

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS JABOTICABAL**

**ESTRUTURA E ULTRA-ESTRUTURA DE MEMBRANAS  
BIOLÓGICAS DE OVINOS DA RAÇA SANTA INÊS (*Ovis  
aries*, L., 1758) A FRESCO E CONSERVADAS EM  
GLICERINA**

Roméria Rodrigues Barbosa  
Médica Veterinária

JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL  
Março de 2007

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS JABOTICABAL**

**ESTRUTURA E ULTRA-ESTRUTURA DE MEMBRANAS  
BIOLÓGICAS DE OVINOS DA RAÇA SANTA INÊS (*Ovis  
aries*, L., 1758) A FRESCO E CONSERVADAS EM  
GLICERINA**

Roméria Rodrigues Barbosa

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Rita Fernandes Machado

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Cirurgia Veterinária.

JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL

Março de 2007

B238e Barbosa, Roméria Rodrigues  
Estrutura e Ultra-estrutura de membranas biológicas de ovinos da raça Santa Inês (*Ovis aries*, L. 1758) a fresco e conservadas em glicerina / Roméria Rodrigues Barbosa. -- Jaboticabal, 2007  
xv, 49 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2007

Orientadora: Márcia Rita Fernandes Machado

Banca examinadora: Maria Rita Pacheco e Bárbara Cristina Mazzucatto

Bibliografia

1. Glicerina 2. Membranas biológicas. 3. Ovinos. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616-089.11:636.3

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

## **DADOS CURRICULARES DA AUTORA**

**ROMÉRIA RODRIGUES BARBOSA** – nascida em 12 de outubro de 1977, em Touros – Rio Grande do Norte, graduou-se em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Semi Árido – Mossoró – RN, 17 de julho de 2004. Foi bolsista dentro do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica - PIBIC - CNPq no período de agosto de 2001 a julho de 2004. Em março de 2005 ingressou no curso de Mestrado em Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – Campus de Jaboticabal – SP.

## *Dedicação Especial,*

*Aos meus pais,*

*Francisco e Tânia, agradeço por estarem sempre presentes mesmo a distância; me encorajando e apoiando com carinho*

*Ao meu irmão,*

*Rogério, pela amizade e incentivo sempre...*

*Dedico*

## **AGRADEÇO,**

*À Professora Márcia Rita Fernandes Machado, primeiro pela orientação e segundo pelo apoio e amizade dispensada ao longo do mestrado, sempre disposta a ajudar e compreender situações diversas, contribuindo de forma incondicional com seus conhecimentos. Obrigada!*

*À CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela bolsa concedida;*

*Ao Márcio César Vasconcelos por todos os momentos de companheirismo, sempre estimulando a continuar a longa jornada e caminhando junto comigo em todos os momentos, quando juntos ou quando separados. Obrigada!*

*Ao professor Fernando Albuquerque, além de mestre, amigo; obrigada pelos conselhos e pelo incentivo a fazer Mestrado;*

*As amigas de república Janaína (Tiazinha), Tati, Dayane (Kuka), Priscila, Jéssica e mais recente Vanessa, obrigada pela amizade e companhia, a saudade da família era menor por causa de vocês;*

*As amigas de pós-graduação Tatiana Catelan de Oliveira, Cíntia Roberta Neves e Alessandra Regina Freixo Scavone, pessoas com os quais me identifiquei e recebi apoio e amizade, que muito contribuíram na execução desta pesquisa e sei que posso continuar a confiar sempre. Obrigada!*

*Ao Preto, Chiquinha e Thor pelos momentos de alegria e descontração;*

*Aos funcionários do Laboratório de Anatomia, Nilton (Cobrinha),  
Iara, Marilda pelo auxílio quando requisitado;*

*À todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a  
realização deste trabalho.*

## SUMÁRIO

	Páginas
LISTA DE FIGURAS.....	viii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
1- INTRODUÇÃO.....	1
2- REVISÃO DE LITERATURA.....	5
3- MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1- Animais.....	15
3.2- Colheita do Material.....	15
3.3- Processamento do Material.....	16
3.3.1- Microscopia de Luz.....	16
3.3.2- Avaliação Ultra-estrutural.....	17
4- RESULTADOS.....	18
5- DISCUSSÃO.....	36
6- CONCLUSÕES.....	42
7- REFERÊNCIAS.....	43



## LISTA DE FIGURAS

	Páginas
<p><b>Figura 1</b> Fotografias das membranas utilizadas. Em <b>A</b>- fotografia do membro pélvico de um bovino, onde se observa a fáscia lata. Em <b>B</b>- fotografia da cavidade torácica de eqüino, onde se observa o pericárdio parietal. Em <b>C</b>- fotografia da cavidade abdominal de cão, onde se observa o peritônio parietal. Em <b>D</b> - fotografia do testículo de bovino onde se pode observar a túnica vaginal parietal.....</p>	04
<p><b>Figura 2</b> Fotomicrografia de amostra de pericárdio parietal a fresco (grupo controle) de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa o mesotélio; tecido conjuntivo denso não modelado; fibras colágenas dispostas irregularmente; núcleo de fibrócitos; vasos sanguíneos entremeados tecido conjuntivo frouxo; imagem negativa da substância fundamental amorfa. HE, 200x.....</p>	19
<p><b>Figura3</b> Fotomicrografia de amostra de pericárdio parietal conservada em glicerina 98%, aos 15 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma desorganização tecidual mais acentuada do que nas amostras a fresco; verifica-se a presença de mesotélio; tecido conjuntivo denso não modelado; fibras colágenas dispostas irregularmente; núcleo de fibrócitos; vasos sanguíneos entremeados em tecido adiposo; imagem negativa da substância fundamental amorfa. HE, 200x.....</p>	19
<p><b>Figura 4</b> Fotomicrografia de amostra de pericárdio parietal conservada em glicerina 98%, aos 30 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma desorganização tecidual mais acentuada do que nas amostras a fresco; verifica-se a presença de mesotélio ; tecido conjuntivo denso não modelado; fibras colágenas dispostas irregularmente; núcleo de fibrócitos; imagem negativa da substância fundamental amorfa. HE, 400x.....</p>	20
<p><b>Figura5</b> Fotomicrografia de amostra de pericárdio parietal a conservada em glicerina 98%, aos 60 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma desorganização tecidual mais acentuada do que nas amostras a fresco; verifica-se a presença de mesotélio; tecido conjuntivo denso não modelado; tecido conjuntivo frouxo; fibras colágenas dispostas irregularmente; núcleo de fibroblastos; vasos sanguíneos; imagem negativa da substância amorfa. HE, 400x.....</p>	20

- Figura6** Fotomicrografia de amostra de pericárdio parietal a conservada em glicerina 98%, aos 90 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma desorganização tecidual mais acentuada do que nas amostras a fresco; verifica-se a presença de mesotélio; tecido conjuntivo denso não modelado; fibras colágenas dispostas irregularmente; núcleo de fibrócitos; imagem negativa da substância fundamental. HE, 400x..... 21
- Figura 7** Fotomicrografia de amostra de peritônio parietal a fresco (grupo controle) de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa o mesotélio; tecido conjuntivo denso não modelado; fibras colágenas dispostas irregularmente; núcleo basófilos de fibrócitos; vasos sanguíneos entremeados em tecido conjuntivo frouxo evidente; imagem negativa da substância fundamental amorfa. HE, 200x..... 22
- Figura 8** Fotomicrografia de amostra de peritônio parietal conservada em glicerina 98%, aos 15 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma desorganização tecidual mais acentuada neste tempo em relação as amostras a fresco; verifica-se também a presença de mesotélio; tecido conjuntivo denso não modelado; fibras colágenas dispostas irregularmente; núcleo basófilos de fibrócitos; vasos sanguíneos entremeados no tecido conjuntivo frouxo; imagem negativa da substância fundamental amorfa. HE, 400x..... 23
- Figura 9** Fotomicrografia de amostra de peritônio parietal a conservada em glicerina 98%, aos 30 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma organização tecidual semelhante as amostras a fresco; verifica-se a presença de mesotélio ; tecido conjuntivo denso não modelado; fibras colágenas dispostas irregularmente; predominio de núcleo de fibrócitos basófilos; vasos sanguíneos entremeados no tecido conjuntivo frouxo; imagem negativa da substância fundamental amorfa. HE, 200x..... 23
- Figura10** Fotomicrografia de amostra de peritônio parietal a conservada em glicerina 98%, aos 60 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma desorganização tecidual semelhante às amostras a fresco; verifica-se a presença de mesotélio; tecido conjuntivo denso não modelado; fibras colágenas dispostas irregularmente; núcleos basófilos de fibrócitos; notar a expansão de tecido adiposo; imagem negativa da substância fundamental amorfa. HE, 200x..... 24

- Figura 11** Fotomicrografia de amostra de peritônio parietal a conservada em glicerina 98%, aos 90 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa organização tecidual semelhante as amostras a fresco; verifica-se a presença de mesotélio; tecido conjuntivo denso não modelado; núcleos basófilos de fibrócitos; vasos sanguíneos entremeados entremeados no tecido conjuntivo; e imagem negativa da substância amorfa. HE, 200x..... 24
- Figura 12** Fotomicrografia de amostra da túnica vaginal parietal a fresco (grupo controle) de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa o mesotélio; tecido conjuntivo denso não modelado; fibras colágenas acidófilas dispostas irregularmente; núcleos basófilos de fibrócitos; vasos sanguíneos entremeados em fibras de colágeno deste tecido conjuntivo; imagem negativa da substância fundamental amorfa. HE, 100x..... 25
- Figura 13** Fotomicrografia de amostra de túnica vaginal parietal conservada em glicerina 98%, aos 15 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma organização tecidual semelhante as preparações a fresco; verifica-se também a presença de mesotélio; tecido conjuntivo denso não modelado; vasos sanguíneos entremeados na fibras de colágeno deste tecido com fibras dispostas irregularmente; núcleo basófilos de fibrócitos; imagem negativa da substância fundamental amorfa. HE, 200x ..... 26
- Figura 14** Fotomicrografia de amostra de túnica vaginal parietal conservada em glicerina 98%, aos 30 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma organização tecidual semelhante as preparações a fresco; verifica-se também a presença de mesotélio; tecido conjuntivo denso não modelado; fibras colágenas dispostas irregularmente; núcleo basófilos de fibrócitos; vasos sanguíneos entremeados neste tecido; e imagem negativa da substância fundamental amorfa. HE, 400x..... 26
- Figura 15** Fotomicrografia de amostra de túnica vaginal parietal conservada em glicerina 98%, aos 60 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma organização tecidual semelhante as preparações a fresco; verifica-se também a presença de mesotélio apoiando-se sobre o tecido conjuntivo denso não modelado; fibras colágenas com disposição irregular; núcleo basófilos de fibrócitos; vasos sanguíneos entremeados neste tecido; e imagem negativa da substância fundamental amorfa. HE, 200x ..... 27

- Figura 16** Fotomicrografia de amostra de túnica vaginal parietal conservada em glicerina 98%, aos 90 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma organização tecidual semelhante às preparações a fresco; verificando a presença de mesotélio apoiando-se sobre o tecido conjuntivo denso não modelado; fibras colágenas com disposição irregular; núcleo basófilos de fibrócitos; vasos sanguíneos entremeados em tecido conjuntivo frouxo evidente; e imagem negativa da substância amorfa. HE, 200x..... 27
- Figura 17** Fotomicrografia de amostra da fáscia lata a fresco (grupo controle) de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa o mesotélio; seguido por tecido conjuntivo frouxo no qual envolve as grossas fibras de colágeno do tecido conjuntivo denso não modelado; fibras colágenas acidófilas dispostas irregularmente; núcleos basófilos de fibrócitos HE, 200x..... 28
- Figura 18** Fotomicrografia de amostra da fáscia lata conservada em glicerina 98%, aos 15 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma organização tecidual semelhante as preparações a fresco; verificando-se presença de mesotélio; seguido por tecido conjuntivo frouxo no qual envolve as grossas fibras colágenas do tecido conjuntivo denso não modelado; fibras dispostas irregularmente; núcleos basófilos de fibrócitos; notar a presença de vasos sanguíneos entremeados no tecido adiposo. HE, 200x..... 29
- Figura 19** Fotomicrografia de amostra da fáscia lata conservada em glicerina 98%, aos 30 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma organização tecidual semelhante as preparações a fresco; verificando-se presença de mesotélio; seguido por tecido conjuntivo frouxo no qual envolve as grossas fibras colágenas do tecido conjuntivo denso não modelado; fibras dispostas irregularmente; núcleos basófilos de fibrócitos, notar a presença de vasos sanguíneos entremeados no tecido conjuntivo frouxo. HE, 200x..... 29
- Figura 20** Fotomicrografia de amostra da fáscia lata conservada em glicerina 98%, aos 60 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma organização tecidual semelhante às preparações a fresco; verificando-se presença de mesotélio; seguido por tecido conjuntivo frouxo no qual envolve as grossas fibras colágenas do tecido conjuntivo denso não modelado; fibras dispostas irregularmente; núcleos basófilos de fibrócitos; presença de tecido adiposo HE, 200x..... 30

<b>Figura 21</b>	Fotomicrografia de amostra da fáscia lata conservada em glicerina 98%, aos 90 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma organização tecidual semelhante às preparações a fresco; verificando-se presença de mesotélio; seguido por tecido conjuntivo frouxo no qual envolve as grossas fibras colágenas do tecido conjuntivo denso não modelado; fibras dispostas irregularmente; núcleos basófilos de fibrócitos; notar a presença de tecido adiposo. HE, 200x.....	30
<b>Figura 22</b>	Eletromicrografia de varredura de pericárdio parietal a fresco (grupo controle) de ovino da raça Santa Inês, visão geral das estruturas, onde se observa em <b>A</b> e <b>B</b> fibras colágenas dispostas irregularmente 500x e 1000x respectivamente.....	32
<b>Figura 23</b>	Eletromicrografia de pericárdio parietal conservado em glicerina a 98% por 30 dias de ovino da raça Santa Inês, visão geral das estruturas, onde se observa o mesmo arranjo estrutural do material a fresco, notar em <b>C</b> e <b>D</b> fibras colágenas dispostas irregularmente, 100x e 1000x respectivamente.....	32
<b>Figura 24</b>	Eletromicrografia de peritônio parietal a fresco (grupo controle) de ovino da raça Santa Inês, visão geral das estruturas, onde se observa em <b>A</b> o mesotélio e em <b>B</b> mesotélio e fibras colágenas disposta irregularmente, 100x e 1000x respectivamente.....	33
<b>Figura 25</b>	Eletromicrografia de peritônio parietal conservado em glicerina a 98% por 30 dias de ovino da raça Santa Inês, visão geral das estruturas, com o mesmo arranjo estrutural do material a fresco, notar em <b>C</b> e <b>D</b> disposição desordenada das fibras colágenas 100x e 1000x respectivamente.....	33
<b>Figura 26</b>	Eletromicrografia de túnica vaginal parietal a fresco (grupo controle) de ovino da raça Santa Inês, visão geral das estruturas, onde se observa em <b>A</b> as células achatadas do mesotélio, em <b>B</b> corte transversal mostrando o mesotélio e fibras colágenas disposta irregularmente, 100x.....	34
<b>Figura 27</b>	Eletromicrografia de túnica vaginal parietal conservado em glicerina a 98% por 30 dias de ovino da raça Santa Inês, visão geral das estruturas, onde se observa em <b>C</b> e <b>D</b> fibras colágenas disposta irregularmente, 100x e 1000x respectivamente.....	34

- Figura 28** Eletromicrografia da fáscia lata a fresco (grupo controle) de ovino da raça Santa Inês, visão geral das estruturas, onde se observa em **A** e **B** fibras colágenas disposta irregularmente, 100x e 1000x respectivamente..... 35
- Figura 29** Eletromicrografia de fáscia lata parietal conservada em glicerina a 98% por 30 dias de ovino da raça Santa Inês, visão geral das estruturas, onde se observa em **C** e **D** fibras colágenas disposta irregularmente, 100x e 1000x respectivamente..... 35

## **ESTRUTURA E ULTRA-ESTRUTURA DE MEMBRANAS BIOLÓGICAS DE OVINOS DA RAÇA SANTA INÊS (*OVIS ARIES*, L., 1758) A FRESCO E CONSERVADAS EM GLICERINA**

**RESUMO-** Na reconstrução dos defeitos teciduais recomenda-se a utilização de implantes biológicos ou sintéticos; dentre os primeiros utilizam-se comumente material de membranas obtidas de diferentes espécies animais. Com isto o objetivo deste estudo foi verificar a morfologia estrutural e ultra-estrutural do peritônio, pericárdio, túnica vaginal e fásia lata de 15 ovinos da raça Santa Inês machos adultos, provenientes da Estância Santa Bárbara do município de Poloni, Estado de São Paulo. Essas membranas foram colhidas imediatamente após o abate dos animais; convenientemente identificadas e mantidas, individualmente em frascos com solução fisiológica de NaCl a 0,9% para seu transporte até o laboratório, onde foram processadas. Uma parte dessas amostras denominada a fresco foi imediatamente submetida à técnica histológica usual e a técnica para o preparo de material a ser observado ao microscópio eletrônico de varredura. A outra parte desse material foi subdivida em fragmentos destinados à conservação em glicerina a 98% para seu processamento em 15, 30, 60 e 90 dias, submetidas também à técnica usual histológica; e pequenos fragmentos conservados em glicerina até os 30 dias foram retirados e submetidos a técnica para o preparo para serem observados ao microscópio eletrônico de varredura. Ambas as amostras processadas foram analisadas e os resultados comparados. Constatou-se para todas as membranas analisadas, que tanto as amostras do material a fresco, quanto as conservadas em glicerina, ao serem observadas ao microscópio de luz, apresentaram a mesma constituição estrutural, embora, no caso do material conservado em glicerina, algumas alterações como espaçamento entre as fibras de colágeno, puderam ser evidenciadas. Com relação às amostras de pericárdio, de peritônio, de túnica vaginal e de fásia lata a organização tecidual foi de uma camada de tecido conjuntivo denso não modelado com fibras dispostas irregularmente, revestido por mesotélio. Mediante a análise pela microscopia eletrônica de varredura verificou-se a integridade da organização tecidual das membranas estudadas tanto nas amostras a fresco quanto nas conservadas em glicerina nos dias 30; não se constatou intensa defibrilação e nem uma acentuada fragmentação das fibras colágenas, apenas um leve desarranjo.

**Palavras-chave:** glicerina, membranas biológicas, ovinos

## STRUCTURE AND ULTRA-STRUCTURAL OF MEMBRANES BIOLOGICAL OF OVINES OF THE RACE SAINT INES (*Ovis aries*, L., 1758) THE COOL ONE AND CONSERVED IN GLYCERIN

**ABSTRACT-** In the reconstruction of the tissue defects use of biological implantations sends regards to it or synthetic, amongst the biological implantations they are used commonly material of gotten membranes of different animal species, with this the objective of this study was to verify the structural and ultra-structural morphology of the peritoneum, pericardium, tunica vaginalis and fáscia lata can of 15 ovines of the race male Saint Ines adult, proceeding from the Ranch Saint Barbara of the city of Poloni, State of São Paulo. These membranes had been harvested immediately after abate it of the animals; conveniently identified, being kept, individually in bottles with physiological solution of NaCl 0.9% for its transport until the laboratory, where they had been processed. A part of these samples called the cool one immediately was submitted to the usual histological technique and the technique for the material preparation to be observed to the electron microscope of sweepings. To another part of this material it was you subdivide in fragments destined to the conservation in glycerin 98% for its processing in 15, 30, 60 and 90 days, also submitted to the histological usual technique; e small fragments conserved glycerin until the 30 days had been removed and submitted the technique for the preparation to be observed to the electron microscope of sweepings. Both the processed samples had been analyzed and the comparative results. One evidenced that for all the analyzed membranes, that as much the samples of the material the cool one, how much to the conserved ones in glycerin, being observed to the light microscope, they had presented the same structural constitution, even so, in the case of the material conserved in glycerin, some alterations as espacing enters collagenous staple fibres, could have been evidenced. With regard to the samples of pericardium, of peritoneum, of tunica vaginales and fascia lata can the tissue organization was of a layer the tissue conjunctive dense not shaped with staple fibres made use irregularally, coated for a mesotélio layer. By means of the analysis for the electronic microscopy of sweepings it was verified in such a way integrity of the tissue organization of the membranes studied in the samples the cool one how much in the conserved ones in glycerin in days 30; not intense defibrillation was evidenced and nor one accented spalling of collagens staple fibres, only one has taken disarrangement.

**Keywords:** biological membranes, glycerin, ovine



## 1. INTRODUÇÃO

Na reconstrução dos defeitos teciduais que advêm de vários fatores, sejam eles traumáticos, congênitos ou em decorrência de enfermidades, recomenda-se a utilização de implantes biológicos ou sintéticos, pois a aproximação por primeira intenção pode ocasionar tensão na linha de sutura e conseqüente deiscência da ferida cirúrgica (EURIDES et al., 1994).

Dentre os implantes biológicos utilizam-se comumente material de membranas obtidas de diferentes espécies animais, os quais, mediante processos de reparação, caracterizam-se por fornecer arcabouço, tanto para a orientação, quanto para o desenvolvimento de novos tecidos, restabelecendo a estrutura e a função do órgão afetado (BATISTA et al., 1996).

Em meio às membranas biológicas comumente estudadas destacam-se, entre outras, o centro tendíneo, a dura-máter, a fáscia lata, o pericárdio e o peritônio que se caracterizam por serem constituídas, quase que exclusivamente de colágeno (ALVARENGA, 1992), fator fundamental uma vez que as membranas utilizadas em implantes devam possuir a mesma constituição das estruturas do receptor.

As membranas biológicas têm como meio de conservação mais usual glicerina a 98%, mantida em temperatura ambiente, substância esta que apresenta as seguintes vantagens: baixo custo, propriedade anti-séptica, rápida ação desidratante e fixadora, manutenção da integridade celular e da textura original dos tecidos. (ALVARENGA, 1992; WELLS, et al., 2006).

Quanto às espécies animais das quais se obtêm membranas biológicas para implantes, há pelo menos quatro décadas se tem investigado e utilizado

membranas provenientes de cães, eqüinos, suínos e bovinos preservados em diferentes meios (PIGOSSI, 1964; PIGOSSI, 1967; INATOMI et al., 1980; DALECK et al., 1987; DALECK et al., 1988; VÁMHIDY et al., 1990; ALVARENGA, 1992; DALECK et al., 1992; REYES, 1993; BATISTA et al., 1996; SARTORI FILHO et al., 1997; COSTA NETO et al., 1999; MOTA et al., 2002; NOLASCO et al., 2003).

Ensaio com membranas biológicas de bovinos têm apresentado resultados satisfatórios, como no caso do emprego da dura-máter conservada em glicerina por período maior que seis meses, utilizada na reparação da bainha do músculo reto do abdome de cães (INATOMI et al., 1980); ainda com este mesmo conservante foi utilizado peritônio nas seguintes situações: substituição de retalho diafragmático de cães (DALECK et al., 1988), na reparação de hérnia perineal de cães (DALECK et al., 1992), tenoplastia do tendão calcâneo comum em cães (COSTA NETO et al., 1999) e na esfinteroplastia do músculo esfíncter anal externo em cães (RODASKI et al., 2000). O pericárdio bovino também foi utilizado na correção do parênquima pulmonar de cães após sua ressecção (VAUGHN et al., 1998) e ainda na artroplastia acetábulo-femoral também de cão (RODASKI et al., 2002).

Em ratos testaram-se a viabilidade do emprego do peritônio bovino como alternativa para o uso de tela cirúrgica implantada na parede abdominal, pois esta membrana biológica, após colheita pode ser preparada da mesma forma que o pericárdio bovino e, além disso, fornece maior área de tecido aproveitável por ser adaptável às diversas situações da prática cirúrgica (BASTOS et al., 2005).

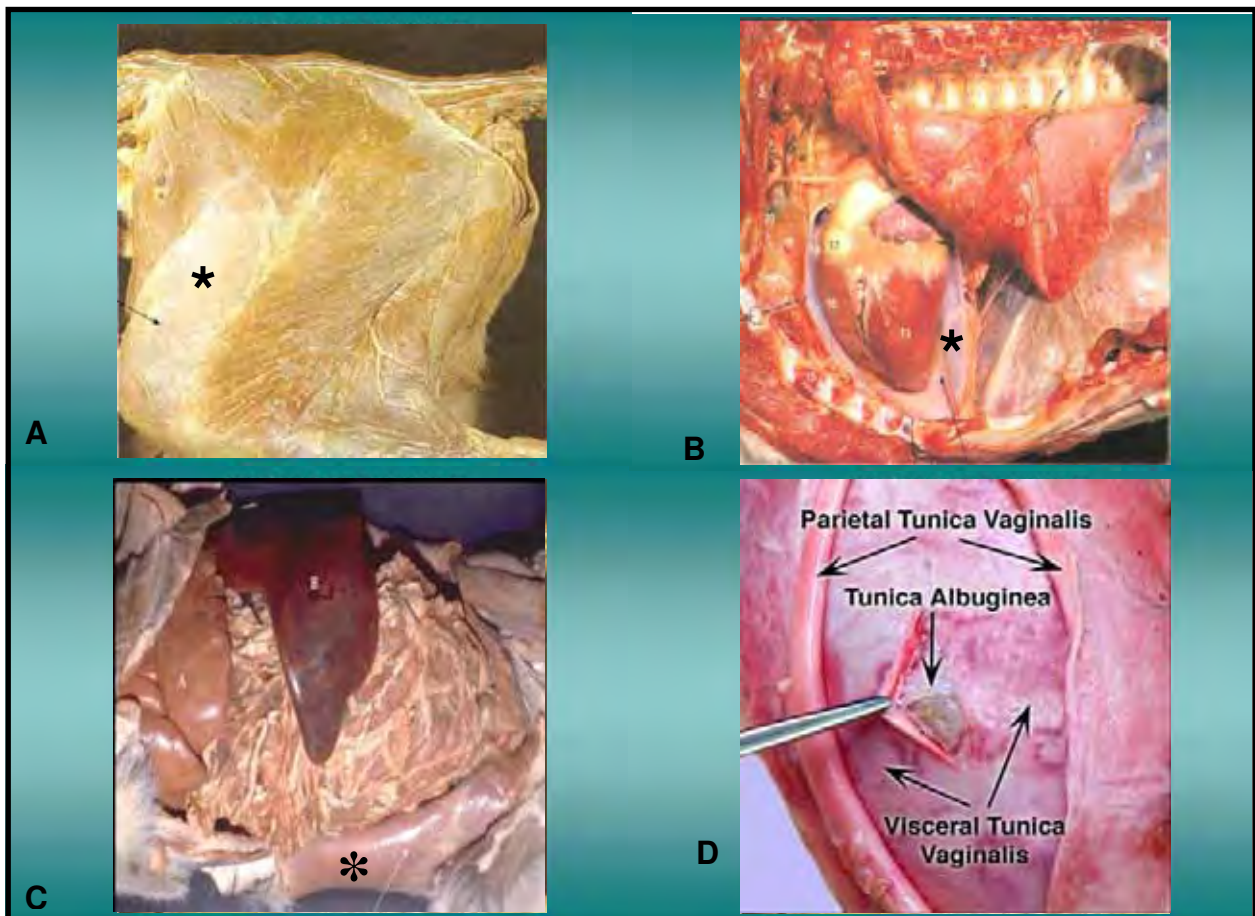
Geralmente, grandes partes dos trabalhos que se referem às membranas biológicas buscam avaliar a viabilidade da sua utilização, analisando na maioria dos casos sua aplicação em procedimentos cirúrgicos, de várias regiões do organismo; desta forma, verifica-se que há a necessidade de estudos minuciosos sobre a morfologia dessas membranas, que aprimorem o conhecimento de suas propriedades e, conseqüentemente, reforcem a exeqüibilidade de sua utilização.

Sabendo-se que os ovinos constituem grupo de eleição na experimentação para o homem sendo utilizados como modelo experimental, tanto no desenvolvimento de ensaios fisiológicos, quanto nos procedimentos cirúrgicos e ortopédicos, pois apresentam algumas propriedades físicas semelhantes às dos seres humanos, entre as quais, o tamanho de alguns órgãos (RAND, 2002), torna-se importante também a pesquisa relativa às membranas biológicas nesses animais.

Constata-se na ovinocultura brasileira que as raças deslanadas, produtoras de carne, caracterizam-se por sua rusticidade e conseqüente resistência, sendo adaptadas a quase todas as regiões do país; dentre elas, os ovinos da Raça Santa Inês destacam-se por apresentar peso elevado e alta prolificidade (MENDES, 2000). Embora, apesar de sua aptidão zootécnica, poucos são os relatos detalhados sobre sua morfologia na literatura especializada.

Diante de tais fatos, fazem-se necessárias abordagens morfológicas mais abrangentes para estes animais, inclusive relativo às suas membranas biológicas, conferindo-lhe mais este atributo, isto é, o de doadores de material biológico.

Assim, objetivou-se o estudo estrutural e ultra-estrutural (à microscopia eletrônica de varredura), comparativo, do pericárdio parietal, peritônio parietal, túnica vaginal parietal e fáscia lata de ovinos da raça Santa Inês, a fresco (considerado controle) e conservadas em glicerina a 98%, durante diferentes períodos. A morfologia macroscópica destas membranas pode ser evidenciadas na figura 1.



**Figura 1-** Fotografias das membranas utilizadas. Em **A-** fotografia do membro pélvico de um bovino, onde se observa a fáscia lata (\*). Em **B-** fotografia da cavidade torácica de eqüino, onde se observa o pericárdio parietal (\*). Em **C-** fotografia da cavidade abdominal de cão, onde se observa o peritônio parietal (\*). Em **D** - fotografia do testículo de bovino onde se pode observar a túnica vaginal parietal (setas superiores).

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

As membranas serosas são formadas por epitélio simples pavimentoso, o mesotélio, associado ao tecido conjuntivo. Elas revestem as cavidades celomáticas sendo umedecidas pelos fluidos contidos nestas cavidades. Os envoltórios serosos dos órgãos contribuem sobremaneira para o processo de reparação das vísceras. A deposição de fibrina no tecido conjuntivo submesotelial e subseroso promove a diminuição do extravasamento no processo da reparação, vedando a ferida; a formação de aderências tem como base a atividade dos fibroblastos e a deposição de colágeno nestas regiões (BANKS, 1992).

O tecido conjuntivo caracteriza-se por possuir certa quantidade de substância intersticial ou matriz intercelular, composta por substância fundamental amorfa e fibras. O tecido conjuntivo propriamente dito, nos vertebrados de um modo geral, distribui-se por todo o organismo, exceto no interior do sistema nervoso central, transportando vasos e os nervos, integrando a estrutura íntima dos órgãos e, na maioria das vezes, separa um órgão do outro, quer envolvendo-o e delimitando-o, por intermédio de uma estrutura mais flácida de preenchimento (GEORGE & CASTRO, 1998).

A presença de fibras colágenas permite classificar o tecido conjuntivo. Pequenas quantidades de fibras colágenas de permeio à substância fundamental, permite-nos falar em tecido conjuntivo frouxo, como é o caso da maioria dos tecidos de preenchimento. Quantidade maior dessas fibras colágenas permite classificá-lo em tecido conjuntivo denso, que por sua vez quando suas fibras ou feixes de colágenos se dispõem paralelos entre si, o

tecido é considerado denso modelado, como os tendões, estruturas que ligam os músculos aos ossos; ainda se suas fibras ou feixes de colágenos estão dispostos de modo desordenado, o tecido conjuntivo denomina-se denso não modelado, como é o caso da derme (GEORGE & CASTRO, 1998). As fibras ou feixes colágenos a fresco são brancas, conferindo essa cor aos tecidos nos quais predominam, e em lâminas tratadas pela hematoxilina e eosina coram-se em róseo (GEORGE & CASTRO, 1998; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

O tecido conjuntivo frouxo suporta estruturas normalmente sujeitas à pressão e pequenos atritos, é um tecido conjuntivo muito comum que preenche espaços entre grupos de células musculares, suporta células epiteliais e forma camadas em torno dos vasos sanguíneos. Encontra-se também nas papilas da derme, na hipoderme, nas membranas serosas que revestem as cavidades peritoneais, pleuras e nas glândulas; nas membranas mucosas o tecido conjuntivo frouxo é chamado de lâmina própria ou córion. O tecido conjuntivo frouxo contém todos os elementos estruturais típicos do tecido conjuntivo propriamente dito, não havendo, entretanto, nenhuma predominância de qualquer dos componentes e as células mais numerosas são os fibroblastos e macrófagos, mas todos os outros tipos celulares do tecido conjuntivo também estão presentes, além de fibras colágenas e elásticas; este tecido tem consistência delicada, é flexível, bem vascularizado e não muito resistente a trações (GARTNER & HIATT, 1999; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

O tecido conjuntivo denso não modelado recebe este nome porque suas fibras colágenas se agrupam em feixes que se entrelaçam e seguem nas mais variadas direções para formar uma intrincada rede tridimensional. Em algumas localizações, as fibras colágenas se misturam com algumas poucas fibras

elásticas. As células se encontram em meio a uma escassa substância fundamental que é altamente hidratada de moléculas amônicas ( glicosaminoglicanas e proteínas) e glicoproteínas multiadesivas, e tratam-se de fibroblastos, cujos citoplasmas são difíceis de distinguir; este tecido é encontrado na derme, no pericôndrio, no perióstio, no epineuro, na dura-máter e na cápsula de vários órgãos como o fígado, o baço e os testículos (HIB, 2003; JUNQUERA & CARNEIRO, 2004).

O tecido conjuntivo denso modelado apresenta feixes de colágenos paralelos entre si, e alinhados com os fibroblastos, trata-se de um conjuntivo que formou suas fibras colágenas em resposta às forças de tração exercidas num determinado sentido. Neste caso, os fibroblastos; em resposta a forças que normalmente atuam sobre os tecidos, orientam as fibras que produzem de modo a oferecer o máximo de resistência a estas forças; este tipo de tecido é encontrado em tendões, aponeuroses e nos ligamentos (HIB, 2003; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

A eficiência da cirurgia reparadora, geralmente, está associada à reação biológica de reparação e não à sobrevivência dos elementos celulares presentes no implante; a preservação dos implantes não pressupõe a manutenção da viabilidade celular uma vez que este funciona como um arcabouço ou suporte temporário à migração de fibroblastos. Além disso, os agentes conservantes são substâncias dotadas de ação germicida ou germiostática, as quais se destinam a evitar as alterações que possam ocorrer em qualquer tecido conservado, proveniente de proliferação microbiana (PRISTA et al., 1990; BATISTA et al., 1996).

Os diferentes tecidos animais mantêm-se íntegros mediante utilização de métodos de conservação que podem ser classificados em duas grandes categorias: os que mantêm a vitalidade celular e os que não mantêm (LEITE et al., 1979). Neste último grupo, encontra-se a glicerina a 98%, que atualmente é um dos meios mais amplamente utilizados, tanto em casos clínicos cirúrgicos quanto em estudos experimentais (DALECK et al., 1992; COSTA NETO et al., 1999; OLIVEIRA et al., 1999; BRUN et al., 2000; CONTESINI et al., 2001; RAISER et al., 2001).

Como características principais, os meios de preservação utilizados para manter as membranas biológicas devem possuir um alto poder estabilizador, impedindo a total decomposição dos tecidos e o crescimento de microorganismos; preservar ao máximo a integridade celular, aumentar a resistência à tração dos tecidos e atuar por um período de tempo prolongado (ALVARENGA, 1992; MOTA et al., 2002).

Na preservação ou conservação de implantes biológicos a glicerina a 98% à temperatura ambiente facilita muito seu emprego em muitas situações, pois dispensa meios de conservação de custo elevado, além de possuir propriedade antisséptica (ALVARENGA, 1992). Uma das principais características da glicerina é a capacidade de desidratação celular (PIGOSSI, 1964; PIGOSSI, 1967; DALECK et al., 1987; ALVARENGA, 1992) que sem alterar a concentração iônica das células, mantém sua integridade (PIGOSSI, 1964). Após reidratação as membranas se comportam como tecidos naturais, sugerindo que esse meio não é reativo com a matriz extracelular, tratando-se de um agente químico mecanicamente seguro para redução da degeneração tecidual (WELLS et al., 2006).



MOTA et al. (2002) analisaram a ultra-estrutura da túnica muscular do intestino delgado de cães preservados em diferentes meios (solução supersaturada de açúcar a 300%, glicerina a 98%, polivinil pirrolidona a 5% e solução alcoólica de timerosal 1:1000), concluindo que nenhuma das soluções estudadas é capaz de manter a integridade celular; porém, dentre os meios avaliados, as soluções supersaturadas de açúcar a 300% e a glicerina a 98% foram as que melhor apresentaram resultados.

Os estudos ainda não estão claros quanto ao seu mecanismo de ação junto aos tecidos; no entanto, sabe-se que ela estabiliza os monômeros de colágeno, mas desestabiliza as fibrilas colágenas precipitadas. Assim, quando um tecido é imerso nesta substância, a água é osmoticamente retirada numa proporção dependente da densidade da fibra, da concentração da glicerina e da temperatura. Após reidratação as membranas recuperam suas pontes de água e se comportam como tecidos naturais, desta forma esse meio não é reativo com a matriz extracelular, sendo um agente químico mecanicamente seguro para redução da degeneração tecidual (WELLS et al., 2006).

Para PIGOSSI et al., (1971) a glicerina apresenta acentuada hidrofília, devido a sua polaridade, que ao tornar-se livre é capaz de atrair átomos de hidrogênio das moléculas vizinhas, sem, contudo, promover uma reação química, preservando a arquitetura tecidual. Entretanto, tanto a glicerina quanto a água, moléculas polares, apresentam o fenômeno físico-químico de atração mútua, que promove a condensação do volume, caracterizando uma ação desidratante, que a rigor, consiste em uma diminuição de volume exercida pela glicerina nas preparações que nela forem conservadas, propriedades esta, fundamental para explicar tanto a ocorrência da delaminação, ou seja, do

deslocamento das camadas do colágeno, quanto o evento da retração dos núcleos celulares.

Os tecidos conservados em glicerina a 98% devem ser reidratados antes da realização dos enxertos (ALVARENGA, 1992; SMITH et al., 1996). O tempo de reidratação para tecidos pequenos segundo as indicações de SARTORI FILHO et al., (1997) deve ser de pelo menos 15 minutos. Porém esse tempo pode variar de acordo com a forma, espessura e tamanho do material, pois, enxertos de formas arredondados e de dimensões aumentadas podem a reidratação durar até 24 horas (SMITH et al., 1996).

Em associação à preservação destes materiais, faz-se necessária a avaliação de alterações na estrutura de sustentação dos tecidos, considerada de grande importância. Dessa forma, alguns estudos foram realizados neste âmbito (DALECK et al. 1987; DALECK et al. 1988; DALECK et al. 1992; MOTA et al. 2002; NOLASCO et al. 2003).

No que se refere às descrições sobre a histologia das membranas ora estudadas, nos tratados, atlas e estudos científicos, estes descrevem que a função principal do peritônio e de outras membranas serosas é a de reduzir a fricção entre o movimento dos órgãos; a membrana serosa peritoneal consiste de uma camada de células planas e uma camada de tecido conjuntivo de espessura e estrutura variáveis, contendo células, vasos sanguíneos, vasos linfáticos e fibras nervosas imersos em matriz do conjuntivo. Sob o microscópio de luz, as células mesotélias são planas com núcleos que se salienta do citoplasma para dentro da cavidade peritoneal (THE PERITONEUM..., 2000; DYCE et al., 2004; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

O aspecto das células mesoteliais e das fibras conjuntivas do peritônio autólogo ou homólogo em cão, conservado em glicerina, durante 30, 90 ou 240 dias não sofreram alterações, embora as fibras se mostraram mais acidófilas em relação ao material a fresco (DALECK et al., 1987).

Em outro estudo, DALECK et al., (1988) observaram que o peritônio bovino conservado em glicerina a 98 % por 60 dias apresentava-se semelhante ao peritônio a fresco, somente algumas fibras apareceram mais acidófilas, retraídas e com núcleos condensados. Também DALECK et al., (1992) notaram que o peritônio bovino sob as mesmas condições de conservação, exibiu, após 180 dias, células mesoteliais e fibras conjuntivas semelhantes ao material processado a fresco, diferindo do estudo anterior, nos núcleos das células que se apresentavam ligeiramente retraídos e mais basófilos.

Internamente ao mediastino, o coração e os grandes vasos sanguíneos estão incluídos em um saco seroso fibrocolágeno compacto frouxo, denominado de pericárdio, este saco protetor é composto de duas camadas, separadas por um espaço chamado de cavidade pericárdica. A camada exterior é denominada de pericárdio parietal, e a interna de pericárdio visceral (STEVENS & LOWE, 1992; ROSS, 1999).

O pericárdio parietal consiste na união de duas camadas teciduais, uma camada exterior, compacta, formada de tecido conjuntivo fibroso e uma camada serosa interna. A camada serosa é composta por tecido conjuntivo frouxo e tecido epitelial simples pavimentoso, o mesotélio, que secreta uma pequena quantidade de líquido. Esta camada fluida lubrifica as superfícies para permitir a fricção causada pelo movimento livre do coração dentro do pericárdio durante contrações musculares. A camada fibrosa do pericárdio parietal é

unida ao diafragma e funde-se com a parede exterior dos grandes vasos sanguíneos que saem do coração (ROSS, 1999; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

Assim, o pericárdio parietal dá forma a um saco forte para a proteção do coração e o pericárdio visceral reveste o exterior desse órgão e apresenta uma camada externa de células mesotélias planas, que encontram-se sobre um estroma do tecido fibrocolágeno de sustentação que contem fibras elásticas, tal qual as grandes artérias que fornecem sangue à parede cardíaca, e as grandes veias que drenam dessa região. As grandes artérias (artéria coronária) e as grandes veias (veias cardíacas) são cercadas pelo tecido adiposo, que se expande para o epicárdio (ROSS, 1999; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

A fáscia lata é a continuação distal da fáscia glútea que cobre os músculos laterais da coxa, estendendo-se desde o músculo semitendinoso ao músculo bíceps femoral, recobrando frouxamente o quadríceps femoral (NICKEL et al., 1985). As massas musculares são estruturas distintas separadas pelo tecido conjuntivo denso chamado de fáscia, considerada a cápsula do órgão, sendo chamadas de epimísio pelos histologistas. As fibras individuais dos feixes ou fascículos estão separadas por uma trama delicada de tecido conjuntivo frouxo, o endomísio (BANKS, 1992).

SILVA et al., (2000) em um experimento semelhante ao de BACON et al. (1984), relatam que o auto-enxerto de fáscia lata utilizado na reparação do ligamento cruzado rompido experimentalmente em cães, mantém a estabilidade da articulação do joelho, apresentando-se macroscopicamente espesso, com diâmetro superior ao do ligamento normal. À microscopia, exhibe intensa presença de tecido conjuntivo, contendo colágeno envolvido por tecido

conjuntivo frouxo, que ao longo do tempo organiza-se em feixes paralelos e com fibras onduladas.

RODASKI et al., (2000) utilizaram experimentalmente na mioplastia do esfíncter anal externo em cães a fásia lata autóloga, e concluíram que tanto as características desta membrana, tais como elasticidade e resistência, além do fato de se constituir um material autólogo, e, portanto com antigenicidade nula, permitiu a realização deste experimento sem ocorrência de complicações pós-operatórias como estenose anal, rejeição e desprendimento do enxerto.

O testículo é revestido por uma túnica serosa, constituída de mesotélio e lâmina própria, ela recebe o nome de túnica vaginal, que apresenta uma lâmina parietal, o peri-órquio, e uma lâmina visceral, o epi-órquio. A lâmina parietal pode conter fibras musculares lisas, pertencentes ao músculo cremáster (DIO, 1999).

No que se refere à túnica vaginal, esta estrutura é um saco seroso que envolve cada testículo, sendo derivado do peritônio. Esta túnica consiste de duas camadas: uma parietal exterior e uma visceral interna, que recobre a túnica albugínea nas porções anterior e lateral de cada testículo (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

A lâmina visceral recobre a maior parte do testículo e epidídimo, conectando o epidídimo ao testículo por meio de uma dobra distinta. Da borda posterior do testículo reflete-se sobre a superfície interna do escroto. A lâmina parietal é mais extensa do que a visceral, estendendo-se tanto na parte dianteira, medial e abaixo do testículo. A superfície interna da túnica vaginal é lisa, e coberta por uma camada de células mesoteliais. O intervalo entre a

lâmina visceral e parietal constitui a cavidade da túnica vaginal (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004; TUNICA VAGINALIS, 2006).

GALERA, (1999) utilizou com êxito a lâmina parietal da túnica vaginal autógena a fresco, em ceratoplastias lamelares experimentais em cães, e concluiu que o emprego desta membrana é eficaz e de baixo custo e que as córneas que as receberam evoluíram dentro dos padrões clássicos de reparação tecidual, com poucas seqüelas cicatriciais.

NORONHA et al., (2001) relatam que o funículo espermático do jumento (*Equus asinus*, L. 1758) da raça Pêga mostra-se envolvido por uma delgada cápsula de tecido conjuntivo denso, revestido por epitélio simples pavimentoso, o mesotélio, caracterizando a lâmina visceral da túnica vaginal. Estas descrições também são relatadas por CARVALHAL et al., (2000) em estudos realizados em ovinos da raça Corriedale (*Ovis aries*, L. 1758).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 - Animais**

Foram utilizados no presente estudo 15 ovinos da raça Santa Inês, adultos machos, fornecidos pela Estância Santa Bárbara do município de Poloni no Estado de São Paulo, os quais foram destinados ao abate em decorrência de outros experimentos, cujas abordagens não interferiram nas estruturas analisadas neste trabalho. O abate ocorreu no setor de caprinocultura da FCAV, Câmpus de Jaboticabal e foi realizado mediante normas de abate de animais destinados ao consumo, pois parte da carne foi conduzida para esta finalidade.

#### **3.2 - Colheita do material**

Foram colhidos após o abate, quatro tipos de membranas: o pericárdio parietal, o peritônio parietal, a túnica vaginal parietal e a fásia lata. Após este procedimento, as amostras foram devidamente lavadas em água corrente para a retirada de resíduos.

Parte das amostras, denominadas a fresco, foram acondicionadas em recipientes de boca larga, submersas em solução fisiológica de NaCl a 0,9%. A outra parte das amostras foi colocada em recipientes contendo glicerina a 98%, conservada em temperatura ambiente; a proporção glicerina/membrana foi superior a 20:1.

### **3.3 - Processamento do Material**

Após a colheita, as amostras conservadas em solução fisiológica de NaCl a 0,9%, denominadas a fresco e consideradas do grupo controle, foram divididas em duas partes: uma delas encaminhada ao Setor de Técnicas Morfológicas do Laboratório de Anatomia, para o processamento e análise à microscopia de luz; a outra levada ao Laboratório de Microscopia Eletrônica da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/Unesp - Câmpus de Jaboticabal, para preparação e análise ultra-estrutural.

As amostras destinadas à conservação em glicerina a 98% foram divididas e processadas para a análise histológica aos 15, 30, 60 e 90 dias.

A análise ultra-estrutural foi realizada nas amostras conservadas em glicerina a 98% por 30 dias, tempo este considerado o mínimo para a conservação da membrana nesta substância, antes da sua utilização em cirurgias.

#### ***3.3.1 – Microscopia de Luz***

Os tecidos conservados em glicerina foram inicialmente reidratados por 20 minutos, procedimento semelhante ao que são submetidos nos períodos pré e trans-operatório e, em seguida, processados mediante rotina histológica.

Para o processamento histológico de cada amostra, tanto a fresco quanto conservada em glicerina, um fragmento foi coletado e fixado em formol tamponado a 10%, sendo posteriormente incluído em Histosec<sup>®</sup> (Merck).

Para inclusão em Histosec<sup>®</sup>, o material foi lavado em álcool a 70% para retirar o excesso do fixador. Em seguida, os fragmentos foram submetidos à desidratação, mediante imersão consecutiva em álcool 70 %, 80%, 90% e 100 %, durante três horas e, posteriormente, realizou-se a diafanização com xilol



por 90 minutos. Após este procedimento, o material foi embebido em Histosec<sup>®</sup> por 90 minutos, em estufa à temperatura de 56 °C e, na seqüência procedeu-se a inclusão.

A microtomia do material foi realizada em micrótomo automático (Leica, RM 2155), obtendo-se cortes de 5 µm com auxílio de navalhas descartáveis, os quais foram submetidos à coloração por hematoxilina e eosina (HE), de acordo com as técnicas descritas por TOLOSA et al., (2003). Algumas preparações foram fotodocumentadas em microscópio de luz BX-50 (Olympus<sup>®</sup>).

### **3. 3. 2 - Avaliação ultra-estrutural**

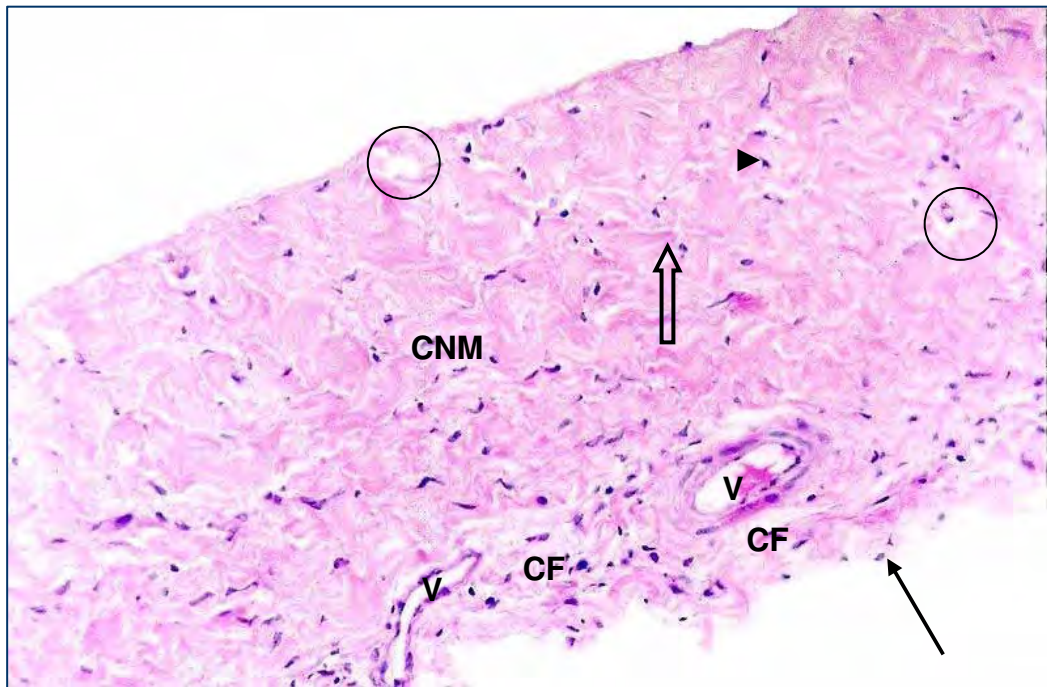
Seguindo metodologia estabelecida pelo Laboratório de Microscopia Eletrônica da FCAV/UNESP, as amostras do material foram fixadas em solução de glutaraldeído a 2,5% em tampão fosfato (0,1 M, pH 7,4) por 48 horas, lavadas em tampão fosfato, tratadas com tetróxido de ósmio a 1%, lavadas novamente em tampão fosfato, desidratadas em série crescentes de álcool (30% a 100%), durante 20 minutos cada etapa, secadas ao ponto crítico no aparelho EMS 850<sup>®</sup>, metalizadas com íons de ouro em um aparelho DESK II<sup>®</sup> (DETON VACUUM) examinadas e fotografadas ao microscópio eletrônico de varredura JEOL<sup>®</sup> (JSM 5410), operando com feixe de elétrons de 15 keV. As observações relativas às diferentes amostras foram comparadas.

#### 4. RESULTADOS

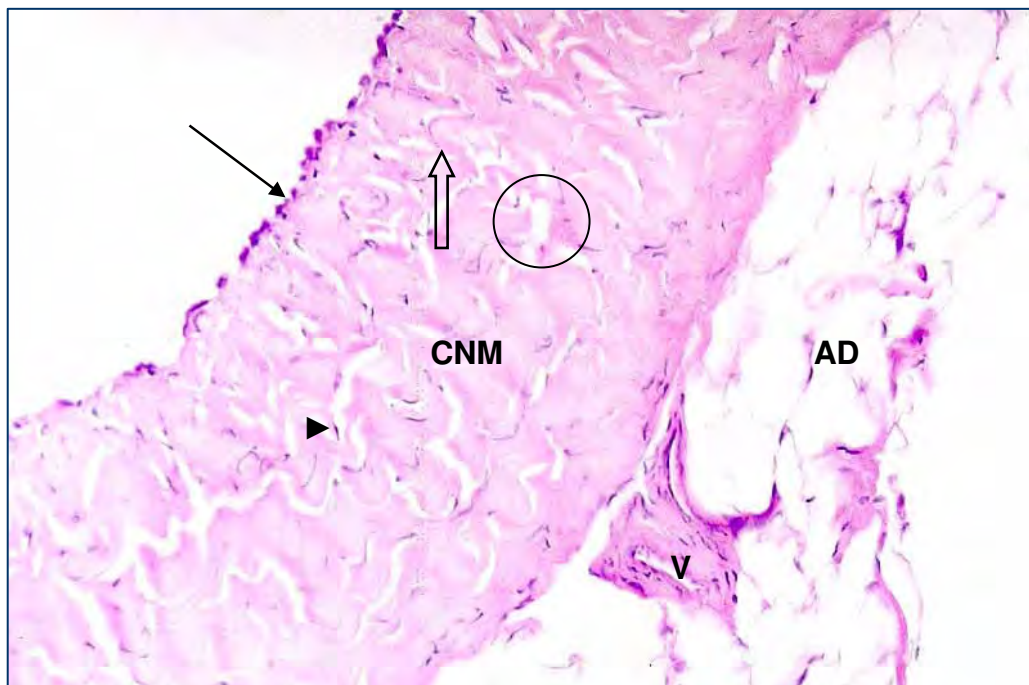
Constatou-se para todas as membranas analisadas, que tanto as amostras do material a fresco, quanto às conservadas em glicerina a 98%, nos dias 15, 30, 60 e 90, ao serem observadas ao microscópio de luz, apresentaram a mesma constituição estrutural, embora, no caso do material conservado em glicerina, algumas alterações como espaçamento entre as fibras de colágeno, puderam ser evidenciadas.

Quanto ao saco pericárdico parietal, a fresco observou-se a presença de um epitélio simples pavimentoso (mesotélio), repousando sobre uma camada de tecido conjuntivo frouxo, seguida por outra camada fibrocolágena compacta denominada de tecido conjuntivo denso não modelado, com fibras pouco acidófilas dispostas irregularmente, próximas entre si, e com núcleos de células (fibrobrócitos) acentuadamente basófilos; pode-se observar também vasos sangüíneos que muitas vezes são circundados por tecido adiposo, e em algumas preparações evidencia-se uma imagem negativa da substância fundamental amorfa (Fig. 2).

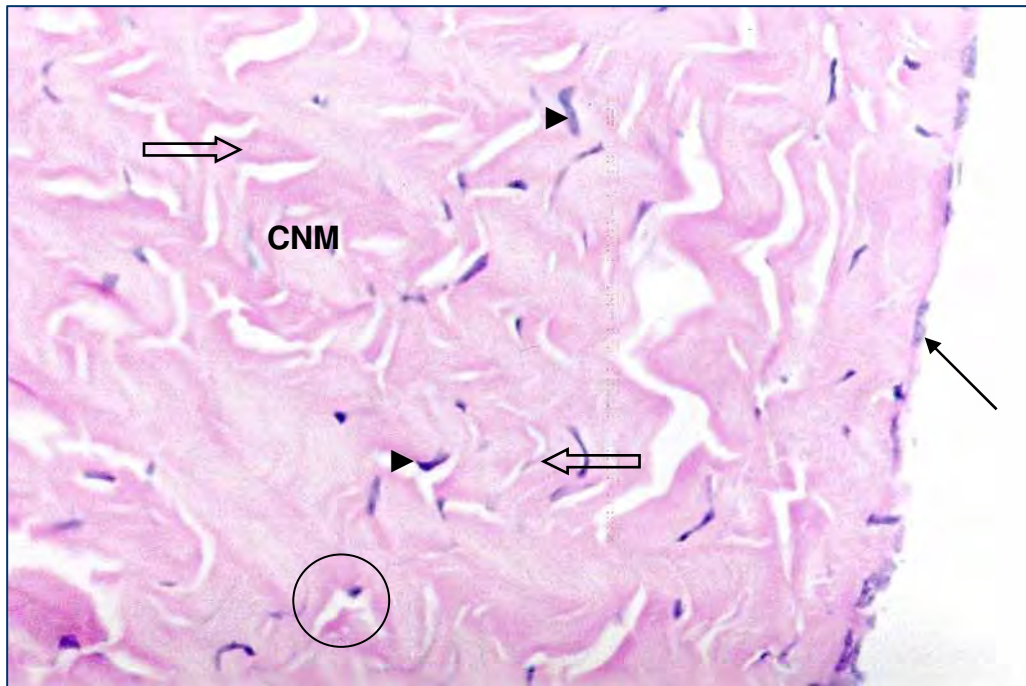
Nas amostras de pericárdio parietal conservadas em glicerina a 98%, nos dias 15, 30, 60 e 90, foi verificada uma desorganização tecidual, mais acentuada aos 15 dias (Figs. 3, 4, 5 e 6).



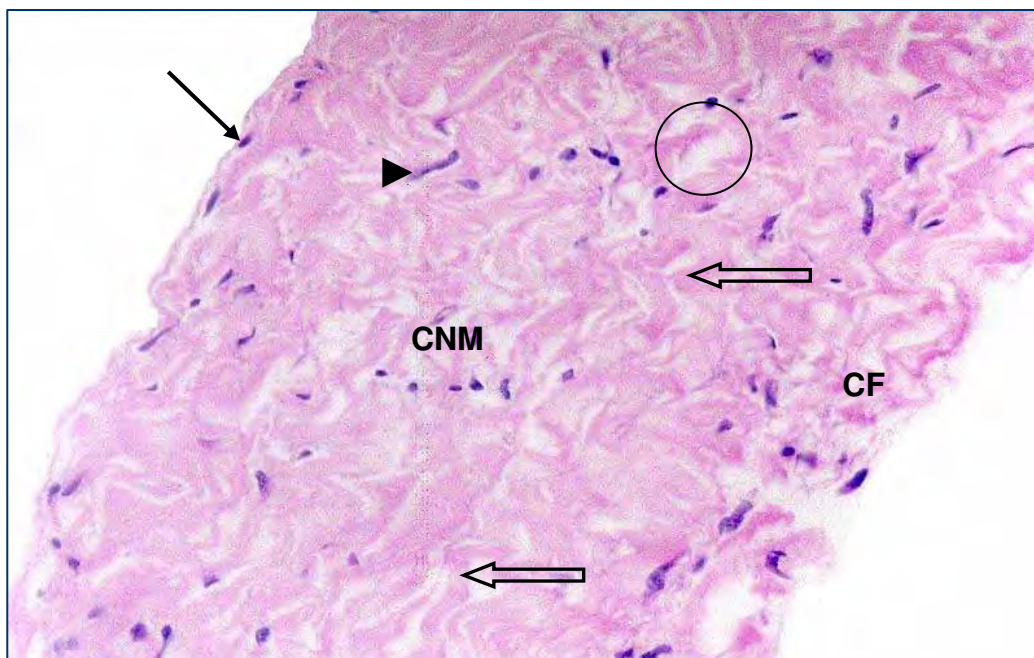
**Figura 2** - Fotomicrografia de amostra de pericárdio parietal a fresco (grupo controle) de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa o mesotélio (seta); tecido conjuntivo denso não modelado (CNM); fibras colágenas dispostas irregularmente (seta vasada); núcleo de fibrócitos (▶); vasos sanguíneos (v) entremeados tecido conjuntivo frouxo (CF); imagem negativa da substância fundamental amorfa (círculo). HE, 200x.



**Figura 3** - Fotomicrografia de amostra de pericárdio parietal conservada em glicerina 98%, aos 15 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma desorganização tecidual mais acentuada do que nas amostras a fresco; verifica-se a presença de mesotélio (seta); tecido conjuntivo denso não modelado (CNM); fibras colágenas dispostas irregularmente (seta vasada); núcleo de fibrócitos (▶); vasos sanguíneos (v) entremeados em tecido adiposo (AD); imagem negativa da substância amorfa (círculo). HE, 200x.

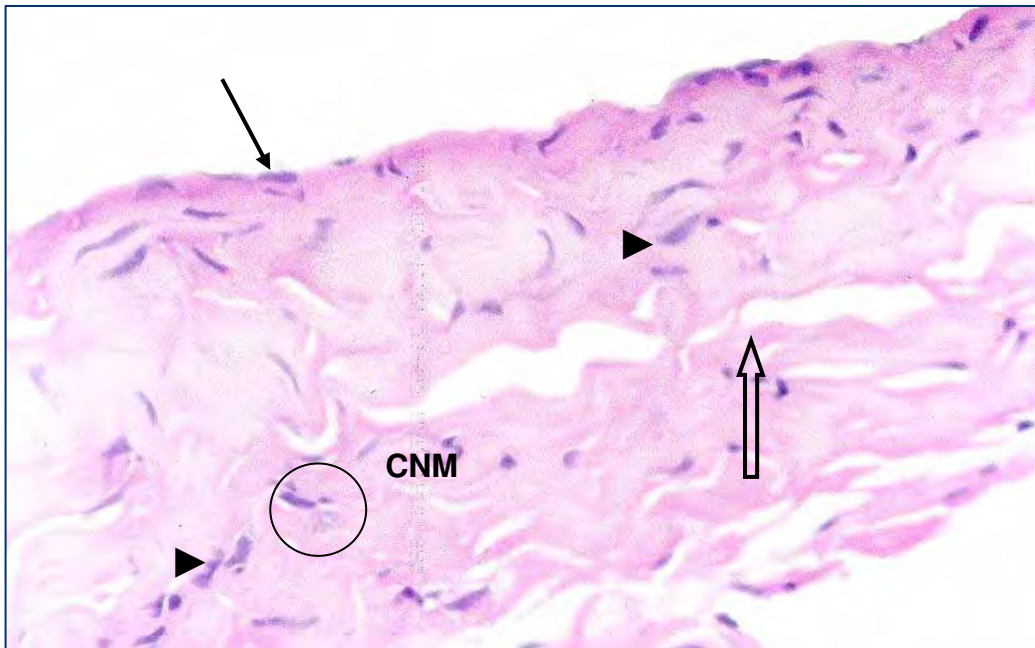


**Figura 4** -Fotomicrografia de amostra de pericárdio parietal conservada em glicerina 98%, aos 30 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma desorganização tecidual mais acentuada do que nas amostras a fresco; verifica-se a presença de mesotélio (seta); tecido conjuntivo denso não modelado (CNM); fibras colágenas dispostas irregularmente (seta vasada); núcleo de fibrobrócitos (▶), imagem negativa da substância amorfa (circulo). HE, 400x.



**Figura 5** - Fotomicrografia de amostra de pericárdio parietal conservada em glicerina 98%, aos 60 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma desorganização tecidual mais acentuada do que nas amostras a fresco; verifica-se a presença de mesotélio (seta); tecido conjuntivo denso não modelado (CNM); fibras colágenas dispostas irregularmente (seta vasada); tecido conjuntivo frouxo (CF); núcleo de fibrobrócitos (▶); vasos sanguíneos (V); imagem negativa da substância amorfa (circulo). HE, 400x.

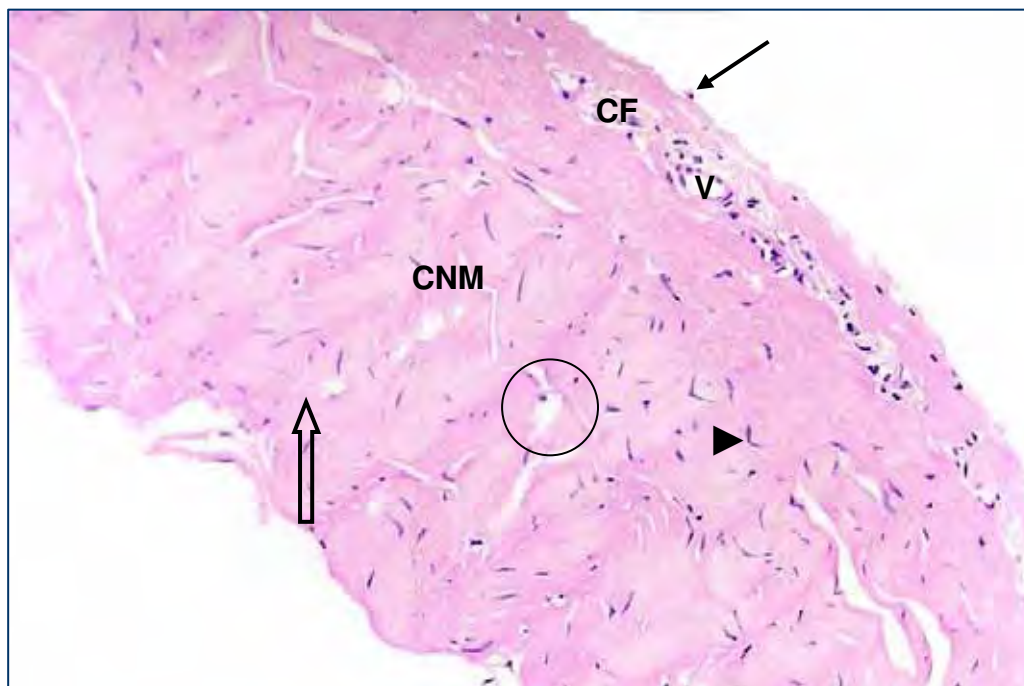




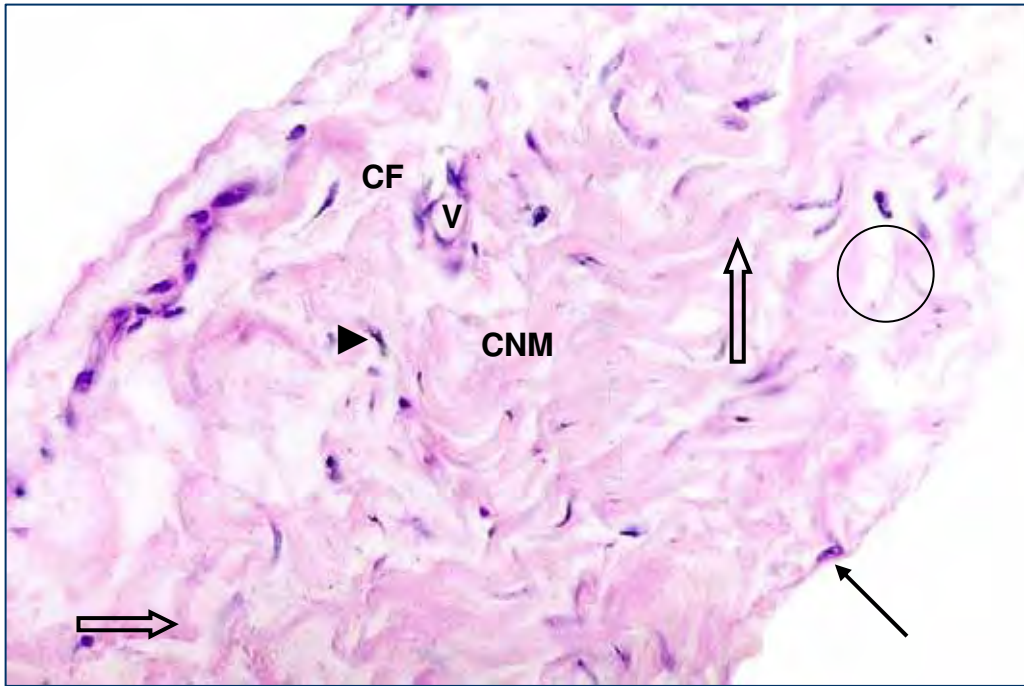
**Figura 6 -** Fotomicrografia de amostra de pericárdio parietal aconservada em glicerina 98%, aos 90 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma desorganização tecidual mais acentuada do que nas amostras a fresco; verifica-se a presença de mesotélio (seta); tecido conjuntivo denso não modelado (CNM); fibras colágenas dispostas irregularmente (seta vasada); núcleo de fibrobrócitos (▶); imagem negativa da substância fundamental amorfa (círculo). HE, 400x.

Com relação à amostra de peritônio parietal a fresco, observa-se a disposição irregular de tecido fibrocolágeno chamado de tecido conjuntivo denso não modelado, revestido por um epitélio simples pavimentoso (mesotélio), apresentando núcleo de célula (fibrobrócitos) basófilos, presença de vasos sanguíneos entremeado em tecido conjuntivo frouxo; evidencia-se também, em algumas regiões, uma imagem negativa da substância fundamental amorfa (Fig. 7).

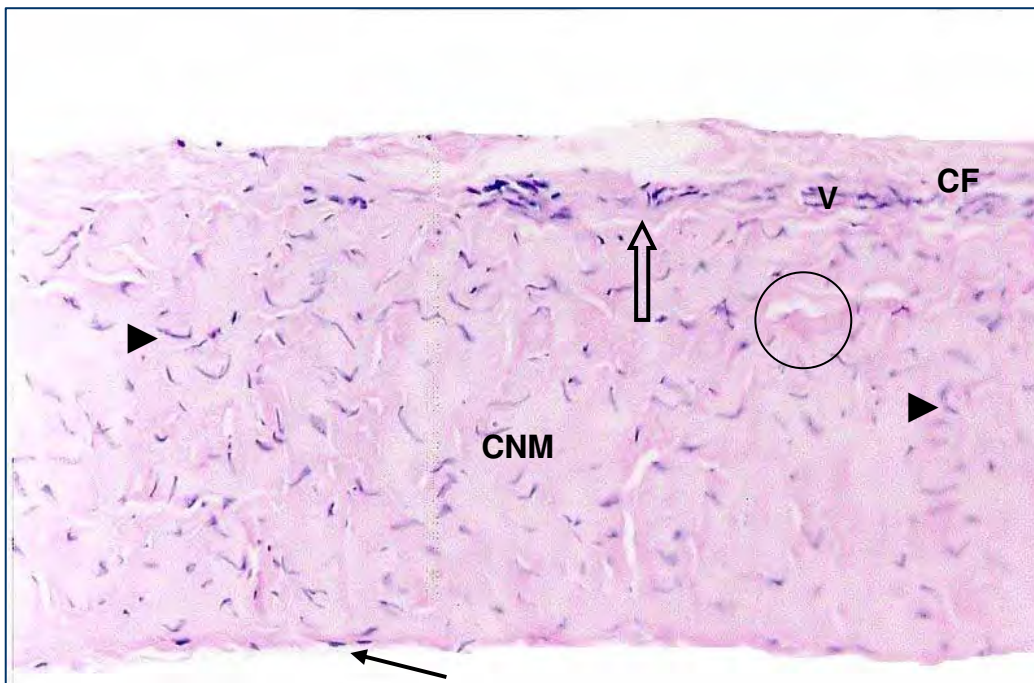
Quanto às amostras de peritônio parietal conservadas em glicerina 98% nos dias 15, 30, 60 e 90 dias, evidenciou-se maior desorganização do tecido conjuntivo denso não modelado aos 15 dias, embora, aos 30 dias sua organização assemelha-se novamente às amostras a fresco (Figs. 8, 9, 10 e 11).



**Figura 7** - Fotomicrografia de amostra de peritônio parietal a fresco (grupo controle) de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa o mesotélio (seta); tecido conjuntivo denso não modelado (CNM); fibras colágenas dispostas irregularmente (seta vasada); núcleo basófilos de fibrócitos (►); vasos sanguíneos (v) entremeados em tecido conjuntivo frouxo evidente (CF); imagem negativa da substância fundamental amorfa (circulo). HE, 200x.

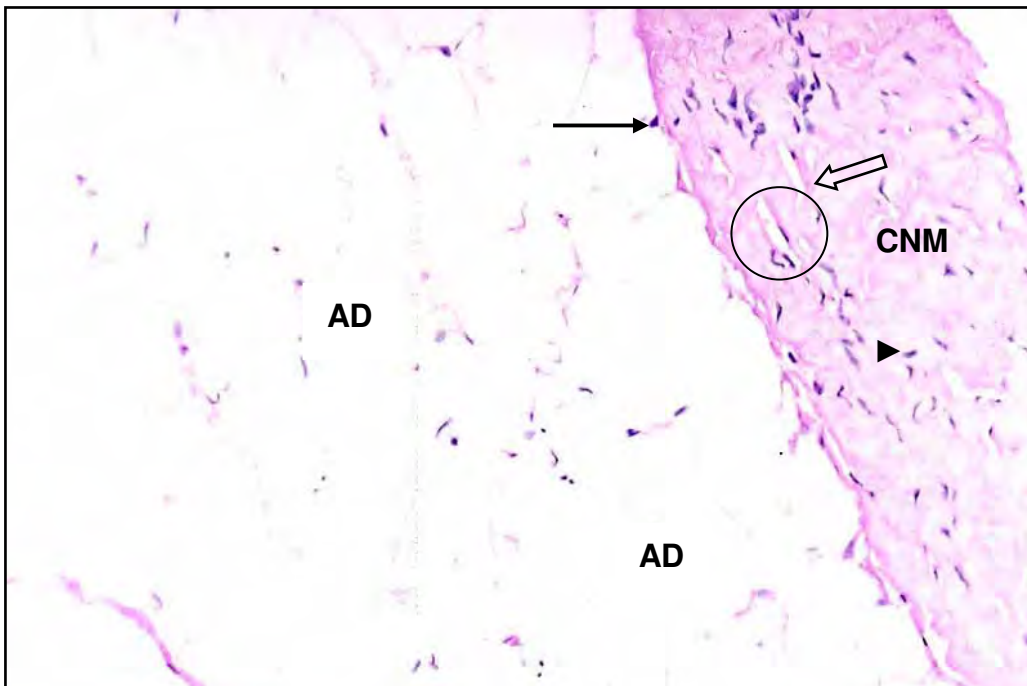


**Figura 8** - Fotomicrografia de amostra de peritônio parietal conservada em glicerina 98%, aos 15 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma desorganização tecidual mais acentuada neste tempo em relação às amostras a fresco; verifica-se também a presença de mesotélio (seta); tecido conjuntivo denso não modelado (CNM); fibras colágenas dispostas irregularmente (seta vasada); núcleos basófilos de fibrobrócitos (►); vasos sanguíneos (v) entremeados no tecido conjuntivo frouxo (CF); imagem negativa da substância fundamental amorfa (círculo). HE, 400x

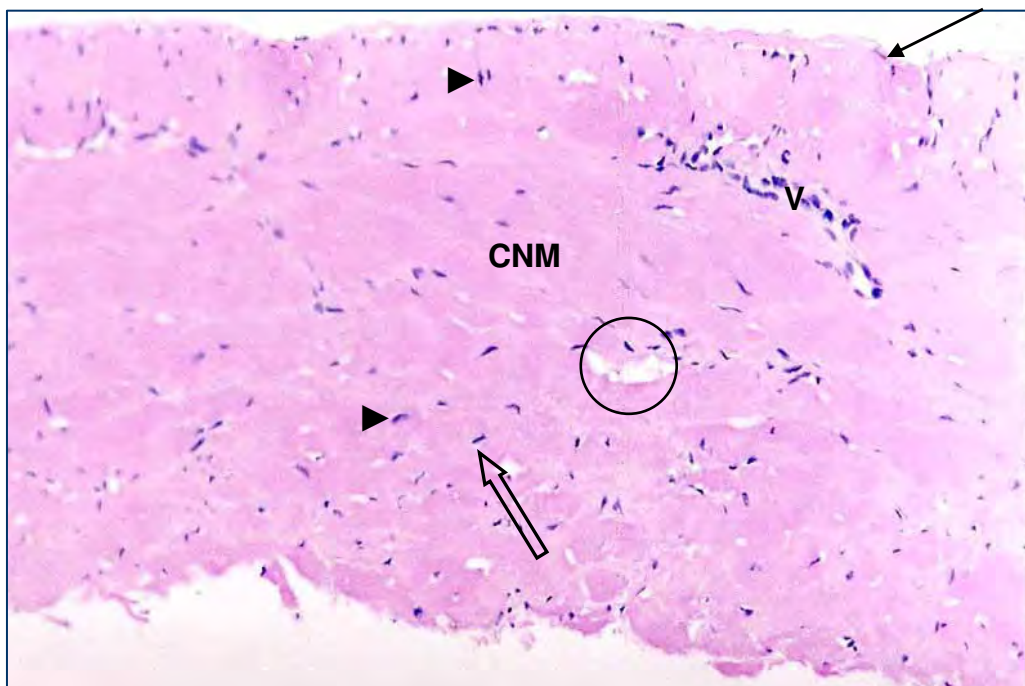


**Figura 9** - Fotomicrografia de amostra de peritônio parietal a conservada em glicerina 98%, aos 30 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma organização tecidual semelhante às amostras a fresco; verifica-se a presença de mesotélio (seta); tecido conjuntivo denso não modelado (CNM); fibras colágenas dispostas irregularmente (seta vasada); de núcleo basófilos de fibrócitos (►); vasos sanguíneos (v) entremeados no tecido conjuntivo frouxo; imagem negativa da substância fundamental amorfa (círculo). HE, 200x





**Figura 10** - Fotomicrografia de amostra de peritônio parietal conservada em glicerina 98%, aos 60 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma desorganização tecidual semelhante às amostras a fresco; verifica-se a presença de mesotélio (seta); tecido conjuntivo denso não modelado (CNM); fibras colágenas dispostas irregularmente (seta vasada); núcleos basófilos de fibrobrócitos (▶); imagem negativa da substância fundamental amorfa (círculo) notar a expansão de tecido adiposo (AD). HE, 200x

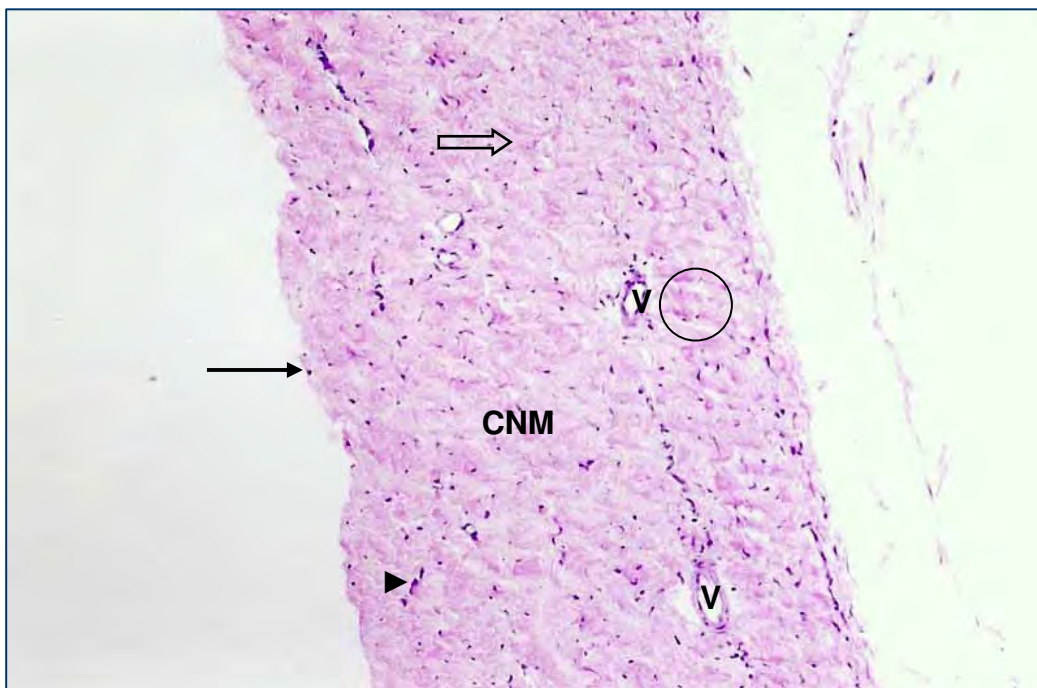


**Figura 11** - Fotomicrografia de amostra de peritônio parietal conservada em glicerina 98%, aos 90 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa organização tecidual semelhante as amostras a fresco; verifica-se a presença de mesotélio (seta); tecido conjuntivo denso não modelado (CNM); fibras colágenas dispostas irregularmente (seta vasada); núcleos basófilos de fibrobrócitos (▶); vasos sanguíneos (v) entremeados no tecido conjuntivo; e imagem negativa da substância amorfa (circulo). HE, 200x.

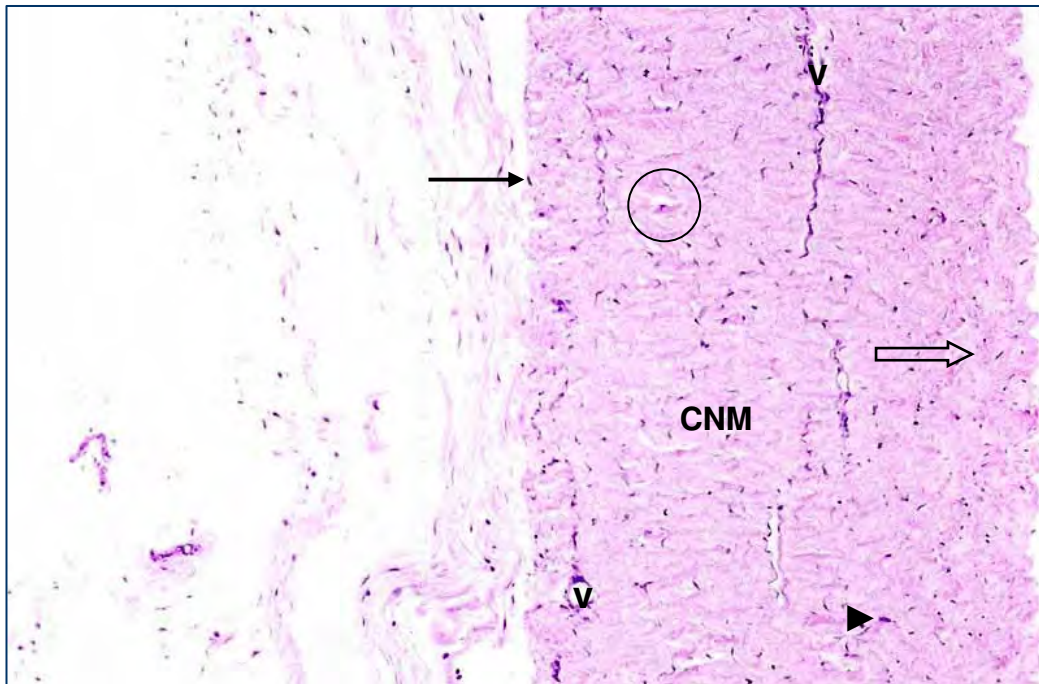


Quanto à túnica vaginal parietal, verificou-se nas amostras a fresco um epitélio simples pavimentoso (mesotélio) revestindo externamente o tecido conjuntivo denso não modelado, composto por fibras de colágeno acidófilas com disposição irregular, próximas entre si, apresentando núcleo de células do tecido conjuntivo basófilos. Verificam-se também a presença de vasos sangüíneos entremeados em fibras deste tecido conjuntivo (Fig. 12).

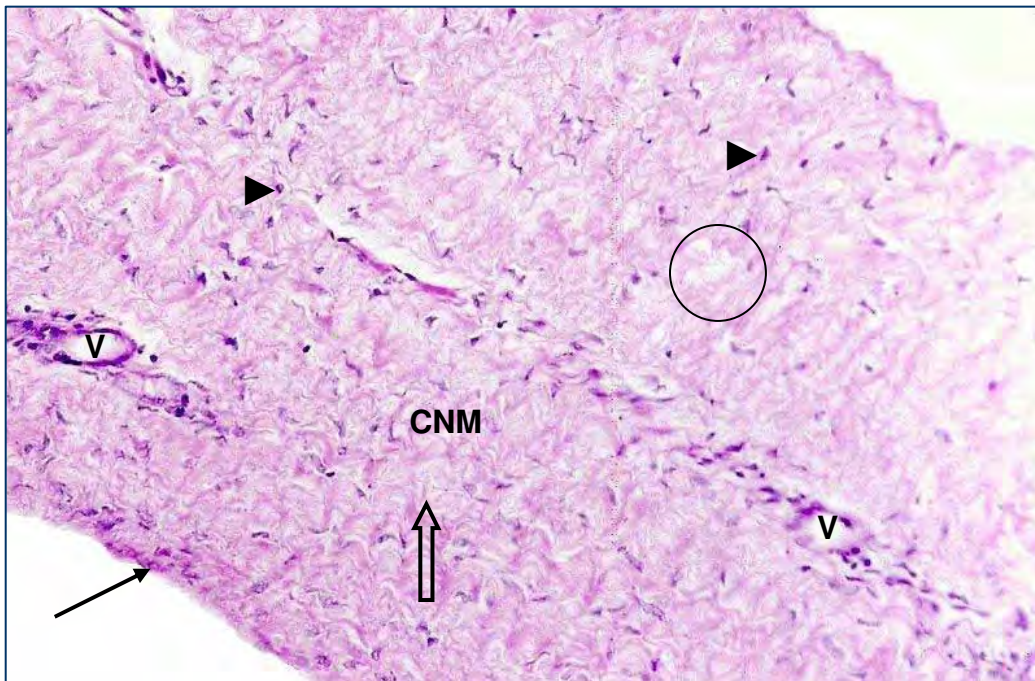
Nas amostras de túnica vaginal, conservadas em glicerina a 98%, nos dias 15, 30, 60 e 90, foi observada uma organização tecidual semelhante às preparações a fresco (Figs. 13, 14, 15 e 16).



**Figura 12** - Fotomicrografia de amostra da túnica vaginal parietal a fresco (grupo controle) de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa o mesotélio (seta); tecido conjuntivo denso não modelado (CNM); fibras colágenas acidófilas dispostas irregularmente (seta vasada); núcleos basófilos de fibrobrócitos (▶); vasos sanguíneos (v) entremeados em fibras de colágeno deste tecido conjuntivo; imagem negativa da substância fundamental amorfa (círculo). HE, 100x.

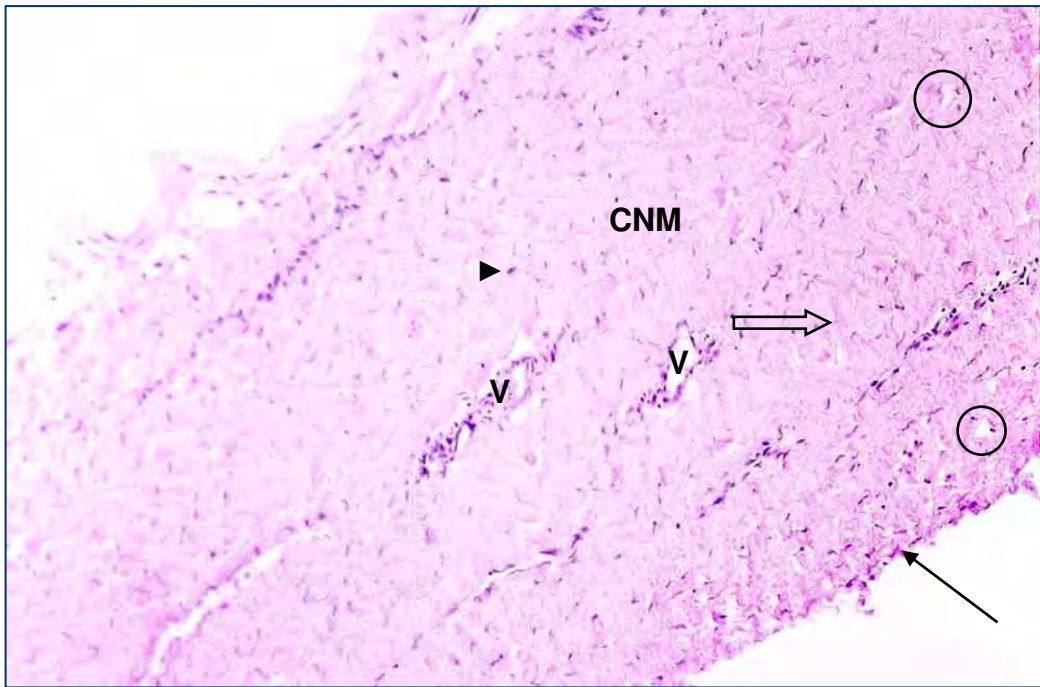


**Figura 13** - Fotomicrografia de amostra de túnica vaginal parietal conservada em glicerina 98%, aos 15 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma organização tecidual semelhante às preparações a fresco; verifica-se também a presença de mesotélio (seta); tecido conjuntivo denso não modelado (CNM); vasos sanguíneos (v) entremeados nas fibras de colágeno deste tecido, com fibras dispostas irregularmente (seta vasada); núcleo basófilos de fibrobrócitos (►) imagem negativa da substância fundamental amorfa (círculo). HE, 200x.

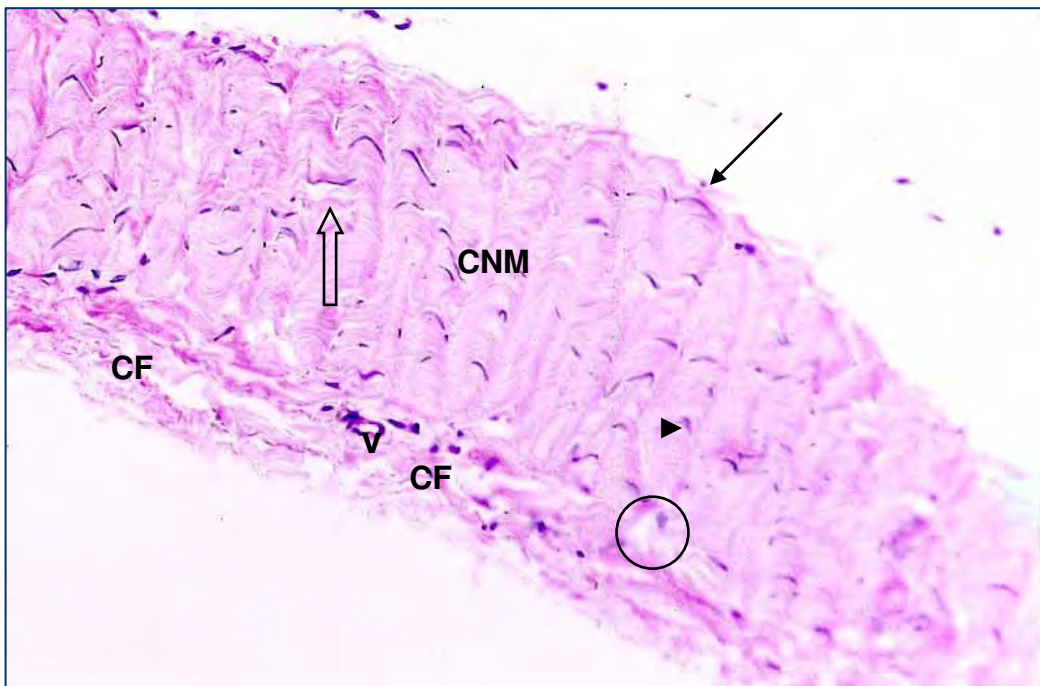


**Figura 14**- Fotomicrografia de amostra de túnica vaginal parietal conservada em glicerina 98%, aos 30 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma organização tecidual semelhante as preparações a fresco; verifica-se também a presença de mesotélio (seta); tecido conjuntivo denso não modelado (CNM); fibras colágenas dispostas irregularmente (seta vasada); núcleo basófilos de fibrobrócitos (►); vasos sanguíneos (v) entremeados neste tecido; e imagem negativa da substância fundamental amorfa (circulo). HE, 400x.





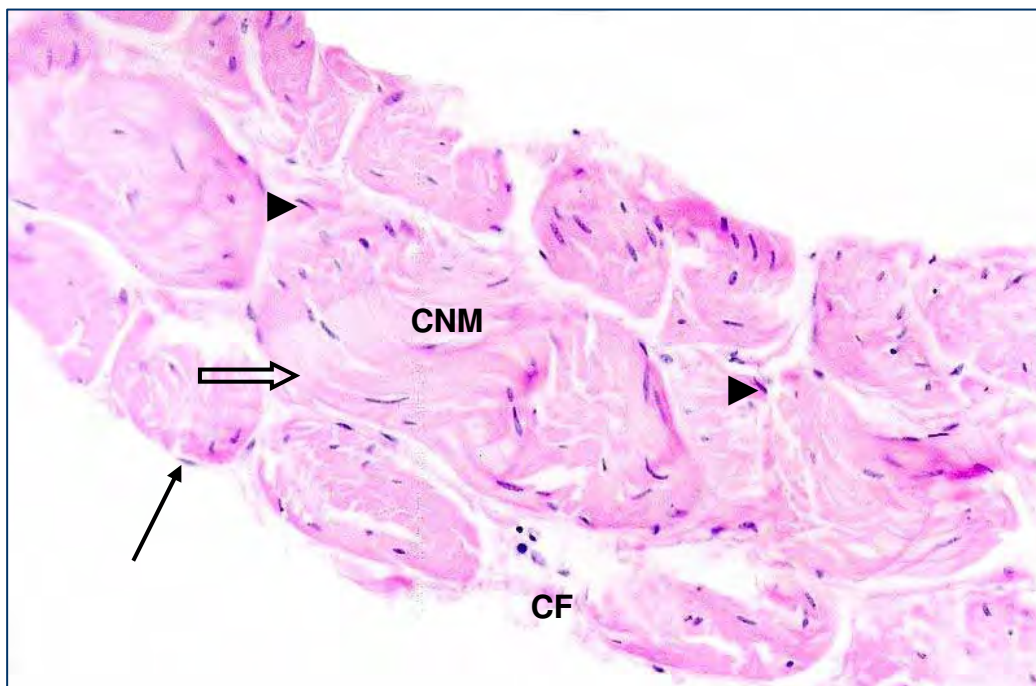
**Figura 15** - Fotomicrografia de amostra de túnica vaginal parietal conservada em glicerina 98%, aos 60 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma organização tecidual semelhante as preparações a fresco; verifica-se também a presença de mesotélio (seta) apoiando-se sobre o tecido conjuntivo denso não modelado (CNM); fibras colágenas com disposição irregular (seta vasada); núcleo basófilos de fibrobrócitos (►); vasos sanguíneos (v) entremeados neste tecido; e imagem negativa da substância amorfa (circulo). HE, 200x.



**Figura 16** - Fotomicrografia de amostra de túnica vaginal parietal conservada em glicerina 98%, aos 90 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma organização tecidual semelhante às preparações a fresco; verificando a presença de mesotélio (seta) apoiado sobre o tecido conjuntivo denso não modelado (CNM); fibras colágenas com disposição irregular (seta vasada); núcleo basófilos de fibrobrócitos (►); vasos sanguíneos (v) entremeados em tecido conjuntivo frouxo evidente (CF); e imagem negativa da substância fundamental amorfa (circulo). HE, 200x.

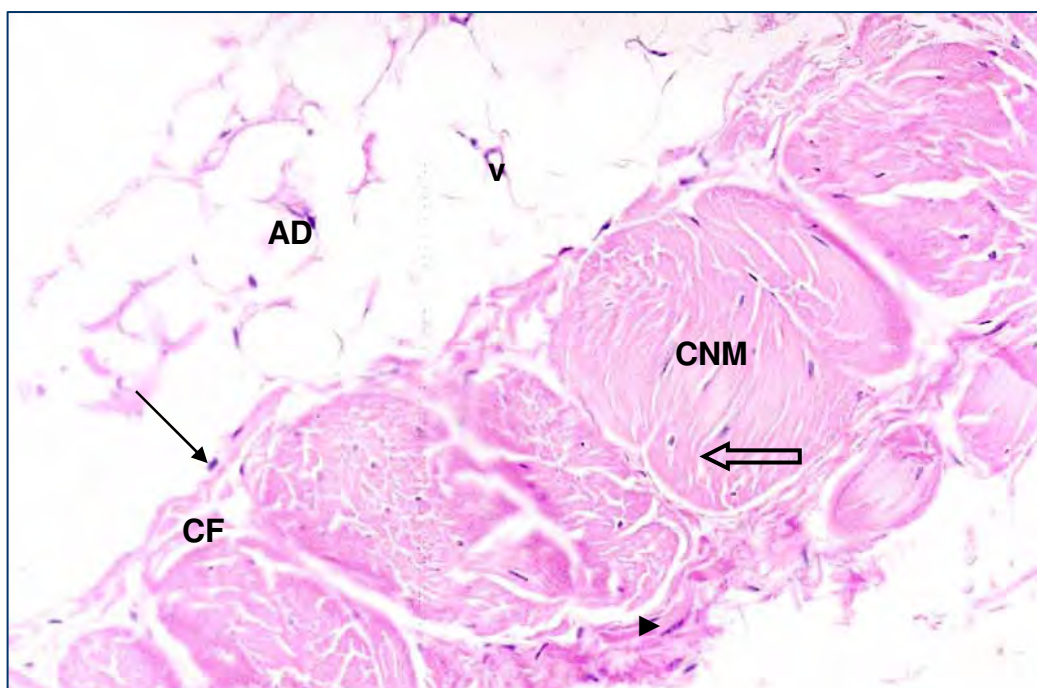
Em estudo microscópico da fáscia lata a fresco verificou-se na parte externa dessa membrana a presença de um epitélio simples pavimentoso (mesotélio) repousando sobre uma delicada trama de tecido conjuntivo frouxo. Esta camada externa se continua com tecido conjuntivo denso não modelado, o qual é composto de fibras acidófilas dispostas em todas as direções, núcleos de células do tecido conjuntivo intensamente basófilos e vasos sanguíneos (Fig. 17).

Nas amostras de fáscia lata, conservadas em glicerina a 98%, nos dias 15, 30, 60 e 90, foi observada uma organização tecidual semelhante as amostras a fresco (Figs. 18, 19, 20 e 21).

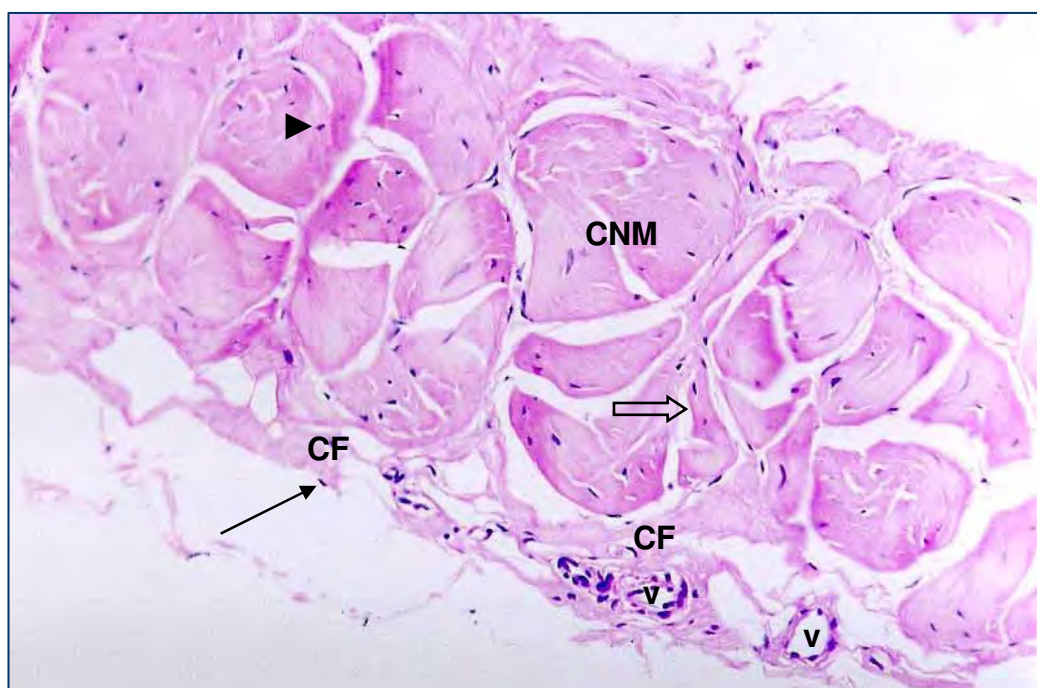


**Figura 17** - Fotomicrografia de amostra da fáscia lata a fresco (grupo controle) de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa o mesotélio (seta); seguido por tecido conjuntivo frouxo (CF) o qual envolve as grossas fibras de colágeno do tecido conjuntivo denso não modelado (CNM); fibras colágenas acidófilas dispostas irregularmente (seta vasada); núcleos basófilos de fibrócitos (▶). HE, 200x.

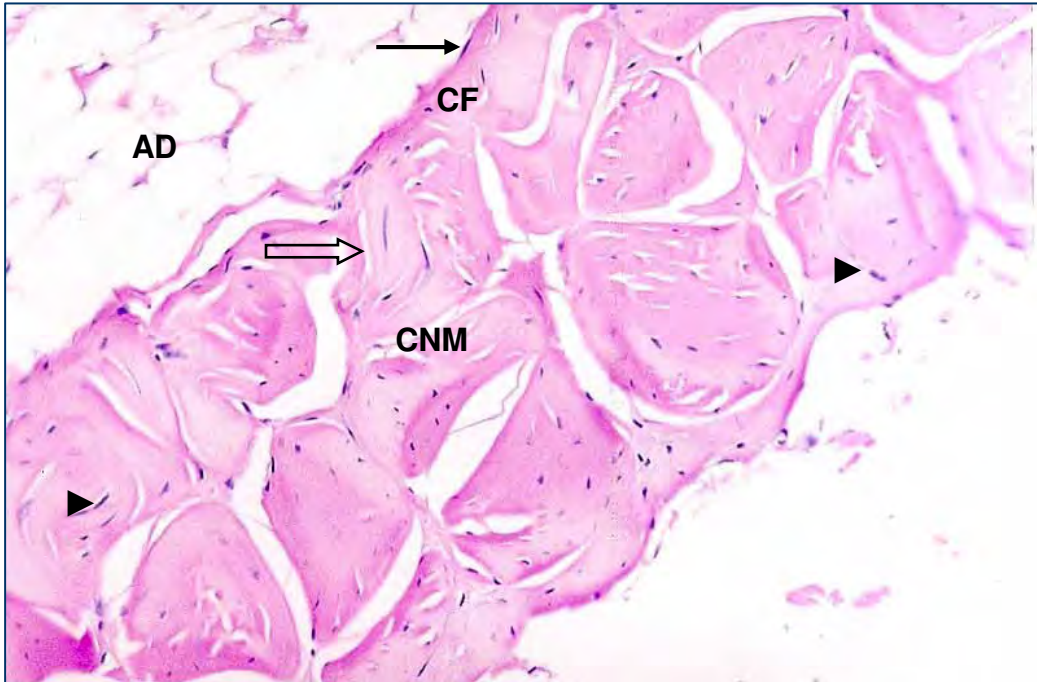




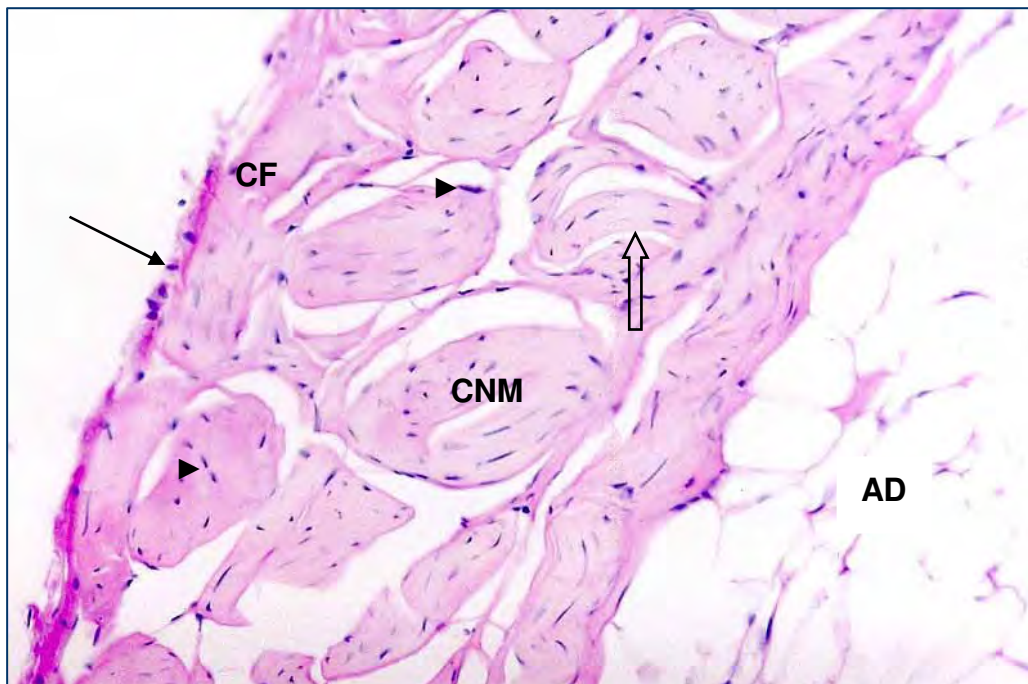
**Figura 18** - Fotomicrografia de amostra da fáscia lata conservada em glicerina 98%, aos 15 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma organização tecidual semelhante as preparações a fresco; verificando-se a presença de mesotélio (seta); seguido por tecido conjuntivo frouxo (CF) no qual envolve as grossas fibras colágenas do tecido conjuntivo denso não modelado (CNM); fibras dispostas irregularmente (seta vasada); núcleos basófilos de fibrobrócitos (▴); notar a presença de vasos sanguíneos (v) entremeados no tecido adiposo (AD). HE, 200x.



**Figura 19** - Fotomicrografia de amostra da fáscia lata conservada em glicerina 98%, aos 30 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma organização tecidual semelhante as preparações a fresco; verificando-se presença de mesotélio (seta); seguido por tecido conjuntivo frouxo (CF) o qual envolve as grossas fibras colágenas do tecido conjuntivo denso não modelado (CNM); fibras dispostas irregularmente (seta vasada); núcleos basófilos de fibrobrócitos (▴), notar a presença de vasos sanguíneos (v) entremeados no tecido conjuntivo frouxo. HE, 200x.



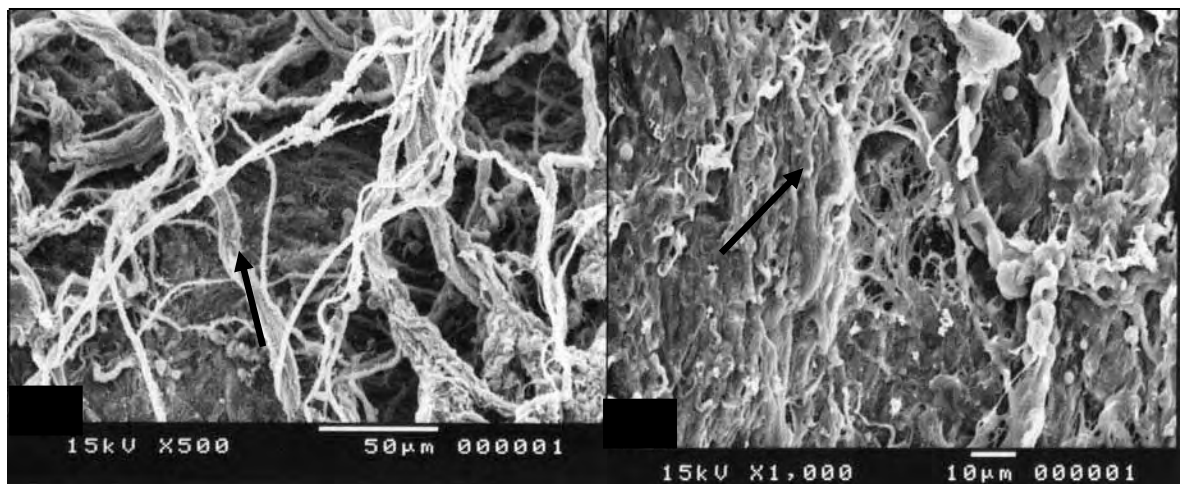
**Figura 20** - Fotomicrografia de amostra da fáscia lata conservada em glicerina 98%, aos 60 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma organização tecidual semelhante às preparações a fresco; verificando-se a presença de mesotélio (seta); seguido por tecido conjuntivo frouxo (CF) o qual envolve as grossas fibras colágenas do tecido conjuntivo denso não modelado (CNM); fibras dispostas irregularmente (seta vasada); núcleos basófilos de fibrobrócitos (▶); presença de tecido adiposo (AD). HE, 200x.



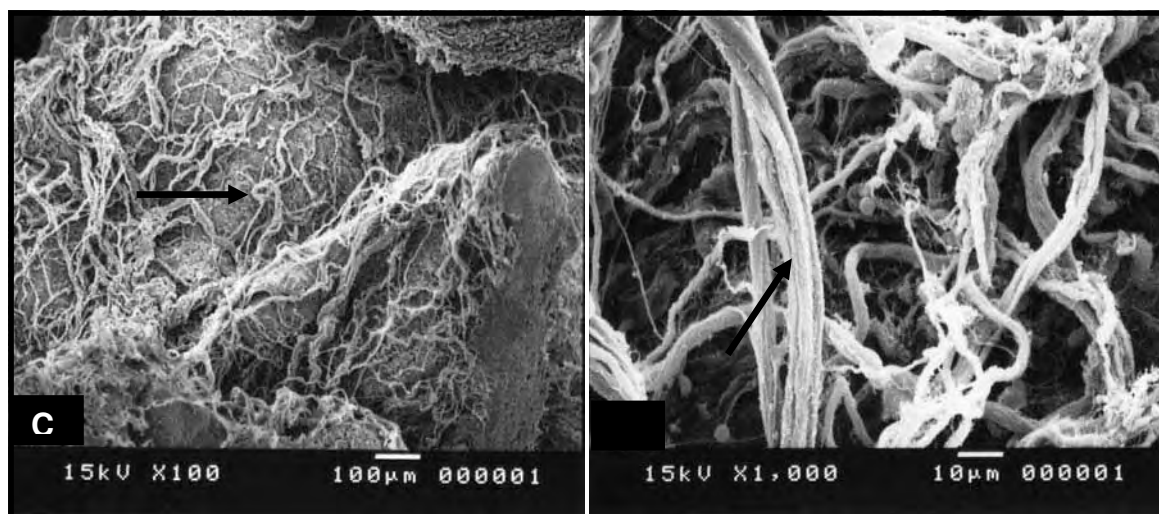
**Figura 21** - Fotomicrografia de amostra da fáscia lata conservada em glicerina 98%, aos 90 dias, de ovinos da raça Santa Inês, no qual se observa uma organização tecidual semelhante às preparações a fresco; verificando-se a presença de mesotélio (seta); seguido por tecido conjuntivo frouxo (CF) o qual envolve as grossas fibras colágenas do tecido conjuntivo denso não modelado (CNM); fibras dispostas irregularmente (seta vasada); núcleos basófilos de fibrobrócitos (▶); notar a presença de tecido adiposo (AD). HE, 200x.

Mediante a análise pela microscopia eletrônica de varredura verificou-se a integridade da organização tecidual das membranas estudadas tanto nas amostras a fresco quanto nas conservadas em glicerina a 98% no 30º dia; não se constatou intensa defibração e nem uma acentuada fragmentação das fibras colágenas, apenas um leve desarranjo (Figs. 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28 e 29).



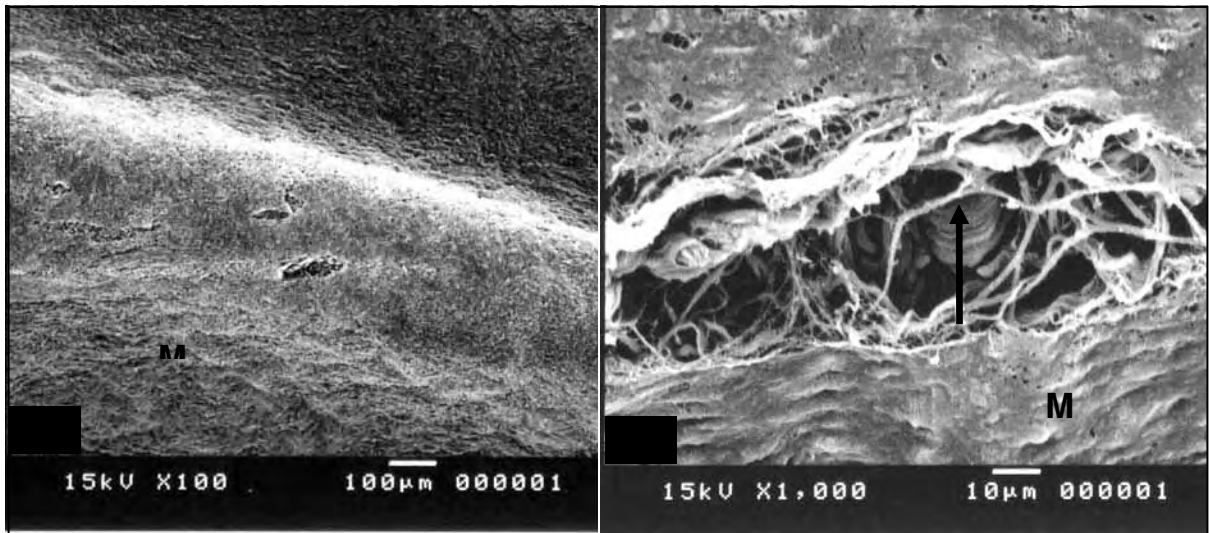


**Figura 22-** Eletromicrografia de varredura de pericárdio parietal a fresco (grupo controle) de ovino da raça Santa Inês, visão geral das estruturas, onde se observa em **A** e **B** fibras colágenas dispostas irregularmente (seta); 500x e 1000x respectivamente.

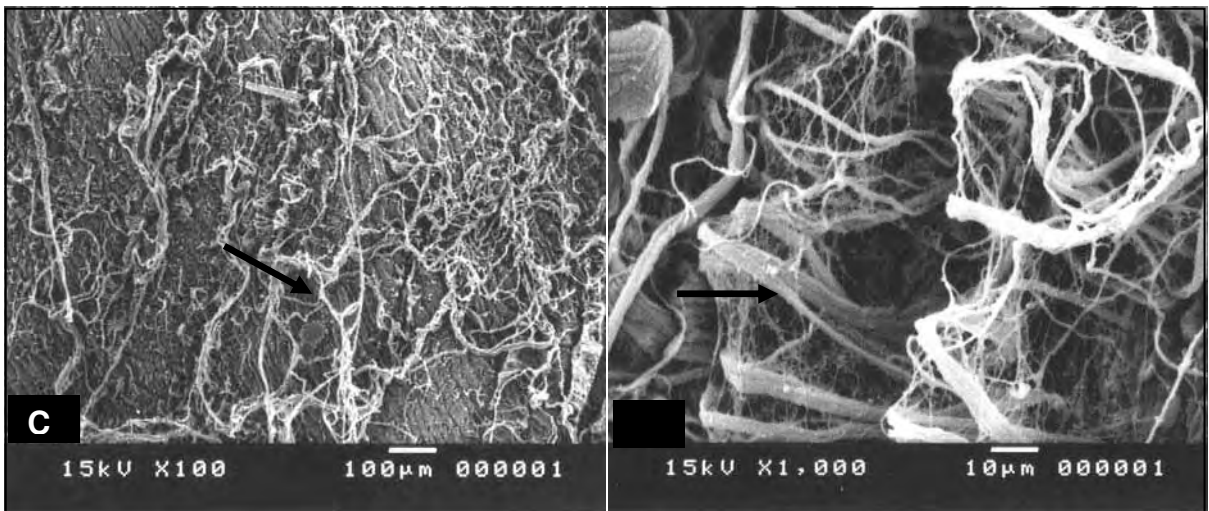


**Figura 23-** Eletromicrografia de pericárdio parietal conservado em glicerina a 98% por 30 dias de ovino da raça Santa Inês, visão geral das estruturas, onde se observa o mesmo arranjo estrutural do material a fresco, notar em **C** e **D** fibras colágenas dispostas irregularmente (seta); 100x e 1000x respectivamente.

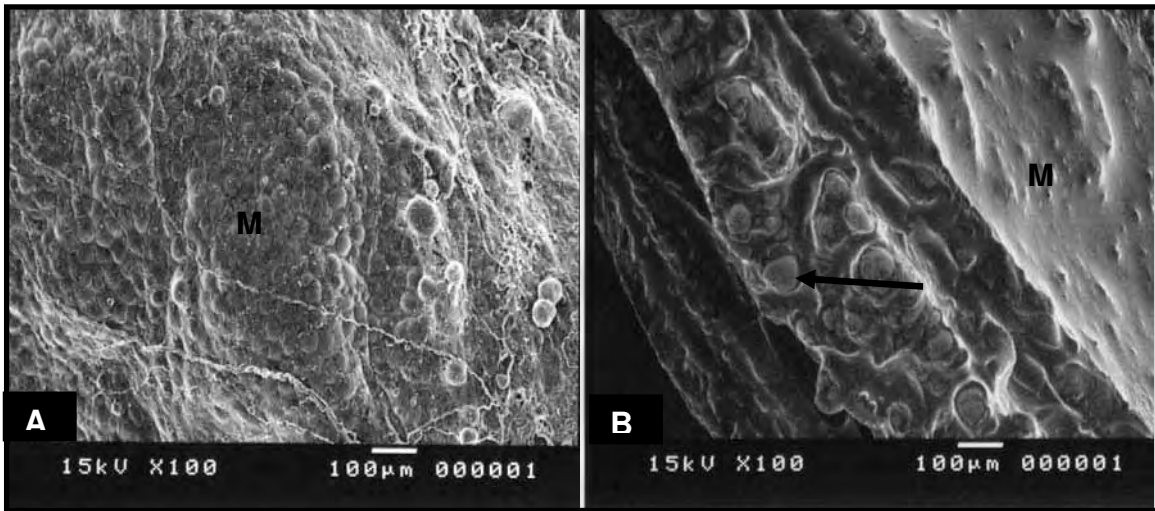




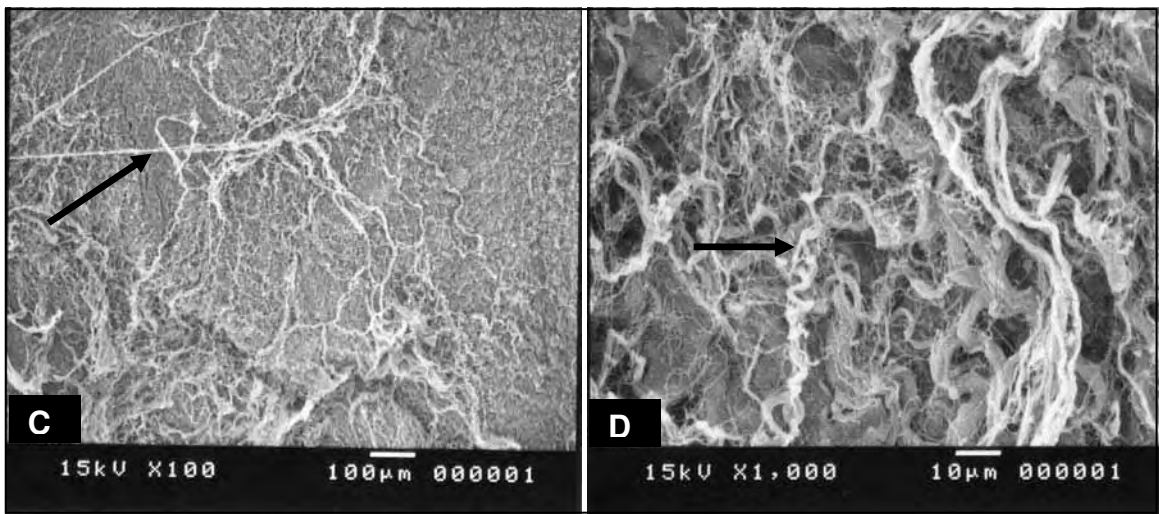
**Figura 24-** Eletromicrografia de peritônio parietal a fresco (grupo controle) de ovino da raça Santa Inês, visão geral das estruturas, onde se observa em **A** o mesotélio (M) e em **B** mesotélio (M) e fibras colágenas dispostas irregularmente (seta); 100x e 1000x respectivamente.



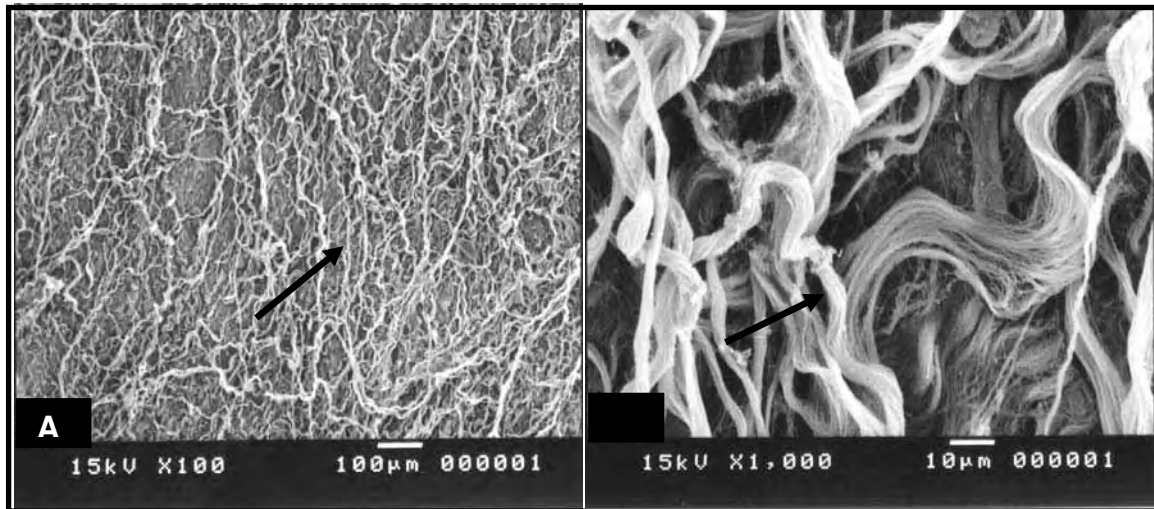
**Figura 25-** Eletromicrografia de peritônio parietal conservado em glicerina a 98% por 30 dias de ovino da raça Santa Inês, visão geral das estruturas, com o mesmo arranjo estrutural do material a fresco, notar em **C** e **D** disposição desordenada das fibras colágenas (seta); 100x e 1000x respectivamente.



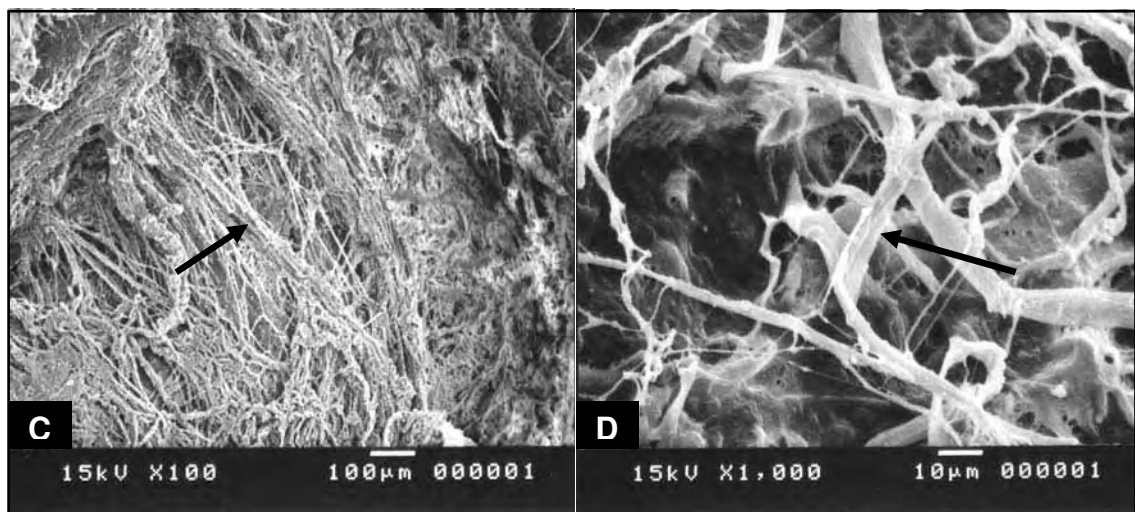
**Figura 26-** Eletromicrografia de túnica vaginal parietal a fresco (grupo controle) de ovino da raça Santa Inês, visão geral das estruturas, onde se observa em **A** as células achatadas do mesotélio (M) e em **B** corte transversal mostrando o mesotélio (M) e fibras colágenas disposta irregularmente (seta); 100x.



**Figura 27-** Eletromicrografia de túnica vaginal parietal conservado em glicerina a 98% por 30 dias de ovino da raça Santa Inês, visão geral das estruturas, onde se observa em **C** e **D** fibras colágenas disposta irregularmente (seta); 100x e 1000x respectivamente.



**Figura 28-** Eletromicrografia da fásia lata a fresco (grupo controle) de ovino da raça Santa Inês, visão geral das estruturas, onde se observa em **A** e **B** grossas fibras colágenas dispostas irregularmente (seta); 100x e 1000x respectivamente.



**Figura 29-** Eletromicrografia da fásia lata conservada em glicerina a 98% por 30 dias de ovino da raça Santa Inês, visão geral das estruturas, onde se observa em **C** e **D** fibras colágenas dispostas irregularmente (seta); 100x e 1000x respectivamente.

## 5. DISCUSSÃO

Assim, quanto às observações microscópicas sobre as membranas de ovinos da raça Santa Inês estudadas, estas se assemelham, com relação às suas estruturas e às descrições da literatura compilada ao registrarem que as membranas serosas são formadas por uma camada de mesotélio e pelo tecido conjuntivo associado (NICKEL et al., 1985; BANKS, 1992; STEVENS & LOWE, 1992; GEORGE & CASTRO, 1998; DI DIO, 1999; GARTNER & HIATT, 1999; HIB, 2003; DYCE et al., 2004; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). Neste trabalho não se constatou que esses envoltórios serosos, os quais revestem os órgãos, contribuem sobremaneira para o processo de reparação tecidual, uma vez que esta propriedade, segundo BANKS (1992), relaciona-se à deposição de fibrina no tecido conjuntivo submesotelial e subseroso que promove a diminuição do extravasamento no processo de reparação, vedando a ferida e posterior atividade dos fibroblastos, pois esta situação ocorre quando há uma injúria tecidual.

Verifica-se nas membranas a fresco, quando analisadas à microscopia de luz em preparações coradas pela hematoxilina e eosina, o predomínio de fibras colágenas, tal qual observaram GEORGE & CASTRO (1998); JUNQUEIRA & CARNEIRO (2004) ao relatarem que a fresco, nas lâminas tratadas pela hematoxilina e eosina essas fibras coram-se em róseo.

Quanto ao tecido encontrado nas membranas, tanto a fresco, quanto conservadas em glicerina, durante períodos variados, ou seja, tecido conjuntivo denso não modelado, este se apresentam da mesma forma que descrevem BANKS (1992); STEVENS & LOWE (1992); GEORGE & CASTRO (1998); GARTNER & HIATT (1999); HIB (2003); DYCE et al., (2004); JUNQUEIRA &

CARNEIRO (2004), onde relatam a presença de fibras colágenas agrupadas em feixes que se entrelaçam e seguem nas mais variadas direções, formando uma intrincada rede tridimensional em permeio a uma escassa substância fundamental. Estes achados foram confirmados neste trabalho pelas observações das amostras à microscopia eletrônica de varredura.

Também se observou nas membranas estudadas, a presença de tecido conjuntivo frouxo, que em algumas preparações pôde ser bem evidenciado, principalmente abaixo do mesotélio e circundando os vasos sanguíneos e as fibras do tecido conjuntivo denso não modelado; esta ocorrência deve-se, provavelmente, ao fato de que o tecido conjuntivo frouxo é um tecido de preenchimento que suporta estruturas sujeitas a pequenos atritos e pressões. Este tecido contém todos os elementos estruturais típicos do tecido conjuntivo propriamente dito, não havendo, entretanto, nenhuma predominância de qualquer dos componentes (BANKS, 1992; STEVENS & LOWE 1992; GEORGE & CASTRO 1998; GARTNER & HIATT, 1999; HIB, 2003; DYCE et al., 2004; JUNQUEIRA & CARNEIRO 2004).

Da mesma forma que constataram LEITE et al., (1979); PRISTA et al., (1990); ALVARENGA (1992); MOTA (2002) verificou-se que a glicerina a 98%, utilizada neste estudo como meio de conservação das estruturas, mostrou-se eficaz permitindo a integridade do material analisado. Por apresentar esta qualidade DALECK et al., (1992); COSTA NETO et al., (1999); OLIVEIRA et al., (1999); BRUN et al., (2000); CONTESINI et al., (2001); RAISER et al., (2001) afirmam que atualmente a glicerina a 98% é um dos meios conservantes mais amplamente utilizados, tanto em casos clínicos, quanto em estudos experimentais.

A glicerina utilizada como meio de conservação das membranas de ovinos da raça Santa Inês foi mantida em temperatura ambiente, pois além das qualidades anteriormente citadas, uma outra característica importante e que facilita muito o seu emprego em várias situações é a de permitir sua conservação em temperatura ambiente, dispensando o emprego de meios de conservação de custo elevado (ALVARENGA, 1992).

Mediante as indicações de ALVARENGA, (1992); SMITH et al., (1996) que preconizam a variação do tempo de reidratação de membranas de acordo com a forma, espessura e tamanho das estruturas analisadas para as membranas de ovinos da raça Santa Inês e considerando as dimensões das amostras, o tempo de reidratação foi de 20 minutos e neste caso, assemelhou-se às indicações de SARTORI FILHO et al., (1997) que recomendam um período de pelo menos 15 minutos para a conservação de tecidos em glicerina.

Quanto à integridade morfológica e estrutural dos elementos constituintes das amostras do material a fresco e das conservadas em glicerina a 98% nos dias 15, 30, 60 e 90, foi verificado neste experimento, resultados semelhantes aos relatos de DALECK et al. (1988), que observaram, no peritônio bovino conservado em glicerina a 98% por 60 dias aspectos semelhante ao peritônio a fresco; esses dados estão de acordo com os achados de DALECK et al. (1997), que não observaram alterações no aspecto das células mesoteliais e das fibras conjuntivas de peritônio autólogo ou homólogo conservado em glicerina, durante 30, 90 ou 240 que utilizaram em cães.

Com relação ao espaçamento entre as fibras de colágeno, esta característica foi verificada nas preparações oriundas das membranas

conservadas em glicerina a 98%, principalmente naquelas mantidas neste conservante por 15 dias, não sendo verificadas nas amostras provenientes do material a fresco. Para PIGOSSI et al., (1971); WELLS et al., (2006) o fato de a glicerina apresentar acentuada hidrofília devido à sua polaridade, tornando-se livre, é capaz de atrair átomos de hidrogênio das moléculas vizinhas, sem, contudo, promover uma reação química, preservando a arquitetura tecidual. Entretanto, tanto a glicerina quanto a água, moléculas mútuas, promovem a condensação do volume, caracterizando uma ação desidratante nas preparações que nela forem conservadas, propriedade esta, fundamental para explicar tanto a ocorrência de delaminação, ou seja, do deslocamento das camadas do colágeno, quanto o evento de retração dos núcleos.

Ao verificar-se que as alterações observadas nas preparações histológicas analisadas estavam intrinsecamente relacionadas às propriedades da glicerina, e essas não interferiram acentuadamente na integridade tecidual, uma vez que tanto as membranas a fresco, quanto às conservadas em glicerina a 98% por períodos entre 15 a 90 dias apresentaram, praticamente, o mesmo arranjo estrutural, constata-se que a utilização da glicerina a 98% na conservação de membranas biológicas é eficaz, tal qual indicam PIGOSSI, (1964); PIGOSSI, (1967); PIGOSSI et al., (1971); LEITE et al., (1979); DALECK et al., (1987); DALECK et al., (1988); DALECK et al., (1992); ALVARENGA, (1992); COSTA NETO et al., (1999); OLIVEIRA et al., (1999); BRUN et al., (2000); CONTESINI et al., (2001); RAISER et al., (2001); MOTA et al., (2002); WELLS et al., (2006)

Neste estudo constatou-se que o pericárdio parietal a fresco e conservado em glicerina está estruturado tal qual descrevem STEVENS &

LOWE, (1992); ROSS, (1999), sendo formado por uma camada de serosa composta de tecido conjuntivo frouxo e epitélio pavimentoso simples (mesotélio), além da camada de tecido conjuntivo fibroso (tecido conjuntivo denso não modelado), com largas e grosseiras faixas de colágeno, assim o pericárdio parietal dá forma a um saco forte para a proteção do coração (ROSS, 1999 ).

Microscopicamente o peritônio se apresenta formando uma camada superficial de mesotélio seguida por uma camada de tecido conjuntivo frouxo com fibras elásticas e colágenas (THE PERITONEUM..., 2000; DYCE et al., 2004; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). Esta organização se verifica também para o peritônio dos ovinos da raça Santa Inês que se apresenta formado por tecido conjuntivo denso não modelado, cujas fibras estão dispostas irregularmente, próximas entre si; compondo as extremidades desta serosa verifica-se a presença de mesotélio apoiado sobre delgada camada de tecido conjuntivo frouxo.

Após a conservação do peritônio de ovino em glicerina, verificou-se que este material não sofreu alterações quanto ao arranjo estrutural do tecido que pudessem ser expressivas, verificações estas também relatadas por DALECK et al., (1987); DALECK et al., (1988); DALECK et al., (1992) no peritônio de cão e bovino.

Ao se analisar a túnica vaginal de ovinos da raça Santa Inês, verifica-se que esta estrutura por ser derivada do peritônio (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004), possui as mesmas características desta membrana, ou seja, mesotélio seguido pelo tecido conjuntivo denso não modelado; estes achados se



assemelham os de NORONHA et al., (2001) para o jumento e aos de CARVALHAL et al., (2000), para os ovinos da raça Corriedale.

Para BANKS (1992), as fâscias, de modo geral, podem ser consideradas a cápsula do órgão; também as massas musculares são entidades separadas pelo tecido conjuntivo denominado de fâscia e as fibras individuais dos feixes musculares estão separadas por uma trama delicada de tecido conjuntivo frouxo. Essa descrição assemelha-se ao observado para a fâscia lata dos ovinos da raça Santa Inês deste estudo, verificando-se que esta estrutura é constituída por tecido conjuntivo denso não modelado, circundado por tecido conjuntivo frouxo; assemelham-se também aos achados de BACON et al., (1984) e SILVA et al., (2000), que ao avaliarem microscopicamente a fâscia lata, relataram que sua estrutura dispõe-se em feixes, com aspectos ondulados, envolvido por tecido conjuntivo frouxo.

## **6- CONCLUSÕES**

Mediante os resultados analisados pode-se concluir que todas as membranas utilizadas neste estudo apresentaram um único tipo de tecido, o tecido conjuntivo denso não modelado.

A glicerina a 98% utilizada como meio de conservação das membranas foi eficaz, mantendo a organização tecidual das membranas.

Pode-se ressaltar mais uma importante característica para a raça de ovinos Santa Inês, a de ser expressivos doadores de membranas biológicas.

As informações da das membranas serosas referem-se, principalmente,

## 7. REFERÊNCIAS

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

BACON, M. J. P.; PICHELER, M. E.; LYND, F. T. Histopathological examination of two cranial cruciate ligaments reconstructions. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 20, n. 1, p. 65-68, 1984.

BANKS, W. J. Organização dos órgãos. In: \_\_\_\_\_. **Histologia veterinária aplicada**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1992. cap. 15, p. 282-288.

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

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

BRUN, M. V.; PIGATTO, J. A. T.; DRIEMEIER, D.; OLIVEIRA, L. O.; BECK, C. A. C.; AGUIAR, E. V.; DIAS FREIRE, C.; GAIGA, L. H. Traqueoplastia em cães com pericárdio eqüino conservado em glicerina por um período de 11 anos. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Niterói, v. 7, supl., p. 58, jan./abr. 2000.

CARVALHAL, R.; BORELLI, V.; MIGLINO, M.A. Estudo morfológico do funículo espermático em ovinos da raça Corriedale (*Ovis aires*, L. 1758). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 37, n. 5, 2000.

CONTESINI, E. A.; SALLES, M. S.; PIGATTO, J. A. T.; PIPPI, N. L.; RAISER, A. G. Reparação traqueal em cães: transplante autógeno vs implante homogêneo conservado em glicerina a 98% de cartilagem da pina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 4, p. 633-637, jul./ago. 2001.

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

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

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 Veterinária**, Jaboticabal, v. 4, n. 1, p. 53-61, jun. 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. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 22, n. 2, p. 179-183, mai./ago. 1992.

DI DIO, L. J. A. **Tratado de anatomia aplicada**. 1 ed. v. 2. São Paulo: Póluss Editorial. 1999.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 813 p.

EURIDES, D.; NIGRO, A.J.T.; GOLDENBERG, S. et al. Reparo de defeito provocado no diafragma de cães com segmento livre peritônio-muscular. Estudo experimental. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 9, p. 131-135, 1994.

GALERA, P. D. **Emprego da túnica vaginal autógena, a fresco, em ceratoplastias lamelares experimentais em cães**. 1999. 77p. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 1999.

GARTNER, L. P.; HIATT, J.L. **Tratado de histologia**. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1999.

GEORGE, L. L.; ALVES, C. E. R.; CASTRO, R. R. L. **Histologia comparada**. 2 ed. São Paulo: Roca, 1998, p. 27.

HIB, J. **Histologia de Di Fiore**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003, p. 513.

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

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10 ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2004. p. 487.

MENDES, G. Escala rural especial: ovinos. **Scala**, São Paulo, v. 2, n. 15, p. 12-19, 2000.

MOTA, F. C. D.; EURIDES, D.; BELLETTI, M. E.; FREITAS, P. M. C.; MASTRANTONIO, E. C.; SHIMIZU, B. J.; CARDOSO, J. R.; MARTINS, A. K. Análise ultra-estrutural da túnica muscular do intestino delgado de cães preservado em diferentes meios. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 39, n. 1/6, p. 13-17, dez. 2002.

NICKEL, R.; SCHUMMER, A.; SEIFERLE, E.; WILKENS, H.; WILLE, K.H.; FREWEIN, J. The anatomy of domestic animals – The locomotor system of the domestic mammals. Berlin, 1 ed, 1985. v. 1, p. 395.

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

NORONHA, P. B.; NETO, J. P.; BORELLI, V. Aspectos morfológicos do funículo espermático de jumentos (*Equus asinus*, L.1758) da raça Pêga. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 38, n. 5, p. 13-17, 2001.

OLIVEIRA, L. O.; PIPPI, N. L.; GRAÇA, D. L.; FARIA, R. X.; GUIMARÃES, L. D.; GUEDES, A. G. P.; PELLEGRINI, L. C.; FERNANDES, R. R.; ALVES, A. S. Implante homogêneo de bexiga conservada em glicerina a 98% para reparo da bexiga de cães. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 27, n. 1, p. 90-102, 1999.

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

PIGOSSI, N. **A glicerina na conservação de dura-máter:** estudo experimental. 1967. 83 f. Tese (Livre Docência) Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1967.

PIGOSSI, N.; RAIA, A.; LEX, A.; GAMA, A. H.; SIMONSEN, O.; HADDAD, J.; STOLF, N.; ZERBINI, E. J.; MINITI, A.; TENUTO, R. Estudo experimental e clínico sobre o emprego, como implante, da dura-máter homogêna conservada em glicerina à temperatura ambiente. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 17, n. 8, p. 263-278, out. 1971.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. M. R. **Técnica farmacêutica e farmácia galênica.** 3. ed. Lisboa: Fundação Calouste, 1990. v. 2; p. 508.

RAISER, A. G.; GRAÇA, D. L.; PIPPI, N. L.; ZINN, L. L.; SILVEIRA, D. S.; BORDIN, A. I.; BAIOTTO, G. C.; RIOS, M. V.; SILVEIRA, A. F. Homoimplante ortotópico de tendão calcâneo em cães. Conservação, assepsia e implantação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 1, p. 89-94, jan./fev. 2001.

**RAND, M. S.** Farm animals as models for biomedical research. **2002.** Disponível em <[http://www.ahsc.arizona.edu/uac/notes/classes/farmmodels/farmanim\\_as\\_biomodels02.html/](http://www.ahsc.arizona.edu/uac/notes/classes/farmmodels/farmanim_as_biomodels02.html/)> Acesso em: 27 de maio de 2005.

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

RODASKI, S.; GUÉRIOS, S.D.; KOPPE, A.B.; SINCERO, P.C.; TRANQUILIN, M.V.; PERRONI, M.A.; NARDI, A.B. Mioplastia experimental do esfíncter anal externo com fascia lata autóloga, em cães. **Archives of Veterinary Science** v.5, n. 1, p.49-54, 2000.

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

ROSS, J. **Composition of the heart**, 1999. Disponível em: < [www.jdaross.cwc.net/heart4.htm](http://www.jdaross.cwc.net/heart4.htm)>. Acesso em 24 de out de 2006.

SARTORI FILHO, F.; GANDOLFI, W.; BANDARRA, E. P. Emprego da membrana biológica (centro frênico) na reparação das lesões tendíneas em coelhos. **Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 9, n. 1, p. 69-77, 1997.

SILVA, A.M.; CARLO, R.J.D.; FONSECA, C.C.; GALVÃO, S.R.; FILHO, A.M. Aspectos macro e microscópicos da fásia lata utilizada como substituto autólogo do ligamento cruzado cranial. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 2, p. 275-280, 2000.

SMITH, C. W.; YOUNG, I. S.; KEARNEY, J. N. Mechanical properties of tendons with sterilization and preservation. **Journal of Biomechanical Engineering**, New York, v. 118, n. 1, p. 56-61, 1996.

STEVENS, A.; LOWE, J.S. **Histology**. London: Gowen Medical Publish, 1992 .

THE NORMAL peritoneum. International Society for Peritoneal Dialysis, v.20, suppl. 3, p. 9-11, 2000. Disponível em: < [www.multi-med.com/pdigifs/pdi20s3/normal01.htm](http://www.multi-med.com/pdigifs/pdi20s3/normal01.htm)>. Acesso em 24 out. 2006.



TOLOSA, E.M.C.; RODRIGUES, C.J.; BEHMER, O.A.; FREITAS NETO, A.G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. São Paulo: Manole, 2 ed. p. 37, 2003.

TUNICA vaginalis. Wikipedia, the free encyclopedia, 2006. Disponível em: <[www.em.wikipedia.org/wiki/tunica\\_vaginalis](http://www.em.wikipedia.org/wiki/tunica_vaginalis)> Acesso em 30 out 2006.

VAUGHN, C. C.; VAUGHN, P. L.; VAUGHN III, C. C.; SAWYER, P.; MANNING, M.; ANDERSON, D.; ROSEMAN, L.; HERBST, T. J. *Tissue response to biomaterials used for staple-line reinforcement in lung resection: a comparison between expanded polytetrafluoroethylene and bovine pericardium*. **European Journal Cardio-thoracic Surgery**, Amsterdam, v. 13, n. 1, p. 259-265, mar. 1998.

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

WELLS, P. B.; YEH, A. T.; HUMPHREY, J. D. Influence of glycerol on the mechanical reversibility and thermal damage susceptibility of collagenous tissues. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, New York, v. 53, n. 4, p. 747-753, apr. 2006.