

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**  
**PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS**

**DISSERTAÇÃO**

**EFEITOS SISTÊMICOS DA IMPLANTAÇÃO DE PERICÁRDIO  
OVINO TRATADO PELO GLUTARALDEÍDO 1% E CONSERVADO  
EM GLICERINA 98% NA VESÍCULA URINÁRIA DE COELHOS**  
*(Oryctolagus cuniculus)*

**Adriano Sodré Magalhães Novaes**

**2015**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS**

**EFEITOS SISTÊMICOS DA IMPLANTAÇÃO DE PERICÁRDIO  
OVINO TRATADO PELO GLUTARALDEÍDO 1% E CONSERVADO  
EM GLICERINA 98% NA VESÍCULA URINÁRIA DE COELHOS  
(*Oryctolagus cuniculus*)**

**ADRIANO SODRÉ MAGALHÃES NOVAES**

*Sob a Orientação da Professora*  
**Marta Fernanda Albuquerque da Silva**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária área de concentração em patologia e ciências clínicas.

Seropédica, RJ  
Fevereiro de 2015

571.64

N935e

T

Novaes, Adriano Sodré Magalhães, 1987-  
Efeitos sistêmicos da implantação de  
pericárdio ovino tratado pelo  
glutaraldeído 1% e conservado em glicerina  
98% na vesícula urinária de coelhos  
(*Oryctolagus cuniculus*) / Adriano Sodré  
Magalhães Novaes. - 2015.

32 f.: il.

Orientador: Marta Fernanda Albuquerque  
da Silva.

Dissertação (mestrado) - Universidade  
Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de  
Pós-Graduação em Medicina Veterinária,  
2015.

Bibliografia: f. 20-24.

1. Membranas (Biologia) - Teses. 2.  
Pericárdio - Preservação - Teses. 3.  
Implantes artificiais - Teses. 4. Glutaral  
- Teses. 5. Glicerina - Teses. 6. Medicina  
veterinária - Teses. I. Silva, Marta  
Fernanda Albuquerque da, 1962- II.  
Universidade Federal Rural do Rio de  
Janeiro. Curso de Pós-Graduação em  
Medicina Veterinária. III. Título.

## AGRADECIMENTOS

- Primeiramente a Deus por estar sempre protegendo e iluminando a mim e a toda minha família, por me possibilitar conquistas inimagináveis e também por trazer calma para minha mente e meu coração nos momentos de angústia.

- A meus pais amados Carlos e Angelica que sempre se dedicaram e abdicaram de suas vontades para fazer do meu sonho realidade.

- A meu irmão querido que sempre será meu grande exemplo de sucesso profissional.

- A minha noiva e amiga Rafaela Trevisol que por muitas vezes abriu mão dos nossos fins de semana divertidos, como uma leal companheira, em função da realização deste experimento.

- A minha orientadora Marta Fernanda Albuquerque da Silva que sempre me conduziu e me mostrou o real sentido da palavra professor e orientador, sendo sempre uma grande amiga na qual eu sempre me espelharei.

- A amiga Alessandra Feijó pela dedicação e divisão de tarefas junto ao experimento.

- Ao amigo Gilberto de Araujo por ter realizado a anestesia de todos os coelhos sempre com grande carinho e dedicação.

- Aos amigos Larissa Pinheiro, Jorge Gabriel e Camile de Paula por terem contribuído fielmente durante a etapa de desenvolvimento deste experimento.

- A professora Cristiane Divan Baldani e as suas orientadas, Juliana Macedo Raimundo e Andresa Guimarães, ao Prof. Fabio Barbour Scott e toda equipe de residentes do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) por ajudarem na realização das análises laboratoriais.

- A professora Vivian de Assunção Nogueira pela realização das análises microscópicas e pelo suporte dado na avaliação dos resultados histopatológicos.

- À Capes, pela concessão da bolsa de estudos.

- À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, na pessoa do coordenador, Prof. Paulo de Tarso Landgraff Botteon, e da funcionária técnica-administrativa, Lorena Oliveira, pelo empenho e dedicação ao funcionamento e crescimento do Programa.

NOVAES, Adriano Sodré Magalhães. **Efeitos sistêmicos da implantação de pericárdio ovino tratado pelo glutaraldeído 1% e conservado em glicerina 98% na vesícula urinária de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*)**, 2015. 32p Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Patologia e ciências clínicas). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ, 2015.

## RESUMO

O uso de implantes biológicos vem crescendo e ganhando considerável repercussão no meio cirúrgico veterinário. Para a utilização de membranas biológicas é necessário submetê-las a tratamento químico, dentre os quais o mais conhecido é a glicerina a 98%, porém há uma grande preocupação com o fato da ação antimicrobiana da glicerina ser restrita a bactérias não esporuladas e fungos, permitindo a transmissão de agentes virais e bactérias esporuladas ao animal receptor de enxertos homólogos ou heterólogos. Desde 1969 utiliza-se o glutaraldeído na conservação de membranas biológicas, sendo eficiente contra formas vegetativas bacterianas. O risco potencial da toxicidade sistêmica dos aldeídos deve ser considerado, e análises clínicas e laboratoriais podem ser úteis para sua determinação. O objetivo deste estudo é avaliar possíveis alterações funcionais ou morfológicas em fígado, rins e baço de coelhos provocadas pela implantação vesical de membrana biológica (pericárdio ovino) tratada pelo glutaraldeído 1% e conservada em glicerina 98%. Foram utilizados 36 animais, divididos em seis grupos, sendo os Grupos de 1 a 3 considerados como controles (membranas tratadas em glicerina 98%) com abate pós-cirúrgico aos 14, 30 e 60 dias, respectivamente, e os Grupos 4, 5 e 6 referentes aos animais cujas membranas implantadas foram tratadas com glicerina 98% e glutaraldeído 1%, também com abate pós-cirúrgico aos 14, 30 e 60 dias. Sob anestesia geral inalatória os 36 coelhos foram submetidos a cistoplastia com substituição de um segmento 1 cm x 1 cm da parede vesical por retalho de pericárdio ovino de mesmo tamanho tendo sido previamente tratado por glicerina 98% durante 30 dias, ou glutaraldeído 1% por 18 dias e posterior tratamento pelo glicerol 98% por 30 dias. Para observação dos possíveis efeitos sistêmicos da absorção do glutaraldeído 1% utilizado como substância de tratamento da membrana biológica foram avaliadas função renal e hepática pela dosagem sérica de ureia, creatinina, alanino transaminase (ALT), aspartato transferase (AST) e fosfatase alcalina em amostras sanguíneas coletadas no pré-operatório e no momento pré-abate, além da análise macro e microscópica de rins, fígado e baço. Acompanhamento de ingestão e excreção no pós-operatório, realização de hemogramas e avaliação macroscópica da cavidade peritoneal foram realizados para descartar alterações prévias ou concorrentes. Todos os valores da avaliação bioquímica mantiveram-se na faixa de normalidade. Nos testes de função hepática as variações entre as coletas pré-cirúrgica e pré-abate mostraram padrão semelhante nos grupos controle e tratamento; o mesmo foi observado nos níveis de ureia, porém a creatinina sofreu elevação somente nos grupos cujas membranas foram tratadas com glutaraldeído 1%, com abate aos 14 e 30 dias (grupos 4 e 5), sugerindo possíveis efeitos agudos sobre esta víscera. Achados aos exames macro e microscópico não caracterizaram efeitos deletérios do glutaraldeído. Conclui-se que o tratamento do pericárdio ovino com glutaraldeído 1% é seguro para seu uso na cistoplastia, quanto ao comprometimento de rim, fígado e baço.

Palavras-chave: glutaral, glicerol, biopróteses

NOVAES, Adriano Sodré Magalhães. **Systemic effects of deployment of sheep pericardium treated by glutaraldehyde 1 % and preserved in glycerin 98 % in urinary bladder of rabbits (*Oryctolagus cuniculus*)**, 2015. 32p Dissertation (Master science of Veterinary Medicine, Pathology and clinical sciences), Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ, 2015.

### ABSTRACT

The use of biological implants is growing and gaining considerable impact in veterinary surgery. It is necessary to submit biological membranes to chemical treatment, of which the best known is 98% glycerin, but there is a great concern that the antimicrobial action of glycerin is restricted to nonsporulating and fungi bacteria, allowing transmission of viral agents and sporulated bacteria to the receptor of homologous or heterologous grafts. Since 1969 glutaraldehyde is used in the conservation of biological membranes, being effective against bacterial vegetative forms. The potential risk of systemic toxicity of aldehydes should be considered, and clinical and laboratory tests may be useful for its determination. The objective of this study is to evaluate possible functional or morphological changes in liver, kidney and spleen of rabbits caused by bladder implantation of biological membrane (sheep pericardium) treated by 1% glutaraldehyde and maintained in glycerol 98%. Thirty six animals were divided into six groups, of which Groups 1 to 3 were considered as controls (membranes treated by glycerin 98%) with abate on postoperative days 14, 30 and 60, respectively, and Groups 4, 5 and 6 corresponded to those animals whose implanted membranes were treated with 98% glycerol and 1% glutaraldehyde, post-surgical slaughter at 14, 30 and 60 days. Under general inhalation anesthesia 36 rabbits underwent cystoplasty with replacement of a segment 1 cm x 1 cm of the bladder wall by sheep pericardial patch of the same size that was previously treated with glycerin 98 % for 30 days or 1% glutaraldehyde for 18 days and subsequent treatment by glicerol 98% through a 30 days period. For observation of possible systemic effects of glutaraldehyde 1% absorption, kidney and liver function were evaluated by urea, creatinine, alanine transaminase (ALT), aspartate transferase (AST) and alkaline phosphatase measurements in blood samples collected preoperatively and at the time before slaughter, besides the macro and microscopic analysis of the kidneys, liver and spleen. Food and water intake and excretion in the postoperative period, blood counts and macroscopic evaluation of the peritoneal cavity were performed to rule out prior or concurrent changes. All biochemical values remained in the normal range. Liver function tests variations between the pre-surgical and pre-slaughter collection showed similar pattern in the control and treatment groups; the same was observed in urea levels, but creatinine increased at post-surgical 14 and 30 days only in groups whose membranes were treated with 1% glutaraldehyde (groups 4 and 5), suggesting possible acute effects on this viscera. Macroscopic and microscopic findings did not characterize deleterious effects of glutaraldehyde. It was concluded that treatment of sheep pericardium with glutaraldehyde 1% is safe for use in cystoplasty, regarding kidney, liver and spleen impairment.

Key-words: glutaral, glycerol, bioprosthesis

## LISTA DE FIGURA, GRAFICOS, TABELAS E QUADROS

<p><b>Figura 1</b> – 1. Vesícula urinária de coelho isolada com compressas úmidas; 2. cistocentese; 3. pontos de reparo nas extremidades cranial e caudal do plano incisado, para auxiliar e facilitar a manipulação do órgão; 4. substituição do defeito cirúrgico por retalho de pericárdio ovino, de mesma dimensão; 5. fixação do enxerto empregando sutura contínua simples com fio absorvível sintético multifilamentar (Poliglactina 910) 5-0 em único plano; 6. quatro pontos simples separados seromusculares aplicados nos vértices da interface implante-hospedeiro, com fio inabsorvível sintético (náilon)3-0.....</p>	8
<p><b>Gráfico 1</b> – Volume médio de água ingerida (mL) por coelhos após procedimento de cistoplastia experimental com implante de pericárdio ovino, nos primeiros cinco dias de pós operatório, nos animais controle (grupos 1, 2 e 3 - CONTR) e nos grupos cujo implante foi tratado com glutaraldeído a 1% (grupos 4, 5 e 6 - GLUTA).....</p>	10
<p><b>Gráfico 2</b> – Volume médio de ração ingerida (mL) por coelhos após procedimento de cistoplastia experimental com implante de pericárdio ovino, nos primeiros cinco dias de pós operatório, nos animais controle (grupos 1, 2 e 3 - CONTR) e nos grupos cujo implante foi tratado com glutaraldeído a 1% (grupos 4, 5 e 6 - GLUTA).....</p>	11
<p><b>Gráfico 3</b> – Volume médio de fezes eliminadas (mL) por coelhos após procedimento de cistoplastia experimental com implante de pericárdio ovino, nos primeiros cinco dias de pós operatório, nos animais controle (grupos 1, 2 e 3 - CONTR) e nos grupos cujo implante foi tratado com glutaraldeído a 1% (grupos 4, 5 e 6 - GLUTA).....</p>	11
<p><b>Tabela 1</b> – Valores médios, desvio padrão (DP) e níveis de significância estatística ao teste estatístico de Mann-Whitney das enzimas Alanino transaminase (ALT), Aspartato transaminase (AST) e Fosfatase Alcalina obtidas de coleta sanguínea no momento pré-operatório e pré-abate de coelhos submetidos ao procedimento de cistoplastia experimental com implantes de pericárdio ovino preservados em glicerina (grupos 1, 2 e 3) e tratados em glutaraldeído a 1%, (grupos 4, 5 e 6).....</p>	12
<p><b>Tabela 2</b> – Valores médios, desvio padrão (DP) e níveis de significância estatística ao teste estatístico de Mann-Whitney de Ureia e Creatinina obtidas de coleta sanguínea no momento pré-operatório e pré-abate de coelhos submetidos ao procedimento de cistoplastia experimental com implantes de pericárdio ovino preservados em glicerina (grupos 1, 2 e 3) e tratados em glutaraldeído a 1%, (grupos 4, 5 e 6).....</p>	13
<p><b>Quadro 1</b> – Alterações macroscópicas, locais de aderência e níveis de resistência à ruptura observados após o abate de coelhos submetidos a cistoplastia experimental com pericárdio ovino preservado em Glicerina 98% (grupo 1,2 e 3) ou tratado em Glutaraldeído 1% (grupos 4,5 e 6).....</p>	14
<p><b>Quadro 2</b> – Achados microscópicos pós-abate observados em fígado de coelhos submetidos a cistoplastia experimental com pericárdio ovino preservados em Glicerina 98% (grupo 1,2 e 3) ou tratados em Glutaraldeído 1% (grupos 4,5 e 6).....</p>	15

**Quadro 3** – Achados microscópicos pós-abate observados em baço de coelhos submetidos a cistoplastia experimental com pericárdio ovino preservados em Glicerina 98% (grupo 1,2 e 3) ou tratados em Glutaraldeído 1% (grupos 4,5 e 6)..... 15

**Quadro 4** – Achados microscópicos pós-abate, observados em rins de coelhos submetidos a cistoplastia experimental com pericárdio ovino preservados em Glicerina 98% (grupo 1,2 e 3) ou tratados em Glutaraldeído 1% (grupos 4,5 e 6)..... 15



## SUMARIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	01
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	02
2.1 Utilização de Membranas Biológicas em Cirurgia.....	02
2.2 Características do Pericárdio .....	03
2.3 Implantes em Bexiga .....	03
2.4 Toxicidade de soluções de tratamento das membranas biológicas .....	04
2.5 Utilização de teste in vivo .....	05
<b>3 MATERIAL E METODOS</b> .....	06
3.1 Obtenção e Limpeza da Membrana Biológica .....	06
3.2 Preparação das Soluções de Glutaraldeído e Glicerina .....	06
3.3 Tratamento e Conservação dos Pericárdios Ovinos .....	06
3.4 Animais .....	06
3.5 Procedimentos Pré, Trans e Pós-Cirúrgicos .....	07
3.6 Avaliações .....	08
3.6.1 Avaliação clínica .....	08
3.6.2 Análises laboratoriais .....	09
3.6.3 Avaliação macroscópica e coleta das amostras teciduais .....	09
3.6.4 Processamento e análise microscópica das amostras teciduais .....	09
3.6.5 Avaliação estatística .....	09
<b>4 RESULTADOS</b> .....	10
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	16
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	19
<b>7 REFERENCIAS BIBLIOGRAFIAS</b> .....	20
<b>ANEXOS</b> .....	25

# 1 INTRODUÇÃO

O uso de implantes biológicos vem crescendo e ganhando considerável repercussão na cirurgia veterinária. Grande variedade de materiais tem sido usada na reconstrução da bexiga, inclusive o pericárdio de diferentes espécies, para fornecer arcabouço e orientar a cicatrização mediante processos de reparação que restabelecem a estrutura e a função dos tecidos lesados.

Para a utilização de qualquer biomaterial é necessário submetê-lo a tratamento químico. O agente químico para tratamento e conservação de materiais biológicos mais conhecido e utilizado na medicina veterinária no Brasil é a glicerina 98%, porém há uma grande preocupação com o fato da ação antimicrobiana da glicerina ser restrita a bactérias não esporuladas e fungos, permitindo a transmissão de agentes virais e bactérias esporuladas ao animal receptor de enxertos homólogos ou heterólogos.

Desde 1969 utiliza-se o glutaraldeído na conservação de membranas biológicas, sendo eficiente contra formas vegetativas bacterianas. A concentração usual do glutaraldeído para este fim varia de 0,5% a 0,625% considerada como esterilizante e não prejudicial à incorporação do implante. Todavia, sabe-se que na concentração de 0,625% o glutaraldeído é incapaz de inativar o vírus rábico e, por este motivo, concentrações mais altas devem ser testadas (TRANI, 2006).

O risco potencial da toxicidade sistêmica dos aldeídos deve ser considerado. Levando-se em conta a hipótese do glutaraldeído utilizado no tratamento de membranas biológicas implantadas em diferentes localizações vir a ser absorvido de forma sistêmica, alterações na integridade estrutural e funcional de fígado, baço e rins podem ocorrer, sendo detectadas por meio de análises clínicas, laboratoriais e morfológicas.

A avaliação da segurança do uso de produtos químicos como a glicerina 98% e glutaraldeído 1% para tratamento de membranas biológicas é de fundamental importância na prática cirúrgica veterinária, uma vez que este método caracteriza-se por sua praticidade, baixo custo e grande aceitação no meio, além da ampla gama de aplicações.

O objetivo do presente estudo é avaliar se a membrana biológica (pericárdio ovino) tratada com glutaraldeído 1% e conservada em glicerina 98%, implantada na parede vesical de coelhos é capaz de promover alterações sistêmicas, avaliadas por meio de exames clínicos, laboratoriais e análise macro e microscópica de fígado, baço e rins.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Utilização de Membranas Biológicas em Cirurgia

Segundo Covarrubias (2005) a utilização de próteses cirúrgicas surgiu a partir da necessidade de se substituir cirurgicamente a falta ou a falha de um órgão ou parte do mesmo, seja este implante constituído por material artificial ou biológico. A utilização de membranas biológicas, no Brasil, teve início a partir da implantação experimental de dura-máter homóloga, conservada em glicerina, na substituição de segmento dural de cães (PIGOSSI, 1967).

Pigossi, em 1967, analisou em períodos de 19 a 105 dias a dura-máter de cães que, após lavagem em água corrente para retirada de sujidades, foi acondicionada e conservada em frasco de tubo de ensaio com glicerina pura em temperatura ambiente. Em períodos variáveis, exames histológicos das peças de dura-máter foram realizados para a verificação de alteração em sua textura e uma discretíssima delaminação do colágeno foi notada, tendo sido posteriormente atribuída à desidratação.

Muitos experimentos foram e vêm sendo realizados com membranas biológicas conservadas com glicerina (PIGOSSI, 1967; PIGOSSI et al., 1971; ALVARENGA, 1977; LEITE et al., 1979; BRAILE, 1990; BARROS et al., 1994; ALMEIDA et al., 1998; BRANDÃO et al., 2001; GURGEL & CORTEZ FILHO, 2001; QUITZAN et al., 2003; BRUN et al., 2004; BRAGA & PIPPI, 2009) e os resultados obtidos sempre foram satisfatórios tanto em relação à reação inflamatória quanto ao processo regenerativo. De acordo com Leite et al. (1979) este agente químico proporciona ausência de reações inflamatórias agudas dos implantes, o que indica a baixa antigenicidade do transplante mantido neste meio de conservação, e para Mota et al. (2002) a solução de glicerina 98% é a que melhor mantém a integridade celular.

Pigossi et al. (1971) relataram a impossibilidade de investigação da transmissão de partículas virais por meio de membranas biológicas tratadas com glicerina 98% por motivos técnicos, no entanto consideraram esta solução de tratamento, embora seja utilizada em concentrações menores para manutenção viral na rotina de laboratórios, capaz de inativar partículas e evitar a transmissão de doenças causadas por vírus quando em conservação prolongada e à temperatura ambiente. Entretanto, Trani (2006) demonstrou que o vírus rábico foi mantido em pelo menos 50% dos pericárdios de camundongos conservados em glicerina 98%, por período de 30 dias e à temperatura ambiente.

O glutaraldeído (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>), também conhecido como pentanedial, é uma solução química, biocida e desinfetante, utilizada no tratamento químico, conservação e fixação de biomateriais. A sua utilização teve início na medicina humana no final da década de 1960. A aplicação desta solução de tratamento e conservação abrange membranas biológicas como cartilagens (ADLINGTON et al., 1992), por exemplo, além de implantes de pele (ZHENG, 1991), colágeno (OLIVER et al., 1975; OLIVER e GRANT, 1979) e pericárdios autólogos ou heterólogos, dentre outros, e vem sendo considerada eficiente em muitos estudos. Sua ação antibacteriana e fungicida se dá devido à alquilação de grupos sulfidril, hidroxila, carboxila e amina, alterando o DNA, RNA e a síntese de proteínas desses microrganismos.

A eficácia dos aldeídos como esterilizantes para bactérias, fungos e enterovírus depende da concentração, temperatura, pH e tempo de exposição. As baixas concentrações de glutaraldeído, usualmente utilizadas no tratamento de tecidos biológicos não são muito eficazes contra micobactérias, esporos de bactérias (*Bacillus subtilis*, *Clostridium sporogenes*), fungos (*Chaetomium globosum*), e *slow viruses* (vírus com um longo período de incubação entre a infecção e o desenvolvimento de doenças degenerativas como a doença de Creutzfeldt-Jakob) (HILBERT et al., 1988 apud MAIZATO, 2003). Trani (2006) demonstrou a ineficácia de baixas concentrações de glutaraldeído (0,625%) no tratamento e controle do vírus rábico em pericárdios bovinos tratados. Isto demonstra a necessidade de aumento das concentrações utilizadas para este tipo de tratamento, entretanto, concentrações maiores são extremamente tóxicas (WERLEY et al., 1996), embora sejam mais rigorosamente desinfetantes. Costa (2010) avaliou concentrações de 0,625%, 1% e 1,5% no tratamento de pericárdio bovino implantado na parede abdominal de ratos e observou que a intensa reação inflamatória provocou a escassa integração entre o implante e o tecido muscular, na concentração 1,5% o que não foi observado nas concentrações menores (0,625% e 1%).

## **2.2 Características do Pericárdio**

O pericárdio é uma membrana que forma um saco fibroso, grosso, translúcido, de duas capas. É composto por uma folha fibrosa externa que se adere ao esterno, aos grandes vasos e ao diafragma, e por uma membrana serosa interna. Sua capa fibrosa está coberta por uma lâmina serosa de células cubóides, que junto com a membrana serosa formam o pericárdio parietal. A membrana serosa, por sua vez, se reflete na superfície epicárdica formando o pericárdio visceral. O maior constituinte do pericárdio parietal é o tecido fibroso, cujos principais componentes são as fibras compactas de colágeno dispostas entre três capas orientadas em ângulos iguais entre si. As fibras de elastina também formam parte do pericárdio, no entanto são menos numerosas, não formam fibras densas e tendem a estar orientadas em ângulo reto com relação às fibras colágenas adjacentes. A predominância de colágeno e sua configuração anatômica são muito importantes para as propriedades viscoelásticas do pericárdio (COVARRUBIAS et al., 2005).

O pericárdio é um material de origem biológica altamente resistente, de fácil manejo cirúrgico, maleável e sem problemas de reação com corpo estranho. Além disso, é um tecido de fácil obtenção. O tratamento do pericárdio com glutaraldeído proporciona propriedades mecânicas e imunogênicas, flexibilidade, reduz a trombogenicidade e controla a degradação tecidual (MAIZATO et al., 2008). Após o tratamento, com remoção de restos celulares, proteínas degradáveis e lipídeos, ele consiste de uma malha de fibras colágenas, um material fácil de suturar, com boa força, mínima elasticidade, e ausência de irritações no contato com outros materiais (ANSON & MARCHAND, 1996 apud YAMATOOGI et al., 2005).

## **2.3 Implantes em Bexiga**

Implantes de tecido biológico em bexiga, na medicina veterinária, foram relatados por DALECK et al. (1989), que realizaram cistoplastia dorsal em cães com membrana peritoneal bovina, SUTHERLAND et al. (1996) com matriz de tecido acelular derivada da parede gástrica e vesical em ratos, GURGEL & CORTEZ FILHO

(2001) em gatos que receberam implante vesical de membrana de pericárdio caprino, GRECA et al. (2004) com submucosa intestinal suína (SIS) na bexiga de cães, YANG et al. (2005) com matriz extracelular derivada de tecido vesical homólogo em coelhos e OLIVEIRA et al. (2008) com peritônio bovino em cistoplastia em coelhos.

#### **2.4 Toxicidade de soluções de tratamento das membranas biológicas**

O material utilizado em implantes somente é ideal para aplicações “in vivo” se for biocompatível e causar a menor toxicidade ou injúria ao tecido, e não deve ser carcinogênico ou imunogênico (TANG et al., 1995). O aspecto inerente à compatibilidade sanguínea implica uma série de características intrínsecas ao material de implante, ou seja, não destruir ou sensibilizar os elementos celulares do sangue, não alterar as proteínas plasmáticas, não causar respostas imunes diversas, não induzir à carcinogenicidade ou mutagenicidade, não produzir reações tóxicas ou alérgicas, não causar depleção de eletrólitos, não ser adversamente afetado pela esterilização, apresentar estabilidade no ambiente fisiológico e não provocar calcificação (BRUCK, 1981, STARK, 1991 apud PINTO et al., 1993).

A solução de glutaraldeído é tóxica para o organismo receptor, portanto, é extremamente importante a lavagem abundante com solução salina antes de a membrana biológica ser implantada (PINTO et al., 1993). Por isso, é importante definir-se uma concentração ideal de glutaraldeído que não interfira bruscamente na reação inflamatória, que não provoque calcificação do implante, que não gere toxicidade local e sistêmica e que seja capaz de controlar, de forma eficaz, o crescimento microbiano.

Ao se avaliar o processo inflamatório na utilização de enxerto de pericárdio bovino tratado com glutaraldeído, pode-se caracterizá-lo como crônico e moderado (GRECA et al., 2005). Segundo Tang et al. (1995), respostas inflamatórias crônicas, acompanhadas de macrófagos e/ou acúmulo de células gigantes do organismo, têm sido observadas ao redor de muitos tipos de implantes de biomateriais e têm sido associadas com várias complicações que afetam tanto o receptor quanto o implante por si mesmo (TANG et al., 1995). Durante a resposta inflamatória crônica ao implante, produtos da aderência de células inflamatórias podem ser gerados e danificar o implante e/ou reagir com o biomaterial e gerar catabólitos tóxicos (ZHAO & COURTNEY, 1999).

Com os avanços das pesquisas o glutaraldeído mostrou-se um potente agente citotóxico, sendo responsável por muitos efeitos adversos. Ribeiro et al. (2009) observaram que entre profissionais da área da saúde que trabalham em contato direto com o agente, os sintomas mais comuns são afecções respiratórias, seguidas por sintomas neurológicos e dermatológicos.

O risco potencial da toxicidade sistêmica deve ser considerado, e análises clínicas e laboratoriais podem ser úteis para sua determinação. A avaliação da integridade estrutural e funcional de fígado, baço e rins de camundongos com pericárdio conservado pré-implantado é importante para se determinar a toxicidade do glutaraldeído e fornecer maior confiabilidade com relação à indicação de sua utilização (MARTINS et al., 2011).

## **2.5 Utilização de teste in vivo**

A utilização de animais na tentativa de compreensão de processos biológicos começou há muitos anos com Hipócrates (450 a.C.) que, didaticamente comparava o aspecto de órgãos humanos doentes com o de animais. Galeno (129 – 210 d.C.), em Roma, foi talvez o pai da medicina científica, realizando procedimentos experimentais semelhantes à vivisseção, testando algumas variáveis em modelos animais. (PINHEIRO et al., 2007).

Segundo Schanaider et. al. (2004), a pesquisa cirúrgica em animais utilizados em laboratório tem se expandido nas últimas décadas, em decorrência do melhor suporte anestésico, da sofisticação de infraestrutura, aperfeiçoamento de materiais para monitorização contínua. Os focos principais destas pesquisas têm sido aprimorar o conhecimento acerca dos mecanismos fisiopatológicos de doenças, empreender ensaios terapêuticos com novos fármacos, estudar marcadores biológicos e avaliar novas técnicas. O autor reporta ainda que é fácil trabalhar com coelhos e hamsters, por se adaptarem bem ao ambiente de laboratório.

### 3 MATERIAL E METODO

#### 3.1 Obtenção e Limpeza da Membrana Biológica

Os pericárdios ovinos foram obtidos de animais abatidos em matadouro de Fiscalização Estadual na cidade de Três Rios – RJ. O material coletado foi transportado e conservado em uma embalagem plástica limpa e não estéril, em recipiente isotérmico com gelo, que manteve os pericárdios em temperatura média de 10°C, aferida com termômetro até a chegada ao laboratório. Em seguida, foi realizada a limpeza do pericárdico, retirando-se a gordura para que o tratamento e conservação fossem iniciados.

#### 3.2 Preparação das Soluções de Glutaraldeído e Glicerina

As soluções de glutaraldeído e glicerina foram preparadas no laboratório do Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária da UFRRJ. Preparou-se uma solução PBS, composta por fosfato monopotássico, fosfato dissódico, cloreto de sódio e água destilada, que foi utilizada para o tamponamento da solução de glutaraldeído 1%. Obteve-se a concentração da solução por meio de volume por volume e o pH final 7,2, aferido por pHmetro (TRANI, 2006). Utilizou-se solução de glicerina comercializada na concentração 98%, que, assim como a solução de glutaraldeído, foi armazenada em frascos estéreis com 70mL das soluções cada.

#### 3.3 Tratamento e Conservação dos Pericárdios Ovinos

Os pericárdios ovinos, após a limpeza, foram fracionados em partes com áreas equivalentes a 1,5 x 1,5cm, medidos por paquímetro e, em seguida, cada frasco de solução recebeu um fragmento para que o processo de tratamento fosse iniciado. Os fragmentos em glicerina permaneceram nestes frascos por no mínimo 30 dias (DALECK et al., 1988); em glutaraldeído permaneceram por 18 dias (GOISSIS, 1999), sendo então transferidos para frascos contendo glicerina, onde foram mantidos por um período mínimo de 30 dias. Todos permaneceram armazenados em temperatura ambiente, sob proteção da luz em caixa escura vedada.

#### 3.4 Animais

O uso de animais foi aprovado pela Comissão de Ética na Pesquisa da UFRRJ/COMEP, processo 23083.009478/2012-70.

Foram utilizados 36 coelhos (*Oryctolagus cuniculus*, Lagomorfa, Mammalia) da raça Nova Zelândia, machos e fêmeas adultos com média de peso entre 2 e 3 quilos, procedentes do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Ao recebimento os animais sofreram exame físico, com objetivo de eventuais descartes daqueles que não se enquadrassem nos padrões de normalidade. Após período de ambientação de aproximadamente 10 dias, foi realizada coleta sanguínea da veia jugular para hemograma e bioquímica.

A manutenção dos coelhos foi feita em gaiolas individuais suspensas com dimensões de 80x50x35cm em galpão telado com piso e ventilação adequados, onde receberam água e ração seca sem restrições.

Foram formados seis grupos, sendo que cada grupo foi constituído por seis coelhos. Considerou-se os três primeiros grupos como controle (C) e os três seguintes como tratado (T):

Grupo C1: coelhos que receberam implantes conservados com glicerina a 98% e foram mortos após 14 dias;

Grupo C2: coelhos que receberam implantes conservados com glicerina a 98% e foram mortos após 30 dias;

Grupo C3: coelhos que receberam implantes conservados com glicerina a 98% e foram mortos após 60 dias;

Grupo T1: coelhos que receberam implantes tratados com glutaraldeído a 1%, posteriormente conservados na glicerina a 98% e foram mortos após 14 dias;

Grupo T2: coelhos que receberam implantes tratados com glutaraldeído a 1%, posteriormente conservados na glicerina a 98% e foram mortos após 30 dias;

Grupo T3: coelhos que receberam implantes tratados com glutaraldeído a 1%, posteriormente conservados na glicerina a 98% e foram mortos após 60 dias;

### **3.5 Procedimentos Pré, Trans e Pós-Cirúrgicos**

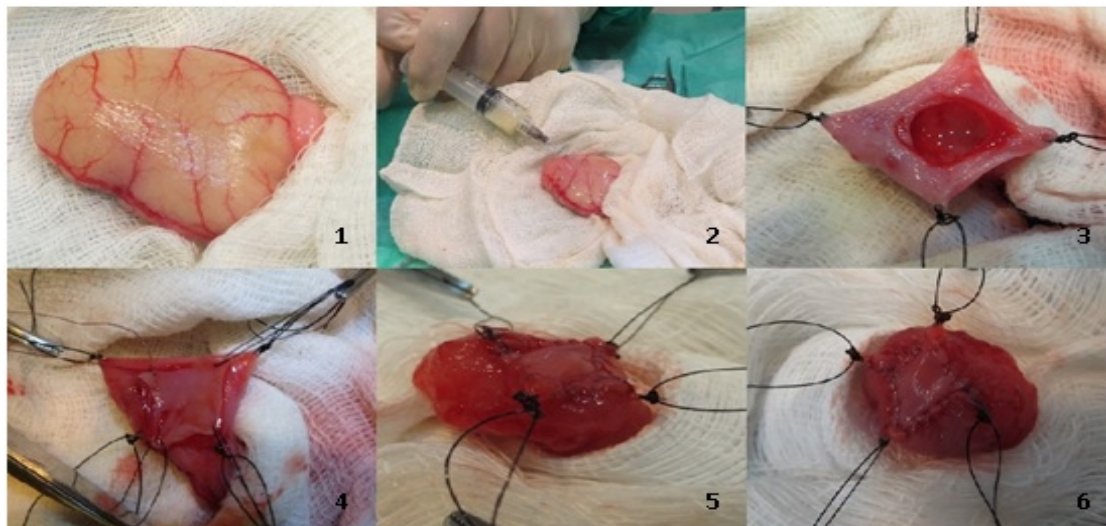
Os pericárdios foram retirados dos frascos e lavados com solução salina estéril (cloreto de sódio a 0,9%) para a retirada do máximo de solução presente na superfície (PINTO et al., 1993). Foram efetuadas quatro lavagens nos fragmentos tratados com glicerina (PINTO et al., 1993) e oito lavagens nos que foram tratados com glutaraldeído (PINTO et al., 1993; HADDAD FILHO et al., 2004). Cada lavagem foi realizada com 10 mL da solução salina. Após a última lavagem, os fragmentos permaneceram nesta solução por 30 minutos.

Para realização da técnica de cistoplastia, cada coelho foi contido manualmente e os pêlos que recobrem as orelhas foram tricotomizados, aplicado 1mL da mistura de lidocaína-prilocaína a 5% (creme EMLA<sup>®</sup>) sobre a pele para posteriores punções venosa e arterial livres de dor após 15 minutos (MOREIRA et. al., 2013). Como medicação pré-anestésica foram administrados, pela via subcutânea (SC), meloxicam 1,5 mg.kg<sup>-1</sup> (TURNER, 2006) e morfina 2,5 mg.kg<sup>-1</sup> (MURAI & OGURA, 1978; LIPMAN, 2008). A anestesia foi induzida com propofol 8 mg.kg<sup>-1</sup> via intravenosa (IV) (MARTIN-CANCHO, 2006) e mantida com isoflurano por meio de máscara conectada a um circuito semifechado (BATEMAN, 2005).

Com o animal posicionado em decúbito dorsal, foi realizada a tricotomia da região abdominal caudal, seguida de anti-sepsia. Após celiotomia mediana, isolamento da bexiga com compressas úmidas e cistocentese, foram aplicados, na face dorsal da parede vesical, dois pontos de reparo na extremidade cranial e dois na extremidade caudal do plano a ser incisado, para auxiliar e facilitar a manipulação do órgão; após incisão em estocada, retirou-se um fragmento de 1,5 x 1,5cm, o qual foi substituído por retalho de pericárdio ovino, de mesma dimensão, de acordo com Oliveira et al. (2008). O implante foi fixado através de sutura contínua simples com fio absorvível sintético multifilamentar (Poliglactina 910) 5-0 em único plano. Quatro pontos simples separados



sero-musculares foram aplicados nos vértices da interface implante-hospedeiro, com fio inabsorvível sintético (náilon)3-0 (Figura 1), para a identificação futura da região do implante. Por fim fechou-se a cavidade abdominal e posteriormente a pele, ambas com sutura interrompida simples (OLIVEIRA et al., 2008).



**FIGURA 1** – 1. Vesícula urinária de coelho isolada com compressas úmidas; 2. cistocentese; 3. pontos de reparo nas extremidades cranial e caudal do plano incisado, para auxiliar e facilitar a manipulação do órgão; 4. substituição do defeito cirúrgico por retalho de pericárdio ovino, de mesma dimensão; 5. fixação do enxerto através de sutura contínua simples com fio absorvível sintético multifilamentar (Poliglactina 910) 5-0 em único plano; 6. quatro pontos simples separados sero-musculares aplicados nos vértices da interface implante-hospedeiro, com fio inabsorvível sintético (náilon)3-0.

Foram instituídas as terapias antimicrobiana com enrofloxacina ( $5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), via (SC), a cada 24 horas, durante cinco dias consecutivos e antiinflamatória com meloxicam ( $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), via (SC), a cada 12 horas durante três dias, bem como a limpeza da ferida cirúrgica com clorexidina, a cada 24 horas, por sete dias. Todos os animais receberam colares protetores para evitar deiscência de sutura decorrente de auto-mutilação.

### 3.6 Avaliações

#### 3.6.1 Avaliação clínica

Os animais eram avaliados diariamente, nos cinco dias posteriores à cirurgia quanto ao aspecto da ferida cirúrgica da pele, a procura de deiscência de sutura, formação de seromas, hematomas e abscessos. Pelo mesmo período foi realizada medição do volume fecal e mensuração de água e ração ingeridas pelos animais, utilizando-se um medidor com capacidade de 500 mL; eram fornecidos diariamente 300 mL de ração e 1 litro de água para cada coelho, calculando-se a diferença do fornecido pelo restante nos comedouros e bebedouros.

Após os cinco primeiros dias do pós-operatório a ingestão e eliminação foi observada diariamente, enquanto que a região da ferida cirúrgica foi avaliada semanalmente, até o momento do abate. Os pontos de pele foram retirados no décimo dia de pós operatório.

### **3.6.2 Análises laboratoriais**

Realizou-se as análises laboratoriais a partir de amostras de sangue coletadas da veia jugular em dois momentos distintos, após período de ambientação/quarentena e previamente ao abate. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Análises Clínicas do Departamento de Medicina e Cirurgia do Instituto de Veterinária para confecção do hemograma e para o Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) para determinação dos valores de ureia, creatinina, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina.

### **3.6.3 Avaliação macroscópica e coleta das amostras teciduais**

Cada grupo foi avaliado em períodos pós-operatórios diferentes correspondentes a 14, 30 e 60 dias, após abate com tiopental sódico ( $200\text{mg kg}^{-1}$ ) por via IV. Procurou-se a presença de possíveis complicações da enxertia tais como: seromas, hematomas, fístulas, abscessos, calcificações, aderências, peritonite, e demais lesões em fígado, rins e baço, classificando-se as alterações encontradas de acordo com modelo proposto por Martins et al. (2011).

Fragmentos de fígado, rins e baço foram coletados, fixados em formol a 10%, devidamente identificados e encaminhados ao Laboratório de Histopatologia do Instituto de Veterinária (Anexo 1) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Todas as carcaças foram encaminhadas para cremação.

### **3.6.4 Processamento e análise microscópica das amostras teciduais**

Após a fixação, os fragmentos viscerais foram desidratados em álcool absoluto, tratados com xilol, incluídos em parafina, cortados na espessura de  $5\mu$  e corados pela hematoxilina-eosina (HE) para análise à microscopia de luz.

### **3.6.5 Avaliação estatística**

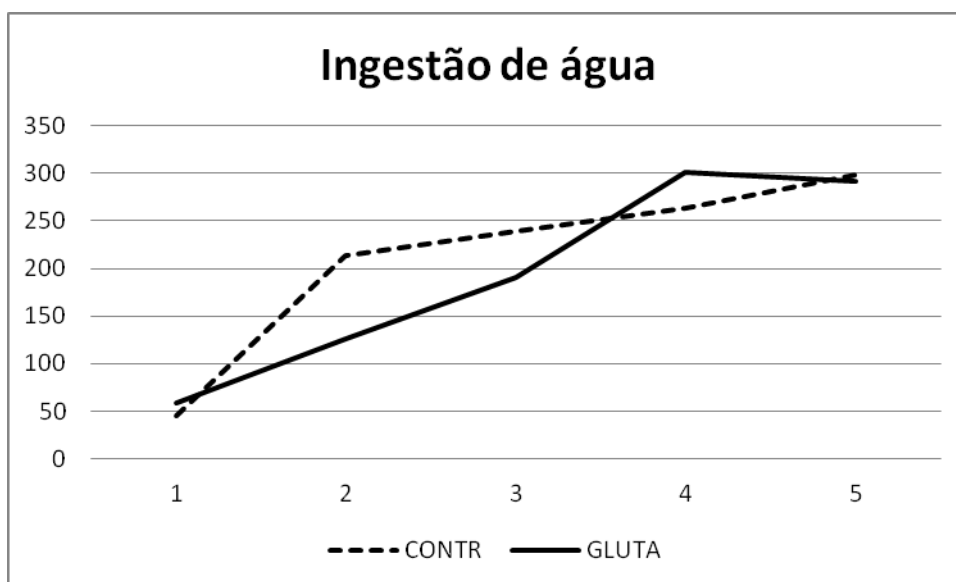
Para a avaliação da ingestão de água e ração e eliminação de fezes, comparou-se diariamente, nos primeiros cinco dias, os valores obtidos dos grupos controle (C1, C2 e C3) com os valores dos grupos que receberam implante tratado com glutaraldeído a 1% (grupos T1, T2 e T3), recebendo tratamento estatístico pelo Teste de Mann-Whitney.

Os níveis séricos da Alanino transaminase (ALT), Aspartato transaminase (AST), Fosfatase Alcalina, Ureia e Creatinina obtidos no momento pré-operatório e pré-abate foram comparados, dentro de cada grupo, pelo teste estatístico de Mann-Whitney.

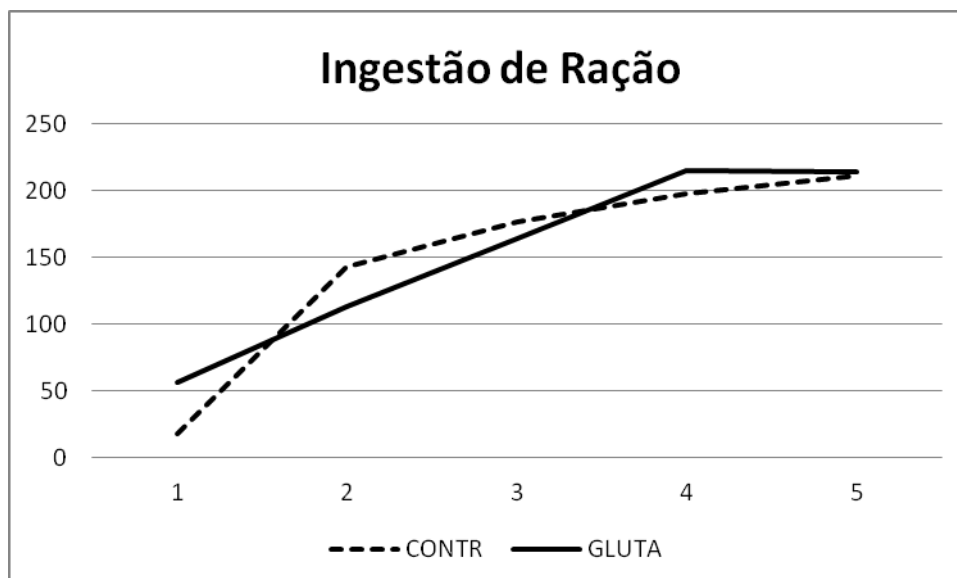
## 4 RESULTADOS

A avaliação da ferida cirúrgica revelou padrão de cicatrização esperado, não sendo observada formação de seromas, hematomas e abscessos ou qualquer outra alteração no reparo.

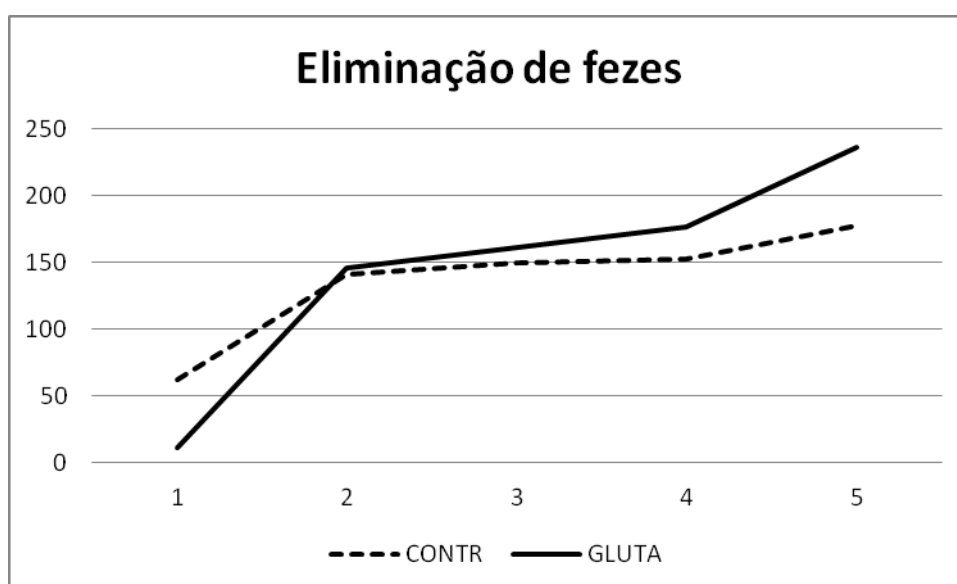
A avaliação estatística dos cinco primeiros dias pós-cirúrgicos de ingestão de água e ração e eliminação de fezes, comparando-se os animais que serviram como controle (grupos C1, C2 e C3) com aqueles que receberam implantes tratados pelo glutaraldeído 1% (grupos T1, T2 e T3), demonstrou não haver diferença significativa na variação da ingestão de ração; a ingestão de água foi estatisticamente diferente no segundo dia ( $p < 0,01$ ) e, na eliminação de fezes, houve diferença estatisticamente significativa no dia um ( $p < 0,05$ ), não havendo significância nos demais dias em ambos os parâmetros. Os seis grupos atingiram o padrão de volume de ingestão hídrica, alimentar e fecal ao quinto dia da avaliação, demonstrado respectivamente nos gráficos 1, 2 e 3.



**Gráfico 1** – Volume médio de água ingerida (mL) por coelhos após procedimento de cistoplastia experimental com implante de pericárdio ovino, nos primeiros cinco dias de pós operatório, nos animais controle (grupos C1, C2 e C3 - CONTR) e nos grupos cujo implante foi tratado com glutaraldeído a 1% (grupos T1, T2 e T3 - GLUTA).



**Gráfico 2** – Volume médio de ração ingerida (mL) por coelhos após procedimento de cistoplastia experimental com implante de pericárdio ovino, nos primeiros cinco dias de pós operatório, nos animais controle ((grupos C1, C2 e C3 - CONTR) e nos grupos cujo implante foi tratado com glutaraldeído a 1% (grupos T1, T2 e T3 - GLUTA).



**Gráfico 3** – Volume médio de fezes eliminadas (mL) por coelhos após procedimento de cistoplastia experimental com implante de pericárdio ovino, nos primeiros cinco dias de pós operatório, nos animais controle (grupos C1, C2 e C3 - CONTR) e nos grupos cujo implante foi tratado com glutaraldeído a 1% (grupos T1, T2 e T3 - GLUTA).

Os resultados hematológicos dos coelhos no momento pré-cirúrgico demonstraram valores de hematócrito com variação entre 30% e 40%; os leucócitos variaram entre  $4 \times 10^3/\mu\text{l}$  e  $12 \times 10^3/\mu\text{l}$  enquanto que os níveis plaquetários da maior parte da amostra encontravam-se acima de  $200 \times 10^3/\mu\text{l}$  com exceção de 3 animais cujos níveis encontravam-se em torno de  $140 \times 10^3/\mu\text{l}$ . Tais valores e padrões se mantiveram no momento pré-abate. (Anexo F).

Os resultados dos testes bioquímicos de função hepática realizados no momento pré-cirúrgico e pré-abate revelaram uma grande variação de valores, independentemente dos grupos analisados. A avaliação da fosfatase alcalina revelou valores entre 89 UI/dl e 229 UI/dl no momento pré-cirúrgico e entre 33 UI/dl e 157 UI/dl no momento pré-abate; a aspartato transferase (AST) variou entre 20 UI/dl e 117 UI/dl no primeiro momento e de 20 UI/dl a 111 UI/dl no pré-abate, enquanto que a alanino transaminase (ALT) teve seus valores entre 36 UI/dl e 102 UI/dl no momento pré-cirúrgico e 22 UI/dl e 109 UI/dl no momento pré-abate.

A comparação estatística entre os valores de alanino transferase (ALT) nos momentos pré-cirúrgico e pré-abate revelou haver diferença significativa apenas no grupo C3 (animais controle com abate aos 60 dias), com valor de  $p < 0,01$ . Em relação à aspartato transaminase (AST) não houve variação significativa em nenhum dos grupos enquanto que a fosfatase alcalina revelou modificação significativa nos grupos C1, C3 e T3 ( $p < 0,01$ ) e T1 ( $p < 0,05$ ). Estes resultados, assim como a média e o desvio padrão de cada grupo, estão demonstrados na tabela 1.

**Tabela 1** – Valores médios, desvio padrão (DP) e níveis de significância estatística ao teste estatístico de Mann-Whitney das enzimas Alanino transaminase (ALT), Aspartato transaminase (AST) e Fosfatase Alcalina obtidas de coleta sanguínea no momento pré-operatório e pré-abate de coelhos submetidos ao procedimento de cistoplastia experimental com implantes de pericárdio ovino preservados em glicerina (grupos C1, C2 e C3) e tratados em glutaraldeído a 1%, (grupos T1, T2 e T3).

	ALT			AST			Fosfatase Alcalina		
	Pré-operatório	Pré-abate	Mann-Whitney	Pré-operatório	Pré-abate	Mann-Whitney	Pré-operatório	Pré-abate	Mann-Whitney
C1	44,67 (DP 10,71)	48 (DP 28,19)	ns	70,33 (DP 13,98)	62,67 (DP 30,72)	ns	199,66 (DP 17,28)	103,16 (DP 45,53)	**
C2	47 (DP 21,15)	32,5 (DP 14,05)	ns	64,83 (DP 15,33)	63,17 (DP 30,78)	ns	123,33 (DP 56,09)	59 (DP 12,85)	ns
C3	149,17 (DP 41,24)	44,67 (DP 6,98)	**	67,33 (DP 24,87)	45,83 (DP 14,39)	ns	149,16 (DP 41,23)	44,67 (DP 6,98)	**
T1	160 (DP 34,23)	106 (DP 40,98)	ns	58,5 (DP 18,74)	45,5 (DP 12,82)	ns	160 (DP 34,23)	106 (DP 40,98)	*
T2	169,17 (DP 34,23)	123,83 (DP 40,98)	ns	52 (DP 20,15)	33,76 (DP 33,76)	ns	169,1 (DP 34,23)	123,8 (DP 40,99)	ns
T3	156 (DP 26,31)	50,17 (DP 16,22)	ns	74,67 (DP 29,88)	65,5 (DP 31,19)	ns	156 (DP 26,3)	50,17 (DP 16,22)	**

ns – não significante; \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$

Os valores obtidos na avaliação da função renal dos coelhos submetidos ao procedimento demonstraram variação na creatinina entre 0,6 UI/dl e 1,6 UI/dl em ambos os momentos, enquanto que na ureia observaram-se valores entre 16 UI/dl e 45 UI/dl no momento pré-cirúrgico e 22 UI/dl e 61 UI/dl no momento pré-abate. A comparação estatística entre os dois momentos de avaliação referente à ureia revelou variação significativa nos grupos C2 e T2 ( $p < 0,01$ ) e C1 e T1 ( $p < 0,05$ ), enquanto que na creatinina observou-se diferença apenas nos grupos T1 ( $p < 0,01$ ) e T2 ( $p < 0,05$ ). Os resultados assim como a média e o desvio padrão de cada grupo, estão apresentados na tabela 2.

**Tabela 2** – Valores médios, desvio padrão (DP) e níveis de significância estatística ao teste estatístico de Mann-Whitney de Ureia e Creatinina obtidas de coleta sanguínea no momento pré-operatório e pré-abate de coelhos submetidos ao procedimento de cistoplastia experimental com implantes de pericárdio ovino preservados em glicerina (grupos C1, C2 e C3) e tratados em glutaraldeído a 1%, (grupos T1, T2 e T3).

	Ureia		Mann-Whitney	Creatinina		Mann-Whitney
	Pré-operatório	Pré-abate		Pré-operatório	Pré-abate	
C 1	19,83 (DP 4,17)	37,5 (DP 10,25)	*	0,88 (DP 0,08)	0,95 (DP 0,19)	ns
C 2	27,5 (DP 5,82)	43,83 (DP 7,47)	**	1,21 (DP 0,24)	1,18 (DP 0,09)	ns
C 3	37,83 (DP 5,91)	45,66 (DP 11,20)	ns	1,2 (DP 0,5)	1,37 (DP 0,22)	ns
T 1	21,66 (DP 6,25)	28,33 (DP 6,28)	*	0,75 (DP 0,08)	1,01 (DP 0,15)	**
T 2	20,33 (DP 2,94)	37,67 (DP 4,03)	**	0,77 (DP 0,1)	1,05 (DP 0,16)	*
T 3	33,83 (DP 6,30)	44,33 (DP 14,53)	ns	1,35 (DP 0,14)	1,43 (DP 0,29)	ns

Na avaliação macroscópica após o abate não foi observada a formação de seromas, hematomas, fístulas, abscessos ou calcificações tampouco alterações em rim, fígado e baço. Os achados estão listados no quadro 1.

**Quadro 1** – Alterações macroscópicas, locais de aderência e níveis de resistência à ruptura observados após o abate de coelhos submetidos a cistoplastia experimental com pericárdio ovino preservado em Glicerina 98% (grupo C1,C2 e C3) ou tratado em Glutaraldeído 1% (grupos T1,T2 e T3).

ANIMAL	GRUPO	SEXO	ADERÊNCIA	OUTRAS OBSERVAÇÕES
1	Grupo C1	M	+++ reto e omento	
2		M	+++ reto; ++ omento	
3		M	+++ int delg e peritônio parietal ventral	deiscência sutura de pele; peritonite; massa caseosa na cavidade peritoneal
4		M	++ omento	
5		M	++ omento	
6		M	++ omento	
7	Grupo C2	M	+ omento	
8		M	+++ int delg	
9		M	+ omento	
10		M	+ omento	
11		F	+ omento	
12		M	+ omento	
13	Grupo C3	M	+ omento	
14		F	++ omento	
15		F	+ omento	
16		M	+ omento	
17		M	+ omento	
18		M	+ reto	
19	Grupo T1	M	+++ reto	
20		M	++ peritônio parietal ventral	
21		M	++ omento	
22		M	+ omento	
23		M	++ omento	
24		M	+++ peritônio parietal ventral e int delg	Eventração
25	Grupo T2	M	++ omento	
26		M	++ omento	
27		M	-	
28		M	++ ceco	
29		M	+ reto	
30		M	++ int delg	
31	Grupo T3	F	++ omento	
32		F	++ omento	
33		F	+ omento	
34		M	+ omento e peritônio parietal ventral	
35		M	++ omento	
36		M	+ omento	

Legenda: M – Macho; F – Fêmea; + pouca resistência; ++ moderada resistência; +++ resistência acentuada.

O exame microscópico revelou, no fígado, leve a moderada tumefação de hepatócitos e congestão. Havia ainda, em parte dos animais, vacuolização de hepatócitos e infiltrado inflamatório periportal. No baço observou-se hiperplasia linfóide em um coelho e, nos rins, verificaram-se mineralização em um animal e leve a moderada congestão em 17 animais. Os achados foram identificados e quantificados quanto ao número de aparições em cada grupo, e os resultados estão expostos respectivamente nos quadros 2, 3 e 4.

**Quadro 2** – Achados microscópicos observados em fígados de coelhos submetidos à cistoplastia experimental com pericárdio ovino preservado em Glicerina 98% (grupos C1,C2 e C3) ou tratados em Glutaraldeído 1% (grupos T1,T2 e T3)

Fígado							
	Sem alteração	Tumefação (+)	Tumefação (++)	Congestão (+)	Congestão (++)	Vacuolização	Infiltrado Inflamatório Periportal
C1	3	3		1			
C 2		5		1	2	3	
C 3		6		3	2	6	1
T 1	3	2		1	1		
T 2		5	1	3		3	
T 3	1	2	1	2	1	1	1

Legenda: +discreta; ++ moderada

**Quadro 3** – Achados microscópicos observados em baço de coelhos submetidos a cistoplastia experimental com pericárdio ovino preservados em Glicerina 98% (grupos C1,C2 e C3) ou tratados em Glutaraldeído 1% (grupos T1,T2 e T3)

Baço		
	Sem Alteração	Hiperplasia Linfoide
GRUPO C1	6	
GRUPO C2	5	1
GRUPO C3	5	
GRUPO T1	4	
GRUPO T2	4	2
GRUPO T3	6	

**Quadro 4** – Achados microscópicos, observados em rins de coelhos submetidos a cistoplastia experimental com pericárdio ovino preservados em Glicerina 98% (grupos C1,C2 e C3) ou tratados em Glutaraldeído 1% (grupos T1,T2 e T3)

RINS			
	Sem Alteração	Congestão leve	Congestão moderada
GRUPO C1	6		
GRUPO C2	2	3	
GRUPO C3	3	2	1
GRUPO T1	6		
GRUPO T2	4	2	
GRUPO T3	5		1



## 5 DISCUSSÃO

As pesquisas a respeito do glutaraldeído na conservação e fixação de biomateriais vem ganhando grande importância no meio cirúrgico, tendo em vista que a aplicação desta solução abrange uma série de implantes, dentre os quais está o pericárdio ovino (OLIVER et al., 1975; OLIVER e GRANT, 1979; ZHENG, 1991; ADLINGTON et al., 1992). A concentração usual do glutaraldeído para este fim varia de 0,5% a 0,625% considerada como esterilizante e não prejudicial à incorporação do implante. Todavia, sabendo-se que na concentração de 0,625% o glutaraldeído é incapaz de inativar o vírus rábico (TRANI, 2006) testou-se no presente estudo o glutaraldeído na concentração de 1%. A escolha da solução de glutaraldeído utilizada no trabalho segue os resultados de Costa (2009), que demonstrou boa biocompatibilidade da concentração de 1% para tratamento de pericárdios bovinos implantados em parede abdominal de camundongos. A associação do tratamento com glutaraldeído à posterior conservação em glicerina 98% buscou aproximar o método escolhido à realidade de utilização de biopróteses na prática cirúrgica veterinária, fornecendo uma condição prática de manutenção da membrana a longo prazo.

A ingestão de água e alimento e a excreção fecal foram utilizadas como sinalização de alterações que pudessem levar a quadros de dor ou outros incômodos, como náusea e aumento de pressão intra-abdominal. Experimentos com monitoramento comportamental em coelhos tem se tornado um desafio para as pesquisas, tendo em vista a vulnerabilidade desta presa mediante um predador (pesquisador, tratador, etc.), fator este que se faz prejudicial nas análises de comportamento, podendo mascarar a realidade dos resultados. Estudos como os de Keating et al. (2012) determinaram que a melhor forma de avaliação do bem estar animal no pós-cirúrgico imediato é através da quantificação da ingestão de água e ração, tão quanto pela excreção de rejeitos fecais. As diferenças estatisticamente significantes na ingestão de água e excreção de fezes nos primeiros dias do pós-operatório relacionaram-se à irregularidade dos valores observados, o que é esperado nesta fase, quando os animais estão ainda sob o impacto das situações de stress, com respostas individuais amplamente variáveis. Da mesma forma, a avaliação hematológica pré-cirúrgica e pré-abate revelou valores de hematocrito, leucócitos e plaquetas dentro dos referenciais (HEIN e HARTMAN, 2003), descartando assim alterações prévias ou concorrentes.

As avaliações renal e hepática foram realizadas tendo em vista que fígado e rim são órgãos de extrema relevância funcional para o organismo, metabolizando as substâncias presentes no sangue tão quanto excretando-as, respectivamente. Determinou-se a coleta de sangue em dois períodos diferentes, pré e pós-cirúrgico, a fim de descartar animais com possíveis lesões antecedentes ao procedimento e promover uma análise comparativa nas funções renais e hepáticas nos dois momentos, buscando-se identificar possíveis influências sistêmicas do tratamento.

A fosfatase alcalina se manteve em ambos os momentos dentro do referencial citado por Emanuelli et al. (2008), cujos valores encontram-se entre 10,66 UI e 167,39 UI e também segundo Hein e Hartman (2003) que relatam valores de fosfatase alcalina de zero até 396 UI; entretanto, foi observada acentuada diminuição dos valores no pós

cirúrgico, que pode estar relacionada ao fator idade (ROQUETE, 2000; ALVES e ARRUTI, 2009) tendo em vista que os animais foram recebidos ainda jovens, sendo a primeira coleta realizada neste momento, diferentemente da segunda análise, quando os animais já encontravam-se com dois ou três meses de idade a mais.

A análise estatística da comparação dos valores da Alanino transaminase nos diferentes períodos de coleta demonstrou significância apenas no Grupo C3 (controle com abate aos 60 dias), entretanto entendeu-se que pode estar relacionada ao alto desvio padrão obtido no momento pré-cirúrgico, quando valores isolados de alguns animais podem ter influenciado nos resultados finais. Por sua vez, na Aspartato transferase não houve alteração significativa entre os dois momentos em nenhum dos grupos, porém, esteve em muitos animais, em ambos os momentos, acima do referencial descrito por Hein e Hartman (2003), de até 0, 28 UI/l. Na literatura consultada foi identificada grande divergência a respeito da padronização dos valores de referência das análises hematológicas e de função renal e hepática de coelhos, tendo em vista que ainda existe acentuada discrepância entre os valores relatados (HEIN e HARTMAN, 2003; EMANUELLI et al. 2008) e, desta forma, considera-se que há ainda uma lacuna a ser complementada a respeito do tema.

A avaliação da função renal foi conduzida através das análises da ureia e da creatinina. Segundo Hein e Hartman (2003), os níveis séricos de ureia em coelhos devem estar entre 20 mg/dl e 84 mg/dl enquanto que, segundo Emanuelli et al. (2008), tais valores podem estar entre 9,0 mg/dl e 66 mg/dl. Os níveis de ureia sanguínea dos animais testados permaneceu dentro do referencial em ambos os períodos de análise, entretanto a comparação estatística entre o pré-cirúrgico e o pré-abate revelou significância tanto nos grupos controle quanto nos de tratamento, referente à coleta com 14 e 30 dias, não sendo possível identificar, com base na literatura pesquisada, um mecanismo que esclareça o ocorrido. Os níveis séricos de creatinina se mantiveram, em ambos os momentos, dentro do referencial (HEIN e HARTMAN, 2003), todavia a análise estatística revelou alteração significativa nos momentos pré-cirúrgico e pré-abate referente aos Grupos T1 e T2, cujos pericárdios ovinos foram tratados em glutaraldeído 1% com análises séricas realizadas aos 14 e 30 dias; este fato sugere uma discreta alteração aguda e transitória no funcionamento renal por influência do glutaraldeído 1% que, entretanto, não esteve relacionada a nenhuma alteração morfológica no órgão. O ocorrido precisa ser confirmado e melhor elucidado através de novas pesquisas.

A avaliação macroscópica da cavidade peritoneal foi realizada com o intuito de inferir possíveis influências abdominais sobre a morfologia de fígado, baço e rins, o que poderia influenciar as análises histopatológicas. A necropsia revelou apenas a presença de aderências relacionadas com a vesícula urinária. As aderências presentes na cavidade abdominal ocorreram em sua maioria entre o local do implante e o mesentério, não havendo qualquer relação desta com os órgãos analisados. O achado foi observado em todos os animais pertencentes ao experimento não havendo assim qualquer influência do tratamento sobre a presença da mesma. A microscopia de fígado, baço e rins não revelou alterações que pudessem estar associadas ao efeito tóxico do glutaraldeído 1% tendo em vista que os achados presentes nos grupos tratados foram também identificados nos grupos controle, o que descarta a correlação das lesões com a ação do

glutaraldeído 1%. A tumefação/vacuolização no citoplasma de hepatócitos pode estar relacionada a reservas nutricionais de glicogênio e/ou lipídeos.

As análises realizadas no experimento demonstraram que o tratamento das membranas com glutaraldeído não exerceu influência sistêmica sobre o organismo; este resultado corrobora os relatos de Martins et al. (2011) nos quais também não observou-se relação do mesmo com alterações de fígado, rim e baço de camundongos submetidos a fragmentos de pericárdio bovino tratados em glutaraldeído e implantados na parede abdominal. No referido trabalho, os autores levantam o questionamento referente à baixa vascularização ao redor do implante como fator influente na toxicidade da substância, o que ocorre de forma diversa no presente estudo, visto que a parede da bexiga é ricamente irrigada, propiciando níveis mais elevados de absorção, o que, ainda assim, não determinou efeitos tóxicos sistêmicos.

## 6 CONCLUSÕES

O implante de pericárdio ovino tratado com glutaraldeído 1% e posteriormente mantido em glicerina 98% não provocou efeitos deletérios sobre a função renal e hepática, tampouco lesões morfológicas em rins, fígado e baço de coelhos.

O tratamento do pericárdio ovino com glutaraldeído 1% promoveu aumento da creatinina sanguínea em período de até 30 dias após sua implantação na bexiga de coelhos, sem terem sido ultrapassados os níveis de referência, sugerindo alguma influência sobre o funcionamento renal.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADLINGTON, P.; ANSCOMBE, A.J.; PHILLIPS, J.J. Influence of the mode of preparation on the long-term efficacy of homologous costal cartilage implants. *Journal of Laryngology and Otology*. London, v. 106, n. 6, p.511-7, 1992.

ALMEIDA, E. L.; ALVARENGA, J.; SILVA, J. V. Reconstrução de esôfago cervical de cães com pericárdio de caprino conservado em glicerina a 98% ou refrigerado em solução fisiológica a 0,9%: ESTUDO EXPERIMENTAL. In: *III Congresso Brasileiro de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária*. Belo Horizonte, MG, p. 93. 1998.

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

ALVES, C.; ARRUTI, R.; Hiperfosfatemia transitória benigna da infância. *Acta Ortopédica Brasileira*. v.17, n1. São Paulo 2009.

ANSON J.A.; Marchand E.P. Bovine pericardium for dural grafts: clinical result in 35 patients. *Neurosurgery*, v. 39 n. 4 p. 764- 768, 1996.

BARROS , P. S. M.; GARCIA, J. A.; LAUS, J. L.; FERREIRA, A. L.; GOMES, T. L. S. Aspecto clínicos do uso de membrana amniótica xenóloga conservada em glicerina nas ceratoplastia penetrantes da córnea de case. *Congresso Brasileiro de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária*. Curitiba PR. P. 84. 1994.

BATEMAN, L.; LUDDERS J. W.; GLEED R. D.; ERB H. N. Comparison between facemask and laryngeal mask airway in rabbits during isoflurane anesthesia. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, v. 32, p. 280-288, 2005.

BRAGA, F. A.; PIPPI, N. L. Uso de pericárdio heterólogo conservado em glicerina na reparação de hérnia abdominal traumática em cão. Disponível em: [www.redevet.com.br/artigos/pericardio.htm](http://www.redevet.com.br/artigos/pericardio.htm) acessado em dezembro de 2014.

BRAILE BIOMÉDICA - *INDÚSTRIA DE PRODUTOS CARDIOVASCULARES*. Disponível em: [www.braille.com.br](http://www.braille.com.br) acessado em dezembro 2015.

BRANDÃO, C. V; PEREIRA, G. J. C.; MOTTA, T.; MAMPRIM, M. J.; RANZANI, J. J. T. Reconstrução da cápsula articular com pericárdio bovino conservado em glicerina 98% para o tratamento da luxação coxofemural em cães. *Ciência Animal*, v. 11, suplemento 1. p. 248. 2001.

BRUN, M. V.; PIPPI, N. L.; DRIERMEIER, D.; CONRENSINI, E. A.; BECK, C.A. C.; CUNHA, O.; PINTO FILHO, S. T L.; ROECHSIG, C.; STEDILE, R.; SILVA, T. F. Solução hipersaturada de sal ou de glicerina a 98% como conservante de centro frênico

caninos utilizados na reparação de defeitos musculares em ratos Wistar. *Ciência Rural*, v. 34, n. 1, p. 147-153. 2004.

COSTA, C. B.; *Anatomohistopatologia de Implantes de Pericárdio Bovino Conservado em Diferentes concentrações de Glutaraldeído em parede abdominal de camundongos*. 2009. 73p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Patologia Animal). Instituto de Veterinária, Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

COELHO, A. M. M.; MACHADO, M. C. C.; MASUDA, Z.; CLEVA, R.; ABDO, E. E. Lesão hepática na insuficiência mioglobínica (rabdomiólise): estudo experimental em ratos. *Revista do Hospital das Clínicas*, v.51, n.6, p.228-31. Nov-dez, 1996.

COVARRUBIAS, D. P.; VEJA, A. S.; JASSO VICTORIA, R.; OLMOS ZUÑIGA J. R.; CALOCA J. V.; SALGADO J. A. S.; SANTILLÁN-DOHERTY, P. Uso del pericárdio bovino tratado com glutaraldeído. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*. v. 18 p. 224-229, 2005.

DALECK, C. L. M.; DALECK C. R; FILHO J. G. P. Cistoplastia com peritônio autólogo em cães. *Semina: Ciências Agrárias*. v.10, n.1, p.22-26, 1989.

EMANUELLI, M.P.; LOPES, S.T.A.; MACIEL, R.M.; GARMATZ, B.C.; TAVARES M.O. Concentração sérica de fosfatase alcalina, gama-glutamil transferase, ureia e creatinina e coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). *Ciência Animal Brasileira*, v.9, n.1, p251-255, 2008.

GRECA, F.H. Utilização da submucosa de intestino delgado porcino como retalho para aumento da capacidade vesical em cães. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v.19, n.6, 2004.

GOISSIS, G.; BRAILE, D.M.; GIGLIOTI, A.F. Desenvolvimento do processo automático para reticulação progressiva de matrizes de colágeno com glutaraldeído. *Polímeros: Ciência e tecnologia*, v.9, n.4, p. 92-97, out/dez,1999.

GURGEL, S.; CORTEZ FILHO, J.J. Uso do pericárdio caprino conservado em glicerina no reparo de bexiga de *Felis catus*. In: *Congresso Brasileiro de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais*, 22., 2001, Fortaleza. Anais... Fortaleza: Faculdade de Veterinária - Universidade Estadual do Ceará, 2001. p.169.

HEIN, J; HARTMANN, K. Reference ranges of laboratory parameters in rabbits. *Tierärztliche Praxis Kleintiere*, v.5, p.321-328, 2003

HADDAD FILHO, D.; MARQUES, A.; KAFEJIAN-HADDAD, A.P.; ZVEIBEL, D.K. Estudo comparativo das reações teciduais ao implante de pericárdio bovino e a inclusão de politetrafluoroetileno expandido em ratos. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 19, n. 2, p.131-135, 2004.

LEITE, J.B.F.; MARQUES, A.F.; GOMES, O.M.; PIGOSSI, N. A glicerina e a preservação dos tecidos. *Revista Paulista Médica*, v.93, p.81-4, 1979.

LIPMAN, N.S.; MARINI, R.P.; FLECKNELL, P.A. Anesthesia and Analgesia in Rabbits. In: FISH, R.E. et al. *Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals*. 2ed. London: Academic Press, 2008. p. 299-333.

MAIZATO, M. J. S.; HIGA, O. Z.; MATHOR, M. B.; CAMILLO, M. A. P.; SPENCER, P. J.; PITOMBO, R. N. M.; ZAVAGLIA, C. A. C.; LEIRNER, A. A. Glutaraldehyde-treated bovine pericardium: effects of lyophilization on cytotoxicity and residual aldehydes. *Artificial Organs*. v. 27, n. 8, p. 692-694, 2003.

MAIZATO, M. J. S. PIRES, M. D.; CANZIAN, M.; O. Z.; PITOMBO, R. N. M.; LEIRNER, A. A. Histological Evaluation of Biocompatibility of Lyophilized Bovine Pericardium Implanted Subcutaneously in Rats. *Artificial Organs*. v. 32, n. 4, 2008.

MARTINS, C. R. P.; SILVA, M. F. A.; NOGUEIRA, V. A.; PRADO, J. S.; BRITO, M. F.; Avaliação anatomopatológica de rins, fígado e baço de camundongos submetidos a implante de pericárdio bovino conservado em glicerina e glutaraldeído em ferida cirúrgica de parede abdominal. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 33 n. 2 p. 103-110, 2011.

MARTIN-CANCHO, M. F. Relationship of bispectral index values, haemodynamic changes and recovery times during sevoflurane or propofol anaesthesia in rabbits. *Laboratory Animals*, v. 40, p. 28-42, 2006.

MOREIRA, C.M.R.; SILVA, C.P.P.; TEIXEIRA, J. G. C.; MULLER, L. P.; NOVAES, A. S.; SOUZA, A. S. F. S.; COSTA, G. A.; SILVA, M. F. A.; PAIVA, J. P. O uso do creme anestésico local lidocaina-prilocaina (EMLA) para arteriopunção em coelhos. In: *XI Encontro de Anestesiologia Veterinária*, Araçatuba, SP, 2013.

MURAI, S.; OGURA, Y. Effects of several analgesics on the number of vocalization discharges of the rabbit. *Japanese Journal of Pharmacology*, v.28, p.637, 1978.

OLIVEIRA, T.C. SCAVONE A. R. F.; MACHADO F. R. M.; MAZZUCATTO B. C.. Cistoplastia experimental em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) com peritônio bovino conservado em glicerol a 98%. *Ciencia Rural*, v. 38, n. 8, Nov. 2008.

OLIVER, R. F.; HULME, M. J.; MUDIE, A.; GRANT, R. A. Skin collagen allografts in the rat. *Nature*. v. 258, n 5535, p.537-9, 1975.

OLIVER, R. F.; GRANT, R. A. reconstruction of full-thickness loss skin wounds using collagen allografts. *British Journal of Plastic Surgery*. v.32, p.87, 1979

PIGOSSI, N. Implantação da dura-máter homogênea conservada em glicerina. Estudo experimental em cães. *Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo*, v. 22, p. 204-212, 1967.

PIGOSSI, N.; RAIA A ALEX A.; GAMA A. H; SOMOSEN O.; HADDAD J.; STOLF, N. A.G.; ZERBINI, E. J.; MINITI, A.; TENUTO, R. Estudo experimental e clínico de

duramáter homóloga conservada em glicerina à temperatura ambiente. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 17, n. 8, p. 263-278, 1971.

PINHEIRO, L. M.; ACRA, L. A. O conhecimento de recursos alternativos em pesquisa com animais de laboratório. *Estudos de Biologia*, v. 29, n.67, p. 157-163, 2007.

PINTO, T.J. A.; SAITO, T.; GLERAN, A. Biocompatibilidade de materiais empregados na confecção de próteses cardiovasculares: comparação entre pericárdio de bovino e dacron. *Revista de Saúde Pública*. v.27, n.3, Junho. 1993.

QUITZAN, J.G.; RAHAL, S.C.; ROCHA, N.S.;CROCCI, A.J. Comparação entre pericárdio bovino preservado em glicerina e malha de poliéster no reparo de falhas da parede abdominal em ratos. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v.18, n.4,p.297-301.2003.

RIBEIRO, L. C. M.; SOUZA, A. C. S.; BARRETO, R. A. S. S., BARBOSA, J. M.; TIPPLE, A. F. V.; NEVES, H. C. C.; SUZUKI, K. Risco ocupacional pela exposição ao glutaraldeído em trabalhadores de serviços de endoscopia. *Revista. Eletronica de Enfermagem*. 2009;11(3):509-17. Disponível em: [www.fen.ufg.br/revista/v11/n3/v11n3a07.htm](http://www.fen.ufg.br/revista/v11/n3/v11n3a07.htm). Acessado em: novembro de 2014.

RIEGER, E. *Efeito da administração intraperitoneal de glicerol sobre parâmetros bioquímicos e estruturais em rim de ratos jovens*. 2011. 58p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

ROQUETE M. L. V. Colestase neonatal. *Jornal de Pediatria*, v.76, Supl. 2, p. 187-197. 2000. Disponível em: <http://www.jped.com.br/conteudo/00-76-S187/port.pdf> acessado em: janeiro de 2015

SUTHERLAND R. S.; BASKIN L. S.; HAYWARD S. W.; CUNHA G. R. Regeneration of bladder urothelium, smooth muscle, blood vessels and nerves into an acellular tissue matrix. *Journal of Urology*, v.156, p.571-577, 1996.

TANG, L.; EATON, J. W. Inflammatory Responses to Biomaterials. *American Journal of Clinical Pathology*. v. 103, p.466-471, 1995.

SCHANAIDER A.; SILVA P. C.. Uso de animais em cirurgia experimental. *Acta Cirurgia Brasileira* v.19, n.4, 2004.

TRANI, R.A.S. *Eficácia das soluções de Glicerina 98% e Glutaraldeído 0,625% na desinfecção de pericárdio de camundongos (Mus musculus) experimentalmente inoculados com vírus da Raiva*. 2006. 68p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Patologia Animal). Instituto de Veterinária, Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

TURNER, P.V.; CHEN, H.C.; TAYLOR, M.W. Pharmacokinetics of meloxicam in rabbits after single and repeat oral dosing. *Comparative Medicine*, v.56, n.1, p. 63-67, 2006.



WERLEY, M.S.; BALLANTYNE, B.; NEPTUN, D. A.; LOSCO, P. E. Four-week repeated skin contact study with glutaraldehyde in rats. *Journal of Toxicology-Cutaneous and Ocular Toxicology*, v. 15, n. 2, p. 179-193, 1996.

ZHENG, H. E. Pathological changes in allogenic skin combined radiation-burn injury in rats. *Zhonghua Zheng Xing Shao Shang Waike Zazhi*, v. 7, n. 2, p. 116-8 e 158, 1991.

ZHAO, X.; COURTNEY, J.M. Influence on blood of plasticized polivinil chloride: significance of the plasticizer. *Artificial Organs*,v.23,n.1,p.104-107.1999.

YAMATOJI, R. S.; RAMAL S. C.; GRANJEIRO J. M.; CESTARI T. M.; LIMA A. F. M. Histologia da associação de membranas biológicas de origem bovina implantadas no tecido subcutâneo de ratos. *Ciencia. Rural*, v. 35 p. 837-842, 2005

YANG, S. SHEN F. J.; HU Y. F.; JIN H. M.; WANG L. L. Experimental bladder defect in rabbit repaired with homologous bladder extracellular matrix graft. *Chinese Medical Journal*, v.118, n.11, p.957-960, 2005.

## ANEXOS

**Anexo A** - Valores individuais, media e desvio padrão de cada grupo referente a Fosfatase Alcalina em UI/L obtida de coleta sanguínea no momento pré-operatório e pós-operatório de coelhos submetidos ao procedimento de cistoplastia experimental com implantes de pericárdio ovino preservados em glicerina (grupos C1, C2 e C3) e tratados em glutaraldeído a 1%, (grupos T1, T2 e T3)..... 27

**Anexo B** - Valores individuais, media e desvio padrão de cada grupo referente a Alanino Transaminase (ALT) em UI/L obtida de coleta sanguínea no momento pré-operatório e pós-operatório de coelhos submetidos ao procedimento de cistoplastia experimental com implantes de pericárdio ovino preservados em glicerina (grupos C1, C2 e C3) e tratados em glutaraldeído a 1%, (grupos T1, T2 e T3)..... 28

**Anexo C** - Valores individuais, media e desvio padrão de cada grupo referente a Aspartato transferase (AST) em UI/L obtida de coleta sanguínea no momento pré-operatório e pós-operatório de coelhos submetidos ao procedimento de cistoplastia experimental com implantes de pericárdio ovino preservados em glicerina (grupos C1, C2 e C3) e tratados em glutaraldeído a 1%, (grupos T1, T2 e T3)..... 29

**Anexo D** - Valores individuais, media e desvio padrão de cada grupo referente a ureia em mg/dL, obtida de coleta sanguínea no momento pré-operatório e pós-operatório de coelhos submetidos ao procedimento de cistoplastia experimental com implantes de pericárdio ovino preservados em glicerina (grupos C1, C2 e C3) e tratados em glutaraldeído a 1%, (grupos T1, T2 e T3)..... 30

**Anexo E** - Valores individuais, media e desvio padrão de cada grupo referente a creatinina (creat.) em mg/dL, obtida de coleta sanguínea no momento pré-operatório e pós-operatório de coelhos submetidos ao procedimento de cistoplastia experimental com implantes de pericárdio ovino preservados em glicerina (grupos C1, C2 e C3) e tratados em glutaraldeído a 1%, (grupos T1, T2 e T3)..... 31

**Anexo F** - Valores individuais de hemácias, hemoglobina, hematócrito, plaquetas e leucócitos nos momentos pré-operatório e pós-operatório de coelhos submetidos ao procedimento de cistoplastia experimental com implantes de pericárdio ovino preservados em glicerina (grupos C1, C2 e C3) e tratados em glutaraldeído a 1%, (grupos T1, T2 e T3)..... 32

**Anexo A** - Valores individuais, media e desvio padrão de cada grupo referente a Fosfatase Alcalina em UI/L obtida de coleta sanguínea no momento pré-operatório e pós-operatório de coelhos submetidos ao procedimento de cistoplastia experimental com implantes de pericárdio ovino preservados em glicerina (grupos C1, C2 e C3) e tratados em glutaraldeído a 1%, (grupos T1, T2 e T3).

Fosfatase Alcalina (ALP) - UI/L - Momentos Pré e Pós operatório									
		Animal	ALP - Pré	ALP -Pós			Animal	ALP - Pré	ALP -Pós
Glicerina 98%	C1	1	215	163	Glutaraldeído 1%	T1	19	106	39
		2	191	130			20	195	157
		3	175	30			21	189	105
		4	189	116			22	155	140
		5	209	80			23	178	99
		6	219	100			24	137	96
		Media	199,6667	103,1667				160	106
		Desvio	17,28198	45,52984				34,23449	40,97804
	C2	7	147	58		T2	25	138	104
		8	90	53			26	226	177
		9	164	69			27	135	106
		10	120	40			28	240	94
		11	187	57			29	187	158
		12	32	77			30	89	104
		Media	123,3333	59			Media	169,1667	123,8333
		Desvio	56,09159	12,85302			Desvio	58,53347	34,60877
	C3	13	207	51		T3	31	139	53
		14	143	46			32	153	34
15		184	42	33	180		73		
16		148	54	34	164		33		
17		118	39	35	185		44		
18		95	36	36	115		64		
	Media	149,1667	44,66667		Media	156	50,16667		
	Desvio	41,23793	6,97615		Desvio	26,30589	16,21625		

**Anexo B** - Valores individuais, media e desvio padrão de cada grupo referente a Alanino Transaminase (ALT) em UI/L obtida de coleta sanguínea no momento pré-operatório e pós-operatório de coelhos submetidos ao procedimento de cistoplastia experimental com implantes de pericárdio ovino preservados em glicerina (grupos C1, C2 e C3) e tratados em glutaraldeído a 1%, (grupos T1, T2 e T3)

Alanino Transaminase (ALT) - UI/L - Momentos Pré e Pós operatório									
		Animal	ALT - Pré	ALT -Pós			Animal	ALT - Pré	ALT -Pós
Glicerina 98%	C1	1	78	97	Glutaraldeído 1%	T1	19	38	23
		2	91	32			20	59	46
		3	52	20			21	93	54
		4	58	86			22	59	39
		5	72	78			23	55	55
		6	71	63			24	47	56
		Media	70,33333	62,66667			Media	58,5	45,5
		Desvio	13,98094	30,72241			Desvio	18,73766	12,81796
	C2	7	79	92		T2	25	24	69
		8	66	109			26	46	73
		9	73	49			27	49	60
		10	62	34			28	49	31
		11	73	59			29	58	91
		12	36	36			30	86	132
		Media	64,83333	63,16667			Media	52	33,76389
		Desvio	15,32862	30,78582			Desvio	20,14944	33,76389
	C3	13	102	50		T3	31	95	106
		14	88	54			32	124	53
		15	60	63			33	73	56
		16	47	22			34	48	36
		17	36	37			35	59	39
		18	71	49			36	49	103
		Media	67,33333	45,83333			Media	74,66667	65,5
		Desvio	24,86497	14,38634			Desvio	29,88422	31,19455

**Anexo C** - Valores individuais, media e desvio padrão de cada grupo referente a Aspartato transferase (AST) em UI/L obtida de coleta sanguínea no momento pré-operatório e pós-operatório de coelhos submetidos ao procedimento de cistoplastia experimental com implantes de pericárdio ovino preservados em glicerina (grupos C1, C2 e C3) e tratados em glutaraldeído a 1%, (grupos T1, T2 e T3)

Alanino Transaminase (ALT) - UI/L - Momentos Pré e Pós operatório									
		Animal	AST - Pré	AST -Pós			Animal	AST - Pré	AST -Pós
Glicerina 98%	C1	1	29	44	Glutaraldeído 1%	T1	19	24	35
		2	52	47			20	17	20
		3	57	15			21	67	17
		4	35	96			22	38	77
		5	45	27			23	54	11
		6	50	59			24	21	22
		Media	44,66667	48			Media	36,83333	30,33333
		Desvio	10,70825	28,1851			Desvio	20,07403	24,19642
	C2	7	53	45		T2	25	117	72
		8	62	45			26	24	216
		9	78	33			27	22	50
		10	30	41			28	28	20
		11	37	19			29	35	73
		12	22	12			30	53	111
		Media	47	32,5			Media	46,5	90,33333
		Desvio	21,1471	14,05347			Desvio	36,31391	68,45339
	C3	13	90	21		T3	31	35	60
		14	49	17			32	129	60
		15	40	36			33	55	34
		16	44	17			34	44	21
		17	47	31			35	24	32
		18	56	21			36	25	84
		Media	54,33333	23,83333			Media	52	46,2
		Desvio	18,27202	7,859177			Desvio	39,50696	23,50957

**Anexo D** - Valores individuais, media e desvio padrão de cada grupo referente a ureia em mg/dL, obtida de coleta sanguínea no momento pré-operatório e pós-operatório de coelhos submetidos ao procedimento de cistoplastia experimental com implantes de pericárdio ovino preservados em glicerina (grupos C1, C2 e C3) e tratados em glutaraldeído a 1%, (grupos T1, T2 e T3)

Ureia- mg/dL - Momentos Pré e Pós operatório									
		Animal	Ureia - Pré	Ureia-Pós			Animal	Ureia - Pré	Ureia-Pós
glicerina 98%	C1	1	24	45	glutaraldeído 1%	T1	19	19	34
		2	17	19			20	22	25
		3	14	34			21	17	24
		4	25	44			22	34	38
		5	19	46			23	19	22
		6	20	37			24	19	27
		Media	19,83333	37,5			Media	21,66667	28,33333
		Desvio	4,167333	10,25183			Desvio	6,250333	6,28225
	C2	7	18	52		T2	25	19	34
		8	26	49			26	16	34
		9	27	45			27	23	40
		10	36	47			28	21	35
		11	29	38			29	19	39
		12	29	32			30	24	44
		Media	27,5	43,83333			Media	20,33333	37,66667
		Desvio	5,822371	7,467708			Desvio	2,94392	4,033196
	C3	13	41	36		T3	31	37	61
		14	36	40			32	45	61
		15	48	64			33	33	46
		16	37	36			34	30	25
		17	33	44			35	28	37
		18	32	54			36	30	36
		Media	37,83333	45,66667			Media	33,83333	44,33333
		Desvio	5,913262	11,20119			Desvio	6,306082	14,52813

**Anexo E** - Valores individuais, media e desvio padrão de cada grupo referente a creatinina (creat.) em mg/dL, obtida de coleta sanguínea no momento pré-operatório e pós-operatório de coelhos submetidos ao procedimento de cistoplastia experimental com implantes de pericárdio ovino preservados em glicerina (grupos C1, C2 e C3) e tratados em glutaraldeído a 1%, (grupos T1, T2 e T3)

Creatinina- mg/dL - Momentos Pre e Pos opratorio									
		Animal	Creat. - Pré	Creat. -Pós			Animal	Creat. - Pré	Creat. -Pós
Glicerina 98%	C1	1	0,8	1	Glutaraldeído 1%	T1	19	0,7	1,3
		2	0,9	0,6			20	0,8	1
		3	0,9	0,9			21	0,8	0,9
		4	0,8	1,1			22	0,6	1
		5	1	1,1			23	0,8	0,9
		6	0,9	1			24	0,8	1
		Media	0,883333	0,95			Media	0,75	1,016667
		Desvio	0,075277	0,187083			Desvio	0,083666	0,147196
	C2	7	1,2	1,1		T2	25	0,6	0,8
		8	1,2	1,2			26	0,8	1,2
		9	1,5	1,3			27	0,7	1,1
		10	1,4	1,3			28	0,9	0,9
		11	1,2	1,1			29	0,8	1,2
		12	0,8	1,1			30	0,8	1,1
		Media	1,216667	1,183333			Media	0,766667	1,05
		Desvio	0,240139	0,098319			Desvio	0,10328	0,164317
	C3	13	0,2	1		T3	31	1,4	1,6
		14	1,4	1,3			32	1,6	1,9
		15	1,4	1,6			33	1,3	1,4
		16	1,2	1,3			34	1,2	1,2
		17	1,4	1,4			35	1,3	1,4
		18	1,6	1,6			36	1,3	1,1
		Media	1,2	1,366667			Media	1,35	1,433333
		Desvio	0,505964	0,225093			Desvio	0,13784	0,287518



**Anexo F** - Valores individuais de hemácias, hemoglobina, hematócrito (Ht), plaquetas e leucócitos nos momentos pré-operatório e pós-operatório de coelhos submetidos ao procedimento de cistoplastia experimental com implantes de pericárdio ovino preservados em glicerina (grupos C1, C2 e C3) e tratados em glutaraldeído a 1%, (grupos T1, T2 e T3)

animais	Avaliação Pré-operatório					Avaliação Pré-abate					
	Hemácia (x106/ul)	Hemoglobina (g/dl)	HT (%)	Plaqueta (x103/ul)	Leucócito (x103/ul)	Hemácia (x106/ul)	Hemoglobina (g/dl)	HT (%)	Plaqueta (x103/ul)	Leucócito (x103/ul)	
C1	1	5.34	13.3	36.3	200	5.5	5.05	11.9	34.6	284	9.2
	2	5.75	13.2	37.4	296	10.2	5.63	12.9	36.8	342	11.7
	3	5.33	12.5	38.8	193	6.2	6.13	12.9	37.8	221	7.8
	4	5.95	13.7	39.0	224	9.0	5.82	13.0	37.7	301	11.3
	5	5.43	11.2	33.6	355	11.7	5.67	11.9	35.0	412	16.3
	6	5.80	12.9	36.8	527	7.4	6.82	15.5	42.7	516	11.8
C2	7	5.48	12.9	37.0	280	5.9	5.89	13.5	37.9	132	7.6
	8	5.55	12.8	36.4	222	8.8	5.64	13.2	36.8	106	8.9
	9	5.87	13.0	38.1	141	7.9	5.39	12.7	35.9	270	8.1
	10	6.10	14.0	39.2	147	6.0	6.33	14.8	40.3	265	7.6
	11	5.60	13.5	38.1	284	6.9	5.07	12.3	34.6	208	7.2
	12	5.34	11.4	33.5	395	9.8	5.66	12.5	35.9	261	6.3
C3	13	5.39	11.6	35.2	299	8.1	6.00	13.5	40.3	251	7.5
	14	5.80	13.4	38.7	541	8.0	5.98	13.4	38.2	364	6.4
	15	4.86	10.8	32.5	288	5.9	5.45	12.3	36.1	438	8.6
	16	5.54	12.3	34.9	305	7.2	6.49	13.7	39.6	415	5.9
	17	5.87	12.8	37.4	255	5.4	6.34	14.5	40.8	301	8.0
	18	4.24	10.0	30.6	583	7.7	5.21	11.9	35.2	224	7.7
T1	19	5.50	11.3	36.7	300	5.9	5.63	12.9	37.1	212	6.6
	20	4.89	11.0	32.0	309	5.9	5.80	12.3	35.9	444	4.6
	21	4.94	11.9	32.8	269	7.1	5.78	13.5	38.3	226	4.2
	22	4.99	11.7	34.0	264	6.4	5.28	12.1	35.3	428	14.3
	23	4.57	12.4	28.7	243	6.8	6.54	13.9	39.7	327	7.1
	24	5.03	10.3	30.5	819	8.5	4.86	10.3	30.2	367	8.9
T2	25	5.48	12.5	36.6	329	7.2	5.59	12.7	36.3	281	7.6
	26	6.76	14.2	42.1	365	7.7	5.35	12.2	33.3	380	6.5
	27	5.78	12.0	36.5	290	6.8	5.49	11.1	33.4	342	6.5
	28	5.62	12.0	36.1	369	7.5	6.05	13.4	38.0	244	6.9
	29	6.13	12.2	37.0	168	6.1	6.04	11.9	35.6	409	9.5
	30	5.58	12.6	35.2	243	9.4	5.89	13.5	37.9	132	7.6
T3	31	5.93	10.3	31.7	755	10.2	6.08	11.7	34.1	550	10.1
	32	5.37	11.4	34.8	298	5.3	5.79	12.4	36.6	362	7.1
	33	4.61	10.2	32.4	152	4.4	5.76	11.7	34.6	387	7.8
	34	5.10	11.1	33.3	407	5.1	4.93	11.1	32.6	375	6.1
	35	5.12	12.4	34.5	395	7.2	4.97	11.5	33.6	326	7.2
	36	5.29	11.6	34.4	339	6.4	5.87	12.9	36.8	374	8.3