico, quanto à frequência cardíaca, respiratória e comportamento.

3.4.2 Exame macroscópico

Nos tempos estabelecidos para cada grupo, após a eutanásia, observou-se o local da cirurgia quanto à cicatrização, sutura, coloração, possíveis alterações quanto às vísceras circunvizinhas. tanto do lado abdominal quanto torácico,

¹⁰ Enrofloxacina – Flotril 2,5%® - Schering-Plough

¹¹ Flunixin meglumine – Banamine® - Schering-Plough

¹² Cloreto de potássio 19,1% - Isofarma

relacionados às aderências, aspecto da área de implante, preservação da biomembrana, neoformação tecidual, presença ou não de fístulas, áreas de necrose, secreções e edemas.

3.4.3 Exame microscópico

Após quinze, trinta, quarenta e cinco, sessenta e noventa dias, foram colhidos fragmentos do local do implante de cada coelho e imersos em solução de formol a 10%, tamponada com fosfatos, pH 7,4 para fixação.

Após o período de fixação superior a 24 horas em solução de formol à 10%, os fragmentos foram processados rotineiramente para inclusão em parafina no Departamento de Patologia Veterinária da FCAV – Campus Jaboticabal – Unesp. Foram substituídas por álcool 80%, assim permanecendo até o momento do processamento. Na etapa seguinte, o material foi desidratado em seqüência crescente de álcoois, diafanizado em xilol e incluído em parafina. Cortes de cada fragmento, de cinco micrômetros de espessura, foram obtidos e colocados em seqüência nas lâminas histológicas, seguindo-se coloração pelos métodos da Hematoxilina e Eosina (HE) e do Tricrômio de Masson (TM).

A observação e a documentação fotomicrográfica foram feitas em microscópio de luz binocular Nikon Eclipse E200 com adaptador e câmera Nikon Coolpix 5400.

4 RESULTADOS

4.1 Avaliação Clínico-Cirúrgico

Todos os animais apresentaram evolução clínica satisfatória, com parâmetros fisiológicos dentro da normalidade e não demonstraram sinais de incômodo ou dor pós-operatória. Apenas no primeiro dia pós-cirúrgico, observou-se em todos os grupos, respiração costo-abdominal, diminuição do apetite.

A ferida cirúrgica apresentou evolução satisfatória, sem presença de secreções ou deiscência de sutura e fístulas, com exceção de um coelho do grupo dos animais eutanasiados aos quinze dias.

O acesso cirúrgico utilizado permitiu boa abordagem ao diafragma. O fio de sutura polivicril, mostrou-se resistente, fácil manuseio, facilitando a síntese. A sutura simples contínua entre a membrana e o diafragma foi eficaz, permitindo o perfeito tamponamento da lesão diafragmática em coelhos.

4.2 Aspectos macroscópicos

Ao exame macroscópico, a maioria dos animais, mostrou fechamento completo do defeito no sétimo dia de pós-cirúrgico, com exceção de um coelho do grupo sacrificado com quinze dias, na qual apresentou presença de secreção purulenta, eritema na região da sutura cutânea, ocorrendo a cicatrização por segunda intenção.

No momento da coleta do fragmento implantado, o primeiro grupo, ou seja, eutanasiados ao 15º dia, dois coelhos não apresentaram aderências com órgãos adjacentes, a membrana com discreta retração, envolta por uma neoformação tecidual (Fig. 5), o fio de sutura era evidente. Apenas um coelho do grupo, o mesmo citado acima apresentando cicatrização por segunda intenção no local da cirurgia, demonstrou secreção purulenta bem evidente na área do implante (Fig. 6).

Os animais eutanasiados ao 30º dia, apresentavam maior retração da área de implante comparada aos do 15º dia, semelhança quanto à neoformação tecidual (Fig. 7), e fio de sutura. Observou-se aderência ao fígado e aos pulmões.

Aos quarenta e cinco dias, os coelhos do terceiro grupo foram eutanasiados apresentando sinais semelhante aos anteriores, a área de implante já mais clara, com o fio cirúrgico recoberto por fibrina, o fígado e o pulmão também mostravam-se aderidos.

Os coelhos sacrificados aos sessenta dias apresentavam-se com apenas um pequeno ponto aderido à neoformação tecidual, com aderências ao fígado (Fig. 8) e pulmão.

Aos noventa dias foram eutanasiados dois coelhos do quinto grupo, mostrando neoformação total no local de implante, com região esbranquiçada, com apenas pequenos pontos de fio de sutura, notou-se nesse período, tecido de granulação, altamente vascularizado, na junção enxerto/diafragma. Um dos animais veio à óbito uma semana de pós cirúrgico apresentando o implante discretamente envolvido por tecido cicatricial, aderência da pleura às bordas do implante ao diafragma, presença de discreta efusão pleural e colapso parcial de lobo pulmonar. Os dois outros coelhos também apresentaram aderências em fígado e pulmão (Fig. 9).

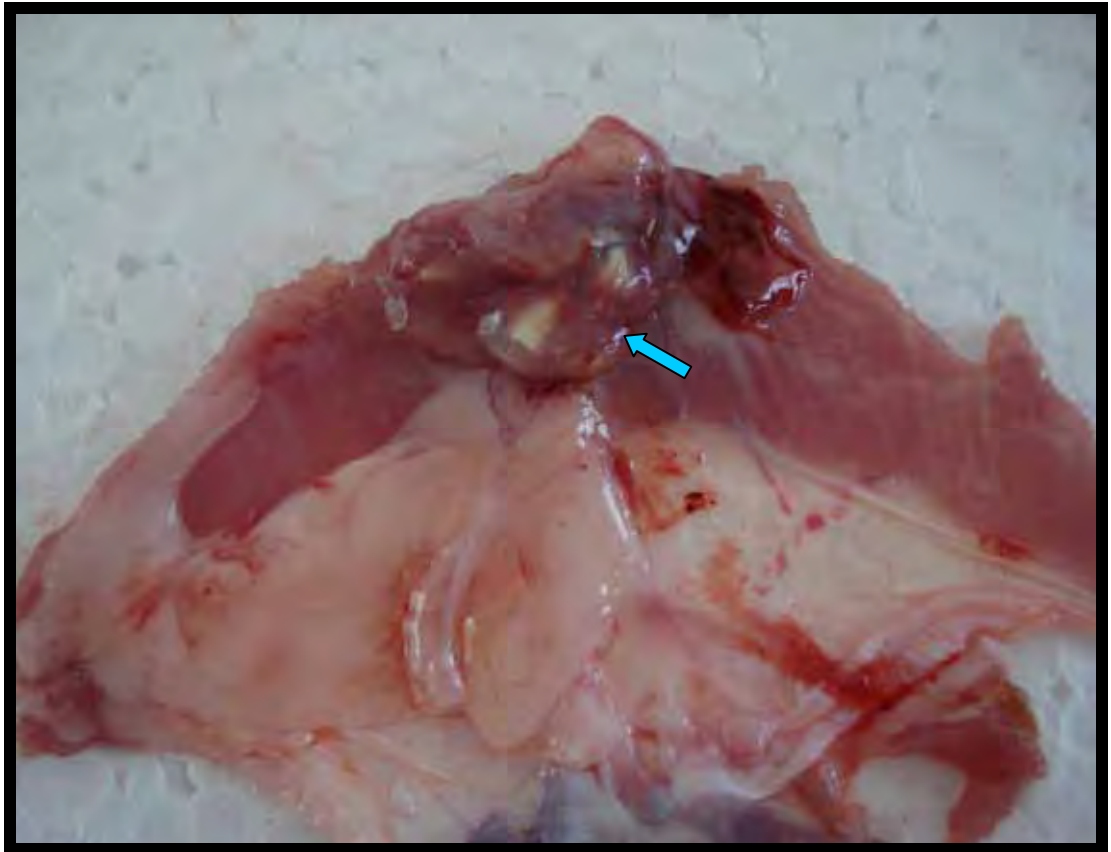


Figura 5: Aspecto macroscópico da região do implante da biomembrana de látex em diafragma de coelho, face abdominal quinze dias após a cirurgia. Observa-se presença de neoformação tecidual recobrindo a periferia do enxerto (seta azul).



Fotografia 6: Aspecto macroscópico da região do implante da biomembrana de látex em diafragma de coelho, onde se observa presença de secreção purulenta, em apenas um animal eutanasiado do grupo I, ao 15º dia (seta azul).



Figura 7: Aspecto macroscópico da região do implante da biomembrana de látex em diafragma de coelho, face torácica trinta dias após a cirurgia. Observa-se maior retração da área de implante (seta azul).

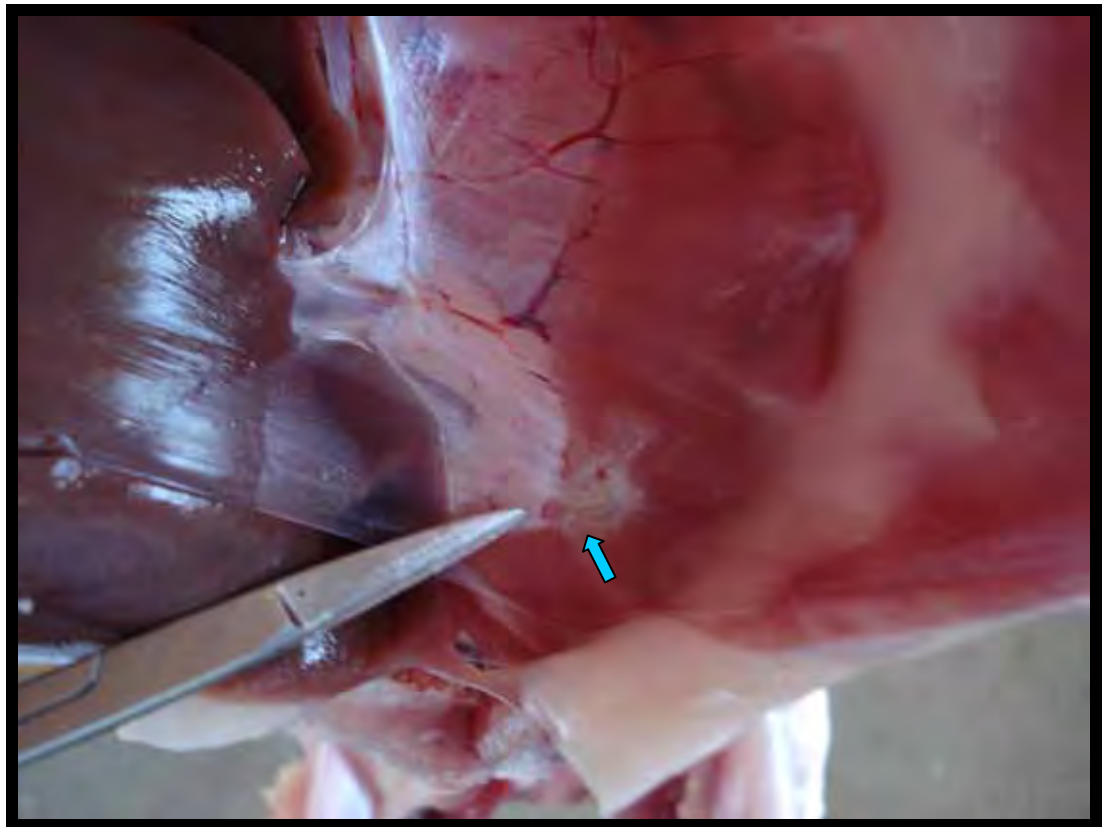


Figura 8: Aspecto macroscópico da região do implante da biomembrana de látex em diafragma de coelho, face abdominal sessenta dias após a cirurgia. Observa-se aderência do implante ao fígado (seta azul).

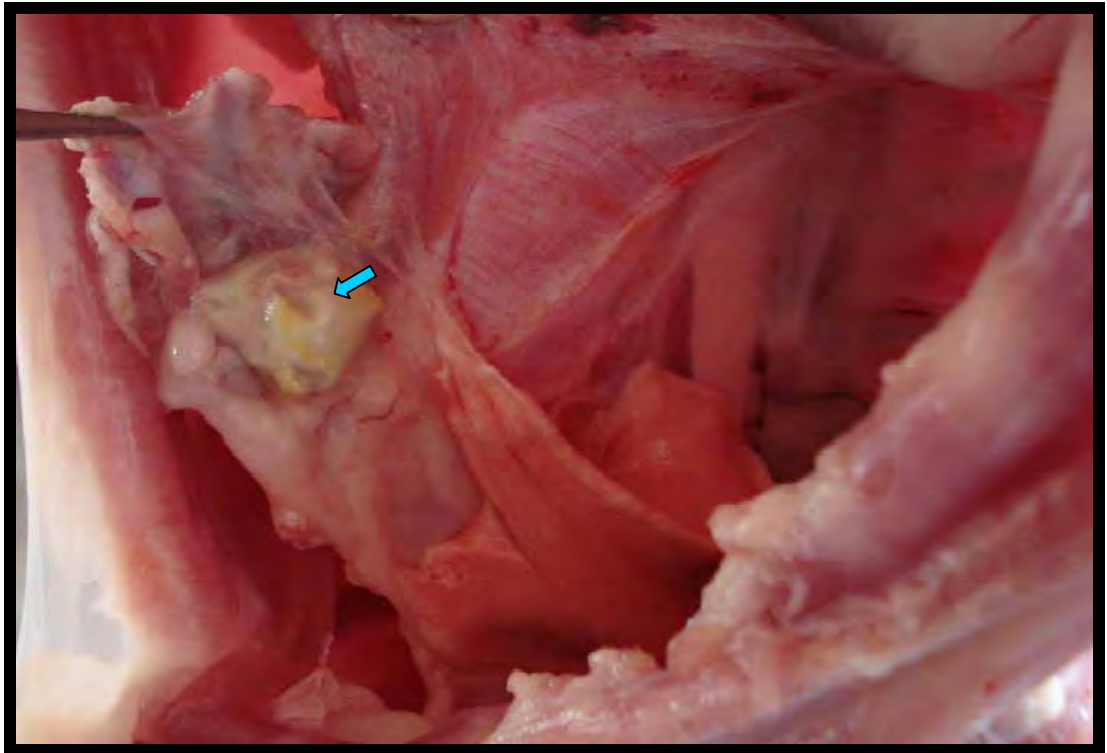


Figura 9: Aspecto da região do implante da biomembrana de látex em diafragma de coelho, face torácica noventa dias de pós-cirúrgico. Observa-se aderência do enxerto ao pulmão (seta azul).

4.3 Aspectos microscópicos

Na região do implante dos coelhos eutanasiados aos quinze dias haviam células inflamatórias em profusão, tanto polimorfonuclear neutrófilos (PMN) quanto mononucleares (MN) (Fig. 10). Também estavam presentes fibroblastos em grande quantidade, com seus núcleos grandes e arredondados, típicos de fase de proliferação. Hemorragias pequenas e congestão de vasos também foram observadas. As fibras musculares seccionadas apresentavam, no limite da secção, fibras multinucleadas. A presença de múltiplos núcleos é atribuída à tentativa de divisão celular, que, como se sabe, dificilmente ocorre em fibras musculares. No limite de contato com a membrana, as células se apresentavam dispostas paralelamente, em múltiplas camadas, constituindo uma pseudomembrana. As características das células assim dispostas lembravam as de uma serosa. Em corte histológico de um animal havia excesso de células PMN, necrose e hemorragias, indicando contaminação, o mesmo que apresenta secreção purulenta ao exame macroscópico.

Nos coelhos sacrificados aos trinta dias, o número de células inflamatórias era reduzido e predominavam os MN (Fig. 11). A delimitação do tecido de granulação proliferado e a membrana eram nítidas, permanecendo o formato da membrana retirada. Em um dos cortes, havia fragmento de fígado aderido. As fibras já se apresentavam mais finas e havia presença de colágeno.

Os coelhos eutanasiados com quarenta e cinco dias, o número de células inflamatórias era bem reduzido, encontrando-se células MN em focos ou dispersas. Pequenos focos de necrose e um acúmulo um pouco maior de MN foi encontrado em um animal. O limite de contato com a membrana era revestido por células alongadas, lembrando as da pleura, ou por células mais arredondadas – talvez em processo de organização (Fig. 12).

O aspecto aos sessenta dias se mostrou como uma evolução do anterior, notando-se novamente nítida delimitação entre a membrana e o tecido cicatricial. Nesse limite há perfeita disposição paralela de fibras acompanhando a membrana

implantada. O número de células MN era reduzido e a disposição das células era difusa (Fig. 13).

Na observação final, ou seja, aos noventa dias, o limite da membrana deixava o tecido cicatricial com uma superfície perfeitamente definida, revestida por células dispostas paralelamente, seguidas por fibras conjuntivas: fibroblastos e colágeno. Raras células MN eram encontradas dispersas (Fig. 14). O conjuntivo se fundia às células musculares, dando continuidade a este. Estruturas nervosas, quando presentes, estavam preservadas.

Outras observações são descritas como, os fios de sutura (multifilamentosos) serem observados em todos os cortes. Após o período de 30 dias, notavam-se fios entremeados por células inflamatórias, tendo já algumas células gigantes tipo corpo estranho. Nos tempos seguintes, as células gigantes apareciam em maior número. No entanto, não se notava destruição dos fios, tendo eles permanecido também nos animais com 90 dias pós-implante.

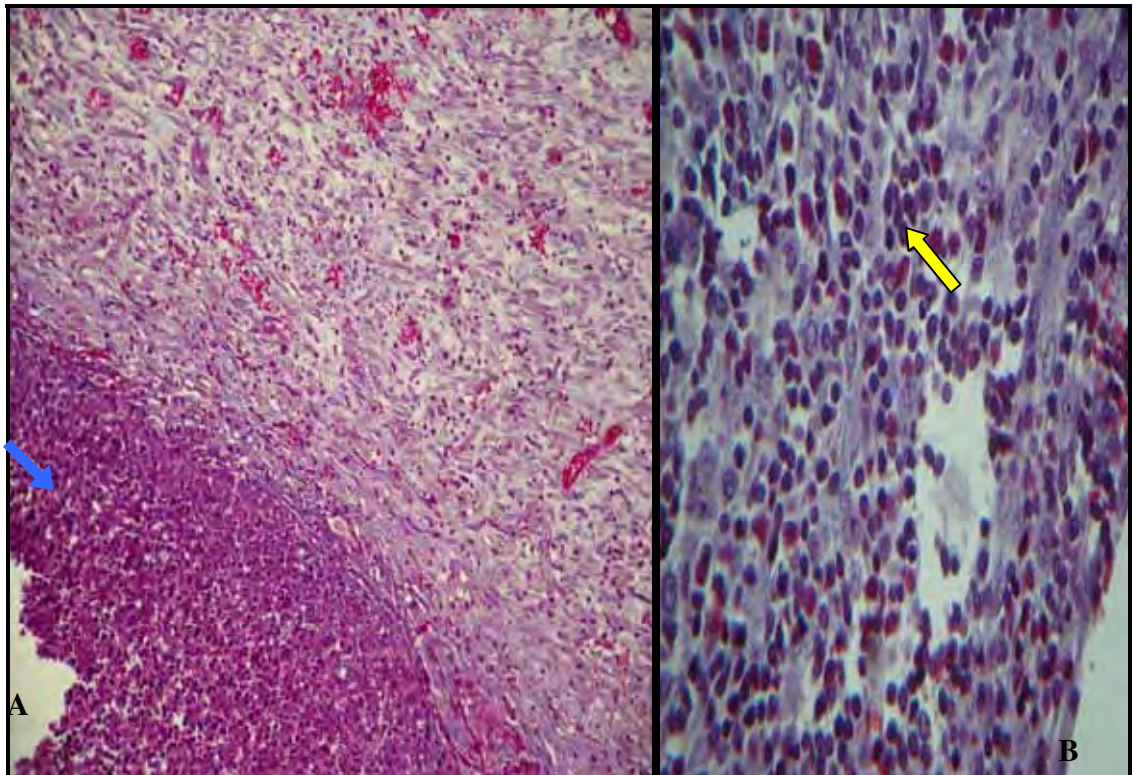


Figura 10: Em A - Aspecto microscópico da região de implante da biomembrana de látex em diafragma de coelho, quinze dias de pós-cirúrgico. Observam-se células inflamatórias em profusão, tanto polimorfonuclear neutrófilos (PMN) quanto mononucleares (MN) (seta azul). HE, obj. 20x. Em B – Mesmo caso descrito em A, no entanto, com aumento de 100x. TM. (seta amarela).

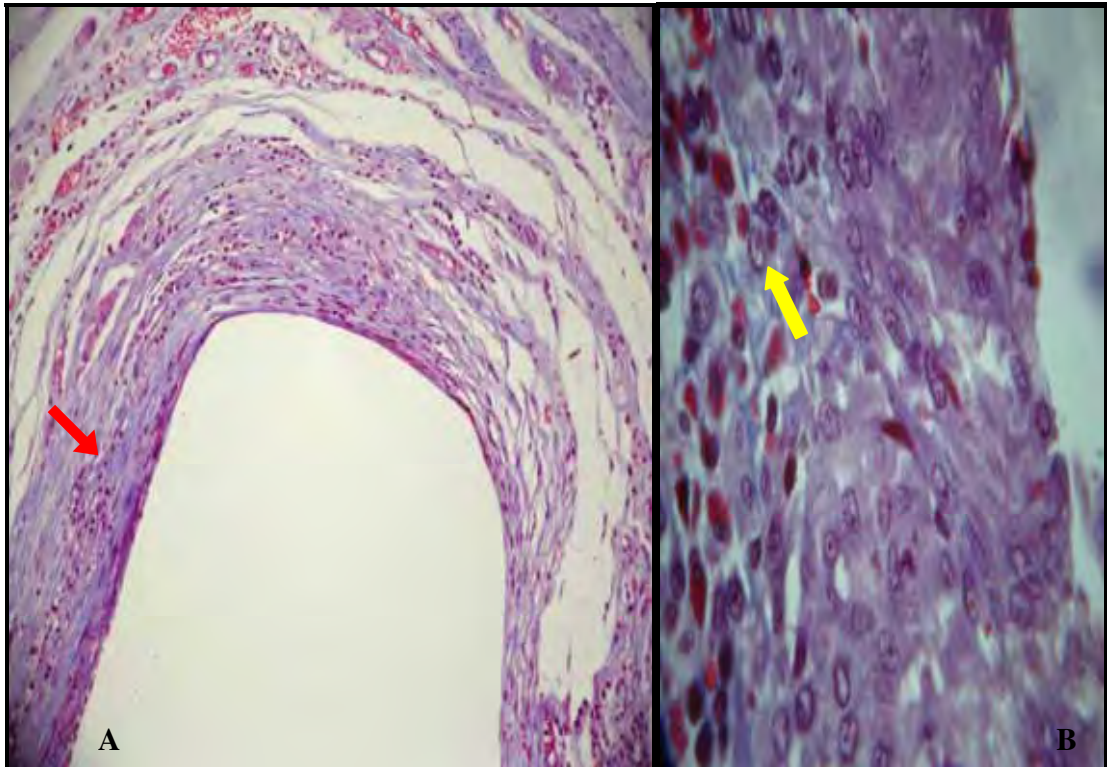


Figura 11: Em A - Aspecto microscópico da região de implante da biomembrana de látex em diafragma de coelho, trinta dias de pós-cirúrgico. Observam-se poucas células inflamatórias, predominando os MN (seta vermelha). TM, obj. 20x . Em B – Mesmo caso descrito em A, no entanto, com aumento de 100x. TM. (seta amarela).

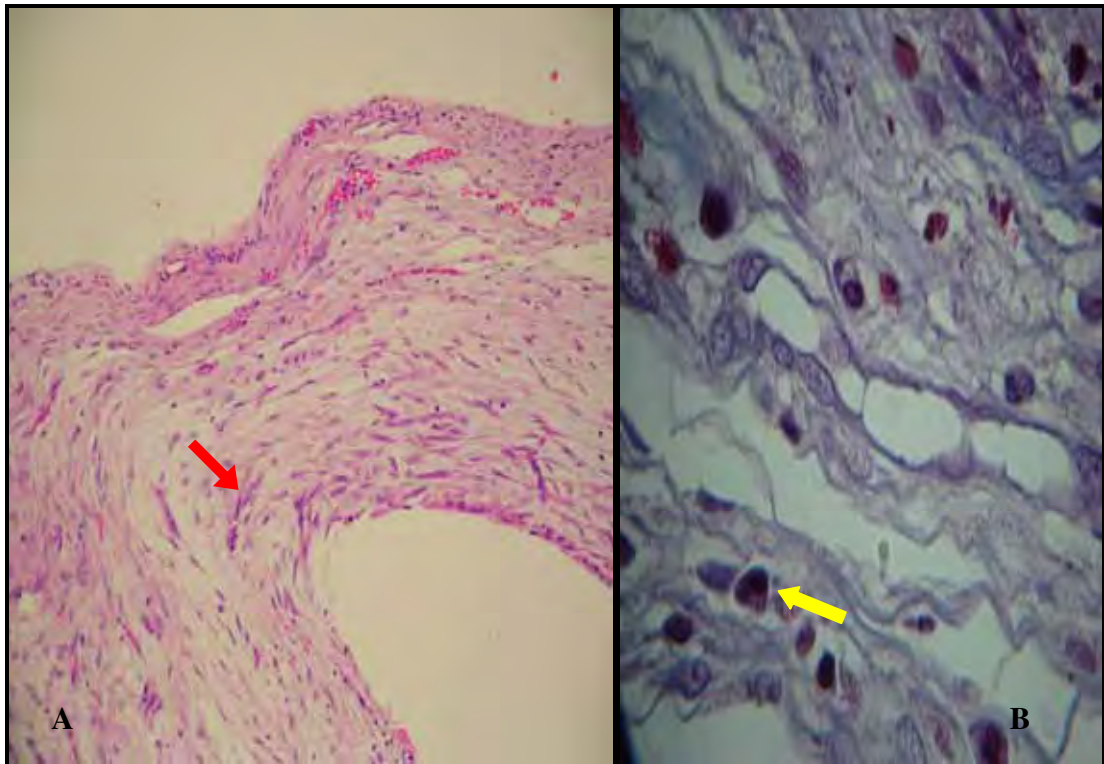


Figura 12: Em A - Aspecto microscópico da região de implante da biomembrana de látex em diafragma de coelho, quarenta e cinco dias de pós-cirúrgico. Notam-se poucas células inflamatórias, encontrando-se células MN (seta vermelha) em focos ou dispersas. HE, obj. 20x. Em B – Células mononucleares dispersas, com aumento de 100x. TM. (seta amarela).

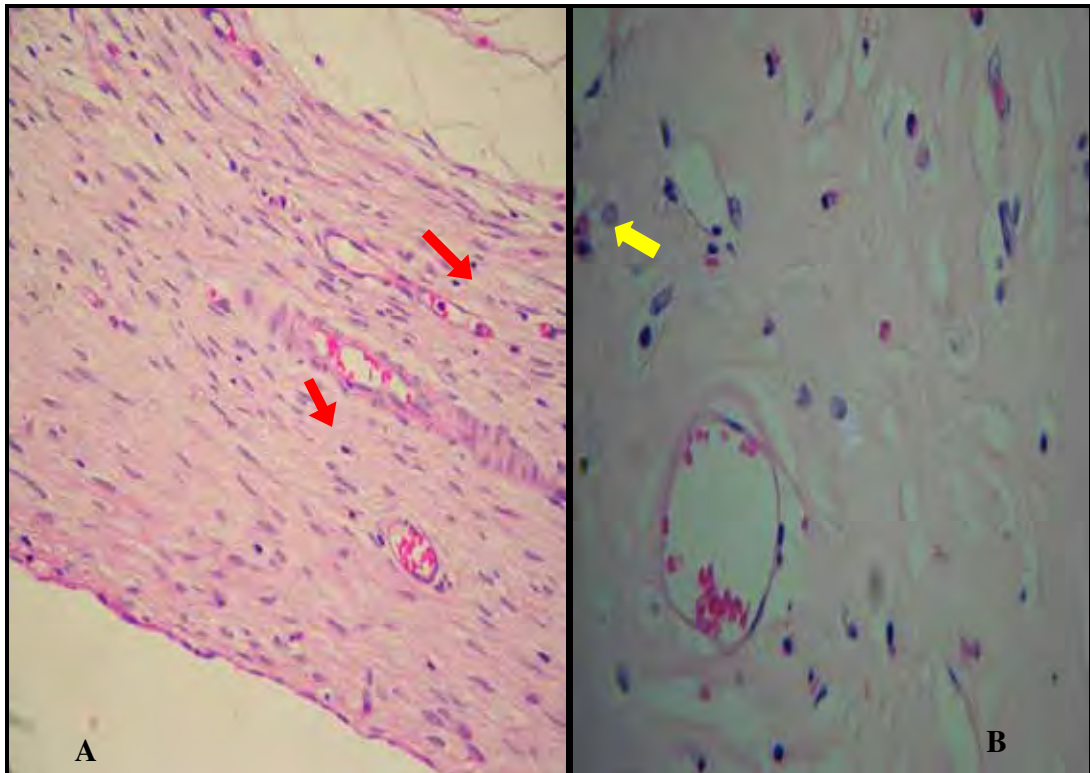


Figura 13: Em A - Aspecto microscópico da região de implante da biomembrana de látex em diafragma de coelho, sessenta dias de pós-operatório. Observa-se perfeita disposição paralela de fibras acompanhando a membrana implantada. A quantidade de células MN (seta vermelha) é reduzida e a disposição das células é difusa. HE, obj. 20x. Em B – Células mononucleares reduzidas, com aumento de 100x. HE. (seta amarela).

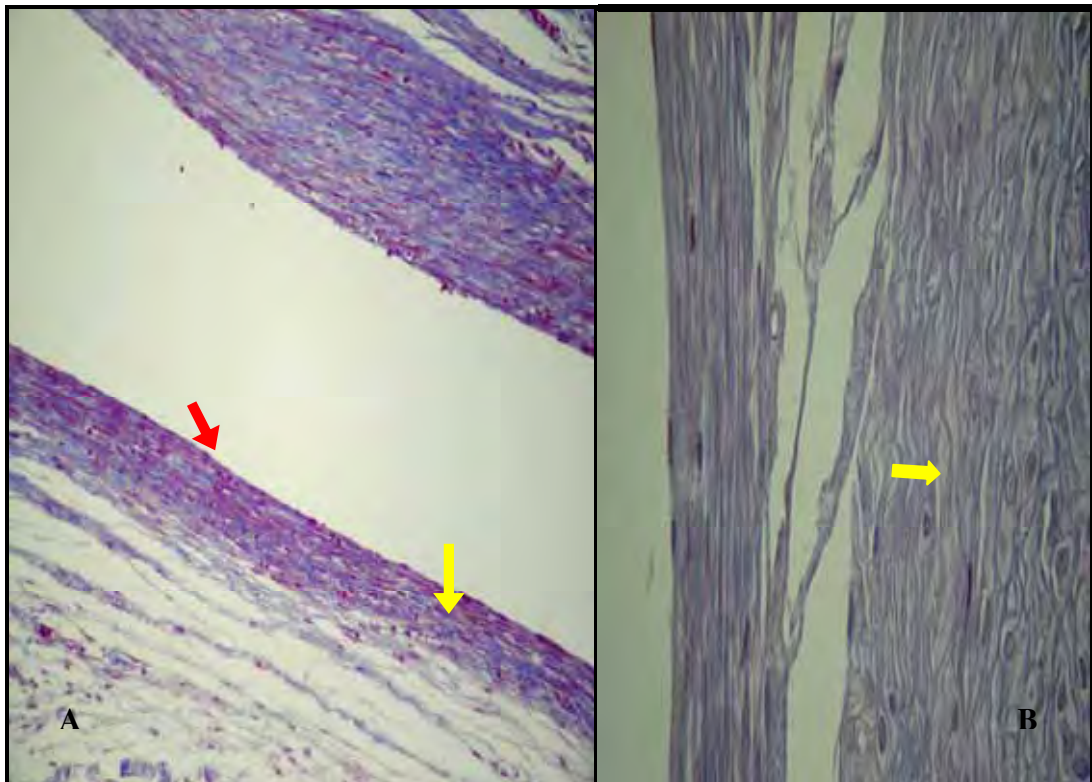


Figura 14: Em A - Aspecto microscópico da região de implante da biomembrana de látex em diafragma de coelho, noventa dias de pós-cirúrgico. Observa-se o limite da membrana deixando o tecido cicatricial com uma superfície perfeitamente definida (seta vermelha), fibroblastos e colágeno (seta amarela). Raras células MN são encontradas dispersas. TM, obj. 20x. Em B – Superfície definida, fibroblastos e colágenos com aumento de 100x. TM. (seta amarela).

5 DISCUSSÃO

O acesso ao músculo diafragmático pelo oitavo espaço intercostal a exemplo de e RAISER (1994), BARREIROS et al. (1996) e MAZZANTI (2003), foi eficiente permitindo a fixação e sutura do enxerto ao músculo diafragma e ótima visualização do campo operatório. Outras possibilidades de acesso, como por exemplo, a laparotomia mediana, por WILSON et al. (1971), o sétimo espaço intercostal foram propostos por GALLO et al. (1982), a via tóraco-abdominal é citada por PUNCH & SLATTER (1985) e PINTO et al. (2003), abdominal por RANZANI et al. (1990) e a paracostal por EURIDES et al. (1994), o décimo espaço intercostal direito foi empregado por MAZZANTI (2001).

Vários tipos de fios de sutura são citados para fixação de enxerto ou implante de materiais, como o descrito por BRIGHT & THACKER (1982) com náilon, catagute cromado por DALECK et al. (1988), polipropileno por BURTON & WHITE (1997), a seda utilizada por FARIA et al. (2000), MAZZANTI et al. (2001) com o poliamida. Apesar dos bons resultados demonstrados pelos autores com os fios anteriormente citados, foi feita a opção pelo fio poliglactina 910, sendo que este a exemplo dos experimentos realizados por EURIDES et al. (1987; 1994) e PINTO et al. (2003) demonstrou ser de fácil manuseio, resistente e seguro, suportando a diferença de pressão sobre o diafragma, evento este também relatado por CUNHA et al. (2000) e MAZZANTI et al. (2001).

O ponto simples contínuo foi empregado, pela facilidade, rapidez de aplicação e eficiente vedação pós-operatória do defeito diafragmático, o que vem corroborar com os resultados de RANZANI et al. (1990), PINTO et al. (2003), MAZZANTI et al. (2003), onde foi verificado a ausência de deiscência de sutura, sem aparente comprometimento da irrigação sanguínea local.

A técnica de implantação da membrana de látex demonstrou ser de fácil execução, sendo um material facilmente manipulável, de alta resistência e elasticidade, não necessitando conservação. Não foi notada dilaceração do material implantado no momento da aplicação dos pontos, demonstrando boa

resistência à tração, conforme observado por MRUÉ, (1996) quando implantou a membrana de látex em esôfago canino e SADER et al. (2000) substituindo parcialmente o pericárdio canino pela biomembrana de látex.

Em todos os grupos experimentais, com exceção dos coelhos eutanasiados com quinze dias, foram observadas aderências entre a área implantada e o fígado, na face abdominal, evento este também constatado por DALECK et al. (1988), RANZANI et al. (1990), EURIDES et al. (1994), MATSUMOTO et al. (1996), FARIA et al. (1999), MAZZANTI et al. (2001), PINTO et al. (2003), MAZZANTI et al. (2003). Entre as estruturas torácicas, a pleura parietal foi a única estrutura aderida ao implante, este resultado se assemelha ao relatado por FARIA et al. (1999) quando empregaram dura-mater heteróloga, com MAZZANTI et al. (2001), PINTO et al. (2003), MAZZANTI et al. (2003), quando utilizaram músculo diafragma homólogo conservado em solução supersaturada de açúcar.

Foi observado no presente trabalho aderências apenas em fígado e pulmão, não correspondendo com MATSUMOTO et al. (1996), por FARIA et al. (1999), que além dos órgãos citados anteriormente, relataram as aderências do estômago, baço, fato este também observado por ROSENKRANTZ; COTTON (1964). PINTO et al. (2003) e MAZZANTI et al. (2003) relataram aderências ao omento e pleura parietal.

O emprego de quatro pontos de reparo facilitou o posicionamento do enxerto para a sutura. Esse procedimento foi o mesmo adotado por DALECK et al. (1988), na restauração do diafragma de cão com peritônio de bovinos, por EURIDES et al. (1994), com peritônio muscular autólogo, e por PINTO et al. (2003), restaurando diafragma felino com enxerto autólogo de pericárdio, obtendo-se os mesmos resultados satisfatórios. Os pontos auxiliares permitiram uma abordagem no músculo diafragma evitando manipulação excessiva no momento da fixação da membrana.

O método utilizado para reposição da pressão negativa no atual trabalho, foi semelhante ao proposto por PINTO et al. (2003), onde usou-se escalpe 19G

conectado a uma seringa de 60ml através de torneira de três vias, sendo eficiente para evitar um possível pneumotórax residual. MAZZANTI et al. (2001) utilizaram o mesmo método, diferenciando apenas na substituição do escalpe por agulha 25x8. MAZZANTI et al. (2003), controlou a insuflação do pulmão com o auxílio de uma válvula, extraindo o ar por toracocentese no sétimo espaço intercostal, assim como RAISER (1994).

Quanto à conservação do material biológico utilizado, a biomembrana de látex natural apresenta vantagens quando comparada a outros materiais empregados, pois a mesma não necessita de conservação prévia ao uso, como foi observado por PIGOSSI et al. (1971) com pericárdio de eqüinos conservado em glicerina a 98%, RODGERS et al. (1981) utilizaram dura-máter humana esterilizada em solução betapropiolactona a 1% e salina, o glutaraldeído conservando pericárdio bovino e suíno por GALLO et al. (1982), em glicerina a 98%, DALECK et al. (1988) conservaram peritônio de bovino, RANZANI et al. (1990) conservando pericárdio de eqüino em glicerina a 98%, MATSUMOTO et al. (1996) empregaram pericárdio homólogo de cão conservado em solução de denacol. MAZZANTI et al. (2001), conservando em solução supersaturada de açúcar a 300% segmento muscular homólogo ortotópico, MAZZANTI et al. (2003), quando conservou pericárdio bovino em solução supersaturada de açúcar a 300%.

Se levarmos em consideração as outras técnicas ou materiais usados para reparar defeitos no músculo diafragmático, como DALECK et al. (1988) que implantaram segmento de peritônio bovino, MATSUMOTO et al. (1996) empregaram pericárdio homólogo de cão, MAZZANTI et al. (2001), que utilizaram segmento muscular homólogo ortópico, MAZZANTI et al. (2003) usaram pericárdio bovino conservado em solução supersaturada de açúcar, a biomembrana leva vantagem porque dispensa a prévia coleta e o reparo de fragmentos de outros tecidos, uma vez que é de fácil aquisição e pronta para uso.

Um evento importante a ser considerado é a presença ou ausência de sinais de infecção, fato este também preocupou outros autores. A membrana de látex tem sua vantagem, pois apesar de outros materiais não demonstrarem sinais

de infecção, como relatados por GALLO et al. (1982), DALECK et al. (1988), RANZANI et al. (1990), MAZZANTI et al. (2001) e MAZZANTI et al. (2003), é um material biológico, de origem vegetal, ficando isento de possíveis infecções bacterianas e virais.

A membrana de látex implantada mostrou-se biocompatível com o organismo receptor, observando aumento da vascularização local, sendo a membrana facilmente removível, resultado este que permite concordar com os de MRUÉ (1996), LACHAT et al. (1997), SADER et al. (2000), FRADE et al. (2001), MENTE et al. (2001), OLIVEIRA et al. (2003), GRISOTTO (2003), e BRANDÃO et al. (2007).

A falta de incorporação do material implantado pelo leito receptor foi também relatado por MRUÉ, 1996, SADER et al. (2000) e PAULO et al. (2005), onde o implante serviu apenas como arcabouço para a neoformação tecidual.

No momento da colheita de material para histopatologia, a exemplo dos resultados obtidos por RABELO et al. (2005), a membrana implantada manteve seu formato original, não havendo retração ou enrugamento da mesma.

A formação tecidual descrita no atual trabalho, tecido fibroso, foi o mesmo descrito para reconstrução da parede esofágica cervical em cães por MRUÉ, (2000) e da parede abdominal de coelhos por AZÔR, (2004), assim como por PAULO et al. (2005) para ocluir anel herniário canino.

Os achados deste experimento corroboram com os resultados encontrados por MRUÉ (1996), BRANDÃO et al. (2007) e ZIMMERMANN et al. (2007), onde se destaca a neovascularização, presença de infiltrado inflamatório predominantemente monócitos e formação de tecido conjuntivo em sua maioria, evoluindo para redução deste e organização das fibras colágenas.

Não é possível uma comparação da aplicação da membrana em diferentes espécies em relação ao tempo de eliminação do implante, assim com descrito por MRUÉ (2000) e PAULO et al. (2005), onde o material foi eliminado aos quatorze dias, no presente trabalho no local de enxertia, os órgãos circunvizinhos são muito

próximos, permitindo que o enxerto permanecesse totalmente recoberto pelo tecido neoformado, em todos os grupos experimentais.

A biomembrana promoveu a reconstituição de um segmento de esôfago em dez dias, como citou MRUÉ (1996), neste mesmo período ERENO (2003) relatou a cicatrização de úlceras crônicas de pele em humanos, em doze dias. No estudo comparativo em orelhas de coelhos, MRUÉ (2000) observou cicatrização em sete dias das feridas tratadas com a biomembrana, semelhança a estes resultados foi observado no presente trabalho, onde os coelhos eutanasiados aos quinze dias apresentaram neoformação tecidual, ocluindo totalmente o defeito induzido no diafragma.

A vedação do defeito diafragmático induzido nos coelhos no atual trabalho, substituindo o implante por tecido de granulação a partir de trinta dias, também foi notado por MAZZANTI et al. (2001), onde utilizou músculo diafragma homólogo conservado em solução supersaturada de açúcar, resultado semelhante foi verificado por EURIDES et al. (1994), empregando segmento de peritônio muscular, indicando assim que o implante se comportou como estrutura de sustentação temporária.

O uso do implante de biomembrana de látex no presente trabalho mostrou-se durante a evolução cicatricial, ser substituído por tecido conjuntivo fibroso e não ocasionar sinais de infecção e rejeição no tecido receptor, com exceção apenas de um dos animais eutanasiados aos quinze dias. Fato também verificado por GALLO et al. (1982), HUTSON & AZMY (1985), DALECK et al. (1988), RANZANI et al. (1990) e MATSUMOTO et al. (1996).

A utilização da biomembrana de látex poderá ser empregada em grandes defeitos diafragmáticos, pois o material é confeccionado em vários tamanhos, além de ser elástico, características que a diferenciam em relação a outros materiais, como o citado por FARIA et al. (2000) que teve dificuldades no uso do músculo reto abdominal por apresentar limitações quanto à sua largura.

6 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos na presente pesquisa podemos concluir que:

Com base nas avaliações clínicas e histopatológicas, notou-se que a biomembrana de látex apresentou bons resultados na reparação do defeito diafragmático, podendo ser considerada uma nova opção de tratamento para os defeitos desta estrutura, sendo um material simples, de fácil manuseio e baixo custo.

A biomembrana de látex, devido às suas propriedades angiogênicas, garante um aporte sanguíneo no local de implante, ocorrendo uma precocidade quanto ao reparo.

Em relação às propriedades biológicas, a biomembrana de látex mostrou-se biocompatível ao local de implante, e à espécie aplicada, apresentando adequada integração tecidual, com ausência de rejeição.

7 REFERÊNCIAS

AZÔR, A. F. **Tratamento de peritonostomia com biomembrana de látex natural – Estudo experimental em coelhos**. 2004. 96 f. Ribeirão Preto, SP. Tesde (Doutorado em Medicina) Programa de Pós-graduação em Clínica Cirúrgica. Universidade de São Paulo.

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

BRANDÃO, M. L. et al. Prótese vascular derivada do látex. **Journal of Vascular Bras.**, v. 6, n. 2, p.130-141, 2007.

BRIGHT, R. M.; THACKER, H.L. The formation of an omental pedicle flap and its experimental use in the repair of an diaphragmatic rent in the dog. **Journal of American Animal Hospital Association**, v. 18, p. 283-289, 1982.

BURTON, C.; WHITE, R. Surgical approach to a rupture diaphragm in the cat. **In Practice**, v. 19, p. 298-305, 1997.

CERISE, E. J. et al. The use fo mersilene mesh in repair of abdominal wall hernias. **Ann Surgery**, v. 181, p. 728-34, 1974.

CUNHA, O. et al. Hérnia peritônio-pericárdica em cão. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 5, p. 905-908, 2000.

DALECK, C. R. et al. Substituição de um retalho diafragmático de cão por peritônio de bovino conservado em glicerina: estudo experimental. **Ars Veterinária**, v. 4, n. 1, p. 53-61, 1988.

ERENO, D. Curativo de Borracha. **Revista Pesquisa Fapesp**. São Paulo, v. 6, n. 88, 2003. Disponível em: < <http://www.fapesp.org.br/revistapesquisa.fapesp.br> > . Acesso em 15 de agosto de 2008.

EURIDES, D., et al. Reparo de defeito provocado no diafragma de cães com segmento livre peritônio-muscular: estudo experimental. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 9, p. 131-135, 1994.

EURIDES, D., et al. Comportamento do tecido diafragmático nas suturas com fios de algodão e polivícril em cães. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 9, p. 95-96, 1987.

FARIA, R. X., et al. Transposição do músculo reto do abdome para correção de defeito iatrogênico no diafragma em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 4, n. 30, p. 645-649, 2000.

FARIA, R. X. **Transposição do músculo reto do abdome para correção de defeito iatrogênico no diafragma em cães**. 1999. 32p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1999.

FRADE, M. A. et al. Chronic phlebopatic cutaneous ulcer: a therapeutic proposal. **Iny. J. Dermatol.**, v. 40, n. 3, p. 237-240, 2001.

FUJIMOTO, F. et al. Uso da biomembrana de látex em cavidade enxertada: relato de caso. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v. 70, n. 5, p. 854-857, 2007.

GALLO, J. I. et al. Glutaraldehyde-preserved heterologous pericardium for the repair of diaphragmatic defects. **Journal of Thoracic Cardiovascular Surgery**, v. 83, p. 905-908, 1982.

GRISOTTO, P. C. **Desenvolvimento de uma nova prótese vascular derivada do látex natural e sua utilização na substituição de um segmento da artéria femoral de cão.** 2003. Tese (Doutorado em Medicina), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

HAGE, M. C. N. S.; IWASAKI, M. Contribuição ao estudo radiográfico das rupturas diafragmáticas em cães e gatos. **Clínica Veterinária**, São Paulo, n. 35, p. 36-50, 2001.

HELPHREY, M. L. Abdominal flap graft for repair of chronic diaphragmatic hernia in the dog. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 181, p. 791-793, 1982.

HOSGOOD, G. Diagnosis and management of diseases of the diaphragm. **Waltham Focus**, v. 6, p. 2-9, 1996.

HUTSON, J. M.; AZMY, A. F. Preserved dura and pericardium for closure of large abdominal wall and diaphragmatic defects in children. **Annals Royal Coll Surgeons Engl.**, v. 67, p. 107-108, 1985.

JOHNSON, K. A. Hérnia diafragmática, pericárdica e hiatal. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais.** 2 ed. São Paulo: Manole, 1998. cap. 37, p. 559-577.

LACHAT, J. J., et al. Morphological and biochemical studies of the biocompatibility of a membrane manufactured from the latex of *Hevea brasiliensis*. **Acta Microscopic.** v. 6, p. 758-759, 1997.

LEVINE, S. H. Diaphragmatic hérnia. **Veterinary Clinical North of American Small Practice**, v. 17, p. 411-430, 1987.

MATSUMOTO, H., et al. The use of epoxy patch grafts for repair of experimentally-created diaphragmatic defects in dogs. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 58, p. 685-687, 1996.

MAZZANTI, A., et al. Músculo diafragma homólogo conservado em solução supersaturada de açúcar para reparação de grande defeito no diafragma de cão. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, p. 277-283, 2001.

MAZZANTI, A., et al. Hernioplastia diafragmática em cão com pericárdio bovino conservado em solução supersaturada de açúcar. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n. 6, p. 111-117, 2003.

MENTE, E. D., et al. Transplante de ilhotas pancreáticas em dispositivos de imunoisolamento celular – Resultados iniciais. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.16, supl. 1, São Paulo, 2001.

MUGUERZA, J., et al. Látex allergy: allergen identification in *Hevea brasiliensis* fractions by immunoblotting. **Clin. Exp. Allergy**, v. 26, n. 10, p. 1177-1181, 1996.

MRUÉ, F. **Substituição do esôfago cervical por prótese biossintética de látex. Estudo experimental em cães.** 1996. 86f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária), Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1996.

MRUÉ, F. **Neoformação tecidual induzida por biomembrana de látex natural com polilisina. Aplicabilidade na neoformação esofágica e da parede abdominal. Estudo experimental em cães.** 2000. 112f. Tese (Doutorado em Cirurgia Veterinária), Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2000.

OLIVEIRA, J. A. A., et al. Miringoplastia com a utilização de um novo material biossintético. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 69, p. 649-55, 2003.

OLIVEIRA, T. C., et al. **Cistoplastia experimental com biomembrana de látex natural em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*)** 34^o Conbravet Congresso Brasileiro de Veterinária de 09 a 12 sw setembro de 2007- Mendes Convention Center – Santos SP

PAULO, N. M., et al. Biomembrana de látex natural (*Hevea brasiliensis*) com polilisina a 0,1% para herniorrafia perineal em um cão. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, p. 79-82, 2005.

PAULO, N. M., et al. Membrana de látex da seringueira (*Hevea brasiliensis*), com e sem polilisina a 0,1% e tela de márlex na reconstrução de defeitos iatrogênicos da parede abdominal de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, p. 305-310, 2005.

PIGOSSI, N., et al. Estudo experimental sobre o emprego, como implante da dura-máter homogênea conservada em glicerina à temperatura ambiente. **Revista Associação Médica Brasileira**, v. 17, n. 8, p. 263-278, 1971.

PINHO, E. C. C. M., et al. Uso experimental da biomembrana de látex na reconstrução conjuntival. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, n. 67, p. 27-32, 2004.

PINTO, S. T. L. F., et al. Restauração do diafragma de felino com enxerto autólogo de pericárdio. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 18, n. 5, p. 82-93, 2003.

PUNCH, P. I., SLATTER, D. H. Diaphragmatic hernias. In: SLATTER, D. H. Textbook of small animal surgery. Philadelphia: Saunders, cap. 59, p. 869-885, 1985.

RABELO, R. E., et al. Emprego do compósito látex, poliamida e polilisina a 0,1% na correção cirúrgica de hérnias umbilicais recidivantes em bovinos leiteiros. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, n. 2, p. 169-175, 2005.

RAISER, A. G. Herniorrafia diafragmática em cães e gatos. Relato de 22 casos e proposição de técnica para corrigir rupturas freno-costais. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v. 31, p. 245-251, 1994.

RAISER, A. G. **Hérnias em cães e gatos – análise de 188 casos e proposição de técnica de herniorrafia para sutura costal do diafragma**. 1993. 108f. Tese (Doutorado em Cirurgia Veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1993.

RANZANI, J. J. T., et al. Implante de pericardio de equino em glicerina em solução de continuidade do diafragma de cão. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v. 27, n.1, p. 65-73, 1990.

RODGERS, B. M., et al. The use of preserved human dura for closure of abdominal wall and diaphragmatic defects. **Annals Surgery**, v. 193, n. 5, p. 606-611, 1981.

ROSENKRANTZ, J. G., COTTON, E. K. Replacement of left hemidiaphragm by a pedicled abdominal muscular flap. **Journal of Thoracic Cardiovascular Surgery**, v. 48, n. 6, p. 912-920, 1964.

SADER, S. L., et al. Substituição parcial do pericárdio de cães por membrana de latex natural. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, São José do Rio Preto, v. 15, n. 4, p. 338-344, 2000.

SCHAIRER, A. E.; KEELEY, J. L. Experimental use of homologous fascia lata to repair diaphragmatic defects in dogs. **Surgery Gynecology Obstetric**, v. 105, p. 565-568, 1957.

SILVA, C. P., et al. **Desenvolvimento de filmes de látex para uso como membrana oclusiva e sistema liberador de proteínas em regeneração óssea guiada**. XI Congresso Brasileiro de Física Médica. 14 a 17 de junho de 2006 – Ribeirão Preto – SP.

SILVA, E. B. **Palatoplastia com biomembrana natural de látex com polilisina 0,1% em cães com defeito palatino experimentalmente induzido**. 2006. 37f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

SOUSA, L. C. A., et al. Biomembrana de latex: novo método para o revestimento da cavidade aberta nas timpanomastoidectomias. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 73, n. 3, p. 89-94, 2007.

SPEIRS, V. C.; REYNOLDS, W. T. Successful repair of a diaphragmatic hernia in a foal. **Equine Veterinary Journal**, v. 8, n. 01, p. 170, 1976.

SWEET, D. C.; WATERS, D. J. Role of surgery in the management of dogs with pathologic conditions of the thorax – part II. **Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.**, v. 13, p. 1671-1677, 1991.

TOULOKIAN, R. J. A “new” diaphragm following prosthetic repair of experimental hemidiaphragmatic defects in pup. **Annals Surgery**, v. 87, p. 47-50, 1978.

WILSON, G. P., NEWTON, C. D., BURT, J. K. A review of 116 diaphragmatic hernias in dogs and cats. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 159, p. 1142-1145, 1971.

WILSON, G. P.; HAYES, H. M. Diaphragmatic hernia in the dog and cat: a 25-year overview. **Seminars Veterinary Medicine Surgery (Small Animals)**, v. 1, n. 3, p. 318-326, 1986.

ZIMMERMANN, M.; RAISER, A. G. Teste de biocompatibilidade e resistência de membranas de látex em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 6, p. 1719-1723, 2007.

8 ANEXO

Aprovação da Comissão de Ética e Bem Estar Animal.