



ANÁLISE ESTRUTURAL E BIOMECÂNICA DE DIFERENTES MEMBRANAS BIOLÓGICAS DE ORIGEM BOVINA

Ramayana Ortiz de Sá Menezes¹, Emmanuel Santos Forte Pereira¹, Anne Mota Paula¹, Bruna Abreu Silva¹, Gustavo Silva de Souza¹, Afonso Rangel Ribeiro¹, Gabriela Esteves da Silveira¹, Ana Bárbara Freitas Rodrigues Godinho¹

¹ Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologia Agropecuária, Medicina Veterinária.

20211300014@pq.uenf.br; 20211300016@pq.uenf.br; 20211300071@pq.uenf.br;

20211300031@pq.uenf.br; 2gustavo.silva@gmail.com; afonsovett@outlook.com;

00119130797@pq.uenf.br; anaanatomiaanimal@gmail.com.

1. INTRODUÇÃO

O biomaterial, essencial na medicina para tratar, aumentar ou substituir tecidos e órgãos (Roush, 2007³²; Filho *et al.*, 2007¹⁹; Filadelpho *et al.*, 2009¹⁸), abrange uma vasta gama de substâncias naturais ou sintéticas, com destaque para o colágeno, amplamente utilizado em reparo ósseo e regeneração tecidual (Gasque *et al.*, 2008)²⁰, devido às suas propriedades como biocompatibilidade, quimiotaxia para fibroblastos e capacidade de ativação de neutrófilos (Gasque *et al.*, 2008)²⁰. Na rotina cirúrgica veterinária, onde a perda tecidual é uma complicação comum, os implantes biológicos, como membranas de diferentes espécies animais, são frequentemente empregados para fornecer suporte e promover a regeneração de tecidos (Batista *et al.*, 1996)⁸. Essas membranas, compostas principalmente por fibras colágenas, como as do centro tendíneo diafragmático e do pericárdio, têm sido estudadas por sua capacidade de restabelecer a estrutura e a função dos órgãos afetados (Guimarães *et al.*, 2007)²³. Apesar do potencial dessas membranas, há uma escassez de estudos detalhando sua histoarquitetura e biomecânica, destacando a importância de avaliações comparativas para entender melhor suas características e aplicações clínicas. Neste contexto, este estudo visa contribuir para essa área, avaliando de maneira comparativa a constituição histológica e a resistência de diferentes membranas biológicas obtidas de bovinos.

2. REVISÃO ANATÔMICA

Segundo König (2021)³⁷ o pericárdio é a cobertura fibrosserosa do coração, um saco com invaginação profunda. A camada parietal do pericárdio seroso se funde ao pericárdio fibroso, composto por fibras colágenas, e este se conecta às grandes artérias e veias, limitando sua distensão durante o ciclo cardíaco. Dyce (2019)³⁸ afirma que o coração é coberto pelo pericárdio, reduzindo o lúmen a um espaço capilar, facilitando o movimento cardíaco, com seu componente fibroso evitando distensões significativas. Por sua vez, para König (2021)³⁷ o diafragma é uma estrutura musculotendínea que separa as cavidades torácica e abdominal, com seu ponto mais alto chamado ápice ou cúpula diafragmática, consistindo em uma



parte muscular circundante a um centro tendíneo, com fibras radiais na parte abdominal e circulares na torácica. Dyce (2019)³⁸ descreve o diafragma como uma cúpula que separa as cavidades torácica e abdominal, projetando-se sob as costelas e aumentando o espaço abdominal. Ambos os tecidos possuem grande presença de fibras colágenas em sua composição, o que é corroborado pela descrição de Junqueira (2023)³⁹ de tecido conjuntivo, especificamente tecido conjuntivo denso não-modelado, onde denota a viabilidade de ambos os tecidos em estudo para o uso como biomembranas ricas em colágeno.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Para execução desse trabalho, as membranas foram coletadas diretamente em frigoríficos, em dias específicos de abate de bovinos de corte da região do Norte Fluminense, encaminhados, sob refrigeração, para processamento na seção de Anatomia dos Animais Domésticos (LMPA/CCTA/UENF). Após a limpeza das membranas, estas foram fixadas em formol tamponado 10% por 48 horas e posteriormente, transferidas para em recipientes contendo glicerina a 98%, armazenadas durante 30 dias antes das avaliações histológicas e de tração.

As análises e avaliações histológicas foram realizadas no Setor de Histologia e Patologia Animal/LMPA, seguindo as técnicas de coloração através do método de Hematoxilina- Eosina (HE), Tricrômico de Masson (TM) e Picrosirius-Red (PS).

Os testes tensiométricos foram realizados no Laboratório de Materiais Avançados (LAMAV/CCT/UENF). As amostras das diferentes membranas foram preparadas, padronizando os corpos de prova em 25mm de largura e 60mm de comprimento e, por colagem com cola de Éter de cianoacrilato, foram adicionadas chapas de alumínio de 20 por 25 milímetros e lixas ferro GR320, de mesmo tamanho das chapas de alumínio. Para a realização dos testes de resistência à tração, foi utilizada uma máquina universal de ensaios INSTRON (modelo 5582) com velocidade de 10 mm/min. O estudo tensiométrico consistiu na análise da resistência à tração axial e do deslocamento da amostra até a ruptura. A resistência à tração (em MPa) foi calculada a partir da razão entre a força máxima (em N) e a área da seção transversal da amostra (em mm²). Para demais análises o valor obtido em N/mm² foi convertido para Kg/cm², ao dividir o valor obtido em MPa por 9,81. Por sua vez, o deslocamento da amostra até a ruptura foi monitorado por meio de sensor de deslocamento instalado na prensa. A comparação entre os diferentes resultados dos ensaios tensiométricos foi feita por comparação entre médias, com nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o teste t de Student, por auxílio do software Excel®.

4. RESULTADOS

A análise de amostras de pericárdio em TM demonstrou presença de fibras de colágeno, sendo estruturalmente perfeito, indicando ser um tecido com boa resistência física. Já em HE, é possível diferenciar a presença de fibroblastos, de núcleo mais arredondado, e presença de fibrócitos, com núcleo mais alongado. Vale



salientar que não houve diferenciação tecidual entre as amostras conservadas em formol e glicerina, havendo, apenas, uma leve diminuição da afinidade tintorial do tecido pela Eosina nas amostras conservadas em glicerina. Para a análise em PS, foi observado, sob microscopia por luz polarizada, uma maior quantidade de fibras de coloração avermelhadas, e, em menor quantidade, fibras de coloração esverdeadas. Ou seja, é possível afirmar que em pericárdio há maior concentração de fibras colágenas de tipo I na constituição deste tecido.

A análise de amostras do centro tendíneo diafragmático em TM demonstrou presença de fibras de colágeno em interação com diferentes tipos teciduais, em especial, tecido adiposo e tecido muscular. Já em HE, é possível diferenciar a presença de fibroblastos, de núcleo mais arredondado, e presença de fibrócitos, com núcleo mais alongado. Para a análise em PS, foi observado, sob microscopia por luz polarizada, uma maior quantidade de fibras de coloração avermelhadas, e, em menor quantidade, fibras de coloração esverdeadas na totalidade do tecido. Vale salientar que, uma maior presença de fibras colágenas esverdeadas, de tipo III, na periferia do tecido pode ser explicada pela presença de tecido conjuntivo frouxo, diferente do tecido conjuntivo denso não-modelado no restante do tecido.

As forças de tração medidas, em Newtons, no ponto de ruptura representam o valor de resistência máxima dos tecidos, que foram convertidos para Kgfcmm^{-2} para análises estatísticas. Dessa forma, podemos concluir que o pericárdio apresenta maior resistência a tração em comparação ao centro tendíneo diafragmático, onde obtiveram a média de 1,3432 e 0,6689, respectivamente, corroborado pelo teste T de Student, visto que o resultado do teste é menor que 0,05, portanto, confirma-se que há diferenças significantes entre os valores testados.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em suma, ao descrever e comparar as características histológicas do pericárdio centro tendíneo diafragmático, concluímos que o pericárdio apresenta maior concentração de colágeno tipo I do que o centro tendíneo diafragmático, além de possuir uma maior concentração de tecido conjuntivo denso não-modelado, em comparação ao centro tendíneo diafragmático, que possui outros tipos de tecido como o tecido conjuntivo frouxo, tecido muscular e tecido adiposo presentes em sua composição.

Em relação aos testes de tração, foi possível desenvolver e utilizar uma metodologia eficiente para o ensaio de material biológico conservado em glicerina, algo ainda não padronizado. Diante da compilação dos dados, foi possível concluir que o pericárdio apresenta grande capacidade de deformação e resistência à tração, sendo um bom indicativo de que este tecido seria bem-sucedido em aplicações cirúrgicas que demandam um enxerto com característica elástica, sem perder sua integridade, enquanto o centro tendíneo diafragmático seria mais bem utilizado em situações que demandam um arcabouço rijo e menos elástico.

Palavras-chave: “Biomaterial”, “Resistência”, “Histoarquitetura”, “Colágeno”.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ ACETO, M. L.; COELHO, M. C. O. C.; MONTEIRO, V. L. C.; CARNEIRO- LEÃO, A. M. A.; MELO JUNIOR, M. M. Membrana amniótica e pericárdio canino como curativos biológicos na preparação do leito receptor para enxertia cutânea autógena. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.59, n.2, p.358-362, Recife, 2007
- ² 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: FUNEPUNESP, 1992. p. 33-42.
- ³ ANSON, J.A.; MARCHAND, E.P. Bovine pericardium for dural grafts: clinical results in 35 patients. Neurosurgery, v.39, n.4, p.764-768, 1996.
- ⁴ ARAÚJO, U. R. M. F.; CZECZKO, N. G.; RIBAS-FILHO, J. M.; MALAFAIA, O.; BUDEL, V. M.; BALDERRAMA, C. M. S. R.; ZIMMERMANN, E.; ULRICH ANDREAS DIETZ, R. A. Reparo intraperitoneal de defeitos da parede ventral do abdome com telas de poliéster com colágeno e polipropileno com ácido poliglicólico. Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões, Rio de Janeiro, v. 36, n. 3, p. 241-249, 2009.
- ⁵ AZEVEDO, R. A; STOPIGLIA, A. J.; Principais materiais biológicos e sintéticos utilizados em cirurgias para reconstrução de parede abdominal na Medicina Veterinária: revisão de literature. Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP. São Paulo: Conselho Regional de Medicina Veterinária, v. 16, n. 2, p. 42-46, 2018.
- ⁶ BANKS, W. J. Organização dos órgãos. In: BANKS, W. J. Histologia veterinária aplicada. 2. ed. São Paulo: Manole, 1992. p. 282-288.
- ⁷ BARBUTO, R. C.; ARAUJO, I. D.; BONOMI, D. O.; TAFURI, L. S. A.; CALVÃO NETO, A.; MALINOWSKI, R.; BARDIN, V. S. S.; LEITE, M. D.; DUARTE, I. G. L. Uso da membrana amniótica como cobertura da cavidade abdominal na reconstrução da parede com tela de polipropileno em ratos. Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões, Rio de Janeiro, v. 42, n. 1, p. 49-55, 2015.
- ⁸ BATISTA, L. C.; DALECK, C. R.; SHIMANO, A. C.; ALESSI, A.C.; ABRAHÃO, M. S. Estudo comparativo da resistência à tração do peritônio (bovino, equino, suíno e canino) a fresco e conservado em glicerina. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, São Paulo, v. 33, p. 305-312, 1996.
- ⁹ BERTOLINO, B.F.; JUNIOR, A.Z.; TAMEHIRO, C.Y.; ZACARIAS, F.G.S.; BLASCHI, W. Estudo de membranas biológicas para reparo de lesões corneanas em cães e gatos. Brazilian Journal of Development, Curitiba, v.8, n.8, p. 58579- 58585, aug., 2022.



I Congresso Mineiro de Anatomia

Veterinária

- ¹⁰ 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, 1999.
- ¹¹ COUTINHO, I.S. Avaliação morfológica e microbiológica da túnica albugínea testicular bovina e células tronco como potenciais reparadoras da técnica de tenorrafia em ratos Wistar. Dissertação de Mestrado Programa de Pós- graduação em Ciência Animal. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes – RJ, Junho de 2022.
- ¹² CUNHA, O.; PIPPI, N. L.; RAISER, A. G.; LEMOS, S. T.; FILHO, P.; MOYA, L. G.; GAIGA, L. H.; TAFFAREL, M. O.; RIOS, A.; FERNANDES, D. R. Esofagoplastia torácica com retalho de pericárdio em gatos. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 33, n. 2, p. 325-330, 2003.
- ¹³ D'AMBRA, L.; BERTI, S.; FELEPPA, C.; MAGISTRELLI, P.; BONFANTE, P.; FALCO, E. Use of bovine pericardium graft for abdominal wall reconstruction in contaminated fields. *World Journal of Gastrointestinal Surgery*, Beijing, v. 4, n. 7, p. 171-176, 2012.
- ¹⁴ DALECK, C. R.; PADILHA FILHO, J. G.; DALECK, C. L. M.; 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, 1992.
- ¹⁵ DALL'AGNOL, C.C. Membranas biológicas na córnea de cães e gatos. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina Veterinária, Porto Alegre, 2017.
- ¹⁶ DE PAULO, B. O.; OLIVEIRA, I. G.; NETTO, L. A. P. G.; SANTANA, L. C.; CHAVES, P. H. L.; FONSECA, C. H. Compatibilidade de compósitos biologicamente ativos em implantes de tecido osteotraumático. *Coletânea*, v. 2, n. 2, p. 102-111, 2008.
- ¹⁷ EURIDES, D.; NIGRO, A. J. T.; GOLDENBERG, S. Reparo de defeito provocado no diafragma de cães com segmento livre peritônio-muscular. Estudo Experimental. *Acta Cirúrgica Brasileira*, São Paulo, v. 9, p. 131-135, 1994.
- ¹⁸ FILADELPHO, A. L.; ARTONI, S. M. B.; ORSI, A. M.; DIAS, L. G. G. G.; CABRINI, T.M.; BARIANI, M. H.; LOT, R. F. S. Aspectos histológicos do implante de matrizes de colágeno no tecido subcutâneo de ratos. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, Ano VII, n. 12, 2009. Disponível em: www.revista.inf.br/veterinaria12/artigos/AnoVII-Edic12-Art02.pdf.
- ¹⁹ FILHO, E. A.; ASSIS, C. M.; VERCÍK, L. O.; GUASTALDI, A. C. Biomateriais: deposição de hidroxiapatita sobre superfície de Ti-CP modificada por aspersão térmica. *Química Nova*, v. 30, n. 5, p. 1229-1232, 2007.
- ²⁰ GASQUE, K. C. S. et al. Avaliação da biocompatibilidade de uma membrana de pericárdio bovino acelular e seu potencial como carreador de osteoblastos. *Ciência Odontológica Brasileira*, v.11, n.1, p.58-66, 34 2008.



I Congresso Mineiro de Anatomia

Veterinária

- ²¹ GAYRE, G.S. et al. Bovine pericardium as a wrapping for orbital implants. *Ophthalmic Plast Reconstr Surg*, v.17, n.5, p.381-387, 2001.
- ²² GRECA, F. H.; SOUZA FILHO, Z. A.; ROCHA, S. L.; BORSATO, K. S.; FERNANDES, H. A. D.; NIISIDE, M. A. Submucosa de intestine delgado no reparo de defeito em parede abdominal de ratos. *Acta Cirúrgica Brasileira*, São Paulo, v. 19, n. 5, p. 471-477, 2004.
- ²³ GUIMARÃES, G. C.; SCAVONE, A. R. F.; MACHADO, M. R. F.; CRUZ, C.; CAPALBO, A. C.; SANTOS, A. L. Q. Avaliação histológica de membranas biológicas bovinas conservadas em glicerina e a fresco. *Bioscience Journal*, v. 23, n. 3, p. 120-127, 2007.
- ²⁴ JAMES, N.L et al. Comparative evaluation of treated bovine pericardium as a xenograft for hernia repair. *Biomaterials*, v.12, n.9, p.801-809, 1991.
- ²⁵ LEAL, L. M.; FERREIRA, A. R. S.; REIS, A. C. G.; MARTINS, L. L.; GARCIA FILHO, S. P.; MACHADO, R. F. O uso do peritônio de paca conservado em solução supersaturada de açúcar a 300% ou glicerina a 98% implantados na parede abdominal de ratos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 66, n. 5, p. 1383-1391, 2014.
- ²⁶ MOTA, F. C. D.; EURIDES, D.; BELETTI, M. E.; FREITAS, P. M. C.; MASTRANTONIO, E. C.; SHIMIZU, B. J.; CARDOSO, J. R.; MARTINS, A. K. Análise ultraestrutural da túnica muscular do intestino delgado de cães preservado em diferentes meios. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 39, n. 1, p. 13-17, 2002.
- ²⁷ NUNES, V. A. Enxerto de túnica albugínea como reforço de parede abdominal em cães. Tese (Doutorado em Ciências) – Rio de Janeiro – RJ, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, 56 p., 2007.
- ²⁸ OLIVEIRA, L. L. Reconstrução vesical em cães (*Canis familiaris*): Xenoenxerto com túnica albugínea bovina conservada em glicerina a 98%. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 60 p., 2008.
- ²⁹ OLIVEIRA, T. C.; SCAVONEI, A. R. F.; MACHADO, M. R. F.; MAZZUCATTO, B. C. Cistoplastia experimental em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) com peritônio bovino conservado em glicerol a 98%. *Ciência Rural*, v. 38, n. 8, p. 2218-2224, 2008.
- ³⁰ QUEIROZ, F. F. et al. Ensaio biomecânico da túnica albugínea bovina conservada em glicerina 98% para utilização como membrana biológica. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 42, n. 3, p.501-506, 2012.
- ³¹ 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.



I Congresso Mineiro de Anatomia

Veterinária

- ³² ROUSH, J. K. Biomateriais e Implantes Cirúrgicos. In: SLATTER, D., Manual de Cirurgia de Pequenos Animais; 3o ed. São Paulo: Manole; 2 v.; v. 1; p. 141- 148; 2007.
- ³³ SALBEGO, F.Z. Enxerto ou implante homólogo na correção de defeito ósseo segmentar femural em cães associado à inoculação da fração de células mononucleares da medula óssea. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2010.
- ³⁴ STELMANN, U. J. P.; SILVA, A. A.; SOUZA, B. G.; HESS, T. M.; AGUIAR, G. C.; SANTOS, A. E. Utilização de pericárdio bovino como reforço da ráfia do peritônio no tratamento cirúrgico de eventração em equino: relato de caso. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, Garça, v. 8, n. 14, 2010.
- ³⁵ Arroyave Guzman, A. I. Metodologia para caracterização mecânica de tecido biológico mole. Biblioteca digital USP - Teses e dissertações, p.23, 2015.
- ³⁶ S.A.O. Bedoya, L.G. Conceição, M.I.V. Vitoria, F.H. Loures, F.L. Valente, R.L. Amorim, F.F. Silva. Caracterização de colágenos tipos I e III no estroma do carcinoma de células escamosas cutâneo em cães. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.68, n.1, p.147-154, 2016
- ³⁷ KÖNIG, Horst E.; LIEBICH, Hans-Georg. Anatomia dos animais domésticos: texto e atlas colorido. [Digite o Local da Editora]: Grupo A, 2021. E-book. ISBN 9786558820239. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9786558820239/>. Acesso em: 29 mar. 2024.
- ³⁸ SINGH, Baljit. Tratado de Anatomia Veterinária. [Digite o Local da Editora]: Grupo GEN, 2019. E-book. ISBN 9788595157439. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788595157439/>. Acesso em: 29 mar. 2024.
- ³⁹ JUNQUEIRA, Luiz Carlos U.; CARNEIRO, José. Histologia Básica: Texto e Atlas. [Digite o Local da Editora]: Grupo GEN, 2023. E-book. ISBN 9788527739283. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788527739283/>. Acesso em: 29 mar. 2024.