

Eneida César Mastrantonio

NON
619:617-083
M423R
TES/MEM

**REPARO DO TENDÃO DO MÚSCULO GASTROCNÊMIO DE COELHOS
COM ENXERTO DE JEJUNO LIVRE HOMÓLOGO
CONSERVADO EM GLICERINA A 98%**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Medicina Veterinária, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Clínica e Cirurgia.

Orientador: Prof. Dr. Duvaldo Eurides

Co-orientador: Prof. Dr. Marcelo Emílio Beletti

**Uberlândia - MG
2002**

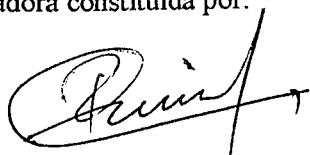
SISBI/UFU



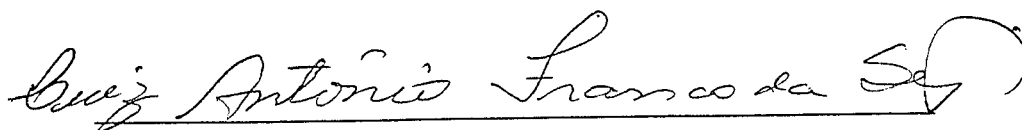
1000204420

**Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**


Dissertação defendida e aprovada em 27 de março de 2002, pela
comissão examinadora constituída por:



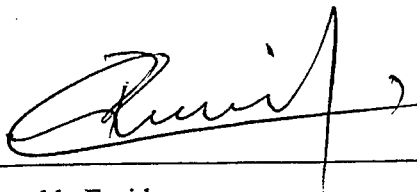
Prof. Dr. Duvaldo Eurides
Orientador



Prof. Dr. Luiz Antônio Franco da Silva



Prof. Dr. Marcos Silva



Prof. Dr. Duvaldo Eurides
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias

A meus pais **SÔNIA** e **DOMINGOS** pelo carinho, incentivo, amparo e acima de tudo pela formação do meu caráter.

Ao meu namorado **EMILIANO**, pelo estímulo, força, compreensão e principalmente por seu amor.

Aos **ANIMAIS**. “Haverá um dia em que o homem conhecerá o íntimo dos animais e neste dia, todo crime contra os animais será um crime contra a humanidade”.

Leonardo da Vince

DEDICO ESTE TRABALHO

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À Deus, que me deu o dom da vida, me abençoou com a inteligência, e me deu a graça de lutar para a conquista de minhas realizações.

Ao meu orientador e amigo Prof. Dr. **Duvaldo Eurides**, pelos seus grandiosos ensinamentos. Este projeto não teria sido possível sem sua dedicação, compreensão, encorajamento e paciência.

Igualmente gostaria de tornar extensivos meus sinceros agradecimentos ao meu co-orientador Prof. Dr. **Marcelo Emílio Beletti**, por sua dedicação a esse projeto.

AGRADECIMENTOS

Aos amigos do curso de mestrado **Bianca Jacob Shimizu e Francisco Cláudio Dantas Mota**, queridos companheiros da cirurgia de cada dia.

Aos demais colegas da Pós-Graduação **Amílcar Alarcon Pereira, Cristiano Pereira Barbosa, José Eugênio Diniz Bastos, Marcelo Barbanti Duarte, Marcelo de Melo Machado, Patrícia Orlandini Gonzalez, Paulo Henrique Zaiden Paro, Raul Morais Nolasco, Roberto Bernardino Júnior e Sirlei Manzan Hortêncio**, que juntos vencemos mais uma grande etapa de nossas vidas.

Aos acadêmicos da Faculdade de Medicina Veterinária **Felipe Augusto Corrêa Reis e Alessandro Barreiro Campos**, pelo auxílio na realização de algumas etapas deste trabalho.

Aos técnicos do laboratório de Histologia da Universidade Federal de Uberlândia, Srs. **Rui Silva** pelo grande auxílio na confecção dos cortes e lâminas histológicas deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **Frederico Ozanam Carneiro e Silva** pela leitura e sugestões dadas a este trabalho.

A secretária da revista Veterinária Notícias, Sra. **Fernanda Borges Neto**, pelo auxílio na correção das referências bibliográficas.

Ao secretário da pós-graduação Sr. **Marcos Antônio de Oliveira**, pela ajuda e boa vontade nos momentos precisos.

A **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pelo fornecimento da bolsa de pesquisa e auxílio financeiro.

Aos técnicos da Cirurgia do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da UFU, Srs. **Rondino Gonçalves Figueira das Chagas, João Assis Guimarães e José Maria Pires** pelo auxílio na preparação do material cirúrgico.

Aos demais professores, colegas, funcionários e acadêmicos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, os meus sinceros reconhecimentos.

SUMÁRIO

1. LISTA DE FIGURAS -----	VIII - IX
2. LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS -----	X
3. RESUMO -----	XI
4. SUMMARY -----	XII
5. INTRODUÇÃO -----	1
6. REVISÃO DE LITERATURA -----	1 - 3
7. MATERIAIS E MÉTODOS -----	4 - 7
8. REULTADOS E DISCUSSÃO -----	7 - 16
9. CONCLUSÕES -----	17
10. MATERIAIS DA PESQUISA -----	17
11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	17 - 22
12. NORMAS ADOTADAS -----	22

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Representação esquemática do instrumento descolador do epitélio e da lâmina própria da túnica mucosa de segmento de jejuno de coelho. -----5
- Figura 2. Representação esquemática da síntese e do enxerto do tendão do músculo gastrocnêmio de coelho. Em A e B observa-se a sutura modificada de Kessler (a) com os pontos auxiliares (b), e em C o enxerto de segmento de jejuno livre aplicado sobre a tenorrafia (d), com ponto simples contínuo (c). ----- 6
- Figura 3. Aspecto macroscópico da reparação cicatricial do tendão do músculo gastrocnêmio de coelho. Nota-se em A e B com 15 dias de PO (GI), aumento de volume no local da tenorrafia dos tendões controle e tratado (setas). Verifica-se maior aumento de volume no local da anastomose do tendão tratado, com coloração avermelhada. Em C, observa-se no tendão tratado afastamento dos cotos (a), e espessa camada de tecido de granulação (b), ainda aos 15 dias de PO. Em D com 30 dias (GII), nota-se alinhamento e coaptação das extremidades do tendão controle e sutura modificada de Kessler (seta). -----10
- Figura 4. Aspecto histológico da reparação cicatricial do tendão do músculo gastrocnêmio de coelho. Nota-se em A com 15 dias de PO, o enxerto em processo de reabsorção avançada com resíduos de tecido muscular (a) e infiltrado inflamatório com presença de macrófagos (b) e célula gigante multinucleada (c), TG; 250x. Em B verifica-se com 15 dias de PO, verifica-se tecido de granulação ao redor (d) das extremidades do tendão controle (T), TG; 200x. Observa-se em C com 60 dias de PO, tecido conjuntivo denso ao redor (d) e entre (e) as extremidades do tendão tratado (T) se organizando no sentido das fibras tendinosas, HE; 20x. ----- 13

Figura 5. Aspecto histológico da reparação tecidual do tendão do músculo gastrocnêmio de coelho no 90^o dia de PO. Nota-se em **A** tecido cicatricial com fibras colágenas quase organizadas no sentido longitudinal do tendão tratado (**seta**), TG; 40x. Em **B** verifica-se feixes de tecido conjuntivo denso, unindo parcialmente os cotos do tendão controle (**seta**), HE; 20x. -----15

Figura 6. Aspecto macroscópico da reparação tecidual do tendão do músculo gastrocnêmio de coelho no 90^o dia de PO (GIV). Nota-se em **A** discreto aumento de volume no local da tenorrafia do tendão controle (**seta**). Em **B** observa-se delgada camada de tecido conjuntivo de coloração avermelhada que envolve o tendão (**seta**). Pode-se verificar que o tendão tratado apresentava-se mais espesso que o controle. -----16

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PO	Pós-operatório
GI	Grupo I
GII	Grupo II
GIII	Grupo III
GIV	Grupo IV
T	Tendão tratado
C	Tendão controle
pv	Peso vivo
IM	Intramuscular
KCL	Cloreto de potássio
AVMA	American Veterinary Medical Association
HE	Hematoxilina e eosina
TG	Tricomico de Gômori
CBCAV	Colégio Brasileiro de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária

RESUMO

Tecidos biológicos obtidos de diferentes espécies e conservados por vários meios têm sido aplicados com sucesso na reparação de tendões. Foram utilizados 24 coelhos (*Oryctolagus cuniculis*) da raça Nova Zelândia, machos, separados em quatro grupos de igual número, para avaliação da reparação cicatricial do tendão do músculo gastrocnêmio decorridos os períodos de 15, 30, 60 e 90 dias de pós-operatório (PO). Em cada animal de todos os grupos, o tendão do músculo gastrocnêmio dos membros pélvico esquerdo (tratado) e direito (controle) foi seccionado e submetido à síntese com sutura modificada de Kessler e pontos de reforço. O local da tenorrafia do tendão do membro pélvico esquerdo foi envolvido por um segmento de jejuno homólogo, preservado em glicerina a 98%. Aos 15 dias, o enxerto encontrava-se em processo de reabsorção avançada, com infiltrado inflamatório e neovascularização. A partir dos 15 dias de PO notou-se evolução no processo cicatricial com substituição do tecido de granulação em conjuntivo denso modelado, sendo o tecido cicatricial mais organizado e mais maduro em relação ao dos tendões controle. O segmento intestinal livre, desprovido de epitélio e lâmina própria da túnica mucosa, homólogo, conservado em glicerina a 98%, estimula a fibroproliferação no local do implante. Por tratar-se de um método eficiente e de fácil execução, pode ser indicado na reparação de secção de tendão do músculo gastrocnêmio de coelhos.

Palavras-chave: coelho, enxerto, intestino, tendão, cirurgia.

SUMMARY

Biological tissues obtained from different species and preserved by various methods have been successfully used in the tendon repair. Twenty-four male rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) of the New Zealand race were used and divided in four groups containing six animals per group in order to evaluate the cicatricial repair of the tendon of gastrocnemius muscle at 15, 30, 60 and 90 days post-surgery (PS). Thus, the tendon of gastrocnemius muscle of left (treated group) and right (control group) hindlimb of all animals was sectioned and submitted to synthesis through Kessler modified suture and strengthening points. In the site of the tenorrhaphy, the left hindlimb was involved by a homologous jejunum segment preserved in 98% glycerin. At the 15 days PS, the graft showed advanced reabsorption process with inflammatory infiltrate and neovascularization. After 15 days PS, it was observed an evolution in the cicatricial process with replacement of granulation tissue for modeled dense connective tissue and more organized and matured cicatricial tissue as compared to the control tendons. The homologous free intestinal segment without epithelium and lamina propria of the mucous tunica, preserved in 98% glycerin, stimulated the fibroproliferation in the graft site. This method showed to be easy to perform and can be indicated in the repair of sectioned tendon of the gastrocnemius muscle in rabbits.

Key words: rabbit, graft, gut, tendon, surgery.

INTRODUÇÃO

Tecidos biológicos obtidos de diferentes espécies e conservados por vários meios têm sido empregados na reparação de tecidos moles, tanto no homem como nos animais domésticos (COSTA NETO et al., 2000).

Segmento intestinal pode ser utilizado em experimentação animal para reparação de esôfago (FREITAS et al., 2000), artéria de pequeno e grande calibre, bexiga urinária e pele. Este material é biocompatível (BADYLACK, 1993), possui propriedades mecânicas para implantação (BADYLACK et al., 1995), é resistente a infecções e pode ser conservado em diferentes meios (MOTA et al., 2000).

Enxertos biológicos homogêneos e xenógenos conservados em glicerina foram utilizados com sucesso no reparo de tendões de cães (PIGOSSI, 1964; CIPOLA et al., 1978; COSTA NETO & DALECK, 1999; RAISER et al., 2001), porém, poucos estudos têm sido conduzidos para avaliação de segmento intestinal livre em aplicações músculo-esqueléticas. Ao avaliarem o uso da submucosa do intestino delgado em tendão calcâneo comum de cães, BADYLACK et al. (1995) observaram formação cicatricial organizada.

Neste experimento, objetivou-se avaliar por meio de estudo clínico e morfológico, a reparação cicatricial do tendão do músculo gastrocnêmio de coelhos, com enxerto homólogo de um segmento de jejuno livre, desprovido do epitélio e lâmina própria da túnica mucosa, preservado em glicerina a 98%.

REVISÃO DE LITERATURA

Dentre as lesões tendíneas freqüentemente observadas no cão, encontra-se a ruptura parcial ou total do tendão calcâneo comum (BRADEN, 1974 e 1976; BREE, 1982; REINKE, 1982). As lesões traumáticas são as mais freqüentes e geralmente são ocasionadas por objetos cortantes (GOODSHIP et al., 1985).

Técnicas cirúrgicas têm sido descritas para reparo do tendão calcâneo comum e variam desde diversos padrões de sutura até variados tipos de materiais como próteses sintéticas, enxertos tendíneos e membranas biológicas (COSTA NETO & DALECK, 1999). Os métodos empregados objetivam minimizar a formação de

aderências associadas com o processo cicatricial e produzir uma forte união das extremidades tendinosas permitindo, deste modo, um precoce retorno à função (GOODSHIP, et al., 1985; COSTA NETO & DALECK, 1999).

A técnica e o material de sutura proporcionam posição anatômica adequada dos segmentos do tendão e resistência para um eficiente processo de cicatrização (BLOOMBERG, 1998). A resistência local, no decorrer das primeiras três a seis semanas, é garantida pelo material e padrão de sutura empregados (KETCHUM, 1985). A sutura modificada de Kessler oferece vantagem sobre as demais disponíveis, por ser de fácil aplicação, por proporcionar resistência tênsil, por minimizar a constrição dos vasos intrínsecos e por favorecer a cicatrização (ARON, 1981; BERG & EGGER, 1986). O material de sutura utilizado deve ser forte, não-absorvível e não-reativo (ARON, 1996).

A formação de espaço entre as extremidades de uma anastomose tendínea e a ruptura do fio são conseqüências dos tipo e da técnica de sutura, bem como das propriedades biológicas e biomecânicas do tendão no pós-operatório. Durante as duas primeiras semanas após a reparação, a substância tendínea nas extremidades unidas amolece devido à despolimerização com perdas de ligação dentre e entre os feixes de colágeno (GREENWALD et al., 1995).

As diversas técnicas cirúrgicas para reparação do tendão calcâneo comum de cães têm em comum a imobilização temporária da articulação tíbio-társica em extensão parcial visando a diminuir a tensão local e a promover uma precoce revascularização (BRADEN, 1974 e 1976; BREE, 1982; HANN et al., 1995; COSTA NETO & DALECK, 1999; RAISER et al., 2001). Em coelhos a imobilização não é indicada por alterar a postura natural da espécie, podendo comprometer as funções do membro (NYSTRON & HOLMLUND, 1983).

A seqüência de reparação do tendão é similar à dos outros tecidos. A ruptura fibrilar inicial é seguida de hemorragia e formação de hematoma intratendinoso, com conseqüente edema e inflamação. Após o processo inflamatório inicial e a remoção dos tecidos danificados, a cicatriz é formada, apresentando o colágeno inicialmente imaturo, organizado aleatoriamente com fibrilas de pequeno diâmetro. O processo de maturação ocorre à medida que o diâmetro das fibrilas aumenta junto com a proporção do colágeno, fenômeno que requer semanas a meses para se completar (GOODSHIP, 1993).

Próteses sintéticas, como fibra de carbono (NIXON et al., 1984; LEMAIRE, 1985), ácido láctico polimérico (LANDVATER & RENSTRON, 1992), polipropileno (CRAWFORD & INGLE, 1997) e poliuretano de óleo de mamona (SILVA, 2000) têm sido utilizadas para reparação de tendões. A fibra de carbono e o ácido láctico polimérico, com o passar do tempo, alteram as propriedades mecânicas do tendão calcâneo comum, diminuem sua força e integridade, podem causar abrasão dos tecidos, modificar a resposta inflamatória e causar hiperplasia indesejável resultando em tecido cicatricial no sítio da reparação (BADYLACK, et al., 1995). Ao se utilizar prótese de poliuretano de óleo de mamona como substituto de tendão calcâneo comum em coelhos, a integração ocorre através de proliferação de tecido conjuntivo, porém deve ser indicada apenas como implante temporário (SILVA, 2000).

Geralmente, a reação do organismo a um material estranho é a de expulsá-lo ou encapsulá-lo. Materiais fracionados ou fluido podem ser fagocitados pelas células gigantes e macrófagos. Uma reação tecidual típica de rejeição ocorre ao redor do enxerto, seguida de infiltração de macrófagos, podendo ou não formar células gigantes, entretanto, se o implante for química ou fisicamente irritante, ocorrerá inflamação local, podendo retardar o processo normal de cicatrização (PARK & LAKES, 1992).

Para o reparo de tendões de cães foram utilizados com sucesso tecidos biológicos, como dura-mater (PIGOSSI, 1964), fascia lata (BRADEN, 1976), tendões homogêneos (RAISER et al. 2001), pericárdio de equino (CIPOLA et al., 1978), submucosa intestinal de suíno (BADYLACK et al., 1995), peritônio (COSTA NETO & DALECK, 1999) e ligamento nucal de bovino (COSTA NETO et al., 2000). Em tendões de coelhos foi empregado colágeno bovino (TAURO et al., 1991) e centro frênico de equino (SARTORI FILHO et al., 1997). Enxerto de submucosa intestinal de suínos em tendão calcâneo comum em cães induz à formação cicatricial organizada e força tensional é maior quando comparada com a do tendão sem enxerto (BADYLACK et al., 1995).

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 28 coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) adultos, da raça Nova Zelândia, machos, com peso médio de 2,0kg, clinicamente sadios. Dos 28 animais, 24 foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos de igual número e alojados em gaiolas individuais, onde receberam ração comercial^a uma vez ao dia e água à vontade.

Em cada animal de todos os grupos, o tendão do músculo gastrocnêmio dos membros pélvico direito (controle) e esquerdo (tratado) foi seccionado e submetido a síntese. O local da tenorrafia do tendão do membro pélvico esquerdo foi envolvido por um segmento de jejuno livre. Para observações macroscópicas e em microscopia de luz a respeito da reparação cicatricial dos tendões, os animais foram sacrificados decorridos 15 (Grupo I), 30 (Grupo II), 60 (Grupo III) e 90 (Grupo IV) dias de pós-operatório (PO).

Os segmentos de jejuno foram obtidos de quatro coelhos clinicamente sadios, submetidos à enterectomia de um segmento de aproximadamente 10,0cm. Os segmentos intestinais foram lavados por várias vezes com solução fisiológica de NaCl a 0,9% e evertidos com auxílio de uma pinça de Allis para exposição da túnica mucosa e introdução de um tubo de ensaio na luz intestinal. Um pino de aço inoxidável de 2,0mm de diâmetro foi curvado em uma de suas extremidades para formar uma alça descoladora do epitélio e lâmina própria, através de compressão e fricção sobre a túnica mucosa (Figura 1). O restante da túnica foi removido com compressas cirúrgicas umedecidas em solução fisiológica de NaCl a 0,9%. Os segmentos intestinais com o tubo de ensaio foram mantidos submersos em uma proveta contendo solução de polivinil pirrolidona-iodo^b e solução fisiológica de NaCl a 0,9% na proporção de 1:1, durante 30 minutos (EURIDES et al., 1998). Após esse período, foram irrigados por várias vezes com solução fisiológica de NaCl a 0,9%, guardados em recipientes de vidro previamente esterilizados contendo solução de glicerina a 98%^c. Os frascos foram mantidos em temperatura ambiente e o material acondicionado por um período de, no mínimo 30 dias (PIGOSSI, 1964).

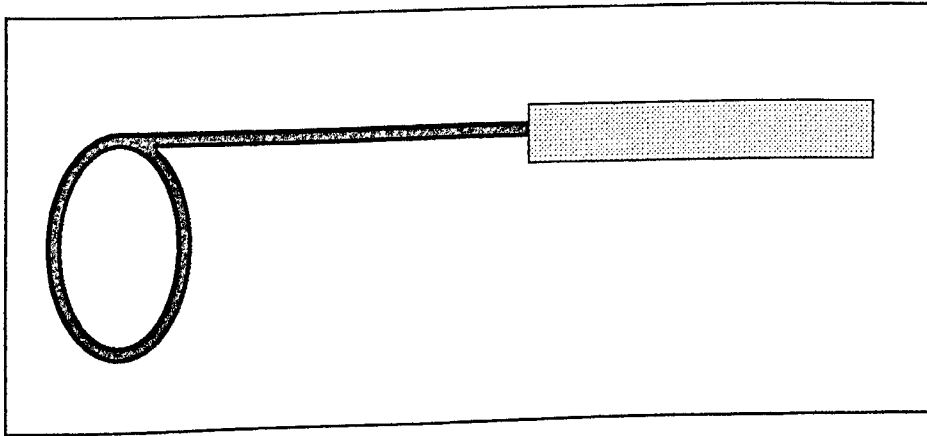


Figura 1. Representação esquemática do instrumento descolador do epitélio e da lâmina própria da túnica mucosa de segmento de jejuno de coelho.

Os coelhos foram submetidos a jejum alimentar de 12 horas, tricotomia dos membros pélvicos esquerdo e direito e antibióticoterapia profilática com administração de cefalotina sódica^d (30mg/Kg/pv, IM), 30 minutos antes do início da cirurgia. Praticou-se anestesia dissociativa com quetamina^e (25,0mg/kg/pv, IM) e xilazina^f (5,0mg/kg/pv, IM). Decorridos 10 minutos, realizou-se nos membros pélvicos esquerdo e direito, anestesia perineural dos nervos isquiádico e femoral com cloridrato de lidocaína com epinefrina^g (2,0mg/Kg/pv), de acordo com os métodos descritos por EURIDES & SILVA (1987) para cães e por SHIMIZU et al. (2000), para gatos.

Em todos os coelhos foi praticada uma incisão longitudinal de pele e subcutâneo de aproximadamente 4,0cm na face lateral esquerda do osso tibia, próximo ao tuber do calcâneo. O tendão calcâneo comum foi exposto e o terço médio do tendão do músculo gastrocnêmio do membro pélvico esquerdo seccionado transversalmente. A cerca de 0,4cm das extremidades do tendão, praticaram-se quatro pontos auxiliares, simples separados e equidistantes. Os cotos foram aproximados com uma sutura modificada de Kessler, utilizando-se agulha reta e mononáilon 5-0^h (Figura 2 - A e B).

O retalho intestinal preservado em glicerina a 98% foi irrigado por várias vezes com solução fisiológica de NaCl a 0,9% e hidratado durante 15 minutos. Um segmento de 2,0cm foi fixado ao tendão envolvendo suas extremidades com ponto simples contínuo e fio mononáilon 5-0 (Figura 2 - C). Os tecidos adjacentes foram aproximados com pontos simples separados utilizando-se fio categate 4-0ⁱ, e a pele com mononáilon 3-0. O tendão do músculo gastrocnêmio do membro pélvico direito foi

submetido ao mesmo procedimento cirúrgico, porém sem implantação do segmento intestinal.

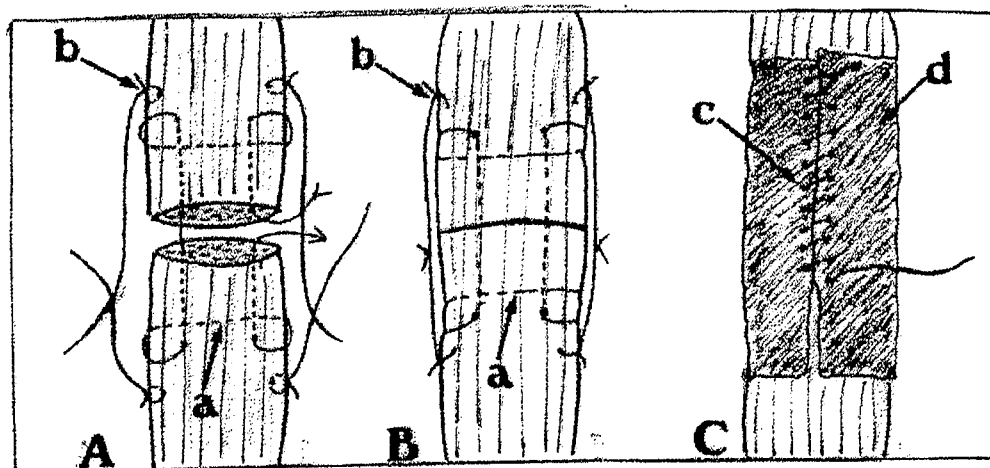


Figura 2. Representação esquemática da síntese e do enxerto do tendão do músculo gastrocnêmio de coelho. Em A e B observa-se a sutura modificada de Kessler (a) com os pontos auxiliares (b), e em C o enxerto de segmento de jejuno livre aplicado sobre a tenorrafia (d), com ponto simples contínuo (c).

Os coelhos foram mantidos em gaiolas individuais para restringir ao máximo seus movimentos. Diariamente foram realizadas avaliações da locomoção e postura dos membros pélvicos. A cada três dias as feridas de pele foram avaliadas e submetidas à limpeza com solução fisiológica de NaCl a 0,9% e polivinil pirrolidona-iodo, e o local envolvido com atadura de crepom¹, sendo ela, juntamente com os pontos de pele, removidos no 10º dia de PO.

Decorridos os períodos pré-determinados de pós-operatório, os animais foram sacrificados sobre anestesia barbitúrica, conforme recomenda o código de ética para uso de animais em pesquisas científicas (AVMA, 2001), mediante a injeção de KCL. O tendão do músculo gastrocnêmio esquerdo e direito de cada animal pertencente ao grupo de PO, foi removido para avaliações macroscópicas e coleta de fragmentos que foram fixados em formol a 10% e incluídos em parafina. Os cortes histológicos foram corados pela técnica hematoxilina-eosina (HE) e tricrômico de Gomori (TG) (MICHALANY, 1980). Ao exame histológico pesquisou-se a integração tecidual dos tendões.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A duração da anestesia dissociativa foi de aproximadamente 50 minutos, porém os coelhos só se locomoveram normalmente e mantiveram a postura natural da espécie, em média 45 minutos após o retorno da anestesia, fato que se deve ao efeito da anestesia perineural dos nervos isquiático e femoral, também observado por SHIMIZU et al. (2000) em gatos. A locomoção e a postura natural dos membros pélvicos observadas após o efeito anestésico já era esperada, pois no presente estudo empregou-se a secção de apenas um componente do tendão calcâneo comum. Tais observações coincidem com as de SILVA (2000), quando utilizou prótese de poliuretano de óleo de mamona como substituto de tendão do músculo gastrocnêmio de coelhos. Neste experimento, optou-se pela não imobilização da articulação tibio-társica para não alterar a postura natural dos animais (NYSTRON & HOLMLUND, 1983; SARTORI FILHO et al., 1997; SILVA, 2000).

Verificou-se no membro esquerdo e direito de todos os animais, discreto edema inflamatório no local da cirurgia até sete dias de PO (SILVA, 2000), sendo mais acentuado no membro esquerdo. Tal fato, possivelmente, foi resultante do trauma cirúrgico somado a reação inflamatória provocada pela presença do segmento intestinal homólogo conservado em glicerina. A bandagem aplicada nos membros até o 10º dia de PO, provavelmente, tenha evitado a formação de edema mais intenso.

No 15º dia de PO (GI), notou-se em todos os tendões operados, aumento de volume de aspecto pouco consistente no local da anastomose tendínea. O aumento foi maior em extensão e diâmetro nos tendões tratados devido à proliferação fibrosa intensa na área do implante (Figura 3 – A e B).

Na avaliação histológica dos tendões controles no 15º dia de PO, verificou-se pouca quantidade de tecido de granulação ao redor das extremidades tendinosas e entre elas. A vascularização foi escassa com pequeno número de células inflamatórias mononucleadas. No 30º dia de pós-operatório (GII), o tecido de granulação encontrava-se parcialmente substituído por tecido conjuntivo denso, com aumento da quantidade de fibras colágenas pouco organizadas sem sinais de inflamação, como foi referido por BADYLACK et al. (1995). Aos 60 (GIII) e 90 (GIV) dias de PO, observou-se evolução no processo de cicatrização com maior quantidade de feixes de tecido conjuntivo denso em relação aos períodos anteriores, unindo parcialmente os cotos dos tendões, resultados que expressam a seqüência normal da reparação de

tendões (GOODSHIP, 1993). Aos 30 dias, entretanto, um tendão (16,7%) não apresentou aumento na quantidade de fibras colágenas e aos 90 dias, um tendão (16,7%) mostrou-se com pouco tecido conjuntivo denso, entremeado por tecido adiposo unilocular entre as extremidades. As poucas fibras colágenas encontravam-se transversalmente ao eixo longitudinal do tendão. A sutura modificada de Kessler, associada aos pontos de reforço, pode ter sido aplicada sob tensão nestes tendões, prejudicando a formação de espaço adequado entre as extremidades, interferindo na cicatrização.

O maior desafio para o cirurgião na reparação de tendões é minimizar a formação de aderências e restaurar, tanto quanto possível, o deslizamento tendinoso (DONG & SHENG, 1988). BAYLACK et al. (1995) utilizaram implante de submucosa de intestino delgado de suínos em tendão calcâneo comum de cães, e não identificaram aderências do tendão aos tecidos adjacentes. Neste estudo, entretanto, verificou-se que todos os tendões operados foram dissecados dos tecidos adjacentes com dificuldade no 15º dia de PO. Aos 30 dias, a divulsão já denotava menor grau de aderência, tornando-se progressivamente menos consistente aos 60 e 90 dias de PO. Este comportamento deveu-se ao processo cicatricial de remodelação. À medida que o novo tendão sofre estresse pela sustentação do membro e pelo movimento articular devido ao exercício, as aderências diminuem e tornam-se maleáveis permitindo a função deslizante do tendão (RAISER et al., 2001). Apesar de a incisão de pele não ter sido feita diretamente sobre o tendão do músculo gastrocnêmio, a resposta fibroproliferativa local decorrente do trauma cirúrgico resultou em aderências na região operada, aparentemente semelhantes tanto nos tendões controles quanto nos tratados.

Em todos os tendões tratados e controles notou-se discreto afastamento das extremidades tendíneas no 15º dia de PO (Figura 3 - C), fato também verificado por NYSTRON & HOLMLUND (1983) e por SILVA (2000), porém nos primeiros dias após a cirurgia. Foi constatado por NYSTRON & HOLMLUND (1983) que, apesar da imobilização do membro pélvico de coelhos, ocorreu afastamento das extremidades do tendão calcâneo comum. O afastamento dos cotos tendinosos é indicativo de que a sutura foi apropriada e favoreceu a cicatrização dos tendões. A sutura modificada de Kessler e os pontos auxiliares de reforço aplicados nesta pesquisa, permitiram o afastamento das extremidades dos tendões controles e tratados, com exceção dos dois controles que apresentaram cicatrização tecidual prejudicada.

Neste experimento verificou-se ruptura do fio de sutura em um tendão controle aos 15, 60 e 90 dias (12,5%) e em um tendão tratado (2,4%) no 30º dia de PO. Observações semelhantes às de HSU et al. (1989), que utilizaram prótese biológica tratada com glutaraldeído como substituto de tendão calcâneo comum em coelhos. No entanto, SILVA (2000) não verificou ruptura do fio de sutura, apesar da não imobilização dos membros operados. A posição de flexão da articulação tíbio-társica típica dos coelhos é um fator que possivelmente promove tração do tendão calcâneo comum e conseqüente ruptura do fio de sutura verificado neste estudo. A fibroproliferação mais intensa observada nos tendões submetidos ao implante pode ter contribuído para minimizar a tensão sobre a anastomose e, assim, diminuir a porcentagem de ruptura do fio de sutura dos tendões tratados em relação aos controles. Segundo AUTEFAGE (1999), 44 dias após uma intervenção, a resistência de um tendão seccionado ainda é de apenas 56% de um tendão íntegro. No entanto, a proliferação conjuntiva observada ao redor dos enxertos e das anastomoses deve ter proporcionado boa resistência à tensão.

Aos 30, 60 e 90 dias de PO, as extremidades dos tendões controles mostravam-se coaptadas e alinhadas. Nos tendões que apresentaram ruptura do fio de sutura nestes períodos, não ocorreu alinhamento e sim sobreposição das extremidades, apesar de coaptadas. Nos tratados, todos apresentavam-se com suas extremidades coaptadas e alinhadas (Figura 3 - D). Provavelmente o segmento intestinal tenha contribuído para a manutenção da posição anatômica do tendão que teve ruptura do fio de sutura aos 30 dias de PO.

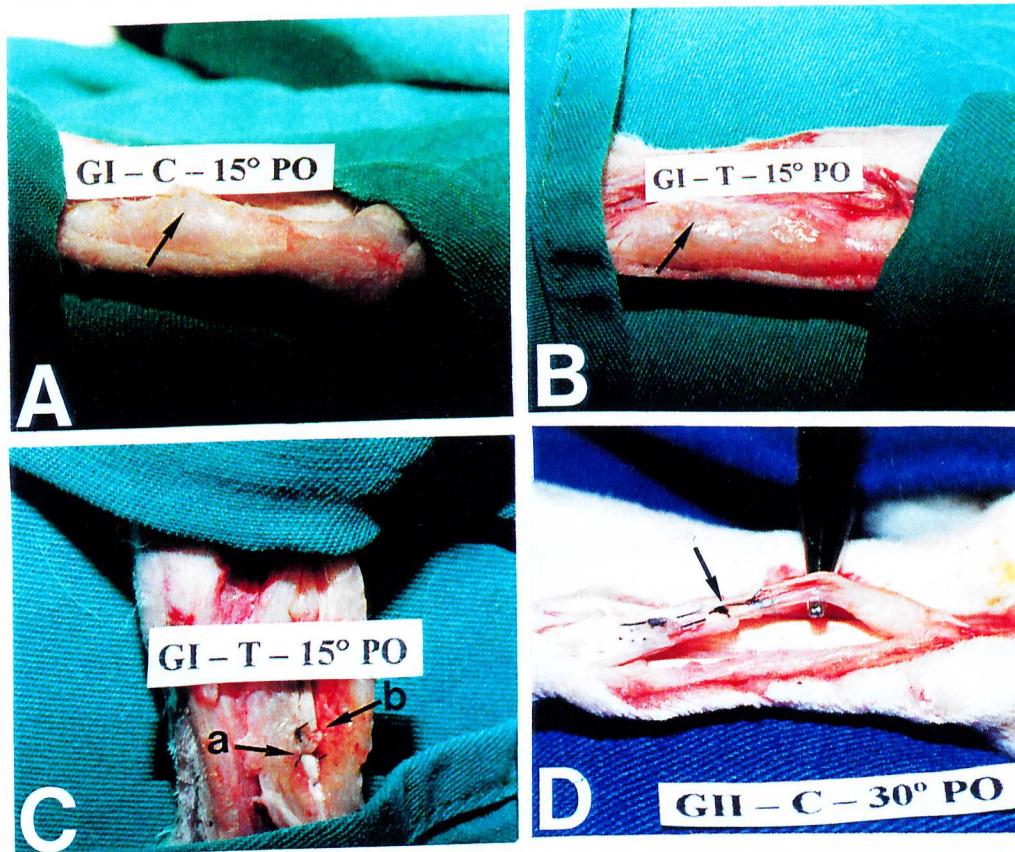


Figura 3. Aspecto macroscópico da reparação cicatricial do tendão do músculo gastrocnêmio de coelho. Nota-se em A e B com 15 dias de PO (GI), aumento de volume no local da tenorrhafia dos tendões controle e tratado (*setas*). Verifica-se maior aumento de volume no local da anastomose do tendão tratado, com coloração avermelhada. Em C, observa-se no tendão tratado afastamento dos cotos (*a*), e espessa camada de tecido de granulação (*b*), ainda aos 15 dias de PO. Em D com 30 dias (GII), nota-se alinhamento e coaptação das extremidades do tendão controle e sutura modificada de Kessler (*setas*).

Na avaliação histológica dos tendões tratados, verificou-se que o padrão de reação dos tecidos ao enxerto variou nos diferentes períodos de observação após a intervenção cirúrgica. Assim como descrito por GOODSHIP (1993) e SILVA (2000), pode-se notar que as reações teciduais seguiram a seqüência de eventos esperados em uma área de tendão em cicatrização.

Nos animais analisados aos 15 dias de PO, observou-se que no epitendão e entre as fibras de colágeno (endotendão) prevaleceu o fenômeno reparativo com angiogênese e proliferação de fibroblastos e macrófagos. Verificou-se pequena quantidade de tecido de granulação ao redor das extremidades dos tendões e entre elas, porém, com maior quantidade quando comparado com o dos tendões controles. O tecido de granulação mostrava tendência em se organizar em tecido conjuntivo denso modelado, processo de reparação semelhante ao observado por BADYLACK (1995) e por SILVA (2000). Provavelmente os fibroblastos, células iniciadoras do processo reparativo de tendões, migraram do epitendão ou da bainha tendinosa, proliferaram à partir do terceiro dia após a lesão tendinosa e produziram colágeno após sete dias. Verificou-se que o enxerto intestinal homólogo aplicado sobre a tenorrafia encontrava-se em processo de reabsorção avançada, observando-se intensa neovascularização e infiltrado inflamatório misto com grande presença de macrófagos adjacente ao enxerto e entre as fibras colágenas. Em dois tendões do grupo I (33,3%), verificaram-se poucas células gigantes multinucleadas (Figura 4 – A e B). Neste período, prevaleceu o estágio inflamatório da seqüência normal de reparação tecidual (GOODSHIP, 1993), e a reação foi mais acentuada ao redor do enxerto. A presença do segmento de jejuno homólogo estimulou proliferação fibrosa intensa, com formação de uma espessa camada de tecido de granulação pouco consistente, de coloração avermelhada aderida aos tendões, denotando na área do enxerto, maior aumento de volume em extensão e diâmetro, em relação ao dos tendões controles. Com a substituição do tecido de granulação em tecido conjuntivo denso modelado a partir do 15º dia de PO, a camada de tecido conjuntivo tornou-se gradativamente consistente e delgada.

Aos 30 dias após a cirurgia, o tecido de granulação apresentava-se parcialmente substituído por tecido conjuntivo denso modelado organizando-se no sentido das fibras tendinosas. O infiltrado celular inflamatório encontrava-se menos acentuado em relação aos 15 dias de PO e o enxerto totalmente reabsorvido. No entanto, o infiltrado foi mais intenso em relação ao dos tendões controles, devido à

presença do segmento intestinal que ocasionou maior proliferação de tecido de granulação e vascularização.

Nos tendões tratados aos 60 dias após a cirurgia, observou-se maturação do tecido conjuntivo com predomínio de fibras colágenas que se organizavam no sentido da linha de estresse (Figura 4 - C). A reação inflamatória resumiu-se em raros macrófagos, resultados semelhantes aos verificados por BADYLACK (1995) que utilizaram submucosa intestinal de suínos no reparo de tendões calcâneo comum de cães. Neste estudo, notou-se formação de tecido cicatricial em maior quantidade e intensidade, quando comparado com o dos tendões controles. Pelo fato de a reconstituição dos tendões ter ocorrido através de organização tissular e de organização longitudinal dos feixes de fibras colágenas ao longo da linha de estresse, supõe-se que o enxerto intestinal homólogo ocasionou reparação cicatricial eficiente e de maior intensidade em relação à dos tendões controles. A proliferação fibrosa ocorrida conferiu resistência suficiente para permitir deambulação normal, mesmo levando em consideração que a secção foi em apenas um componente do tendão calcâneo comum.

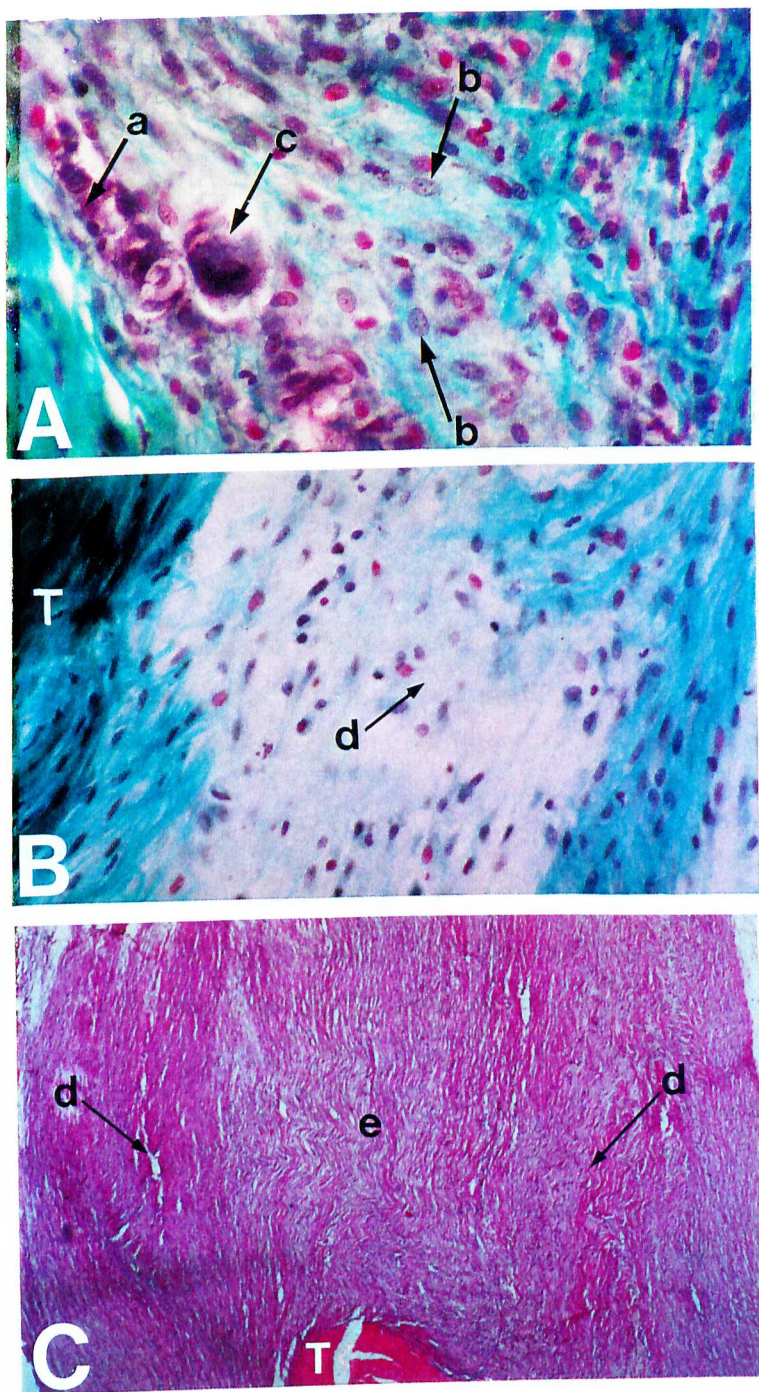


Figura 4. Aspecto histológico da reparação cicatricial do tendão do músculo gastrocnêmio de coelho. Nota-se em **A** com 15 dias de PO, o enxerto em processo de reabsorção avançada com resíduos de tecido muscular (**a**) e infiltrado inflamatório com presença de macrófagos (**b**) e célula gigante multinucleada (**c**), TG; 250x. Em **B** verifica-se tecido de granulação ao redor (**d**) das extremidades do tendão controle (**T**), TG; 200x. Observa-se em **C** com 60 dias de PO, tecido conjuntivo denso ao redor (**d**) e entre (**e**) as extremidades do tendão tratado (**T**) se organizando no sentido das fibras tendinosas, HE; 20x

Aos 90 dias de PO, observou-se nos tendões tratados, tecido cicatricial quase organizado no sentido das fibras tendinosas. Estes apresentavam tecido cicatricial em maior quantidade, mais maduro e mais organizado, quando comparados com o dos tendões controles (Figura 5 – A e B), sendo notado ao exame macroscópico o tendão com enxerto mais espesso que o controle (Figura 6 – A e B). O segmento de jejuno estimulou intensa proliferação fibrosa no local do implante, que pode ter resultado em maior ganho de resistência do que uma simples anastomose. Recomenda-se, entretanto, efetuarem-se testes de tração comparando a resistência de tendões gastrocnêmios reparados apenas com pontos de sutura, com os que receberam enxerto de segmento intestinal livre conservado em glicerina a 98%.

Os fenômenos envolvidos no processo de integração dos enxertos estão diretamente relacionados ao grau de imunogenicidade dos mesmos (PIGOSSI, 1964). Apesar de não terem sido avaliados os aspectos imunológicos do tecido implantado, os resultados histológicos do presente estudo são semelhantes aos obtidos no reparo de tendões de cães com enxertos homogêneos e xenogêneos conservados em glicerina, como dura-mater (PIGOSSI, 1964), tendão (RAISER et al., 2001), pericárdio (CIPOLA et al., 1978) e peritônio (COSTA NETO & DALECK, 1999), e em tendões de coelhos com centro frênico xenógeno (SARTORI FILHO et al., 1997). Os autores não verificaram alterações teciduais que demonstrassem processos inflamatórios anormais ou sinais consistentes de rejeição. Segundo PIGOSSI (1964), estas observações podem estar relacionadas à capacidade da glicerina em diminuir a imunogenicidade dos tecidos e, de acordo com MOTA et al. (2000), em preservar as ultraestruturas celulares do segmento de jejuno desprovido de epitélio e lâmina própria da túnica mucosa. Isto nos permite admitir que o enxerto intestinal livre homólogo, aliado ao meio de conservação, pode ser estudado como biomaterial para aplicações em cirurgias reparadoras.

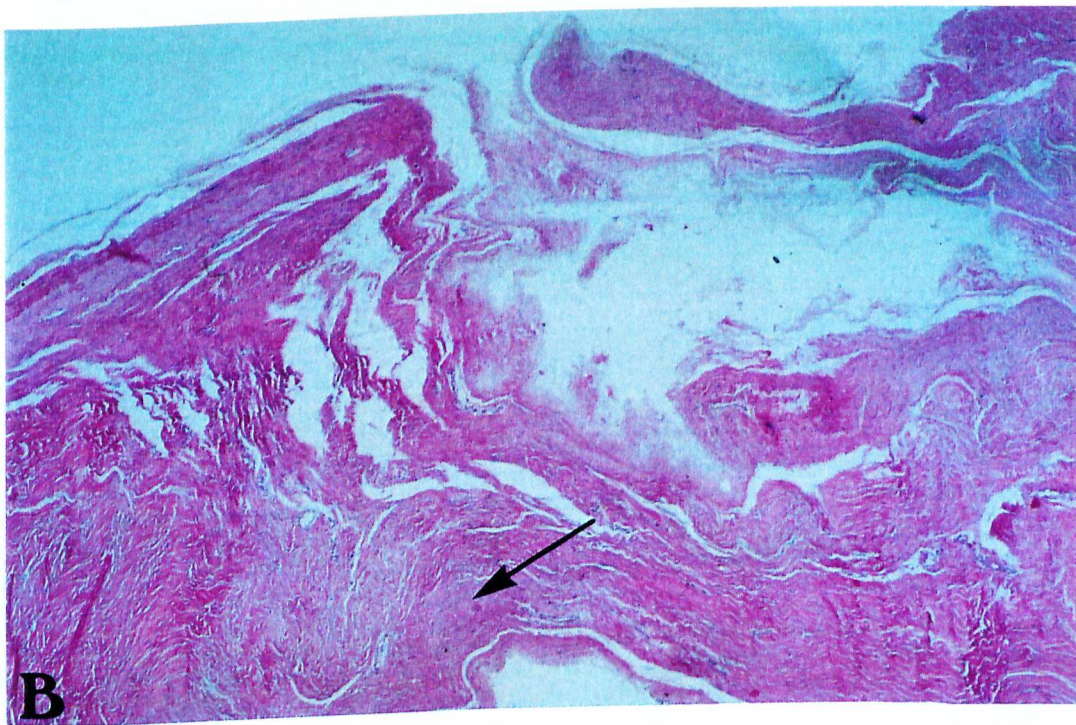
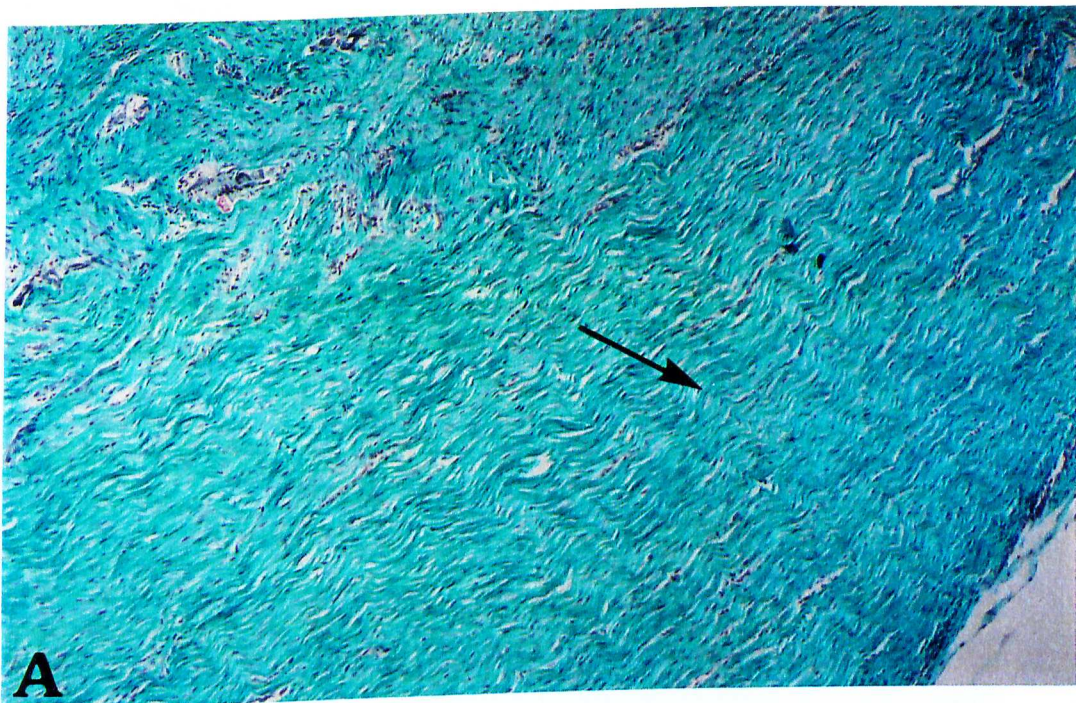


Figura 5. Aspecto histológico da reparação tecidual do tendão do músculo gatrocnêmio de coelho no 90^o dia de PO. Nota-se em **A** tecido cicatricial com fibras colágenas quase organizadas no sentido longitudinal do tendão tratado (*seta*), TG; 40x. Em **B** verifica-se feixes de tecido conjuntivo denso, unindo parcialmente os cotos do tendão controle (*seta*), HE; 20x.

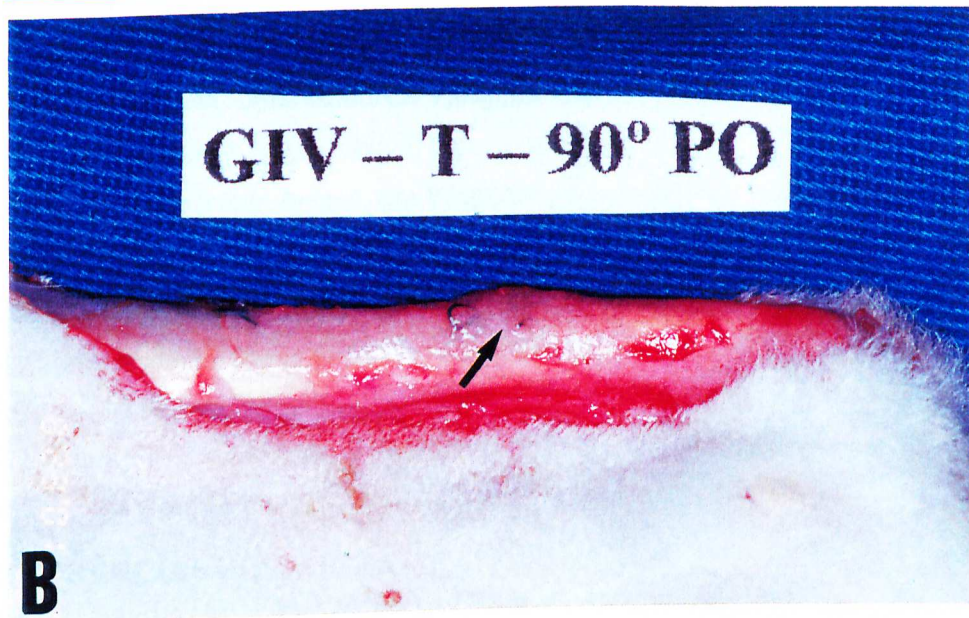
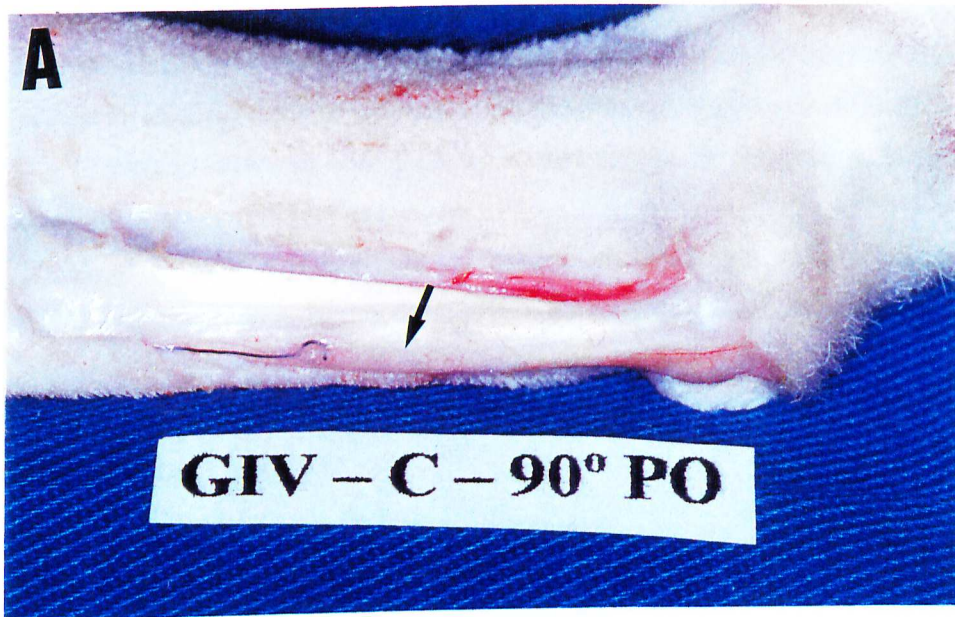


Figura 6. Aspecto macroscópico da reparação tecidual do tendão do músculo gastrocnêmio de coelho no 90º dia de PO. Nota-se em **A** discreto aumento de volume no local da tenorrafia do tendão controle (**seta**). Em **B** observa-se delgada camada de tecido conjuntivo de coloração avermelhada que envolve o tendão (**seta**). Pode-se verificar que o tendão tratado apresentava-se mais espesso que o controle.

CONCLUSÕES

O segmento de jejuno livre, desprovido de epitélio e lâmina própria da túnica mucosa, homólogo e conservado em glicerina a 98%, estimula proliferação fibrosa intensa no local do implante em tendões dos músculos gastrocnêmios de coelhos;

O enxerto intestinal homólogo, após conservação em glicerina a 98% não ocasiona sinais consistentes de rejeição;

A obtenção e a conservação do enxerto intestinal são de fácil execução, podendo ser indicado na reparação do tendão do músculo gastrocnêmio de coelhos.

MATERIAIS DA PESQUISA

- a. Ração Boa cria, coelhos. Socil. Descalvado, SP.
- b. Povidine tintura. Ceras Johnson. Rio de Janeiro, RJ.
- c. Glicolabor. Ribeirão Preto, SP.
- d. Cefalotina Sódica. Teuto Brasileiro. Anápolis, GO.
- e. Vetaset. Fort Dodge Saúde Animal. Campinas, SP.
- f. Rompun. Bayer Saúde Animal. São Paulo, SP.
- g. Anestésico L Pearson. Pearson Saúde Animal. Rio de Janeiro, RJ.
- h. Nailon monofilamento preto. Brasmédica. São Paulo, SP.
- i. Categute cromado. Farma Brasileira. Anápolis, GO.
- j. Cremer. Blumenau, SC.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION. Report of the AVMA Panel on euthanasia. *J. Am. Med. Vet. Assoc.*, v. 218, n. 5, p. 669-2001.

ARON, D.N. A "New" tendon stich. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, v. 17, n. 4, p. 587-591, 1981.

ARON, D.N. Tendões, técnicas de reparo de tendões. In: BOJRAB, M. J. **Técnicas atuais em cirurgia de pequenos animais**. 3. ed. São Paulo: Roca, 1996. Cap. 40. p. 516-527.

AUTEFAGE, A. La cicatrizzazione dei tendini e dei ligamenti. **Summa**, Itália, v. 16, n. 1, p. 29-34, 1999.

BADYLAK, S.F. Small intestinal submucosa (SIS): a biomaterial conducive to smart tissue remodeling. Cambridge: Burkhauser, 1993. p. 179-189. **Tissue Engineering: Current perspectives**. Cambridge: Burkhauser, 1993. v. 1. Cap. 2. p. 179-189.

BADYLAK, S.F., TULLIUS, R., KOKINI, K., et al. The use of xenogeneic small intestinal submucosa as a biomaterial for Aquille's tendon repair in a dog model. **J. Biomed. Mater. Res.**, v. 29, n. 8, p. 977-985, 1995.

BERG, R.J., EGGER, E.L. In vitro comparison of the three loop pulley and locking loop suture patterns for repair of canine weightbearing tendons and collateral ligaments. **Vet. Surg.**, v. 15, n. 1, p. 107-110, 1986.

BLOOMBERG, M. Músculos e tendões. In: SLLATER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1998. v. 2. Cap. 146. p. 2351-2378.

BRADEN, T.D. Musculotendinous rupture of the Achilles apparatus and repair using internal fixation only. **Vn-Sac. Vet. Med. Small Anim. Clin.**, v. 69, n. 6, p. 729-735, 1974.

BRADEN, T.D. Fascia lata transplant for repair of chronic Aquilles tendon defects. **J. Am. Anim. Hosp. Assoc.**, v. 12, n. 6, p. 800-805, 1976.

BREE, H.V. Avulsion of the insertion of the gastrocnemius tendon in tree dogs. **Compend. Cont. Educ.**, v. 4, n. 8, p. 639-645, 1982.

CIPOLA, W.W.V., HOLZCHUH, M.P., BORELLI, V., et al. Reparo do tendão de Aquiles em cães com pericárdio heterólogo, conservado em glicerina. In:

CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 16, Salvador
Anais ... Salvador: , 1978. p. 60.

COSTA NETO, J.M., DALECK, C.R. Artrodese temporária da articulação tíbio-társica com parafuso de aço inoxidável auto-atarraxante como suporte para tenoplastia do cacâneo em cães. **Vet. Not.**, v. 5, n. 1, p. 19-24, 1999.

COSTA NETO, J.M., DALECK, C.R., VICENTI, F.A.M., et al. Ligamento nugal de bovino conservado em glicerina a 98%, como biomaterial para enxerto. **Ciê n Anim.**, Goiânia, n. 1, v. 1, p. 98, out. 2000. IV Congresso Brasileiro de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária. Goiânia, 2000.

CRAWFORD, W.H., INGLE, J.E. Repair of a deep digital tendon deficit in a horse using a polypropylene implant. **Can. Vet. J.**, v. 38, n. 5, p. 294-296, 1997.

DONG, D.-Y., SHENG, Z.-Y. Experimental permanent artificial tendon for the hand. **J. Biomed. Eng.**, v. 10, n. 5, p. 406-410, 1988.

EURIDES, D., MAZZANTI, A., BELETTI, M.E., et al. Remoção do epitélio e lâmina própria da túnica mucosa de um segmento intestinal livre de cães. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIRURGIA E ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA, 3, 1998, Belo Horizonte. **Anais ...** Belo Horizonte: CBCAV, 1998. p. 95.

OK EURIDES, D., SILVA, F.O.C. Anestesia do membro pélvico de cão. Estudo experimental. **Arq. Flum. Med. Vet.**, v. 1, n. 2, p. 19-23, 1987.

FREITAS, P.M.C., EURIDES, D., BELETTI, M.E., et al. Reparo de esôfago cervical de cães com implante de segmento intestinal livre, desprovido de epitélio e da lâmina própria da túnica mucosa. **Ciê n Anim.**, Goiânia, n. 1, v. 1, p. 112, out. 2000. IV Congresso Brasileiro de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária. Goiânia, 2000.

GREENWALD, D.P., RANDOLPH, M.A., HONG, H., et al. Augmented Becker versus modified Kessler tenorrhaphy in monkeys: dynamic mechanical analysis. **J. Hand. Surg.**, v. 20, n. 2, p. 267-272, 1995.

GOODSHIP, A. E. The pathophysiology of flexor tendon injury in the horse. **Equine Vet. J.**, v. 5, n. 1, p. 23-29, 1993.

GOODSHIP, A.E., WILCOCK, S.A., SHAH, J.S. The development of tissue around various prosthetic implants used as replacements for ligaments and tendons. **Clin. Orthopaed Rel. Res.**, n. 196, p. 61-68, 1985.

HANN, J. J., GORING, L.R., REMBERG, C., et al. Modified transarticular external skeletal fixation for support of Achilles tenorrhaphy in four dogs. **Vet. Camp. Orthop. Traumatol**, v. 8, n. 1, p. 32-35, 1995.

HSU, S.Y.C., CHENG, J.C.Y., CHONG, et al. Glutaraldehyde-treated bioprosthetic substitute for rabbit Aquilles tendon. **Biomaterials**, v. 10, n. 4, p. 258-264, 1989.

KETCHUM, L.D. Suture materials and suture techniques used in tendon repair. **Hand. Clin.**, v. 1, n. 1, p. 43-53, 1985.

LANDVATER, S.J., RENSTROM, P.A.F. Complete Achilles tendon ruptures. **Clin. Sports Med.**, v. 11, n. 4, p. 741-758, 1992.

LEMAIRE, M. Reinforcement of tendons and ligaments with carbon fibers. Four years, 1500 cases. **Clin. Orthopaed Rel. Res.**, n. 196, p. 169-174, 1985.

MICHALANY, J. **Técnica histológica em anatomia patológica**. São Paulo: E.P.U., 1980, p.277.

MOTA, F.C.D., EURIDES, D., BELETTI, M.E, et al. Segmento intestinal de cão livre e desprovido de epitélio e lâmina própria da túnica mucosa preservado em diferentes meios de conservação. **Ciêñ Anim.**, Goiânia, n. 1, v. 1, p.180, out. 2000. IV Congresso Brasileiro de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária. Goiânia, 2000.

NIXON, A. J., STASHAK, S., SMITH, F. W., et. al. Comparison of carbon fibre and nylon suture for repair of transected flexor tendons in the horse. *Equine Vet. J.*, v. 16, n. 2, p. 93-102, 1984.

NYSTRON, B., HOLMLUND, D. Experimental evaluation of immobilization in operative and non-operative treatment of Achilles tendon. A radiographic study in the rabbit. *Acta Chir. Scand.*, v. 149, n. 7, p. 669-673, 1983.

PARK, J.B., LAKES, R.S. **Tissue response to implants. Biomaterials, an introduction.** 2. ed. New York and London: Plenum Press, 1992.

PIGOSSI, N. **Implantação de dura-mater homóloga conservada em glicerina. Estudo experimental em cães.** 1964. 37f. Tese (Doutorado em Cirurgia) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo.

RAISER, A.G., PIPPI, N.L., ZINN, L.L., et al. Aloimplante ortotópico de tendão calcâneo comum conservado em glicerina a 98% em cães. Influência da imobilização e da radiação laser arseneto de gálio. *Vet. Not.* v. 7, n. 1, p. 21-31, 2001.

REINKE, D.J. Achilles mechanism injury in the dog. *Compend. Cont. Educ.*, v. 4, n. 8, p. 639-645, 1982.

SARTORI FILLHO, R., GANDOLF, W., BANDARRA, E.P. Emprego de membrana biológica (centro frênico) na reparação das lesões tendíneas em coelhos. *Vet. Zoot.*, v. 9, n. 1, p. 69-77, 1997.

SHIMIZU, B. J., EURIDES, D., MOTA, F.C.D., et al. Anestesia dos nervos isquiáticos e femoral na introdução de parafuso no terço médio da tíbia de gatos. *Ciênc. Anim.*, Goiânia, n. 1, v. 1, p. 209, out. 2000. IV Congresso Brasileiro de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária. Goiânia, 2000.

SILVA, M.C. **Poliuretano de óleo de mamona como substituto de tendão. Estudo experimental em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*)**. 2000. 48f. Tese (Doutorado em Ciência Animal, Patologia e Ciências Clínicas) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

TAURO, J.C., PARSONS, J.R., RICCI, J., et al. Comparison of bovine collagen xenografts to autografts in the rabbit. *Clin. Orthopaedics Related Res.*, v. 2, n. 266, p. 271-284, 1991.

NORMAS ADOTADAS

EURIDES, D. **Normas técnicas para elaboração de projetos e publicações técnico-científicas**. Uberlândia: Gráfica Universitária/UFU, 2001. 99p.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE. **Nômina Anatômica Veterinária**. New York: Ithaca, 1994. 56p.

FU-00013615-1