

Uso da membrana amniótica como cobertura da cavidade abdominal na reconstrução da parede com tela de polipropileno em ratos

Use of the amniotic membrane to cover the peritoneal cavity in the reconstruction of the abdominal wall with polypropylene mesh in rats

RAFAEL CALVÃO BARBUTO¹; IVANA DUVAL DE ARAUJO¹; DANIEL DE OLIVEIRA BONOMI²; LUCIENE SIMÕES DE ASSIS TAFURI³; ANTÔNIO CALVÃO NETO³; RODRIGO MALINOWSKI³; VINÍCIUS SILVEIRA DOS SANTOS BARDIN³; MATEUS DUARTE LEITE⁴; IAN GÖEDERT LEITE DUARTE⁵

RESUMO

Objetivo: avaliar a eficácia da membrana amniótica usada com tela de polipropileno contra a formação de aderências e sua influência na cicatrização. **Métodos:** vinte e cinco ratos Wistar foram anestesiadas para criação de um defeito parietal na parede abdominal anterior. Sua correção foi feita com tela de polipropileno isolada e associada à membrana amniótica. No grupo Controle (n=11), a tela foi inserida isoladamente intra-abdominal. No grupo A (n=7), interpôs-se a membrana amniótica entre a tela e a parede abdominal. No grupo B, a membrana amniótica foi colocada sobre a tela, recobrimo-a. Após sete dias, os animais foram eutanasiados para avaliação macroscópica e microscópica da cicatrização. **Resultados:** aderências foram observadas em todos os animais, exceto em um do grupo Controle. Inflamação acentuada foi observada em todos os animais dos grupos A e B e em três do grupo Controle, com diferença significativa entre eles (A e B com p=0,01). Acentuada atividade angiogênica foi notada em um animal do grupo Controle, seis do grupo A e quatro do grupo B, com diferença significativa entre o grupo Controle e os grupos A (p=0,002) e B (p=0,05). O colágeno cicatricial foi predominantemente maduro, exceto em cinco animais do grupo Controle, com diferença significativa entre o grupo Controle e os grupos A (p=0,05) e B (p=0,05). **Conclusão:** a presença da membrana amniótica não alterou a formação de aderências na primeira semana de pós-operatório. Associou-se à inflamação acentuada, elevada atividade angiogênica e predomínio de fibras colágenas maduras, independente do plano anatômico em que foi inserida.

Descritores: Aderências Teciduais. Membrana Amniótica. Parede Abdominal. Ratos. Colágeno.

INTRODUÇÃO

A hérnia incisional é uma afecção comum. Lima¹, descreveu que Kozoll e McVay registraram incidência de hérnia incisional em 5,7% das laparotomias realizadas em hospitais privados e 11,1% em hospitais públicos.

Atualmente o tratamento das hérnias incisionais, bem como, a correção dos defeitos da parede abdominal com perda de tecido aponeurótico, têm sido feita com o uso de tela de polipropileno. A prótese de polipropileno pode ser inserida tanto na posição supra-aponeurótica, quanto infra-aponeurótica, sendo que, nessa última opção, pode ser alocada na região pré-peritoneal ou intra-abdominal.

Trabalhos têm demonstrado que a melhor posição para a colocação da prótese de polipropileno é na posição subaponeurótica pré-peritoneal. Porém, em muitas situações, como nas hérnias incisionais gigantes ou naquelas multirredicivadas, nas grandes ressecções de parede,

como no caso dos tumores, ou nas perdas de grande quantidade de tecido da parede, como nos traumas, não é possível realizar a cobertura da prótese com o peritônio. Nestes casos, a tela de polipropileno é colocada em contato direto com os órgãos e tecidos intra-abdominais, propiciando o aparecimento de aderências e consequentemente obstrução intestinal, ou mesmo de fístulas. Muitos artificiais técnicos, além de materiais biológicos e sintéticos, como cobertura da cavidade abdominal com omento, pericárdio bovino, prótese com componente orgânico e inorgânico, entre outros, têm sido utilizados para minimizar essas alterações, porém sem um resultado ideal.

Ultimamente alguns autores têm sugerido o uso da membrana amniótica no reparo de defeitos teciduais. Desde a primeira metade do século passado, alguns pesquisadores vêm estudando a utilização da membrana amniótica na reconstituição de lesões de tecidos, principalmente da pele, conforme preconizado por Fontenla², Davis, em 1910, comunicou a intenção de injetar fragmentos do

1. Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da UFMG (FM/UFMG) (ACBC); 2. Instituto Mário Penna-BH; 3. Faculdade de Ciências Médicas da Universidade José do Rosário Vellano (Unifenas/BH); 4. Faculdade de Medicina do Centro Universitário de Belo Horizonte (UNIBH); 5. STK Núcleo de Cirurgia Plástica, Belo Horizonte, MG.

saco amniótico com a finalidade de favorecer a granulação de ferida aberta, e, posteriormente, em tecidos do olho³. Ainda em Fontenla *et al*² e del Campo *et al*⁴, é descrito que, em 1995, Kim e Tseng reintroduziram o uso de membrana amniótica no tratamento de lesões oculares, sendo a oftalmologia, a especialidade onde mais se pesquisa a utilização da membrana amniótica na atualidade. Existem outros trabalhos sobre sua aplicação em queimaduras^{5,6}, úlceras varicosas^{5,7}, reconstrução de neovaginas^{5,8}, de bexiga urinária^{5,9}, lesões nervosas^{5,10}, feridas bucais^{5,11}, controle de aderências e cicatrização precoce em lesões peritonias^{5,12}, entre outras.

O estudo da aplicabilidade clínica da membrana amniótica tem importância crescente por sua baixa antigenicidade, ação antimicrobica, capacidade de diminuir o exsudado e aderências, acelerar a epitelização, reduzir a dor local, agir como substrato para o crescimento de tecidos, entre várias outras ações⁵.

Baseado nos dados da literatura é possível imaginar que, por apresentar propriedades que favorecem a reestruturação das porções danificadas dos tecidos, a membrana amniótica poderia ser utilizada como cobertura biológica da cavidade abdominal nas reconstruções da parede abdominal com uso de prótese de polipropileno, representando uma opção alternativa nos casos onde não há peritônio viável. Sua ação em fases distintas do processo cicatricial (inflamação, proliferação e maturação) poderia trazer efeitos benéficos, como a diminuição de aderências e reconstituição do peritônio¹³.

Este estudo, objetivou avaliar a eficácia do uso da membrana amniótica associada à tela de polipropileno, e sua influência na formação de aderências e no processo de cicatrização.

MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS) sob o número 25A/2008 e desenvolvido de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal.

Utilizou-se 25 ratos Wistar, fêmeas, com peso médio de 400g e cerca de seis meses de idade. Os animais foram oriundos do Biotério Central da Universidade Federal de Minas Gerais e foram mantidos no Biotério da Universidade José do Rosário Vellano, Campus Boaventura, Belo Horizonte. Durante todo o estudo os animais foram submetidos a condições naturais em gaiolas próprias com, no máximo, cinco por gaiola e receberam ração padrão e água à vontade.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos: Grupo Controle (n=11): animais com defeito na parede abdominal, corrigidos com tela de polipropileno na posição intra-abdominal. Grupo A (n=7): animais com defeito na parede abdominal, corrigidos com

tela de polipropileno na posição intra-abdominal e membrana amniótica interposta entre a prótese e a parede abdominal. Grupo B (n=7): animais com defeito na parede abdominal, corrigidos com tela de polipropileno na posição intra-abdominal e membrana amniótica sobre ela, recobrando-a.

O preparo da membrana amniótica⁵ ocorreu no Laboratório de Pesquisa Experimental da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (FM/UFMG). Foi obtida de uma coelha, adulta, proveniente da Escola de Veterinária da UFMG. A coelha foi submetida à interrupção da prenhez cirurgicamente e, de cada cria, foi coletada a placenta juntamente com as membranas fetais. As membranas amnióticas foram isoladas das demais membranas fetais e colocadas em bandeja metálica estéril contendo solução salina a 0,9% em quantidade suficiente para encobri-las, com o objetivo de lavar o tecido, removendo os coágulos. Essa solução foi trocada por seis vezes, até que a membrana se apresentasse limpa. Após a lavagem as membranas amnióticas foram imersas em frasco de Becker contendo 500ml de solução salina tamponada (SST), pH 7,2, contendo cloreto de sódio 0,15M/mL e fosfato de potássio 6,5mM/mL (Tampão PBS® - Laborclin Ltda., Pinhais, Brasil) por 40 minutos. Depois disso, cada membrana foi cuidadosamente estendida sobre papel de nitrocelulose esterilizado (Hybond - ECL®, Amersham Pharmacia Biotech, Buckinghamshire, Inglaterra) com poros de 0,2 microns de espessura e dimensões de 20cm x 20cm. A face estromal da membrana foi colocada em contato com o papel de nitrocelulose e, em seguida, o excesso de papel foi recortado, formando faixas de 10cm x 8cm, que foram estocadas em recipientes plásticos estéreis. Esse material foi completamente imerso em solução de glicerol a 98% e mantido sob refrigeração a 8°C até a data de sua utilização, o que ocorreu duas semanas após o seu preparo e conservação.

A criação dos defeitos na parede abdominal foi realizada com técnica limpa, porém não asséptica. Os animais foram anestesiados com injeção intraperitoneal de solução de cloridrato de quetamina (50mg/Kg) e cloridrato de xilazina (8mg/Kg). Após a anestesia realizou-se a diérese da pele e tecido celular subcutâneo e criou-se um defeito na parede abdominal na região do mesogástrio, através da ressecção de fragmento de 1,0cm de diâmetro da camada musculoponeurótica e do peritônio parietal¹³.

O defeito abdominal foi corrigido utilizando-se prótese de polipropileno de aproximadamente 2,7cm x 4,0cm (Tela de Márlex, CR BARD, Salt Lake City, UT). No grupo Controle a prótese foi inserida na posição intra-abdominal, abrangendo todo o defeito parietal, com seu maior eixo no sentido longitudinal, sendo suturada à parede abdominal com pontos simples com fio de poliglactina 5-0 nos quatro vértices da prótese. As alças intestinais foram protegidas com uma cobertura de omento, na tentativa de minimizar o contato com a prótese. Posteriormente realizou-se a síntese da pele e tecido celular subcutâneo com

sutura contínua e fio de catgut cromado 2-0 e, por fim, antisepsia da ferida operatória com solução aquosa de polivinilpirrolidona-iodo (PVPI) a 10%. Nos demais grupos, a técnica operatória para o tratamento do defeito foi semelhante, sendo que, no grupo A, interpôs-se uma camada de membrana amniótica entre a prótese e a parede abdominal e no grupo B, a camada de membrana amniótica foi afixada recobrimdo a prótese, criando uma cobertura na superfície abdominal da mesma (Figura 1).

Nas primeiras 12 horas de pós-operatório os animais foram alimentados com solução glicosada oral a 20% e, a partir daí, água e ração padrão para roedores à vontade. Para analgesia, todos os animais receberam injeção de cloridrato de nalbufina 3mg/kg/dia (12/12 horas) nas primeiras 48 horas de pós-operatório. A primeira dose foi feita no per-operatório devido ao efeito anestésico sinérgico.

A avaliação macroscópica ocorreu após sete dias da correção do defeito da parede abdominal. Os animais foram novamente anestesiados e submetidos à laparotomia em forma de "U", ao redor dos limites laterais e inferior da prótese. Em seguida realizou-se o inventário da cavidade peritoneal com o intuito de se observar a presença de fístulas, abscessos e aderências entre a prótese e o conteúdo abdominal. As aderências, quando presentes, foram classificadas de acordo com a força aplicada para se desprender das estruturas aderidas nos seguintes graus: Grau I (frouxas) – desprendendo facilmente à manipulação; Grau II (firmes) – desprendendo facilmente à tração das estruturas; e Grau III (muito firmes) – não desprendendo facilmente à tração das estruturas. Os resultados observados foram anotados em protocolo próprio para posterior avaliação estatística.

Foram coletados fragmentos de biópsia abrangendo toda a espessura da parede abdominal e da prótese de polipropileno que estava em contato direto (grupo Con-

trole), além de tecido amniótico, no caso dos animais em que se implantou a membrana (grupos A e B). Ao término das biópsias, os animais, ainda sob o efeito anestésico, foram eutanasiados por exsanguinação por meio da secção da aorta abdominal, no sétimo dia¹⁴.

As peças cirúrgicas conservadas em formol a 10% foram incluídas em parafina, submetidos a cortes histológicos de 4,0mm de espessura, montados em lâminas de vidro e corados pela técnica da hematoxilina-eosina. Os cortes de tecido foram incluídos na lâmina de modo a se observar todas as camadas da parede abdominal, além da tela de polipropileno e da membrana amniótica (no caso dos grupos A e B). As lâminas foram analisadas em aumento de 40x, por um único patologista, que desconhecia os grupos de estudo, para se avaliar os seguintes parâmetros: - Reação inflamatória – analisada a presença ou ausência de atividade inflamatória e, na vigência de inflamação, esta foi classificada em leve, moderada ou acentuada; - Tipo de infiltrado inflamatório predominante – os campos foram avaliados no intuito de classificar o infiltrado inflamatório em agudo ou crônico de acordo com o tipo celular predominante: polimorfonucleares, mononucleares ou mistos; - Alterações de granulação – foram pesquisadas a presença de células inflamatórias gigantes comuns nos processos inflamatórios exacerbados estimulados por substâncias ou agentes alérgenos (reação tipo corpo estranho); - Angiogênese – foi analisada a presença de neovascularização e, quando presente, classificada em leve, moderada ou acentuada, de acordo com a atividade e quantidade de angioblastos e demais células associadas à angiogênese; - Proporção macrófagos/fibroblastos – foi analisado o predomínio de macrófagos ou fibroblastos no tecido cicatricial, através da contagem dessas células; - Proporção fibras colágenas – foi analisado o tipo de fibra colágena (imatura ou madura) predominantemente depo-

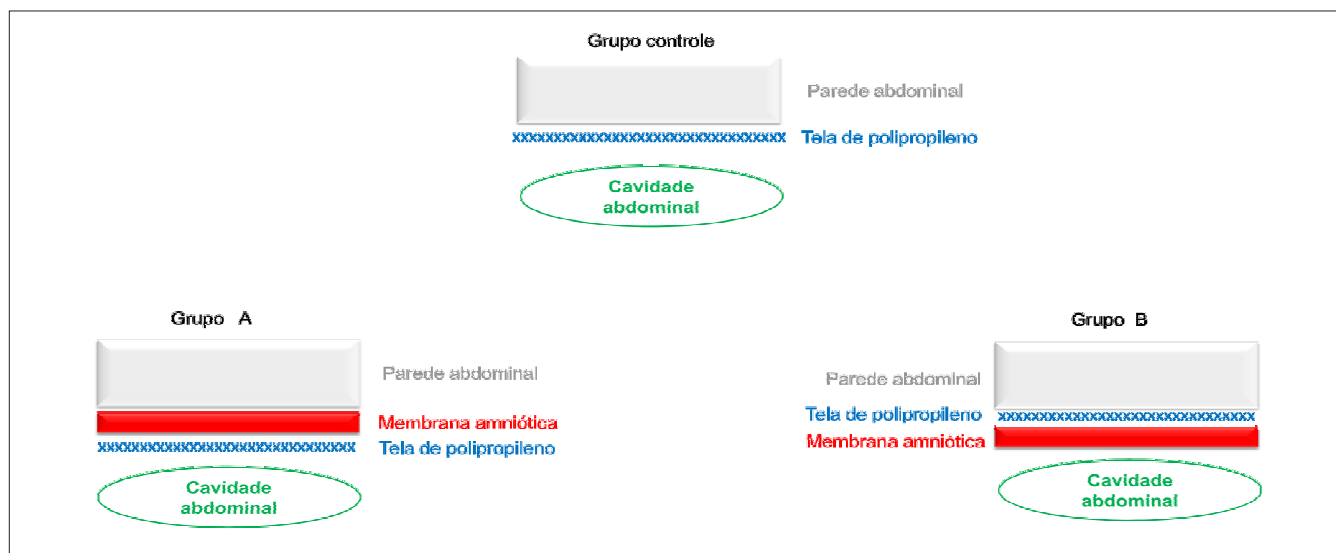


Figura 1 - Desenho esquemático demonstrando a posição de fixação da prótese de polipropileno, bem como, a posição de inserção da membrana amniótica nos grupos estudados, em relação à parede e à cavidade abdominal

sitada na matriz cicatricial. Todos os resultados foram anotados em protocolos próprios para posterior avaliação estatística.

Ao término da coleta de material de biopsia da parede abdominal, os animais, ainda sob o efeito anestésico, foram mortos por exsanguinação através da secção da aorta abdominal, no sétimo dia¹⁴.

Os dados coletados foram analisados, sendo consideradas significativas as diferenças para $p < 0,05$. As variáveis quantitativas foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis e as variáveis qualitativas pelo teste de Fischer.

RESULTADOS

Nenhum animal teve abscesso intra-abdominal. A maioria dos animais apresentou aderências entre a prótese de polipropileno e o omento e, mais raramente, com alças intestinais, com exceção de um animal do grupo Controle. Não houve diferença significativa quando os grupos foram comparados. Da mesma forma, também não houve diferença entre os grupos quando comparados os graus das aderências formadas (Tabela 1).

Observou-se inflamação em todos os animais, exceto em um animal do grupo Controle. A intensidade do processo inflamatório foi acentuada em todos os animais dos grupos A e B, apresentando diferença quando comparados ao grupo Controle, ambos com $p = 0,01$ (Figura 2).

Houve predomínio de infiltrado mononuclear sobre o infiltrado polimorfonuclear ou misto, porém sem diferença quando cada tipo de infiltrado celular foi comparado entre os grupos. A angiogênese esteve presente em todos os animais, sendo classificada como acentuada predominantemente nos grupos A e B, com diferença significativa quando comparados com o grupo Controle, com $p = 0,002$ e $p = 0,05$, respectivamente (Figura 2).

Observou-se um predomínio de fibroblastos sobre os macrófagos em todos dos grupos, sendo mais intenso nos grupos A e B; porém sem diferença estatística quando comparado à quantidade de fibroblastos de cada grupo entre si. O colágeno depositado na área de cicatrização foi

formado predominantemente por fibras maduras, com exceção de cinco animais do grupo Controle, onde prevaleceram as fibras colágenas imaturas. Houve diferença estatística no predomínio de fibras colágenas imaturas no grupo Controle em relação aos grupos A ($p = 0,05$) e B ($p = 0,05$), respectivamente (Tabela 2, Figura 3).

DISCUSSÃO

O uso da tela de polipropileno nos mais variados defeitos da parede abdominal é frequente¹. Em nosso país, com grandes dificuldades financeiras para sustentabilidade da saúde pública, a busca por novas alternativas terapêuticas coadjuvantes ou isoladas é muito importante. A membrana amniótica obtida a partir da placenta¹⁴ é um tecido rico em células pluripotentes. Ela pode ser utilizada na forma fresca, logo após seu processamento, ou na forma conservada, e preservada em solução de estoque. Na forma

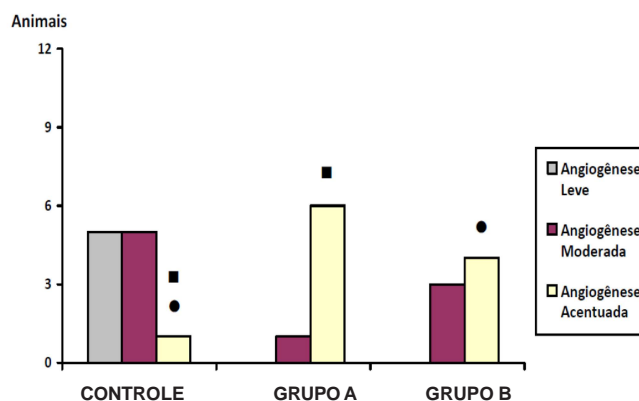


Figura 2 - Ratos Wistar com atividade de angiogênese de intensidade leve, moderada ou acentuada na região cicatricial de defeitos de paredes abdominais corrigidos com uso de tela de polipropileno (Controle) associada à membrana amniótica na região superficial (A) ou profunda (B) da prótese.

■ $p = 0,002$ ● $p = 0,05$

Tabela 1 - Avaliação dos parâmetros macroscópicos da cavidade abdominal de ratos após tratamento de defeito herniário com uso de prótese de polipropileno, com ou sem a utilização de membrana amniótica.

Parâmetro estudado	Grupo						Valor de p
	Controle (n=11)		Estudo A (n=07)		Estudo B (n=07)		
	N	%	N	%	N	%	
Aderências	10	91	07	100	07	100	ns
Aderências Grau I	03	27,3	03	43,0	05	71,5	ns
Aderências Grau II	06	54,6	02	28,5	02	28,5	ns
Aderências Grau III	01	9,1	02	28,5	0	0	ns
Abscessos	0	0	0	0	0	0	ns

fresca, as células pluripotentes se multiplicam rapidamente formando tecido semelhante àqueles ao seu redor, porém há o inconveniente do curto tempo para sua utilização, já que se deteriora rapidamente.

A conservação da membrana amniótica em solução estoque aumenta seu tempo de utilização, porém, alguns estudos relatam a perda de parte do tecido celular vivo^{15,16}, ficando presente no material conservado células e fatores de crescimento suficientes para possivelmente estimular a cicatrização e acelerar o processo de reparação tecidual^{15,16}.

Em geral, as aderências decorrem de algum dano tecidual, ainda na primeira semana após a lesão^{17,18}. O tempo de cicatrização ou término desta proliferação celular é dependente da extensão da lesão e este processo cicatricial leva à migração de fibroblastos, macrófagos e células gigantes. Os fibroblastos promovem o depósito inicial de fibrina e colágeno¹⁸. Quanto maior a agressão tecidual, maior o depósito de colágeno e fibrina, dificultando a fibrinólise peritoneal e aumentando a capacidade adesiva da linha de cicatrização, evoluindo para a formação de aderências^{17,18}.

Neste estudo utilizou-se a membrana amniótica preservada e o tempo de observação foi uma semana após a lesão tecidual inicial. A presença da membrana amniótica não modificou a formação de aderências entre a tela de

polipropileno e o conteúdo peritoneal. Isso pode ter ocorrido devido ao curto espaço de tempo de observação. Apesar do estímulo à cicatrização e formação de tecido de cobertura da tela de polipropileno inserida, provavelmente não houve tempo suficiente para esse tecido se organizar,

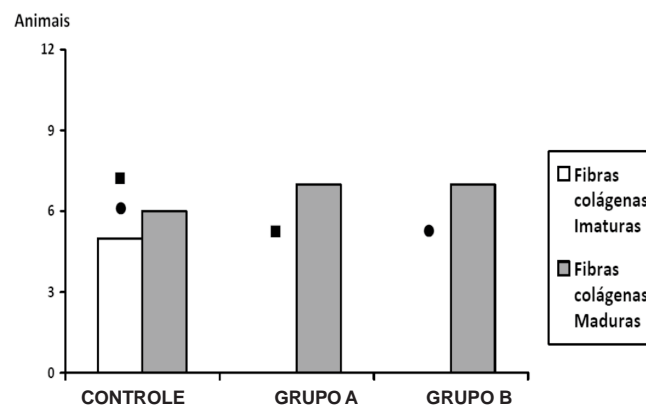


Figura 3 - Ratos Wistar com predomínio de fibras colágenas imaturas ou maduras em região cicatricial de defeitos de paredes abdominais corrigidos com uso de tela de polipropileno (Controle) associada à membrana amniótica na região superficial (A) ou profunda (B) da prótese. ■ $p = 0,05$ ● $p = 0,05$.

Tabela 2 - Avaliação dos parâmetros microscópicos da parede abdominal de ratos submetidos a tratamento de defeito abdominal com uso de tela de polipropileno associado ou não à membrana amniótica.

Parâmetro estudado		Grupo						Valor de p
		Controle (n=11)		Estudo A (n=07)		Estudo B (n=07)		
		N	%	N	%	N	%	
Grau de inflamação*	Leve	0	0	0	0	0	0	a=0,01 b=0,01
	Moderada	07	63,6	0	0	0	0	
	Acentuada	03 ^{a,b}	27,3	07 ^a	100	07 ^b	100	
Tipo de infiltrado inflamatório	PMN	0	0	0	0	0	0	ns
	Mono	09	81,8	07	100	06	85,7	
	Misto	02	18,2	0	0	01	14,3	
Atividade de angiogênese	Leve	05	45,4	0	0	0	0	c=0,002 d=0,05
	Moderada	05	45,4	01	14,3	03	42,9	
	Acentuada	01 ^{e,f}	9,2	06 ^c	85,7	04 ^d	57,1	
Proporção fibro/macro**	Fibroblasto	07	63,6	07	100	07	100	ns
	Macrófago	04	46,4	0	0	0	0	
Fibras colágenas	Imaturas	05 ^{e,f}	54,6	0 ^e	0	0 ^f	0	e=0,05
	Maduras	06	45,4	07	100	07	100	f=0,05

* Em um animal do grupo Controle, a intensidade de inflamação não foi classificada.

** Fibro/Macro – relação Fibroblastos/Macrófagos.

permitindo, assim, a adesão da prótese aos tecidos intra-abdominais.

A angiogênese ocorreu de forma significativa nos animais onde a membrana amniótica foi inserida, demonstrando a provável presença de substâncias pró-inflamatórias na membrana conservada. Além disso, a membrana amniótica alterou o tipo de fibra colágena encontrado no processo de reparação.

Foi observado o predomínio de fibras colágenas maduras em todos os animais em que a membrana foi implantada, o que não ocorreu nos outros animais. Isso demonstra que a presença da mem-

brana acelera o processo de cicatrização com formação de tecido de reparação maduro, já na fase precoce de reparação tecidual.

A agregação da membrana amniótica à tela de polipropileno no tratamento de defeitos da parede abdominal de ratos Wistar não alterou a formação de aderências após a primeira semana de operação. No entanto, a membrana amniótica associou-se a uma inflamação acentuada e aumentou a atividade de angiogênese e o predomínio de fibras colágenas maduras, independentemente do plano anatômico em que ela foi inserida, acelerando a cicatrização.

A B S T R A C T

Objective: To evaluate the efficacy of the amniotic membrane used with polypropylene mesh against the formation of adhesions and its influence on healing. **Methods:** 25 female Wistar rats were anesthetized for creating a parietal defect in the anterior abdominal wall. Its correction was made with polypropylene mesh alone and associated with amniotic membrane. In the control group (n=11), the screen was inserted alone. In group A (n=7) we interposed the amniotic membrane between the screen and the abdominal wall. In group B, the amniotic membrane was placed on the mesh, covering it. After seven days, the animals were euthanized for macroscopic and microscopic evaluation of healing. **Results:** Adhesions were observed in all animals except one in the control group. Severe inflammation was observed in all animals in groups A and B and in three of the control group, with significant difference between them (A and B with $p = 0.01$). Pronounced angiogenic activity was noted in one animal in the control group, six in group A and four in group B, with a significant difference between the control group and group A ($p = 0.002$) and group B ($p = 0.05$). The scar collagen was predominantly mature, except in five animals of the control group, with significant difference between the control group and group A ($p = 0.05$) and group B ($p = 0.05$). **Conclusion:** The amniotic membrane did not alter the formation of adhesions in the first postoperative week. There were also pronounced inflammation, high angiogenic activity and predominance of mature collagen fibers, regardless of the anatomical plane that it was inserted in.

Key words: Tissue Adhesions. Amnion. Abdominal Wall. Rats. Collagen.

REFERÊNCIAS

- Lima JM. Tratamento cirúrgico das hérnias incisionais: experiência pessoal usando a malha de polipropileno monofilamentar-márlax. Rev Col Bras Cir. 2002;29(2):78-82.
- Fontenla JR, Vázquez X, Díaz D, Gatell J, Pita D. Membrana amniótica. Características, efectos y aplicaciones em oftalmología. Jano. 2003;64(1465):53-68.
- Meller D, Pauklin M, Thomasen H, Westkemper H, Steuhl KP. Amniotic membrane transplantation in the human eye. Dtsch Arzteb Int. 2011;108(14):243-8.
- del Campo Z, Gris O. Aplicaciones de la membrana amniótica en patología ocular. Annals d'Oftalmologia. 2002;10(3):128-41.
- Duarte IGL, Durval-Araújo I. Amniotic membrane as a biological dressing in infected wound healing in rabbits. Acta Cir Bras. 2014;29(5):334-9.
- Singh R, Chacharkar MP. Dried gamma-irradiated amniotic membrane as dressing in burn wound care. J Tissue Viability. 2011;20(2):49-54.
- Singh R, Chouhan US, Purohit S, Gupta P, Kumar P, Kumar A, et al. Radiation processed amniotic membranes in the treatment of non-healing ulcers of different etiologies. Cell Tissue Bank. 2004;5(2):129-34.
- Carvalho BR, Reis RM, Moura MD, Lara LAS, Nogueira AA, Ferriani RA. Neovaginoplastia com membrana amniótica na síndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser. Rev Bras Ginecol Obstet. 2007;29(12):619-24.
- Fishman IJ, Flores FN, Scott FB, Spjut HJ, Morrow B. Use of fresh placental membranes for bladder reconstruction. J Urol. 1987;138(5):1291-4.
- Hasegawa M, Fujisawa H, Hayashi Y, Yamashita J. Autologous amnion graft for repair of myelomeningocele: technical note and clinical implication. J Clin Neurosci. 2004;11(4):408-11.
- Kesting MR, Loeffelbein DJ, Classen M, Slotta-Huspenina J, Hasler RJ, Jacobsen F, et al. Repair of oronasal fistulas with human amniotic membrane in minipigs. Br J Oral Maxillofac Surg. 2010;48(2):131-5.
- Ozeren S, Corakci A, Erik A, Yücesoy G, Yücesoy I, Karabacak O. The effects of human membrane and fibrin sealant in the prevention of postoperative adhesion formation in the rabbit ovary model. Aust N Z J Obstet Gynaecol. 1998;38(2):207-9.
- Tsuis S, Ellis H. Healing of abdominal incisional hernia in infant rats. Br J Surg. 1991;78(8):927-9.
- Kesting MR, Wolff KD, Mücke T, Demtroeder C, Kreutzer K, Schulte M, et al. A bioartificial surgical patch from multilayered human amniotic membrane-In vivo investigations in a rat model. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2009;90(2):930-8.
- Paggiaro AO, Mathor MB, Carvalho VF, Polo E, Alessi MS, Herson MR, et al. Estabelecimento de protocolo de glicerolização de membranas amnióticas para uso como curativo biológico. Rev Bras Queimaduras. 2010;9(1):2-6.
- Hennerbichler S, Reichl B, Pleiner D, Gabriel C, Eibl J, Redl H. The influence of various storage conditions on cells viability in amniotic membrane. Cell Tissue Bank. 2007;8(1):1-8.
- Palma MLM, Foz Filho RPP. Aderências intra-abdominais em equinos. Rev Educ Contin CRMV-SP. 2005;8(2):123-34.

18. Diogo-Filho A, Lazarini BCM, Vieira-Junior F, Silva GJ, Gomes HL. Avaliação das aderências pós-opertórias em ratos submetidos à peritoniotomia com tela de polipropileno associada à nitrofurazona. *Arq Gastroenterol.* 2004;41(4):245-9.

Endereço para correspondência:

Ian Goedert Leite Duarte
E-mail: iangduarte@gmail.com

Recebido em 28/02/2014

Aceito para publicação em 02/05/2014

Conflito de interesse: nenhum.

Fonte de financiamento: FAPEMIG.