


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

EDUARDA MARIA GOMES DAS NEVES OLIVEIRA



ESTUDO DO COMPORTAMENTO DA MEMBRANA DE CELULOSE SINTÉTICA
EM IMPLANTE PERITENDÍNEO EM POTROS

CURITIBA

2011

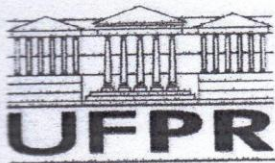
EDUARDA MARIA GOMES DAS NEVES OLIVEIRA

**ESTUDO DO COMPORTAMENTO DA MEMBRANA DE CELULOSE SINTÉTICA
EM IMPLANTE PERITENDÍNEO EM POTROS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Clínica, Cirurgia e Patologia Veterinária, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Peterson Triches
Dornbusch

**CURITBA
2011**



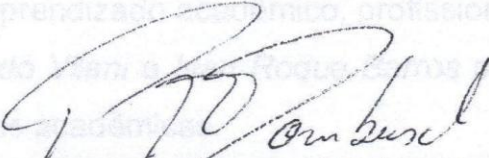
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS**

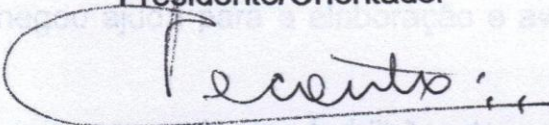
AGRADECIMENTOS

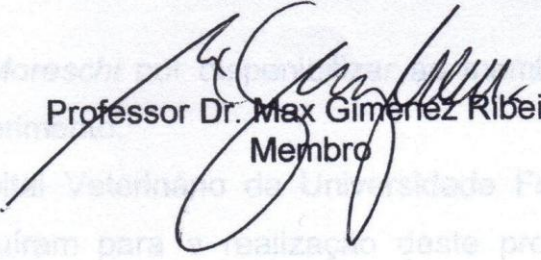
PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada **“ESTUDO DO COMPORTAMENTO DA MEMBRANA DE CELULOSE SINTÉTICA EM IMPLANTE PERITENDÍNEO EM POTROS”** apresentada pela Mestranda **EDUARDA MARIA GOMES DAS NEVES OLIVEIRA** declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09–CEPE/UFPR, considerou a candidata Apta para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 29 de abril de 2011


Professor Dr. Peterson Triches Dornbusch
Presidente/Orientador


Professor Dr. Ivan Deconto
Membro


Professor Dr. Max Gimenez Ribeiro
Membro

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família, principalmente ao meu pai, que mesmo não estando presente me deixou exemplo de dedicação, seriedade e honestidade, sempre fazendo questão do aprendizado contínuo na vida acadêmica e pessoal, e a minha mãe pela paciência, dedicação e apoio.

Agradeço em especial ao meu marido *Márcio* que sempre com muita paciência, incentivo e carinho me ajudou a conquistar novos horizontes, e com certeza sem ele não teria chegado a esta etapa de aprendizado profissional e crescimento pessoal na minha vida.

Ao Professor *Felipe Wouk* por ter iniciado comigo nesta jornada, pela confiança e orientação acadêmica.

Ao Professor *Peterson Dornbusch* por ter aceitado acompanhar esta jornada em meio a tumultuadas situações e pela orientação acadêmica e profissional.

Ao Professor *Ivan Deconto*, meu mentor profissional, que sempre me acolheu e incentivou o contínuo aprendizado acadêmico, profissional e pessoal.

Aos Professores *Ricardo Vilani* e *Ivan Roque Barros* pela co-orientação e apoio na execução das atividades acadêmicas.

À Professora *Tilde* pela confiança, apoio, dedicação e, que mesmo com muitos compromissos, nunca negou ajuda para a elaboração e avaliações dos exames de imagem.

Ao Professor *Renato* que em meio ao turbilhão de coisas no Laboratório de Patologia sempre se dispôs a ajudar na pesquisa e avaliação dos resultados histopatológicos.

Ao Professor *João Moreschi* por disponibilizar as membranas de celulose para a realização deste experimento.

Ao pessoal do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná que me acolheram e contribuíram para a realização deste projeto: *Thais, Tais, Marina, Fernando, estagiários e funcionários de grandes animais*.

Ao *Roberto (Carioca)* pelo cuidado com os potros e pelos ensinamentos.

Ao *Joaquim Antunes*, veterinário, pela doação dos potros para pesquisa.

A todos aqueles que de alguma forma estiveram presentes ou tiveram alguma participação para a realização deste trabalho.

E por fim, aos animais: *Abobrinha, Pimentinha, Mascarada, Espoleta, Cenourinha e Pequena*, sem os quais nada disto seria possível.

RESUMO

A constante preocupação em solucionar problemas rotineiros nas mais diferenciadas áreas da medicina, os materiais bioabsorvíveis vêm sendo foco pesquisas principalmente pelas suas características menos tóxicas e inertes aos organismos animais. A membrana de celulose sintética, uma rede formada por microfibrilas metabolizada por bactérias do gênero *Acetobacter xylinum*, ganha destaque por ser de fácil manuseio, permeável e contribui como guia na reparação tecidual, e as pesquisas mostram ter importante papel na formação de barreira entre diferentes superfícies sendo absorvida e não incorporada ao organismo, reduzindo os problemas de rejeição pós-cicatriciais. A propriedade de permeabilidade seletiva favorece a entrada de células que propiciem a cicatrização desejada e ao mesmo tempo isolar células indesejáveis. As afecções ortopédicas como rupturas de tendões e ligamentos, cirurgias traumáticas, acarretam, muitas vezes, em cicatrizações exuberantes com formação de tecido fibroso levando às aderências peritendíneas e articulares, dificultando a realização de movimentos. As aderências apresentam como causas descritas a lesão da bainha tendínea, rupturas com reparação cirúrgica por meio de suturas, imobilizações prolongadas e a difícil adequação dos tratamentos nas diferentes etapas da reparação, porém o desencadeamento dos processos cicatriciais exuberantes ainda não está bem esclarecido. Na medicina veterinária os equinos são a espécie que mais sofre com problemas relacionados ao aparelho locomotor, assim como na medicina, com os casos relacionados aos traumas que envolvem as mãos. Nas duas áreas, seja por lesões traumáticas ou sequelas em cirurgias corretivas, há uma constante preocupação em evitar o comprometimento dos movimentos pela formação das aderências como sequelas da reparação. Neste estudo, o objetivo geral era acompanhar o comportamento do implante de membrana de celulose na reparação tendínea no modelo experimental equino. Os métodos utilizados para esta avaliação foram os exames de ultrassonografia diagnóstica relatado no capítulo II, e biópsia incisiva para análise histopatológica descrito no capítulo III. Os resultados das imagens ultrassonográficas revelaram a fácil visualização do implante peritendíneo, assim como o acompanhamento da degradação e absorção, sem diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre o membro tratado e o controle. Os resultados histopatológicos também não apresentaram diferenças estatísticas ($p < 0,05$) na reparação tecidual, mas demonstraram a barreira criada com populações de células mononucleadas margeando a membrana de celulose e a presença de célula-gigante como meio de degradação e absorção.

Termos de indexação: membrana de celulose; aderência; tendão; equino

ABSTRACT

A constant concern in solving routine problems in different areas of medicine, the bioabsorbable materials are being research focus mainly for its characteristics less toxic and inert to animal organisms. The synthetic cellulose membrane, a chain of microfibrils metabolized by bacteria *Acetobacter xylinum*, it is highlighted because of its easy handling, its permeable and its serves as a guide in tissue repair, and its studies show an important role in perform a barrier between different surfaces and it is absorbed and it didn't be incorporated into the body, what it reduces the problems of rejection post-healing. The selective permeability property facilitates the intake of cells that provide the healing process while it isolated unwanted cells. The orthopedic conditions such as ruptures of tendons and ligaments, traumatic surgery, often cause in exuberant scarring with fibrous tissue formation leading to peritendineum and joint adhesions, and its difficult the realization of movements. The causes of adhesions has described as the injury of the tendon sheath, ruptures with surgical repair through sutures, prolonged immobilization and the difficult adjustment of treatments at different stages of repair, but the outbreak of exuberant healing process is unknowns. In veterinary medicine horses are the species most affected by problems related to the locomotor system, such as in medicine are the hands the most cases related to trauma. In these two areas, either by traumatic injury or sequel in corrective surgery, there is a constant concern to avoid compromising the movement for the formation of adhesions as a consequence of the repair. In this study, the general objective was to monitor the behavior of the cellulose membrane implants on tendon repair in an experimental model horse. The methods used for this assessment were the ultrasound diagnostic tests reported in chapter II, and incisional biopsy for histopathological analysis described in Chapter III. The results of the ultrasound images revealed easy visualization peritendinous implant, as well as monitoring the degradation and absorption, without statistical differences ($p < 0.05$) between the treated and the control member. The histopathological findings also showed no statistical differences ($p < 0.05$) in tissue repair, but demonstrated the barrier created with populations of mononuclear cells bordering the cellulose membrane and the presence of giant-cell as a means of degradation and absorption.

INTEX TERMS: cellulose membrane; adhesions; tendon; equine

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I

- FIGURA 1 – Modelo de hierarquia das estruturas tendíneas (Kastelic et al., 1978) 12
- FIGURA 2 – Curva de estresse-estiramento demonstrando propriedades físicas básicas do tendão 14

CAPÍTULO II

- FIGURA 1 – Membrana de celulose após a esterilização, para ser implantada no ato cirúrgico.....29
- FIGURA 2: Procedimento de isquemia no TFDS com auxílio de pinças Crile29
- FIGURA 3: Membrana de celulose posicionada com auxílio de régua como guia30
- FIGURA 4: Aumento do volume localizado na região da lesão, M1533
- FIGURA 5: Grau 2 de tendinite no TFDP no M15.34
- FIGURA 6: Imagem do US identificando a membrana de celulose sintética M15 (setas)35
- FIGURA 7: Comparação entre os membros torácicos direito (A) e esquerdo (B) na delimitação do TFDS, M15.36
- FIGURA 8: Resquício do implante no M30 (setas)37

CAPÍTULO III

- FIGURA 1 – Membrana de celulose após a esterilização, para ser implantada no ato cirúrgico.....46
- FIGURA 2: Procedimento de isquemia no TFDS com auxílio de pinças Crile47
- FIGURA 3: Membrana de celulose posicionada com auxílio de régua como guia48
- FIGURA 4: Aumento do volume localizado na região da lesão, M1550
- FIGURA 5: Lâmina histológica do corte transversal da biópsia do membro tratado do GI. Identificação de célula-gigante (seta) e fragmentos da membrana de celulose sintética (rosa) (HE;100x).52
- FIGURA 6: Lâmina histológica do corte transversal da biópsia do membro tratado do GII. Identificação de início de granulação; deposição de tecido granulação entre as células. A (HE;10x); B (HE,40x).52
- FIGURA 7: Lâmina histológica do corte transversal da biópsia do membro tratado do GII. Identificação de neovascularização intensa (HE,40x), Potro 5.53
- FIGURA 8: Lâmina histológica do corte transversal da biópsia do membro tratado do GI. Visualização da membrana de celulose sintética (setas); A: (HE40x); B: * TFDS (HE,10x).54

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1: Graus de avaliação da postura e atitude	31
Tabela 2: Graus de ecogenicidade.....	31
Tabela 3: Graus de paralelismo	32
Tabela 4: Graduação da claudicação.....	33
Tabela 5: Valores da média D1, D2, AT e CE	34

CAPÍTULO III

Tabela 1: Valores da circunferência externa (CE) nos momentos (M) avaliados	50
Tabela 2: Graduação da desorganização tecidual (Foland et al. 1992)	51
Tabela 3: Graduação do infiltrado inflamatório (Foland et al. 1992)	52
Tabela 4: Graduação da neovascularização (Foland et al. 1992)	53

SUMÁRIO

1. CAPÍTULO I	10
1.1. INTRODUÇÃO	11
1.2. ESTRUTURA DO TECIDO TENDÍNEO	11
1.3. REPARAÇÃO TENDÍNEA	15
1.4. USO DE IMPLANTES NA CICATRIZAÇÃO TENDÍNEA	18
1.5. CONCLUSÃO	21
1.6. REFERÊNCIAS	21
2. CAPÍTULO II	25
2.1. INTRODUÇÃO	26
2.2. MATERIAL E MÉTODOS	28
2.3. RESULTADOS	32
2.4. DISCUSSÃO	36
2.5. CONCLUSÃO	39
2.6. REFERÊNCIAS	39
3. CAPÍTULO III	43
3.1. INTRODUÇÃO	44
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	45
3.3. RESULTADOS	49
3.4. DISCUSSÃO	54
3.5. CONCLUSÃO	57
3.6. REFERÊNCIAS	58
4. ANEXOS	61

CAPÍTULO I: REVISÃO - MEMBRANA DE CELULOSE SINTÉTICA NA PREVENÇÃO DE FORMAÇÃO DE ADERÊNCIAS PERITENDÍNEAS EM CAVALOS

Eduarda M^a.Oliveira¹, Peterson T. Dornbusch²

ABSTRACT. Oliveira E. M.², Dornbusch P. T.³ [Review - Synthetic cellulose membrane on peritendinous adhesions prevention in horses.] Revisão – Membrana de celulose sintética na prevenção de formação de aderências peritendíneas em cavalos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00:00-00.

Problems after scarring of tendinous flexor tendon adhesions are common and one of the more severe complications that may occur resulting in loss of movement function in digit. The non-invasive implants, such as the use of bioabsorbable membranes are an affordable option and perform a barrier function in preventing adhesions peritendineum, so the search for biomaterials compatible with animals' organism has been the subject of much research in veterinary and medicine. The synthetic membrane cellulose has useful features such as guided tissue regeneration, biocompatible, inert and nontoxic. There are three steps in the process of tendon repair phase: the first phase acute, following proliferative phase and finishing with remodeling phase. During these steps there is the involvement of intrinsic and extrinsic factors, the second being responsible for the formation of adhesions peritendineum. Aiming to avoid the undesirable effects of various treatments have been describe, but none have elucidate its mechanisms of action and many did not have confirmed its benefits to the end of the healing process. The equine species are the most affected tendons injuries, but the formation adhesions peritendineum is still poorly describe.

INDEX TERMS: cellulose membrane; adhesions; tendon; equine

RESUMO.- Problemas após as cicatrizações tendíneas de tendões flexores são comuns sendo as aderências uma das complicações mais severas que podem ocorrer acarretando em perda da função de movimento do dígito. Os implantes não invasivos, como o uso de membranas bioabsorvíveis, são uma opção acessível e exercem um função de barreira na prevenção de adesões peritendíneas, por isso a busca por biomateriais compatíveis com os organismos animais tem sido o objeto de muitas pesquisas na veterinária e medicina. A membrana de celulose sintética apresenta características úteis como regeneração tecidual guiada, biocompatibilidade, inerte e atóxica. Há três passos na fase de reparação tendínea, sendo a primeira a fase: aguda, seguida da proliferativa e terminando com a fase de remodelamento. Durante estas etapas há o envolvimento de fatores intrínsecos e extrínsecos, sendo o segundo responsável pela formação de aderências peritendíneas. Com o objetivo de evitar os efeitos indesejáveis da reparação vários tratamentos foram descritos, mas nenhum tem seu mecanismo de ação elucidado e muitos não tiveram seus benefícios confirmados ao final do processo de cicatrização do tendão. A espécie equina é a mais afetada em lesões tendíneas, porém a formação de aderências peritendíneas ainda é pouco descrita na literatura.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: membrana de celulose; aderência; tendão; equino

¹Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná, Rua dos Funcionários 1540, Curitiba, PR 80035-050, Brasil. E-mail: eduardaoliveira@ig.com.br

²Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Paraná, Rua dos Funcionários 1540, Curitiba, PR 80035-050, Brasil.

1. INTRODUÇÃO

As injúrias tendíneas representam um valor considerável na morbidade de cavalos, porque o afastamento das atividades pode durar vários meses até anos, dependendo do manejo terapêutico empregado (Sharma & Maffulli 2005). Mesmo com os avanços para diagnosticar os casos de tendinite e as terapias precoces, a incidência ainda apresenta-se alta, assim como a taxa de reincidência da lesão, em torno de 43% a 93% (Dahlgren 2007). Os longos períodos de recuperação e o alto risco de recorrência da lesão tendínea reduzem a expectativa da carreira atlética destes animais (Goodship 1993) e acabam refletindo em grandes prejuízos econômicos aos seus proprietários. Sawdon et al (1996) relatou que cerca de 50% dos cavalos de corrida podem ser capazes de retornar as atividades atléticas, mas a performance fica inferior em relação ao desempenho anterior a injúria.

A escolha da terapia, nos diferentes graus de lesão e o prognóstico da regeneração do tecido lesionado são as dúvidas mais relevantes na resolução dos problemas de tendíneos (Goodship 1993). Então, o objetivo do tratamento consiste em oferecer um ambiente no qual o tendão lesionado possa se curar com uma quantia mínima de reação de tecido de cicatrização, mantendo a capacidade de deslizamento, e ao mesmo tempo proporcionar resistência para suportar a tração dos músculos flexores. A ocorrência de aderências na reabilitação é muito comum neste tipo de lesão, sendo que sua preservação será um dos objetivos prioritários do tratamento (Mattar Jr et al. 1997).

2. ESTRUTURA DO TECIDO TENDÍNEO

Os tendões, apesar de seu aspecto grosseiro, são estruturas bastante complexas em termos de conformação tendínea e característica biomecânica (Goodship 1993), pois apresenta grande alongamento mecânico, flexibilidade e um alto grau de elasticidade para desempenhar sua função (Sharma & Maffulli 2005). É reconhecido como um componente intermediário entre o músculo e o osso, e é a estrutura responsável pela execução do trabalho, pois, através da tração do esqueleto, provoca o movimento articular. Porém, para que isso ocorra é necessário que ele deslize com o menor atrito possível (Santini et al. 2005).

O tendão é composto por tecido conjuntivo denso, com poucas células, tendo como seu principal constituinte as fibras colágenas tipo I (Severo et al. 2004). A estrutura do tecido tendíneo envolve componentes de vários níveis hierárquicos

num progressivo aumento de complexidade das subunidades tanto moleculares como macroscópicas. As microfibrilas são compostas moléculas de tropocolágeno (cadeias 1-alfa ricas em polipeptídeos formando tripla hélice) (Severo et al. 2004; Williams et al. 1980), que por sua vez formam as subfibrilas e fibrilas de colágeno, fascículos todos envolvidos pelo endotendão, e o conjunto de diversos fascículos, por fim, completam a estrutura do tendão propriamente dito então recoberto pelo epitendão (Kastelic et al. 1978) (Fig:1). O epitendão, intimamente ligado ao paratendão (porção externa formada por fibras colágenas tipo I e III, algumas fibras elásticas, interligado às células sinoviais), contém o suprimento vascular, linfático e nervoso do tendão, que se estendem internamente aos feixes de fibras até o endotendão (Sharma & Maffulli 2005).

Esta estrutura hierárquica dispõe as fibras colágenas paralelamente de forma regular e orientadas na mesma direção, e as ligações intermoleculares caracterizam as ondulações nas fibras tendíneas, são responsáveis pela deformação e adaptação do tendão às diferentes pressões do dígito durante o movimento, visto que conferem maior resistência à força de estiramento (Dahlgren 2007; Sodersten et al. 2005).

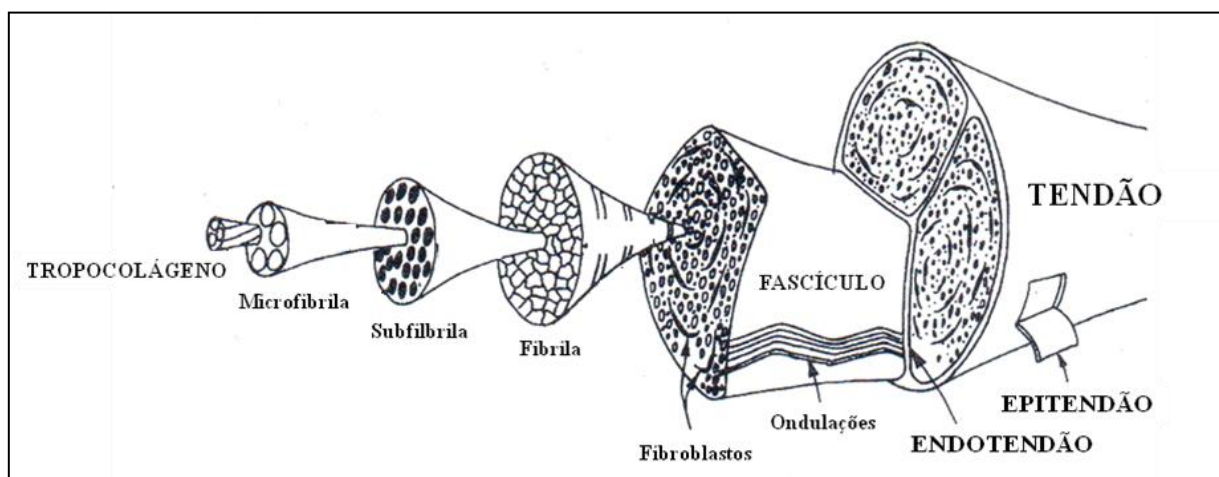


Figura 1: Modelo de hierarquia das estruturas tendíneas (Kastelic et al. 1978)

O suprimento sanguíneo ocorre de três formas: (1) pelo sistema intrínseco pelas junções miotendíneas e osteotendíneas, (2) pelo sistema extrínseco através do paratendão e (3) pela bainha sinovial por difusão (Sharma & Maffulli 2005). Mesmo assim, os tendões possuem vascularização limitada, fato que afeta diretamente seus processos de cura e metabolismo (Santini et al. 2005; Severo et al. 2004).

Ferraro et al. (2003) pesquisaram a morfologia do epitendão do TFDS do membro torácico em diferentes regiões e descreveram que na junção musculotendínea era bem evidente e ricamente vascularizada, na região média do metacarpo apresentava-se com menos vasos e com células adiposas esparsas, e na sua inserção na falange proximal o epitendão formava um arcabouço de tecido conectivo delgado e vascularizado.

Várias descobertas quanto à composição da matriz extracelular (MEC) estão sendo descritas para a compreensão dos mecanismos de funcionalidade do tecido tendíneo sendo as propriedades mecânicas do tendão atribuídas a composição MEC das fibras colágenas e à maneira em que se organizam, e mudanças na função mecânica podem refletir em alterações deletérias desta composição (Goodship 1993).

A proteína oligomérica da matriz cartilaginosa (POMC) é uma glicoproteína não-colágena presente na MEC de tendões, com capacidade de se unir ao cálcio, e tem a forma de pentâmero. É mais abundante nos tendão flexor digital superficial (TFDS) de equinos comparados ao tendão flexor digital profundo (TFDP) sugerindo uma relação entre a concentração desta glicoproteína com a função mecânica exercida por cada um dos tendões, ou seja, quanto mais o tendão sofre estresse maior a concentração da POMC (Sodersten et al. 2005).

Sob as condições de exercício fisiológico, os fibroblastos, ou tenócitos, presentes no parênquima tendíneo mantém o equilíbrio entre a degradação e reposição de proteínas da MEC. Este equilíbrio é mantido por dois grupos de proteínas: as metaloproteinases (MMPs) e os inibidores das metaloproteinases (IMMPs). As MMPs são proteínas da família das enzimas proteolíticas que degradam a MEC e facilitam o remodelamento, sendo essenciais para a manutenção e reparação. A ação das MMPs é controlada em parte pelos IMMPs. Este mecanismo ainda é pouco conhecido, porém muitas pesquisas neste foco estão sendo realizadas (Dahlgren 2007), entretanto sabe-se que as MMPs podem também interferir de maneira negativa quando há desequilíbrio das funções da MEC, pois são colagenases, e tem a capacidade de degradar a molécula intacta da fibra colágena tipo I no meio extracelular (Riley 2004).

O número e o tipo de ligações intermoleculares e intramoleculares tem grande importância para que a integridade do colágeno seja mantida. A curva de estresse-tensão tem uma forma sigmoide (Fig.2). Quando a tensão de estiramento é de 2% do comprimento representa a perda das ondulações presentes nas fibras de colágeno. Se o estresse permanece menor de 4% o tendão mantém sua elasticidade e retorna ao padrão original. Após este ponto o tendão deforma-se para a forma linear e as fibras tornam-se mais paralelas e próximas (Sharma & Maffulli 2005). Segundo Riley (2004), as forças de tensão sobre o tendão que ocasionam aumento acima de 4% no seu comprimento, considerado limite fisiológico, resultarão em lesões microscópicas. Uma ruptura completa ocorre rapidamente quando há tensão de 8% a 12% de estiramento, quando surgem as lesões macroscópicas, com danos interfibrilares com alteração molecular.

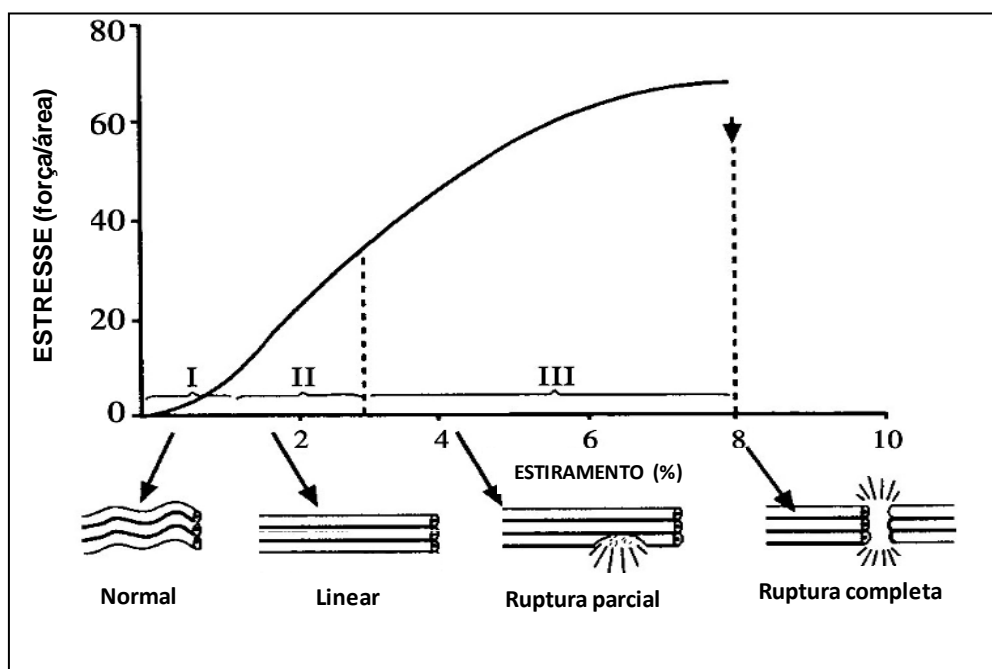


Figura 2: Curva de estresse-estiramento demonstrando propriedades físicas básicas do tendão (Sharma & Maffulli 2005)

Com a maturação do tecido tendíneo na idade adulta, o cavalo não apresenta variações na concentração total de colágeno, permanecendo o predomínio de colágeno tipo I. Entretanto a distribuição de colágeno do tipo III pode variar, sendo incorporado pelas fibras tipo I. Os feixes de fibras colágenas tornam-se mais largas, aumenta a estabilidade térmica e o tendão torna-se espessado e menos elástico (Riley 2004).

3. REPARAÇÃO TENDÍNEA

Rupturas parciais ou completas do tendão estão sempre associadas a hemorragia e inflamação fazendo com que a região aumente de volume pela formação de exsudato. Assim que a inflamação diminui, o processo de cura ocorre no sítio da lesão e a cicatrização pode estender-se até os tecidos peritendíneos, formando adesões. A cicatriz deforma a estrutura normal do tendão e pode comprometer permanentemente a sua função (Williams et al. 1984), portanto o tratamento das lesões tendíneas preconiza o controle do distúrbio circulatório e da intensidade da inflamação, para que a formação de aderências seja a mínima possível, assim como a necessidade de se obter um tecido neoformado mais próximo do normal para reestabelecimento pleno da função do tendão (Fernandes et al. 2003).

A reparação tendínea passa por três fases: aguda, proliferativa e remodelamento (Dahlgren 2007). A fase aguda é inflamatória com eritrócitos e células inflamatórias, e principalmente neutrófilos são mobilizados no sítio da lesão. Esta fase pode durar 1 ou 2 semanas de acordo com a gravidade da lesão. Modulado por numerosos mediadores químicos, o processo inflamatório é responsável pela remoção de restos celulares e pelo combate a possíveis agentes invasores, caracterizando-se pela presença de neutrófilos, macrófagos e linfócitos (Severo et al. 2004), assim como a liberação de substâncias vasoativas e quimiotáticas que iniciam a angiogênese, estimulam a proliferação de tenócitos e recrutam outras populações de células para o processo de cura da lesão. Os tenócitos gradualmente migram ao sítio da lesão e iniciam a síntese de colágeno tipo III (Dahlgren 2007; Sharma & Maffulli 2005).

Na segunda fase de proliferação as mudanças começam alguns dias após a injúria e duram várias semanas ou até meses. Há hipertrofia do epitendão com o acúmulo de elementos vasculares e celulares. Isto pode ser explicado pela migração de células progenitoras para o sítio da lesão em resposta às substâncias quimiotáticas. Há um pico na síntese de colágeno tipo III que permanece por algumas semanas. A grande quantidade de água e alta concentração de glicosaminoglicanos são mantidas nesta fase. As alterações na forma dos tenócitos induzem as mudanças na MEC. Conforme o processo de reparação evolui, as fibras de colágeno tipo III, mais fracas e de diâmetro menor, são substituídas por fibras colágenas tipo I, o que aumenta a força de tensão. Após 4 semanas do início da

reparação, a lesão está coberta por tecido fibroso imaturo parecido com tecido de granulação. No final desta fase há decréscimo da MEC para próximo ao normal, porém com composição inadequada para sua funcionalidade, seria o momento de iniciar exercício controlado com caminhadas contribuindo para o realinhamento das novas fibras colágenas (Dahlgren 2007; Sharma & Maffulli, 2005; Riley 2004).

O remodelamento é a fase crítica para o reestabelecimento da habilidade funcional para o retorno da atividade esportiva. Assim que há um decréscimo da celularidade, de colágeno e da síntese de glicosaminoglicanos, o processo de organização das fibras começa. Esta etapa pode ser subdividida em dois estágios: consolidação e maturação. O estágio de consolidação inicia-se aproximadamente seis semanas após a injúria e progride em 10 meses, às vezes pode ser mais longo. O metabolismo do tenócito permanece alto durante este período, e junto com as fibras neoformadas alinham-se paralelamente na direção da tensão. Ligações químicas entre as fibras de colágeno são estabelecidas com aumento exponencial da tensão de estiramento. Com o tempo estas ligações tornam-se mais fortes. Depois de 10 semanas o estágio de maturação começa com mudança gradual do tecido fibroso para tecido de cicatrização do tendão por até 12 meses. No final do processo há decréscimo na atividade dos tenócitos e da vascularização tendínea (Dahlgren 2007; Sharma & Maffulli 2005).

Resumindo, a cicatrização dos tendões flexores acontece por meio de dois mecanismos: extrínseco e intrínseco. O mecanismo extrínseco ocorre pela atividade de células dos tecidos adjacentes como as bainhas tendínea e sinoviais (células trazidas ao local de reparação por capilares) e, o mecanismo intrínseco ocorre pela proliferação e atividade dos tenócitos derivados do epitendão e endotendão (Mattar Jr. et al. 1997; McDowell et al. 2002).

Pouco é conhecido sobre os mecanismos fisiológicos do colágeno tipo I e III, porém é certo considerar que a presença de colágeno do tipo III no processo de reparação do tendão de cavalos contribui para um decréscimo na força de tensão (Williams & McCullag 1980). Por isso, ao final de todo o processo de reparação, a lesão remodelada ainda apresenta deficiência na propriedade mecânica em relação ao tecido normal, e assim necessita cuidado permanente na monitoração para o retorno integral as atividades do animal, com aumento gradativo da intensidade e velocidade de exercícios (Dahlgren 2007).

Apesar da intensa atividade de remodelagem, uma regeneração completa do tendão dificilmente é obtida. O diâmetro das fibras de colágeno é alterado, favorecendo as fibras mais finas com redução da força biomecânica do tendão (Riley 2008). A regeneração e a formação de fibrose podem ocorrer no processo de reparação de um tecido num mesmo animal, inclusive nos humanos, sugerindo que os mecanismos de reparação e seus reguladores também sejam similares entre as diferentes espécies (Khanna et al. 2009).

Muitas vezes a alteração no padrão normal do tendão também contribui para a formação de aderências peritendíneas que dificultam o deslizamento dos tendões e comprometem a funcionalidade do membro (Temiz et al. 2008). Por fim, não basta o tendão cicatrizar, ele tem que deslizar. Entendido o processo de cicatrização, pode-se utilizá-lo em favor da melhora dos resultados (Santini et al. 2005).

Uma das consequências observadas após a reparação do tendão é o espessamento da região da ruptura como resultado da fibrose do próprio tendão, do paratendão e de sua bainha. Este espessamento é frequentemente reconhecido como uma distensão posterior do TFDS em relação ao aspecto palmar do osso terceiro metacarpo, e geralmente quando o tendão flexor digital profundo não está envolvido na injúria, não sofre danos com o aumento do TFDS (Williams & McCullagh 1980).

Williams & McCullagh (1980) estudaram os aspectos histológicos da morfologia da cicatriz de tendão em equinos e descreveram que a aparência da cicatriz tendínea é bastante diferente do normal, as células e a MEC ficam acomodadas de maneira mais aleatória, as fibras colágenas não formam os feixes paralelos e nem as ondulações da superfície são visualizadas, porém os mesmos autores ressaltam que isto não indica que nos níveis fibrilares elas não estejam presentes. Tendões submetidos a estresse mecânico cicatrizam mais rápido, com menor aderência e melhor excursão, por haver alinhamento das fibras colágenas de modo mais precoce (Mattar Jr. et al 1997).

A cura extrínseca, não é fundamental para a cicatrização ou nutrição do tendão, porém quando há predomínio dela no processo de reparação tendinosa, as adesões entre o tendão e os tecidos vizinhos são inevitáveis. As adesões, por sua vez, são estimuladas pelo trauma inicial do tendão, envoltura e imobilização, prejudicam de modo considerável o deslizamento livre necessário para a movimentação do dígito. Considerando que a cura seja em grande parte baseada

em atividade celular intrínseca resultará em menor quantidade e adesões menos densas (Mattar Jr. et al 1997).

4. USO DE IMPLANTES NA CICATRIZAÇÃO TENDÍNEA

A cicatrização representa uma série de eventos celulares, bioquímicos e fisiológicos altamente dinâmicos e integrados e, ainda que a fibrose tendínea ocorra em graus variáveis, em resposta à manipulação cirúrgica e ao grau de lesão das estruturas tendíneas, inúmeros animais não desenvolvem sinais como dor e/ou diminuição da amplitude de movimentos relacionados à formação da cicatriz (Costa & Souza 2005). Por isso, a idéia de prevenção de futuras complicações no ato cirúrgico com uso de materiais exógenos esteve sempre presente no consciente do cirurgião; no entanto, somente a evolução tecnológica e o controle da resposta imunológica permitiram, na década de 60, o início de tais objetivos (Herculano et al. 2006).

Na resposta ao trauma, o tendão tende a sofrer aderência, pois a ferida que envolve diferentes tecidos cicatriza como uma unidade, ou seja, “uma ferida, uma cicatriz” (Peacock & Van Winkle 1976; Raiser 2001) então quando ocorre lesão tecidual, a área ao redor é gradualmente preenchida por tecido fibroso, impossibilitando o reparo por tecido original. Dessa forma, ao se inserir uma membrana junto à lesão, previne-se o crescimento de tecidos indesejáveis (Iamaguti & Brandão 2009) e a reconstrução da bainha tendínea lesionada com membrana permeável e biocompatível pode não interferir na nutrição e reparação de tendões flexores. Além disso, a barreira formada entre o tendão em processo de cicatrização e os tecidos adjacentes pode mostrar-se capaz de reduzir a formação de adesões peritendíneas (Khanna et al. 2009).

O uso de implantes de fibras sintéticas é mais indicado para casos severos de ruptura, com o objetivo de induzir uma cicatrização guiada para o alinhamento das fibras colágenas nos estágios iniciais da reparação e reduzir a formação de tecido fibroso no tendão. Os implantes estudados são os de fibra de carbono em cavalos (Goodship et al. 1980; Gamballi 1993), silicone em humanos (Batista & Araújo 2007), peritônio bovino em cães (Costa Neto et al., 1999) e coelhos (Freitas et al. 2010), poliuretano de óleo de mamona em coelhos (Rezende et al. 2001), tendões homólogos de coelhos (Magnaghi et al. 1994), cães (Raiser 2001) e em pôneis (Cordona 2007).

O desenvolvimento dos polímeros como biomateriais tem contribuído para o sucesso de implantes nos tecidos moles e duros, pois além da biocompatibilidade podem ser confeccionados com formas e medida específicas, adaptando-se às propriedades dos tecidos. Adicionalmente, os polímeros podem ter forma física variada, como líquida para preencher espaços, fibra para materiais de sutura, e sólida para aplicações cosmética e mecânica (Rezende et al. 2001). A constante preocupação em tentar minimizar os danos decorrentes das injúrias tendíneas tem levado ao desenvolvimento de inúmeras pesquisas com o intuito de encontrar um material adequado à cicatrização tendínea, com resistência suficiente, sem alterar seu comprimento e manter a capacidade de deslizamento, principalmente em situações em que há perda de substância com consequente não união das extremidades tendíneas (Costa Neto et al. 1999).

A formação de aderências e limitação da função da flexão digital é influenciada por diversos fatores, principalmente quando o reparo é tardio, apesar dos avanços cirúrgicos e reabilitadores na reconstrução de tendão flexor, principalmente quando se trata da reparação em humanos (Batista & Araújo 2007). Com o desenvolvimento de membranas bioabsorvíveis, como a de colágeno I bovino, de ácido polilático, de ácido poliglático e várias outras, utilizadas com resultados satisfatórios em diversos tipos de defeitos ósseos, muitas membranas foram desenvolvidas e aperfeiçoadas para serem utilizadas como barreira física funcionando diversas vezes como leito guia para a regeneração tecidual (Herculano et al. 2006).

As membranas biológicas têm sido amplamente utilizadas para reparo de várias alterações anatômicas e patológicas nas diferentes espécies. Porém, sua utilização em tendões e ligamentos ainda é pouco estudada. Costa Neto et al. (1999) destacou o emprego do transplante de fáscia lata autóloga em cães por Braden (1976), pericárdio equino conservado em glicerina a 98% em coelhos por Holzchuh et al. (1990). Badylak et al. (1995) avaliaram as propriedades remodelantes da submucosa de intestino delgado de suíno como biomaterial para reconstrução do tendão calcâneo em cães.

Em 1984, a membrana de celulose foi descoberta ao acaso pelo microbiologista Luís Fernando Xavier Farah, no transcurso de uma pesquisa em apicultura na qual utilizava a celulose. No processo final de obtenção da membrana de celulose o aspecto é visualmente semelhante à pele humana. Por causa desta

característica, foi inicialmente utilizada como substituto da pele em casos de queimaduras, revelando sua biocompatibilidade com o leito da derme, além de apresentar facilidade de manipulação e diminuir o desconforto do paciente frente à ferida cutânea (Rebello et al. 1987). Devido às suas características de biocompatibilidade e de propiciar um ambiente úmido e favorecer as trocas gasosas, a película começou a ser estudada por vários grupos como substituta de pele em lesões crônicas e após queimaduras (Osman et al. 2007).

As membranas obtidas pelo processamento de zooglílias provenientes de fermentação pela bactéria *Acetobacter xylinum*, formam uma massa de filamentos celulósicos de tamanhos indefinidos, entrelaçados entre si juntamente com cápsulas das bactérias, no qual se procedem a tratamentos mecânicos e químicos para transformar a celulose sintetizada em laboratório em membranas de celulose cristalina, livre de impurezas significativas pela degradação das cápsulas bacterianas, sem porosidade e com baixo teor de proteínas e outros pirogênicos (em aproximadamente 0,5%).

Tais características se assemelham à da celulose produzida por vegetais, mas diferem de forma expressiva no que consiste ao seu comprimento, pois enquanto nos vegetais ele é limitado ao comprimento da parede celular que forma uma célula (células parenquimáticas, fibras ou traqueóides), o comprimento das fitas de celulose bacteriana é indefinido, não estando em função do tamanho de uma célula, mas do tamanho da cuba onde ocorre a fermentação bacteriana.

Iamaguti & Brandão (2009) relata que a membrana biossintética a base de celulose bacteriana vem sendo amplamente estudada, pois, além de possuir características necessárias para a reparação tecidual guiada, também é biocompatível, inerte, atóxica, e trata-se de um produto nacional desenvolvido a baixos custos, sendo utilizadas em diversas áreas de pesquisa. Como exemplo temos os usos como substituto da pele (Rebello et al. 1987), curativo de feridas cirúrgicas de papilas mamárias de vacas (Biofill®) (Marques et al. 1996), substituto de pele em equino (Wouk & Michelotto 1989), lesões em suínos (Wouk et al. 2004), curativo para cirurgias periodontais (Gengiflex®) (Novaes Jr et al. 1993), reconstrução vascular (Klemm et al., 2001; Negrão et al., 2006), substituto da dura-máter (Mello et al. 1996), nervos periféricos (Mello et al. 2001), defeitos meningomielocele (Oliveira et al. 2007), em laminectomias de ratos (Herculano et al. 2006).

Em pesquisas relacionadas ao efeito da membrana de celulose em tendões, He et al. (1997) realizaram um estudo experimental em ratos com o objetivo de estudar o efeito do Biofill® na cura e adesão aos planos adjacentes após secção e sutura de tendão, e concluíram o que a utilização da membrana de celulose previne a adesão do tendão e não interfere com o processo intrínseco de cicatrização do tendão. Menderes et al. (2004) também realizaram estudos em lesões traumáticas em tendões de coelhos comparando os resultados da película Seprafilm® (contendo metilcelulose) aos do ácido hialurônico, concluindo que tanto a metilcelulose quanto o ácido hialurônico foram efetivos na regeneração com menor grau de adesão. Temiz et al. (2008) realizou estudo semelhante ao de He et al. (1997) mas utilizou membrana oxidada Interceed® e também obteve resultados satisfatórios quanto a diminuição de aderências peritendíneas comparadas ao grupo controle. Seguindo nesta linha de pesquisa, Pihlajamäki et al. (2008) testaram membrana bioabsorvível de ácido poliglicólico e seus resultados mostraram reação inflamatória semelhante entre o grupo tratado com a membrana e o grupo sem a membrana.

Hart et al. (2002) estudaram a película de celulose e colágeno em ratos diabéticos e não-diabéticos com feridas cutâneas e observaram que a habilidade em promover migração de fibroblastos e proliferação celular, acelerou significativamente o fechamento da ferida no rato diabético com melhores resultados histológicos.

5. CONCLUSÃO

O processo de reparação tendínea ainda não está completamente esclarecido e muito ainda deve ser pesquisado sobre o desencadeamento das aderências peritendíneas para que a manipulação das lesões seja o mais eficiente possível e assim, diminuir os riscos de perda ou redução dos movimentos articulares. O uso de materiais bioabsorvíveis tem se mostrado uma opção eficiente, de baixo custo e segura por oferecer uma reparação tecidual guiada ao mesmo tempo em que preserva a estrutura do tecido lesionado permitindo a sua cicatrização.

6. REFERÊNCIAS

Badylak, S.F., Tullius, R., Kokini, K., Shelbourne, K.D., Klootwyk, T., Voytik, S.L., Kraine, M.R., Simmons, C., 1995, The use of xenogeneic small intestinal submucosa as a biomaterial for Achille's tendon repair in a dog model. *Journal of Biomedical Materials Research* 29, 977-985.

- Batista, K.T., de Araújo, 2007, Fatores que influenciam nos resultados do reparotardio de tendões flexores na zona II. *Rev Bras Cir Plast* 22 (1) 45-51.
- Braden, T., 1976, Fascia lata transplant for repair of chronic Achilles tendon defects. *Journal American Animal Hospital Association* 12, 800-805.
- Cordona, R. O. do C., 2007, Reconstrução rupturas induzidas no tendão extensor digital longo em pôneis, utilizando homoiimplante tendíneo preservada em glicerina 98% e fio nylon monofilamentoso. Dissertação de Mestrado Universidade de Santa Maria. Santa Maria, RS. 30 fls.
- Costa, H.O., Souza, F., 2005, Avaliação da regeneração tecidual da pele de porco submetida à lesão térmica seguida de colocação de Biotissue. *Acta ORL* 23, 23-27.
- Costa Neto, J.M., Daleck, C.R., Alessi, A.C., Bracciali, C.S., 1999, Experimental calcaneal tenoplasty in dogs with bovine peritoneum conserved in glycerol. *Ciência Rural* 29, 697-703.
- Dahlgren, L.A., 2007, Pathobiology of tendon and ligament injuries. *Clinical techniques in equine practice* 6, 168-173.
- Fernandes, M.A.L., Alves, G.E.S., Souza, J.C.A., 2003, Efeito do ultra-som terapêutico em tendinite experimental de eqüinos: estudo clínico, ultrasonográfico e histopatológico de dois protocolos. *Arq Bras Med Vet Zootec* 55, 27-34.
- Ferraro, G.C., Moraes, J.R.E.d., Pereira, G.T., Camargo, M.H.B.d., Moraes, F.R.d., 2003, Estudo morfológico de tendões flexores de eqüinos. *Braz J vet Res anim Sci* 40, 2.
- Freitas, P., Daleck, C., Nunes, L., Eurides, D., Beletti, M., Melo, M., 2010, Eletroacupuntura no reparo do tendão calcaneal comum em coelhos após enxertia com peritônio bovino; Eletro-acupuncture in the rabbit achilles tendon repair using bovine peritoneum graft. *Arq Bras Med Vet Zootec* 62, 324-331.
- Gamballi, A. B., 1993, Implante de fibra de carbono no tendão flexor digital superficial do membro anterior do equino: estudo clínico-cirúrgico, fisiológico e histológico. Dissertação de Mestrado Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR. 140 fls.
- Goodship, A., 1993, The pathophysiology of flexor tendon injury in the horse. *Equine Veterinary Education* 5, 23-29.
- Goodship, A., Brown, P., Yeats, J., Jenkins, D., Silver, I., 1980, An assessment of filamentous carbon fibre for the treatment of tendon injury in the horse. *Veterinary Record* 106, 217.
- Hart, J., Silcock, D., Gunnigle, S., Cullen, B., Light, N.D., Watt, P.W., 2002, The role of oxidised regenerated cellulose/collagen in wound repair: effects in vitro on fibroblast biology and in vivo in a model of compromised healing. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 34, 1557-1570.
- He, A., Fu, Y., Li, H., 1997, Artificial biological skin for preventing adhesion of repaired tendon in white rats. *Bulletin of Hunan Medical University* 22, 287.
- Herculano, M.A., de Tella Jr, O.I., Prandini, M.N., de Seixas Alves, M.T., 2006, Estudo de membrana biológica em ratos na prevenção de fibrose pós laminectomia. *Arq Neuropsiquiatr* 64, 259-263.
- Holzchuh, M., Cipolla, W., Borelli, V., 1990, Emprego experimental do pericárdio de equino conservado em glicerina na substituição do tendão de Aquiles em coelhos. Aspectos histológicos. *Comun. Cient. Fac. Med. Vet. Zootec. USP* 14, 57.

- Iamaguti, L.S., Brandão, C.V.S., 2009, Uso de membrana biossintética a base de celulose na regeneração tecidual guiada. *Semina: Ciências Agrárias* 28, 701-708.
- Kastelic, J., Galeski, A., Baer, E., 1978, The multicomposite structure of tendon. *Connective tissue research* 6, 11-23.
- Khanna, A., Friel, M., Gougoulas, N., Longo, U.G., Maffulli, N., 2009, Prevention of adhesions in surgery of the flexor tendons of the hand: what is the evidence? *British Medical Bulletin* 90, 85-109.
- Klemm, D., Schumann, D., Udhardt, U., Marsch, S., 2001, Bacterial synthesized cellulose--artificial blood vessels for microsurgery. *Progress in Polymer Science* 26, 1561-1603.
- Magnaghi, A., Mattar Junior, R., Azze, R.J., Oliveira, N.R.B., Canedo, A., Resende, M.U., Prado, J.A., 1994, Estudo experimental sobre as propriedades histológicas dos enxertos de tendões liofilizados. *Rev. bras. ortop* 29, 205-210.
- Marques, J., Moraes, J., Teixeira Neto, F., 1996, Tratamento alternativo de feridas de papilas mamárias de vacas através do emprego de membrana biológica (Biofill). *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci* 33, 102-106.
- Mattar Jr, R., Azze, R., Okane, S., Starck, R., Rezende, M., Kimura, L., Paula, E., Pereira, E., Camillo, A., 1997, Reconstrução dos tendões flexores com o método de Indiana. *Rev Bras Ortop* 32, 310-314.
- McDowell, C.L., Marqueen, T.J., Yager, D., Owen, J., Wayne, J.S., 2002, Characterization of the tensile properties and histologic/biochemical changes in normal chicken tendon at the site of suture insertion. *The Journal of hand surgery* 27, 605-614.
- Mello, L.R., Feltrin, L.T., Fontes Neto, P.T., Abreu, A.R., 1996, Duraplastia com celulose biossintética: estudo experimental. *Arq. bras. neurocir* 15, 14-21.
- Mello, L.R., Feltrin, Y., Selbach, R., Macedo Junior, G., Spautz, C., Haas, L.J., 2001, Uso da celulose liofilizada em lesões de nervos periféricos com perda de substância. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria* 59, 372-379.
- Menderes, A., Mola, F., Tayfur, V., Vayvada, H., Barutçu, A., 2004, Prevention of Peritendinous Adhesions Following Flexor Tendon Injury With Seprafilm. *Annals of Plastic Surgery* 53, 560-564.
- Negrão, S.W., Bueno, R.R.L., Guérios, Ê.E., Ultramari, F.T., Faidiga, A.M., de Andrade, P.M.P., Nercolini, D.C., Tarastchuck, J.C., Farah, L.F., 2006, A eficácia do stent recoberto com celulose biossintética comparado ao stent convencional em angioplastia em coelhos. *Rev Bras Cardiol Invasiva* 14, 10-19.
- Novaes Jr, A., Novaes, A., Grisi, M., Soares, U.N., Gabarra, F., 1993, Gengiflex, an alkali-cellulose membrane for GTR: Histologic observations. *Braz. Dent. J* 4, 65-71.
- Oliveira, R.C.S., Valente, P.R., Abou-Jamra, R.C., Araújo, A., Saldiva, P.H., Pedreira, D.A.L., 2007, Biosynthetic cellulose induces the formation of a neoduramater following pre-natal correction of meningomyelocele in fetal sheep. *Acta Cirurgica Brasileira* 22, 174-181.
- Osman, S.A., Souza, F., Dolci, J.E., 2007, Estudo experimental sobre a aplicação de película de celulose (bionext®) em área cruenta de ressecção de concha nasal de coelhos. *Acta ORL* 25, 304-311.
- Peacock Jr, E.E., Van Winkle Jr, W., 1976, Wound repair. Saunders, Philadelphia.

- Pihlajamäki, H., Tynnenen, O., Karjalainen, P., Rokkanen, P., 2008, Enveloping bioabsorbable polyglycolide membrane and immobilization in achilles tendon repair: A comparative experimental study on rabbits. *Journal of Orthopaedic Research* 26, 264-270.
- Raiser, A.G., 2001, Reparação do tendão calcâneo em cães. *Ciência Rural* 31, 351-359.
- Rebello, C., Almeida, D.A., Lima Júnior, E.M., Dornelas, M.P., 1987, Bio-fill, um novo substituto de pele: nossa experiência. *Rev. bras. cir* 77, 407-414.
- Rezende, C., Silva, M., Laranjeira, M., Borges, A., 2001, Estudo experimental do poliuretano de óleo de mamona (*Ricinus communis*) como substituto parcial do tendão calcâneo comum em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). *Arq. bras. med. vet. zootec* 53, 695-700.
- Riley, G., 2004, The pathogenesis of tendinopathy. A molecular perspective. *Rheumatology* 43, 131.
- Riley, G., 2008, Tendinopathy—from basic science to treatment. *Nature Clinical Practice Rheumatology* 4, 82-89.
- Santini, L., Forcelini, T., Fundo, P., 2005, Intervenção fisioterapêutica no pós-operatório de ruptura dos tendões flexores da mão Monografia Curso de Fisioterapia Universidade de Passo Fundo.
- Sawdon, H., Yovich, J., Booth, T., 1996, Superficial digital flexor tendinitis in racehorses: Long term follow up in conservatively managed cases. *Aust Equine Vet* 14, 21-25.
- Severo, A.L., ÁVILA, A.O.V., COSTA, M., LECH, O.L.C., 2004, Reparo de tendões flexores da mão: análise biomecânica com diferentes técnicas de suturas. *Gráfica Berthier*.
- Sharma, P., Maffulli, N., 2005, Tendon injury and tendinopathy: healing and repair. *The Journal of Bone and Joint Surgery* 87, 187.
- Sodersten, F., Ekman, S., Eloranta, M.L., Heinegard, D., Dudhia, J., Hultenby, K., 2005, Ultrastructural immunolocalization of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) in relation to collagen fibrils in the equine tendon. *Matrix biology* 24, 376-385.
- Temiz, A., Ozturk, C., Bakunov, A., Kara, K., Kaleli, T., 2008, A new material for prevention of peritendinous fibrotic adhesions after tendon repair: oxidised regenerated cellulose (Interceed), an absorbable adhesion barrier. *International Orthopaedics* 32, 389-394.
- Williams, I., Heaton, A., McCullagh, K., 1980, Cell morphology and collagen types in equine tendon scar. *Research in Veterinary Science* 28, 302-310.
- Williams, I., McCullagh, K., Goodship, A., Silver, I., 1984, Studies on the pathogenesis of equine tendonitis following collagenase injury. *Research in Veterinary Science* 36, 326.
- Wouk, A.F.P., Michelotto, P.V.P., 1989, Relato preliminar do uso de um novo curativo biológico (Biofill) em feridas de pele com grande perda de substâncias em um equino. *A Hora Veterinária*, Ano 8, 31-34.
- Wouk, A.F.P.D.E.F., Diniz, J., Círio, S., Santos, H.d., Baltazar, E.L., Acco, A., 2004, Membrana biológica (Biofill)-Estudo comparativo com outros agentes promotores da cicatrização da pele em suínos: aspectos clínicos, histopatológicos e morfométricos. *Archives of Veterinary Science*.

CAPÍTULO II: AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA DO COMPORTAMENTO DA MEMBRANA DE CELULOSE SINTÉTICA EM IMPLANTE PERITENDÍNEO EM POTROS

Eduarda M^a.Oliveira³, Peterson T. Dornbusch⁴, Tilde Froes², Ivan Deconto⁴

ABSTRACT. Oliveira E. M.³, Dornbusch P. T.⁴, Froes T.⁴, Deconto I.⁴ [Ultrasonographically evaluation of the performance of synthetic cellulose membrane on peritendinous implant in foals.] Avaliação ultrassonográfica do comportamento da membrana de celulose sintética em implante peritendíneo em potros. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00:00-00.

The objective of this experiment was to study the behavior of synthetic cellulose membrane used to prevent formation of fibrous adhesions after tendon trauma peritendineum. Six foals had a cellulose membrane applied around the superficial digital flexor tendon (SDFT) in the right forelimb, and followed by ultrasonography for 60 days. In the left forelimb, the same procedures were performed except the placement of the implant. The animals were divided into two groups: one group rated by 30 and another for 60 days. The synthetic cellulose membrane was easily identified in the images of ultrasound as hyperechoic line around the SDFT, which was gradually absorbed into fragments and displayed upon the completion of the examinations. The results of cross-sectional area and thickness of the SDF and the distance between skin and tendon showed no statistically different between members, and the implant showed no major deleterious effects on the inflammatory process and it was observed the preservation of the integrity of the injured area and peritendineum structures. Despite the findings, this study suggests that more research should be conducted to assess and improve the technique of bioabsorbable implants in tendons.

INDEX TERMS: adhesions; cellulose membrane; tendon; equine

RESUMO.- O objetivo deste experimento foi de estudar o comportamento da membrana de celulose sintética utilizada na prevenção de formação de aderências fibrosas peritendíneas após trauma tendíneo. Seis potros tiveram uma membrana de celulose aplicada ao redor do tendão flexor digital superficial (TFDS) no membro torácico direito, e acompanhados por exame ultrassonográfico durante 60 dias. No membro torácico esquerdo, foram realizados os mesmos procedimentos exceto a colocação do implante. Os animais divididos em dois grupos sendo um grupo avaliado por 30 e outro por 60 dias. A membrana de celulose sintética foi facilmente identificada nas imagens do ultrassom como linha hiperecótica ao redor do TFDS, a qual foi progressivamente absorvida e visualizada em fragmentos na sequência da realização dos exames. Os resultados da área transversal e espessura do TFDS e da distância entre a pele e o tendão, não apresentaram diferença estatística entre os membros, e o implante não apresentou maiores efeitos deletérios pelo processo inflamatório e foi observada a preservação da integridade entre a região lesionada e as estruturas peritendíneas. Apesar dos resultados, este estudo sugere que mais

³Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná, Rua dos Funcionários 1540, Curitiba, PR 80035-050, Brasil. E-mail: eduardaoliveira@ig.com.br

⁴Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Paraná, Rua dos Funcionários 1540, Curitiba, PR 80035-050, Brasil.

pesquisas devem ser realizadas para avaliar e aprimorar a técnica de colocação de implantes bioabsorvíveis em tendões.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: aderência; membrana de celulose; tendão; equino

1. INTRODUÇÃO

Os implantes bioabsorvíveis vêm se tornando mais populares em aplicações variadas em cirurgias ortopédicas (Pihlajamäki et al 2008) e a prevenção de futuras complicações no ato cirúrgico com uso de materiais exógenos esteve sempre presente no consciente do cirurgião; no entanto, somente a evolução tecnológica e o controle da resposta imunológica permitiram, na década de 1960, início de tais objetivos (Herculano et al. 2006).

A membrana biossintética a base de celulose é bastante estudada, porque, além de possuir características necessárias para a reparação tecidual guiada é um material biocompatível, inerte, atóxica, além de se tratar de um produto nacional desenvolvido a baixos custos sendo utilizadas em diversas áreas (Iamaguti & Brandão 2009).

Em 1984, a membrana de celulose foi descoberta ao acaso pelo microbiologista Luís Fernando Xavier Farah, no transcurso de uma pesquisa em apicultura na qual utilizava a celulose. No processo final de obtenção da membrana de celulose o aspecto é visualmente semelhante à pele humana. Por isso, foi inicialmente utilizada como substituto da pele em casos de queimaduras, revelando sua biocompatibilidade com o leito da derme, além de apresentar facilidade de manipulação e diminuir o desconforto do paciente frente à ferida cutânea (Rebello et al. 1987). Apresentando as características de biocompatibilidade, favorecer as trocas gasosas, a película começou a ser estudada por vários grupos como substituta de pele em lesões crônicas e queimaduras (Osman et al. 2007). Depois de sua utilização na medicina, pesquisadores testaram sua eficácia em diferentes tecidos e espécies animais curativo de feridas cirúrgicas de papilas mamárias de vacas (Biofill®) (Marques et al. 1996), substituto de pele em equino (Wouk & Michelotto 1989), lesões em suínos (Wouk et al. 2004), curativo para cirurgias periodontais (Gengiflex®) (Novaes Jr et al. 1993), reconstrução vascular (Klemm et al. 2001; Negrão et al. 2006), substituto da dura-máter (Mello et al. 1996), nervos periféricos (Mello et al. 2001), defeitos meningomielocele (Oliveira et al. 2007), em laminectomias de ratos (Herculano et al. 2006).

A constante preocupação em tentar minimizar os danos decorrentes das injúrias tendíneas tem levado ao desenvolvimento de pesquisas com o intuito de encontrar um material adequado à cicatrização tendínea, com resistência suficiente, sem alterar seu comprimento e manter a capacidade de deslizamento, principalmente em situações em que há perda de substância com consequente não união das extremidades tendíneas (Temiz et al. 2008).

A tendinite resulta em permanente alteração da composição molecular e biomecânica do tendão (Raiser 2001), tendo as aderências fibrosas como sequela das cicatrizações de tendões porque no processo de reparação além do próprio tendão também podem envolver as suas estruturas adjacentes comprometendo a funcionalidade do membro (Iamaguti & Brandão 2009). Ou seja, na resposta ao trauma, o tendão tende a sofrer aderência, pois a ferida que envolve diferentes tecidos cicatriza como uma estrutura única (Maia et al. 2009) então quando ocorre lesão tecidual, a área ao redor é gradualmente preenchida por tecido fibroso, impossibilitando o reparo por tecido original. Dessa forma, ao se inserir uma membrana junto à lesão, previne-se o crescimento de tecidos indesejáveis (Fernandes et al. 2003). Sendo assim, as lesões tendíneas têm como principal desafio o seu tratamento, que visa ser eficiente em minimizar as sequelas da cicatrização. O período necessário para a reparação tecidual pode levar meses ou anos para completa reestruturação do tendão afetado, além de apresentar alto índice de lesões recidivas (Dowling et al. 2000), já que o tecido cicatricial neoformado é menos resistente que o tendão original (Gillis 1997) e a matriz extracelular apresenta conformação e composição anormais, com menor capacidade biomecânica que o tendão normal (Dahlgren 2007; Dowling et al. 2000; Maia et al. 2009; Marr et al. 1993).

Desde 1984, o uso do ultrassom diagnóstico na detecção e monitoramento das injúrias tendíneas trouxe capacitação ao médico veterinário (Madison 1995) e atualmente, a ultrassonografia é a técnica preconizada e mais utilizada como exame auxiliar diagnóstico em tecidos moles, por ser a técnica mais acessível e não invasiva, permitindo a localização exata da lesão, a mensuração da extensão e da gravidade das lesões e a monitoração do processo de reparação (Palmer et al. 1994).

O auxílio ultrassonográfico precoce é importante para que a conduta clínica ou cirúrgica seja estabelecida e a cicatrização da lesão tendínea seja acompanhada,

já que, a injúria tendínea é uma das causas mais comuns de limitação da carreira esportiva de cavalos atletas (Torres & Farias 2003), resultando em prejuízo econômico significativo para os proprietários (Pihlajamäki et al. 2008).

O objetivo desta pesquisa foi de acompanhar por meio de ultrassonografia diagnóstica o comportamento do implante peritendíneo da membrana de celulose sintética em potros, visando futuros experimentos na prevenção de aderências.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados seis potros sem raça definida, com idade entre um e cinco meses, peso corporal de 65 a 135 Kg. Os animais foram submetidos a exame físico geral não sendo observadas alterações clínicas que pudessem interferir na realização do experimento. Os animais foram alojados em baias, alimentados com aveia achatada e feno de alfafa, durante a realização do estudo.

Seis animais foram avaliados por 30 dias após o implante com membrana de celulose e após este período apenas três animais seguiram sendo observados até os 60 dias.

A membrana de celulose sintética foi lavada em água corrente para retirar o ácido acético, meio de conservação, colocada no interior de frascos contendo 250 ml de solução fisiológica 0,9% e encaminhado para esterilização em autoclave durante 30 minutos em temperatura de 127°C. As membranas foram previamente cortadas nas medidas de 4 X 4 cm para facilitar seu manuseio durante o ato cirúrgico (Fig:1).

Os animais foram pré-medicados com 0,5 mg/kg de cloridrato de xilazina⁵ por via intravenosa e após 10 minutos a anestesia foi induzida com a administração intravenosa de 2,2 mg/kg de cloridrato de cetamina⁶ e 0,2 mg/kg de midazolam⁷. Os animais foram intubados com traqueotubo de 10 mm de diâmetro e a anestesia mantida pela administração de isoflurano⁸ a 1,0% diluído em oxigênio. Foram realizados bloqueios anestésicos nos nervos ulnar e mediano com a administração de 3 ml de cloridrato de lidocaína 2% com vasoconstritor⁹.

⁵ Sedomin[®], König do Brasil, Santana do Parnaíba, Brasil

⁶ Ketamin S (+)[®], Cristalia, Itapira, Brasil

⁷ Dormire[®] 5 mg/ml, Cristalia, Itapira, Brasil

⁸ Isoforine[®], Cristalia, Itapira, Brasil

⁹ Xylestesin[®], Cristalia, Itapira, Brasil



Figura 1: Membrana de celulose após a esterilização, para ser implantada no ato cirúrgico.

Com os dois membros torácicos depilados e preparados para cirurgia asséptica em toda a região terceiro do metacarpo, os animais foram posicionados em decúbito dorsal, com os membros suspensos fixados pela quartela em uma barra. O acesso cirúrgico foi realizado na porção média do metacarpo na borda palmo-lateral. Iniciando com a diérese de seis centímetros, no plano sagital, da pele, subcutâneo e a bainha tendínea expondo os tendões digitais flexores, seguiu-se a divulsão e separação dos mesmos. O paratendão foi removido e com auxílio de gazes estéreis o tendão digital flexor superficial (TFDS) foi escarificado nas porções palmar e dorsal do tendão para a posterior realização da isquemia local, técnica adaptada de Lobato (2002). Por esmagamento, a isquemia foi executada com auxílio de três pinças hemostáticas curvas de Crile de doze centímetros e, com auxílio de uma régua, foram posicionadas distantes um centímetro uma da outra (0, 1 e 2 cm) sob pressão máxima permanecendo durante cinco minutos até a retirada (Fig:2).



Figura 2: Procedimento de isquemia no TFDS com auxílio de pinças Crile

No membro torácico direito para a colocação do implante de membrana de celulose sintética foi utilizado uma régua como guia posicionada entre os tendões digitais flexores (Fig:3) e, assim evitar sua ruptura, envolvendo a membrana sobre o TFDS na região da isquemia e fixando-a no bordo medial do tendão com um ponto simples com fio de sutura de ácido poliglicólico 5-0¹⁰ na porção proximal e outro na porção distal ao implante transfixando o tendão. No membro torácico esquerdo foi realizado o mesmo procedimento, porém não foi utilizado o implante sendo este membro o controle. Para o término do procedimento cirúrgico foi realizada a sutura da pele com fio de sutura de náilon zero¹¹ em pontos interrompidos simples.

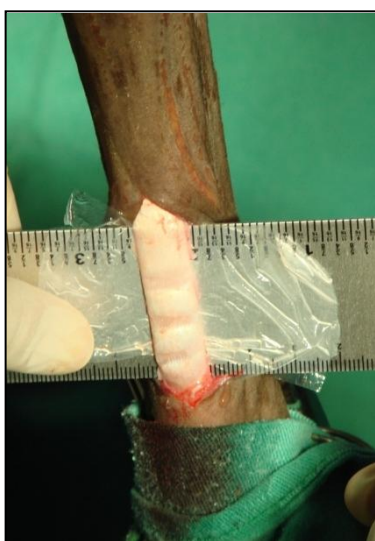


Figura 3: Membrana de celulose posicionada com auxílio de régua como guia

Os potros permaneceram com imobilização de gesso sintético nos dois membros, desde a porção distal ao carpo até o final casco, pelo período de 15 dias e mantidos em confinamento nas baias até o final do experimento. Como medicação pós-cirúrgica foram administrados antibióticos sulfadiazina e trimetropim¹² (20mg/Kg) durante cinco dias e anti-inflamatório meloxicam oral¹³ (0,1mg/Kg) por três dias.

A avaliação clínica foi realizada a partir dos 15 dias de pós-cirúrgico, após a remoção das imobilizações, monitorando-se o grau de edema, a sensibilidade à palpação e a presença de claudicação. O grau de claudicação foi observado de acordo com a postura do animal, correlacionando a presença de dor com o período de permanência em posição quadrupedal ou a períodos de descanso em decúbito

¹⁰ Polycryl®, Polysuture

¹¹ Mononylon Ethilon®, Ethicon

¹² Maxicam Gel®, Ouro Fino Saúde Animal Ltda, Cravinhos, SP

¹³ Tridiazin®, Vansil Indústria Comércio e Representações Ltda, Descalvado, SP

lateral, dando-se valores de 0 a 3 (Tab.: 1). Com fita métrica o volume foi medido pela circunferência externa da região estudada.

Tabela 1: Graus de avaliação da postura e atitude

Graduação	Característica
Grau 0	Postura quadrupedal e atitude normais
Grau 1	Permanência em postura quadrupedal e atitude apática (dor e calor local)
Grau 2	Postura quadrupedal e decúbito alternados e atitude apática (dor e calor local)
Grau 3	Postura quadrupedal apenas para alimentação, longos períodos em decúbito e atitude apática (dor e calor local)

Os exames de ultrassom (US) foram realizados com equipamento Ultrasonic Sonic System®, provido de transdutor 14 Mhz, sendo a porção palmar do metacarpo depilada e com o uso de gel de contato, e as imagens obtidas foram gravadas para posterior comparação entre os diferentes momentos avaliados. Os TFDS direito e esquerdo foram estudados nos planos transversal e longitudinal, com o membro em apoio perpendicular em relação ao solo, utilizando para análise das imagens na região 2B, padronizadas para avaliações ultrassonográficas dos tendões digitais flexores dos equinos descrito por Reef (1998). O primeiro exame foi realizado antes do procedimento cirúrgico, momento 0 (M0), para verificar a integridade dos tendões de cada animal para o controle das alterações após a indução da tendinite, em sequência o acompanhamento das imagens foi realizado nos dias (momentos) 15 (M15), 30 (M30), 45 (M45) e 60 (M60), não sendo avaliados no pós-cirúrgico imediato pela realização das imobilizações.

Foi avaliado o grau de tendinite pela ecogenicidade e paralelismo de fibras segundo a classificação de Genovese et al (1986) (Tab.: 2 e 3):

Tabela 2: Graus de ecogenicidade

Graduação	Característica
Grau 0	Padrão normal (isoecóico)
Grau 1	Redução 25% (predominantemente isoecóico)
Grau 2	Redução em 50%
Grau 3	Redução em 75%
Grau 4	Redução em 100% (totalmente anecóico)

Tabela 3: Graus de paralelismo

Graduação	Característica
Grau 0	Ausência de paralelismo
Grau 1	Paralelismo Discreto
Grau 2	Paralelismo Parcial
Grau 3	Paralelismo total

Também foram coletadas as medidas da distância do TFDS à pele (D1), espessura do TFDS (D2) e da área transversal (AT) do TFDS.

O estudo estatístico foi realizado através da análise de variância (ANOVA) para comparação entre os momentos dentro do mesmo grupo e do teste t para comparação entre os grupos num mesmo momento, sendo considerado significativo $p < 0,05$.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de ética de Uso Animal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná com o nº de protocolo 016/2009.

3. RESULTADOS

Durante o estudo não houve perda de animais e nenhuma ruptura tendínea foi observada, assim como a cicatrização da ferida cirúrgica foi satisfatória e sem deiscências ou outras complicações.

Nas avaliações realizadas previamente ao procedimento cirúrgico (M0) o exame físico demonstrou que, todos os potros estavam saudáveis e sem alterações relacionadas ao aparelho locomotor. Ao exame do US a estrutura do TFDS apresentava-se dentro do padrão ecogênico normal assim como o paralelismo das fibras.

Na avaliação clínica após a remoção das imobilizações, apenas um potro apresentou evolução satisfatória com a regressão dos sinais de dor e claudicação em ambos os membros em até 15 dias. Até a avaliação M30, 03 animais não demonstraram regressão da claudicação, permanecendo longos períodos em decúbito. Os dois potros restantes apresentaram regressão do grau de claudicação

até o M60 (Tab.: 4). Em todos os animais a recuperação funcional dos membros torácicos mostrou-se favorável até o final do experimento.

Tabela 4: Graduação da claudicação

	M15	M30	M45	M60
Potro 1	3	2	0	0
Potro 2	3	3	2	0
Potro 3	2	0	0	0
Potro 4	3	2		
Potro 5	3	2		
Potro 6	3	2		

Os resultados da circunferência externa, representada pelo aumento de volume, embora perceptíveis visualmente (Fig:4), não mostraram diferenças na avaliação estatística ($p < 0,05$).



Figura 4: Aumento do volume localizado na região da lesão, M15

Após a escarificação do tendão os graus de tendinite avaliados no US foram de grau 1 (até 25% redução da ecogenicidade) permanecendo até o final das análises de US, não apresentando diferença estatística ($p < 0,05$) entre os grupos. Em relação ao paralelismo de fibras não foi observada alteração durante os momentos estudados. No estudo das imagens de dois potros também se observou tendinite no tendão flexor digital profundo (Fig:5) de graus 1 e 2, com remissão da lesão até o final do experimento.

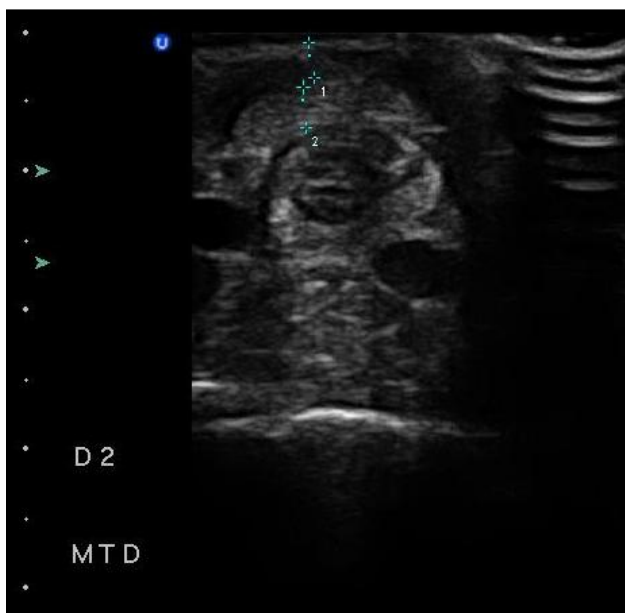


Figura 5: Grau 2 de tendinite no TFDP no M15.

Os resultados das variáveis estudadas, D1, D2 e AT, mostraram dados estatísticos relevantes apenas nos valores para D1 entre os membros esquerdo e direito somente no M60 (0,0068; $p < 0,05$) e, na mesma variável D1, no membro esquerdo observou-se diferença entre os M0 e M15 ($p < 0,05$) (Tab.: 5).

Tabela 5: Valores da média D1¹⁴, D2¹⁵, AT¹⁶ e CE¹⁷.

	MEMBRO TRATADO			
	D1	D2	AT	CE
M0	1,50±0,61	3,01±1,38	0,34±0,17	12,4±1,11
M15	3,55±0,85	3,22±0,52	0,31±0,08	14,0±1,55
M30	4,07±1,50	3,60±0,96	0,33±0,07	14,2±1,91
M45	2,94±0,29	3,62±0,89	0,31±0,05	15,2±0,71
M60	4,55±0,58	4,90±0,69	0,45±0,07	15,1±0,57
MEMBRO CONTROLE				
M0	1,67±0,21	2,85±0,83	0,25±0,08	12,2±0,95
M15	3,30±1,28	3,41±0,47	0,30±0,06	13,6±1,79
M30	3,02±1,10	3,18±0,75	0,28±0,05	13,5±1,23
M45	2,82±1,28	3,73±1,35	0,41±0,12	14,8±1,20
M60	2,38±0,45	4,08±0,90	0,35±0,03	14,5±1,34

¹⁴ Distância entre o TFDS à pele (milímetros)

¹⁵ Espessura do TFDS (milímetros)

¹⁶ Área transversal do TFDS (centímetro quadrado)

¹⁷ Circunferência Externa

Durante os exames de US, o implante foi identificado como uma linha hiperecótica peritendínea. (Fig:6). Apenas em três dos potros a posição do implante permaneceu inalterada, nos outros animais a membrana de celulose sintética permaneceu apenas na face dorsal do TFDS, ou seja, entre o TFDS e o TFDP. Ao final das análises ultrassonográficas, em quatro dos animais não foi possível a visualização do implante.

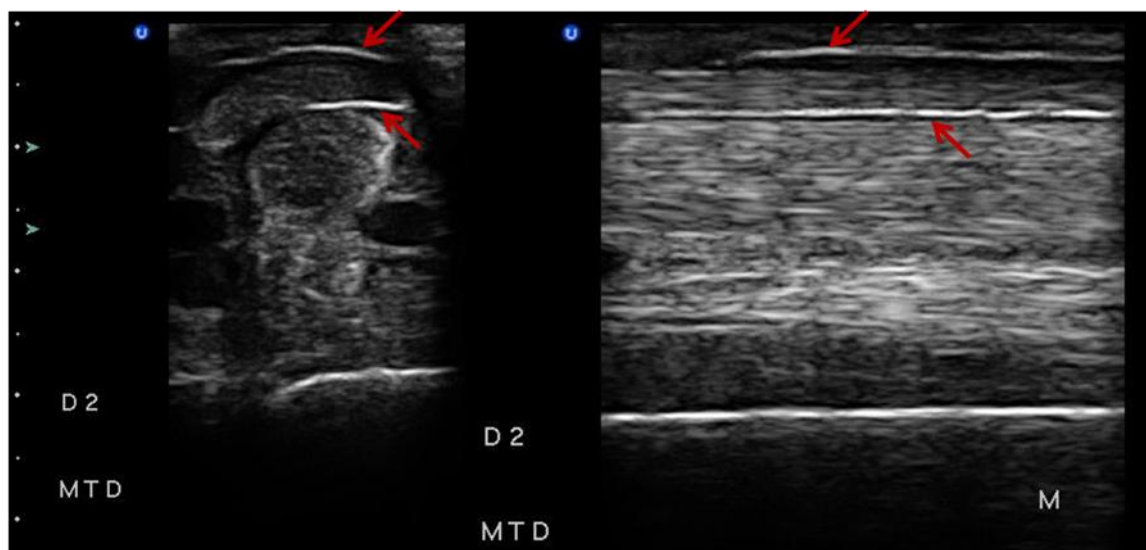


Figura 1: Imagem do US identificando a membrana de celulose sintética M15 (setas)

A presença do implante peritendíneo preservou a estrutura padrão do TFDS, o mantendo isolado das estruturas adjacentes, o oposto observado nas imagens do membro controle onde o TFDS tem sua conformação alterada e difusa o que dificultou sua delimitação (Fig:7).

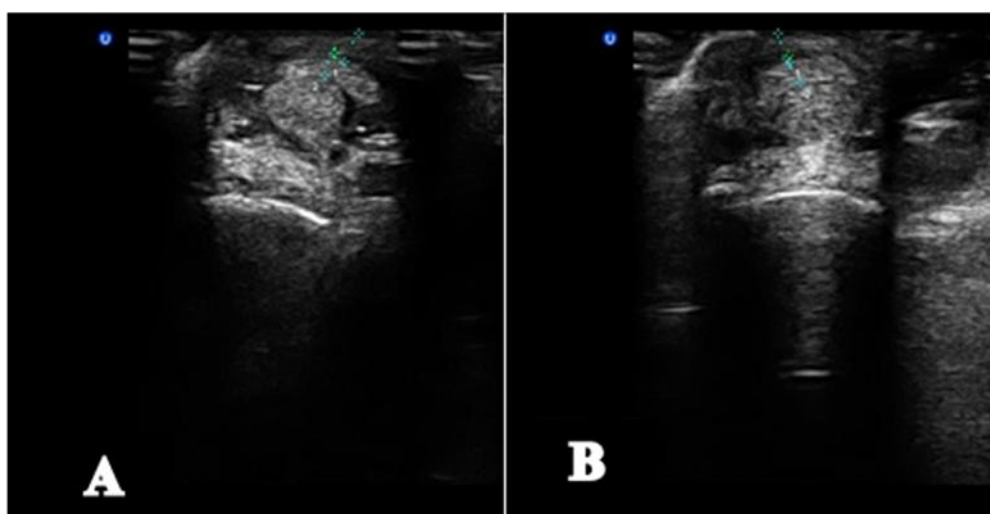


Figura 7: Comparação entre os membros torácicos direito (A) e esquerdo (B) na delimitação do TFDS, M15.

Nas análises ultrassonográficas subsequentes, padrão visualizado da membrana de celulose foi tornando-se difuso, não demonstrando uma linha contínua observada no M30, sendo identificada em fragmentos (Fig:8).

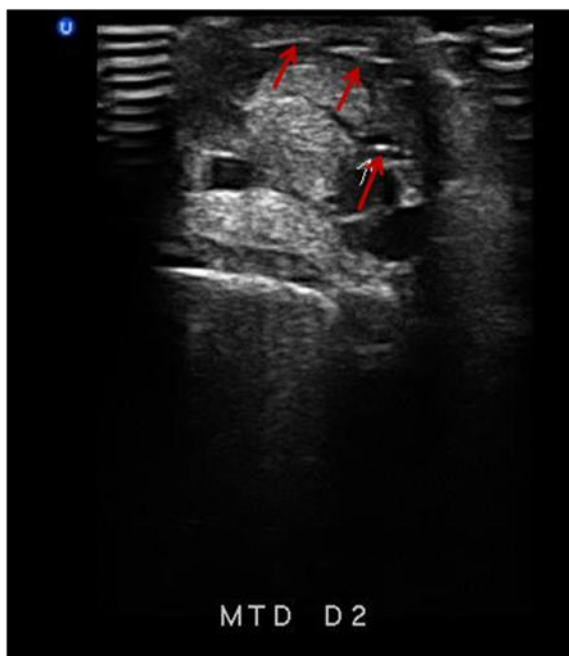


Figura 8: Resquício do implante no M30 (setas)

4. DISCUSSÃO

O modelo para a indução de aderência peritendínea foi delineado segundo descrito por Lobato (2002) que utilizou o método de isquemia por esmagamento do tendão em cães, relatando que o tendão ao sofrer um processo de isquemia tende a se aderir para buscar nutrição de um leito melhor vascularizado. Porém, os resultados obtidos para o modelo experimental em equino não foram satisfatórios, havendo o processo inflamatório, mas não em grau suficiente para que a aderência fosse estabelecida no tempo estipulado para o estudo.

Acreditava-se que com a imobilização dos membros após as cirurgias contribuísse para a formação das aderências pela redução da mobilidade do membro, mas no experimento de Temiz et al. (2008) não foram realizadas imobilizações e aderências foram descritas nos resultados. Em estudo de Pihlajamäki et al. (2008) a comparação entre grupos com e sem imobilizações não apresentaram diferenças estatísticas na cicatrização do tendão de coelhos. Barbieri et al. (1994) e Braga-Silva et al. (2005) descreveram que a mobilização precoce com exercícios controlados de flexão ativa são importantes para evitar as aderências. Manske (1988) sugeriu que o estresse mecânico provoca a estruturação das fibras

de colágeno, diminui a formação de aderências e aumenta a força tênsil devido à predominância da atividade intrínseca da cicatrização tendínea.

Lobato (2002) descreve que irritações na bainha tendínea podem resultar em maior incidência de aderências peritendíneas. Seguindo este conceito Temiz et al. (2008) não suturou a bainha tendínea dos ratos estudados o que contribuiu para sua alta incidência de adesão peritendínea. Esta mesma técnica foi aplicada associada a remoção do paratendão e, era esperado que houvesse uma reação exacerbada que desencadeasse a formação da aderência peritendínea, divergindo dos relatos anteriores. A não ocorrência das adesões pode ser esclarecida pela conformação anatômica e pressões das estruturas do dígito equino e/ou pela alteração no padrão da via extrínseca durante a cicatrização tendínea, que manteve a migração de células inflamatórias, porém em quantidade insuficiente de fibroblastos para que a aderência peritendínea fosse perceptível. Entretanto, a remoção do paratendão e a escarificação do TFDS teve grande influência no aumento de volume local observado nos dois membros pela presença de exsudato inflamatório, demonstrado pelos dados da circunferência externa e da distância do TFDS a pele (D1).

A técnica para a colocação do implante foi descrito por Torres & Farias (2003) em estudo de reparação de nervo periférico, por Pihlajamäki et al. (2008) como implante de barreira em suturas de tendões em coelhos e Temiz et al. (2008) também como implante de barreira em suturas tendíneas em ratos. Em todas as técnicas relatadas as suturas do implante no tendão não foram realizadas, mas em nosso estudo foram necessárias, por haver a possibilidade de migração do implante para regiões distais do membro.

A tabela de postura e atitude dos animais foi adaptada pelos autores porque o comportamento mostrou-se diferente daqueles geralmente demonstrados em claudicações ao passo, trote e suspensão do membro, não sendo possível a avaliação do grau de claudicação pelos métodos usuais.

A migração do implante para a face dorsal do TFDS pode ser explicado pela presença de exsudato inflamatório gerando pressão entre o implante e o tendão rasgando-a nos locais dos pontos de sutura de suporte permitindo que a membrana abrisse em relação ao sua posição inicial.

Não houve diferença na quantidade de exsudato inflamatório no membro com ou sem o implante da membrana de celulose sintética, resultado semelhante

aos encontrados por Pihlajamäki et al. (2008) e Temiz et al. (2008). Provavelmente esta ocorrência deve-se em parte pela característica do biomaterial, descrito por Rebello et al. (1987) e Iamaguti & Brandão (2009), sua permeabilidade permite a migração de células e exsudato inflamatório sem comprometer o processo de reparação. Ao longo dos momentos avaliados a integridade do implante foi se alterando perdendo nitidez e continuidade tornando-se fragmentada pela absorção e limpeza realizada pelas células inflamatórias (Fig: 7), descrito também por Pihlajamäki et al. (2008) com o implante de membrana de ácido poliglicólico.

Os estudos de Reis e Baccharin (2010), Maia et al. (2009), Greig et al. (2005), Schie et al. (2000), Reef (1998), Reef et al. (1997), Denoix et al. (1997) e Badylak et al. (1995) descreveram e utilizaram como a técnica padrão para o exame ultrassonográfico de tendões em equinos os transdutores de 7,5 Mhz, diferindo da técnica utilizada neste caso com transdutor de 14 Mhz, que facilitou para a delimitação das estruturas, por se tratarem de tecidos não maduros e delgados, principalmente por se tratarem de potros com idade não superior a 6 meses,

Não foram encontrados trabalhos com o estudo de imagens ultrassonográficas da membrana de celulose sintética, mas podemos concluir que sua utilização pode ser facilmente monitorada por este método por apresentar imagem hiperecótica em relação aos tecidos circundantes.

Nas imagens de US notamos a diferença no padrão das fibras com presença de líquido intratendíneo e no membro direito a conformação do TFDS foi preservada em relação ao membro esquerdo, sem o implante, que mostrou uma conformação mais difusa entre os tendões flexores. Esta preservação da arquitetura tendínea deve-se ao isolamento do TFDS que o implante promoveu o que suporta nossa proposta da utilização da membrana de celulose sintética como implante de barreira para minimizar os efeitos deletérios da reparação das injúrias tendíneas. Estes achados são compatíveis aos propostos por Rebello (1987), Wouk & Michelotto (1989), Wouk et al. (2004) e Costa & Souza (2005), Costa Neto et al. (1999) que em seus estudos fizeram uma barreira entre o ambiente e a ferida preservando as condições necessárias para a cicatrização. Esta função de barreira também ficou demonstrada em estudos em córnea de coelhos realizado por e Macedo (2008) demonstrando que a função de barreira proposta foi efetiva.

5. CONCLUSÃO

A utilização da membrana de celulose em potros não demonstrou diferença nos achados clínicos e nos exames ultrassonográficos, quando comparados ao membro controle. Entretanto o exame ultrassonográfico demonstrou ser eficiente na identificação, no controle do posicionamento e da reabsorção deste implante.

6. REFERÊNCIAS

- Badylak, S.F., Tullius, R., Kokini, K., Shelbourne, K.D., Klootwyk, T., Voytik, S.L., Kraine, M.R., Simmons, C., 1995, The use of xenogeneic small intestinal submucosa as a biomaterial for Achille's tendon repair in a dog model. *Journal of Biomedical Materials Research* 29, 977-985.
- Barbieri, C.H., Mazer, N., Trejo, R.A., 1994, Lesões dos tendões flexores dos dedos em adultos. *Rev Bras Ortop* 29, 586-590.
- Braga-Silva, J., Martins, P.D.E., Román, J., Gehlen, D., 2005, Mobilização pós-operatória com flexão ativa precoce após reparo de tendões flexores na zona 2. *Rev. Soc. Bras. Cir. Plást* 20, 207-212.
- Costa, H.O., Souza, F., 2005, Avaliação da regeneração tecidual da pele de porco submetida à lesão térmica seguida de colocação de Biotissue. *Acta ORL* 23, 23-27.
- Costa Neto, J.M., Daleck, C.R., Alessi, A.C., Braccialli, C.S., 1999, Experimental calcaneal tenoplasty in dogs with bovine peritoneum conserved in glycerol. *Ciência Rural* 29, 697-703.
- Dahlgren, L.A., 2007, Pathobiology of tendon and ligament injuries. *Clinical techniques in equine practice* 6, 168-173.
- Denoix, C.N., Collobert, C., Pourcelot, P., Denoix, J., Sanaa, M., Geiger, D., BERNARD, N., Ribot, X., Bortolussi, C., Bousseau, B., 1997, Mechanical properties of pathological equine superficial digital flexor tendons. *Equine veterinary journal* 29, 23-26.
- Dowling, B.A., Dart, A.J., Hodgson, D.R., Smith, R.K.W., 2000, Superficial digital flexor tendonitis in the horse. *Equine veterinary journal* 32, 369-378.
- Fernandes, M.A.L., Alves, G.E.S., Souza, J.C.A., 2003, Efeito do ultra-som terapêutico em tendinite experimental de eqüinos: estudo clínico, ultrassonográfico e histopatológico de dois protocolos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 55, 27-34.

- Genovese, R.L.; Rantanen, N.W.; Hauser, M.L.; Simpsom, B.R. 1986. Diagnostic ultrasonography of equine limbs. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 2(1), 145-226.
- Gillis, C.L., 1997. Rehabilitation of tendon and ligament injuries. In: *Proceedings of the Annual Convention of the AAEP*, 306-309.
- Greig, C.R., Brass, K.E., Oliveira, F.G., De La Corte, F.D., Silva, J.H., Silva, C.A.M., 2005, Significance of flexor tendon ultrasonography in training thoroughbred horses. *Ciência Rural* 35, 832-836.
- Herculano, M.A., de Tella Jr, O.I., Prandini, M.N., de Seixas Alves, M.T., 2006, Estudo de membrana biológica em ratos na prevenção de fibrose pós laminectomia. *Arq Neuropsiquiatr* 64, 259-263.
- Iamaguti, L.S., Brandão, C.V.S., 2009, Uso de membrana biossintética a base de celulose na regeneração tecidual guiada. *Semina: Ciências Agrárias* 28, 701-708.
- Klemm, D., Schumann, D., Udhardt, U., Marsch, S., 2001, Bacterial synthesized cellulose--artificial blood vessels for microsurgery. *Progress in Polymer Science* 26, 1561-1603.
- Lobato, R., 2002. Efeitos do ultra-som terapêutico na prevenção de aderências tendinosas. Universidade de São Paulo,
- Macedo, L.R., 2008, Emprego de membrana de celulose microfibrilar na ceratoplastia lamelar em coelhos (*O. cuniculus*, LINNAEUS, 1758). Aspectos clínicos, morfológicos e imunohistoquímicos.
- Madison, J.B., 1995, Acute and chronic tendinitis in horses. *The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian (USA)*.
- Maia, L., de Souza, M.V., Alves, G.E.S., Júnior, J.I.R., 2009, Plasma rico em plaquetas no tratamento de tendinite induzida em eqüinos: avaliação ultrasonográfica. *Pesq. Vet. Bras* 29, 241-245.
- Manske, P., 1988, Flexor tendon healing. *The Journal of Hand Surgery: Journal of the British Society for Surgery of the Hand* 13, 237-245.
- Marques, J., Moraes, J., Teixeira Neto, F., 1996, Tratamento alternativo de feridas de papilas mamárias de vacas através do emprego de membrana biológica (Biofill) *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci* 33, 102-106.

- Marr, C.M., McMillan, I., Boyd, J., Wright, N., Murray, M., 1993, Ultrasonographic and histopathological findings in equine superficial digital flexor tendon injury. *Equine veterinary journal* 25, 23-29.
- Mello, L.R., Feltrin, L.T., Fontes Neto, P.T., Abreu, A.R., 1996, Duraplastia com celulose biossintética: estudo experimental. *Arq. bras. neurocir* 15, 14-21.
- Mello, L.R., Feltrin, Y., Selbach, R., Macedo Junior, G., Spautz, C., Haas, L.J., 2001, Uso da celulose liofilizada em lesões de nervos periféricos com perda de substância. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria* 59, 372-379.
- Negrão, S.W., Bueno, R.R.L., Guérios, Ê.E., Ultramari, F.T., Faidiga, A.M., de Andrade, P.M.P., Nercolini, D.C., Tarastchuck, J.C., Farah, L.F., 2006, A eficácia do stent recoberto com celulose biosintética comparado ao stent convencional em angioplastia em coelhos. *Rev Bras Cardiol Invasiva* 14, 10-19.
- Novaes Jr, A., Novaes, A., Grisi, M., Soares, U.N., Gabarra, F., 1993, Gengiflex, an alkali-cellulose membrane for GTR: Histologic observations. *Braz. Dent. J* 4, 65-71.
- Oliveira, R.C.S., Valente, P.R., Abou-Jamra, R.C., Araújo, A., Saldiva, P.H., Pedreira, D.A.L., 2007, Biosynthetic cellulose induces the formation of a neoduramater following pre-natal correction of meningomyelocele in fetal sheep. *Acta Cirurgica Brasileira* 22, 174-181.
- Osman, S.A., Souza, F., Dolci, J.E., 2007, Estudo experimental sobre a aplicação de película de celulose (bionext®) em área cruenta de ressecção de concha nasal de coelhos. *Acta ORL* 25, 304-311.
- Palmer, S.E., Genovese, R., Longo, K.L., Goodman, N., Dyson, S., 1994, Practical management of superficial digital flexor tendinitis in the performance horse. *The Veterinary clinics of North America. Equine practice* 10, 425.
- Pihlajamäki, H., Tynnenen, O., Karjalainen, P., Rokkanen, P., 2008, Enveloping bioabsorbable polyglycolide membrane and immobilization in achilles tendon repair: A comparative experimental study on rabbits. *Journal of Orthopaedic Research* 26, 264-270.
- Raiser, A.G., 2001, Reparação do tendão calcâneo em cães. *Ciência Rural* 31, 351-359.

- Rebello, C., Almeida, D.A., Lima Júnior, E.M., Dornelas, M.P., 1987, Bio-fill, um novo substituto de pele: nossa experiência; Biofill, a new skin substitute: our experience. *Rev. Bras. Cir* 77, 407-414.
- Reef, V.B.; Genovese, R.L., William, M.D., 1997, Initial long-term results of horses with superficial digital flexor tendonitis treated with intralesional de beta-aminopropionitrile Fumarate. *Proc.43^a Ann.Meet.Am. Assoc.Equine Pract., Arizona*, 301-305.
- Reef, V.B., 1998, *Equine Diagnostic Ultrasound*. Saunders, Philadelphia.
- Reis, A.G.M.S., Baccarin, R.Y.A., 2010, The cross-sectional area of the superficial digital flexor tendon of trained and untrained Thoroughbred racehorses. *Ciência Rural* 40, 1786-1790.
- Schie, H.T.M., Bakker, E.M., Jonker, A.M., Weeren, P.R., 2000, Ultrasonographic tissue characterization of equine superficial digital flexor tendons by means of gray level statistics. *American journal of veterinary research* 61, 210-219.
- Temiz, A., Ozturk, C., Bakunov, A., Kara, K., Kaleli, T., 2008, A new material for prevention of peritendinous fibrotic adhesions after tendon repair: oxidised regenerated cellulose (Interceed), an absorbable adhesion barrier. *International Orthopaedics* 32, 389-394.
- Torres, M., Graça, D., Farias, E., 2003, Reparação microcirúrgica de nervo periférico por meio de sutura, cola de fibrina ou bainha de BioFill® em ratos Wistar. *Arq. bras. med. vet. zootec* 55, 557-561.
- Wouk, A.F.P., Michelotto, P.V.P., 1989, Relato preliminar do uso de um novo curativo biológico (Biofill) em feridas de pele com grande perda de substâncias em um equino. *A Hora Veterinária*, Ano 8, 31-34.
- Wouk, A.F.P.D.E.F., Diniz, J., Círio, S., Santos, H.d., Baltazar, E.L., Acco, A., 2004, Membrana biológica (Biofill)-Estudo comparativo com outros agentes promotores da cicatrização da pele em suínos: aspectos clínicos, histopatológicos e morfométricos. *Archives of Veterinary Science*.

CAPÍTULO III: AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DO COMPORTAMENTO DA MEMBRANA DE CELULOSE SINTÉTICA EM IMPLANTE PERITENDÍNEO EM POTROS

Eduarda M^a.Oliveira¹⁸, Peterson T. Dornbusch¹⁹, Renato S. de Sousa², Ivan Deconto²

ABSTRACT. Oliveira E. M.¹, Dornbusch P. T.², Sousa, R. S. de ², Deconto I.² [Histopathological evaluation of the performance of synthetic cellulose membrane on peritendinous implant in foals.] Avaliação ultrassonográfica do comportamento da membrana de celulose sintética em implante peritendíneo em potros. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00.

The objective of this experiment was to study the behavior of synthetic cellulose membrane used to prevent formation of fibrous adhesions after tendon trauma peritendineum. Six foals had a cellulose membrane applied around the superficial digital flexor tendon (SDFT) in the right forelimb and in the left forelimb, the same procedures were performed except the placement of the implant. The animals were divided into two groups to perform the biopsy incision: group I (GI) to 30 days and group II (GII) to 60 days. The synthetic cellulose membrane was identified in histopathological analysis in two foals GI which it was partially absorbed, into fragments, surrounded by inflammatory cells, and it was identified a giant-cell in one of them. The results of neovascularization, inflammatory aspect and tissue disorganization showed no statistically different between members, and the implant showed no major deleterious effects on the inflammatory process and it was observed the preservation of the integrity of the injured tendon. Despite the findings, this study suggests that more research should be conducted to assess and improve the technique of bioabsorbable implants in tendons.

TERMS INDEX: cellulose membrane; tendon; adhesions; equine

RESUMO.- O objetivo deste experimento foi de estudar o comportamento da membrana de celulose sintética utilizada na prevenção de formação de aderências fibrosas peritendíneas após trauma tendíneo. Seis potros tiveram uma membrana de celulose aplicada ao redor do tendão flexor digital superficial (TFDS) no membro torácico direito e no membro torácico esquerdo, foram realizados os mesmos procedimentos exceto a colocação do implante. Os animais divididos em dois grupos para a realização das biopsias incisionais: grupo I (GI) aos 30 dias e grupo II (GII) aos 60 dias. A membrana de celulose sintética foi identificada nas análises histopatológicas de dois potros do GI mostrando-se parcialmente absorvidas, em fragmentos, envolta por células inflamatórias, e também foi identificada célula-gigante em uma delas. Os resultados da neovascularização, infiltrado inflamatório, e desorganização tecidual não apresentaram diferença estatística entre os membros, e o implante não apresentou maiores efeitos deletérios pelo processo inflamatório e foi observada a preservação da integridade do tendão lesionado. Apesar dos resultados, este estudo sugere que mais pesquisas devem ser realizadas para avaliar e aprimorar a técnica de colocação de implantes bioabsorvíveis em tendões.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: membrana de celulose; tendão; aderência; equino

¹⁸Mestre pelo Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná, Rua Urbano Lopes, 366, Curitiba, PR 80050-520, Brasil. E-mail: eduardaoliveira@ig.com.br

¹⁹Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Paraná, Rua dos Funcionários 1540, Curitiba, PR 80035-050, Brasil.

1. INTRODUÇÃO

As lesões tendíneas resultam em permanente alteração da composição molecular e biomecânica do tendão (Dowling et al. 2000), tendo as aderências fibrosas como sequela das cicatrizações, acarretando em redução da mobilidade do membro comprometendo a funcionalidade (Temiz et al. 2008). Pennington (1979) descreveu que as aderências são resultado, geralmente, de excisão na bainha tendínea, sutura no tendão e imobilizações.

Sendo assim, um dos principais desafios é o tratamento das lesões tendíneas que visa ser eficiente em minimizar as sequelas da cicatrização. O período necessário para a reparação tecidual completa pode levar meses ou anos, além do alto índice de recidivas (Maia et al. 2009), já que o tecido cicatricial neoformado é menos resistente que o tendão original (Gillis 1997), a conformação e a composição da matriz extracelular também fica alterada acarretando em menor capacidade biomecânica em relação ao tendão normal (Dowling et al. 2000).

Durante o processo de reparação, a regeneração e a formação de fibrose podem ocorrer de diferentes maneiras nos tecidos lesionados num animal, e mesmo nos humanos, sugerindo que os mecanismos de reparação e seus reguladores também sejam similares entre as diferentes espécies (Khanna et al. 2009).

A reparação tendínea passa por três fases: aguda, proliferativa e remodelamento (Dahlgren 2007). Sendo que os mecanismos envolvidos ocorram por fatores intrínsecos pela proliferação dos tenócitos do epitendão e endotendão, e extrínsecos pela invasão de células dos tecidos adjacentes como as bainhas tendínea e sinoviais.

A utilização de implantes durante o procedimento cirúrgico na reparação de rupturas tem se revelado um grande potencial na redução da formação das aderências porque funcionam como barreiras entre o tecido tendíneo e suas estruturas adjacentes (Temiz et al. 2008).

A membrana biossintética a base de celulose vem sendo amplamente estudada, porque, além de possuir características necessárias para a reparação tecidual guiada é um material biocompatível, inerte, atóxica, além de se tratar de um produto nacional desenvolvido a baixos custos sendo utilizadas em diversas áreas (Iamaguti & Brandão 2009).

Em 1984, a membrana de celulose foi descoberta ao acaso pelo microbiologista Luís Fernando Xavier Farah, no transcurso de uma pesquisa em

apicultura na qual utilizava a celulose. No processo final de obtenção da membrana de celulose o aspecto é visualmente semelhante à pele humana. Por isso, foi inicialmente utilizada como substituto da pele em casos de queimaduras, revelando sua biocompatibilidade com o leito da derme, além de apresentar facilidade de manipulação e diminuir o desconforto do paciente frente à ferida cutâneas (Rebello et al. 1987). Apresentando as características de biocompatibilidade, favorecer as trocas gasosas, a película começou a ser estudada por vários grupos como substituto de pele em lesões crônicas e queimaduras (Osman et al. 2007). Depois da sua utilização na medicina, pesquisadores testaram sua eficácia em diferentes tecidos e espécies animais como curativo de feridas cirúrgicas de papilas mamárias de vacas (Biofill®) (Marques et al. 1996), substituto de pele em equino (Wouk & Michelotto 1989), lesões em suínos (Wouk et al. 2004), curativo para cirurgias periodontais (Gengiflex®) (Novaes Jr et al. 1993), reconstrução vascular (Klemm et al. 2001; Negrão et al. 2006), substituto da dura-máter (Mello et al. 1996), nervos periféricos (Mello et al. 2001), defeitos meningomielocele (Oliveira et al. 2007), em laminectomias de ratos (Herculano et al. 2006).

O objetivo desta pesquisa foi de avaliar histologicamente o comportamento do implante peritendíneo da membrana de celulose sintética em potros e sua possível aplicação na prevenção de aderências.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados seis potros sem raça definida, com idade entre um e cinco meses, peso corporal de 65 a 135 Kg. Os animais foram submetidos a exame físico geral não sendo observadas alterações que pudessem interferir na realização do experimento. Os animais foram alojados em baias, alimentados com aveia achatada e feno de alfafa, durante a realização do estudo.

Seis animais foram avaliados por 30 dias após o implante com membrana de celulose, neste momento três animais foram submetidos à biópsia, sendo que após este período apenas três animais seguiram sendo observados até os 60 dias e neste momento também submetidos à bipsia, para avaliação histopatológica.

A membrana de celulose sintética foi lavada em água corrente para retirar o ácido acético, meio de conservação, colocada no interior de frascos contendo 250 ml de solução fisiológica 0,9% e encaminhado para esterilização em autoclave durante 30 minutos em temperatura de 127°C. As membranas foram previamente cortadas nas medidas de 4 X 4 cm para facilitar seu manuseio durante o ato cirúrgico (Fig.1).



Figura 2: membrana de celulose após a esterilização, para ser implantada no ato cirúrgico.

Os animais foram pré-medicados com 0,5 mg/kg de cloridrato de xilazina²⁰ por via intravenosa e após 10 minutos a anestesia foi induzida com a administração intravenosa de 2,2 mg/kg de cloridrato de cetamina²¹ e 0,2 mg/kg de midazolam²². Os animais foram intubados com traqueotubo com 10 mm de diâmetro e a anestesia mantida pela administração de isoflurano²³ a 1,0% diluído em oxigênio. Foram realizados bloqueios anestésicos nos nervos ulnar e mediano com a administração de 3 ml de cloridrato de lidocaína 2% com vasoconstritor²⁴.

Com os dois membros torácicos depilados e preparados para cirurgia asséptica em toda a região terceiro do metacarpo, os animais foram posicionados em decúbito dorsal, com os membros suspensos fixados pela quartela em uma barra. O acesso cirúrgico foi realizado na porção média do metacarpo na borda palmo-lateral. Iniciando com a diérese de seis centímetros, no plano sagital, da pele, subcutâneo e a bainha tendínea expondo os tendões digitais flexores, seguiu-se a divulsão e separação dos mesmos. O paratendão foi removido e com auxílio de gazes estéreis o tendão digital flexor superficial (TFDS) foi escarificado nas porções palmar e dorsal do tendão para a posterior realização da isquemia local, técnica

²⁰ Sedomin[®], König do Brasil, Santana do Parnaíba, Brasil

²¹ Ketamin S (+)[®], Cristalia, Itapira, Brasil

²² Dormire[®] 5 mg/ml, Cristalia, Itapira, Brasil

²³ Isoforine[®], Cristalia, Itapira, Brasil

²⁴ Xylestesin[®], Cristalia, Itapira, Brasil

adaptada de Lobato (2002). Por esmagamento, a isquemia foi executada com auxílio de três pinças hemostáticas curvas de Crile de doze centímetros e, com auxílio de uma régua, foram posicionadas distantes um centímetro uma da outra (0, 1 e 2 cm) sob pressão máxima permanecendo durante cinco minutos até a retirada (Fig.2).



Figura 2: Procedimento de isquemia no TFDS com auxílio de pinças Crile

No membro torácico direito (membro tratado) para a colocação do implante de membrana de celulose sintética foi utilizado uma régua como guia posicionada entre os tendões digitais flexores (Fig.3) e, assim evitar sua ruptura, envolvendo a membrana no TFDS na região da isquemia e fixando-a no bordo medial do tendão com um ponto simples com fio de sutura ácido poliglicólico 5-0²⁵ na porção proximal e outro na porção distal ao implante transfixando o tendão. No membro torácico esquerdo (membro controle) foi realizado o mesmo procedimento, porém não foi utilizado o implante sendo este membro o controle. Para o término do procedimento cirúrgico foi realizada a sutura da pele com fio de sutura náilon zero²⁶ em pontos interrompidos simples.

Os potros permaneceram com imobilização de gesso sintético nos dois membros, desde a porção distal ao carpo até o casco, pelo período de 15 dias e mantidos em confinamento nas baias até o final do experimento. Como medicação pós-cirúrgica foram administrados antibióticos sulfadiazina e trimetropim²⁷ (20

²⁵ Polycryl®, Polysuture

²⁶ Mononylon Ethilon®, Ethicon

²⁷ Maxicam Gel®, Ouro Fino Saúde Animal Ltda, Cravinhos,SP

mg/Kg) durante cinco dias e anti-inflamatório meloxicam oral²⁸ (0,1mg/Kg) por três dias.

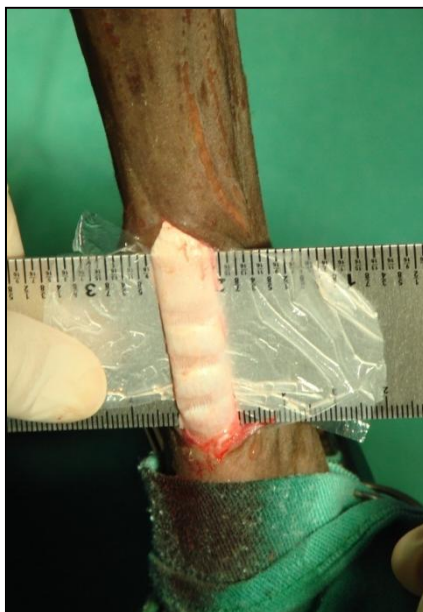


Figura 3: membrana de celulose posicionada com auxílio de régua como guia

Antes e após o procedimento cirúrgico, com fita métrica a área da região estudada foi medida pela circunferência externa nos momentos M0, M15, M30, M45, M60.

Para a realização das biópsias incisionais, em ambos os membros os animais foram distribuídos em dois momentos com três indivíduos. No momento 30 (M30), aos 30 dias após a primeira intervenção cirúrgica, foi realizada a biópsia incisional, e no momento 60 dias (M60). Os procedimentos cirúrgicos foram submetidos ao mesmo protocolo anestésico empregado no procedimento anterior.

Com os animais em decúbito dorsal com os membros suspensos fixados pela quartela em uma barra, com a região depilada e a sob condições de assepsia cirúrgica. Pela palpação foi identificada a porção da lesão que se apresentava espessada, com uma lâmina de bisturi nº 11, com incisão firme no plano sagital na porção palmar do terceiro metacarpo, com as porções proximal e distal incisadas em forma de bisel, concluindo com incisão no bordo lateral, o fragmento com pele, subcutâneo e tendão foi extraído.

Após a biópsia, foi procedida a tenorrafia no padrão em laço fechado, para evitar possível ruptura tendínea no pós-operatório. A síntese cutânea foi realizada com fio náilon nº 0 em pontos simples.

²⁸ Tridiazin®, Vansil Indústria Comércio e Representações Ltda., Descalvado, SP

Os tecidos coletados pele, subcutâneo e TFDS foram acomodados em papel e fixados em solução de Davidson²⁹ sendo processados por métodos histológicos rotineiros até a inclusão em parafina e obtenção dos cortes transversais, os quais foram corados pelo método de hematoxilina-eosina (HE). Os estudos histopatológicos foram realizados em microscopia óptica.

Para a avaliação do comportamento das lesões induzidas com e sem o implante da membrana de celulose sintética foram observadas a presença e tipo de infiltrado inflamatório, a neovascularização e a desorganização tecidual. Para graduar cada característica avaliada no exame histopatológico, foi utilizada a escala descrita por Foland et al. (1992): 0 (ausente), 1 (discreta), 2 (moderada) e 3 (intensa).

Para análise estatística foi utilizado a análise de variância para comparação da área de circunferência tendínea entre os momentos no mesmo grupo e o teste t para comparação entre os grupos, com $p < 0,05$, através do programa Graph Pad Prism v.5.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de ética de Uso Animal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná com o nº de protocolo 016/2009.

3. RESULTADOS

Durante o estudo não houve perda de animais e nenhuma ruptura tendínea foi observada, assim como a cicatrização da ferida cirúrgica foi satisfatória e sem deiscências ou outras complicações.

Nas avaliações realizadas previamente ao procedimento cirúrgico (M0) o exame físico demonstrou que, todos os potros estavam saudáveis e sem alterações relacionadas ao aparelho locomotor.

O exame macroscópico revelou aumento de volume local e espessamento na região da cirurgia, mais evidenciados nos primeiros períodos de observação, reduzindo gradativamente com a evolução pós-operatória (Tab:1) mas semelhantes em ambos os membros. Os resultados da circunferência externa, representada pelo aumento de volume, embora perceptíveis visualmente (Fig.4), não mostraram diferenças na avaliação estatística ($p < 0,05$).

²⁹ Ácido acético glacial; álcool etílico 95%; formol tamponado 10%; água destilada.



Figura 4: aumento do volume localizado na região da lesão, M15

Tabela 1: Valores da circunferência externa (CE) nos momentos (M) avaliados

	MEMBRO TRATADO	MEMBRO CONTROLE
	CE (cm)	CE (cm)
M0	12,4±1,11	12,2±0,95
M15	14,0±1,55	13,6±1,79
M30	14,2±1,91	13,5±1,23
M45	15,2±0,71	14,8±1,20
M60	15,1±0,57	14,5±1,34

No momento da biópsia os fragmentos dos membros controle foram retirados de forma mais íntegra com suas camadas pele, subcutâneo e tendão unidas o que não ocorreu nos membros tratados onde as camadas da pele, subcutâneo e tendão apresentavam-se facilmente destacáveis, indicando que a aderência aos tecidos adjacentes era mínima ou ausente. Esta característica também foi observada no momento da confecção das lâminas histológicas, que ao realizar o corte dos fragmentos, nos materiais retirados dos membros controle encontravam-se com suas camadas uniformes e unidas enquanto as biopsias dos membros tratados estavam dispersos com as camadas de tecidos separadas.

O tendão apresentava-se uniforme, de espessura compatível com o tendão contra-lateral, não se identificando a área de lesão, sendo observado um tecido de coloração esbranquiçado, denso, contínuo características semelhantes ao tendão normal.

O uso da solução de Davidson foi eficiente não danificando os tecidos e contribuiu para a realização dos cortes porque os tecidos não ficaram muito

ressecados, o que geralmente dificulta a confecção das laminas de tecidos mais densos com o tendão.

Na avaliação microscópica na observação da desorganização tecidual três animais apresentaram alteração no padrão normal de conformação celular dos tecidos estudados (Tab.2).

Tabela 2: Graduação da desorganização tecidual (Foland et al. 1992)

	Desorganização Tecidual	Membro tratado	Membro controle
M30	Potro 1	0	0
	Potro 2	0	1
	Potro 3	0	0
M60	Potro 4	3	0
	Potro 5	0	0
	Potro 6	1	2

O tipo de infiltrado inflamatório (Tab.3) era predominantemente composto por células mononucleares, macrófagos, linfócitos, fibroblastos, com a identificação de célula gigante (Fig.5) em apenas um potro aos 30 dias. Em um dos potros foi identificado o início de formação de tecido de granulação demonstrando cicatrização avançada e mais organizada (Fig.6).

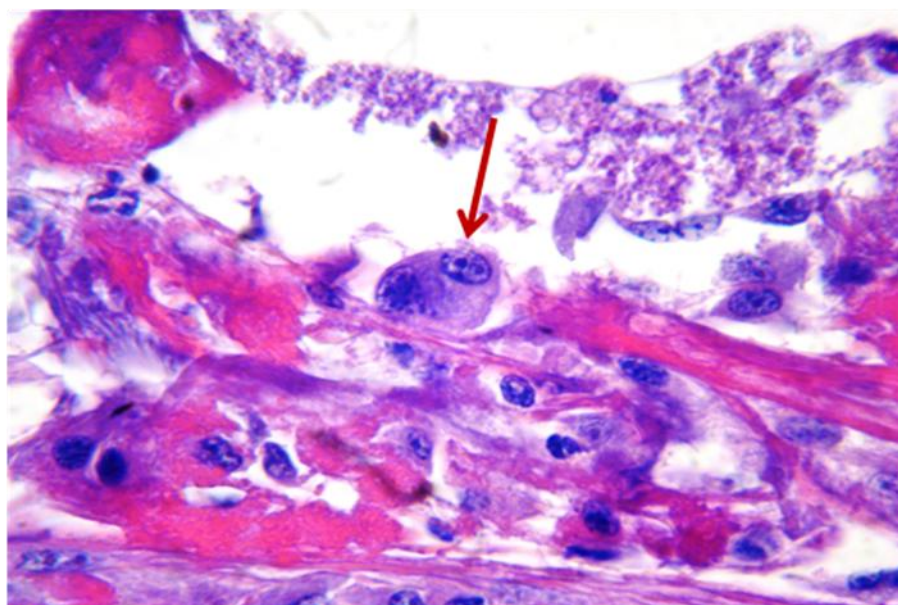


Figura 5: Lâmina histológica do corte transversal da biópsia do membro tratado do GI. Identificação de célula-gigante (seta) e fragmentos da membrana de celulose sintética (rosa) (HE;100x).

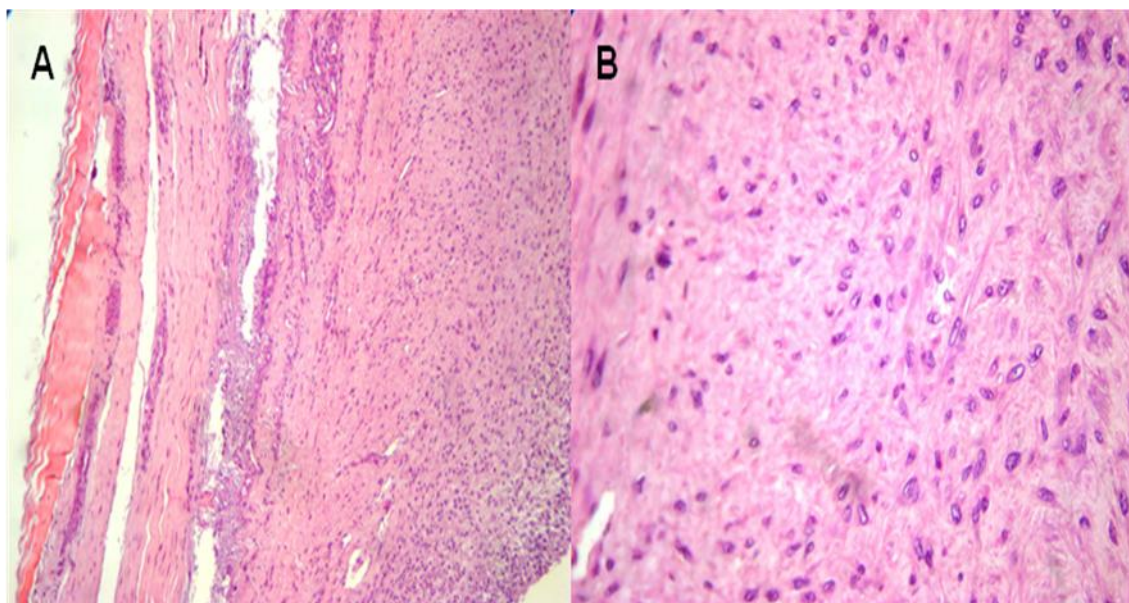


Figura 6: Lâmina histológica do corte transversal da biópsia do membro tratado do GII. Identificação de deposição de tecido granulação entre as células. A (HE;10x); B (HE,40x).

Tabela 3: Graduação do infiltrado inflamatório (Foland et al. 1992)

	Infiltrado Inflamatório	Membro tratado	Membro controle
M30	Potro 1	0	1
	Potro 2	0	0
	Potro 3	1	0
M60	Potro 4	0	0
	Potro 5	2	0
	Potro 6	0	0

Em relação a neovascularização (Fig.7) as amostras apresentaram vários graus sem diferença estatística na formação de novos vasos (Tab:4).

Tabela 4: Graduação da neovascularização (Foland et al. 1992)

	Neovascularização	Membro tratado	Membro controle
M30	Potro 1	2	1
	Potro 2	1	3
	Potro 3	2	1
M60	Potro 4	1	2
	Potro 5	3	2
	Potro 6	0	2

A identificação do implante da membrana de celulose sintética foi possível apenas em dois dos animais pertencentes ao GI (30 dias) (Fig.8).

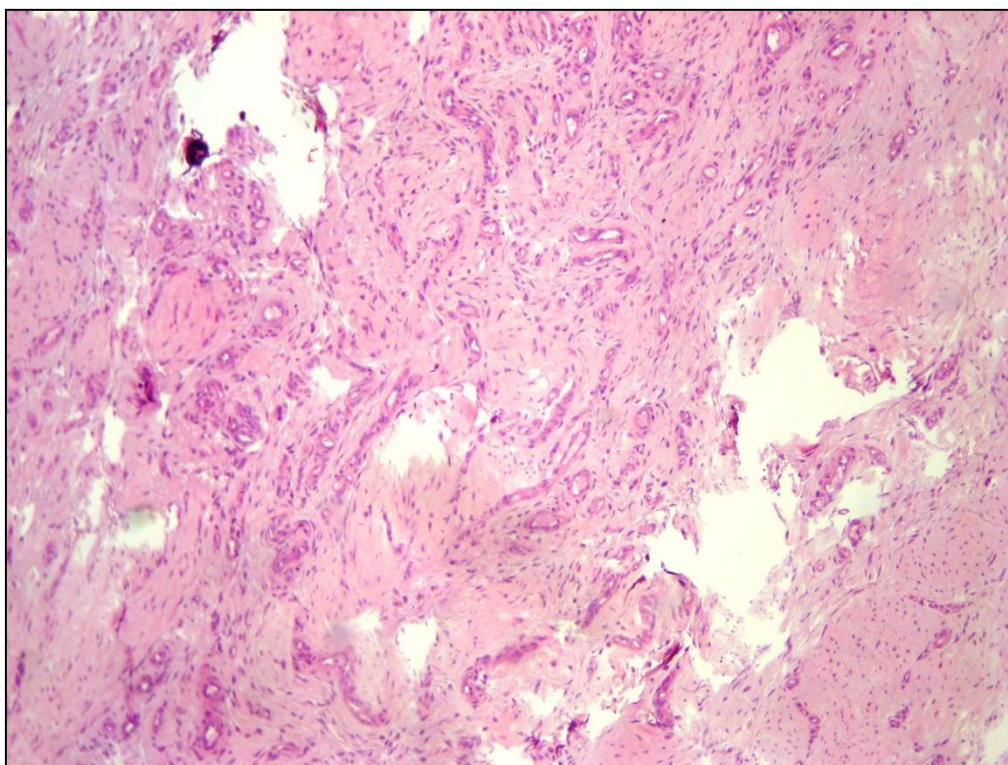


Figura 7: Lâmina histológica do corte transversal da biópsia do membro tratado do GI. Identificação de neovascularização intensa (HE,40x), Potro 5.

Para os valores das variáveis analisadas não houve diferença significativa nos estudos estatísticos realizados.

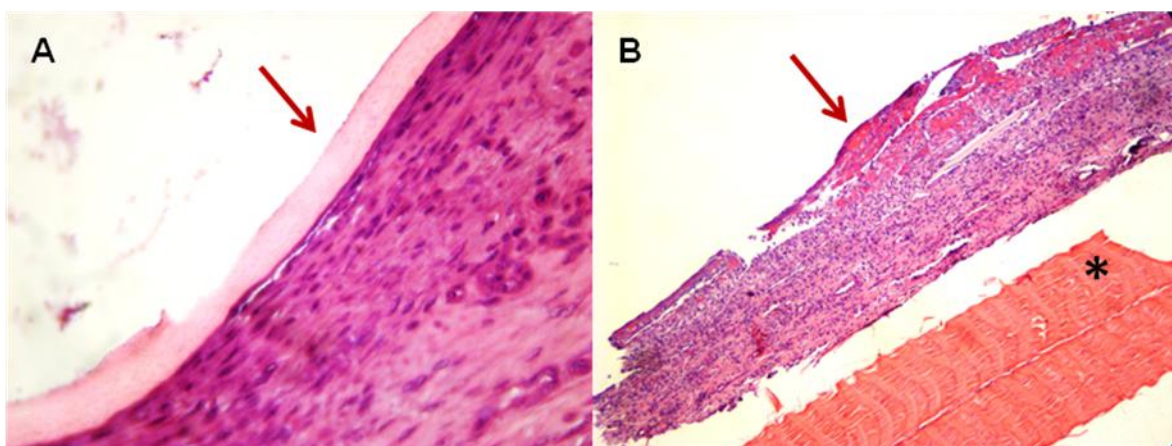


Figura 8: Lâmina histológica do corte transversal da biópsia do membro tratado do GI. Visualização da membrana de celulose sintética (setas); A: implante isolado (HE40x); B: implante sendo absorvido, * TFDS (HE,10x).

4. DISCUSSÃO

O modelo para a indução de aderência peritendínea foi delineado segundo descrito por Lobato (2002) que utilizou o método de isquemia por esmagamento do

tendão em cães, relatando que o tendão ao sofrer um processo de isquemia tende a se aderir para buscar nutrição de um leito melhor vascularizado. Porém os resultados obtidos para o modelo experimental em equino não foram satisfatórios, havendo o processo inflamatório, mas não em grau suficiente para que a aderência fosse estabelecida visualmente no tempo estipulado para o estudo.

Acreditava-se que a imobilização dos membros após as cirurgias fosse fator que contribuísse para a formação das aderências pela redução da mobilidade do membro, mas no experimento de Temiz et al. (2008) não foram realizadas imobilizações e aderências foram descritas nos resultados. Em estudo de Pihlajamäki et al. (2008) a comparação entre grupos com e sem imobilizações não apresentaram diferenças estatísticas na cicatrização do tendão de coelhos. Barbieri et al. (1994) e Braga-Silva et al. (2005) descreveram que a mobilização precoce com exercícios controlados de flexão ativa são importantes para evitar as aderências. Manske (1988) sugeriu que o estresse mecânico provoca a estruturação das fibras de colágeno, diminui a formação de aderências e aumenta a força tênsil devido à predominância da atividade intrínseca da cicatrização tendínea.

Pennington et al. (1979) e Lobato (2002) descrevem que irritações na bainha tendínea podem resultar em maior incidência de aderências peritendíneas. Seguindo este conceito Temiz et al. (2008) não suturou a bainha tendínea dos ratos estudados o que contribuiu para sua alta incidência de adesão peritendínea. Os resultados obtidos neste estudo divergem destes pesquisadores porque embora a mesma técnica tenha sido empregada e associada a remoção do paratendão, a expectativa era que houvesse uma reação exacerbada e que então desencadeasse a formação da aderência peritendínea, mas isto não foi observado. A não ocorrência das adesões pode ser esclarecida pela conformação anatômica e pressões das estruturas do dígito equino e/ou pela alteração no padrão da via extrínseca durante a cicatrização tendínea, que manteve a migração de células inflamatórias, porém em quantidade insuficiente de fibroblastos para que a aderência peritendínea fosse perceptível. Entretanto, a remoção do paratendão e a escarificação do TFDS teve grande influência no aumento de volume local observado nos dois membros pela presença de exsudato inflamatório, demonstrado pelos dados da circunferência externa.

A técnica para a colocação do implante foi descrito por Torres & Farias (2003) em estudo de reparação de nervo periférico, por Pihlajamäki et al. (2008)

como implante de barreira em suturas de tendões em coelhos e Temiz et al. (2008) também como implante de barreira em suturas tendíneas em ratos. Em todas as técnicas relatadas as suturas do implante no tendão não foram realizadas, mas em nosso estudo foram necessárias, por haver a possibilidade de migração do implante para regiões mais distais do membro.

Em relação a presença do implante, não houve diferença na quantidade de exsudato inflamatório no membro tratado e controle, resultado semelhante aos encontrados por Pihlajamäki et al. (2008) e Temiz et al. (2008). Provavelmente, esta ocorrência deve-se em parte pela característica do biomaterial descrito por Rebello et al. (1987) e Iamaguti & Brandão (2009), sendo que a permeabilidade permite a migração de células e exsudato inflamatório sem comprometer o processo de reparação. Torres & Farias (2003) reforçam esta teoria quando descreveram que o uso do implante de celulose como bainha apresenta também a vantagem de permitir a concentração de fatores de crescimento, contribuindo conseqüentemente, para a regeneração do tecido lesionado.

Rebello et al. (1987) descreveram o comportamento da membrana de celulose sintética na dermatologia e evidenciou que, conforme o processo de cicatrização evoluía, ocorria a fragmentação e a queda do implante não sendo necessária a sua remoção. Fato este, também observado no implante peritendíneo onde foi possível visualizar no estudo histopatológico fragmentos da membrana em dois pontos do momento 30 dias e em nenhum do momento 60 dias dada a sua absorção local e fragmentação, e mesmo no ato da biópsia incisional a identificação da membrana implantada foi possível em apenas nestes dois pontos.

Brik (1989) *apud* (Schoenau et al. (1993) com o uso de membrana de celulose em lesões epiteliais corneanas não evidenciou nenhuma reação inflamatória ou irritativa ocasionada pela presença do implante, e Schoenau et al. (1993) no estudo com o implante na córnea de cães relataram que a membrana celulósica não mostrou maiores reações inflamatórias do que aquelas provocadas pela cura da lesão estes relatos assemelham-se aos resultados obtidos neste estudo onde a reação inflamatória local, tanto na avaliação clínica quanto na histológica, não mostraram reações diferentes significativas entre os membros. Assim como Temiz et al. (2008) em estudo em tendões de rato descreveu nos resultados pouca ou nenhuma reação inflamatória com o uso do implante de membrana de celulose oxidada.

Marques et al. (1996) acompanharam a evolução da cicatrização de feridas mamárias em vacas com análises histológicas desde o terceiro dia da implantação da membrana de celulose até o 28º dia do término da regeneração cutânea, e os resultados encontrados revelaram gradativa redução das células inflamatórias e do edema, com aumento da vascularização até o tecido neoformado. Isto é semelhante as análise do GI e do GII onde observamos que houve pouca diferença entre os momentos da biópsia porque o processo inflamatório agudo teria dado lugar ao processo de cicatrização com o maior número de fibroblastos, novos vasos e sem alteração no padrão das fibras tendíneas.

Pesquisas relacionadas ao tempo de absorção da membrana de celulose não foram encontrados, mas o tempo necessário para fragmentação e absorção do implante varia de acordo com as características da região lesionada, quanto a sua capacidade de migração de células inflamatórias e circulação de vasos, também estão relacionadas com a forma de implantação, qualidade, tamanho e espessura da membrana de celulose sintética, porque quanto maior e mais espessa maior o tempo para sua degradação completa.

A preservação da integridade do tecido tendíneo com o deslizamento entre os tendões flexores e a pele observados neste estudo é semelhante aos resultados relatados no estudo da correção de meningoencefalocel em fetos de ovelhas por Oliveira et al. (2007), que nas análises macroscópicas observaram que a membrana de celulose implantada entre a pele e o tecido da medula manteve preservada a individualidade entre estes tecidos não havendo aderência, com deslizamento entre as estruturas.

O infiltrado inflamatório era composto por células mononucleadas, principalmente monócitos e linfócitos, visualizados na maioria próximas à pele, no subcutâneo e do implante corroborando com os resultados de Pihlajamäki et al. (2008) que, em modelo semelhante, estudaram a membrana bioabsorvível de ácido poliglicólico e obtiveram a mesma característica de infiltrado inflamatório.

Pelo predomínio de células mononucleadas visualizadas demonstra que a técnica cirúrgica foi realizada de maneira asséptica uma vez que as características encontradas não evidenciaram contaminação e infecção dos tecidos.

Nas amostras onde foram visualizados fragmentos do implante observamos a formação de uma margem de células mononucleadas junto à membrana de celulose semelhante a camada de fibroblastos ao redor do implante relatado por

Oliveira et al. (2007), servindo como barreira de proteção da medula, e evidenciando a capacidade da membrana de celulose ser tecido para a regeneração guiada previamente descrita por Iamaguti & Brandão (2009). Esses autores também descreveram a ausência de migração das células, proliferação de vasos e a presença de tecidos conectivos com colágeno do hospedeiro para o implante concordando com as análises histológicas deste estudo.

De acordo com Iamaguti & Brandão (2009) as características histológicas sugerem que os implantes da membrana de celulose sintética sofrem degradação no organismo animal, sendo encontrados fragmentos no citoplasma de células gigantes, o que segundo este estudo parece ser aceitável já que a presença de célula gigante foi evidenciada, porém sem a visualização de fragmentos do implante em seu citoplasma. O número reduzido de células gigantes pode estar relacionado ao período da realização das biópsias, com o término da fase inflamatória aguda encaminhando-se para a fase de remodelamento da cicatrização.

5. CONCLUSÃO

A utilização da membrana de celulose em potros não demonstrou diferença nos achados do aspecto macroscópico e histopatológico, quando comparados ao membro controle. Entretanto, o implante contribuiu para manter a individualidade do TFDS e os tecidos adjacentes, uma vez que, manteve o deslizamento e a integridade das estruturas, sem maiores efeitos inflamatórios daqueles apresentados em processos cicatriciais normais.

6. REFERÊNCIAS

- Barbieri, C.H., Mazer, N., Trejo, R.A.. 1994. Lesões dos Tendões Flexores dos Dedos em Adultos. Rev Bras Ortop. 29:586-590.
- Braga-Silva, J., Martins, P.D.E., Román, J., Gehlen, D.. 2005. Mobilização Pós-Operatória Com Flexão Ativa Precoce Após Reparo de Tendões Flexores na Zona 2. Rev. Soc. Bras. Cir. Plást. 20:207-212.
- Dahlgren, L.A.. 2007. Pathobiology Of Tendon And Ligament Injuries. Clinical Techniques In Equine Practice. 6:168-173.
- Dowling, B.A., Dart, A.J., Hodgson, D.R., Smith, R.K.W.. 2000. Superficial Digital Flexor Tendonitis In The Horse. Equ Veter J. 32:369-378.

- Foland, J., Trotter, G., Powers, B., Wrigley, R., Smith, F.. 1992. Effect Of Sodium Hyaluronate In Collagenase-Induced Superficial Digital Flexor Tendinitis In Horses. *American Journal Of Veterinary Research*. 53:2371.
- Gillis, C.L.. 1997. Rehabilitation Of Tendon And Ligament Injuries. In, 306-309.
- Herculano, M.A., De Tella Jr, O.I., Prandini, M.N., De Seixas Alves, M.T.. 2006. Estudo de Membrana Biológica em Ratos na Prevenção de Fibrose Pós Laminectomia. *Arq Neuropsiquiatr*. 64:259-263.
- Iamaguti, L.S., Brandão, C.V.S.. 2009. Uso de Membrana Biossintética a Base de Celulose na Regeneração Tecidual Guiada. *Semina: Ciências Agrárias*. 28:701-708.
- Khanna, A., Friel, M., Gougoulas, N., Longo, U.G., Maffulli, N.. 2009. Prevention Of Adhesions In Surgery Of The Flexor Tendons Of The Hand: What Is The Evidence? *British Medical Bulletin*. 90:85-109.
- Klemm, D., Schumann, D., Udhardt, U., Marsch, S.. 2001. Bacterial Synthesized Cellulose--Artificial Blood Vessels For Microsurgery. *Progress In Polymer Science*. 26:1561-1603.
- Lobato, R., 2002. Efeitos do Ultra-Som Terapêutico na Prevenção de Aderências Tendinosas. *Dissertação Mestrado da Universidade de São Paulo*. 83fls.
- Maia, L., De Souza, M.V., Alves, G.E.S., Júnior, J.I.R.. 2009. Plasma Rico em Plaquetas no Tratamento de Tendinite Induzida em Equinos: Avaliação Ultra-Sonográfica¹. *Pesq. Vet. Bras* 29:241-245.
- Manske, P.. 1988. Flexor Tendon Healing. *The Journal Of Hand Surgery: Journal Of The British Society For Surgery Of The Hand*. 13:237-245.
- Marques, J., Moraes, J., Teixeira Neto, F.. 1996. Tratamento Alternativo de Feridas de Papilas Mamárias de Vacas Através do Emprego de Membrana Biológica (Biofill). *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 33:102-106.
- Mello, L.R., Feltrin, L.T., Fontes Neto, P.T., Abreu, A.R.. 1996. Duraplastia com Celulose Biossintética: Extudo Experimental; Dural Substitute With Biosynthetic Cellulose: Experimental Study. *Arq. Bras. Neurocir*. 15:14-21.
- Mello, L.R., Feltrin, Y., Selbach, R., Macedo Junior, G., Spautz, C., Haas, L.J.. 2001. Uso da Celulose Liofilizada em Lesões de Nervos Periféricos com Perda de Substância. *Arquivos De Neuro-Psiquiatria*. 59:372-379.
- Negrão, S.W., Bueno, R.R.L., Guérios, Ê.E., Ultramari, F.T., Faidiga, A.M., De Andrade, P.M.P., Nercolini, D.C., Tarastchuck, J.C., Farah, L.F.. 2006. A

- Eficácia do Stent Recoberto com Celulose Biosintética Comparado ao Stent Convencional em Angioplastia em Coelhos. *Rev Bras Cardiol Invasiva*. 14:10–19.
- Novaes Jr, A., Novaes, A., Grisi, M., Soares, U.N., Gabarra, F.. 1993. Gengiflex, An Alkali-Cellulose Membrane For GTR: Histologic Observations. *Braz. Dent. J.* 4:65-71.
- Oliveira, R.C.S., Valente, P.R., Abou-Jamra, R.C., Araújo, A., Saldiva, P.H., Pedreira, D.A.L.. 2007. Biosynthetic Cellulose Induces The Formation Of A Neoduramater Following Pre-Natal Correction Of Meningomyelocele In Fetal Sheep. *Acta Cirurgica Brasileira*. 22:174-181.
- Osman, S.A., Souza, F., Dolci, J.E.. 2007. Estudo Experimental Sobre a Aplicação de Película de Celulose (Bionext®) em Área Cruenta de Ressecção de Concha Nasal de Coelhos. *Acta ORL*. 25:304-311.
- Pennington, D.. 1979. The Influence Of Tendon Sheath Integrity And Vincular Blood Supply On Adhesion Formation Following Tendon Repair In Hens. *British Journal Of Plastic Surgery*. 32:302.
- Pihlajamäki, H., Tynnenen, O., Karjalainen, P., Rokkanen, P.. 2008. Enveloping Bioabsorbable Polyglycolide Membrane And Immobilization In Achilles Tendon Repair: A Comparative Experimental Study On Rabbits. *Journal Of Orthopaedic Research*. 26:264-270.
- Rebello, C., Almeida, D.A., Lima Júnior, E.M., Dornelas, M.P.. 1987. Bio-Fill, Um Novo Substituto De Pele: Nossa Experiência. *Rev. Bras. Cir.* 77:407-414.
- Schoenau, L., Pippi, N., Schossier, J.. 1993. Avaliação Clínica Preliminar do Fechamento Comparativo de Incisões Corneanas com Sutura e Biofill (Película Celulósica). *Ciência Rural*. 23:173-177.
- Temiz, A., Ozturk, C., Bakunov, A., Kara, K., Kaleli, T.. 2008. A New Material For Prevention Of Peritendinous Fibrotic Adhesions After Tendon Repair: Oxidised Regenerated Cellulose (Interceed), An Absorbable Adhesion Barrier. *International Orthopaedics*. 32:389-394.
- Torres, M., Graça, D., Farias, E.. 2003. Reparação Microcirúrgica de Nervo Periférico por Meio de Sutura, Cola de Fibrina ou Bainha de Biofill® em Ratos Wistar;. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*. 55:557-561.

- Wouk, A.F.P., Michelotto, P.V.P.. 1989. Relato Preliminar do Uso de Um Novo Curativo Biológico (Biofill) em Feridas de Pele com Grande Perda de Substância em Um Equino. *A Hora Veterinária*. Ano 8:31-34.
- Wouk, A.F.P.D.E.F., Diniz, J., Círio, S., Santos, H.D., Baltazar, E.L., Acco, A.. 2004. Membrana Biológica (Biofill)-Estudo Comparativo com outros Agentes Promotores da Cicatrização da Pele em suínos: Aspectos Clínicos, Histopatológicos e Morfométricos. *Archives Of Veterinary Science*.

ANEXOS

Anexo 1: Quadro dos valores da circunferência externa (CE) (cm)

	Membro torácico direito					Membro torácico esquerdo				
	M0	M15	M30	M45	M60	M0	M15	M30	M45	M60
Potro 1		16	16	15,7	15,5		15,5	15,5	15,2	15
Potro 2	13,2	15,4	16,1	15,5	15,3	13	15,9	14	15,5	15,2
Potro 3	13,2	14,7	15,5	14,5	14,5	13	13,5	14	13,8	13,3
Potro 4	12,5	13	13,1			12,3	12,5	13,3		
Potro 5	10,5	11,4	11,5			10,7	11	11		
Potro 6	12,4	13,5	13			12	13	13,2		

Anexo 2: Quadro dos valores da área transversal do tendão flexor digital superficial (AT-cm²)

	Membro torácico direito					Membro torácico esquerdo				
	M0	M15	M30	M45	M60	M0	M15	M30	M45	M60
Potro 1	0,49	0,37	0,39	0,31	0,53	0,29	0,31	0,24	0,34	0,38
Potro 2	0,55	0,32	0,31	0,36	0,39	0,37	0,29	0,36	0,55	0,33
Potro 3	0,42	0,42	0,4	0,27	0,43	0,29	0,41	0,3	0,34	0,33
Potro 4	0,28	0,26	0,36			0,22	0,28	0,26		
Potro 5	0,14	0,18	0,21			0,13	0,21	0,21		
Potro 6	0,17	0,32	0,31			0,22	0,29	0,31		

Anexo 3: Quadro dos valores da distância do tendão flexor digital superficial à pele (D1-mm)

	Membro torácico direito					Membro torácico esquerdo				
	M0	M15	M30	M45	M60	M0	M15	M30	M45	M60
Potro 1	1,35	4,18	5,95	3,17	3,91	1,85	2,86	2,35	2,20	2,10
Potro 2	2,42	3,21	4,29	3,03	4,68	1,39	5,14	4,83	4,29	2,89
Potro 3	1,47	2,55	5,66	2,62	5,05	1,60	1,69	2,44	1,97	2,14
Potro 4	1,75	4,65	3,55			1,75	3,91	3,30		
Potro 5	0,76	3,17	2,33			1,93	3,08	2,17		
Potro 6	1,23	3,56	2,66			1,47	3,1	3,05		

Anexo 4: Quadro dos valores da espessura do tendão flexor digital superficial à pele (D2-mm)

	Membro torácico direito					Membro torácico esquerdo				
	M0	M15	M30	M45	M60	M0	M15	M30	M45	M60
Potro 1	2,2	3,45	4,02	4,56	5,69	3,11	3,38	3,11	3,78	4,62
Potro 2	4,79	3,7	3,82	3,51	4,41	4,23	3,98	4,05	5,06	4,58
Potro 3	4,27	2,92	4,76	2,78	4,6	2,73	3,32	2,04	2,36	3,04
Potro 4	2,45	3,14	3,49			2,45	3,69	3,3		
Potro 5	1,64	2,35	2,14			2,04	2,73	2,65		
Potro 6	2,7	3,76	3,35			2,55	3,36	3,93		

Anexo 5: Quadro dos graus de claudicação

	M0	M7	M15	M21	M30	M45	M60
Potro 1	0	1	3	3	2	0	0
Potro 2	0	1	3	3	3	2	0
Potro 3	0	2	3	2	1	0	0
Potro 4	0	1	3	1	2		
Potro 5	0	2	3	2	2		
Potro 6	0	2	3	3	2		

Anexo 6: Quadro dos valores das médias e desvio padrão

	MEMBRO DIREITO				MEMBRO ESQUERDO			
	D1 ³⁰	D2 ³¹	AT ³²	CE ³³	D1	D2	AT	CE
M0	1,50±0,61	3,01±1,38	0,34±0,17	12,4±1,11	1,67±0,21	2,85±0,83	0,25±0,08	12,2±0,95
M15	3,55±0,85	3,22±0,52	0,31±0,08	14,0±1,55	3,30±1,28	3,41±0,47	0,30±0,06	13,6±1,79
M30	4,07±1,50	3,60±0,96	0,33±0,07	14,2±1,91	3,02±1,10	3,18±0,75	0,28±0,05	13,5±1,23
M45	2,94±0,29	3,62±0,89	0,31±0,05	15,2±0,71	2,82±1,28	3,73±1,35	0,41±0,12	14,8±1,20
M60	4,55±0,58	4,90±0,69	0,45±0,07	15,1±0,57	2,38±0,45	4,08±0,90	0,35±0,03	14,5±1,34

Anexo 7: Solução de Davidson

Componente	Quantidade
Ácido acético glacial	
Álcool etílico 95%	
Formol tamponado 10%	
Água destilada	

³⁰ Distância entre o TFDS à pele (milímetros)

³¹ Espessura do TFDS (milímetros)

³² Área transversal do TFDS (centímetro quadrado)

³³ Circunferência Externa (centímetro)