UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E ESTEREOLÓGICA COMPARATIVA DO IMPLANTE DA TELA DE POLIPROPILENO E PERITÔNIO DE PACAS (*Cuniculus paca*, L. 1766) NA CORREÇÃO DE DEFEITOS DA PAREDE ABDOMINAL DE RATOS WISTAR.

Alessandra Regina Scavone Ferreira

Médica Veterinária

2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E ESTEREOLÓGICA COMPARATIVA DO IMPLANTE DA TELA DE POLIPROPILENO E PERITÔNIO DE PACAS (*Cuniculus paca*, L. 1766) NA CORREÇÃO DE DEFEITOS DA PAREDE ABDOMINAL DE RATOS WISTAR.

Alessandra Regina Scavone Ferreira

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Rita Fernandes Machado

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Cirurgia Veterinária

2013

Ferreira, Alessandra Regina Scavone
F383a Avaliação morfológica e estereológica comparativa do implante da tela de polipropileno e peritônio de pacas (*Cuniculus paca*, L. 1766) na correção de defeitos da parede abdominal de ratos wistar / Alessandra Regina Scavone Ferreira. – – Jaboticabal, 2013
x, 58 p. : il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013
Orientadora: Márcia Rita Fernandes Machado
Banca examinadora: Fabrício Singaretti de Oliveira, Andrigo Barboza de Nardi, Marta Maria Circhia Pinto Luppi, Flavia Thomaz Verechia Pereira
Bibliografia

1. Cicatrização. 2. Polipropileno. 3. *Cuniculus paca*. 4. Membranas biológicas. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:617:599.324.5

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

unesp UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE JABOTICABAL

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E ESTEREOLÓGICA COMPARATIVA DO IMPLANTE DA TELA DE POLIPROPILENO E PERITÔNIO DE PACAS (*Cuniculus paca*, L. 1766) NA CORREÇÃO DE DEFEITOS DA PAREDE ABDOMINAL DE RATOS WISTAR

AUTORA: ALESSANDRA REGINA SCAVONE FERREIRA

ORIENTADORA: Profa. Dra. MARCIA RITA FERNANDES MACHADO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM CIRURGIA VETERINÁRIA , pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. MARCIA RITA FERNANDES MACHADO
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Prof. Dr. ANDRIGO BARBOZA DE NARDI
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Prof. Dr. FABRICIO SINGARETTI DE OLIVEIRA
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Profa. Dra. FLAVIA THOMAZ VERECHIA PEREIRA
Coordenadoria Executiva / Unidade de Dracena

Profa. Dra. MARTA MARIA CIRCHIA PINTO LUPPI
Médica Veterinária Autônoma / Campinas/SP

Data da realização: 30 de setembro de 2013.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ALESSANDRA REGINA SCAVONE FERREIRA – nasceu na cidade de Limeira, em 08 de abril de 1981. Em março de 2002, iniciou o curso de graduação em Medicina Veterinária, pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Câmpus de Jaboticabal, UNESP, que foi concluído em dezembro de 2006. Foi bolsista pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP no período de março de 2003 a março de 2006. Em março de 2007, ingressou no curso de Mestrado, pelo Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Veterinária, da FCAV, Câmpus de Jaboticabal, UNESP; e conseguiu cota de Bolsa de Mestrado com duração de 24 meses, da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP. Em 19 de fevereiro de 2009 obteve o título de Mestre em Cirurgia Veterinária. Em Junho de 2010 ingressou no curso de Doutorado, pelo Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Veterinária, da FCAV, Câmpus de Jaboticabal, UNESP; e conseguiu cota de Bolsa de Doutorado com duração de 36 meses, da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Benedito e Maria de Lourdes que me nunca mediram esforços para realizar meus sonhos. Que muitas vezes abdicaram dos seus sonhos, para que, eu pudesse realizar o meu.

A minha família, Fábio, Isabela e Rafaela por renunciarem momentos preciosos de suas vidas, para que eu pudesse realizar meus sonhos. Meu amor e reconhecimento eterno. Vocês são a minha vida, meu espelho, meu orgulho. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

A minha querida orientadora e amiga, Márcia Rita Fernandes Machado, por ter confiado tantos anos em mim, por ajudar-me a conquistar meus sonhos. Você é um exemplo a ser seguido e pode ter certeza, que onde quer que eu vá, levarei comigo uma grande bagagem de conhecimento que adquiri ao seu lado. Nunca esquecerei o que fez por mim. Serei sempre grata a você.

Ao equilíbrio da minha vida, minha família, que se tornaram a força para que eu vencesse meus desafios. Fábio, Isabela e Rafaela obrigada e desculpe pelos momentos que me ausentei e estive ocupada para desenvolver minhas conquistas. Amo muito vocês!

Aos meus pais, meus maiores exemplos de vida, obrigada por tudo, essa vitória compartilho com vocês.

Deus por guiar, iluminar e proteger a minha vida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão de bolsa de Doutorado e de auxílio à pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, UNESP.

Aos amigos e orientados da Profa. Márcia: Leandro, Sérgio e Leonardo.

Ao amigo sempre presente que muito me auxiliou para conclusão deste trabalho Leonardo Martins Leal.

Aos professores que participaram das bancas de qualificação, Prof. Dr. Fabricio Singaretti de Oliveira, Prof. Dr. Andrigo Barboza de Nardi, Profa. Dra. Maria Rita Pacheco e Profa. Dra. Lizandra Amoroso e de defesa da minha Tese Prof. Dr. Fabricio Singaretti de Oliveira, Prof. Dr. Andrigo Barboza de Nardi, Profa. Dra. Marta Maria Circhia Pinto Luppi e Profa. Dra. Flavia Thomaz Verechia Pereira pela contribuição na redação final deste trabalho.

A todas as pessoas que de forma direta ou indireta me auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho.

SUMÁRIO

"Página"

Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais..... iii
RESUMO..... iv
ABSTRACT..... v
Lista de Figuras..... vi
Lista de Tabelas..... xi
1. INTRODUÇÃO..... 1
2. REVISÃO DE LITERATURA..... 3
2.1. Tela de polipropileno..... 3
2.2. Peritônio..... 8
2.3. Cicatrização tecidual..... 10
2.4. Estereologia..... 11
3. OBJETIVO..... 13
4. MATERIAL E MÉTODOS..... 14
4.1. Grupos experimentais..... 14
4.2. Aquisição da membrana de peritônio da paca..... 14
4.3. Aquisição da membrana de polipropileno..... 16
4.4. Procedimento cirúrgico 16
4.4.1. Pré-operatório..... 16
4.4.2.Trans-operatório..... 16
4.4.3. Pós-operatório..... 19
4.4.4. Avaliações macroscópicas..... 20
4.4.5. Avaliações microscópicas e estereológicas..... 20
4.5. Análise estatística..... 23
5.RESULTADOS..... 23
5.1. Observações dos animais no período de pós-operatório..... 23
5.2. Avaliação macroscópica..... 26
5.2.1. Grupo Controle (GI) 26
5.2.2. Grupo Peritônio da paca (GII)..... 27
5.2.3. Grupo Tela de polipropileno (GIII)..... 29

5.3. Avaliação microscópica..... 31
5.3.1. Grupo Controle (GI) 31
5.3.2. Grupo Peritônio da paca (GII)..... 33
5.3.3. Grupo Tela de polipropileno (GIII)..... 36
5.4. Estereologia..... 38
5.5. Análise estatística..... 39
6. DISCUSSÃO..... 40
7. CONCLUSÃO..... 46
8. REFERÊNCIAS 46

unesp UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 014006/10 do trabalho de pesquisa intitulado **"Avaliação morfológica e estereológica comparativa do implante da tela de polipropileno e peritônio da paca (*Cuniculus paca*, L. 1766) na parede abdominal de ratos Wistar"**, sob a responsabilidade da Profª Drª Márcia Rita Fernandes Machado, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 20 de Julho de 2010.

Jaboticabal, 20 de julho de 2010.

Prof. Dr. Jeffrey Frederico Lui
Presidente - CEBEA

Med. Vet. Maria Alice de Campos
Secretária - CEBEA

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n - CEP 14884-900 - Jaboticabal - SP - Brasil
Tel. 16 3209 2600 - fax 16 3202 4275 - www.fcav.unesp.br

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E ESTEREOLÓGICA COMPARATIVA DO IMPLANTE DA TELA DE POLIPROPILENO E PERITÔNIO DE PACAS (*Cuniculus paca*, L. 1766) NA CORREÇÃO DE DEFEITOS DA PAREDE ABDOMINAL DE RATOS WISTAR.

RESUMO - Na busca de material biológico alternativo para a realização de implantes, objetivou-se com o presente estudo avaliar comparativamente a implantação do peritônio da paca conservado em glicerina a 98%, uma nova opção de biomaterial e a tela de polipropileno, consagrada prótese sintética na parede abdominal de ratos Wistar. Foram utilizados 60 ratos, machos, da linhagem Wistar pesando entre 150 e 200 gramas organizados nos seguintes grupos experimentais: grupo controle (GI), grupo peritônio conservado em glicerina a 98% (GII) e grupo tela de polipropileno (GIII), cada um com 20 animais. O grupo GII recebeu o enxerto de peritônio da paca conservado em glicerina 98%, o grupo GIII recebeu o enxerto da tela de polipropileno e o grupo GI não recebeu a membrana. Cinco ratos de cada grupo foram submetidos à eutanásia em quatro momentos distintos: sete, 15, 30 e 60 dias de pós-operatórios para avaliações macroscópicas e microscópicas da interface implante-tecido nativo. Em 100% dos animais do grupo GII e GIII houve boa cicatrização da membrana. Na análise histológica, nos animais que receberam o peritônio da paca preservado em glicerina a 98% ficou demonstrada reação inflamatória aguda (M7 e M15), que gradativamente foi desaparecendo e a membrana foi sendo substituída por tecido conjuntivo fibroso (M30 e M60). Nos animais do GIII que receberam a tela de polipropileno verificou-se infiltrado inflamatório com predominância de mononucleares (M7, M15, M30 e M60), que gradativamente foi desaparecendo e a membrana foi sendo substituída por tecido conjuntivo fibroso (M30 e M60). Pode-se concluir que o peritônio da paca conservado em glicerina e a tela de polipropileno, promoveram reforço abdominal satisfatório no reparo de defeito produzido na parede abdominal de ratos.

“Palavras-chave”: cicatrização, cirurgia, *Cuniculus paca,* membrana biológica, polipropileno

MORPHOLOGICAL AND STEREOLOGICAL COMPARATIVE EVALUATION OF POLYPROPYLENE MESH AND PACAS PERITONEUM (*Cuniculus paca*, L. 1766) IN CORRECTION OF DEFECTS IN THE ABDOMINAL WALL OF RATS WISTAR.

ABSTRACT – In search of alternative biological material to perform implants, this study aimed to compare the implantation of paca peritoneum preserved in glycerin 98% a new option of biomaterial and polypropylene mesh , consecrated synthetic prosthesis in the abdominal wall of wistar rats. A total of 60 male rats of wistar strain weighting between 150 and 200 grams housed into three diferent experimental groups: control group (GI), peritoneum preserved in glycerin 98% (GII) and polypropylene mesh group, with 20 animals each one. The group GII received the paca peritoneum graft preserved in glycerin 98%, the group GIII received the polypropylene mesh and the group GI did not receive any membrane. Five rats from each group were euthanized at four different times: seven, 15, 30 and 60 days post-surgery to macroscopic and microscopic evaluations in graft-native tissue interface. 100% of the animals of the GII and GIII had good healing of the membrane. On histological examination, the animals that had received the paca peritoneum graft preserved in glycerin 98% , showed inflammatory infiltrates (M7 and M15), wich gradually disappeared and the membrane was replaced by connective tissue (M30 e M60). The animals that received the polypropylene mesh had inflammatory infiltrates with predominance of mononucleares (M7, M15, M30 and M60), wich gradually disappeared and the membrane was being replaced by connective tissue (M30 e M60). It was concluded that the paca peritoneum conserved in glycerin 98% and the polypropylene mesh promote strengthening abdominal quite satisfying in repair induced defect in the abdominal wall of rats.

“Keywords”: biological membrane, *Cuniculus paca,* healing, polypropylene, surgery

Lista de Figuras

"Página"

Figura 1 Fotografia de um animal onde após a exposição da face interna da parede abdominal, iniciou-se a colheita do peritônio parietal (P), descolando-o cuidadosamente, tanto da parede abdominal direita, quanto da esquerda..... 15

Figura 2 Fotografias de um rato macho da linhagem Wistar, pertencente ao grupo controle, onde em A e B se observa a incisão abdominal mediana iniciada logo abaixo do processo xifóide, abrangendo pele, tela subcutânea e camada muscular (seta). Em C verifica-se a retirada do segmento formado pelas diversas camadas de músculos e aponeuroses abdominais (*). Em D, a mensuração (cm) do segmento, em E sutura contínua dessa incisão com náilon 4-0 (retângulo) e em F, sutura de pele (retângulo)..... 17

Figura 3 Fotografias de um rato Wistar macho, onde em A observa-se a demarcação do segmento músculo e as aponeuroses abdominais com molde medindo 2cm x 2cm (M) e em B a demarcação do segmento na membrana de peritônio da paca (*). Em C nota-se a membrana suturada com fio de náilon 4-0 padrão contíunuo (P). E finalmente em D, sutura de pele (seta)..... 18

Figura 4 Fotografias de um rato Wistar macho, onde em A se observam os moldes da tela de polipropileno medindo 2cm x 2cm. Em B a região (*) do segmento músculo e suas aponeuroses abdominais onde foi colocada a tela de polipropileno. Em C verifica-se a tela de polipropileno (TP), suturada com fio de polipropileno 5-0 em padrão contínuo. E finalmente em D, sutura da pele (seta)..... 19

Figura 5 Fotografias de um rato Wistar, macho, onde em A foi retirado um fragmento com 9 cm^2 contendo a interface implante com tecido nativo (*) e em B este mesmo fragmento foi sustentado por quatro alfinetes presos em uma folha de isopor de 1.5 cm para posterior acondicionamento em solução fixadora de Karnovsky (seta)..... 20

Figura 6 Em A, fotografia de um rato Wistar pertencente ao grupo peritônio da paca (GII), aos 12 dias de pós-operatório ocorreu fistulação de pele (seta preta) e em B no mesmo animal nota-se a formação de tecido de granulação (seta branca) após fistulação..... 24

Figura 7 Em A, fotografia de um rato Wistar pertencente ao grupo peritônio da paca (GII), aos 12 dias de pós-operatório nota-se presença de abaulamento e área de necrose na pele (seta preta). E em B demostra-se a formação de fístula (seta branca) com posterior expulsão da membrana (P) implantada..... 24

Figura 8 Fotografia de um rato Wistar pertencente ao grupo peritônio da paca (GII), aos 12 dias de pós-operatório apresentou evisceração (seta); este animal foi eutanasiado..... 25

Figura 9 Fotografia de um rato Wistar pertencente ao grupo tela de polipropileno (GIII), aos 13 dias de pós-operatório apresentou evisceração (seta); este animal foi eutanasiado..... 25

Figura10 Fotografias de um rato Wistar, macho, pertencente ao grupo controle (GI), eutanasiado em A aos sete dias de pós-operatório, em B aos 15 dias, em C aos 30 dias e em D aos 60 dias de pós-operatório verificam-se a presença de aderências do omento ao fio de sutura (setas)..... 26

Figura 11 Fotografias de um rato Wistar, macho, pertencente ao grupo peritônio da paca (GII), e eutanasiado aos sete dias de pós-operatório, verifica-se em A aderência na área do implante com o omento (seta preta) e em B a presença de abaulamento (retângulo)..... 27

Figura 12 Fotografias de um rato Wistar, macho, pertencente ao grupo peritônio da paca (GII) eutanasiado aos 15 dias de pós-operatório, nota-se, em A, aderência na área do implante com o omento (seta preta) e em B, nota-se a presença de abscesso (retângulo) na área do implante e boa cicatrização membrana-musculatura (seta)..... 28

Figura 13 Fotografias de um rato Wistar, macho, pertencente ao grupo peritônio da paca (GII) eutanasiado aos 30 dias de pós-operatório verifica-se em A aderência da área do implante com o omento (seta preta) e em B a ocorrência de abscesso encapsulado (seta branca) e boa cicatrização entre membrana-musculatura (seta amarela)..... 28

Figura 14 Fotografias de um rato Wistar, macho, pertencente ao grupo peritônio da paca (GII) eutanasiados aos 60 dias de pós-operatório observa-se em A, aderência da área do implante com o omento (seta preta) e em B boa cicatrização membrana-musculatura (setas brancas)..... 29

Figura 15 Fotografia de um rato Wistar, macho, pertencente ao grupo tela de polipropileno (GIII) eutanasiado aos sete dias de pós-operatório verifica-se aderência da área do implante com o omento (quadrado)..... 29

Figura 16 Fotografia de um rato Wistar, macho, pertencente ao grupo tela de polipropileno (GIII), eutanasiado aos 15 dias de pós-operatório, constata-se aderência da área do implante com o omento (quadrado)..... 30

Figura 17 Fotografias de um rato Wistar, macho, pertencente ao grupo tela de polipropileno (GIII) eutanasiado aos 30 dias de pós-operatório observa-se em A aderência da área do implante com o omento (seta preta) e em B boa cicatrização membrana- musculatura (seta amarela)..... 31

Figura 18 Fotografia de um rato Wistar, macho, pertencente ao grupo tela de polipropileno (GIII) eutanasiado aos 60 dias de pós-operatório verifica-se aderência da área do implante com o omento (seta preta)..... 31

Figura 19 Fotomicrografias de fragmento abdominal do Grupo controle (GI) de rato Wistar, macho. Em A aos sete dias de pós-operatório e em B aos 60 dias de pós-operatório, nota-se a presença de tecido fibroso (*) separando as camadas musculares (M). Presença do fio de sutura (seta) (Paraplast, HE, 5X)..... 32

Figura 20 Fotomicrografia de fragmento abdominal do Grupo controle (GI) de rato Wistar, macho aos 60 dias de pós-operatório. Observa-se infiltrado inflamatório misto representado por polimorfonucleares (seta preta), linfócitos (seta branca) e vasos (V) (Paraplast, HE,40x)..... 32

Figura21 Fotomicrografias da região de implante peritônio da paca (GII), de um rato Wistar, macho, eutanasiado aos sete dias de pós-operatório, em A verifica-se descontinuidade das camadas muscular (M), unidas por um discreto tecido fibroso ( ) e em B nota-se infiltrado inflamatório misto representado por polimorfonucleares (seta amarela) e mononucleares (seta preta). (Paraplast, HE, 5X e 40 X respectivamente)..... 33

Figura22 Fotomicrografias da região de implante de peritônio da paca (GII), de um rato Wistar, macho, eutanasiado aos 15 dias de pós-operatório onde em A nota-se descontinuidade das camadas muscular (M), unidas por um tecido fibroso (traço), próximos ao fio de sutura (F) e ao implante (P) e em B verifica-se infiltrado inflamatório misto com predominância de linfócitos (seta preta) (Paraplast, HE, 5X e 40 X respectivamente)..... 34

Figura23 Fotomicrografias da região de implante de peritônio da paca (GII), de um rato Wistar, macho, eutanasiado aos 30 dias de pós-operatório onde em A nota-se a presença de moderado tecido fibroso (traço) justaposto à camada muscular (M). Acompanhado da presença de infiltrado inflamatório mononuclear focal (elipse). Em B a presença de infiltrado inflamatório mononuclear (seta preta) (Paraplast, HE, 5X e 40 X respectivamente)..... 35

Figura24 Fotomicrografias da região de implante de peritônio da paca (GII), de um rato Wistar, macho, eutanasiado aos 60 dias de pós-operatório, em A, observa-se, no local onde o implante foi afixado a presença de tecido fibroso (traço) próximo à camada muscular (M). Em B verificou-se a presença de feixes musculares (seta branca) e linfócitos (seta preta) entremeados ao tecido fibroso. (Paraplast, HE, 5X e 40 X respectivamente)..... 35

Figura25 Fotomicrografias da região de implante de tela de polipropileno (GIII), de um rato Wistar, macho, eutanasiado em A aos sete dias de pós-operatório e em B aos 15 dias de pós-operatório nota-se, no local do implante afixado, tecido fibroso (traço) separando as camadas musculares (M). Fio de sutura (F) (Paraplast, HE, 5X e 5 X respectivamente)..... 36

Figura26 Fotomicrografia da região de implante de tela de polipropileno (GIII), de um rato Wistar, macho, eutanasiado aos 7 dias de pós-operatório onde verificou-se a presença de moderado infiltrado inflamatório misto com predomínio de linfócitos (seta preta); Espaço formado pelo fio de sutura (F) (Paraplast, HE, 40X)..... 37

Figura27 Fotomicrografias da região de implante de tela de polipropileno (GIII), de um rato Wistar, macho, eutanasiado em A aos 30 dias de pós-operatório e em B aos 60 dias de pós-operatório onde constata-se no local do implante tecido fibroso (traço) separando as camadas musculares (M). (Paraplast, HE, 5X e 5 X respectivamente)..... 37

Figura28 Fotomicrografia da região de implante de tela de polipropileno (GIII), de um rato Wistar, macho, eutanasiado aos 30 dias de pós-operatório, verifica-se infiltrado inflamatório mononuclear representado por linfócitos (seta branca) (Paraplast, HE, 40X)..... 38

Figura 29 Interação grupo x tempo para a contagem de mononucleares..... 40

Lista de Tabelas

Tabela 1	Registros referentes ao número total de mononucleares nos animais do GI, observados nos momentos: M7, M15, M30 e M60 de pós-operatório. Jaboticabal, SP, 2012.....	38
Tabela 2	Registros referentes ao número total de mononucleares nos animais do GII, observados nos momentos: M7, M15, M30 e M60 de pós-operatório. Jaboticabal, SP, 2012.....	39
Tabela 3	Registros referentes ao número total de mononucleares nos animais do GIII, observados nos momentos: M7, M15, M30 e M60 de pós-operatório. Jaboticabal, SP, 2012.....	39
Tabela 4	Desdobramento da interação grupo x tempo para a variável mononucleares (MN). Dados transformados segundo a escala logarítmica log (obs+1). Jaboticabal, SP, 2012.....	40

1. INTRODUÇÃO

A reparação cirúrgica ou reforço dos tecidos que compõe a parede da cavidade abdominal é uma das necessidades mais convencionais da cirurgia humana e veterinária (VULCANI et al., 2008). Muitas vezes não é possível realizar a correção de defeitos na parede abdominal com pontos simples, em virtude tanto da escassez de tecidos quanto da alta tensão na linha de sutura, o que propicia a ocorrência de elevados índices de hérnias incisionais. Em tais casos, torna-se necessário o uso de próteses (FOSSUM, 2002). Nos animais domésticos, o maior desafio é o desenvolvimento de biomateriais que suportem forças exercidas pelas vísceras, em virtude da posição quadrupedal destes animais, e pela movimentação das estruturas após o procedimento cirúrgico (VULCANI et al, 2008).

Neste contexto, deve-se considerar o emprego de membranas biológicas, que consistem em implantes de natureza orgânica, livres, inertes, que são aplicadas em locais variados, sendo constituídas, quase exclusivamente, por colágeno, tecido este que lhes confere baixa antigenicidade. Associados a essas características, apresentam ainda baixo custo, facilidade de obtenção e estocagem, esterilização viável e praticidade ao manuseio (ALVARENGA, 1992).

O principal objetivo do uso dessas membranas, originárias de diferentes espécies animais, assim como de implantes sintéticos, é fornecer arcabouço para orientação e desenvolvimento de novos tecidos mediante processos de reparação, que restabeleçam a estrutura e a função do órgão atingido (BATISTA et al., 1996; BRUN et al., 2002).

Na procura, tanto de material biológico alternativo para a realização de implantes, quanto de novas opções de modelos de experimentação animal, surge a paca (*Cuniculus paca,* Linnaeus 1766), uma espécie pertencente à ordem dos roedores, típica de regiões tropicais (REDFORD; ROBINSON, 1991), presente em grande parte do território brasileiro e América Latina (EISENBERG; REDFORD, 1999; LANGE; SCHMIDT, 2007; QUEIROLO et al., 2008). Esta espécie alimenta-se de frutas, mas pode consumir outros vegetais e até insetos em períodos de

escassez alimentar (DUBOST; HENRY, 2006). Em cativeiro, pode atingir 80 cm de comprimento, 12 kg de massa corpórea e 16 anos de tempo médio de sobrevida (EISENBERG; REDFORD, 1999; LANGE; SCHMIDT, 2007; QUEIROLO et al., 2008). Sua importância, além da comercial como fonte protéica, pode também tomar âmbito da ciência, pois a paca apresenta características como tamanho adequado, ampla distribuição geográfica, adaptação a ambientes variados, nutrição variada, entre outras, que atendem as condições atribuídas à modelo animal experimental (SANTOS, 2006).

Em relação aos materiais sintéticos utilizados nos tecidos da parede abdominal, a partir de 1950 tornou-se comum o uso das próteses sintéticas não absorvíveis como náilon, politetrafluoroetileno, silicone, poliéster, polipropileno, esponja de polivinil, fibras de carbono e das próteses sintéticas absorvíveis feitas de poliglactina 910 e de ácido poliglicólico (BELLÓN, 2005).

Os trabalhos realizados no início da década de 50 por Cumberland (1952) e Scales (1953) demonstraram quais características deve apresentar o material a ser utilizado na confecção das próteses sintéticas. Assim, deve ser não alergênico, não carcinogênico, não ser fisicamente alterado pelos fluidos teciduais, não produzir reação de corpo estranho, devendo ser quimicamente inerte, capaz de resistir às deformações mecânicas da parede abdominal e ser passível de esterilização sem sofrer alterações das suas qualidades, além da facilidade de ser fabricado na forma necessária. Dentre todos os materiais disponíveis, o polipropileno é o que reúne a maioria destes requisitos de biocompatibilidade, demonstrando ser o melhor deles (NIERI, 2005).

A tela de polipropileno permanece macia e flexível, não é absorvida e não está sujeita a degradação ou enfraquecimento pela ação das enzimas do tecido. Proporciona adequada armação para deposição de colágeno e incorporação aos tecidos adjacentes, além de baixo custo (BELLÓN, 1997).

O uso de tela de polipropileno tem aumentado significantemente em todo o mundo, principalmente no que concerne à correção dos grandes defeitos da parede abdominal, resultantes de hérnias incisionais, de trauma e de tumores, nos quais o tamanho do defeito, a precariedade dos tecidos sadios e o excesso de tensão na linha de sutura impõem a utilização de telas (MINOSSI et al., 2008).

Assim, dado o crescente uso de biomateriais e a pesquisa de novos materiais para utilização em cirurgias reconstrutivas, objetivou-se comparar o peritônio da paca conservado em glicerina a 98%, uma nova opção de biomaterial e a membrana de polipropileno, consagrada prótese sintética, quando implantadas na parede abdominal de ratos, no que se refere à biocompatibilidade, capacidade de cicatrização e possíveis complicações, mediante realização de análises macroscópicas, histológicas e do estudo estereológico.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Tela de polipropileno

Durante a década de 1950, inúmeros materiais sintéticos não metálicos foram testados quanto à possibilidade de serem utilizados como prótese e não causar problemas na presença de infecção. Dentre os materiais testados destacam-se o dracon, náilon, polietileno, teflon, polivinil, entre outros (PUTTINI, 2006).

Em 1959, Francis Usher introduziu a tela de polipropileno na prática cirúrgica para correção de defeitos na parede abdominal, obtendo ótimos resultados mesmo frente à infecção. A descoberta da tela de polipropileno naquela década proporcionou grande avanço no reparo das hérnias da parede abdominal, sendo até os dias de hoje, o material mais utilizado (PUTTINI, 2006, NIERI, 2005).

No caso da tela de polipropileno, esta é produzida por polimerização controlada do propileno, um derivado do gás propano (NIERI, 2005).

Tecida em forma de malha, a tela de polipropileno, com fios monofilamentares entremeados por poros de 164 μm x 96 μm, possui uma superfície áspera que permite a infiltração de fibroblastos, facilita a deposição do colágeno e determina uma moderada reação de corpo estranho, preenchendo, assim, a maioria dos critérios de biocompatibilidade (BELLÓN et al., 1997). Apresenta ainda inexpressivo nível de reatividade e relativamente baixo potencial de aderência bacteriana, deste

modo, mesmo quando colocada em ambiente altamente contaminado, a tela aceita total incorporação por tecido de granulação, que, posteriormente, pode ser coberta por um enxerto de pele (BROWN, et al., 1985; RAMOS 2002; MINOSSI et al., 2008;). São descritas algumas complicações com o uso de telas de polipropileno, destacando-se as fístulas intestinais; migração da prótese; erosão para o interior de vísceras; saída do enxerto pela cicatriz cirúrgica; sépsis, e tardiamente, hérnias incisionais (RAMOS 2002).

Alguns trabalhos referenciam sobre as formações de aderências pós-implantes e a incorporação do tecido, associando este fato à constituição do material empregado bem como ao tamanho dos poros. A tela de polipropileno com sua característica macroporosa, promove o crescimento e a incorporação do tecido fibroso ao tecido do hospedeiro, promovendo a uma maior resistência à parede abdominal, este fato por outro lado predispõe a formação de aderências (GRECA et al., 2001; BELLÓN et al., 2001; MATTHEWS et al.,2003; GRECA et al., 2004). A formação de aderências associa-se também ao trauma mecânico e consequente isquemia do peritônio em decorrência do defeito realizado na parede abdominal, favorecendo a migração do omento em direção à área peritoneal, caracterizando como fase dinâmica do processo de cicatrização (SILVA, 2009).

Neste contexto Sher et al. (1980) compararam a formação de aderências intra-abdominais em trinta ratos Wistar com o uso de uma tela de polipropileno, tela de politetrafluoretileno, os autores concluíram que ambas as telas propiciaram semelhante formação de aderências.

Aydos et al. (1999), estudaram comparativamente os efeitos das telas de politetrafluoretileno expandido e de polipropileno em hérnias ventrais produzidas em coelhos, observando aos 35 e 70 dias de pós-operatório incidência maior de aderências e fibras colágenas no grupo tratado com polipropileno.

Ao compararem a tela de polipropileno Marlex® com a tela absorvível Vicryl®, Mazzini e Montovani (1999) observaram, no grupo de ratos tratados com polipropileno, a presença de intensa reação inflamatória e granulomatosa, não verificando aderências.

Pitrez et al. (2000) também utilizaram a tela de polipropileno para reparos de grandes hérnias ostomais em humanos, constatando reforço parietal, com prevenção de recidiva herniária e prolapso da ostomia.

Ramos (2002) comparou a biocompatibilidade da tela de polipropileno e da submucosa intestinal de suíno (SIS) na correção de defeitos criados na parede abdominal de cães. Avaliações clínicas diárias foram realizadas durante 60 dias. Os índices de infecção, hematomas, deiscência, incorporação do implante e formação de aderências foram semelhantes entre os dois materiais. Os resultados obtidos fizeram o autor concluir que a SIS e a tela de polipropileno eram biocompatíveis na correção dos defeitos criados.

Na utilização de telas de polipropileno e politetrafluoetileno na parede abdominal em coelhos aos sete dias, três, nove e dezesseis semanas após implante verificaram-se para os implantes de telas de polipropileno maiores médias de aderências ao omento e intestinos em todos os tempos avaliados quando comparados aos implantes de politetrafluoetileno (MATTHEWS et al.; 2003).

Greca et al. (2004), compararam a biocompatibilidade da submucosa de intestino delgado e da tela de polipropileno no reparo de defeito em parede abdominal de ratos. Após 30 dias, os animais de ambos os grupos apresentaram aderências entre o implante e as estruturas intra-abdominais, todavia no grupo da tela de polipropileno comprovou-se um maior número de aderências entre a tela e alças intestinais. As reações granulomatosas de corpo estranho e inflamação crônica foram mais intensas no grupo submucosa.

Ao estudar a celularidade da reação inflamatória na serosa e mesentério intestinais às telas de poliamida e polipropileno em ratos Wistar com peritonite fecal, observou que a resposta inflamatória celular aguda entre os grupos com as telas não foi diferente entre si e que a peritonite fecal, predominantemente, foi o motivo dos resultados encontrados na resposta celular inflamatória aguda (RUSSI, 2004).

A tela de polipropileno foi empregada na parede abdominal de ratos e avaliada quanto à resposta inflamatória, caracterizando-a em reação inflamatória aguda e crônica com grande quantidade de células gigantes de corpo estranho, tecido de granulação representado por colágeno e neovascularização (BIONDO - SIMÕES et al., 2005).

Paulo et al. (2005) analisaram comparativamente a membrana de látex com a tela de polipropileno na reconstrução de defeitos iatrogênicos da parede abdominal de ratos. Na análise histopatológica observaram infiltrado inflamatório granulomatoso com proliferação de tecido conjuntivo fibroso, grande quantidade de macrófagos, célula gigantes, linfócitos, plasmócitos e neutrófilos. Na análise macroscópica em todos os grupos verificaram-se aderências, causadas pela isquemia local e pela injúria mecânica que os implantes provocam nas vísceras abdominais. Ainda, as aderências implantes-induzidas podem ser explicadas pela reorganização do mesotélio.

Puttini (2006), ao comparar as telas de polipropileno e PTFE-e, implantadas no espaço intraperitoneal de camundongos, observou que as telas de polipropileno determinaram reação cicatricial, com total integração do implante aos tecidos adjacentes. Na avaliação macroscópica, não houve formações de abscessos, fístulas ou peritonite. A formação de aderências foi mínima desfazendo-se facilmente à manipulação. Com relação à resposta inflamatória, observou-se o padrão normal de cicatrização com migração de células polimorfonucleares nos primeiros dias seguida de inflitração de mononucleares e fibroblastos. A formação do novo peritônio se fez de forma desorganizada e irregular.

Na reconstrução abdominal tardia sem tensão em humanos, a tela de polipropileno foi empregada, obtendo-se adequado reforço da parede abdominal (REIS et al., 2006).

Comparando o uso de telas constituídas por materiais parcialmente absorvíveis e a tela de polipropileno na parede abdominal em coelhos, os autores comprovaram que ambas as próteses induziram boa incorporação ao tecido implantado, e força tênsil do tecido fibroso formado (BELLÓN et al.; 2007).

Para avaliarem a presença de aderências peritoniais em ratos, comparou-se a tela de submucosa intestinal suína com a tela de polipropileno. Aos 21 dias, observaram altos índices de aderências com o omento, no grupo tratado com tela de polipropileno. A tela monofilamentar apresentou grande incorporação com os tecidos da parede abdominal e intensa reação inflamatória predispondo a formação de aderências (SCALDO et al., 2008).

Silva (2009) utilizou a tela de polipropileno para substituição de tecido ósseo, implantando a tela em continentes orbitais em cães, observando a presença de tecido conjuntivo fibroso em torno do implante, ocupando toda a superfície e espaços da tela de polipropileno indicando que o material é biocompatível, e, desta forma, contribuiu para a correção de defeitos ósseos.

A tela de polipropileno e a tela de polipropileno revestida por látex foram implantadas em inguinoplastias em cães; os autores constataram a não ocorrência de processos infecciosos, obstrução ou fístula intestinal. As aderências ocorreram com maior prevalência e intensidade com a prótese de polipropileno sem revestimento (ANDRADE et al., 2009).

Na comparação macroscópica do implante da tela de polipropileno revestida por ácido poliglicólico e a tela de poliéster com colágeno no reparo intraperitoneal da parede abdominal em coelhos, Araújo et al. (2009) notaram a presença de aderências frouxas, e a não ocorrências de complicações envolvendo vísceras abdominais, podendo, portanto ser utilizadas para reparo da parede abdominal.

No reparo da parede abdominal em ovelhas, a tela de polipropileno foi comparada com a tela de poliéster. Os resultados obtidos mostram menor reação inflamatória e menor contração ao utilizarem a tela de polipropileno (ZINTER et al., 2010).

Pereira-Lucena et al. (2010) analisaram a resposta inflamatória e a deposição de colágeno com o uso de telas de polipropileno, telas de polipropileno+poliglactina e polipropileno+titânio em ratos. A tela de polipropileno mostrou menor resposta inflamatória com maior deposição de colágeno e maior maturação.

Na correção de defeitos abdominais em ratos, Pundek et al. (2010) avaliaram a tela de polipropileno/poliglecaprone e polipropileno/polidioxanona /celulose oxidada, aos 15 e 30 dias pós implante. As malhas foram semelhanças quanto ao processo inflamatório e integração ao tecido implantado.

Comparando a tela de polipropileno/poliglecaprone e polipropileno/polidioxanona /celulose oxidada, na parede abdominal em ratos, conclui-se que a presença de aderências foi igual nos dois grupos analisados. O emprego da tela de polipropileno/polidioxanona /celulose oxidada promoveu maior processo infeccioso agudo aos sete dias (ISA 2012).

2.2 Peritônio

O peritônio é uma serosa que reveste a cavidade abdominal dos animais; é constituída por uma única camada de células mesoteliais achatadas sustentadas por tecido fibroelástico que se une, mais ou menos firmemente de acordo com a posição das estruturas subjacentes (DYCE; SACK; WENSING, 2004)

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

A conservação deste tipo de membrana tem sido feita em glicerina a 98%, em temperatura ambiente, evitando gastos excessivos e dificuldade na sua manipulação. A glicerina é agente conservante e desidratante, dotada de propriedades anti-sépticas, com amplo espectro de ação, exceto sobre formas bacterianas esporuladas. A textura do material fica preservada, bem como seu grau de elasticidade e resistência (DALECK et al., 1988; ALVARENGA, 1992). Deve-se preservar o peritônio bovino nesse meio por um período mínimo de 30 dias antes de sua utilização (DALECK et al., 1987; DALECK et al., 1988; ALVARENGA, 1992).

Uma vez retirada deste meio de preservação, a membrana deve permanecer submersa em solução fisiológica de NaCl a 0,9%, acrescida de solução antibiótica, por um período de 20 a 30 minutos (ALVARENGA, 1992), embora alguns trabalhos relatem que este período pode ser de no mínimo 10 minutos (DALECK et al., 1987; DALECK et al., 1988). Este procedimento tem por finalidade assegurar a esterilização da membrana associada à reidratação, o que a torna mais maleável, facilitando seu manuseio (ALVARENGA, 1992).

A busca por implantes que possuam ao mesmo tempo baixa antigenicidade e alta resistência é constante e membranas biológicas de caninos, bovinos, equinos e suínos, preservadas em diferentes meios, são estudadas aproximadamente há cinco décadas (PIGOSSI, 1964; INATOMI et al., 1980; DALECK et al., 1987; DALECK et al., 1988; VÁMHIDY et al., 1990; ALVARENGA, 1992; DALECK et al., 1992; REYES, 1993; SARTORI FILHO et al. 1997; BATISTA et al. 1996; COSTA NETO et al., 1999; NOLASCO et al., 2003).

Peritônio bovino tem sido utilizado em estudos experimentais, apresentando resultados satisfatórios. Assim, utilizou-se em cães, o peritônio bovino conservado em glicerina na substituição de retalho diafragmático (DALECK et al. 1988), na reparação de hérnia perineal (DALECK et al., 1992), na tenoplastia do tendão calcanear comum (COSTA NETO et al., 1999) e na esfincteroplastia do músculo esfíncter anal externo (RODASKI et al., 2002) e na cistoplastia experimental (OLIVEIRA et al., 2008).

Enxerto autógeno de peritônio foi implantado no canal inguinal de ratos, demonstrando predomínio de fibroblastos no enxerto. Esta fibroplasia induzida por materiais implantados tanto sintéticos quanto de tecidos autógenos promoveu o reforço da parede muscular, desejado na correção de hérnias (SILVA et al., 2004).

Em ratos testou-se a viabilidade do peritônio bovino, como alternativa para tela cirúrgica implantada na parede abdominal, visto que ele pode ser captado e submetido à mesma técnica de preparo, consagrada para o pericárdio bovino, além de fornecer uma área maior de tecido aproveitável e adaptável às diversas situações da prática cirúrgica (BASTOS et al., 2005).

O peritônio bovino foi testado e comparado com a tela de polipropileno, na correção de defeitos criados na parede abdominal de ratos. Os autores notaram o crescimento de tecido fibrocolagenoso no sítio empregado o qual promoveu integração do peritônio bovino ao tecido implantado, além do baixo custo do implante de peritônio comparado com a tela de polipropileno (BASTOS et al., 2006).

Para reparo de defeito da parede abdominal em cães utilizou-se a associação do enxerto omental pediculado ao enxerto de peritônio bovino conservado em glicerina a 98%, proporcionando cicatrização e resistência tecidual adequadas à manutenção da conformação abdominal. O omento minimizou a formação de aderências desfavoráveis ao peritônio (FREITAS, 2005).

O peritônio da paca foi avaliado por Camargo (2009) através de estudos relativos à sua morfologia microscópica e ultraestrutural, acrescidos dos testes de resistência à tração quando conservadas em glicerina a 98%. Observou que a membrana avaliada constituía-se de mesotélio apoiado em tecido conjuntivo, que variava de frouxo a denso, e este se apresentava modelado e não modelado; este arranjo entremeava células adiposas agrupadas em maior ou menor concentração.

Verificou ainda que o comportamento mecânico do peritônio desse roedor, quanto a resistência à tração, assemelha-se ao peritônio bovino conservado também em glicerina 98%.

2.3 Cicatrização tecidual

O processo de cicatrização tecidual, essencial para a sobrevivência dos seres vivos, de um modo geral, é um fenômeno que pode ser apresentado, subdividido, nas seguintes fases: (1) fase de coagulação, de início imediato logo após o trauma, caracterizada pela formação de um tampão hemostático primário (crosta hemato-fibrinosa), formado por plaquetas, ativação dos fatores da coagulação e liberação de mediadores químicos solúveis, responsáveis pelo desencadeamento dos estágios subsequentes; (2) fase inflamatória, responsável por alterações vasculares e influxo de células inflamatórias (polimorfonucleares, macrófagos e linfócitos) para o sítio da lesão; (3) fase de proliferação, caracterizada pela proliferação de células endoteliais de pequenos vasos sanguíneos (angiogênese), fibroblastos e produção de matriz de colágeno, responsáveis pela formação do tecido de granulação, e início da proliferação de células epiteliais das camadas basais; e (4) fase reparadora, responsável pela remodelagem tecidual, com a substituição do tecido de granulação por tecido conjuntivo denso (GONÇALVES; PARIZOTTO, 1998; ROBINS et al; 2005).

Em feridas cirúrgicas aproximadas por suturas ocorre cicatrização por primeira intenção, evento este também denominado de união primária. A cicatrização por segunda intenção acontece quando a perda de células e tecidos é mais intensa. No processo de cicatrização tanto por primeira, quanto por segunda intenção, ocorrem as seguintes etapas: no período inicial de 24 horas, surgem neutrófilos nas margens da incisão, que se deslocam para o coágulo de fibrina; e, entre 24 a 48 horas, projeções de células epiteliais das bordas migram e crescem ao longo das margens cortadas, depositando componentes da membrana basal à medida que se deslocam. Essas células fundem-se na linha média, abaixo da crosta superficial, produzindo, assim, uma camada epitelial contínua, porém fina. A partir do

terceiro dia, os neutrófilos são, em sua maior parte, substituídos por macrófagos e o tecido de granulação invade progressivamente o espaço da incisão. Nesse momento, aparecem fibras de colágeno nas margens da incisão que inicialmente, possuem orientação vertical e não estabelecem pontes sobre essa incisão. Até o quinto dia, o espaço incisional é preenchido por tecido de granulação e a neovascularização torna-se máxima. As fileiras de colágeno ficam mais abundantes e começam a formar pontes na incisão. (TURNER; McILWRAITH, 1985; COTRAN et al., 2000).

Cotran et al. (2000) acrescentaram que durante a segunda semana, ocorre acúmulo contínuo de colágeno, bem como proliferação dos fibroblastos. O infiltrado de leucócitos, o edema e o aumento da vascularização já desaparecem em sua maior parte. Nessa ocasião, inicia-se o longo processo de empalidecimento, devido ao aumento do acúmulo de colágeno na cicatriz incisional, acompanhado de regressão dos canais vasculares. No final do primeiro mês, a cicatriz consiste em tecido conjuntivo celular destituído de infiltrado inflamatório. A força elástica da ferida aumenta posteriormente, mas podem ser necessários meses para que a recuperação tecidual consiga sua força máxima.

Na cicatrização por primeira intenção, a reação celular e tecidual varia conforme o fio cirúrgico utilizado para reparar a ferida. Neste estudo, empregou-se o náilon que além de sua ampla aplicação, causa mínima reação tecidual sendo relativamente inerte quando implantado nos tecidos (TURNER; McILWRAITH, 1985; RAHAL et al., 1997; BOOTHE, 2007).

O implante de biomateriais resulta em injúria tecidual e promove uma reação inflamatória, fator este, importante no processo de cicatrização e nas complicações associadas ao seu uso (PUTTINI, 2006). Essa reação consiste basicamente da migração e ativação de macrófagos, formação de células gigantes na superfície do material implantado, proliferação de fibroblastos, deposição de colágeno e neovascularização (BELLÓN et al, 2005).

2.4 Estereologia

Utiliza-se a estereologia na determinação de parâmetros quantitativos tridimensionais de estruturas anatômicas a partir de cortes bidimensionais, aplicando-se a geometria e a estatística. A maior parte dos dados para os estudos estereológicos são obtidos diretamente da microscopia óptica e eletrônica (PEREIRA; MANDARIM-DE-LACERDA, 2001).

A estereologia apresenta vantagens científicas sobre estudos qualitativos, uma vez que os resultados são numéricos e não subjetivos, sendo, portanto reproduzíveis em qualquer outro laboratório, além do fundamento estatístico bem estabelecido que respalda este método (PEREIRA; MANDARIM-DE-LACERDA, 2001).

Os dois conceitos básicos da estereologia são: determinações “sem desvio” (sem viés) e pouca variabilidade. Para a realização do estudo estereológico é necessário a utilização de amostras sistematicamente e uniformemente aleatórias onde todos os campos de amostragem tem a mesma probabilidade de serem selecionados, desde o momento da coleta até o processamento final dos dados (LACERDA, 2006).

Águila et al. (1998) fizeram uso desta metodologia para comparar as diferenças quantitativas na composição e estrutura do miocárdio de ratos jovens e idosos, revelando que no envelhecimento ocorre perda de miócitos cardíacos e hipertrofia das células remanescentes.

Lopes-Paulo (2002) empregou a estereologia para quantificar elementos estruturais de forma precisa das paredes do cólon e reto, uma vez que a avaliação anatomopatológica destas estrutura utilizam comumente critérios subjetivos como por exemplo a classificação de determinadas alterações em "leves, moderadas ou intensas". Concluiu em seu estudo que a estereologia é um método de quantificação confiável, traduzindo numericamente os resultados de trabalhos experimentais devendo o seu emprego ser considerado quando da realização de estudos que necessitem a comparação de alterações estruturais, quer seja em animais ou em humanos.

O diagnóstico de algumas formas de hiperplasia endometrial em humanos é complicado devido a controvérsias sobre os critérios histológicos. No entanto, com

microscopia óptica e estereologia, foram estudados as glândulas (epitélio e luz) e o estroma, determinando-se as densidades de volume, de superfície e de comprimento. Os resultados obtidos corroboraram com estudos prévios que demonstraram a importância de parâmetros quantitativos no diagnóstico das afecções do endométrio, oferecendo novos parâmetros estereológicos para esta análise (AVVAD-PORTARIL et al., 2003).

Thiel (2006) analisou quantitativamente com método estereológico a densidade de fibras colágenas formadas após implante na parede abdominal de ratos de quatro tipos de materiais: silicone, submucosa intestinal suína, polipropileno e poligalactina. Aos 7 dias de pós-operatório, todos os materiais induziram resposta inflamatória moderada. Aos 30 e 90 dias, menor reação do poligalactina, seguida de resposta moderada ao polipropileno e silicone e severa reposta inflamatória da submucosa intestinal suína.

Turiel (2011) avaliou a resposta inflamatória no sistema nervoso central pelo método estereológico “fractionator” em camundongos neonatos com encefalite induzida pelo vírus da dengue e concluiu que a resposta imune inata está associada ao aumento significativo do número de microglias do que de astrócitos reativos, sendo essa mudança dependente da camada e região investigada.

A estereologia também foi utilizada por Shirazi, Noorafshan e Serhan (2012) no estudo comparativo do processo cicatricial por meio da resposta inflamatória de diferentes fios de sutura no reparo da hipospadia em ratos. Concluiram que o poliglecaprone 25 apresentou menor infiltração de linfócitos, maior número de vasos e um maior lúmen uretral.

3. OBJETIVO

Objetivou-se comparar o peritônio da paca, conservado em glicerina a 98% e a tela sintética de polipropileno, quando implantados na parede abdominal de ratos, no que se refere à biocompatibilidade, capacidade de cicatrização e possíveis

complicações, mediante realização de análises macroscópicas, histológicas e estereológicas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FCAV, Câmpus de Jaboticabal, UNESP, sob protocolo n° 014006/10, pois está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

4.1 Grupos experimentais

Foram utilizados 60 ratos, machos, da linhagem Wistar pesando entre 150 e 200 gramas. Os animais foram mantidos, durante a fase experimental, em gaiolas individuais de 30cm x 20cm x 18cm localizadas no Biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da FCAV, Câmpus de Jaboticabal, UNESP, e receberam ração e água à vontade.

Os animais foram divididos, de acordo com os tratamentos em três grupos experimentais: GI – grupo controle (n=20), GII – grupo peritônio da paca conservado em glicerina a 98% (n=20), e GIII – grupo tela de polipropileno (n=20); destes, dividiu-se cada grupo (n=20) em quatro subgrupos (n=5) referentes ao momento da eutanásia para avaliações macroscópicas e microscópicas: M7 – aos 7 dias, M15 – aos 15 dias, M30 – aos 30 dias, M60 – aos 60 dias de pós-operatório.

4.2 Aquisição da membrana de peritônio da paca

O peritônio parietal utilizado neste trabalho foi retirado de pacas utilizadas em outros experimentos em andamento concomitantemente a este. Dessa forma, não

foi necessária a realização da eutanásia de animais, apenas para se obter o material para esta pesquisa.

Os animais foram provenientes do plantel de pacas do setor de Animal Silvestres da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal (FCAVJ, UNESP), que é registrado no Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA, como criatório de espécimes da fauna brasileira para fins científicos (cadastro de registro - 482508) – ANEXO 1.

Assim, logo após o óbito, o animal, que já se encontrava no Laboratório de Anatomia da FCAVJ, UNESP, foi posicionado em decúbito dorsal, sobre a mesa de dissecação e, em seguida, mediante incisão pré-retroumbilical na linha mediana, a cavidade abdominal foi acessada.

Após a exposição da face interna da parede abdominal, que é revestida por peritônio parietal em toda sua extensão, iniciou-se a colheita desta membrana, descolando-a cuidadosamente, tanto da parede abdominal direita, quanto da esquerda. (Figura 1)

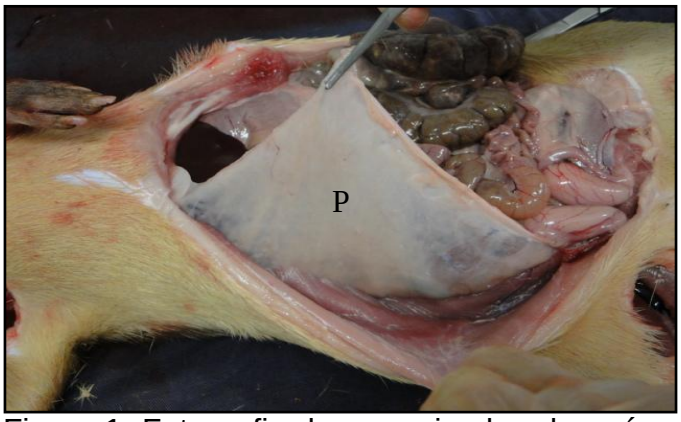


Figura 1. Fotografia de um animal onde após a exposição da face interna da parede abdominal, iniciou-se a colheita do peritônio parietal (P), descolando-o cuidadosamente, tanto da parede abdominal direita, quanto da esquerda.

Em seguida à colheita, os fragmentos de peritônio foram lavados em água corrente para retirada de sujidades, sangue e tecidos que ficaram aderentes. Em seguida, foram acondicionados em frasco de vidro estéril contendo glicerina a 98%, onde permaneceram totalmente imersos para conservação e armazenamento, sob temperatura ambiente, por período não inferior a 30 dias (DALECK et al., 1988).

4.3 Aquisição da membrana de polipropileno

A tela de polipropileno, nome comercial Trulene mesh ®, é fabricada pela “Sutures India Pvt Ltd.”;. Após a aquisição da membrana o produto foi mantido em sua embalagem original, em local fresco e seco, até o momento do procedimento cirúrgico.

4.4 Procedimento cirúrgico

4.4.1 Pré-operatório

Os animais foram submetidos ao jejum pré-anestésico, alimentar de 12 horas e água “ad libitum”. Para o procedimento cirúrgico os ratos foram anestesiados com a dose de 50mg/kg de quetamina e 5mg/kg de xilazina, pela via intramuscular (PUTTINI, 2006).

Após 15 minutos, os animais foram posicionados em decúbito dorsal, onde realizou ampla tricotomia da região abdominal ventral seguida da anti-sepsia de rotina com clorexidine 2% e álcool 70%.

4.4.2 Trans-operatório

Para o Grupo Controle (n=20) realizou-se a laparotomia abdominal mediana iniciada logo abaixo do apêndice xifóide, envolvendo a pele, tela subcutânea e camada muscular. Em seguida retirou-se um segmento da musculatura e suas aponeuroses, medindo 2 cm de comprimento por 1 cm de largura, seguida pela sutura contínua desse mesmo segmento com fio de náilon 4-0. A redução do tecido subcutâneo e a sutura de pele foram realizadas com sutura contínua com fio de náilon 4-0. As etapas descritas estão ilustradas na Figura 2.

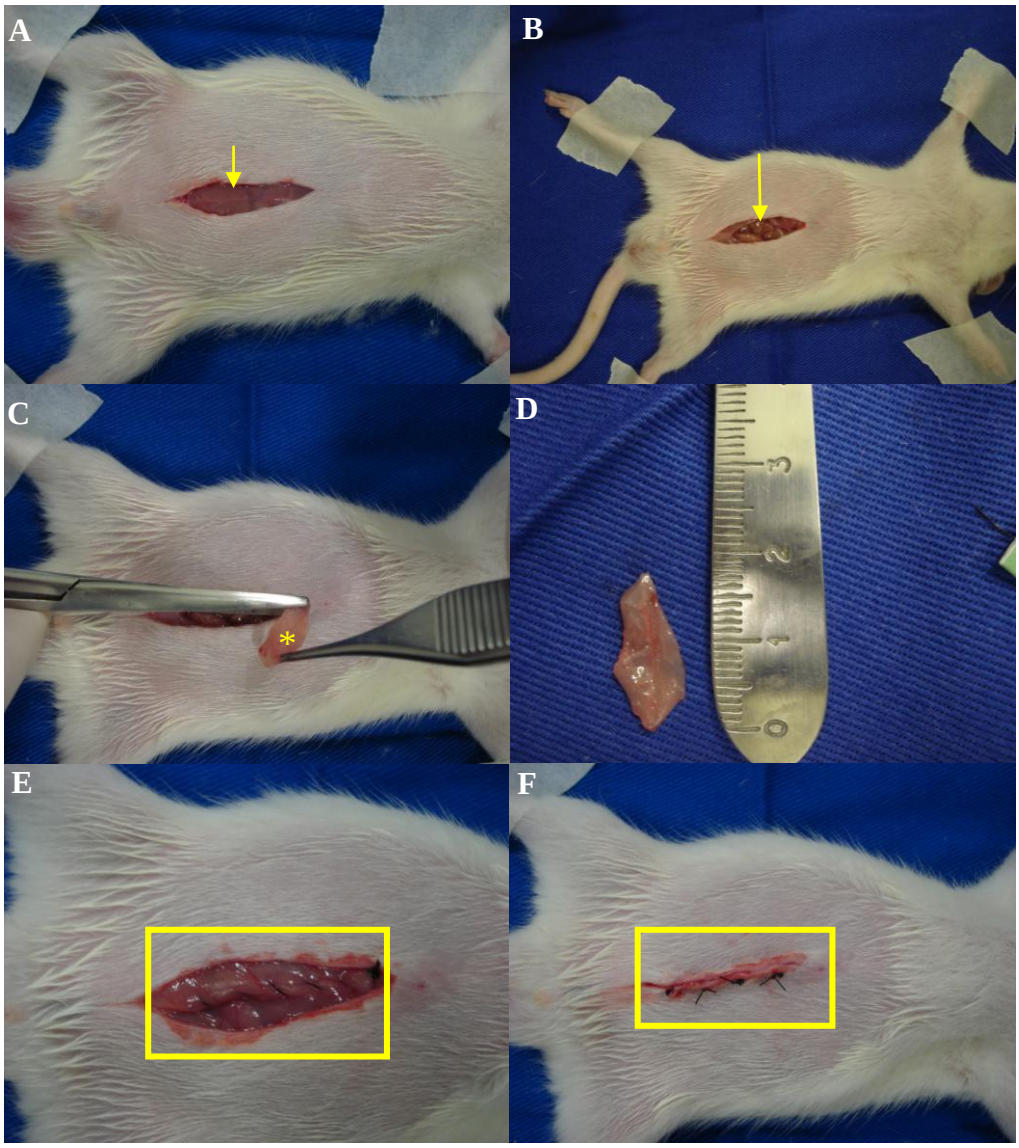


Figura 2. Fotografias de um rato macho da linhagem Wistar, pertencente ao grupo controle, onde em A e B se observa a incisão abdominal mediana iniciada logo abaixo do processo xifóide, abrangendo pele, tela subcutânea e camada muscular (seta). Em C verifica-se a retirada do segmento formado pelas diversas camadas de músculos e aponeuroses abdominais (*). Em D, a mensuração (cm) do segmento, em E sutura contínua dessa incisão com náilon 4-0 (retângulo) e em F, sutura de pele (retângulo).

No Grupo Peritônio da paca (n=20), procedeu-se a retirada do segmento formado pelas camadas musculares e aponeuroses abdominais. Para tanto se demarcou a região com molde medindo 2cm x 2cm. Após a retirada desse segmento promoveu-se sua substituição com um fragmento do mesmo tamanho de membrana

de peritônio da paca, suturada com padrão contínuo com fio de náilon 4-0. A redução do tecido subcutâneo e a sutura de pele com sutura contínua com fio de náilon 4-0. As etapas descritas estão ilustradas na Figura 3.

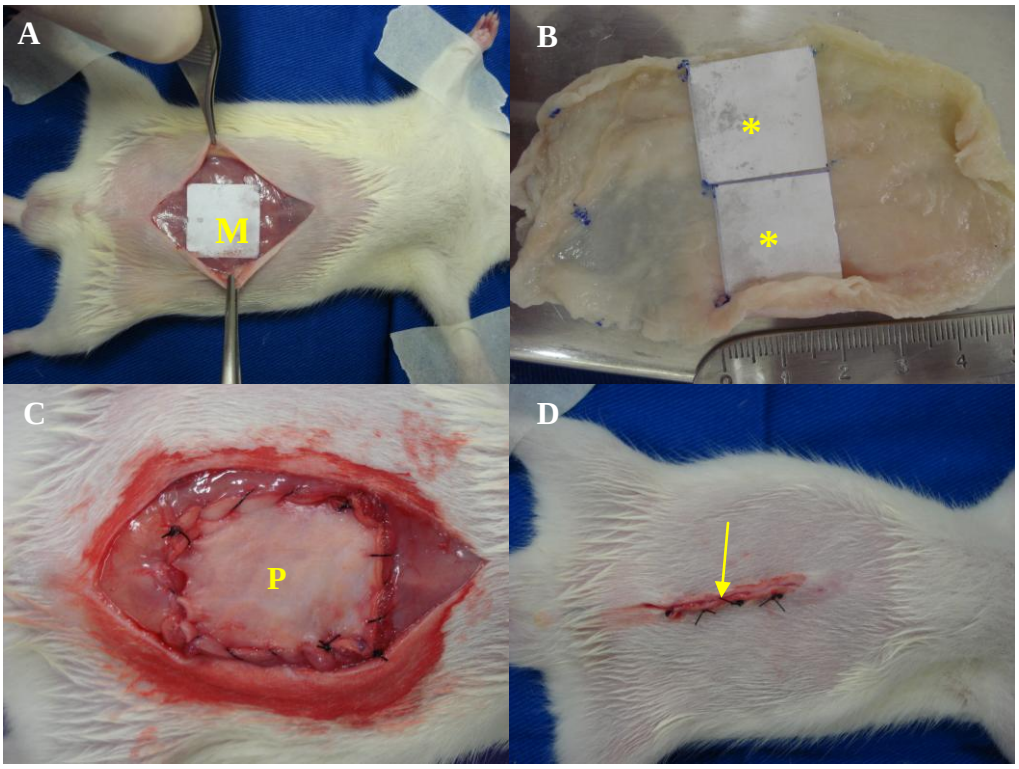


Figura 3. Fotografias de um rato Wistar macho, onde em A observa-se a demarcação do segmento músculo e as aponeuroses abdominais com molde medindo 2cm x 2cm (M) e em B a demarcação do segmento na membrana de peritônio da paca (*). Em C nota-se a membrana suturada com fio de náilon 4-0 padrão contíunuo (P). E finalmente em D, sutura de pele (seta).

No Grupo Tela de polipropileno (n=20), procedeu-se a retirada do segmento formado das camadas musculares e aponeuroses abdominais. Para tanto se demarcou a região com molde medindo 2cm x 2cm. Após a retirada desse segmento promoveu-se sua substituição com um fragmento do mesmo tamanho com a tela de polipropileno, suturada com fio de polipropileno 5-0 em padrão contínuo. A redução do tecido subcutâneo e a sutura de pele foram realizadas com sutura contínua com fio de náilon 4-0. As etapas descritas estão ilustradas na Figura 4.

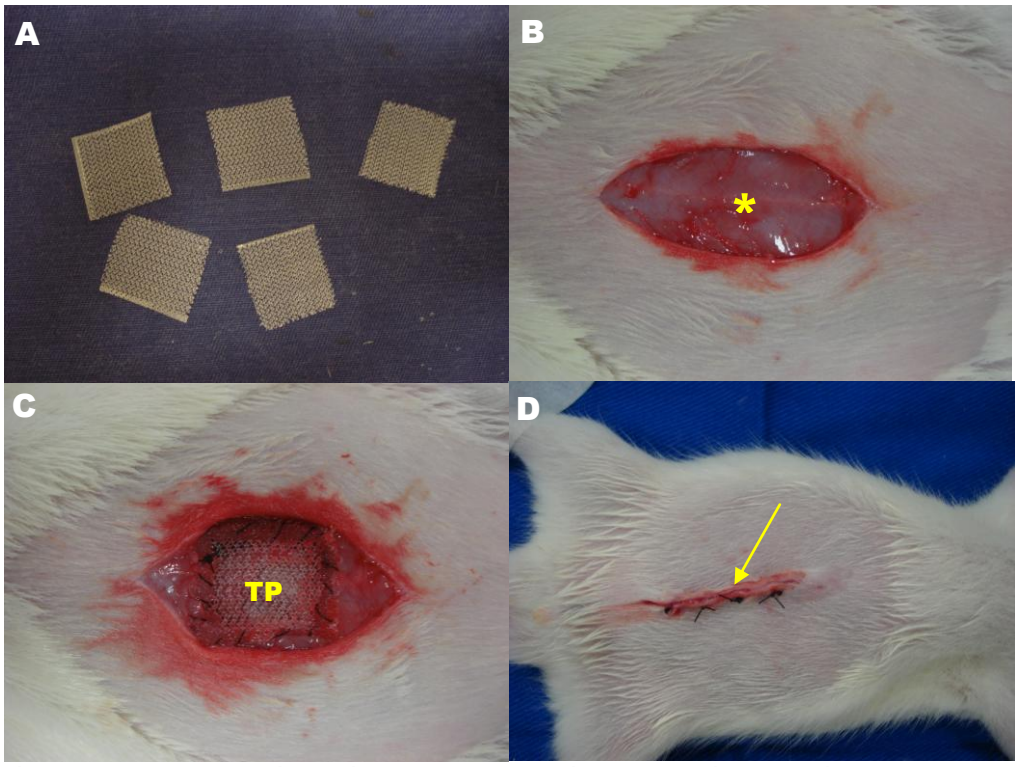


Figura 4. Fotografias de um rato Wistar macho, onde em A se observam os moldes da tela de polipropileno medindo 2cm x 2cm. Em B a região (*) do segmento músculo e suas aponeuroses abdominais onde foi colocada a tela de polipropileno. Em C verifica-se a tela de polipropileno (TP), suturada com fio de polipropileno 5-0 em padrão contínuo. E finalmente em D, sutura da pele (seta).

4.4.3 Pós-operatório

Todos os animais foram avaliados no período pós-operatório imediato quanto à recuperação anestésica e a cada 24 horas. Após o término do ato operatório, os animais receberam dose única de diclofenaco de potássio (10mg/Kg) por via intramuscular. Durante todo o período que antecedeu a colheita do material a ser analisado, foram observadas as seguintes características: aspecto da ferida cirúrgica, estado geral dos animais, ingestão de alimento e água e aspecto das fezes e urina.

Para avaliações macroscópicas e microscópicas, os ratos foram eutanasiados nos diferentes momentos (M7, M15, M30 e M60) mediante a administração de 100 mg/kg de quetamina associada com 20 mg/kg de xilazina por via IM, seguida por

toracotomia e, para fixação a realização de perfusão intracardíaca, primeiramente com uma solução heparinizada a 2% em tampão fosfato 0,1 M pH 7.4 e posteriormente com solução de Karnovsky modificado (glutaraldeído 3% e paraformol 1% em Tampão fosfato 0,1 M pH 7.4). A perfusão foi realizada em bomba Masterflex® com velocidade de 8 mL/ minuto.

4.4.4 Avaliações macroscópicas

A cavidade abdominal foi aberta e investigada quanto a ocorrência de aderências de órgãos, necrose, fístula, formação de abscesso e presença de inflamação local.

4.4.5 Avaliações microscópicas e estereológicas

Foram removidos fragmentos com 9 cm^2 da interface implante/tecido nativo de todos os animais, inclusive dos animais pertencentes do grupo controle. Estes fragmentos foram acondicionados em solução Karnovsky modificado tendo sido sustentados por alfinetes em um pedaço de isopor e armazenadas em geladeira para posterior análise (Figuras 5).

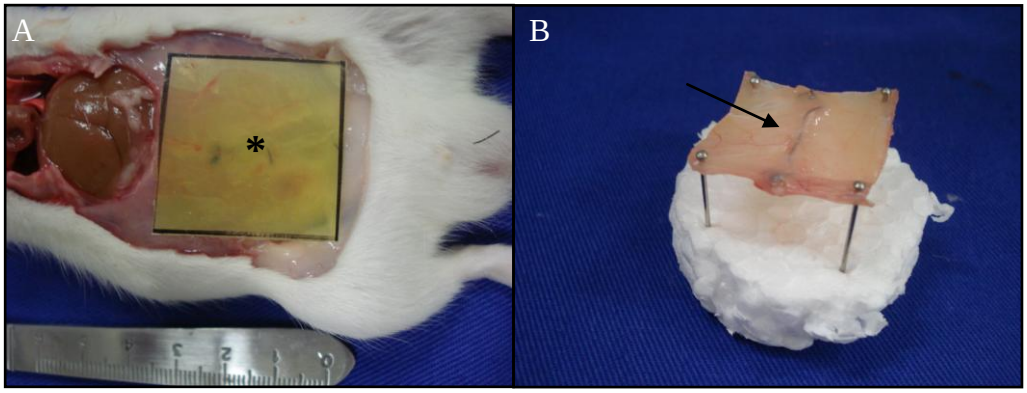


Figura 5. Fotografias de um rato Wistar, macho, onde em A foi retirado um fragmento com 9 cm^2 contendo a interface implante com tecido nativo (*) e em B este mesmo fragmento foi sustentado por quatro alfinetes presos em uma folha de isopor de 1.5 cm para posterior acondicionamento em solução fixadora de Karnovsky (seta).

Para a análise histopatológica, o material também foi fixado em solução tamponada de formaldeído a 10%, sendo posteriormente incluídos em Histosec®[1] (Merck). Para inclusão em Histosec® o material foi lavado em álcool a 70°GL, durante sete dias, para retirar o excesso do fixador. Em seguida, os fragmentos foram submetidos à desidratação, em concentrações crescentes de álcool (70 a 100GL), por aproximadamente 90 minutos. Após este procedimento, a embebição do material foi feita em Histosec® por 90 minutos, na faixa de 60°C a 70°C de temperatura, onde se procedeu a inclusão. A microtomia do material foi realizada em micrótomo automático (Leica, RM 2155), obtendo-se cortes de 5μm com auxílio de navalhas descartáveis, que foram fixados em lâminas e submetidos às colorações por Hematoxilina e Eosina (HE). Todas as preparações foram fotodocumentadas em microscópio de luz Leica DM 5000 B para análise morfológica.

A outra metade do material, fixada em solução de Karnovsky modificado, foi utilizada para o estudo estereológico. Cada amostra, correspondente a interface implante / tecido nativo, de cada animal, foi seccionada em 10 partes, resultando em pequenas frações de 0,3 cm de espessura cada; destas 10 selecionaram-se aleatoriamente, por tabela randomizada, três fragmentos que foram lavados em solução tampão fosfato (0,1M, pH 7,4) durante oito dias consecutivos para retirada do excesso de fixador, posteriormente, realizou-se o processo de desidratação do material com álcool a 70°GL, seguido de sua conservação em álcool a 80GL, sob refrigeração.

A etapa seguinte constituiu-se na infiltração do material em solução de Historesin[2] (Leica-Germany) e álcool a 80GL, por aproximadamente quatro horas. Em seguida, cada pequena fração do material foi incluído em histomolde para a polimerização inicial em temperatura ambiente durante 15 a 30 minutos e polimerização final em estufa sob temperatura de 37,5°C, por uma semana. A microtomia deste material foi realizada em micrótomo automático (Leica, RM 2155) com auxílio de navalhas de vidro, obtendo-se seis cortes (três pares) de 2 μm por bloco com intervalos de 12 μm, estipulados previamente mediante experimento

[1] Merck KGaA. 64271 Darmstadt. Germany

piloto, no qual mensurou-se o tamanho da célula a ser avaliada. Depois de realizado este procedimento, os cortes foram fixados em lâminas e submetidos às colorações de HE (BEHMER; TOLOSA; FREITAS-NETO, 1976).

Em ato contínuo, o material foi quantificado por meio de estudo estereológico do tipo disector físico e design “fractionator”, com auxílio do “Software Leica Application Suíte”. Assim, dos seis cortes obtidos por bloco, apenas dois cortes (um par), aleatoriamente selecionados, foram utilizados como referência e “look up” para a avaliação comparativa. Destes cortes selecionados, padronizou-se, em aumento de 10x, a área de interesse, contendo a região de interface implante / tecido nativo em cada corte e dividiu-a em 16 campos microscópicos de 40 x. Cinco campos sistematicamente aleatórios foram selecionados dentre estes 16 campos possíveis, sendo correspondentes em cada par, permitindo a contagem celular no mesmo campo visual. Todas as preparações foram fotodocumentadas em microscópio de luz Leica DM 5000 B e inseridas no Microsoft Power Point para facilitar a comparação entre as lâminas referência e “look up”. Uma frame com 18cm x 11,5cm impressa em transparência, tamanho A4, foi colocada sobre a tela do computador para a contagem celular no modelo “Two way”, que consiste da leitura da lâmina de referência para a lâmina “look up” e vice versa. Foram avaliados o número total de mononucleares e de polimorfonucleares presentes do processo de reparação da parede abdominal. Obteve-se o resultado total das células mononuclares e polimorfonucleares com base no sistema “fractionator”, o qual representa o número total das células inflamatórias contadas pelo inverso das frações amostradas (GUNDERSEN, 1998; TURIEL, 2011), utilizando-se a seguinte fórmula:

$N = \Sigma Q^{-}. bsf^{-1} . ssf^{-1} . asf^{-1}$

Onde:

N = número total de células;

Q- = Número de células por área de interesse;

bsf: fração do bloco, no estudo = 3/10 (de 10 pequenos fragmentos de cada amostra selecionaram-se três);

ssf: fração de secção, no estudo = 4/30.000 (de 30.000 µm que é a espessura total dos pequenos fragmentos apenas 4µm foram utilizados);

asf: fração de área, no estudo = 5/16 (de 16 campos, selecionaram-se 5).

4.5. Análise Estatística

Para o estudo estereológico das variáveis, o número total de partículas (N) de cada perfil (mononuclear e polimorfonuclear) foi analisado com o uso do delineamento experimental inteiramente ao acaso com os tratamentos no esquema fatorial (GI, GII, GIII e M7, M15, M30, M60) com cinco repetições para cada cruzamento dos níveis dos fatores.

A análise de variância foi realizada segundo o Teste de Tuckey 5% de probabilidade, pelo software MINITAB, da FCAV, Câmpus de Jaboticabal, UNESP.

5. RESULTADOS

5.1 Observação dos animais no período pós-operatório

Quanto ao aspecto da ferida cirúrgica, o grupo controle (GI) não apresentou alterações dignas de nota. No Grupo Peritônio da Paca (GII), 13 animais (65%) apresentaram aumento de volume abdominal e ocorrência de fístula aos 12 dias de pós-operatório seguida por formação de tecido de granulação (Figura 6) e 1 animal (5%) apresentou área de necrose na pele com posterior expulsão da membrana (Figura 7) e 1 animal (5%) apresentou evisceração e foram eutanasiados (Figura 8).

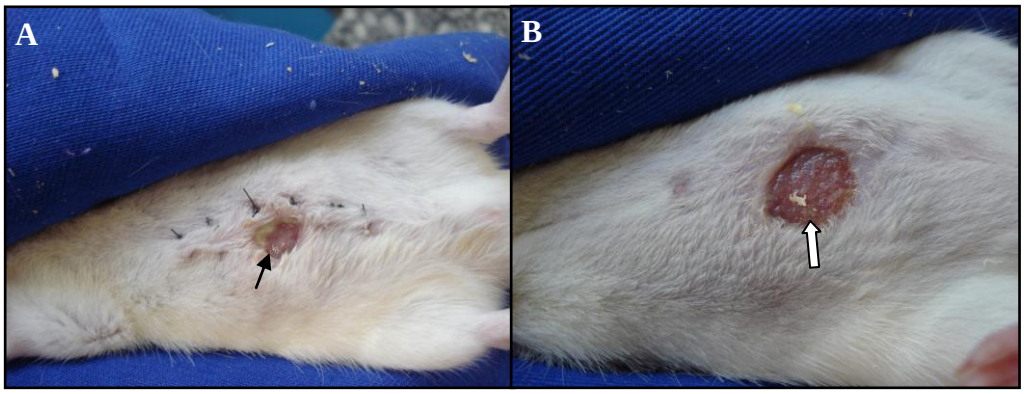


Figura 6. Em A, fotografia de um rato Wistar pertencente ao grupo peritônio da paca (GII), aos 12 dias de pós-operatório ocorreu fistulação de pele (seta preta) e em B no mesmo animal nota-se a formação de tecido de granulação (seta branca) após fistulação.

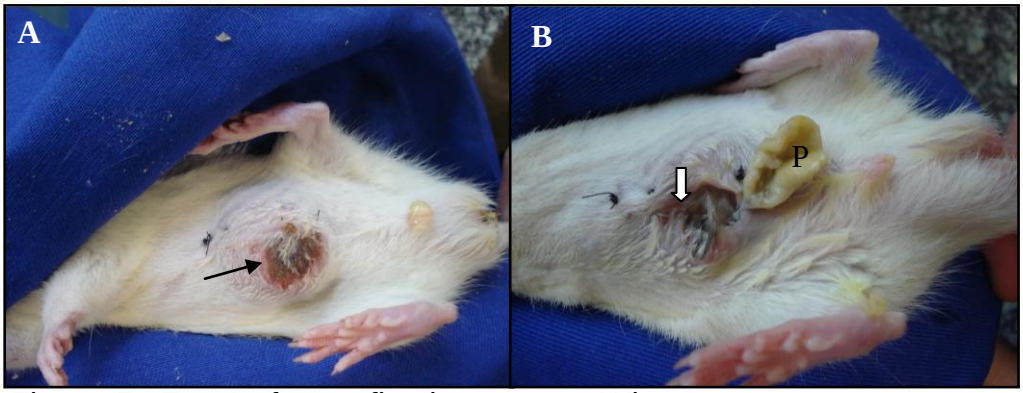


Figura 7. Em A, fotografia de um rato Wistar pertencente ao grupo peritônio da paca (GII), aos 12 dias de pós-operatório nota-se presença de abaulamento e área de necrose na pele (seta preta). E em B demostra-se a formação de fístula (seta branca) com posterior expulsão da membrana (P) implantada.

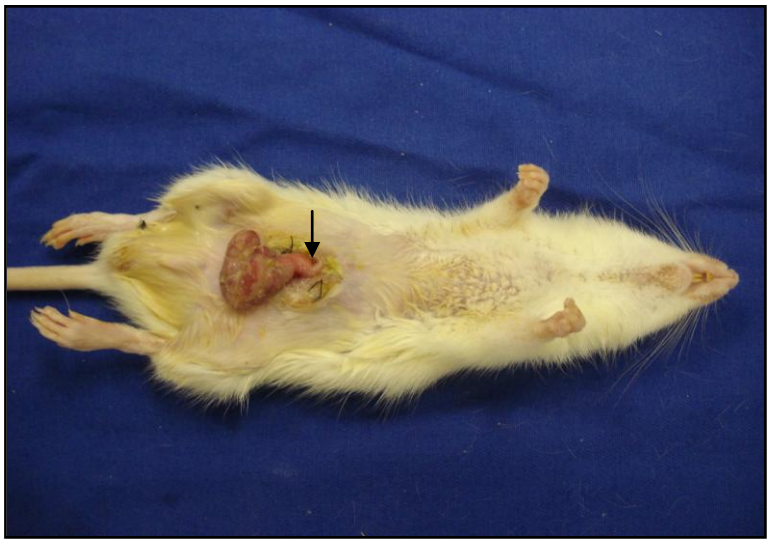


Figura 8. Fotografia de um rato Wistar pertencente ao grupo peritônio da paca (GII), aos 12 dias de pós-operatório apresentou evisceração (seta); e foi eutanasiado.

Dos animais pertencentes ao Grupo tela de polipropileno (GIII), apenas 1 animal (5%) apresentou aos 13 dias de pós-operatório fistulação com exposição da tela de polipropileno, o qual teve que ser eutanasiado (Figura 9).

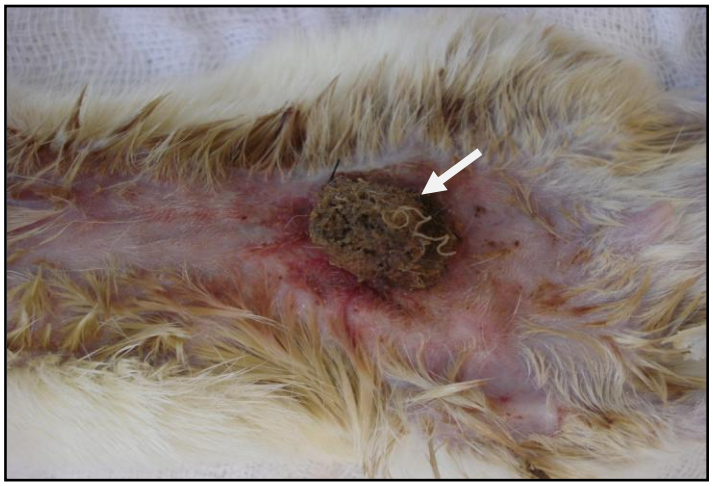


Figura 9. Fotografia de um rato Wistar pertencente ao grupo tela de polipropileno (GIII), aos 13 dias de pós-operatório apresentou evisceração (seta); este animal foi eutanasiado.

5.2. Avaliação Macroscópica

5.2.1 Grupo Controle (GI)

Macroscopicamente, verificou-se em todos os animais eutanasiados nos diferentes momentos (sete, 15, 30, 60 dias de pós-operatório), a ocorrência de aderências do omento ao fio de sutura (Figura 10).

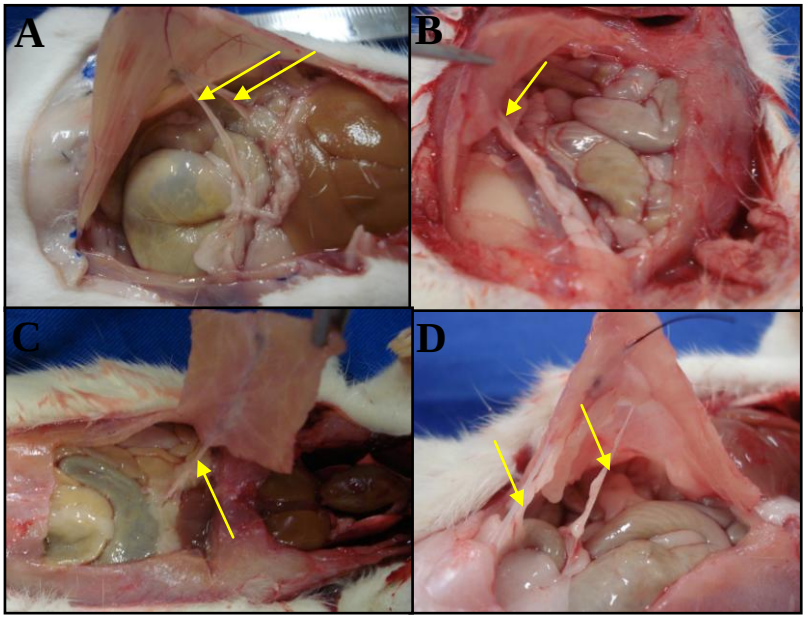


Figura 10. Fotografias de um rato Wistar, macho, pertencente ao grupo controle (GI), eutanasiado em A aos sete dias de pós-operatório, em B aos 15 dias, em C aos 30 dias e em D aos 60 dias de pós-operatório verificam-se a presença de aderências do omento ao fio de sutura (setas).

5.2.2 Grupo Peritônio da Paca (GII)

Verificou-se macroscopicamente nos animais, eutanasidos do GII aos sete dias de pós-operatório, que 100 % dos animais apresentaram aderência na área do implante com o omento (Figura 11 A), 100 % dos animais avaliados apresentavam abaulamento na pele, onde após dissecção do local constatou-se a presença de seroma (Figura 11 B). Dos animais avaliados aos sete dias de pós-operatório, 100% apresentaram boa cicatrização entre membrana e musculatura do animal.

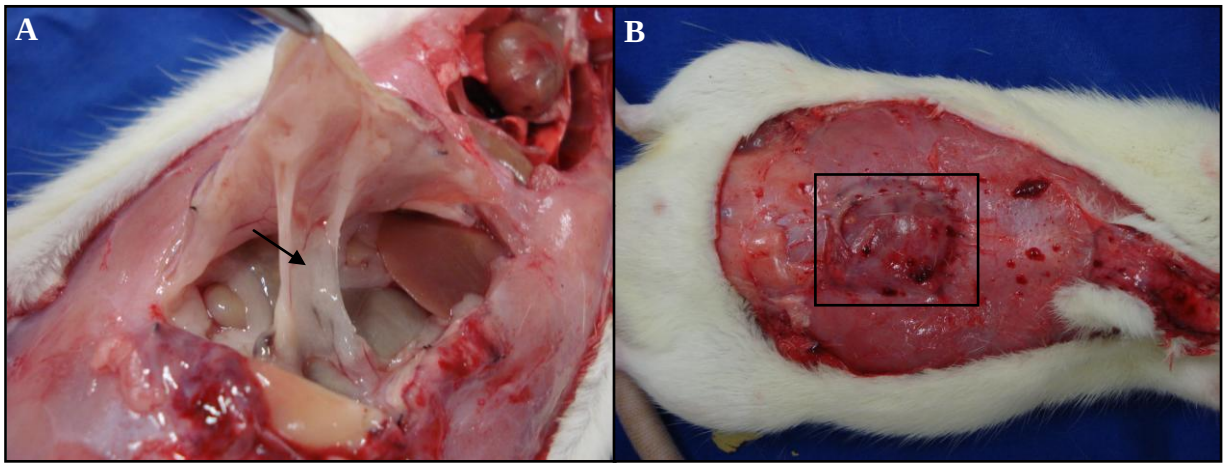


Figura 11. Fotografias de um rato Wistar, macho, pertencente ao grupo peritônio da paca (GII), e eutanasiado aos sete dias de pós-operatório, verifica-se em A aderência na área do implante com o omento (seta preta) e em B a presença de abaulamento (retângulo).

Macroscopicamente, aos 15 dias, observou-se, em 100 % dos animais, aderência na área do implante com o omento (Figura 12 A), 40% apresentaram abscesso com área de flutuação e conteúdo purulento viscoso (Figura 12B) e em 100% visibilizou-se boa cicatrização entre membrana e musculatura do animal.

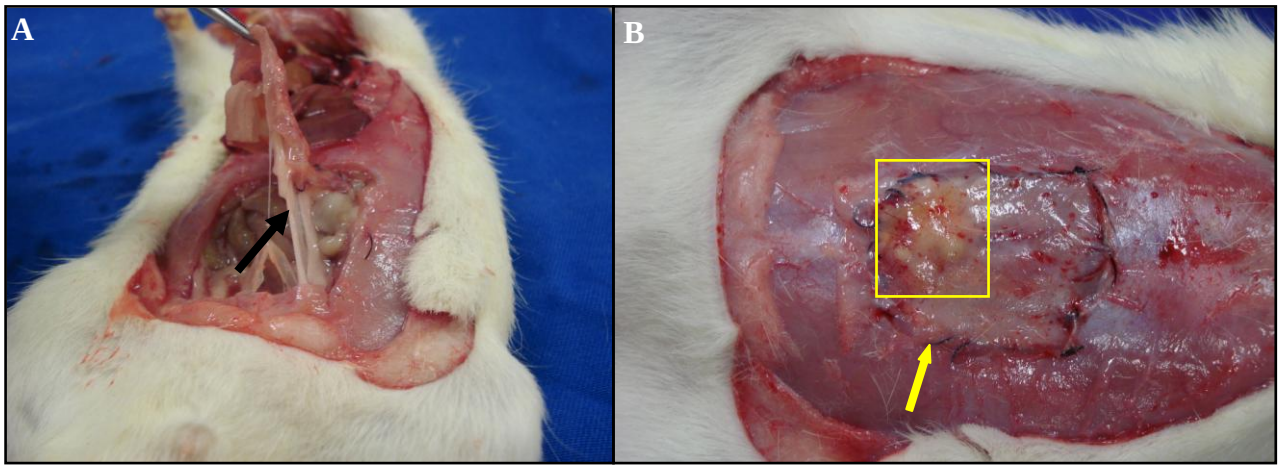


Figura12. Fotografias de um rato Wistar, macho, pertencente ao grupo peritônio da paca (GII) eutanasiado aos 15 dias de pós-operatório, nota-se, em A, aderência na área do implante com o omento (seta preta) e em B, nota-se a presença de abscesso (retângulo) na área do implante e boa cicatrização membrana-musculatura (seta).

Verificou-se macroscopicamente nos animais eutanasiados aos 30 dias, que 100 % dos ratos apresentaram aderência da área do implante com o omento (Figura 13 A), 20 % dos animais eutanasiados apresentaram abscesso encapsulado (Figura 13 B) e 100% apresentaram boa cicatrização entre membrana e musculatura do animal (Figura 13 B).

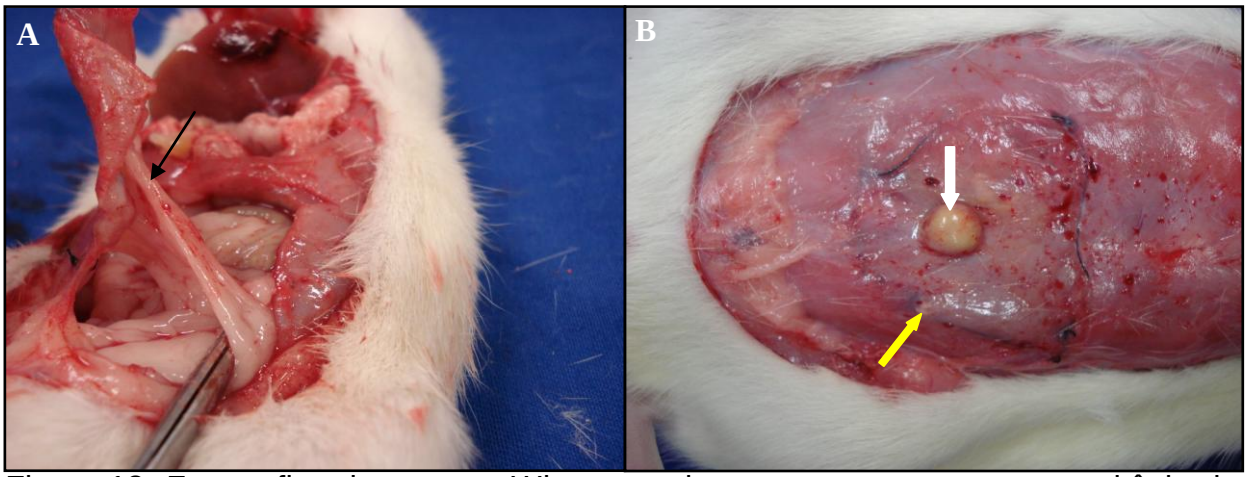


Figura 13. Fotografias de um rato Wistar, macho, pertencente ao grupo peritônio da paca (GII) eutanasiado aos 30 dias de pós-operatório verifica-se em A aderência da área do implante com o omento (seta preta) e em B a ocorrência de abscesso encapsulado (seta branca) e boa cicatrização entre membrana-musculatura (seta amarela).

Macroscopicamente, verificou-se nos animais, eutanasiados aos 60 dias, que 20 % dos ratos apresentaram aderência da área do implante com o omento (Figura

14A) e visibilizou-se em 100% dos ratos boa cicatrização entre membrana e musculatura do animal (Figura 14B).

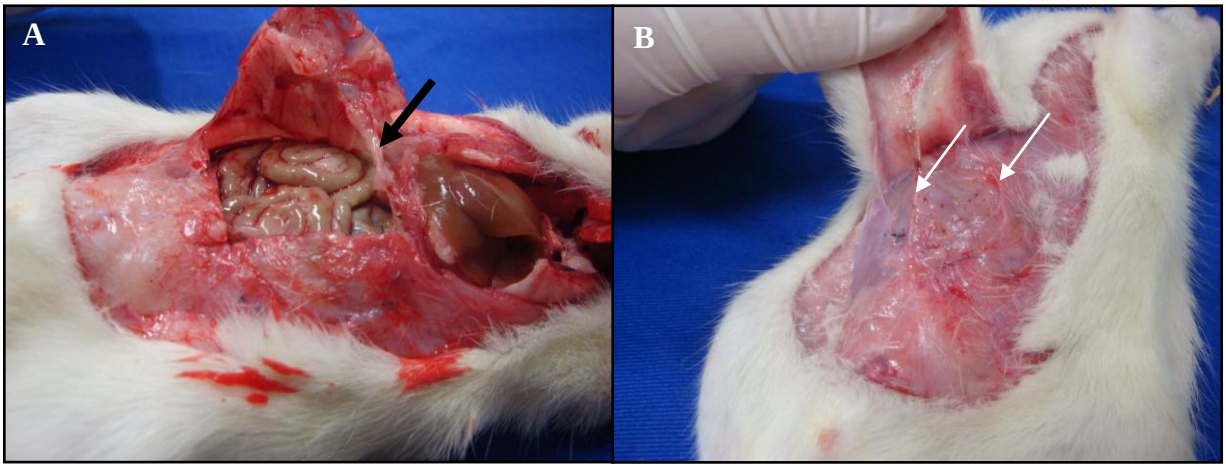


Figura 14. Fotografias de um rato Wistar, macho, pertencente ao grupo peritônio da paca (GII) eutanasiados aos 60 dias de pós-operatório observa-se em A, aderência da área do implante com o omento (seta preta) e em B boa cicatrização membrana-musculatura (setas brancas).

5.2.3 Grupo Tela de Polipropileno (GIII)

Verificou-se macroscopicamente nos animais, eutanasiados aos sete dias, que 100 % dos animais apresentaram aderência na área do implante com o omento (Figura 15) e 100% dos ratos boa cicatrização entre membrana e musculatura do animal.

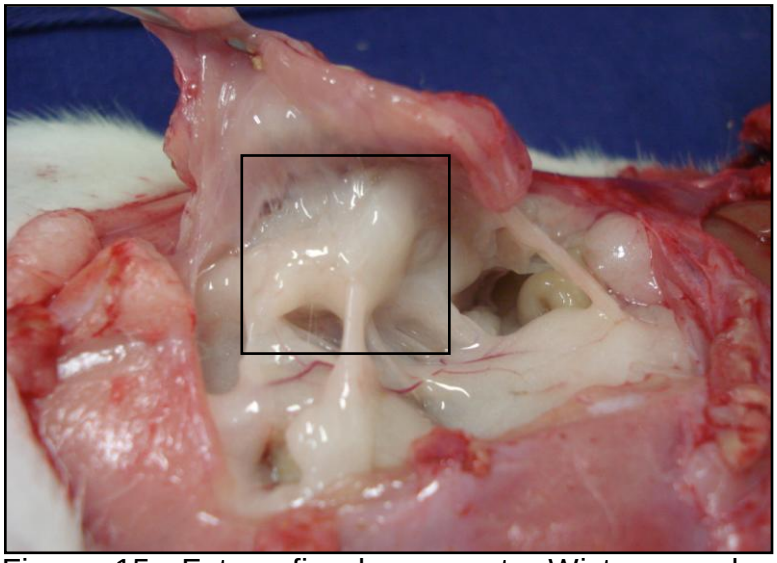


Figura 15. Fotografia de um rato Wistar, macho, pertencente ao grupo tela de polipropileno (GIII) eutanasiado aos sete dias de pós-operatório verifica-se aderência da área do implante com o omento (quadrado).

Macroscopicamente, verificou-se nos animais, eutanasiados aos 15 dias, que 100 % dos animais apresentaram aderência na área do implante com o omento (Figura 16), 100% dos ratos boa cicatrização entre membrana e musculatura do animal.

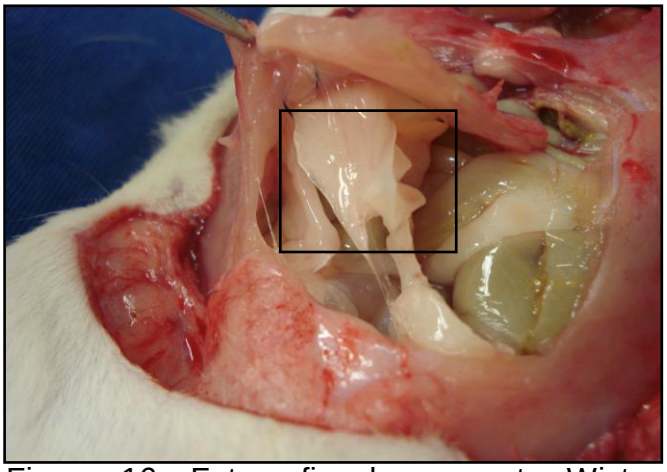


Figura 16. Fotografia de um rato Wistar, macho, pertencente ao grupo tela de polipropileno (GIII), eutanasiado aos 15 dias de pós-operatório, constata-se aderência da área do implante com o omento (quadrado).

Verificou-se macroscopicamente nos animais, eutanasiados aos 30 de pós-operatório que 100 % dos animais apresentaram aderência na área do implante com o omento (Figura 17A), e boa cicatrização entre a membrana e musculatura do animal (Figura 17B).

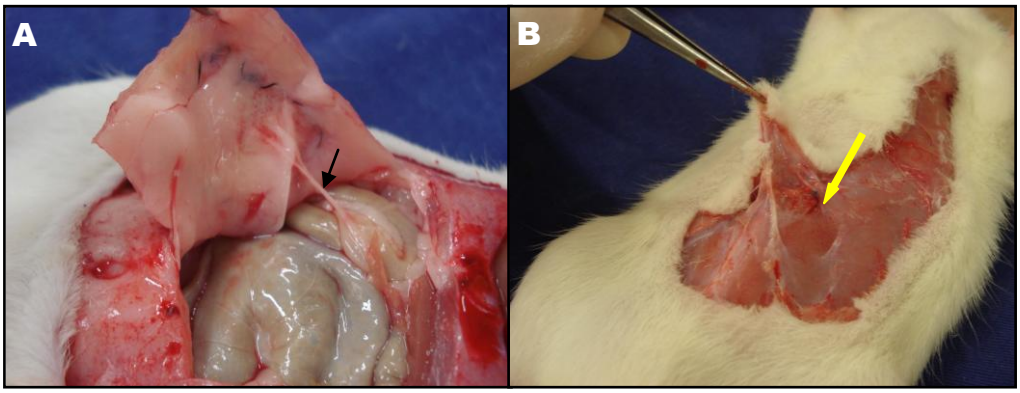


Figura 17. Fotografias de um rato Wistar, macho, pertencente ao grupo tela de polipropileno (GIII) eutanasiado aos 30 dias de pós-operatório observa-se em A aderência da área do implante com o omento (seta preta) e em B boa cicatrização membrana- musculatura (seta amarela).

Macroscopicamente, verificou-se nos animais, eutanasiados aos 60 dias de pós-operatório que em 100 % dos animais apresentaram aderência na área do implante com o omento (Figura 18) e boa cicatrização entre membrana e musculatura do animal.

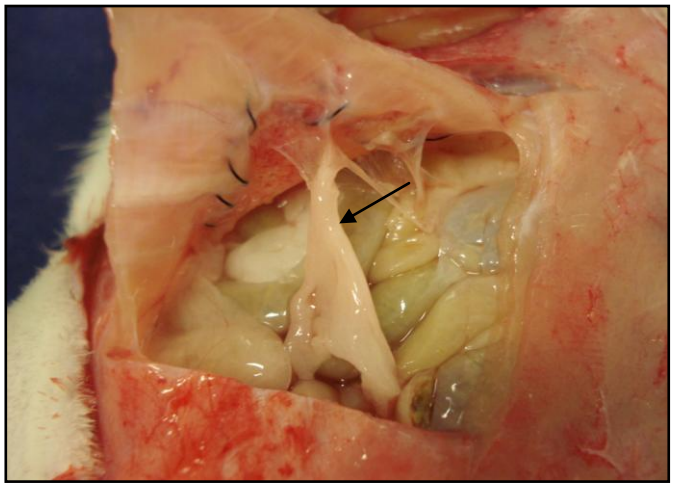


Figura 18. Fotografia de um rato Wistar, macho, pertencente ao grupo tela de polipropileno (GIII) eutanasiado aos 60 dias de pós-operatório verifica-se aderência da área do implante com o omento (seta preta).

5.3. Avaliação Microscópica

5.3.1 Grupo Controle (GI)

Em todas as amostras referentes ao GI, em todos os momentos (sete, 15, 30 e 60 dias de pós-operatório), observou-se, sob microscopia de luz, na região da retirada do segmento elíptico do músculo e suas aponeuroses com todas as camadas e posterior sutura, presença de tecido fibroso separando as camadas musculares (Figura 19) e a presença de infiltrado inflamatório misto ao redor do fio

de sutura, com predominância de mononucleares e raros polimorfonucleares (Figura 20).

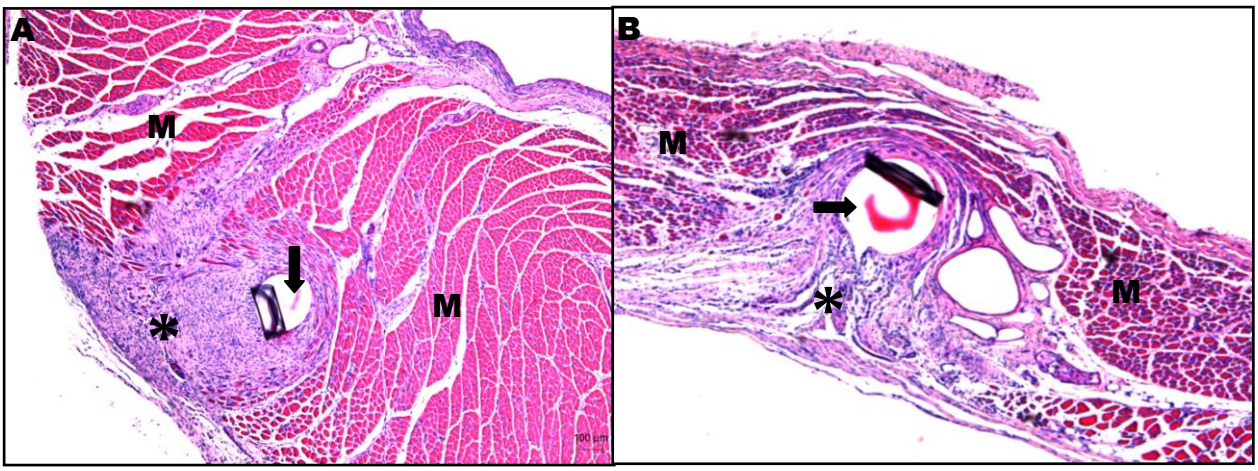


Figura 19. Fotomicrografias de fragmento abdominal do Grupo controle (GI) de rato Wistar, macho. Em A aos sete dias de pós-operatório e em B aos 60 dias de pós-operatório, nota-se a presença de tecido fibroso (*) separando as camadas musculares (M). Presença do fio de sutura (seta) (Paraplast, HE, 5X).

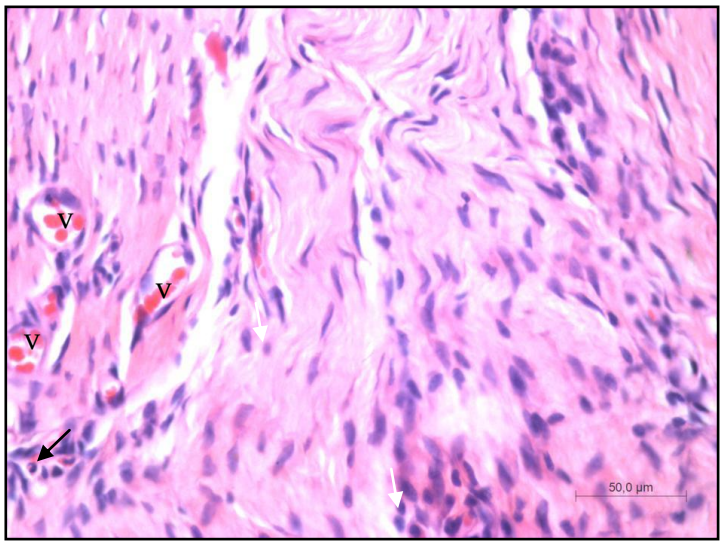


Figura 20. Fotomicrografia de fragmento abdominal do Grupo controle (GI) de rato Wistar, macho aos 60 dias de pós-operatório. Observa-se infiltrado inflamatório misto representado por polimorfonucleares (seta preta), linfócitos (seta branca) e vasos (V) (Paraplast, HE,40x).

5.3.2 Grupo Peritônio da Paca (GII)

Nas amostras dos implantes de peritônio da paca, aos sete dias de pós-operatório, observadas à microscopia de luz, verificou-se, no local em que o implante foi afixado a presença de tecido adiposo, descontinuidade das camadas musculares separadas por tecido fibroso acompanhado de infiltrado inflamatório misto com predominância de mononucleares e raros polimorfonucleares (Figura 21).

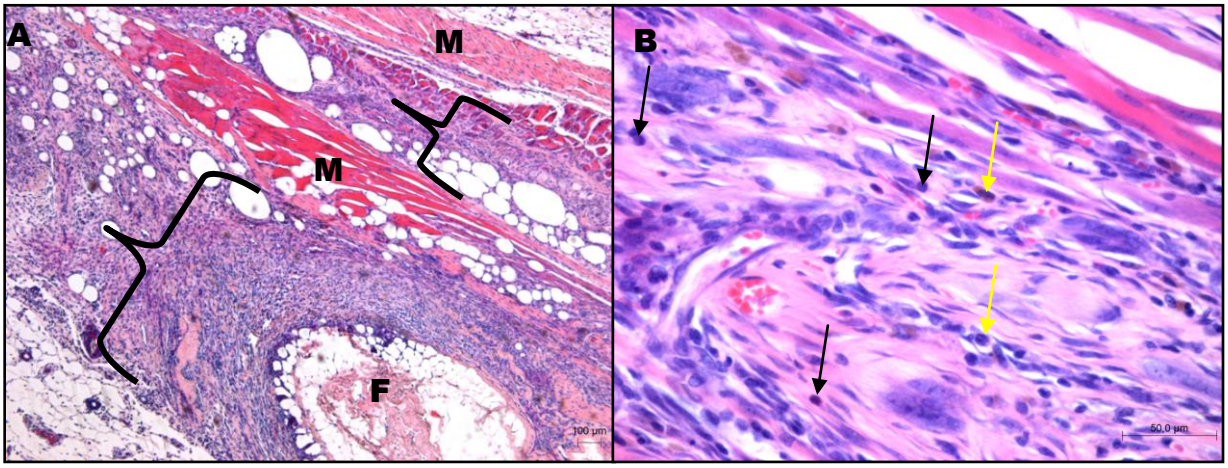


Figura 21. Fotomicrografias da região de implante peritônio da paca (GII), de um rato Wistar, macho, eutanasiado aos sete dias de pós-operatório. Em A verifica-se descontinuidade das camadas musculares (M), unidas por um discreto tecido fibroso( ) e em B nota-se infiltrado inflamatório misto representado por polimorfonucleares (seta amarela) e mononucleares (seta preta). (Paraplast, HE, 5X e 40 X respectivamente).

Em todas as amostras, avaliadas aos 15 dias de pós-operatório, à microscopia de luz, verificou-se tecido adiposo, descontinuidade das camadas musculares separadas por um tecido fibroso acompanhado de infiltrado inflamatório misto com raros polimorfonucleares e predominância de mononucleares ao redor do fio de sutura e do implante (Figura 22).

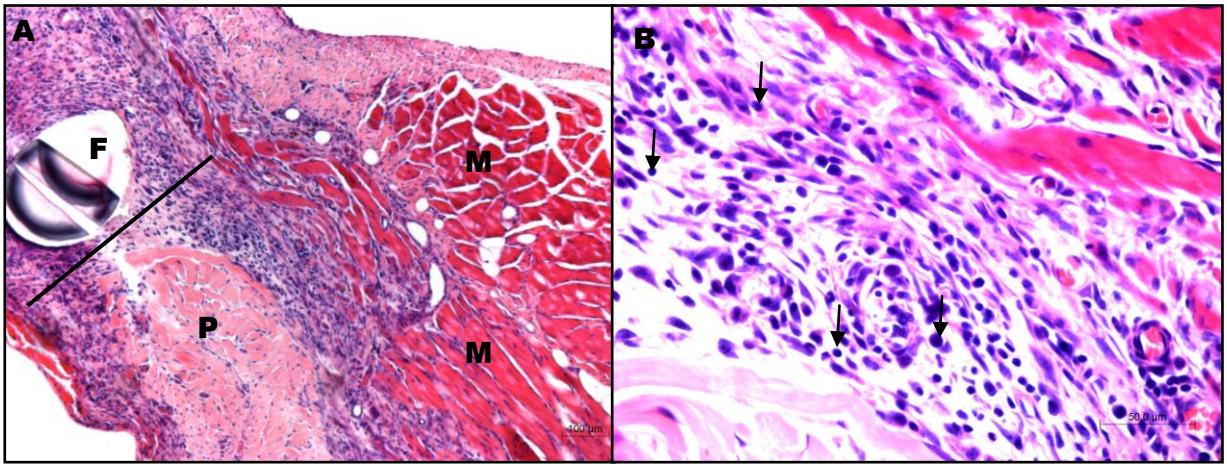


Figura 22. Fotomicrografias da região de implante de peritônio da paca (GII), de um rato Wistar, macho, eutanasiado aos 15 dias de pós-operatório onde em A nota-se descontinuidade das camadas muscular (M), unidas por um tecido fibroso (traço), próximos ao fio de sutura (F) e ao implante (P) e em B verifica-se infiltrado inflamatório misto com predominância de linfócitos (seta preta) (Paraplast, HE, 5X e 40 X respectivamente).

Aos 30 dias de pós-operatório, em todas as amostras avaliadas à microscopia de luz, constatou-se, no local em que o implante foi afixado, a presença de tecido fibroso justaposto à camada muscular. Presenciou-se também infiltrado inflamatório mononuclear (Figura 23).

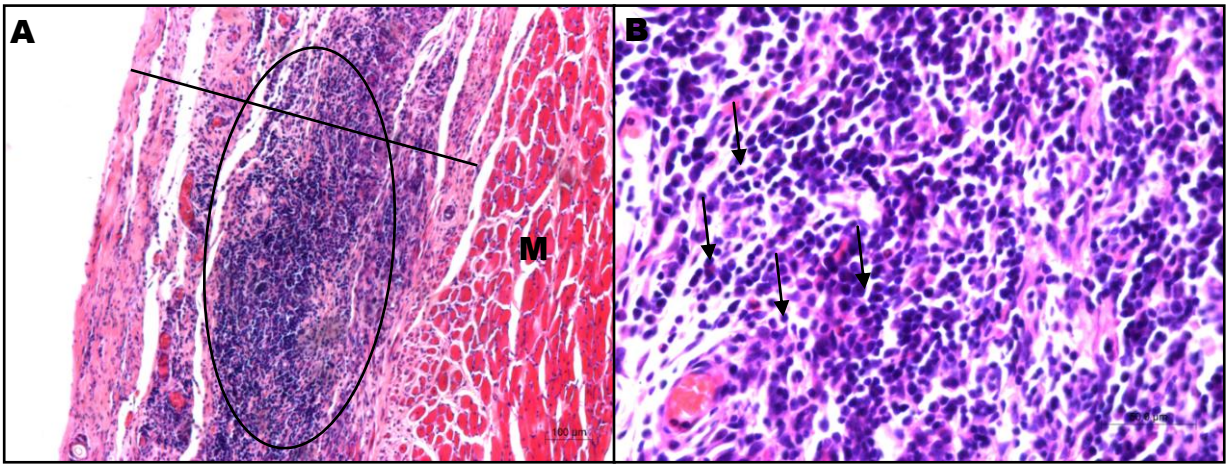


Figura 23. Fotomicrografias da região de implante de peritônio da paca (GII), de um rato Wistar, macho, eutanasiado aos 30 dias de pós-operatório onde em A nota-se a presença de moderado tecido fibroso (traço) justaposto à camada muscular (M). Acompanhado da presença de infiltrado inflamatório mononuclear focal (elipse). Em B a presença de infiltrado inflamatório mononuclear (seta preta) (Paraplast, HE, 5X e 40 X respectivamente).

Aos 60 dias de pós-operatório, verificou-se no local em que o implante foi afixado, a presença de tecido fibroso entremeado à camada muscular (Figura 24 A). Em meio aos fibroblastos, observam-se feixes musculares e discretos mononucleares (Figura 24 B).

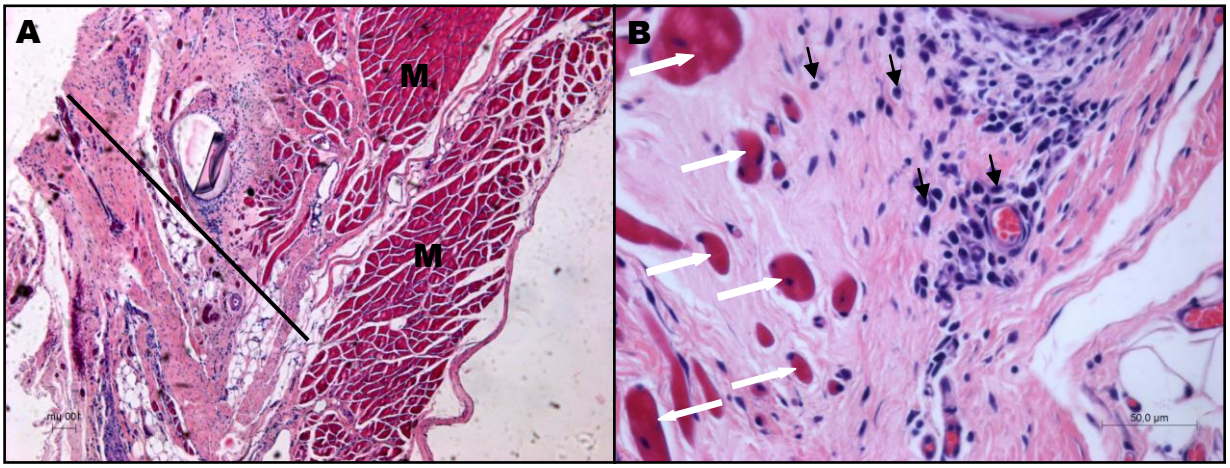


Figura 24. Fotomicrografias da região de implante de peritônio da paca (GII), de um rato Wistar, macho, eutanasiado aos 60 dias de pós-operatório, em A, observa-se, no local onde o implante foi afixado a presença de tecido fibroso (traço) próximo à camada muscular (M). Em B verificou-se a presença de feixes musculares (seta branca) e linfócitos (seta preta) entremeados ao tecido fibroso. (Paraplast, HE, 5X e 40 X respectivamente).

5.3.3 Grupo Tela de Polipropileno (GIII)

Nas amostras relativas aos implantes de tela de polipropileno, tanto dos animais eutanasiados aos sete dias, quanto dos animais sacrificados aos 15 dias, observadas à microscopia de luz, verificou-se, no local em que o implante foi afixado, a presença de tecido fibroso separando as camadas musculares (Figura 25) acompanhado de moderado infiltrado inflamatório misto com predomínio de mononucleares (Figura 26).

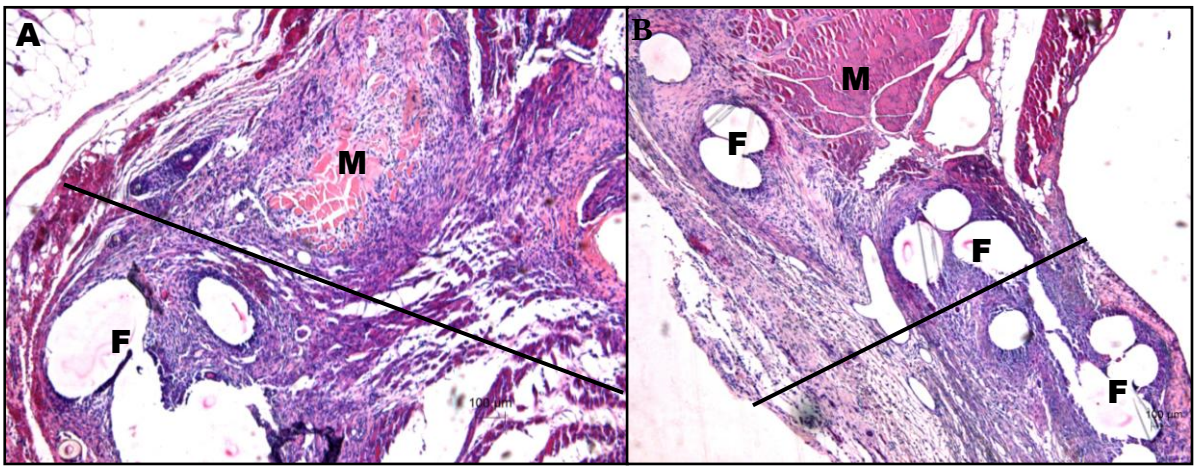


Figura 25. Fotomicrografias da região de implante de tela de polipropileno (GIII), de um rato Wistar, macho, eutanasiado em A aos sete dias de pós-operatório e em B aos 15 dias de pós-operatório nota-se, no local do implante afixado, tecido fibroso (traço) separando as camadas musculares (M). Fio de sutura (F) (Paraplast, HE, 5X e 5 X respectivamente).

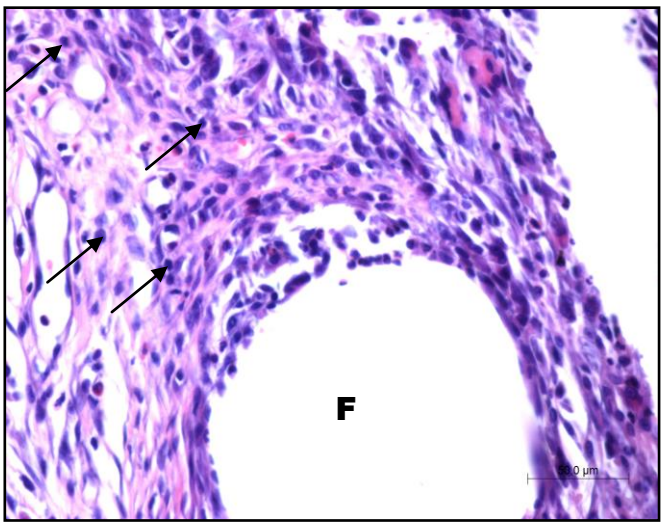


Figura 26. Fotomicrografia da região de implante de tela de polipropileno (GIII), de um rato Wistar, macho, eutanasiado aos 7 dias de pós-operatório onde verificou-se a presença de moderado infiltrado inflamatório misto com predomínio de linfócitos (seta preta); Espaço formado pelo fio de sutura (F) (Paraplast, HE, 40X).

Aos 30 e 60 dias de pós-operatório, à microscopia de luz, constatou-se, no local em que o implante foi afixado, a presença de tecido fibroso separando as camadas musculares (Figura 27) acompanhados de um moderado infiltrado inflamatório mononuclear representado por linfócitos (Figura 28).

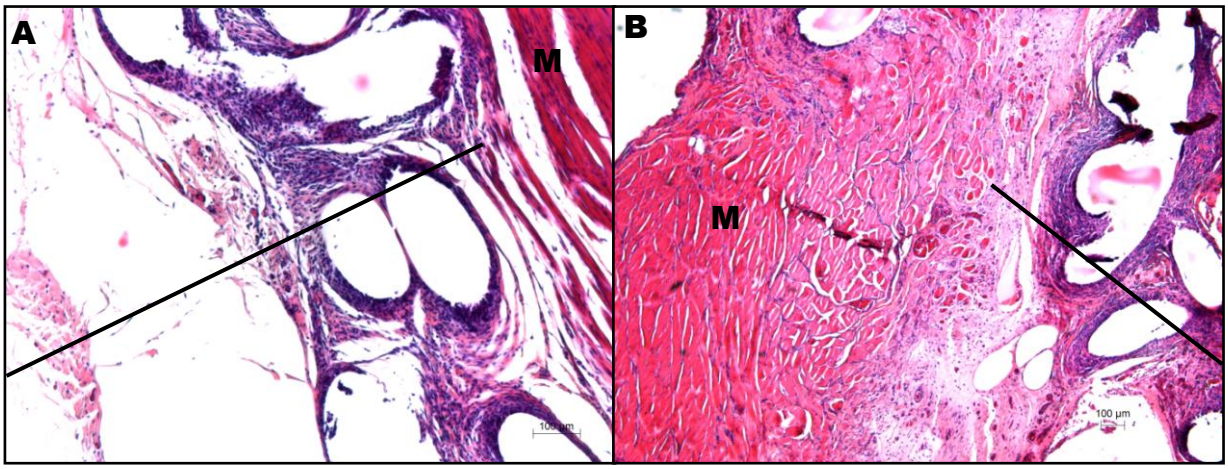


Figura 27. Fotomicrografias da região de implante de tela de polipropileno (GIII), de um rato Wistar, macho, eutanasiado em A aos 30 dias de pós-operatório e em B aos 60 dias de pós-operatório onde constata-se no local do implante tecido fibroso (traço) separando as camadas musculares (M). (Paraplast, HE, 5X e 5 X respectivamente).

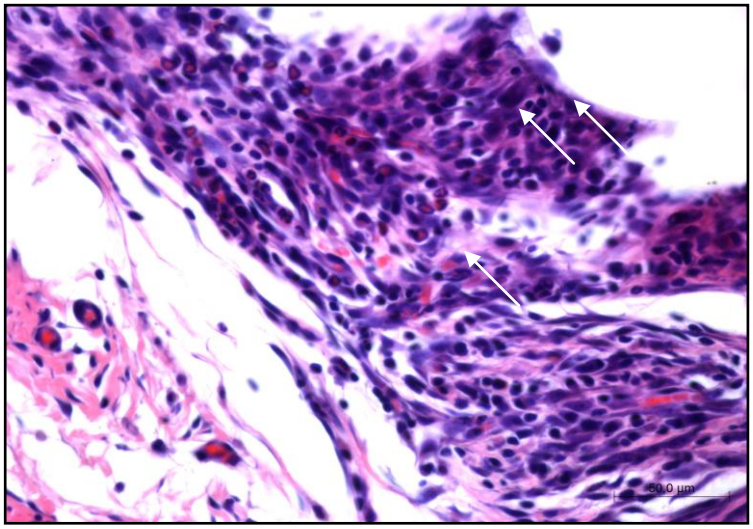


Figura 28. Fotomicrografia da região de implante de tela de polipropileno (GIII), de um rato Wistar, macho, eutanasiado aos 30 dias de pós-operatório. Verifica-se infiltrado inflamatório mononuclear representado por linfócitos (seta branca) (Paraplast, HE, 40X).

5.4 Estereologia

O número total de mononucleares verificados em cada animal nos diferentes grupos e momentos obtidos pelas análises estereológicas podem ser visibilizados nas Tabelas 1, 2 e 3. O número total de polimorfonucleares foi zero, desta forma não foi possível a avaliação de seus valores.

Tabela1. Registros referentes ao número total de mononucleares nos animais do GI, observados nos momentos: M7, M15, M30 e M60 de pós-operatório. Jaboticabal, SP, 2012.

Animal	***M7***	***M15***	***M30***	***M60***
1	18.701.280	5.994.000	7.072.920	5.874.120
2	5.434.560	6.833.160	9.190.800	4.315.680
3	5.314.680	11.268.720	28.411.560	6.153.840
4	6.833.160	4.755.240	7.512.480	4.515.480
5	4.395.600	18.301.680	10.709.280	4.915.080
Total	40.679.280	47.152.800	62.897.040	25.774.200

Tabela 2. Registros referentes ao número total de mononucleares nos animais do GII, observados nos momentos: M7, M15, M30 e M60 de pós-operatório. Jaboticabal, SP, 2012.

Animal	*M7*	*M15*	*M30*	*M60*
1	12.987.000	6.033.960	90.309.600	6.033.960
2	14.065.920	10.309.680	18.621.360	11.188.800
3	19.060.920	13.186.800	4.315.680	17.942.040
4	19.020.960	11.108.880	31.568.400	9.670.320
5	13.226.760	23.136.840	16.463.520	16.623.360
Total	78.361.560	63.776.160	161.278.560	61.458.480

Tabela 3. Registros referentes ao número total de mononucleares nos animais do GIII, observados nos momentos: M7, M15, M30 e M60 de pós-operatório. Jaboticabal, SP, 2012.

Animal	*M7*	*M15*	*M30*	*M60*
1	19.800.000	32.280.000	2.160.000	4.320.000
2	9.600.000	20.280.000	6.960.000	1.760.000
3	20.520.000	10.920.000	2.360.000	1.640.000
4	52.600.000	10.360.000	26.440.000	1.120.000
5	37.880.000	50.240.000	8.600.000	21.360.000
Total	140.400.000	124.080.000	46.520.000	30.200.000

5.5 Análise estatística pelo teste de tukey a 5% de probabilidade

Análise de variância de medidas repetidas foi o método estatístico usado para avaliar o número de mononucleares, segundo os dados da ANOVA. A comparação de médias aos pares foi realizada usando o teste de Tukey. Na escala logaritmica log (obs+1) da análise de variância na avaliação a interação grupo x tempo foi significativa ($p = 0{,}01$), ou seja, no geral, os grupos possuíam comportamento diferente ao longo do tempo (Figura 29). No desdobramento da interação grupo x tempo para a variável mononucleares, encontrou-se diferença significativa entre os grupos nos momentos sete, trinta e sessenta dias pós-operatório e entre os tempos no grupo III (Tabela 4).

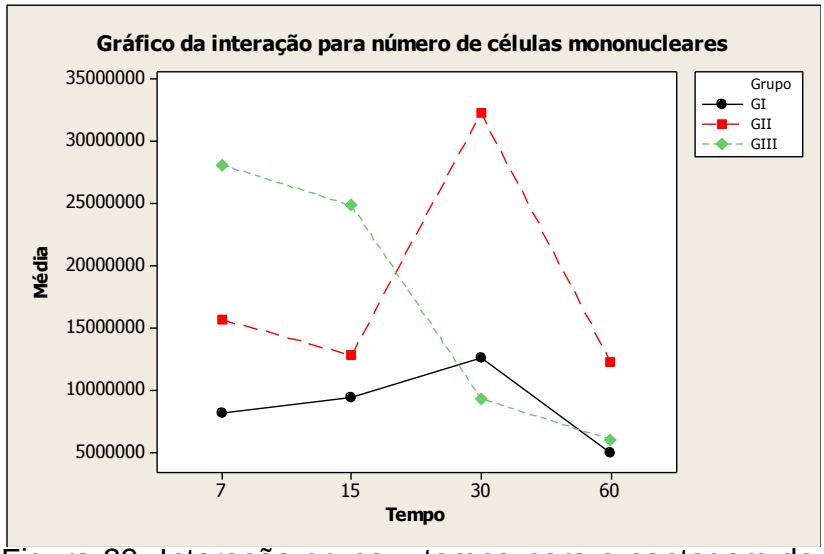


Figura 29. Interação grupo x tempo para a contagem de mononucleares.

Tabela 4. Desdobramento da interação grupo x tempo para a variável mononucleares (MN). Dados transformados segundo a escala logarítmica log (obs+1). Jaboticabal, SP, 2012.

	M7	M15	M30	M60
GI	8.135.856 Aa	9.430.560 Aa	12.579.408 Aa	5.154.840 Aa
GII	15.672.312 Aa	12.755.232 Aa	32.255.712 Ba	12.291.696 Ba
GIII	28.080.000 Ba	24.816.000 Aa	9.304.000 Ab	6.040.000 Ab

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

6. DISCUSSÃO

Os achados relativos à boa cicatrização da ferida cirúrgica e ausência de reações teciduais adversas, nos animais do grupo controle (GI) corroboram com as descrições de Turner e Mcllwraith (1985) ao afirmarem que o náilon é um fio relativamente inerte que causa mínima reação tecidual.

Segundo Alvarenga (1992), as membranas biológicas devem ser inertes, com predominância de material rico em colágeno e isento de tecido muscular e adiposo. Assim, o aumento de volume abdominal seguido por fistulação cutânea, que foi

observado na avaliação clínica, em 65% dos animais GII, além da expulsão da membrana, verificada em 5% dos ratos do GII e a evisceração intestinal notada em 5% dos animais também no GII, provavelmente, decorreram de uma reação tecidual provocada pela grande quantidade de tecido adiposo existente em parte do peritônio da paca que foi implantado.

Reforça-se a idéia de que o tecido adiposo favorece a rejeição do enxerto pelo hospedeiro (ALVARENGA, 1992), pois em 100% dos animais que receberam o peritônio com pouca quantidade de tecido gorduroso, correspondendo a 35% dos animais do grupo GII, respectivamente, houve, clinicamente, boa cicatrização da ferida cirúrgica e ausência de reações teciduais adversas, tal qual ocorreu no grupo controle.

Dessa forma, recomenda-se que a colheita do peritônio da paca, para o uso em enxertos como membrana biológica, seja da região mais ventral do abdômen, próxima a linha Alba, pois nesta área essa membrana é mais delgada e livre de tecido gorduroso. Na região mais dorsal do abdômen da paca, próxima a coluna vertebral, o peritônio é espesso e possui uma grande camada de tecido gorduroso. Na avaliação macroscópica e microscópica do peritônio da paca, Camargo et al. (2012) verificaram a presença de tecido adiposo nessa membrana, todavia não quantificaram esse tecido.

Como relatado por Araújo (2009) onde a ocorrência da erosão da tela para a pele da parede ventral, fenômeno este ocorrido em 5% dos animais pertencentes ao Grupo polipropileno (GIII), está relacionado à ausência de tecido adiposo entre o plano muscular e a hipoderme.

Atribui-se a ocorrência de pequena aderência do omento à linha de sutura abdominal, observada em todos os animais do grupo controle (GI) em todos os momentos, à pouca reação tecidual provocada pelo náilon (TURNER; McILWRAITH, 1985; RAHAL et al, 1997; BOOTHE, 2007).

A aderência ao omento, verificada, tanto no implante de peritônio (GII) quanto dos animais que receberam o implante da tela de polipropileno (GIII) é ocorrência comum no uso de membranas biológicas, fato este, associado ao trauma mecânico e isquemia as quais favorecem a migração do omento e ainda sendo a tela de polipropileno macroporosa, promove o crescimento e a incorporação do tecido

fibroso à parede abdominal favorecendo a formação de aderências (GRECA et al., 2001; BELLÓN et al., 2001; MATTHEWS et al.,2003; GRECA et al., 2004; SILVA et al., 2009). Assemelhando-se aos nossos achados, as aderências ao omento encontradas no grupo peritônio da paca (GII), também foram verificadas no emprego de retalho de peritônio bovino na substituição de segmento diafragmático em cães (DALECK et al., 1988); na reparação de hérnia perineal (DALECK et al., 1992); no estudo do pericárdio canino na reparação do músculo reto abdominal de ratos (BRUN et al., 2002); na cistoplastia experimental em coelhos utilizando o peritônio bovino (OLIVEIRA et al., 2008). Da mesma forma que em nossos estudos ao utilizarmos a tela de polipropileno (GIII) também a ocorrência de aderências foi verificada no emprego da tela de polipropileno na correção de hérnias ventrais em coelhos (AYDOS et al., 1999; MATTHEWS et al.,2003); na correção de defeitos criados na parede abdominal de cães (RAMOS, 2002); no reparo de defeitos na parede abdominal de ratos (GRECA et al., 2004); no implante da tela de polipropileno no espaço intraperitoneal de camundongos (PUTTINI, 2006); na utilização da tela na parede abdominal em ratos (SCALDO et al., 2008); nas inguinoplastias em cães (ANDRADE, 2009); no reparo intraperitoneal da parede abdominal em coelhos (ARAÚJO et al., 2009); na correção de defeitos da parede abdominal de ratos (ISA, 2012) mas diferindo dos achados de Mazzini e Montovani (1999), onde observaram a não ocorrência de aderências quando da utilização da tela de polipropileno.

Foi verificada boa cicatrização do implante à musculatura abdominal em 100% dos animais que receberam a membrana de peritônio (GII); tal reação foi também observada no uso do peritônio no canal inguinal de ratos (SILVA et al., 2004); do peritônio bovino na parede abdominal de ratos (BASTOS et al., 2005; BASTOS et al., 2006) e do enxerto omental ao peritônio bovino (FREITAS, 2005). Da mesma forma, 100% dos animais avaliados do grupo da tela de polipropileno (GIII) observamos boa cicatrização do implante à musculatura abdominal, achados estes que se assemelham no uso da tela para reparo de defeito criado na parede abdominal (PITREZ et al., 2000; RAMOS, 2002; PUTTINI, 2006; REIS et al., 2006; BELLÓN et al.,2007; SCALDO et al.,2008; ARAÚJO et al.,2009 ; PUNDEK et

al.,2010) e na substituição de tecidos ósseos no continente orbitais em cães (SILVA, 2009).

Verificou-se aumento de volume com conteúdo seroso não purulento em todos os animais do GII, no M7. Todos esses animais receberam o peritônio com grande quantidade de tecido adiposo, dessa forma reforçam-se as observações de Alvarenga (1992), ao afirmar que as membranas biológicas devem ser livres de tecido adiposo.

Os abscessos verificados em 40% dos animais do GII no M15, em 20% dos animais do GII no M30, ocorreram sempre após fistulação cutânea inicial. Acredita-se que o contato direto da ferida cirúrgica com as fezes do próprio animal favoreceu a contaminação da fístula e posterior formação do abscesso. Tal ocorrência corrobora, em parte, com as descrições de Daleck et al. (1992) que ao estudarem o uso do peritônio bovino na reparação de hérnia perineal em cães relataram que a contaminação da ferida cirúrgica com as fezes do animal levou a rejeição do implante. Todavia, no presente estudo, a infecção não provocou a expulsão da membrana.

Há décadas, as contaminações de membranas biológicas, dos instrumentos e do centro cirúrgico são referidas como as principais causas de infecção e rejeição do enxerto (PIGOSSI et al. 1964; ALVARENGA, 1992; BRUN et al. 2002; OLIVEIRA et al. 2009). Entretanto, neste estudo, o abscesso verificado em alguns animais teve sua origem pós-cirúrgica, pois apenas os animais que apresentaram a fistulação da pele desenvolveram a infecção. Nos animais pertencentes ao grupo controle, nos que receberam o peritônio livre de gordura e nos animais pertencentes ao grupo tela de polipropileno, não verificaram fistulação cutânea e consequente formação de abscesso. Assim, a presença de abscesso, possivelmente, foi em decorrência da contaminação da fístula pelos dejetos do próprio animal e não por contaminação da membrana ou dos instrumentos. Estes achados comprovam a biocompatibilidade dos materiais utilizados.

A mudança na forma da membrana, a difícil delimitação de sua margem e conseqüente identificação, observada em 100% dos animais no M60 no GII corroboram com os estudos de Pigossi (1964) na implantação de dura-máter homógena em cães; de Daleck et al. (1988) na substituição de um retalho

diafragmático em cão por peritônio bovino e de Brun et al. (2002) na utilização do pericárdio canino no reparo do músculo reto abdominal de ratos, os quais afirmam que as membranas fornecem arcabouço para orientação e desenvolvimento de novos tecidos possibilitando sua incorporação ao organismo receptor mediante processos de reparação que restabelecem a estrutura ou a função do órgão atingido. Fato este não observado nos animais do GIII ao utilizar a tela de polipropileno, pois se tratando de material macroporoso promove a incorporação do tecido adjacente ao implante, mas sendo de característica não-absorvível permanece no local implantado por um longo período, situação esta também relatado por Araújo et al. (2009) no reparo intraperitoneal da parede abdominal em coelhos e por Pundek et al. (2010) na correção de defeitos abdominais em ratos.

Histologicamente, a presença de fina camada de tecido fibroso ao redor do fio de sutura separando as camadas musculares, além de pouco infiltrado inflamatório, em todos os momentos de avaliação do GI, apóiam as observações de Turner e McIlwraith (1985) e Boothe (2007), ao afirmarem que o náilon provoca discreta reação tissular.

A ocorrência de infiltrado inflamatório com predominância de mononucleares verificada no GI, em todos os momentos (M7, M15, M30 e M60) também foi observada por Rahal et al. (1997) na utilização do fio de náilon cirúrgico e “linha de pesca esterelizada” na parede abdominal de ratos.

Nos animais do GII que receberam o peritônio da paca ficou demonstrada a ocorrência de reação inflamatória aguda (M7 e M15), que gradativamente foi desaparecendo e a membrana foi sendo substituída por tecido conjuntivo fibroso entremeado ao tecido muscular (M30 e M60). Tal padrão de resposta foi evidenciado em estudos referentes a diferentes materiais biológicos conservados na glicerina (PIGOSSI, 1964; DALECK et al., 1987; DALECK et al., 1988). Nos animais do GII, a presença de tecido fibroso unindo as camadas musculares, também foi descrita por Silva et al.(2004) e Bastos et al.(2006), promovendo integração do peritônio ao tecido implantado. Sabe-se que as membranas biológicas atuam como arcabouço para o crescimento do tecido vivo (ALVARENGA, 1992) e dessa forma, acredita-se que o peritônio da paca também teve essa atuação.

Nos animais do GIII que receberam a tela de polipropileno ficou demonstrada a ocorrência de infiltrado inflamatório com predominância de mononucleares (M7, M15, M30 e M60), que gradativamente foi desaparecendo e a membrana foi sendo substituída por tecido conjuntivo fibroso entremeado ao tecido muscular (M30 e M60). Estes achados também foram evidenciados quando da utilização da tela de polipropileno (BIONDO-SIMÕES et al., 2005; PAULO et al., 2005; PUTTINI, 2006; PEREIRA-LUCENA et al., 2010). Presença de reação inflamatória aguda foi verificada por Russi (2004) e Isa (2012) em períodos inferiores a sete dias após o procedimento cirúrgico, entretanto, este momento não foi avaliado no estudo em questão; assim, raros polimorfonucleares foram verificados nesta oportunidade.

As avaliações estereológicas foram fundamentais nas análises comparativas entre os resultados observados em cada grupo estudado, pois possibilitaram quantificar as alterações verificadas (PEREIRA; MANDARIM-DE-LACERDA, 2001).

Como os campos para a análise estereológica eram sistematicamente aleatórios, a contagem de polimorfonucleares foi zero, diferentemente da análise histológica, na qual se verificou presença de alguns polimorfonucleares em M7 e M15. Esse fato indica que cortes histológicos simples não podem ser utilizados para a quantificação celular, uma vez que não representam uniformemente toda a amostra.

A presença exclusiva de mononucleares, observada na análise estereológica em todos os grupos, em todos os momentos, justifica-se pela resposta inflamatória normal que é observada na cicatrização por primeira intenção, na qual o número de polimorfonucleares é verificado até o terceiro dia, sendo substituídos por mononucleares, que diminuem progressivamente ao passo que o processo cicatricial ocorre (TURNER; McILWRAITH, 1985; COTRAN et al., 2000). Entretanto, deve-se considerar que nesta oportunidade o primeiro momento de avaliação foi realizado aos sete dias de pós-operatório e assim não se verificou a presença significativa de polimorfonucleares.

A estereologia permitiu a ratificação dos resultados gerais observados na histologia, quanto à diminuição da resposta inflamatória no decorrer dos momentos de avaliação pós-operatórios (TURNER; McILWRAITH, 1985; COTRAN et al., 2000).

7. CONCLUSÃO

Da forma que se conduziu este experimento e mediante os resultados observados pode-se concluir que o peritônio da paca conservado em glicerina e a tela de polipropileno, promoveram reforço abdominal satisfatório no reparo de defeito produzido na parede abdominal de ratos.

8. REFERÊNCIAS

ÀGUILA, M. B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A.; APFEL, M. I. R. Estereologia do Miocárdio de Ratos Jovens e Idosos. **Arquivos Brasileiros de Cardiololgia,** Rio de Janeiro, v. 70, n. 2, p. 105 - 109, 1998.

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

ANDRADE, L. C.; CENEVIVA, R.; COUTINHO-NETO, J.; JÚNIOR, O. C. S.; SANTOS, J. S.; SUKEDA, D. H. Aspectos morfológicos da utilização intraperitoneal de prótese de dupla face na inguinoplastia em cães. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**., v. 36, n. 5, p. 431 - 437, 2009.

ARAÚJO, U. R. M. F.; CZECZKO, N. G.; RIBAS-FILHO, J. M.; MALAFAIA, O.; BUDEL, V. M.; BALDERRAMA, C. M. S. R.; ZIMMERMANN, E.; DIETZ, A. Reparo intraperitoneal de defeitos da parede ventral do abdome com telas de poliéster com colágeno e polipropileno com ácido poliglicólico. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões.,** v. 36, n. 3, p. 241 - 249, 2009.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. *NBR 6023*: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 23 p.

AVVAD-PORTARIL, E.; GOMES, N. D.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. Simple hyperplasia *versus* proliferative endometrium: stereological study **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 1, p. 73 - 79, 2003.

AYDOS, R. D.; SILVA, I. S.; GOLDENBERG, S.; GOLDENBERG, A.; SIMÕES, M. J.; TAKITA, L. C.; NIGRO, A. J. T. Estudo comparativo do efeito das telas de politetrafluoroetileno expandido e de polipropileno, colocadas por laparoscopia, em hérnias ventrais produzidas em coelhos. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v. 14, n. 2, 1999.

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

BASTOS, E. L. S.; FAGUNDES, D. J.; TAHA, M. O.; NOVO, N. F.; JULIANO,Y.; SIMÕES, M. J.; SILVANO, R. A. B. The role of bovine preserved peritoneum in rats ventral hernia. A histological evaluation. **Acta Cirúrgica Brasileira**, Marília, v. 21, n. 5, p. 328 - 331, 2006.

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

BELLÓN, J. M.; CONTRERAS, L. A.; BUJÁN, J.; PASCUAL, G. Evaluation of the acute scarring response to the implant of different types of biomaterial in the abdominal wall. **Journal of Materials Science**, v.11, p. 25 - 29, 2005.

BELLÓN, J. M.; CONTRERAS, L. A.; BUJÁN, J.; PALOMARES, D.; SAN MARTIN, A. C. Tissue response to polypropylene meshes used in the repair of abdominal wall defects. **Biomaterials**, v. 19, p. 669 – 75, 1997.

BELLÓN, J. M.; GARCÍA-HONDUVILLA, N.; JURADO, F.; GARCÍA-CARRANZA, A.; GARCÍA-MORENO, F.; SAN MARTÍN, A.C.; BUJÁN, J. Use of composite prostheses in the repair of defects in the abdominal wall: Prosthetic behaviour at the peritoneum. **European Journal of Surgery**, v. 167, p. 666 - 671, 2001.

BELLÓN, J. M.; RODRÍGUEZ, M.; GARCÍA-HONDUVILLA, N.; PASCUAL, G.; BUJÁN, J. Partially absorbable meshes for hérnia repair offer advantages over nonabsorbable meshes: **The American Journal of Surgery**, v. 194, p. 68 - 74, 2007.

BEHMER, A. O.; TOLOSA, E. M. C.; FREITAS-NETO, A. G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. São Paulo: Edart, 1976. 239 p.

BOOTHE, H. W. Fios de sutura, adesivos de tecidos, grampeadores e clipes hemostáticos. In: SLATTER, D. **Manual de Cirurgia de Pequenos Animais**. 3. ed. Barueri: Manole, 2007. v. 1, cap. 18, p. 235 - 243.

BIONDO-SIMÕES, M. L. P.; WESTPHAL, V. L.; PAULA, J. B.; BORSATO, K. S.; NORONHA, L. Síntese de colágeno após a implantação de telas de polipropileno em parede abdominal de ratos jovens e velhos. **Acta Cirúrgica Brasileira.,** v. 20, n. 4, p. 300-304, 2005.

BJÖRKMAN, N.; DANTZER, V.; LEISER, R. Comparative Placentation in Laboratory Animals a Review. **Scandinavian Journal of Animal Science**. Stockholm. v.16, n. 4, p. 129 - 58, 1989.

BROWN, G.L.; DAVID RICHARDSON, J.;MALANGONI, M.A.; TOBIN, G.R.; ACKERMAN, D.A.; POLK, H.C. Comparison of prosthetic materials for abdominal wall reconstruction in the presence of contamination and infection. **Annals of Surgery,** v. 201, n. 6, p. 705, - 709, 1985.

BRUN, M. V.; PIPPI, N. L. DREIMEIER, D; CONTENSINI, E. A.; BECK, C. A. C.; CUNHA, O.; PINTO FILHO, S. T. L.; ROEHSIG, C.; STEDILE, R. Solução hiperstaurada de sal como conservante de pericárdio canino utilizado na reparação do músculo reto abdominal de ratos Wistar. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 6, p.1019 - 1025, 2002.

CAMARGO, A. D. **Comparação entre a morfologia microscopica e ultraestrutural de membranas biológicas da paca, a fresco e conservadas em glicerina,** 2005. 44 f. Tese (Doutorado em Cirurgia Veterinaria) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, 2009.

COLLET, S. F. **Population characteristics of *Agouti paca* (Rodentia) in Colombia**. Michigan: Michigan State University, 1981. 601p. (Biological Series, v. 5, n. 7).

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

COTRAN R. S.; KUMAR V.; COLLINS T. **Patologia Estrutural e Funcional**. Guanabara Koogan, 6° ed., p. 79 – 100, 2000.

CUMBERLAND, V. H. A preliminary report on the use of prefabricated nylon weave in the repair of ventral hernia. **Medical Journal of Australia,** Pyrmont, v. 1, p. 143 - 144, 1952.

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

DALECK, C. R.; DALECK, C. L. M.; GANDOLFI, W.; ALESSI, A. C. Esofagoplastia cervical no cão com peritônio autólogo ou homólogo conservado em glicerina – "estudo experimental". **Ars Veterinária**. Jaboticabal, v.3, n. 2, p. 195 - 202, 1987.

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

DYCE, K. M.; SACK, W.O.; WENSING, C. J. G. Aparelho Digestório. In:_____. **Tratado de anatomia veterinária.** 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. cap. 3, p. 99 - 145.

DUBOST, G.; HENRY, O. Comparison of diets of the acouchy, agouti and paca, the three largest terrestrial rodents of French Guianan forests. **Journal of Tropical Ecology**, Cambridge, v. 22, p. 641 - 651, 2006.

EISENBERG, J. F.; REDFORD, K. H. **Mammals of the central neotropics: Ecuador, Peru, Bolivia, Brazil.** Chicago: University of Chicago, 1999, v. 3, 609 p.

FREITAS, D. S. T.; COSTA NETO, J. M. **Reparo de defeito da parede abdominal em cães com xenoenxerto de peritônio bovino omentalizado.** 2005. 48 f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Federal da Bahia, Bahia, 2005.

FOSSUM, T. W. Cirurgia da Cavidade Abdominal. In:_____. **Cirurgia de pequenos animais**. São Paulo: Roca, cap. 15, p. 199 - 205, 2002.

GRECA, F. H.; de PAULA, J. B.; BIONDO-SIMÕES, M. L. P.; da COSTA, F. D.; da SILVA, A. P. G.; TIME, S.; MANSUR, A. The influence of differing pore sizes on the biocompatibility of two polypropylene meshes in the repair of abdominal defects. **Hernia**, v. 5, p. 59 - 64, 2001.

GRECA, F. H.; SOUZA FILHO, Z. A.; ROCHA, S. L.; BORSATO, K. S.; FERNANDES, H. A. D.; NIISIDE, M. A. Submucosa de intestino delgado no reparo de defeito em parede abdominal de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 19, n. 5, p. 471 - 477, 2004.

GONÇALVES, G.; PARIZOTTO, N. A. Fisiologia da Reparação Cutânea: Atuação da Fisioterapia. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, Campinas -SP, v. 3, n. 1, p. 5 - 13, 1998.

GUNDERSEN, H. J. G. et al. The new stereological tools: Disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. **Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica**. v. 96, n .7 - 12, p. 857 - 881, 1988.

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

ISA, A. C.; MATIAS, J. E. F. **Análise macroscópica, histomorfométrica e tensiométrica da utilização de telas cirúrgicas de diferentes composições na correção de defeito da parede abdominal de ratos wistar.** 2012. 70 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) - Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2012.

LACERDA, P. M. O. **Aspectos estereológicos dos vilos coriônicos da placenta de bovinos clonados,** 2006. 77 f. Dissertação (Mestrado em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

LANGE, R. R.; SCHMIDT, E. M. S. Rodentia: roedores silvestres (capivara, cutia, paca, ouriço). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. A. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. cap. 29, p. 475-491.

LOPES-PAULO, F. Emprego da estereologia em pesquisas colorretais. **Revista Brasileira de Coloproctologia**, v. 22, n. 2, p. 73-76, 2002.

MATTHEWS, B. D.; PRATT,B.L.; POLLINGER, H. S.; BACKUS, C. L.; KERCHER, K. W.; SING, R. F.; HENIFORD, T. Assessment of adhesion formation to intra-abdominal polypropylene mesh and polytetrafluoroethylene mesh. **Journal of Surgical Research,** v. 114, p. 126 - 132, 2003.

MAZZINI, D. L.; MANTOVANI, M. Reparo da parede abdominal com afastamento parcial das bordas da aponeurose utilizando sobreposição com telas de vicryl ou marlex em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 14, n.1, 1999.

MINOSSI, J. G.; SILVA, A. L. S.; SPADELLA, C. T. O uso da prótese na correção das hérnias da parede abdominal é um avanço, mas o seu uso indiscriminado, um abuso. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgia,** v.35, p. 416 - 424, 2008.

NIERI, T. M. **Modelo experimental para o estudo do comportamento óptico da parede abdominal e sua interação com um material protético por biospeckle. Trabalho experimental em ratos.** 2005. 140 f. Tese (Doutorado em Cirurgia). Faculdade de Ciências Médicas – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

NOLASCO, R. M.; BELETTI, M. E.; EURIDES, D.; SILVA, F. O. C. E.; COELHO, H. E.; DALECK, C. R.; SILVA, L. A. F. Avaliação histológica e ultra-estrutural de tendões de bovinos preservados em diferentes meios. **Ars Veterinária**, Jaboticabal, v. 19, n. 3, p. 210 - 215, 2003.

OLIVEIRA, T. C.; SCAVONE, A. R. F.; MACHADO, M. R. F.; MAZZUCATTO, B. C. Cistoplastia experimental em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) com peritônio bovino conservado em glicerol a 98%. **Ciência Rural,** Santa Maria, v. 38, n. 8, p. 2218 - 2224, 2008.

PAULO, M. N.; LIMA, F. G.; JÚNIOR, J. T. S.; FLEURY, L. F. F.; SANTANNA, F. J. F.; BORGES, A. C.; TELLES, T. C. Membrana de látex da seringueira, 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, n. 4, p. 305 - 310, 2005.

PEREIRA, L. M.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. Glomerular profile numerical density per area and mean glomerular volume in rats submitted to nitric oxide synthase blockade. **Histology and Histopathology**, v. 16, p. 15-20, 2001.

PEREIRA-LUCENA, C. G.; ARTIGIANI-NETO, R.; LOPES-FILHO, G. J.; FRAZAO, C. V. G; GOLDENBERG, A.; MATOS, D.; LINHARES, M. M. Experimental study comparing meshes made of polypropylene, polypropylene + polyglactin and polypropylene + titanium: inflammatory cytokines, histological changes and morphometric analysis of collagen. **Hernia**, v. 14, p. 299 - 304, 2010.

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

PITREZ, F. A.; LEMCHEN, H. F.; PIONER, S. R.; IRIGARAY, J. H.; KISS, G.; NUNES E SILVA, D. Reparo de grandes hérnias ostomais com permanência do estoma, utilizando tela de polipropileno. **Cirurgia,** v. 28, n. 2, p. 116 - 120, 2000.

PUNDEK, M. R. Z.; CZECZKO, N. G.; YAMAMOTO, C. T.; PIZZATTO, R. F.; CZECZKO, L. E. A.; DIETZ, U. A.; MALAFAIA, O. Estudo das telas cirúrgicas de polipropileno/poliglecaprone e de polipropileno/polidioxanona/celulose oxidada regenerada na cicatrização de defeito produzido na parede abdominal de ratos. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 23, n. 2, p. 94 - 99, 2010.

PUTTINI, S. M. B. **Avaliação da resposta inflamatória desencadeadas pelas telas de polipropileno e politetrafluroetileno expandido implantadas no espaço intraperitoneal. Estudo experimental em camundongos.** 2006. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Faculdade de Medicina - Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

QUEIROLO, D.; VIEIRA, E.; EMMONS, L.; SAMUDIO, R. *Cuniculus paca*. In: **IUCN Red List of Threatened Species**, Version 2010.1. 2008. Disponível em:<www.iucnredlist.org>. Acesso: em 28 mar. 2010.

RAHAL, S. C.; ROCHA, N. S.; FIGUEIREDO, L. A.; IAMAGUTI, P. Estudo comparativo das reações teciduais produzidas pela “linha de pesca” (poliamida) e fio de náilon cirúrgico. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, n. 1, p. 89 - 93, 1997.

RAMOS, E. J. B. **Biocompatibilidade da tela de polipropileno e da submucosa intestinal de porco na correção de defeitos criados na parede abdominal de cães. estudo comparativo.** 2002. 75 f. Dissertação (Mestrado Ciências Cirúrgica) - Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2002.

REDFORD, K. H.; ROBINSON, J. G. Subsistence and commercial uses of wildlife in Latin America. In: ROBINSON, J. G.; REDFORD, K. H. **Neotropical wildlife use and conservation**. Chicago: The University of Chicago Press, 1991. p. 6-23.

REIS, M. C.; de MELO, R. M.; SANTANA, D. P.; de ALMEIDA, C. T.; LIMA, H. R. B. Reconstrução abdominal tardia sem tensão após laparostomia - uma nova técnica. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgia,** v. 33, n. 3, p. 156 - 160, 2006.

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

ROBBINS, S. L., et al. – **Patologia estrutural e funcional** 3ª ed. Rio de Janeiro, Editora ELSEVIER, p. 1422, 2005.

RODASKI, S.; CUNHA, O.; DE NARDI, A. B.; RIOS, A.; COMAR, F. A.; CASTRO, J. H. T. Artroplastia acetábulo-femoral em cães com pericárdio bovino conservado. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 7, n. 2, p. 179 - 187, 2002.

RUSSI, R. F. **Estudo comparativo da celularidade da reação inflamatória aguda na serosa e mesentério intestinais às telas de poliamida e polipropileno em ratos wistar com peritonite fecal por técnica morfométrica.** 2004. 60 f. Dissertação (Mestrado Ciências Médicas) - Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2004.

SANTOS, B. F. Modelo Animal. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. **Animais de laboratório:** criação e experimentação. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2006. cap. 2, p. 23 - 24.

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

SCALDO, P. P. C., COSTA, R. G.; LONTRA, M. B.; JOTZ, G. P.; MARQUEZ, F. B.; CAVAZZOLA, L. T. Comparação entre a tela de submucosa intestinal suína acelular (Surgisis) e a tela polipropileno (Marlex) na formação de aderências peritoneais – estudo experimental em ratos. **Revista da AMRIGS**, v. 52, p. 197 - 203, 2008.

SCALES, J. T. Discussion on metals and synthetic materials in relation to soft tissues; tissue reaction to synthetic materials. **Proceeding of the Royal Society of Medicine,** v. 46, p. 647, 1953.

SHER, W.; POLLAK, D.; CONSTANTINOS, A. P.; MATSUMOTO, T. Repair of abdominal wall defects: Gore-tex VS Marlex graft. **The American Surgeon**, p. 618 - 623, 1980.

SHIRAZI, M.; NOORAFSHAN, A.; SERHAN, A. Effects of different suture materials used for the repair of hypospadias: a stereological study in a rat model. **Urologia Internationalis,** Switzerland, v. 89, p. 3985 – 401, 2012.

SILVA, E. P. **Tela de polipropileno: Estudo da biocompatibilidade em modelo animal e aplicabilidade na reconstrução de órbitas em humanos.** 2009. 139 f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Universidade de Brasília, Brasília, 2009.

SILVA, H. C.; SILVA, A. L.; OLIVEIRA, C. M. Enxerto peritoneal autógeno e fibroplastia: Estudo experimental. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgia,** v. 31, p. 83 - 89, 2004.

THIEL, M. **Análise quantitativa da fibrose e semiquantitativa da reação inflamatória de quatro diferentes slings sintéticos.** 2006. 71 f. Tese (Doutorado Ciências Médicas) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

TURIEL, M. C. P. **Encefalite viral induzida pelo vírus da dengue em camundongos suíços albinos: a resposta inflamatória no sistema nervoso central do hospedeiro neonato,** 2011. 67 f. Dissertação (Mestrado em Neurociências e Biologia Celular) – Universidade Federal do Pará, UFPa, Belém, 2011.

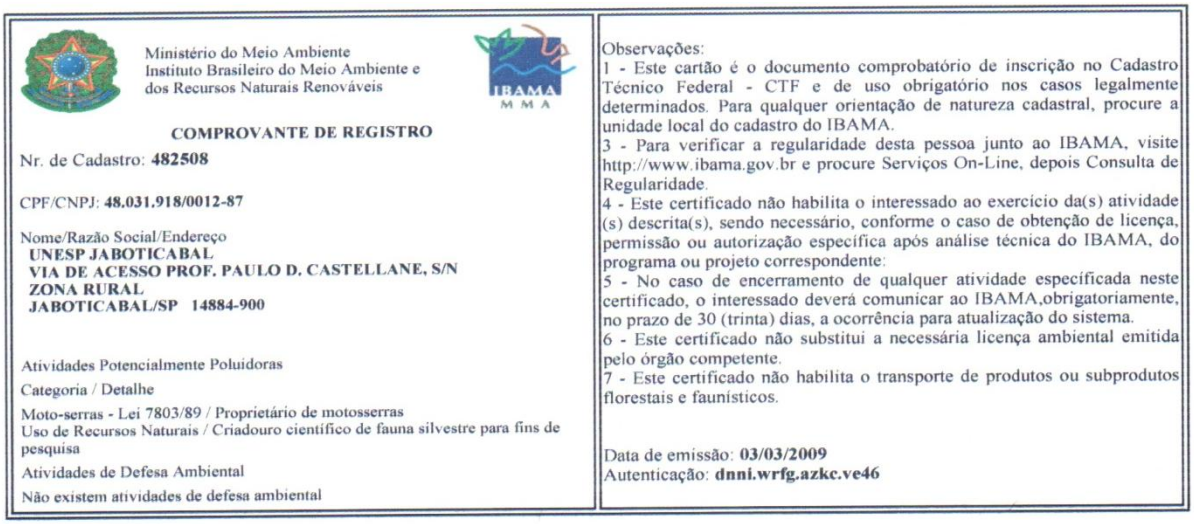
TURNER, A. S.; McILWRAITH, C. W. Materiais de sutura e agulhas. In_____ **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo: Roca, 1985. p. 67 - 77.

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

VULCANI, V. A. S.; MARCORIS, D. G.; PLEPIS, A. M. G.; MARTINS, V. C. A.; LAPENA, M. H. Obtenção, caracterização e aplicação cirúrgica de matrizes de colágeno na parede abdominal de eqüinos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, p. 778 - 785, 2008.

ZINTHER, N. B.; WARA, P.; FRIIS-ANDERSEN, H. Shrinkage of intraperitoneal onlay mesh in sheep: coated polyester mesh versus covered polypropylene mesh. **Hernia**, v. 14, p. 611 - 615, 2010.

ANEXO I



Ministério do Meio Ambiente
Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

IBAMA
MMA

COMPROVANTE DE REGISTRO

Nr. de Cadastro: **482508**

CPF/CNPJ: **48.031.918/0012-87**

Nome/Razão Social/Endereço
UNESP JABOTICABAL
VIA DE ACESSO PROF. PAULO D. CASTELLANE, S/N
ZONA RURAL
JABOTICABAL/SP 14884-900

Atividades Potencialmente Poluidoras

Categoria / Detalhe

Moto-serras - Lei 7803/89 / Proprietário de motosserras
Uso de Recursos Naturais / Criadouro científico de fauna silvestre para fins de pesquisa

Atividades de Defesa Ambiental

Não existem atividades de defesa ambiental

Observações:
1 - Este cartão é o documento comprobatório de inscrição no Cadastro Técnico Federal - CTF e de uso obrigatório nos casos legalmente determinados. Para qualquer orientação de natureza cadastral, procure a unidade local do cadastro do IBAMA.
3 - Para verificar a regularidade desta pessoa junto ao IBAMA, visite http://www.ibama.gov.br e procure Serviços On-Line, depois Consulta de Regularidade.
4 - Este certificado não habilita o interessado ao exercício da(s) atividade (s) descrita(s), sendo necessário, conforme o caso de obtenção de licença, permissão ou autorização específica após análise técnica do IBAMA, do programa ou projeto correspondente.
5 - No caso de encerramento de qualquer atividade especificada neste certificado, o interessado deverá comunicar ao IBAMA,obrigatoriamente, no prazo de 30 (trinta) dias, a ocorrência para atualização do sistema.
6 - Este certificado não substitui a necessária licença ambiental emitida pelo órgão competente.
7 - Este certificado não habilita o transporte de produtos ou subprodutos florestais e faunísticos.

Data de emissão: **03/03/2009**
Autenticação: **dnni.wrfg.azkc.ve46**