

AVALIAÇÃO ANATOMOPATOLÓGICA DE RINS, FÍGADO E BAÇO DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A IMPLANTE DE PERICÁRDIO BOVINO CONSERVADO EM GLICERINA E GLUTARALDEÍDO EM FERIDA CIRÚRGICA DE PAREDE ABDOMINAL*

HISTOPATHOLOGICAL EVALUATION OF KIDNEYS, LIVER AND SPLEEN OF MICE UNDERGOING REPAIR OF SURGICAL WOUND IN THE ABDOMINAL WALL WITH BOVINE PERICARDIUM PRESERVED WITH GLYCERIN AND GLUTARALDEHYDE

Caroline Rodrigues Pereira Martins¹, Marta Fernanda Albuquerque da Silva², Vivian de Assunção Nogueira³, Juliana da Silva Prado⁴ e Marilene de Farias Brito³

ABSTRACT. Martins C.R.P., Silva M.F.A., Nogueira V.A., Prado J.S & Brito M.F. [Histopathological evaluation of kidneys, liver and spleen of mice undergoing repair of surgical wound in the abdominal wall with bovine pericardium preserved with glycerin and glutaraldehyde]. Avaliação anatomopatológica de rins, fígado e baço de camundongos submetidos a implante de pericárdio bovino conservado em glicerina e glutaraldeído em ferida cirúrgica de parede abdominal. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 33(2):103-110, 2011. Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, BR-465 km 7, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 23890-000, Brasil. E-mail: carolinemedvet@yahoo.com.br

The use of bovine pericardium as a biological membrane is widespread in surgical repair because of the low cost, good applicability and it is easily obtained. Glycerin 98% is the chemical agent most used as a biological tissue preservative in veterinary medicine, but studies have shown it is ineffective in eliminating viruses. Glutaraldehyde is a biological tissue preservative. However, the persistence of rabies virus in samples of mice pericardium preserved in 0.625% glutaraldehyde was proven, and probably higher concentrations are required for virucidal action. This study aims to evaluate macro- and microscopically kidney, liver and spleen of 65 mice, 60 of which underwent implantation of bovine pericardium preserved in glycerin 98% and 0.625%, 1% and 1.5% glutaraldehyde, and 5 mice served as controls. The implanted animals were assessed as to their macro and microscopic features of spleen, liver and kidneys. There were no macro or microscopic changes that could be related to the toxicity of these substances.

KEY WORDS. Bioprosthesis, glutaral, glycerol.

RESUMO. O emprego de pericárdio bovino como membrana biológica é bastante difundido em técnicas de reparos cirúrgicos devido à facilidade de aquisição,

baixo custo e boa aplicabilidade. A glicerina 98% é o agente químico mais utilizado como conservante de tecidos biológicos em medicina veterinária, porém estu-

* Recebido em 14 de dezembro de 2010.

Aceito para publicação em 23 de março de 2011.

¹ Médica-veterinária, Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (CPGMV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Rodovia BR 465, Km 7, Seropédica, 23890-000, RJ, Brasil. E-mail: carolinemedvet@yahoo.com.br

² Médica-veterinária, *Dr. CsVs*, Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, UFRRJ. BR 465, Km 7, Seropédica, 23890-000, RJ, Brasil. E-mail: mfas@ufrj.br

³ Médica-veterinária, *Dr. CsVs*, Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, Instituto de Veterinária, UFRRJ. BR 465, Km 7, Seropédica, 23890-000, RJ, Brasil. E-mail: vivianmedvet@yahoo.com.br, marilene@ufrj.br

⁴ Médica-veterinária, MMV, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (CPGCV), UFRRJ. BR 465, Km 7, Seropédica, 23890-000, RJ, Brasil. Bolsista CNPq. E-mail: julianapradomedvet@gmail.com

dos comprovam sua ineficácia na eliminação viral. O glutaraldeído é um conservante de tecidos biológicos. Entretanto, a persistência do vírus rábico em amostras de pericárdio de camundongos conservadas em glutaraldeído 0,625% foi comprovada, sendo, provavelmente, necessárias concentrações mais altas para ação virucida. Este estudo teve como objetivo avaliar, macro e microscopicamente, rins, fígado e baço de 65 camundongos, dos quais 60 foram submetidos a implante de pericárdio bovino conservado em glicerina 98% e glutaraldeído a 0,625%, 1% e 1,5%; 5 camundongos serviram como controle. Não foram evidenciadas alterações macro ou microscópicas que pudessem estar relacionadas à toxicidade destas substâncias.

PALAVRAS-CHAVE: Bioprótese, glutaraldeído, glicerol.

INTRODUÇÃO

A utilização de membranas biológicas para correção de defeitos anatômicos é uma técnica comumente praticada em medicina. Elas podem ter origem heteróloga (quando o doador e o receptor são de espécies diferentes), homóloga (quando doador e receptor são da mesma espécie) e autóloga (quando o tecido doado provém do próprio receptor).

O pericárdio bovino é uma membrana bastante difundida em técnicas de implante devido à facilidade de aquisição, baixo custo e boa aplicabilidade; porém a melhor forma de tratamento e conservação ainda não foi padronizada.

O agente químico mais utilizado como conservante de membranas biológicas na prática veterinária em nosso país é a glicerina 98%, por apresentar baixo custo e praticidade de aplicação; porém esse produto só oferece relativa biossegurança contra fungos e bactérias, fato que pode permitir a veiculação de agentes virais no uso de enxertos homólogos ou heterólogos de origem animal.

O glutaraldeído tem sido utilizado no tratamento e conservação de materiais de uso médico, como por exemplo, na conservação de tecidos biológicos, para reparo em paredes de cavidades e de órgãos ocos, em reconstrução vascular e valvular, dentre outros. Esta substância possui potente ação contra bactérias, fungos e vírus pela alquilação de grupos sulfidríla, hidroxila, carboxila e amina, alterando o DNA, RNA e a síntese de proteínas desses microrganismos.

As concentrações de glutaraldeído mais difundidas são de 0,5% e 0,625% e são consideradas esterilizantes e não nocivas à incorporação do implante biológico, salvo em casos de tecidos infectados com vírus rábico, em que a concentração de 0,625% não inativa o vírus (Trani et al. 2008)⁵.

É importante padronizar uma concentração desta substância que consiga associar seus efeitos bactericida, fungicida, esporicida e virucida a uma baixa ou nula toxicidade ao tecido do receptor, sem repercussões sistêmicas.

A avaliação da integridade estrutural e funcional de fígado, baço e rins de camundongos com pericárdio conservado pré-implantado é importante para se determinar a toxicidade do glutaraldeído e fornecer maior confiabilidade com relação à indicação de sua utilização. O presente trabalho teve por objetivo avaliar se a glicerina a 98% e concentrações de glutaraldeído de 0,625%, 1% e 1,5% são capazes de promover lesões macroscópicas ou histológicas em fígado, baço e rins de camundongos.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção e Limpeza das Membranas Biológicas

Os pericárdios foram obtidos de bovinos abatidos em matadouro do município de Três Rios, RJ, e submetidos à fiscalização do Departamento de Inspeção Federal do Ministério da Agricultura e Departamento de Vigilância Sanitária da Secretaria de Saúde Estadual. O material foi transportado em recipiente térmico com gelo, em temperatura de aproximadamente 10°C. Foi realizada a limpeza manual da membrana pericárdica e retirada da gordura para que o seu tratamento e conservação fossem iniciados.

Preparação das soluções de Glutaraldeído e Glicerina

As soluções foram preparadas no laboratório do Departamento de Clínica e Cirurgia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Uma solução PBS (Phosphate-Buffered Saline), composta por fosfato monopotássico, fosfato dissódico, cloreto de sódio e água destilada, foi utilizada para tamponamento das soluções de glicerina P.A. (Pro-Analysis) bidestilada 98%⁶ e de glutaraldeído 25%⁷ em água. A solução de glutaraldeído foi diluída em água destilada até chegar-se às concentrações de 0,625%, 1% e 1,5% e tamponada com solução PBS até chegar-se a um pH de 7,4, assim como a glicerina 98% (Trani et al. 2008).

Tratamento e Conservação dos Pericárdios Bovinos

Os pericárdios foram fracionados em partes, com áreas de aproximadamente 9cm² e colocados em frascos coletores estéreis comerciais; cada frasco, contendo volume aproximado de 50mL das soluções de

⁵ Trani et al. Eficácia das soluções de glicerina 98% e glutaraldeído 0,625% na desinfecção de pericárdio de camundongos (*Mus musculus*) experimentalmente inoculados com vírus da raiva. Dados não publicados.

⁶ Apresentação Comercial: Glicerina 98% P.A. bidestilada Proquimios.

⁷ Apresentação Comercial: Solução de glutaraldeído 25% em água Proquimios.

Tabela 1. Avaliação macroscópica de rins de camundongos (*Mus musculus*) submetidos a implantes de pericárdio bovino.

Grupo	Alterações					Pontos esbranquiçados e/ou escuros	Sem alteração
	Leve, moderado ou difusamente amarelado	Levemente amarelado com focos e/ou pontos escuros	Moderadamente amarelado e pontos vermelho	Difusamente amarelado com focos e/ou pontos marrom escuros			
Grupo I	-	-	-	-	-	-	5
Grupo IIa	5	-	-	-	-	-	-
Grupo IIb	3	-	-	2	-	-	-
Grupo IIc	1	-	1	-	-	2	1
Grupo IIIa	3	1	-	-	-	1	-
Grupo IIIb	4	-	-	1	-	-	-
Grupo IIIc	4	-	-	-	-	-	1
Grupo IVa	-	-	-	1	-	2	2
Grupo IVb	1	2	-	-	-	1	1
Grupo IVc	2	2	-	-	-	-	1
Grupo Va	2	1	-	1	-	1	-
Grupo Vb	4	1	-	-	-	-	-
Grupo Vc	2	1	1	1	-	-	-

glicerina a 98% e glutaraldeído a 0,625%, 1% e 1,5%, recebeu três fragmentos de pericárdio. Parte dos fragmentos foi conservada em solução de glicerina 98% durante 30 dias e a outra parte dos fragmentos pericárdicos recebeu tratamento com a solução de glutaraldeído por 18 dias, nas concentrações de 0,625%, 1% e 1,5%. Os frascos foram armazenados em temperatura ambiente e protegidos da luz.

Animais

Foram utilizados 65 camundongos com pesos entre 20 e 30g, procedentes do Biotério do Laboratório de Coccidioses do Departamento de Parasitologia, IV/UFRRJ. Os animais foram mantidos em caixas de aço inoxidável individuais, em sala com refrigeração adequada, alimentados com ração e água à vontade.

Foram formados: um grupo controle (composto por 5 animais); um grupo para receber o pericárdio bovino conservado em glicerina 98% subdividido em 3 subgrupos (5 animais em cada subgrupo) correspondentes ao tempo para abate (7, 14 e 30 dias) e 3 grupos para as diferentes concentrações de glutaraldeído (0,625, 1% e 1,5%), sendo cada grupo subdividido em 3 subgrupos (5 animais em cada subgrupo) correspondentes ao tempo para abate (7, 14 e 30 dias), conforme descrito na Tabela 1.

Procedimentos Cirúrgicos

Os fragmentos de pericárdios foram retirados dos frascos, com cuidados de assepsia, e lavados com solução salina estéril para a retirada do excesso da solução conservante presente na superfície das membranas (Pinto et al. 1993). Foram feitas três lavagens nos fragmentos tratados com glicerina e oito lavagens nos fragmentos em glutaraldeído (Pinto et al. 1993, Haddad Filho et al. 2004). Para cada lavagem eram utilizados

10mL de solução salina em frasco estéril, e na última lavagem permaneciam por 30 minutos.

Os camundongos encontravam-se em jejum de 12 horas para a realização do procedimento cirúrgico, foram pré-anestesiados, via intraperitoneal, com diazepam⁸ (5mg.kg⁻¹) (Paiva et al. 2005) e anestesiados com xilazina⁹ (15mg.kg⁻¹) e quetaminag¹⁰ (150mg.kg⁻¹), via intraperitoneal. Em seguida foram tricotomizados e receberam, para controle de dor, cloridrato de tramadol¹¹ (7mg.kg⁻¹) por via subcutânea e 0,05mL de antibiótico¹² (composto associado de benzilpenicilina benzatina 1.200.000 U.I, benzilpenicilina procaína 600.000 U.I., benzilpenicilina potássica 600.000 U.I, diidroestreptomicina base 500mg, estreptomicina base 500mg em 6mL) por via intramuscular (Plunkett, 2006) e realizou-se a antisepsia do local com álcool iodado a 0,5%.

A região abdominolateral esquerda foi escolhida para implantação do fragmento de pericárdio. Os animais foram posicionados em decúbito lateral direito com membros relaxados, foi realizada incisão de 1,5 cm na pele (Figura 1) no sentido dorsoventral, paralelamente entre a última costela e a articulação fêmur-tíbio-patelar. Em sequência, seccionou-se um retalho de musculatura abdominal com auxílio de um molde quadrado de poli-propileno com 0,5 cm em cada lado e reparos com fios de nylon nos vértices do recorte. Devido à indefinição dos limites de cada músculo abdominal, o fragmento muscular retirado em cada camundongo abrangia o músculo oblíquo externo, além do músculo oblíquo interno e do músculo transverso abdominal (Figura 2).

⁸Apresentação Comercial: Compaz 5mg/mL, Cristália

⁹Apresentação Comercial: Ansedan 2%, Vetbrands.

¹⁰Apresentação Comercial: Ketamina 10%, Agener.

¹¹Apresentação Comercial: Dorless 100mg/2mL, União Química.

¹²Apresentação Comercial: Pentabiótico, FortDodge.

¹³Apresentação Comercial: Fita Micropore 3M (25mm x 1,34m).

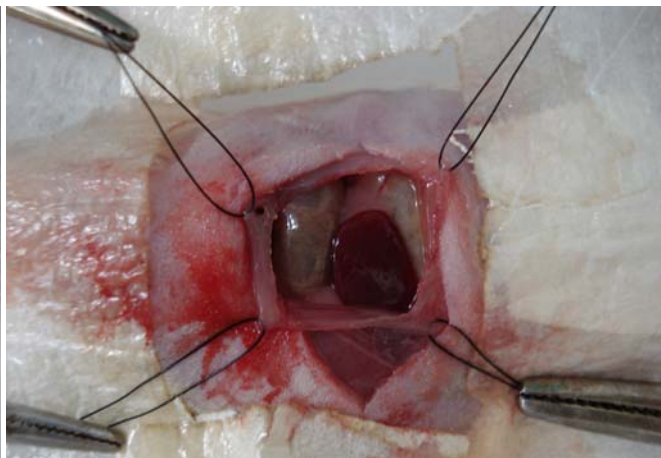


Figura 1. Suturas das bordas do fragmento de pericárdio bovino na cavidade abdominal do camundongo.

Figura 2. Pontos de reparo delimitando as bordas da área na musculatura abdominal lateral de camundongo, após incisão e retirada de fragmento muscular para implantação de fragmento de pericárdio bovino conservado.

Figura 3. Suturas das bordas do fragmento de pericárdio bovino na cavidade abdominal de camundongo

Um fragmento quadrado de pericárdio da parede abdominal, com 1cm em cada lado, foi implantado então no mesmo local de retirada do retalho, através de sutura descontínua simples com fio de nylon 5.0 (Figura 3) e posterior refiação cutânea com sutura descontínua simples e fio de nylon 5.0.

Cada animal, no pós-operatório, recebeu analgésico (cloridrato de tramadol - 7mg/kg) por via subcutânea e mais duas doses do mesmo antibiótico do pré-operatório via intramuscular, sendo cada uma administrada com um intervalo de 48 horas, e nenhuma administração de anti-inflamatório foi realizada. As feridas foram recobertas com curativo de esparadrapo hipoalergênico¹³.

Eutanásia, Coleta e Análise Macro e Microscópica das Amostras Teciduais de Rins, Fígado e Baço

O abate dos camundongos seguiu as normas preconizadas pelo COBEA (lei nº 6338 de maio de 1979) e foi realizado nos períodos pós-operatórios correspondentes a 7, 14 e 30 dias (Protocolo Nº 23083.003790/2009-54).

Os fármacos utilizados para abate foram aplicados via intraperitoneal (quetamina/450mg.kg⁻¹/ e xilazina/45mg.kg⁻¹) (Paiva et al. 2005).

Fígados, baços e rins foram avaliados quanto ao aspecto macroscópico e logo após foram fixados em formol a 10% tamponado.

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Histopatologia do Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública do Instituto de Veterinária/UFRRJ. Após fixação, o material foi processado como de rotina para exame histopatológico e avaliado em microscopia ótica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A implantação dos fragmentos na parede abdominal dos camundongos não apresentou dificuldade de execução, tampouco complicações pós-operatórias como deiscências de suturas, eventração ou evisceração. Os curativos mantiveram-se nos animais por períodos que variaram entre 3 a 7 dias, quando observou-se a região operada sem edemas, hematomas ou exsudatos.

À avaliação macroscópica, os rins e fígados apresentaram focos amarelados, distribuídos irregularmente por todo o parênquima, além de áreas acinzentadas, esbranquiçadas ou ligeiramente escurecidas (Tabelas 1 e 2). O baço de alguns animais apresentou polpa branca evidente (Tabela 3). Estas alterações ocorreram aleatoriamente entre os animais dos cinco grupos sem, portanto, caracterizar indicativo de toxicidade das soluções em estudo.

Da mesma forma, foram observadas alterações microscópicas variadas, com distribuição aleatória, tais como: em rins cilindros hialinos, poucas células tubulares com citoplasma mais eosinofílico, em alguns túbulos

Tabela 2. Avaliação macroscópica de fígado de camundongos (*Mus musculus*) submetidos a implantes de pericárdio bovino.

Grupo	Alterações						
	Leve, moderado ou difusamente amarelado	Levemente amarelado com pontos acinzentados e vermelho escuros	Moderadamente amarelado e vesícula biliar distendida	Moderadamente amarelado e pontos esbranquiçados e/ou escuros	Difusamente amarelado e pontos e/ou focos escuros	Difusamente amarelado, pontos acinzentados e vesícula biliar distendida	Sem alteração
Grupo I	1				1		3
Grupo IIa	4		1				
Grupo IIb	4						1
Grupo IIc	2				2	1	
Grupo IIIa	3	1		1			
Grupo IIIb	2		1	2			
Grupo IIIc	3			2			
Grupo IVa	3			1	1		
Grupo IVb	1			4			
Grupo IVc	2			3			
Grupo Va	2			1	2		
Grupo Vb	2			2		1	
Grupo Vc				4	1		

Tabela 3. Avaliação macroscópica de baço de camundongos (*Mus musculus*) submetidos a implantes de pericárdio bovino.

Grupo	Alterações				
	Levemente aumentado e pontos esbranquiçados	Levemente amarelado e pontos esbranquiçados	Difusamente amarelado	Pontos esbranquiçados, amarelados e/ou avermelhados	Sem alteração
Grupo I	1	1		1	2
Grupo IIa				5	
Grupo IIb				1	5
Grupo IIc			1	4	3
Grupo IIIa		1		5	
Grupo IIIb					
Grupo IIIc					5
Grupo IVa				4	1
Grupo IVb				5	
Grupo IVc				5	
Grupo Va				3	2
Grupo Vb				3	2
Grupo Vc				4	1

células tumefeitas e ligeiramente vacuolizadas, hemossiderose e discreto infiltrado inflamatório mononuclear (Tabela 4); fígados congestos e com infiltrado inflamatório polimorfonuclear em regiões periductais, alguns hepatócitos com vacuolização (Tabela 5) e baço com moderada hematopoiese extramedular (Tabela 6). Foi observada também congestão desses órgãos em todos os grupos de animais, inclusive nos animais controle.

Não foram encontrados na literatura trabalhos que relacionassem a possível toxicidade sistêmica sobre vísceras abdominais devido ao uso do glutaraldeído e do glicerol para preservação de membranas biológicas implantadas cirurgicamente.

Tanto o glicerol na concentração de 98% quanto as diferentes concentrações (0,625, 1,0 e 1,5%) de glutaraldeído, utilizadas como conservantes de pericárdio bovino que foi implantado na parede abdominal dos 60 camundongos utilizados em nosso estudo, não produzi-

ram lesões macro ou microscópicas que permitissem uma inferência direta sobre o efeito tóxico dessas substâncias sobre o fígado, baço e rim desses animais.

A ocorrência de hematopoiese extramedular, caracterizada pela presença de grandes células multinucleadas (megacariócitos e megacarioblastos) observadas no baço de todos os animais do experimento, foi inclusive observada nos baços dos cinco animais do grupo controle, o que, portanto, não pode ser relacionado ao efeito das substâncias conservantes utilizadas.

A presença de fígados amarelados, no aspecto macroscópico e com vacuolização no citoplasma de hepatócitos, em distribuição aleatória, foi observada em camundongos implantados e não implantados, e pode estar relacionada a reservas nutricionais de glicogênio e/ou lipídeos.

Segundo Coelho et al. (1996) a administração de glicerol 50% na dose 10mL.Kg⁻¹, induziu rabiólise em ratos após 24 horas, além de insuficiência renal agu-

Tabela 4. Avaliação microscópica de rins de camundongos (*Mus musculus*) submetidos a implantes de pericárdio bovino

Grupo	Alterações					
	Células epiteliais tubulares vacuolizadas ou tumefeitas	Leve congestão e células epiteliais tubulares e/ou com citoplasma eosinofílico	Leve a moderada congestão e infiltrado inflamatório mononuclear focal	Infiltrado inflamatório mononuclear focal	Leve congestão	Sem alteração
Grupo I	2					3
Grupo IIa	2	1				2
Grupo IIb	1	1				3
Grupo IIc	4 (2SV)	1				
Grupo IIIa		1	2	1		1
Grupo IIIb	1	1			1	2
Grupo IIIc		1	1	2	1	
Grupo IVa		1	3			1
Grupo IVb		2		1		2
Grupo IVc		1	1		1	2
Grupo Va	2				2	1
Grupo Vb					2	3
Grupo Vc	2		2			1

Legenda: 2 SV - 2 animais sem vacuolização

Tabela 5. Avaliação microscópica de fígado de camundongos (*Mus musculus*) submetidos a implantes de pericárdio bovino

Grupo	Alterações						
	Leve a moderada congestão	Infiltrado neutrofílico focal	Leve congestão e hepatócitos vacuolizados	Infiltrado inflamatório mononuclear focal	Hepatócitos tumefeitos e infiltrado inflamatório mononuclear focal	Leve congestão, hepatócitos vacuolizados e infiltrado inflamatório neutrofílico	Sem alteração
Grupo I	2	1					2
Grupo IIa	1		4				
Grupo IIb	3		1				1
Grupo IIc	1		3				1
Grupo IIIa	1		2	1	1		
Grupo IIIb	2		1	1			1
Grupo IIIc		1	1	1		1	1
Grupo IVa	1	1	1		1	1	
Grupo IVb	1		3				1
Grupo IVc			3		2		
Grupo Va			3		2		
Grupo Vb			3	1			1
Grupo Vc	1		2				2

da mioglobínúrica e lesão hepática. Martim et al. (2007), em experimentos com ratos Wistar, machos, adultos, induziram rhabdomiólise e consequente lesão renal aguda (LRA), pela administração muscular de glicerol 50% (6mL/kg, metade em cada região femoral) a fim de testar a função protetora das sementes de uva (*Vitis vinifera*) sobre os rins. Sabe-se que a LRA por nefrose mioglobínúrica é causada pela destruição dos túbulos renais, decorrente da presença de cilindros formados pelo pigmento heme, pela vasoconstrição renal (lesão isquêmica), pela toxicidade direta desse pigmento, pelo estresse oxidativo sobre as células tubulares renais e pelos mecanismos interrelacionados (Paller 1988, Zager 1996). Nos rins de todos os 15 camundongos que re-

ceberam implantes de pericárdio bovino tratados com glicerol a 98%, no presente trabalho, não foram encontradas lesões renais que pudessem causar diminuição ou perda da função renal, o que se justifica pela provável diferença de absorção do glicerol em relação aos trabalhos de Coelho et al. (1996) e Martim et al. (2007), uma vez que estes autores aplicaram a substância por via muscular, mesmo que em menor concentração.

Cabe ainda ressaltar que os pericárdios utilizados no implante da parede abdominal dos camundongos foram submetidos a dez lavagens sucessivas com solução fisiológica, o que reduz ainda mais a possibilidade de produção de lesões musculares e consequente rhabdomiólise. Costa (2009), que utilizou os mesmos camundongos dos nossos

Tabela 6. Avaliação microscópica de baço de camundongos (*Mus musculus*) submetidos a implantes de pericárdio bovino.

Grupo	Alterações				
	Leve congestão	Leve congestão e hemossiderose	Leve congestão e hematopoiese extramedular	Hematopoiese extramedular e hiperplasia folicular	Sem alteração
Grupo I	1	1			3
Grupo IIa	1		3		1
Grupo IIb	2		1		2
Grupo IIc	1		2		2
Grupo IIIa	2				3
Grupo IIIb	1		1		3
Grupo IIIc			2	1	2
Grupo IVa	2				3
Grupo IVb	1		1		3
Grupo IVc	3				2
Grupo Va	2	1			2
Grupo Vb	2	1			2
Grupo Vc	4				1

experimentos, não observou rabdomiólise no local do implante em nenhum dos animais, nem mesmo com a concentração de 1,5% de glutaraldeído, que foi capaz de produzir citotoxicidade exarcebada, levando a destruição celular sem regeneração muscular abdominal.

As vantagens atribuídas ao pericárdio bovino em relação a ser uma membrana acessível (Alvarenga 1992, Yamatogi et al. 2005) foram comprovadas neste experimento, uma vez que pôde ser obtida sem custos e com segurança, em abatedouro com inspeção estadual. Seu tratamento e manutenção com glicerina e glutaraldeído foram considerados de baixo custo e fácil aquisição. Outras vantagens como elevada resistência a forças físicas e estabilidade bioquímica foram descritas na literatura (Ionescu et al. 1979, Santillan-Doherty et al. 1995, Anson & Marchand 1996, Holt 1970 *apud* Covarrubias et al. 2005), o que vem tornando o pericárdio bovino a membrana biológica ou bioprótese de escolha para maioria dos reparos cirúrgicos (Braile 1990, Chauvaud et al. 1991, Pires et al. 1999, Yamatogi et al. 2005).

A utilização da glicerina como conservadora de tecidos biológicos é muito difundida na medicina veterinária (Inatomi et al. 1980, Daleck et al. 1988, Daleck et al. 1992, Costa Neto et al. 1999, Rodaski et al. 2002). Seus efeitos antibacterianos são considerados desde os trabalhos de Pigossi (1967) sem, entretanto, ter sido questionada sua ação esterilizante em relação a partículas virais até o estudo de Coronado et al. (2000), no qual 98% dos felinos com enxertos homólogos de metatarsos conservados em glicerina 98% apresentaram positividade para o vírus da Leucemia Felina, sabendo-se que, antes da implantação óssea, esses animais eram negativos e que os metatarsos foram retirados de animais soropositivos, concluindo-se que a glicerina 98% não é capaz de inativar o vírus da FeLV.

Trani et al. (2008) também verificaram a ocorrência de vírus rábico em 50% das amostras positivas de pericárdio de camundongos, após conservação em glicerina 98% por 30 dias. No mesmo experimento, os autores obtiveram positividade também para pericárdios tratados com glutaraldeído 0,625%, que é uma concentração considerada segura em vários estudos experimentais e descrições de utilização clínica.

Concentrações de glicerina e glutaraldeído semelhantes às utilizadas neste experimento foram testadas por Costa (2009) quanto às reações locais e incorporação dos implantes. O tratamento dos pericárdios com solução de glutaraldeído 1,5% mostrou elevada toxicidade no local do implante o que, entretanto, não foi equivalente aos achados sistêmicos nas observações deste estudo. Este fato deve estar relacionado a uma baixa absorção sanguínea, incapaz de promover efeitos sistêmicos nos órgãos pesquisados. Ainda, considera-se que os resultados obtidos no presente trabalho reforçam a segurança de utilização das concentrações entre 0,625% e 1% de glutaraldeído quanto à sua biocompatibilidade no tratamento de pericárdios bovinos.

CONCLUSÕES

Não se observaram lesões macroscópicas ou histológicas nos rins, fígado e baço dos 60 camundongos implantados com pericárdio bovino, conservados com glicerol a 98% e glutaraldeído a 0,625, 1,0 e 1,5%, que pudessem estar associadas aos efeitos tóxicos dessas substâncias conservadoras.

Agradecimentos: agradecemos ao laboratório de Coccidioses do Departamento de Parasitologia Animal, IV, UFRRJ e ao matadouro do município de Três Rios, RJ.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarenga J. Possibilidades e limitações da utilização de membranas biológicas preservadas em cirurgia. In: Daleck, C.R., Baptista, L.C. & Mukai, L.S. (Ed.). *Tópicos em cirurgia de cães e gatos*. Jaboticabal, FUNEP-UNESP, 1992. p. 33-42. 1992.
- Anson J.A. & Marchand E.P. Bovine pericardium for dural grafts: clinical result in 35 patients. *Neurosurgery*, 39(4):764-768, 1996.
- Braile D.M. *Prótese valvular de pericárdio de bovino: desenvolvimento e aplicação clínica em posição mitral*. 110f. São Paulo. Tese – (Doutorado) – Universidade Federal de São Paulo, 1990. Disponível em: < <http://www.braile.com.br/cientifica/trabalhos/trabalhos.htm>>
- Chauvaud S., Jebara V., Chachques J.C., EL Asmar B., Mihaileanu S., Perier P., Dreyfus G., Relland, J., Couetil J.P. & Carpentier A. Valve extension with glutaraldehyde-preserved autologous pericardium. Results in mitral valve repair. *J. Thorac. Cardio. Surgery*, 102:171-177, 1991.
- Coelho A.M.M., Machado M.C.C., Masuda Z., Cleve R. & Abdo, E.E. Lesão hepática na insuficiência mioglobínúrica (rabdomiólise): estudo experimental em ratos. *Rev. Hosp. Clin.*, 51: 228-231, 1996.
- Coronado G.S., Swenson C.L., Martinez S.A., Burkhardt K.S. & Arnoczky S.P. Effects of a 98% solution of glycerol or sterilization with ethylene oxide on FeLV in bone allografts and effects on bone incorporation of allografts in cats. *Am. J. Vet. Res.*, 61: 665-671, 2000.
- Costa B.C. *Anatomopatologia de implantes de pericárdio bovino conservado em diferentes concentrações de glutaraldeído em parede abdominal de camundongos*. 2009. 73f. Dissertação Mestrado em Medicina Veterinária - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Disponível em:<<http://www.ufrjr.br/posgrad/cpmv/teses/teses2009.html>>
- Costa Neto J.M., D C.R., Alessi A.C. & Braecialli C.S. Tenoplastia experimental do calcâneo em cães com peritônio bovino conservado em glicerina. *Ciênc. Rur.*, 29: 697-703, 1999.
- Covarrubias D.P., Veja A.S., Jasso Victoria R., Olmos Zúñiga J.R., Caloca J.V., Salgado J.A.S. & Santillán-Doherty, P. Uso del pericárdio bovino tratado com glutaraldeído. *Inst. Int. Enf. Resp.*, 18: 224-229, 2005.
- Daleck C.R., Daleck C.L.M., Alessi A. C., Padilha Filho J. G. & Costa Neto J. M. Substituição de um retalho diafragmático de cão por peritônio de bovino conservado em glicerina: estudo experimental. *Ars Vet.*, 4: 53-61, 1988.
- Daleck C.R., Daleck C.L.M., Padilha Filho J. G. & Costa Neto J. M. Reparação de hérnia perineal em cães com peritônio de bovino conservado em glicerina. *Ciênc. Rur.*, 22: 179-183, 1992.
- Haddad Filho D., Marques A., Kafajian-Haddad A.P. & Zveibel D.K. Estudo comparativo das reações teciduais ao implante de pericárdio bovino e a inclusão de politetrafluoroetileno expandido em ratos. *Acta Cirur. Bras.*, 19: 131-135, 2004.
- Ionescu M.I. & Tandon A.P. The Ionescu-Shiley pericardial xenograft heart valve. In: Ionescu M.I. (ed). *Tissue heart valves*. London, Butterworth, 1979. p. 201.
- Inatomi L.S., Prantoni G.A., Araújo F.C., Raiser A.G., Pereira S.N., Cardoso G., Barros S.S. & Santos M. N. Implante de dura-máter heteróloga em cães. *Rev. Centro Cienc. Rurais*, 10: 291-297, 1980.
- Martim E.C.O., Pinto C. F., Watabe M. & Vattimo M.F.F. Lesão renal aguda por glicerol: efeito antioxidante da *Vitis vinifera* L. *Rev. Bras. Ter. Int.*, 19: 92-296, 2007.
- Paiva F.P., Maffili V.V. & Santos A.C.S. Curso de Manipulação de Animais de Laboratório. FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz. Salvador, Bahia, 2005. 28f. Disponível em: <<http://www.cpqgm.fiocruz.br/?area=02X02X04>>
- Paller M.S. Hemoglobin and myoglobin – induced acute renal failure in rats: role of iron in nephrotoxicity. *Am. J. Physiol.*, 255:539-544, 1988.
- Pinto T.J. A., Saito T. & Glerean A. Biocompatibilidade de materiais empregados na confecção de próteses cardiovasculares: comparação entre pericárdio de bovino e dacron. *Rev. Saúde Public* 27(3):185-189, 1993.
- Pires A.C., Saporito W.F., Cardoso S.H. & Ramaciotti O. Bovine pericardium used as a cardiovascular patch. *Heart Surg. Forum*. 2: 60-69, 1999.
- Rodaski S., Cunha O., De Nardi A.B., Rios A., Comar F.A. & Castro J.H.T. Artroplastia acetábulo-femoral em cães com pericárdio bovino conservado. *Arch. Vet Sci.*, 7: 179-187, 2002.
- Santillan-Doherty P., Jasso-Victoria R., Sotres-Vega A., Olmos R., Arreola J.L., Garcia D., Vanda B. & Gaxiola M. Repair of thoracoabdominal wall defects in dogs using a bovine pericardial bioprosthesis. *Rev. Invest. Clin.*, 47: 439-446, 1995.
- Yamatogi R.S., Ramal S.C., Granjeiro J.M., Cestari T.M. & Lima A.F.M. Histologia da associação de membranas biológicas de origem bovina implantadas no tecido subcutâneo de ratos. *Ciênc. Rur.*, 35: 837-842, 2005.
- Zager R.A. Rhadomyolysis and myoglobinuric acute renal failure. *Kid. Int.*, 49: 314-326, 1996.