

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

TESE

**ANÁLISE MORFOLÓGICA DO OMENTO DE CADELAS E GATAS
SUBMETIDAS À OVARIOHISTERECTOMIA ELETIVA**

Ana Carolina de Souza Campos

2023



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

**ANÁLISE MORFOLÓGICA DO OMENTO DE CADELAS E GATAS
SUBMETIDAS À OVARIOHISTERECTOMIA ELETIVA**

ANA CAROLINA DE SOUZA CAMPOS

Sob a Orientação da Professora

Marta Fernanda Albuquerque da Silva

e Co-orientação da Professora

Ticiano do Nascimento França

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor**, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Patologia e Ciências Clínicas, Área de Concentração em Ciências Clínicas.

Seropédica, RJ

Abril de 2023

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

d198a de Souza Campos, Ana Carolina, 1989-
Análise morfológica do omento de cadelas e gatas
submetidas à ovariohisterectomia eletiva / Ana
Carolina de Souza Campos. - RIO DE JANEIRO, 2023.
106 f.

Orientador: Marta Fernanda Albuquerque da Silva.
Coorientador: Ticiana do Nascimento França.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro, PPGMV, 2023.

1. Medicina Veterinária. 2. Cirurgia Veterinária.
3. Histologia Veterinária. 4. Ultraestrutura. 5.
Animais de companhia. I. Albuquerque da Silva, Marta
Fernanda, 1962-, orient. II. do Nascimento França,
Ticiana, 1974-, coorient. III. Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro. PPGMV. IV. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

ANA CAROLINA DE SOUZA CAMPOS

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutor em Medicina Veterinária**, no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Área de Concentração em Ciências Clínicas.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 13/07/2023

Marta Fernanda Albuquerque da Silva. Dra. UFRRJ
(Orientadora)

Ticiana do Nascimento França. Dra. UFRRJ

Felipe Farias Pereira da Câmara Barros. Dr. UFRRJ

Vivian de Assunção Nogueira Carvalho. Dra. UFRRJ

Tiago da Cunha Peixoto. Dr. UFBA

Clarice Machado dos Santos. Dra. UFF



TERMO Nº 892/2023 - PPGMV (12.28.01.00.00.00.51)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 04/08/2023 15:25)
FELIPE FARIA PEREIRA DA CAMARA BARROS
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptMCV (12.28.01.00.00.00.53)
Matrícula: ####159#5

(Assinado digitalmente em 31/08/2023 10:22)
MARTA FERNANDA ALBUQUERQUE DA SILVA
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptMCV (12.28.01.00.00.00.53)
Matrícula: ####73#6

(Assinado digitalmente em 07/08/2023 09:37)
TICIANA DO NASCIMENTO FRANCA
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DESP (12.28.01.00.00.00.52)
Matrícula: ####476#8

(Assinado digitalmente em 04/08/2023 14:06)
VIVIAN DE ASSUNCAO NOGUEIRA CARVALHO
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DESP (12.28.01.00.00.00.52)
Matrícula: ####061#5

(Assinado digitalmente em 28/08/2023 19:36)
CLARICE MACHADO DOS SANTOS
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ####,###,217-##

(Assinado digitalmente em 23/09/2023 16:38)
TIAGO DA CUNHA PEIXOTO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ####,###,277-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/documentos/> informando seu número: 892, ano: 2023, tipo: TERMO, data de emissão: 04/08/2023 e o código de verificação: c424376579

AGRADECIMENTOS

As palavras não são suficientes para agradecer a todas as pessoas que me ajudaram durante todo o período de Doutorado. Foram mais de quatro anos intensos e tenho certeza de que sozinha eu jamais conseguiria terminar este caminho.

Esses últimos quatro anos foram um turbilhão de emoções e sentimentos. Só quem passou pelo Doutorado sabe realmente o que é, e o trabalho que dá. É viver extremos de sensações. Neste período enfrentamos uma pandemia, tivemos que mudar nossa rotina e realizar aulas e eventos *on-line*. Ela nos trouxe medo e muita tristeza, mas nos fez valorizar o tempo. Aprendemos a celebrar cada dia e a importância de ter com quem contar. E eu tive.

Agradeço à minha família por me incentivarem sempre a ser melhor e a seguir meu caminho, o que me fizesse feliz. Sem dúvida, segui esse caminho, e sei o que me faz feliz agora. Alcancei tudo isso graças a cada um de vocês: Suely Mara, Joel, Fernanda, Roberta e Paula! Agradeço muito ao meu marido, Fabrício, por me incentivar e apoiar sempre. Por estar do meu lado, mesmo quando fosse para ouvir cada detalhe sobre o meu estudo.

Agradeço à amizade e à orientação da Profª. Marta Fernanda Albuquerque. Agradeço por até hoje ter meu número salvo no celular como Carol “monitora”. Isso me recorda de quando comecei na monitoria de Técnica Cirúrgica durante a faculdade, onde pude aprender mais da cirurgia veterinária e, desde então, me ensinou muito. Aprendi tanto que nem sei dizer quanto: na vida pessoal com conselhos, me escutando; assistindo minhas aulas na graduação e anotando as críticas para me fazer depois; sendo madrinha do meu casamento, amadrinhandando um momento tão especial para mim! São muitos anos dessa parceria e deu um samba muito bom! Obrigada por tudo!

Agradeço à Profª. Ticiana França pela coorientação e ajuda imensa ao fim desta caminhada. Aceitou ser minha coorientadora e me apoiou quando eu mais precisava! Me auxiliou imensamente com a Histopatologia e Imunohistoquímica das amostras. Sou imensamente grata por todo aprendizado e ajuda!

Agradeço aos professores que participaram da qualificação me dando sugestões que engrandeceram o trabalho. À professora Aparecida Alves do Nascimento que fez ricas considerações quanto à histologia das amostras, sua calma e delicadeza são lindos de se ver! Agradeço ao professor Felipe Barros pelos conselhos, considerações e disponibilidade.

Agradeço ao profissional que contribuiu no preparo das amostras para microscopia eletrônica de varredura e transmissão, Jefferson Cypriano (UniMicro/UFRJ). Um profissional

humano que, no meio de tanto para se fazer, arranjou um espaço para me ajudar. Jamais esquecerei! Pode deixar que vou mandar as imagens para você!

Agradeço aos profissionais do CENABIO (UFRJ): Jean Pierre Fonseca dos Santos, Daniel Gonçalves Lucif Vieira e Carla Woyames por terem me auxiliado na obtenção das imagens de microscopia eletrônica de varredura e transmissão. Nos ajudaram a ver um mundo que não conhecíamos, literalmente e metaforicamente.

Agradeço à professora Leilane Maria Barcellos Nepomuceno (UFRRJ) pela orientação nas análises de microscopia eletrônica de transmissão. Algo completamente novo para mim, aprendi muito! Era cativante ver o amor e prazer que você sentia ao observar as lâminas!

Agradeço ao patologista Luís Antônio Scalabrin Tondo e à técnica de laboratório Marina Cunha pelo preparo das amostras de Histopatologia e Imunohistoquímica, e obtenção das imagens! Sei que foi um desafio, um tecido difícil de preparar. Agradeço também ao patologista Bartolomeu Benedito Neves dos Santos pelo preparo e análise das amostras do estudo para Imunohistoquímica. Vocês todos foram essenciais para que tivéssemos nossos resultados e serei grata sempre. Contar célula deve ser considerado uma arte!

Agradeço à equipe que estava presente durante a coleta das amostras! As doutorandas Maria Eduarda Lopes Fernandes e Anna Júlia Rodrigues pela amizade e por aceitarem sempre me ajudar nos meus estudos. Agradeço à mestrande Thaisa Schroeder Dutra e ao Veterinário Daniel Sacchi por terem realizado a anestesia também dos animais. Agradeço aos estagiários Paulo, Martha, Calline, Camila, Gabriela e Laís que me ajudaram desde o atendimento dos pacientes, à anestesia, cirurgia e preparo dos materiais cirúrgicos. Sem cada um de vocês esta tese não tinha nem começado! Os dias das cirurgias eram os melhores, nos divertíamos e trabalhávamos muito bem juntos! Dá trabalho, mas dá saudade depois que passa! Agradeço também aos profissionais que nos ajudaram com a esterilização dos materiais: Vanilda, Medeiros e Simone.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

CAMPOS, Ana Carolina de Souza. **Análise morfológica do omento de cadelas e gatas submetidas à ovariohisterectomia eletiva.** 2023. 106p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária). Instituto de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Patologia e Ciências Clínicas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2023.

O omento é um tecido presente em todos os mamíferos e há claras evidências de suas propriedades no tratamento de animais como o estímulo à neovascularização, reconstituição de tecidos, drenagem linfática, preenchimento de defeitos e incremento à cicatrização, inclusive em sítios com infecção. Sua aplicação se dá em lesões peritoneais e extra peritoneais com uso amplo na cirurgia, porém há informações escassas quanto às suas características histológicas, imunohistoquímicas e ultraestruturais, não sendo encontrados na Medicina Veterinária estudos que comparem as características do omento entre as espécies domésticas. O objetivo deste estudo é avaliar os componentes do omento nos animais para compreender a real função desse tecido em especial, a existência de possíveis aglomerados de células imunes, os conhecidos “milky spots” (MS) relatados no ser humano, bem como para determinar a composição e atividade dessa população imune. Para isso, foram coletadas amostras de fragmento de omento com 2x2cm de 15 gatas e 13 cadelas durante a cirurgia de ovariohisterectomia eletiva. Parte desse material foi fixado em formol tamponado (10%) para realização da técnica de histologia e imunohistoquímica a fim de detectar células imunes (linfócitos B, T, macrófagos e células dendríticas). Outra parte foi fixada em solução de *karnovizk* para análise ultraestrutural por meio de microscopia eletrônica de varredura e transmissão. Nas avaliações por histologia e imunohistoquímica não foram encontradas os MS como são descritos no homem, somente agregados de células de defesa, principalmente na região translúcida e junto aos vasos sanguíneos, havendo diferença estatística significativa na comparação da presença de células de defesa entre as duas regiões omentais ($p = 0,034$). A população imune era composta principalmente por macrófagos, seguidos de linfócitos B e T nas cadelas; nas gatas havia menor número de células de defesa, e foram detectados somente macrófagos na área translúcida e de transição entre as regiões do omento conforme análise estatística descritiva. Pela microscopia eletrônica notou-se a presença de poros e estômatos linfáticos na superfície do omento nas duas espécies que podem ter papel importante na passagem de fluidos e substâncias através do omento. Concluiu-se que apesar das pequenas diferenças na estrutura e composição do omento de cadelas e gatas em relação à espécie humana, os achados deste estudo demonstram o papel deste tecido nos mecanismos de defesa contra afecções intrabdominais e a validade de seu uso no reparo de lesões extraperitoneais nas espécies avaliadas.

Palavras-chave: Epílon, *Milky Spots*, Reparo Tecidual

ABSTRACT

CAMPOS, Ana Carolina de Souza. **Morphological analysis of the omentum of bitches and cats undergoing elective ovariohysterectomy**. 2023. 106p. Thesis (Doctorate degree in Veterinary Medicine). Instituto de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Patologia e Ciências Clínicas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2023.

The omentum is a tissue present in all mammals and there is clear evidence of its properties in the treatment of animals, such as stimulating neovascularization, tissue reconstitution, lymphatic drainage, filling defects, and increasing healing, including in infected sites. Its application occurs in peritoneal and extraperitoneal lesions with wide use in surgery; however, there is scarce information regarding its histological, immunohistochemical, and ultrastructural characteristics, with no studies being found in Veterinary Medicine that compare the omentum characteristics between domestic species. The objective of this study is to evaluate the components of the omentum in animals to understand the real function of this tissue; in particular, the existence of possible clusters of immune cells, the known and reported "milky spots" (MSs) in humans, as well as to determine the composition and activity of this immune population. For this, omentum fragment samples measuring 2 x 2 cm were collected from 15 cats and 13 dogs during elective ovariohysterectomy surgery. Part of this material was fixed in buffered formalin (10%) to perform the histology and immunohistochemistry technique to detect immune cells (B and T lymphocytes, macrophages, and dendritic cells), executed at the Immunohistochemistry Laboratory of the Pathological Anatomy Sector of the Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Another part was fixed in *Karnovizk* solution for ultrastructural analysis using scanning and transmission electron microscopy, executed at the Souto-Padrón and Lins Multi-User Microscopy Unit Laboratory of Microbiology at the Universidade Federal do Rio de Janeiro. In evaluations by histology and immunohistochemistry, MSs, as described in humans, were not found, only aggregates of defense cells, mainly in the translucent region and next to the blood vessels, with a significant statistical difference when comparing the presence of defense cells between the two omental regions ($p = 0.034$). The immune population was mainly composed of macrophages, followed by B and T lymphocytes in bitches; in cats, there were fewer defense cells, and only macrophages were detected in the translucent and transition areas between the regions of the omentum according to descriptive statistical analysis. Using electron microscopy, the presence of pores and lymphatic stomata on the surface of the omentum was noted in both species, which may play an important role in the passage of fluids and substances through the omentum. It was concluded that despite the small differences in the structure and composition of the omentum of dogs and cats to the human species, the findings of this study demonstrate the role of this tissue in defense mechanisms against intrabdominal disorders and the validity of its use in the repair of extraperitoneal injuries in the species evaluated.

Keywords: Epiploic appendix, omentum, milky spots, tissue repair

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Anatomia do omento maior em cão. Notar sua inserção na curvatura maior do estômago e prolongamento até a região cranial pélvica. Fonte: BUDRAS et al. (2007).....21
- Figura 2.** Anatomia do omento. Superfície ventral do omento (A), superfície dorsal do omento (B). Fonte: EVANS, LAHUNTA (2013).....21
- Figura 3.** Omento de cão saudável por microscopia eletrônica de varredura. Note as duas regiões omentais: (ar) representa as áreas ricas em tecido adiposo e (tr) as áreas translúcidas com suas fenestrações (f). A barra representa 200 μ m. Fonte: HUYGHE et al. (2015).....22
- Figura 4.** Mancha leitosa (ML) de omento de rato em região gordurosa. **A.** ML visualizada em corte histológico semifino corado pela hematoxilina e eosina (H&E). **B.** ML visualizada em corte ultrafino sob microscopia eletrônica de transmissão. Note um macrófago (mc) contendo lisossomos (setas) e um linfócito (I) no interior de uma mancha leitosa. Fonte: WILKOSZ et al. (2005).....23
- Figura 5.** Área translúcida de omento de rato em corte ultrafino. As setas pretas representam as vesículas no interior das células mesoteliais (m) cobertas por microvilosidades (cabeças de setas pretas). Destaca-se em (s) a camada submesotelial com fibrilas de colágeno. A barra representa 700 nm. Fonte: WILKOSZ et al. (2005).....23
- Figura 6.** Região gordurosa de omento de rato em cortes corados com azul de toluidina (1%). **A.** Corte semifino evidenciando em a um adipócito; note grande quantidade neste corte. A seta preta representa uma célula mesotelial na superfície que recobre a camada submesotelial. A barra representa 0,1 mm. **B.** Corte ultrafino sob microscopia eletrônica de transmissão. Em m as células mesoteliais em uma camada única revestem esta região omental. Nas setas brancas são destacados os poros e nas setas pretas as microvilosidades apicais. A barra representa 1 μ m. Fonte: WILKOSZ et al. (2005).....24
- Figura 7.** Omentalização de sutura vesical após cistotomia para remoção de urólitos em cadelas SRD, 3 anos. Fonte: HV-UFRJ, 2016.....26
- Figura 8.** Realização de retalho pediculado de omento em cadáver de felino. **A.** Desinserção de porção ventral do omento após ligadura de seus vasos junto à curvatura maior do estômago. **B.** Após tunelização pelo subcutâneo o retalho pediculado alcançou as falanges do membro pélvico. Fonte: MOURA (2017).....28
- Figura 9.** Aplicação de enxerto de omento livre em ferida experimental em coelho da raça Nova Zelândia. **A.** Ferida criada no dorso do animal. **B.** Omento livre sendo suturado nas margens da ferida com sutura simples interrompida. **C.** Aspecto final da aplicação do enxerto. **D.** Sutura da pele cobrindo o enxerto livre. Fonte: FERNANDES et al. (2022).....29
- Figura 10.** Coleta de fragmento omental de gata, PCB, 2 anos de idade. **A.** Exposição da borda livre do omento após celiotomia longitudinal mediana retroumbilical e realização da ovariohisterectomia eletiva. **B.** Posicionamento de fragmento de tecido TNT com 2 cm^2 em borda livre omental, delimitando a área de omento a ser removida. **C.** Extremidade do omento após retirada do fragmento para análise, evidenciando-se as ligaduras vasculares.....31
- Figura 11.** Fragmento omental de cadelas SRD, 2 anos, removido após ovariohisterectomia eletiva, medindo 2 cm^2 . Note que o fragmento está fixado em tecido TNT para evitar dobradura e reduzir danos ao tecido.....31
- Figura 12.** Preparo de fragmentos de omento de cadelas e gatas, para avaliação por microscopia

eletrônica, em capela com fluxo laminar no Laboratório de Microbiologia Unidade de Microscopia Multusuário Souto-Padrón e Lins (UniMicro).....	32
Figura 13. Etapa de inclusão em resina do tipo epóxi (Spurr, Polybed 812) de amostras omentais de cadelas e gatas. A. Amostras posicionadas em forma de silicone numerada, note a presença de TNT fixo às amostras a fim de mantê-las esticadas. B. Amostra omental embutida em resina cortada durante a confecção da pirâmide (seta) no topo da peça, local onde os cortes serão efetuados.....	34
Figura 14. Execução de cortes de fragmento omental no interior de bloco de resina Spurr em ultramicrótomo. A. Realização de corte do bloco para formar uma pirâmide com a área de interesse no centro. B. Realização do corte ultrafino seriado em lâmina de diamante. C. Cortes ultrafinos seriados corados (seta).....	34
Figura 15. Amostras de omento de cadelas e gatas durante última etapa de desidratação preparadas a etanol 100% para sofrerem a etapa de ponto crítico (Baltec CPDO30) com uso de gás carbônico sobre 60-70 atm a 8°C.....	35
Figura 16. Amostras de omento de cadelas e gatas fixadas em stub com fita dupla face de carbono colante após processo de metalização realizado no Metalizador Leica EM SCD 050 (Leica Microsystems, Bannockburn, IL, USA).....	35
Figura 17. Amostras de omento maior de cadelas e gatas posicionadas para análise em microscópio eletrônico de varredura (Zeiss EVO 10) na Unidade de Microscopia Avançada do Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem (CENABIO) da UFRJ.....	36
Figura 18. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadelas evidenciando área translúcida com vasos sanguíneos submesoteliais e monocamada de células mesoteliais recobrindo a superfície (H&E). A. Note os vasos sanguíneos (asterisco) dispersos na camada submesotelial. Obj. 10. B. Monocamada de células mesoteliais com núcleos achatados (seta). Obj. 20.....	39
Figura 19. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadelas evidenciando área translúcida e infiltrado inflamatório misto (setas) próximo de vasos da camada submesotelial. Note também a região adiposa, mais espessa (cabeças de seta). Obj. 10 (H&E).....	39
Figura 20. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadelas evidenciando infiltrado inflamatório misto ao redor de vasos (asterisco) de área translúcida (transição para adiposa), além de fibrose. Obj. 40 (H&E). Note a presença de neutrófilos (seta preta) e linfócitos (cabeça de seta amarela) e fibras colágenas.....	41
Figura 21. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadelas evidenciando área translúcida com infiltrado inflamatório misto ao redor de vasos da região submesoelial. Obj. 20 (H&E). Note a moderada quantidade de tecido conjuntivo (fibrose).....	42
Figura 22. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadelas evidenciando área rica em tecido adiposo com vasos sanguíneos submesoteliais (asterisco) e monocamada de células mesoteliais recobrindo a superfície com evidência do núcleo alongado e basofílico (seta). Note os adipócitos (Ad) com seu núcleo deslocado para a periferia da célula. Obj. 20 (H&E).....	42
Figura 23. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadelas evidenciando área rica em tecido adiposo com vasos submesoteliais e monocamada de células mesoteliais recobrindo a superfície (H&E). A. Note a presença de um vaso sanguíneo em destaque (asterisco). Obj. 20. B. Maior aumento. Nota-se junção da região translúcida (asterisco) com a área rica em gordura. Obj. 40.....	43

- Figura 24.** Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área rica em tecido adiposo com fibrose submesotelial - FSM (colchetes). Obj. 20 (H&E).....43
- Figura 25.** Fotomicrografia de amostra de omento de cadela evidenciando área rica em tecido adiposo e com septos (seta) de tecido conjuntivo e vasos sanguíneos (asterisco). Obj. 20 (H&E).....44
- Figura 26.** Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área rica em tecido adiposo com infiltrado inflamatório misto (seta) junto aos vasos submesoteliais. Obj. 20 (H&E). Note a camada de células mesoteliais que recobrem a superfície omental com os núcleos em evidência (cabeça de seta).....44
- Figura 27.** Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área rica em tecido adiposo com infiltrado inflamatório misto (seta) ao redor de um vaso sanguíneo. Obj. 40 (H&E).....45
- Figura 28.** Fotomicrografia de amostra de omento saudável de gata com evidência da área translúcida (área de transição) e área rica em tecido adiposo com vasos sanguíneos entremeados. Presença de inúmeros capilares (asterisco). Obj. 20x.....46
- Figura 29.** Fotomicrografia de amostra de omento saudável de gata com área translúcida com vasos sanguíneos submesoteliais e maior número de fibras colágenas e tecido conjuntivo. Obj. 40. Note um vaso sanguíneo (asterisco) e cinco neutrófilos em seu interior (cabeça de seta).....47
- Figura 30.** Fotomicrografia de amostra de omento saudável de gata evidenciando área rica em tecido adiposo (H&E). Observe a monocamada de células mesoteliais que recobre a superfície com evidência do núcleo basofílico (seta). Note os adipócitos (Ad) com seus núcleos periféricos (cabeça de seta) e volumoso citoplasma claro. Obj. 20.....48
- Figura 31.** Fotomicrografia de amostra de omento saudável de gata evidenciando área rica em tecido adiposo. Obj. 40 (H&E). Note a camada mesotelial (setas) e submesotelial com fibras colágenas e fibroblastos e raras células inflamatórias (cabeça de seta).....48
- Figura 32.** Fotomicrografia de amostra de omento saudável de gata evidenciando área rica em tecido adiposo e infiltrado inflamatório misto (cabeça de seta) em área de transição para área translúcida. Note os septos que dividem a área adiposa (setas). Obj. 10 (H&E).....49
- Figura 33.** Fotomicrografia de amostra de omento saudável de gata evidenciando margem de uma área rica em tecido adiposo com infiltrado inflamatório misto (cabeça de seta), fibras colágenas, fibroblastos, tecido conjuntivo entremeados aos vasos sanguíneos. Obj. 40 (H&E).....50
- Figura 34.** Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área translúcida com linfócitos B em destaque pelo marcador CD79 com coloração amarronzada (cabeça de seta A e amarela B). Obj. 40.....52
- Figura 35.** Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área translúcida com linfócitos B em destaque pelo marcador CD79 com coloração amarronzada (cabeça de seta). Obj. 40.....53
- Figura 36.** Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área translúcida com linfócitos T em destaque pelo marcador CD3 com coloração amarronzada (cabeça de seta). Obj. 40.....53
- Figura 37.** Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área translúcida com macrófagos e células dendríticas em destaque pelo marcador Iba 1 com coloração amarronzada (cabeça de seta). Obj. 40.....54

Figura 38. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área translúcida com macrófagos e células dendríticas em destaque pelo marcador Iba 1 com coloração amarronzada (cabeça de seta). Obj. 40.....	54
Figura 39. A e B. Fotomicrografias de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área translúcida com macrófagos e células dendríticas em destaque pelo marcador Iba 1 com coloração amarronzada (cabeça de seta preta em A e amarela em B). Obj. 40.....	55
Figura 40. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área translúcida com macrófagos e células dendríticas em destaque pelo marcador Iba 1 com coloração amarronzada (cabeça de seta). Obj. 40.....	56
Figura 41. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área adiposa com macrófagos e células dendríticas em destaque pelo marcador Iba 1 com coloração amarronzada (cabeça de seta) na camada submesotelial. Obj. 40.....	57
Figura 42. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área translúcida sem células em destaque pelo marcador CD3. Obj. 40.....	58
Figura 43. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de gata evidenciando área translúcida com macrófagos e células dendríticas em destaque pelo marcador Iba 1 com coloração amarronzada (cabeça de seta). Obj. 40.....	59
Figura 44. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadela. Note as duas áreas distintas: área translúcida (tr) e área rica em tecido adiposo (ad). Magnificação 49.....	61
Figura 45. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadela. A. Note a transição da área adiposa para a translúcida. Magnificação 183x. B. Note a intersecção entre as regiões omentais. Magnificação 299x.	61
Figura 46. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadela. Note que as janelas da área translúcida (tr) possuem menor diâmetro próximas à área adiposa (ad) e aumentam seu diâmetro à medida que se distanciam dos adipócitos. Magnificação 101x.....	63
Figura 47. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadela evidenciando detalhes da área translúcida. A. Note o arranjo das janelas e o núcleo da célula mesotelial (seta). B. Em evidência o núcleo de uma célula mesotelial. C. Observe que a superfície das trabéculas é irregular, com minúsculas projeções. Magnificação 744x.....	63
Figura 48. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadela evidenciando detalhes da área translúcida. A. Note dois poros no arranjo das janelas. Magnificação de 368x. B. Em evidência dois poros (setas amarelas). Magnificação de 2,15Kx.....	65
Figura 49. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadela evidenciando detalhes da área translúcida. Note uma projeção entre uma das trabéculas (cabeça de seta) e os poros (seta) entre as janelas. Magnificação de 324x.....	66
Figura 50. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadela evidenciando detalhes da área rica em tecido adiposo. A. Note o arranjo das células mesoteliais semelhante a paralelepípedos. Magnificação de 130x. B. Em maior magnificação (345x) percebemos que a superfície é irregular e apresenta minúsculas projeções (seta) em vista lateral com algumas em destaque.....	67

Figura 51. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadela evidenciando detalhes da intersecção da área rica em tecido adiposo com a translúcida. A. Note a origem de um dos lados de uma trabécula, com a superfície regular. Magnificação de 1,28Kx. B. Região anterior após a interação dos feixes de elétrons do microscópio eletrônico. Magnificação 513x. Note a área recém visualizada mais regular (seta), sem os cristais observados ao redor.....	68
Figura 52. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadela evidenciando detalhes da área rica em tecido adiposo. Note em A uma projeção arredondada do omento íntegra (magnificação 712x) e em B após sua ruptura/abertura (magnificação 680x), assim como em C . Magnificação de 777x.....	69
Figura 52. Continuação. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadela evidenciando detalhes da área rica em tecido adiposo. Note uma projeção arredondada do omento em C (magnificação de 777x) e em D após sua ruptura/abertura. Magnificação 712x.....	70
Figura 53. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadela evidenciando detalhes da área rica em tecido adiposo. Note em A um orifício localizado na superfície omental (magnificação 578x) e em B dois orifícios próximos. Magnificação de 162x.....	72
Figura 54. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadela evidenciando detalhes da área rica em tecido adiposo. Note um orifício localizado na superfície omental e uma estrutura que se projeta através dele. Magnificação 524x.....	73
Figura 55. Microscopia eletrônica de varredura de amostras omentais de gatas. A. Note as duas áreas distintas: área translúcida (tr) e área rica em tecido adiposo (ad). Magnificação 189x. B. Magnificação 181x.....	73
Figura 56. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental de gata. Note a transição entre as duas áreas distintas do omento: área translúcida (tr), com algumas janelas em evidência (f) e a área rica em tecido adiposo (ad). Magnificação 700x.....	74
Figura 57. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental de gata evidenciando detalhes da área translúcida. A. Note que a área translúcida se assemelha a uma rede. Magnificação 130x. B. Note área entre as janelas com tecido contínuo. Magnificação 197x.	75
Figura 58. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental de gata evidenciando detalhes da área translúcida. A. Note a área translúcida com finas janelas. Magnificação 503x. B. Note a superfície irregular das janelas com o núcleo de algumas células mesoteliais (seta amarela). Magnificação 593x. C. O núcleo de uma célula mesotelial em destaque na seta amarela. Magnificação 4,55Kx.....	76
Figura 59. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental de gata evidenciando detalhes da área adiposa. A. Note duas apresentações distintas com e sem a impressão subjacente das células adiposas. Magnificação 139x. B. Note uma área com exposição das células adiposas arredondadas. Magnificação 353x. C. Uma célula adiposa se destaca das demais. Magnificação 1.13Kx.....	77
Figura 60. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de gata evidenciando detalhes da área rica em tecido adiposo. Note em A inúmeras projeções arredondadas do omento íntegras (magnificação 778x) e em B após aumento da magnificação (3.62Kx).....	78

- Figura 61.** Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de gata evidenciando detalhes da área rica em tecido adiposo. Note duas projeções arredondadas do omento (seta amarela) após sua ruptura/abertura. Magnificação 606x.....79
- Figura 62.** Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de gata evidenciando detalhes da área rica em tecido adiposo. **A.** Note uma estrutura na superfície arredondada que se destaca na área adiposa (seta branca) em magnificação de 160x. **B.** Em maior magnificação (811x). **C.** Estrutura vista de frente, diâmetro de 240 μm , destacando sua abertura/ruptura (seta branca). Magnificação de 1,15Kx.....80
- Figura 63.** Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de gata evidenciando detalhes da área rica em tecido adiposo. **A.** Note uma estrutura na superfície arredondada, com diâmetro de 152,5 μm , que se destaca na área adiposa (seta amarela). Magnificação de 368x. **B.** Em destaque sua abertura (seta amarela). Magnificação de 687x.....81
- Figura 64.** Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de gata evidenciando detalhes da área rica em tecido adiposo. **A.** Note uma estrutura alongada (seta amarela) na superfície, com comprimento de 121,802 μm , que se destaca na área adiposa. Magnificação de 1,12Kx. **B.** Observe outra estrutura alongada (seta amarela), com comprimento de 559,5 μm na superfície. Magnificação de 241x.....82
- Figura 65.** Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de gata evidenciando detalhes da área rica em tecido adiposo. **A.** Note dois poros na superfície da área adiposa (seta amarela). Magnificação de 2,81Kx. **B.** Em evidência outro poro. Magnificação de 285x.....83
- Figura 66.** Microscopia eletrônica de transmissão de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área translúcida revestida por células mesoteliais e uma camada submesotelial. **A.** Note a célula mesotelial alongada (seta) e a camada submesotelial composta por tecido conjuntivo, fibrilas de colágeno e um vaso sanguíneo (asterisco) com suas células endoteliais no entorno (cabeça de seta). **B.** Note em destaque a célula mesotelial medindo 8,3 μm e as fibrilas de colágeno (cabeça de seta branca).....84
- Figura 67.** Microscopia eletrônica de transmissão de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área translúcida revestida por células mesoteliais e uma camada submesotelial com inúmeras fibrilas de colágeno (cabeça de seta branca). **A.** Note um fibroblasto medindo 12 μm com seu núcleo alongado na camada submesotelial (cabeça de seta preta) e um vaso sanguíneo (asterisco). **B.** Observe o citoplasma de um fibroblasto com as cisternas do retículo endoplasmático rugoso dilatadas (seta preta) evidenciando intensa síntese proteica.....85
- Figura 68.** Microscopia eletrônica de transmissão de amostra omental saudável de cadela evidenciando infiltrado inflamatório em área translúcida. Note na camada submesotelial a presença de fibroblastos (seta) e plasmócitos (cabeça de seta), fibrilas de colágeno e um vaso sanguíneo (asterisco).....85
- Figura 69.** Microscopia eletrônica de transmissão de amostra omental saudável de cadela evidenciando infiltrado inflamatório misto em área translúcida (Tr). **A.** Note as células mesoteliais recobrindo a área Tr (seta) e na camada submesotelial a presença de plasmócitos (cabeça de seta), fibrilas de colágeno e tecido conjuntivo. **B.** Notamos a presença de um vaso sanguíneo (asterisco), uma célula endotelial (ev), plasmócitos (cabeça de seta) perivasculares e um macrófago (mc) intravascular em processo de fagocitose.....86
- Figura 70.** Microscopia eletrônica de transmissão de amostra omental saudável de cadela

evidenciando infiltrado inflamatório misto em área translúcida. **A.** Note a presença de inúmeros plasmócitos na camada submesotelial dispersos no tecido conjuntivo e uma célula em apoptose (**ap**). **B.** Com maior magnificação note as cisternas do retículo endoplasmático granular (**REG**) estreitas e paralelas dispersas no citoplasma dos plasmócitos.....87

Figura 71. Microscopia eletrônica de transmissão de amostra omental saudável de cadela evidenciando área rica em tecido adiposo. **A.** Note o íntimo contato entre três adipócitos. **B.** Com maior magnificação note os vacúolos na membrana do adipócito (seta) e a matriz intercelular.....88

Figura 72. Microscopia eletrônica de transmissão de amostra omental saudável de cadela de área adiposa. Note um vaso sanguíneo (asterisco) em corte transversal entre três adipócitos além do vacúolo na membrana (seta) e as fibrilas de colágeno no interstício celular.....88

Figura 73. Microscopia eletrônica de transmissão de amostra omental saudável de cadela em evidência a área adiposa. **A.** Intersecção entre três adipócitos revelando o núcleo de uma célula endotelial (cabeça de seta). **B.** Em maior magnificação observe os vacúolos na membrana (seta) do adipócito. **C.** Região submesotelial da área adiposa repleta de fibrilas de colágeno e um fibroblasto em contato íntimo com dois adipócitos (**fb**) e os numerosos vacúolos na membrana do adipócito (seta).....89

Figura 74. Microscopia eletrônica de transmissão de amostra omental saudável de gata evidenciando área rica em tecido adiposo. **A.** Note o íntimo contato entre quatro adipócitos (ad) e a camada submesotelial com tecido conjuntivo disperso e fibrilas de colágenos (seta) notadas em **B** com maior magnificação.90

Figura 75. Microscopia eletrônica de transmissão de área adiposa de amostra omental saudável de gata. **A.** Intersecção entre seis adipócitos e dois vasos sanguíneos (asterisco) entre eles. **B.** Núcleo de uma célula endotelial mais eletrodenso (cabeça de seta) e fibrilas de colágeno menos eletrodensas (seta).....90

Figura 76. Microscopia eletrônica de transmissão de amostra omental saudável de gata em evidência a área adiposa. Em destaque note os vacúolos entre os adipócitos, o núcleo de um fibroblasto (cabeça de seta) e as fibrilas de colágeno com menor eletrodensidade (setas).....91

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Ad	região omental rica em adipócitos;
CAM	concentração alveolar mínima;
CCPCV	Centro Cirúrgico de Pesquisa em Cirurgia Veterinária do Instituto Veterinária;
CD21	marcador imunohistoquímico para linfócito B;
CD3	marcador imunohistoquímico para linfócito T maduro;
CD4	marcador imunohistoquímico para linfócito T;
CD45	marcador imunohistoquímico panleucocítico;
CD79a	marcador imunohistoquímico para linfócito B maduro;
CD8 alpha	marcador imunohistoquímico para linfócito T;
CENABIO	Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem;
DAB	diaminobenzidina;
DMAE	dimetilaminoetil;
H&E	hematoxilina & eosina;
HV	hospital veterinário;
Iba1	marcador imunohistoquímico para macrófagos e células dendríticas;
M	molaridade (M);
ML	manchas leitosas;
MPA	medicação pré-anestésica;
MET	microscopia eletrônica de transmissão;
MEV	microscopia eletrônica de varredura;
OVH	ovariohisterectomia;
PAS	pressão arterial sistólica;
PPGMV	Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da UFRRJ;
SRD	sem raça definida;
Spring	protein-Block DPB-125;
TCLE	termo de consentimento livre e esclarecido;
TNT	tecido-não-tecido;
Tr	região omental translúcida;
UBM	Centro Universitário de Barra Mansa;
UniMicro	Laboratório de Microbiologia Unidade de Microscopia Multusuário Souto-Padrón e Lins;
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro;

UFRJ

Universidade Federal do Rio de Janeiro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1	Embriologia e anatomia omental.....	20
2.2	Estrutura microscópica omental.....	22
2.3	Avaliação da estrutura e composição omental.....	24
2.3.1	Avaliação por microscopia eletrônica.....	24
2.3.2	Avaliação omental por imunohistoquímica.....	25
2.4	Propriedades do omento.....	26
2.4.1	Reparo abdominal com omento.....	26
2.4.2	Reparo extra peritoneal por retalhos pediculados.....	27
2.4.3	Enxertos omentais livres.....	28
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1	Animais.....	29
3.2	Pré-operatório.....	30
3.3	Anestesia.....	30
3.4	Cirurgia.....	30
3.5	Preparo das amostras para microscopia eletrônica.....	31
3.6	Preparo das amostras para análise histológica.....	36
3.7	Preparo das amostras para análise por imunohistoquímica.....	36
3.7.1	Padronização do protocolo para análise imunohistoquímica.....	37
3.8	Análise Estatística.....	37
4	RESULTADOS.....	38
4.1	Cirurgia.....	38
4.2	Análise Macroscópica omental.....	38
4.3	Histologia das amostras omentais.....	38
4.3.1	Histologia das amostras omentais de cadelas.....	38
4.3.2	Histologia das amostras omentais de gatas.....	45
4.4	Imunohistoquímica das amostras omentais.....	50
4.4.1	Imunohistoquímica das amostras omentais de cadelas.....	50
4.4.2	Imunohistoquímica das amostras omentais de gatas.....	57
4.5	Microscopia eletrônica de varredura.....	60
4.5.1	Microscopia eletrônica de varredura das amostras omentais das cadelas	60
4.5.2	Microscopia eletrônica de varredura das amostras omentais das gatas....	62
4.6	Microscopia eletrônica de transmissão.....	83
4.6.1	Microscopia eletrônica de transmissão das amostras omentais das cadelas.....	83
4.6.2	Microscopia eletrônica de transmissão das amostras omentais das gatas.	89
5	DISCUSSÃO.....	91
6	CONCLUSÃO.....	96
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	96
8	ANEXOS.....	103
	A Termo de consentimento livre e esclarecido.....	103
	B Idade e raça das cadelas submetidas à OVH.....	105
	C Idade e raça das gatas submetidas à OVH.....	105

1 INTRODUÇÃO

O omento é um órgão presente em todos os mamíferos e é utilizado amplamente na cirurgia geral e reparadora na Medicina Veterinária. Devido à sua composição tecidual, rica em vasos sanguíneos, rede linfática e tecido adiposo, as aplicações do omento são inúmeras, há relatos de seu uso em cirurgia desde o século XIX (PLATELL et al., 2000).

Há evidências de suas propriedades como o estímulo à neovascularização, drenagem linfática, tamponamento sanguíneo, isolamento de órgãos abdominais, preenchimento de defeitos e incremento à cicatrização, inclusive em sítios com infecção.

A aplicação mais comum do omento é na reparação de vísceras após cirurgia recobrindo a sutura (RADLINSKY & FOSSUM, 2019a). É descrito seu uso como adjuvante na drenagem e tratamento de abscessos ou cistos intrabdominais hepáticos e pancreáticos (CORNELL, TOBIAS, 2017; RADLINSKY & FOSSUM, 2019b), prostáticos (APPARÍCIO et al., 2006; WHITE, 2017; MACPHAIL & FOSSUM, 2019) e uterinos (CAMPBELL, 2004). O omento também é empregado no reparo de lesões extraperitoneais em enxertos pediculados, a saber, em cisto sinovial (STEGEN et al., 2015), fratura de fêmur séptica (MENEZES et al., 2020), abscesso mediastinal (FRANKLIN et al., 2011), defeitos na parede torácica (OLIVEIRA, 2018) e cutâneos (GRAY, 2005; FALCÃO et al., 2016). Descreve-se sua aplicação em enxertos livres com anastomose vascular (NEMETH & MIKO, 2003; PAP-SZEKERES et al., 2003) e sem anastomose vascular no esôfago (AZARI, et al., 2012) e coração (VINEBERG, 1967) e em fraturas de ossos longos (BIGHAM-SADEGH et al., 2012; BALTZER et al., 2015; REE et al., 2016; REE et al., 2018).

O estudo aprofundado do omento nas espécies de interesse na clínica-cirúrgica de animais de companhia é relevante, especialmente na espécie felina, e pode fornecer informações que justifiquem e venham a otimizar sua aplicação na cicatrização e reparo de lesões. Os gatos apresentam características anatômicas que geram menor perfusão em sua pele íntegra, quando comparados aos cães (BOHLING et al., 2006), o que os expõe a maior risco de complicações na cicatrização como a pseudocicatrização e maior ocorrência de feridas crônicas.

Apesar das diversas aplicações do omento na Medicina Veterinária, sua avaliação microscópica entre as espécies animais ainda não é bem explorada e os dados de sua estrutura morfológica são escassos. Há relato de sua avaliação ultraestrutural em cães saudáveis por Huyghe e colaboradores (2015), e em ratos por Wilkosz e colaboradores (2005). Foram encontrados poucos dados sobre análises histológicas, imunohistoquímicas e ultraestruturais de omento saudável em gatos e em qualquer outra espécie animal (WILKOSZ et al., 2005; OWAKI et al., 2012; HUYGHE et al., 2015).

Em análises histológica, por imunohistoquímica e de microscopia eletrônica anterior do omento em cães, não havia agregados de células linfoïdes (“Milky spots” ou manchas leitosas) (HUYGHE et al., 2015), comumente visíveis no omento humano (WANG et al., 2019). Em contrapartida, elas foram encontradas em ratos (WILKOSZ et al., 2005), mas não há esta análise em gatos. Os “Milky spots” são considerados parte da defesa peritoneal por serem fonte de neutrófilos, macrófagos e linfócitos (HEEL, HALL, 1996; KIRBY, 2007).

Objetivou-se, a partir da análise morfológica do omento saudável em cadelas e gatas, verificar sua composição básica para melhor compreensão de seu funcionamento nestas espécies. Conhecendo-se as vantagens do omento no estímulo ao reparo tecidual, bem como suas diferentes aplicabilidades terapêuticas, esses dados oferecem subsídios para o estudo das vias fisiopatológicas de suas aplicações práticas, terapêuticas e cirúrgicas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Embriologia e Anatomia Omental

O omento é um tecido derivado do peritônio, uma fáscia transversa composta por serosa conjuntiva recoberta por células mesoteliais que reveste as cavidades abdominal e pélvica (BUDRAS et al., 2002; KIRBY, 2007). De forma simplificada, o peritônio é visto como barreira protetora e interface sem atrito que recobre as vísceras abdominais e suas estruturas de suporte (KIRBY, 2007; ISAZA-RESTREPO et al., 2018). Recentemente, ele tem sido visto como uma estrutura mais complexa responsável por inúmeras funções. Segundo Isaza-Restrepo e colaboradores (2018) o peritônio embriológico se funde formando os mesentérios primitivos e dão origem aos ligamentos de sustentação, o omento e o mesentério adulto.

O omento é composto por uma lámina dupla e larga de peritônio que se subdivide em omento maior, também chamado de epíplon, e omento menor (BUDRAS et al., 2002; KIRBY, 2007; KIRBY, 2017). O ligamento mesogástrico dorsal, durante o desenvolvimento animal, prolonga-se e dobra-se sobre si mesmo, forma uma bolsa omental e gera o omento maior (DYCE, 2010). Tal dobradura delimita parte da cavidade peritoneal, é achatada e as paredes são mantidas em contato íntimo, de forma que a cavidade seja potencial e não real propriamente dita (IDEM, 2010).

O omento maior (Figura 1) é a primeira estrutura visualizada após celiotomia mediana (OWAKI et al., 2012) e é composto pelos ligamentos gastrofrênicos, gastrocólicos e gastroesplênico (KONIG, 2016). Ainda, conforme Konig (2016) sua disposição adulta é determinada pelo crescimento longitudinal do mesentério e pela rotação do sistema digestório durante o desenvolvimento animal. Assim, no adulto carnívoro ele origina-se da parede abdominal dorsal e prolonga-se caudalmente. A aparência macroscópica do omento é rendada (em trança) devido às linhas de gordura que circundam suas artérias (KONIG, 2016).

Conforme a relação do omento com a parede e os órgãos abdominais, suas paredes são classificadas como parietal (também chamada de superficial ou ventral) e visceral (também denominada profunda ou dorsal) (DYCE, 2010; KONIG, 2016). A parede parietal prolonga-se desde sua origem até a abertura pélvica cranial, neste momento ela retorna para alcançar a curvatura maior do estômago, já como parede visceral que envolve o baço (KONIG, 2016).

Ele é dividido em três porções conhecidas como bursal, esplênica e de véu. A porção bursal é a maior delas, mais usada na cirurgia veterinária, se fixa cranoventralmente à maior parte da curvatura maior do estômago (KIRBY, 2017). Em cães e gatos estende-se caudalmente até a bexiga urinária e cobre os intestinos, fixa-se ao longo da curvatura maior exceto à esquerda, onde corre obliquamente pela superfície dorsal do estômago e junta-se ao omento menor para fechar a bolsa omental (KIRBY, 2007; KIRBY, 2017). Ainda, segundo Kirby (2017) as duas porções remanescentes do omento maior são menos significativas do que a porção bursal, a porção esplênica do omento maior estende-se até o hilo do baço dando origem ao ligamento gastroesplênico, no qual os vasos gastroepiplôicos percorrem em direção ao estômago (Figura 2). A menor porção, a porção do véu, situa-se entre a curvatura menor do estômago e a porta hepática, tornando-se contínua com o mesoduodeno; contém a região esquerda do pâncreas (KIRBY, 2017). Partes do omento menor dão origem ao ligamento hepatoduodenal e ao ligamento hepatogástrico (KIRBY, 2007; KIRBY, 2017).

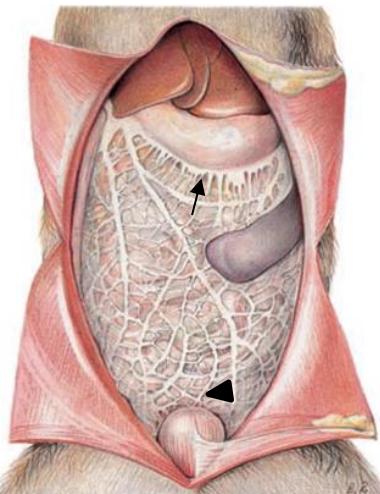


Figura 1. Anatomia do omento maior em cão. Notar sua inserção na curvatura maior do estômago (seta) e prolongamento até a região cranial pélvica (cabeça de seta). Fonte: BUDRAS et al. (2007).

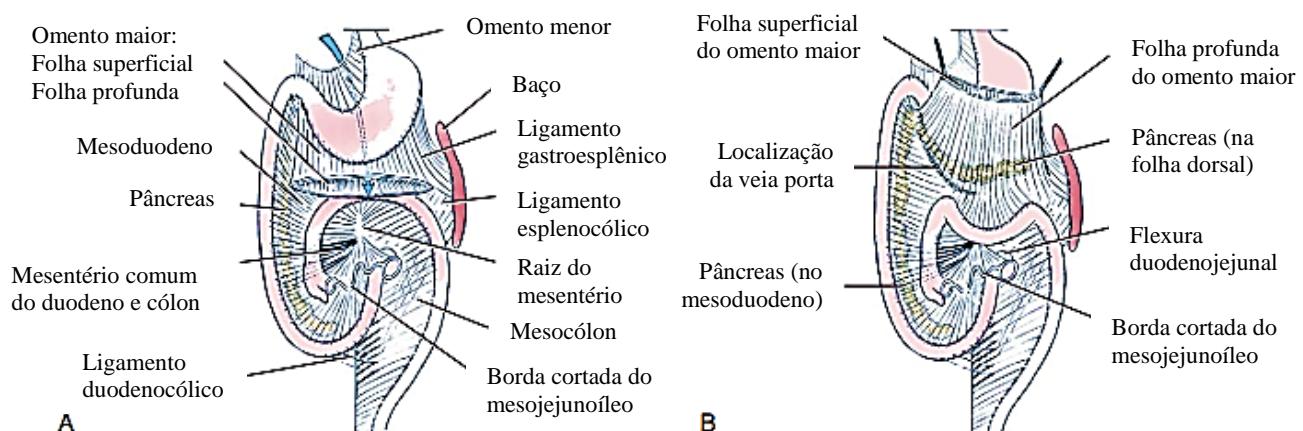


Figura 2. Anatomia do omento. Superfície ventral do omento (A), superfície dorsal do omento (B). Fonte: EVANS, LAHUNTA (2013).

Quanto à rica vascularização do omento, ela está localizada na parede omental em suas estrias gordurosas ou contidas nas dobras da parede superficial do omento maior, que se projetam para o interior da bolsa omental (DOOM et al., 2014); seus capilares estão abaixo do mesotélio (PLATELL et al., 2000). Sua irrigação maior deriva de vasos periféricos das artérias gastroepiplôicas esquerda e direita (MACPHAIL, 2014) localizadas paralelamente à curvatura maior do corpo e piloro gástricos (DOOM et al., 2014).

Conforme Lierberman (2000) a drenagem venosa omental percorre paralelamente às artérias e termina no sistema porta. Os vasos linfáticos omentais são originários de evaginações do endotélio que formam uma delicada rede interconectada que drena para os nódulos linfáticos subpilórico e esplênico (LIEBERMANN, 2000).

O omento desloca-se pelo abdômen por movimentos das demais estruturas cavitárias (DYCE, 2010), uma vez que ele possui grande porção livre na cavidade abdominal e somente parte do omento maior e do menor está inserida ao estômago às curvaturas maior e menor, respectivamente (KIRBY, 2017).

2.2 Estrutura Microscópica Omental

Mesmo com inúmeras aplicações do omento na área de cirurgia veterinária, sua estrutura básica ainda não está bem documentada. Na literatura a maior parte dos estudos referentes à estrutura microscópica e tipos celulares são desenvolvidos em humanos e ratos, em outras espécies os relatos são parcos ou mesmo inexistentes.

Dentre os estudos encontrados na literatura com achados microscópicos referentes ao tecido omental animal, é descrito que o epílon é composto, em geral, de trabéculas de tecido conjuntivo, artérias, veias e vasos linfáticos, entremeados com porções de gordura, fibroblastos e tecido linfoide (HUYGHE et al., 2015). Tais componentes são distribuídos por duas regiões distinguíveis (Figura 3): áreas translúcidas e áreas ricas em gordura (WILKOSZ et al, 2005; HUYGHE et al., 2015), que variam sua distribuição conforme a espécie.

Em nível celular, o omento é composto basicamente por quatro tipos celulares: adipócitos (maior parte das células omentais), células endoteliais, agregados de células imunes, principalmente macrófagos e linfócitos imaturos e maduros, e células mesoteliais reconhecidas pela função de defesa do omento (AGNER; YEOMANS; DUJOVNI, 2001).

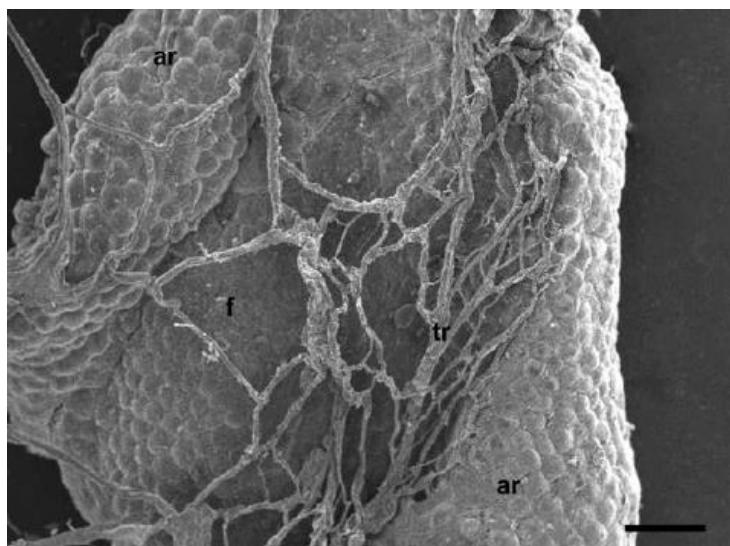


Figura 3. Omento de cão saudável por microscopia eletrônica de varredura. Note as duas regiões omentais: (ar) representa as áreas ricas em tecido adiposo e (tr) as áreas translúcidas com suas fenestrações (f). A barra representa 200 µm. Fonte: HUYGHE et al. (2015).

Os aglomerados de células linfoideas são estruturas especializadas fundamentais na limpeza da cavidade abdominal durante o processo inflamatório (van BAAL et al., 2017). Eles foram descritos no omento do homem e por seu aspecto branco leitoso são comumente denominados “manchas leitosas” (ML) ou “pontos leitosos” (MS). Em ratos, eles foram observados distribuídos de maneira irregular e situados no tecido adiposo (WILKOSZ et al., 2005) conforme a Figura 4. Em cães saudáveis apenas um número limitado de leucócitos, macrófagos e neutrófilos estavam espalhados por todo o tecido conjuntivo nas regiões translúcidas (HUYGHE et al., 2015); em gatos não há relatos desta análise.

Em humanos, a pesquisa sobre o omento é focada principalmente no estudo dessas MS. No homem elas são áreas compostas principalmente de macrófagos (KRIST et al., 1995), entretanto, linfócitos B, T e mastócitos também são encontrados (SACCHI et al., 2007). Segundo Di Paolo e colaboradores (2005) tais estruturas não podem ser classificadas como tecido linfoide secundário verdadeiro. Durante peritonites, os MS modificam-se assemelhando-se a linfonodos e aumentam em número e tamanho (DI PAOLO et al., 2005) e seu componente

celular principal passa a ser o linfocítico (SACHI et al., 2007).

Em estudos anteriores foi demonstrado na região translúcida de animais a presença de numerosas fenestrações arranjadas aleatoriamente com aparência de uma malha semelhante a uma rede (WILKOSZ et al., 2005; OWAKI et al., 2013; HUYGHE et al., 2015). As fenestras pelas quais os vasos sanguíneos atravessam, tornam-se mais refinadas na seção basal, em direção à periferia, após repetidas ramificações e anastomoses (OWAKI et al., 2012). Ainda, tal região é composta por duas camadas diferentes: um mesotélio achatado contínuo sobrejacente ao tecido conjuntivo submesotelial (WILKOSZ et al., 2005; HUYGHE et al., 2015) repleto de fibras colágenas difusas e ocasionais células análogas a fibroblastos (WILKOSZ et al., 2005), conforme demonstrado na Figura 5.

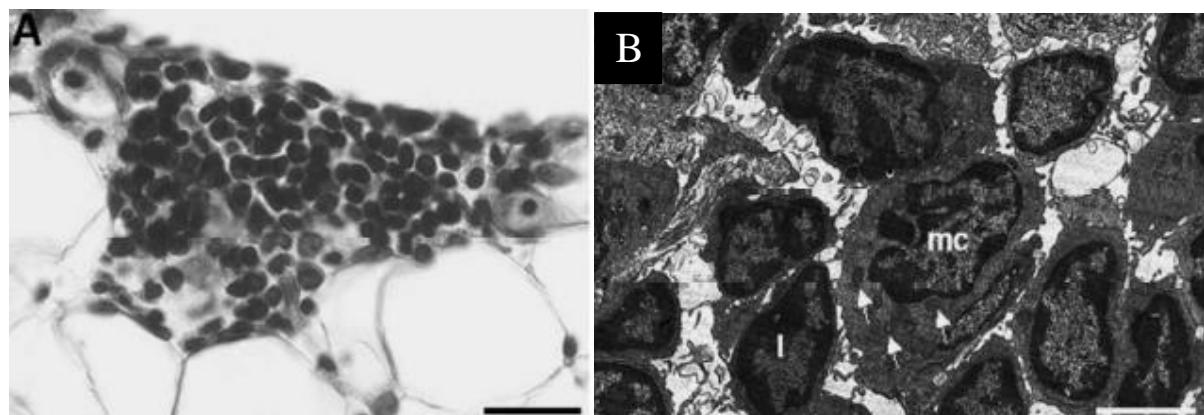


Figura 4. Mancha leitosa (ML) de omento de rato em região gordurosa. **A.** ML visualizada em corte histológico semifino corado pela hematoxilina e eosina (H&E). **B.** ML visualizada em corte ultrafino sob microscopia eletrônica de transmissão. Note um macrófago (**mc**) contendo lisossomos (setas) e um linfócito (**l**) no interior de uma mancha leitosa. Fonte: WILKOSZ et al. (2005).

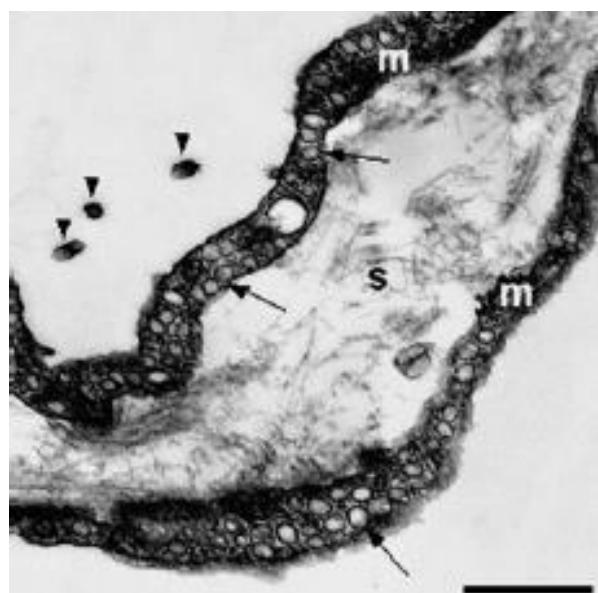


Figura 5. Área translúcida de omento de rato em corte ultrafino. As setas pretas representam as vesículas no interior das células mesoteliais (**m**) cobertas por microvilosidades (cabeças de setas pretas). Destaca-se em (**s**) a camada submesotelial com fibrilas de colágeno. A barra representa 700 nm. Fonte: WILKOSZ et al. (2005).

As regiões ricas em tecido adiposo revelaram uma camada substancial de adipócitos na qual estava presente uma camada de mesotélio contínuo achatado (WILKOSZ et al., 2005; HUYGHE et al., 2015) que repousava sobre uma membrana basal (WILKOSZ et al., 2005) conforme visualizado na Figura 6. Entre essas camadas, algumas fibras de colágeno foram detectadas (HUYGHE et al., 2015).

As células mesoteliais que compõe o tecido omental são capazes de reconhecer danos teciduais e patógenos, além de iniciar a resposta inflamatória por meio da apresentação de抗ígenos, produção de citocinas, interação com células imunes e através do reparo tecidual e formação de aderências (ISAZA-RESTREPO et al., 2018). Em ambas as regiões omentais elas estavam presentes e revelaram características típicas, incluindo microvilosidades, retículo endoplasmático rugoso, mitocôndrias e inúmeras vesículas ao longo das superfícies basais e apicais (WILKOSZ et al., 2005). Ainda, Wilkosz et al. (2005) confirmam que a camada de células mesoteliais e a membrana basal são descontínuas nos locais das MS.

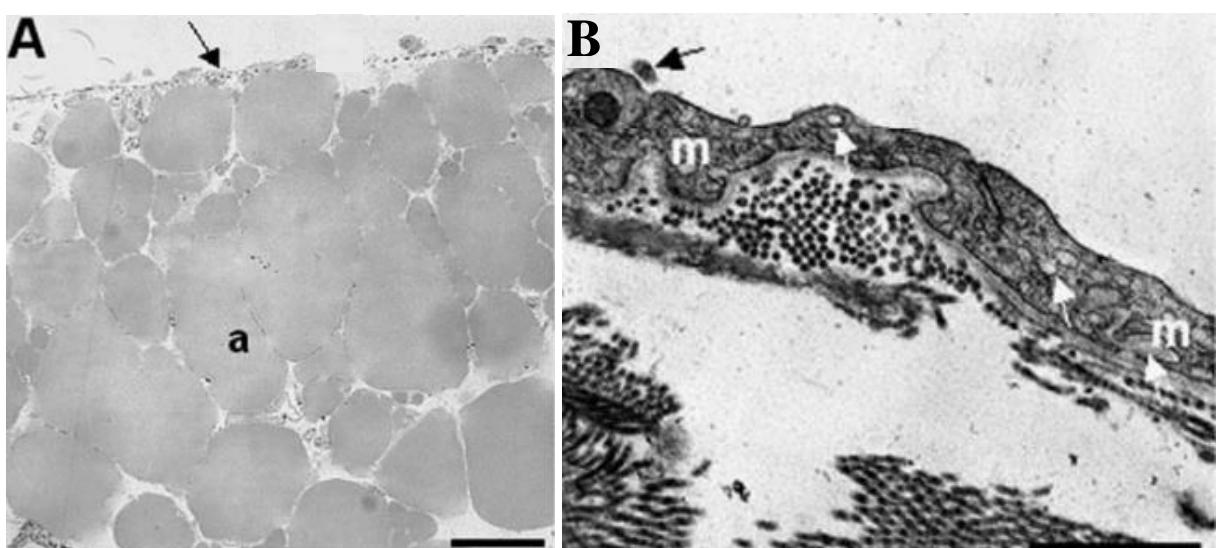


Figura 6. Região gordurosa de omento de rato em cortes corados com azul de toluidina (1%). **A.** Corte semifino evidenciando em **a** um adipócito; note grande quantidade neste corte. A seta preta representa uma célula mesotelial na superfície que recobre a camada submesotelial. A barra representa 0,1 mm. **B.** Corte ultrafino sob microscopia eletrônica de transmissão. Em **m** as células mesoteliais em uma camada única revestem esta região omental. Nas setas brancas são destacados os poros e nas setas pretas as microvilosidades apicais. A barra representa 1 μ m. Fonte: WILKOSZ et al. (2005).

2.3 Avaliação da Estrutura e Composição Omental

2.3.1 Avaliação por microscopia eletrônica

Na microscopia eletrônica há observação direta de aspectos ultraestruturais das células por meio da emissão de feixes de elétrons pelo microscópio que interagem com os átomos da amostra (DE SOUZA, 2007). Neste processo, os feixes de elétrons são refratados pelas lentes eletrônicas, que controlam o feixe, e permitem a formação das imagens com poder de resolução cerca de 100 vezes maior que o do microscópio de luz (GALETTI, 2003).

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) utiliza elétrons que se dispersam ou são emitidos a partir da superfície da amostra analisada. O feixe de elétrons extremamente estreito localiza-se no interior de uma pequena sonda que rastreia em alguns segundos toda a amostra, passando rapidamente para frente e para trás sobre ela (CASTRO, 2002). A imagem é formada

ao mesmo tempo que a amostra é varrida (GALETTI, 2003).

Na microscopia eletrônica de transmissão (MET) a imagem referente à amostra analisada é formada simultaneamente à passagem do feixe de luz através dela. É um método de avaliação amplamente utilizado na biologia, pois permite definição de imagens intracelulares, e possibilita estudos de morfologia celular e aspectos gerais das organelas (GALETTI, 2003).

Na Medicina Veterinária os estudos da ultraestrutura omental são escassos. Há apenas um trabalho com uso de MEV no cão (HUYGHE et al., 2015). Owaki et al (2012) avaliaram por MEV o omento de gatos a fim de verificar a formação de poros conforme a idade. Há estudos com MEV em ratos (MIRONOV, GUSEV & BARADI, 1979) e no homem (KRIST et al., 1995) e Wilkosz et al. (2005) avaliaram o omento de ratos também por MEV, mas associado à MET compararam com o do homem.

A avaliação do omento por MEV permite a análise de toda superfície e dessa forma identifica claramente a distribuição das duas regiões omentais (área translúcida e área rica em gordura) e, ainda, consegue realizar comparações entre as espécies. Através de MEV também é possível visualizar as células mesoteliais, perceber seu formato, ora achatadas, ora cúbicas, assim como notar e mensurar suas microvilosidades. Na MEV do tecido omental é notável que os adipócitos uniloculares estão intimamente associados aos capilares (WILKOSZ et al., 2005).

Na análise omental por MET, por meio de cortes ultrafinos, é possível analisar o interior do tecido omental de forma mais detalhada. Em estudos anteriores notou-se uma dupla camada de células mesoteliais que reveste as áreas translúcidas e o momento da fusão das duas camadas que formam um revestimento contínuo (WILKOSZ et al., 2005). Pela MET pode-se avaliar ainda os tamanhos das fendas e compará-los com os achados da MEV. Na área rica em tecido adiposo foi possível perceber os inúmeros vasos que fazem parte do omento, o local de suas infiltrações no tecido, e suas extensões às áreas translúcidas (WILKOSZ et al., 2005).

No estudo mais completo do omento de cães saudáveis, efetuou-se análise por MEV, MET e imunohistoquímica. Nesse estudo foram evidenciadas que as duas regiões distinguíveis do omento são igualmente distribuídas (HUYGHE et al., 2015) e houve claras diferenças do omento do cão quando comparado ao omento do ser humano principalmente pela ausência das MS.

2.3.2 Avaliação omental por imunohistoquímica

A técnica de imunohistoquímica usa a reação antígeno-anticorpo para detectar e caracterizar moléculas específicas em seu local de origem; dessa maneira, utilizam-se imunoensaios para colocalizar um epítopo de interesse em cortes teciduais (FERRO, 2014). Assim, a imunohistoquímica usa anticorpos na marcação de epítopos de interesse em tecidos, sendo comumente aplicada no diagnóstico de doenças (ORAKPOGHENOR et al., 2018).

Geralmente, para realizar imunohistoquímica realiza-se o mesmo processo inicial do preparo de amostras para histologia: remove-se do ser vivo uma amostra tecidual, ela é conservada (congelamento ou por métodos químicos) e, posteriormente, embebida em parafina para que possa sofrer cortes em secções muito finas (cerca de 4 μ m) que são colocadas em lâminas de vidro (FERRO, 2014). Dessa forma, mantém-se a arquitetura original do tecido circundante e, por meio de anticorpos específicos, é possível localizar antígenos nos componentes histológicos; sendo esta ligação corada e assim, visualizada.

Este método diagnóstico é altamente específico e sensível. A técnica é uma combinação de reações imunológicas e químicas visualizadas com um microscópio fotônico. Ela é dividida basicamente em quatro etapas principais, a saber: pré-tratamentos (estágio 1), reações imunológicas e histoquímicas (estágio 2), visualização da reação imunológica (estágio 3) e interpretação e geração de relatório (estágio 4) (RAMOS-VARA et al., 2008).

Em animais, o único estudo encontrado com a utilização de imunohistoquímica para

avaliar a composição omental em cães foi o de Huyghe e colaboradores (2015). Os autores avaliaram as células de defesa no omento como o linfócito T (CD3, CD4, CD8 alpha), B (CD21) e utilizaram um marcador panleucocítico (CD45) para detectar outras células de defesa. Neste estudo os autores não detectaram, nas 14 amostras de omento saudável de cães (duas coletadas em cirurgia e as demais após eutanásia), linfócitos T, células T auxiliares e células T citotóxicas. Linfócitos B solitários foram detectados em apenas dois pacientes, e com o marcador CD45 detectaram leucócitos em quantidades variadas. Neutrófilos e macrófagos foram detectados em pequenos grupos de 3-5 células em todas as amostras, somente em dois pacientes havia um número máximo de 25 células.

2.4 Propriedades do Omento

Uma vez que o omento é formado por peritônio, as funções deste tecido nos auxiliam a compreender as funções omentais, a saber: transporte seletivo de fluidos e células; barreira fisiológica; indução, modulação e inibição imunológica; reparação e cicatrização de tecidos; prevenção de adesão e disseminação tumoral e migração transcelular (ISAZA-RESTREPO et al., 2018).

Há evidências das propriedades do omento como reconstituição de tecidos após exéreses de grandes massas cutâneas, no preenchimento de defeitos, estímulo à neovascularização em não-união óssea, auxiliando na regeneração óssea em fraturas de ossos longos, como auxiliador na drenagem linfática e como incremento à cicatrização inclusive em sítios com infecção. Sua aplicação é relatada em reparos intrabdominais, de forma pediculada extraperitoneal e de forma livre com ou sem anastomose vascular com o leito receptor. A seguir revisaremos as principais propriedades e aplicações deste tecido.

2.4.1 Reparo abdominal com omento

A aplicação mais comum do omento maior no interior da cavidade peritoneal é na reparação de vísceras do sistema digestório após acesso cirúrgico, cobrindo o local da sutura e formando um tipo de tampão seroso (RADLINSKY, FOSSUM, 2019a). Ainda, no reparo de lesões traumáticas intestinais, ou das vísceras ocais em geral, ele é aplicado sobre as incisões que foram suturadas como segurança extra contra vazamentos (DYCE, 2010) e auxilia na revascularização de tecidos com suprimento sanguíneo prejudicado (KIRBY, 2017). Este reparo chama-se omentalização, e é efetuado com a porção bursal do omento maior (Figura 7).



Figura 7. Omentalização de sutura vesical após cistotomia para remoção de urólitos em cadela SRD, 3 anos. Fonte: HV-UFRRJ, 2016.

O omento pode auxiliar na correção de cistos abdominais por ter papel relevante na vascularização tecidual; ele carrega consigo rico suprimento sanguíneo (KIRBY, 2017), com alta capacidade de absorção e exacerbada atividade angiogênica (HALL, 1998). Dessa forma,

ele é usado como adjuvante na drenagem e tratamento de abscessos ou cistos intrabdominais como os hepáticos e pancreáticos (CORNELL, TOBIAS, 2017; RADLINSKY, FOSSUM, 2019b), prostáticos (APPARÍCIO et al., 2006; WHITE, 2017; MACPHAIL, FOSSUM, 2019), e uterinos (CAMPBELL, 2004).

Os grandes abscessos abdominais são relatados como resultado da união de microabscessos anteriormente formados na cavidade; dependendo de suas localizações, eles podem gerar aumento da pressão sobre o diafragma pélvico (abscessos ou cistos prostáticos) contribuindo para ocorrência de hérnia perineal (FOSSUM, 2014). O reparo com omento é o tratamento de escolha nos abscessos prostáticos, pois exige menos cuidados no pós-operatório em comparação a outras técnicas descritas (MACPHAIL, FOSSUM, 2019).

Nestas afecções, com infecção bacteriana associada, a função do omento se amplia ainda mais devido à sua capacidade de defesa no combate aos patógenos (HALL, 1998), porque ele participa ativamente na resposta do organismo com suas células imunes e sua capacidade de absorver bactérias e outras partículas (KIRBY, 2012). Ele é o único tecido da cavidade abdominal com esta característica.

Ainda, na cavidade peritoneal, o omento revela auxílio ao tamponamento e prevenção de aderências após traumas cirúrgicos em outras vísceras ocas (vesícula urinária e útero) (KIRBY, 2017; MACPHAIL, 2014). Dessa maneira, ele auxilia no isolamento, com seu aspecto rendado e atua selando a fonte de contaminação pela formação de aderências em resposta ao exsudato fibrinoso (KIRBY, 2017). Assim como todas as membranas serosas, ele tem essa tendência de aderir quando inflamado, por este motivo, é encontrado frequentemente aderido em regiões de infecção (DYCE, 2010) ou em órgãos rompidos por traumas ou neoplasias.

2.4.2 Reparo extraperitoneal por retalhos pediculados

Devido à sua ampla disponibilidade, maleabilidade, por não induzir resposta de corpo estranho, os retalhos omentais são amplamente utilizados na Medicina Veterinária em situações diversas fora da cavidade peritoneal, por meio dos retalhos pediculados (FRANKLIN et al., 2011; STEGEN et al., 2015; MOURA, 2017; KIRBY, 2017; MACPHAIL, FOSSUM, 2019).

Na construção do retalho pediculado é preciso acesso à cavidade, realizado de forma rotineira e, após localizar o omento, liga-se os vasos do folheto ventral (Figura 8) associados à curvatura maior e procede-se à sua desinserção para que o omento dobre de tamanho. É possível, ainda, que uma incisão em formato de “L” invertido seja realizada em sua extensão permitindo que ele alcance locais mais distantes, assim como demonstrado no estudo de Moura (2017), que evidenciou a possibilidade de o omento de gatos estender-se além da cabeça e dos membros do animal a partir da passagem por um pequeno defeito na parede e através de túneis no subcutâneo.

Há inúmeros relatos de sua aplicação na reparação de feridas crônicas cutâneas, principalmente em gatos (BROCKMAN et al., 1996; GRAY, 2005; FALCÃO et al., 2016), devido à dificuldade de cicatrização nestes animais quando comparados aos cães (BOHLING et al., 2006). O omento pediculado costuma ser aplicado durante a fase de proliferação, durante o processo de cicatrização cutânea, e permite maior angiogênese e acelera o processo cicatricial. Outras aplicações do retalho omental pediculado estão associadas ao tratamento de abscesso no mediastino caudal em um cão (FRANKLIN et al., 2011); em derrame pleural neoplásico em um gato (TALAVER et al., 2009); como coadjuvante no tratamento de uma fratura de fêmur séptica em cão (MENEZES et al., 2020); corrigindo defeitos na parede torácica (OLIVEIRA, 2018) e no auxílio da drenagem de quilotórax em gatos por omentalização torácica, com documentação em vários casos (LAFOND, WEIRICH E SALISBURY, 2002). Ainda, o omento foi usado para apoiar pequenos defeitos esofágicos na porção do tórax caudal, pois o extravasamento de conteúdo esofágico para a pleura pode gerar graves quadros de pneumonia e dispneia, e a aplicação do retalho omental minimizou a formação de estenose esofágica

(HAYARI et al., 2004).

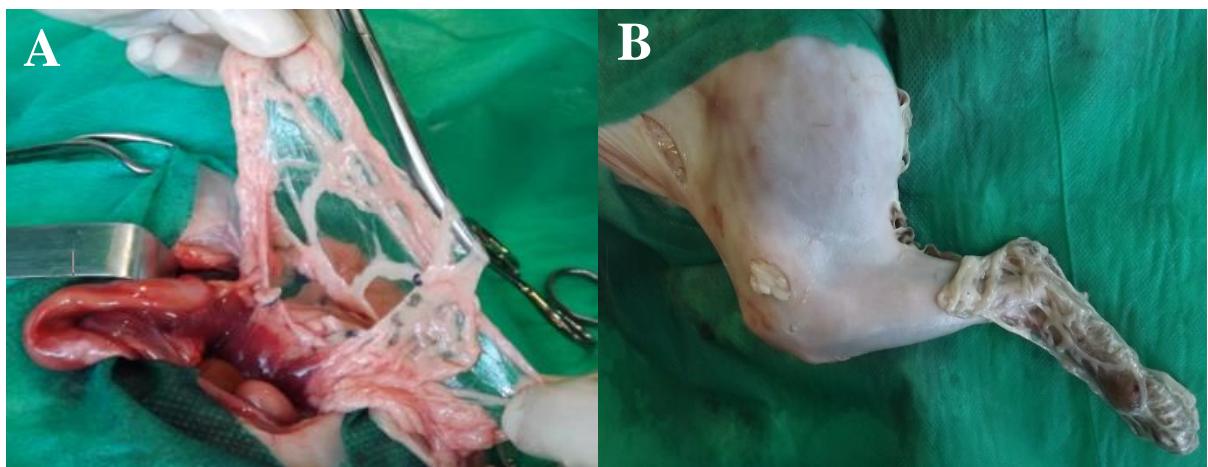


Figura 8. Realização de retalho pediculado de omento em cadáver de felino. **A.** Desinserção de porção ventral do omento após ligadura de seus vasos junto à curvatura maior do estômago. **B.** Após tunelização pelo subcutâneo o retalho pediculado alcançou as falanges do membro pélvico. Fonte: MOURA, 2017.

Apesar de haver na literatura veterinária inúmeras indicações e relatos de aplicação do enxerto omental pediculado, o tempo cirúrgico prolongado para a mobilização do retalho omental até as regiões distantes do abdome dificulta sua utilização. Além disso, por vezes há a necessidade de inúmeros túneis no subcutâneo até alcançar a área receptora, o que aumenta também a chance de infecções pós-operatórias. O defeito criado na parede abdominal para passagem do omento, pode provocar a hérniação de órgãos abdominais e demandar cirurgia corretiva (BROCKMAN, 1996).

2.4.3 Enxertos omentais livres

Devido a algumas características que dificultam a realização do retalho omental pediculado anteriormente citadas, o epíplon também pode ser aplicado de forma livre, sem suas ligações à cavidade abdominal. A aquisição destes enxertos é simples e de fácil execução por sua grande disponibilidade, vascularização favorável (LIEBERMANN, 2000) e por ser facilmente acessado. Por sua composição, o omento facilmente se adere a novos leitos, e por ser maleável, pode facilmente ser moldado no leito receptor (ROSS & PARDO, 1993).

Foi relatada aplicação do omento por meio de enxertos livres com anastomose vascular com vasos da área doadora (NEMETH & MIKO, 2003; PAP-SZEKERES et al., 2003) e sem anastomose vascular (AZARI et al., 2012; BAILEY et al., 2015; FERNANDES et al., 2018; FERNANDES et al., 2022).

Na cirurgia de animais de companhia, o uso do enxerto omental livre com micro anastomose vascular é um verdadeiro desafio, uma vez que requer conhecimento específico do cirurgião, instrumentos específicos como o uso de microscópio cirúrgico devido ao tamanho diminuto dos vasos omentais e, com isso, a técnica em si é considerada onerosa. Neste contexto, os enxertos omentais livres sem micro anastomose vascular tem tido destaque, sobretudo na cirurgia ortopédica veterinária. Há uma linha de pesquisa bem desenvolvida na ortopedia relacionando o enxerto de omento livre a um potencial osteogênico na cicatrização de defeitos ósseos em rádio e ulna, promovendo regeneração (BIGHAM-SADEGH et al., 2012; BALTZER et al., 2015) e aceleração da cicatrização óssea e retorno à sustentação de peso em cães (REE et al., 2018).

Além disso, a eficiência do enxerto omental livre sem microanastomose vascular foi relatada em órgãos como o esôfago (AZARI, et al., 2012), coração (VINEBERG, 1967), e em trabalhos do nosso Grupo de Pesquisa (Cirurgia Veterinária UFRRJ) sobre sua aplicação experimental em feridas cutâneas em coelhos (Figura 9) induzindo neovascularização (FERNANDES et al., 2022) e em gatas aumentando a resistência à tração sem causar malefícios (TEIXEIRA, 2018).

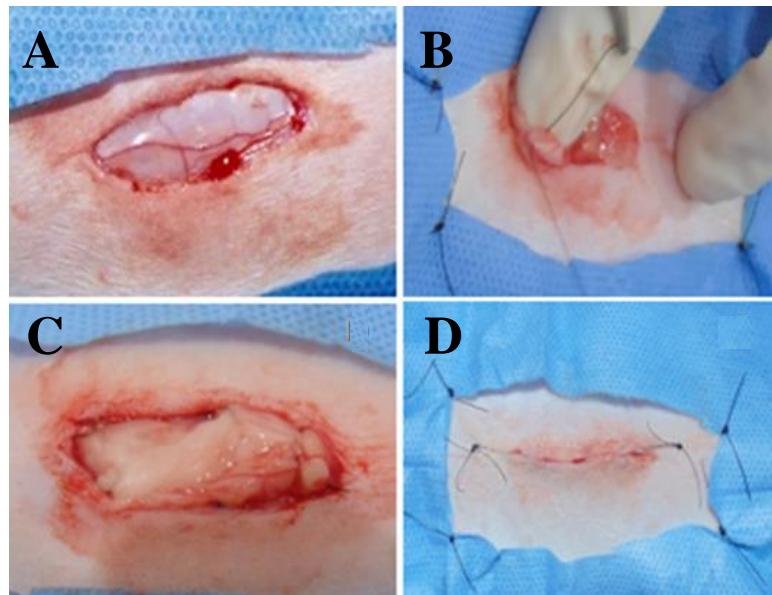


Figura 9. Aplicação de enxerto de omento livre em ferida experimental em coelho da raça Nova Zelândia. **A.** Ferida criada no dorso do animal. **B.** Omento livre sendo suturado nas margens da ferida com sutura simples interrompida. **C.** Aspecto final da aplicação do enxerto. **D.** Sutura da pele cobrindo o enxerto livre. Fonte: FERNANDES et al., 2022.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O delineamento experimental do estudo foi submetido à apreciação e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do IV da UFRRJ (CEUA/IV/UFRRJ) sob o número de protocolo 4549020822 (Anexo A) e da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro Universitário de Barra Mansa (CEUA UBM) sob o número de protocolo 001/2021 (Anexo B). As cirurgias ocorreram no Biotério do Centro Cirúrgico de Pesquisa em Cirurgia Veterinária do Instituto de Veterinária da UFRRJ.

3.1 Animais

Para obtenção de amostras de fragmento do omento maior em cães e gatos foram utilizadas 15 cadelas (*Canis familiaris*) e 15 gatas (*Felis catus domesticus*), oriundas do atendimento cirúrgico do Programa de Controle Natalidade de Cães e Gatos da UFRRJ e do Centro Universitário de Barra Mansa (UBM), indicadas para ovariohisterectomia (OVH) eletiva. Quanto aos critério de exclusão, à avaliação macroscópica do omento, foram excluídos pacientes com hiperemia omental e quaisquer sinais que pudessem sugerir peritonite, além de animais com alterações nos parâmetros vitais e com sinais de doença. Quanto aos critérios de inclusão: foram selecionadas fêmeas sem raça específica (SRD) ou de raça, com idade inferior ou igual a seis anos, com escore de condição corporal física normal (em escala de cinco pontos,

selecionados animais com escore dois e três) que foram submetidas à exame clínico e avaliação sanguínea recentes (hemograma e bioquímica – função renal e hepática). Os tutores de todos os pacientes autorizaram a participação do animal no estudo por meio de assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido - TCLE (Anexo C).

3.2 Pré-operatório

As gatas e cadelas foram submetidas a jejum alimentar de 6 horas e hídrico de 2 horas antes do procedimento cirúrgico. Todas as cirurgias foram executadas sempre pela autora, cirugiã especializada em Clínica Cirúrgica de Animais de Companhia, as anestesias foram executadas por três profissionais especializados com ampla experiência.

3.3 Anestesia

A anestesia iniciou-se com a medicação pré-anestésica, que nas gatas foi composta por acepromazina (0,03mg/kg) e metadona (0,3mg/kg) e nas cadelas foi composta por acepromazina (0,03mg/kg) e morfina (0,5mg/kg), ambas por via intramuscular; para a indução anestésica estes animais receberam propofol dose efeito (observação dos sinais de relaxamento de mandíbula e ausência de reflexo palpebral). A intubação foi executada com uso de laringoscópio e sonda endotraqueal, com tubo de número apropriado a cada paciente. Nas gatas, anteriormente à intubação endotraqueal, foi instilado lidocaína 10% na dose de 0,1mL/animal nas aritenoides e epiglote. A manutenção do plano anestésico foi feita com isoflurano (1,2-1,5 CAM) através de intubação orotraqueal e oferta de oxigênio a 100%; a fluidoterapia com NaCl 0,9% ou ringer com lactato à taxa de 3-4mL/kg/h. Quando revelada dor durante a anestesia, o animal sofreu resgate anestésico com 2 µg/kg de fentanil por via intravenosa.

3.4 Cirurgia

A tricotomia do abdômen ventral, da região do xifoide ao púbis, foi realizada nas cadelas após a medicação pré-anestésica e, nas gatas, após a indução anestésica a fim de reduzir o estresse nessa espécie. As cadelas foram posicionadas sobre mesa metálica e contidas para realização de tricotomia do campo operatório, e porção do antebraço para acesso venoso (em animais com pelo longo ambos os membros torácicos foram tricotomizados, um para acesso venoso e outro para colocação do manguito e aferição da PAS no transoperatório) e região imediatamente anterior ao coxim central do membro torácico para colocação do Doppler vascular. Estes procedimentos foram realizados nas gatas somente após a MPA.

Com o animal em decúbito dorsal, a preparação asséptica do campo cirúrgico foi realizada após a indução, com clorexidina degermante e, posteriormente, clorexidina alcóolica. As gatas e cadelas foram posicionadas em decúbito dorsal para realização da celiotomia mediana retroumbilical e cirurgia de OVH. Após acesso à cavidade abdominal, por incisão na pele até a linha alba e execução de manobra de tenda para permitir incisão em estocada com bisturi, realizou-se ampliação da incisão com tesoura; efetuou-se então, a OVH na técnica tradicional descrita no artigo de Campos e colaboradores (2020). Para coleta dos fragmentos de omento maior ele foi localizado junto ao estômago, realizou-se avaliação macroscópica (observando a presença de possíveis manchas leitosas ou hiperemia) e, em sua borda livre, foi executada ligadura dos vasos omentais com fio Ácido Poliglicólico ou Poliglactina 910 de nº3-0 e foi removido fragmento distal de forma delicada com tesoura de Metzenbaum, medindo aproximadamente 2cm na borda omental e 2cm em cada lado (Figura 10).

A amostra então foi armazenada em solução de formalina a 10% tamponada por no máximo 72h para análises histológica e imunohistoquímica. Nos animais direcionados também para análise da microscopia eletrônica (seis cadelas e seis gatas), mais dois fragmentos de 0,2cm² foram removidos e fixados em solução de Karnovsky por 24h. Os fragmentos foram suturados com fio de nylon 4.0 em TNT em suas extremidades (Figura 11), a fim de permitir que

o tecido permanecesse estendido, sem dobrar sobre si mesmo.

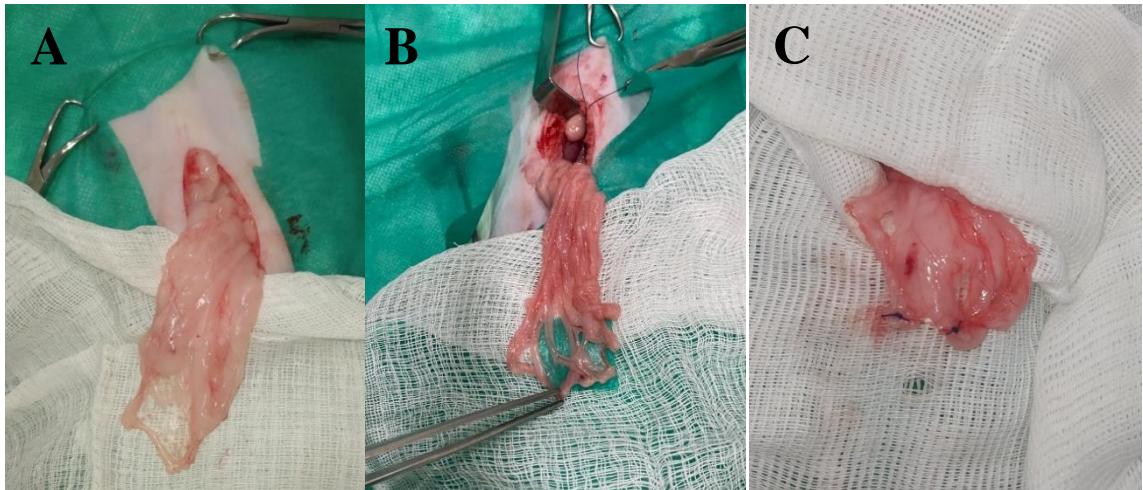


Figura 10. Coleta de fragmento omental de gata, PCB, 2 anos de idade. **A.** Exposição da borda livre do omento após celiotomia longitudinal mediana retroumbilical e realização da ovariohisterectomia eletiva. **B.** Posicionamento de fragmento de tecido TNT com 2 cm² em borda livre omental, delimitando a área de omento a ser removida. **C.** Extremidade do omento após retirada do fragmento para análise, evidenciando-se as ligaduras vasculares.



Figura 11. Fragmento omental de cadelas SRD, 2 anos, removido após ovariohisterectomia eletiva, medindo 2cm². Note que o fragmento está fixado em tecido TNT para evitar dobradura e reduzir danos ao tecido.

A rafia da parede abdominal foi feita com pontos em “X” utilizando-se fio Poliamida 2-0, seguida da sutura do tecido celular subcutâneo com fio Ácido Poliglicólico ou Poliglactina 910 3-0 padrão colchoeiro e finalizado com a sutura da pele com pontos em “U” e fio Poliamida 3-0. Após a celiorrafia foi executado curativo da ferida cirúrgica com esparadrapo hipoalergênico.

3.5 Preparo das Amostras para Microscopia Eletrônica

Para microscopia eletrônica de transmissão e varredura foram utilizados fragmentos de 0,2mm² de omento de 4 cadelas e 6 gatas, escolhidos aleatoriamente. As amostras foram fixadas e preparadas no Laboratório de Microbiologia Unidade de Microscopia Multiusuário Souto-

Padrón e Lins (UniMicro) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) de acordo com o protocolo usado por Huygue e colaboradores (2015), com adaptações sugeridas pela UniMicro e, por este motivo, ele foi detalhado em nosso estudo.

Realizou-se o preparo das amostras para microscopia eletrônica em capela devido ao risco de contaminação com metais pesados utilizados na contrastação (Figura 12). As etapas de preparo para MET e MEV diferenciam-se em parte do processo, sendo as etapas semelhantes demonstradas no Quadro 1.

Inicialmente, a primeira etapa é denominada fixação; para isso foi preparada solução de Karnovsky composta por glutaraldeído 5%, tampão cacodilato de sódio 0,1M, água destilada e formaldeído 4%. Esta solução é responsável pela fixação das proteínas e conservação da amostra. Optou-se por esta composição, pois o formaldeído penetra cerca de cinco vezes mais rápido que o glutaraldeído, e estabilizando, de forma temporária, as estruturas e, posteriormente, tais estruturas são estabilizadas pelo glutaraldeído de forma mais permanente (BOZZOLA, 1999). A solução foi mantida refrigerada e, imediatamente após a coleta, os fragmentos omentais foram submersos nela. As amostras foram mantidas refrigeradas por no máximo 24 horas (*overnight*) e direcionadas para o preparo de microscopia eletrônica.



Figura 12. Preparo de fragmentos de omento de cadelas e gatas, para avaliação por microscopia eletrônica, em capela com fluxo laminar no Laboratório de Microbiologia Unidade de Microscopia Multusuário Souto-Padrón e Lins (UniMicro).

Quadro 1. Etapas do preparo das amostras omentais para microscopia eletrônica.

Etapas	Descrição	Objetivo
Fixação	Imersão das amostras em <i>Karnovsky's</i>	Conservação e fixação da amostra
Lavagem	Lavagem com solução tampão de cacodilato de sódio 0,1M	Remover o fixador
Pós-fixação	Troca da solução por cacodilato de sódio 0,1M e tetróxido de ósmio 1%	Auxiliar no contraste das estruturas
Desidratação	Desidratação das amostras por meio de lavagens com álcool (30%, 50%, 70%, 90% e 100%)	Desidratar as amostras

Na UniMicro iniciou-se a segunda etapa que é a lavagem para remoção do fixador. Para isso, foram executadas três lavagens, a primeira com troca da solução de fixação por uma nova,

composta apenas por solução tampão de cacodilato de sódio 0,1M que permaneceu por 30 minutos em contato com a amostra; mais duas lavagens com 15 minutos de intervalo foram efetuadas.

A seguir, as amostras passaram pela terceira etapa denominada pós-fixação na qual foram mantidas por 1,5h (sem contato com a luz) em solução contendo cacodilato de sódio 0,1M e tetróxido de ósmio (OsO₄) a 1%, substância que permite o contraste da amostra e melhor diferenciação das estruturas na microscopia eletrônica, como as membranas e organelas celulares. Após, realiza-se a lavagem como descrita anteriormente.

Na quarta etapa, desidratação, as amostras foram submetidas a lavagens com concentrações crescentes de álcool (30%, 50%, 70%, 90% e 100%). Para isso, removeu-se com pipeta a solução que envolvia a amostra, cobrindo-a com uma nova. A última troca foi executada na concentração 100% por três vezes, 15 minutos em cada uma. A partir desta fase, os preparos se diferenciam a depender da microscopia eletrônica de escolha.

Para MET as amostras foram incluídas em concentrações crescentes da resina tipo epóxi (Spurr, Polybed 812) removendo o etanol aos poucos, mantidos sob temperatura ambiente, conforme detalhado no Quadro 2, abaixo. Quando as amostras foram colocadas em resina pura, foram posicionadas em formas de silicone sob o formato retangular com número de identificação contido em cada amostra.

Quadro 2. Protocolo de infiltração em resina utilizado para preparo das amostras omentais para análise em microscópio eletrônico de transmissão.

Concentração resina Spurr	Concentração etanol (100%)	Tempo
1	3	8h
1	2	8h
1	1	8h
2	1	8h
1*	0	24h

*Acrecentou-se o catalisador dimetilaminoetil – DMAE na última concentração de Spurr, com duas trocas, mantidas 48h ao todo apenas com a resina do tipo epóxi (Spurr, Polybed 812).

A seguir, os blocos de resina com as amostras em seu interior (Figura 13) foram preparados para serem cortados em navalha de diamante, em ângulo de 6° em ultra micrótomo EM UC6 (Leica Microsystems). Inicialmente, cada amostra foi posicionada no ultra micrótomo e, com navalha de vidro realizou-se cortes (Figura 14. A) para formar um fragmento em formato em pirâmide, com a área que se pretendia visualizar em seu centro. Após a formação da pirâmide, com uma lâmina de diamante (Figura 14. B) realizou-se cortes ultrafinos (Figura 14. C) com programação do ultra micrótomo na espessura de 190nm; os cortes foram recuperados em grades de cobre de 400 mesh. Em sequência, na etapa de contraste, eles foram corados com acetato de uranila e citrato de chumbo para serem observados no microscópio eletrônico de transmissão a 80kV (JEOL 1200 EX Ltd., Tokyo, Japan).

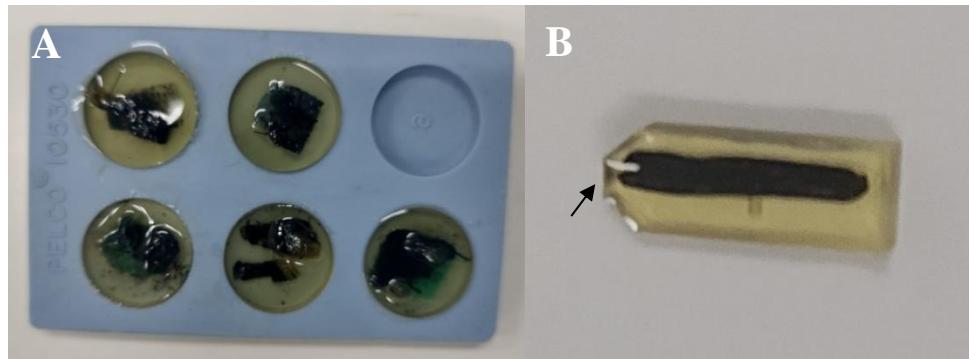


Figura 13. Etapa de inclusão em resina do tipo epóxi (Spurr, Polybed 812) de amostras omentais de cadelas e gatas. **A.** Amostras posicionadas em forma de silicone numerada, note a presença de TNT fixo às amostras a fim de mantê-las esticadas. **B.** Amostra omental embutida em resina cortada durante a confecção da pirâmide (seta) no topo da peça, local onde os cortes serão efetuados.

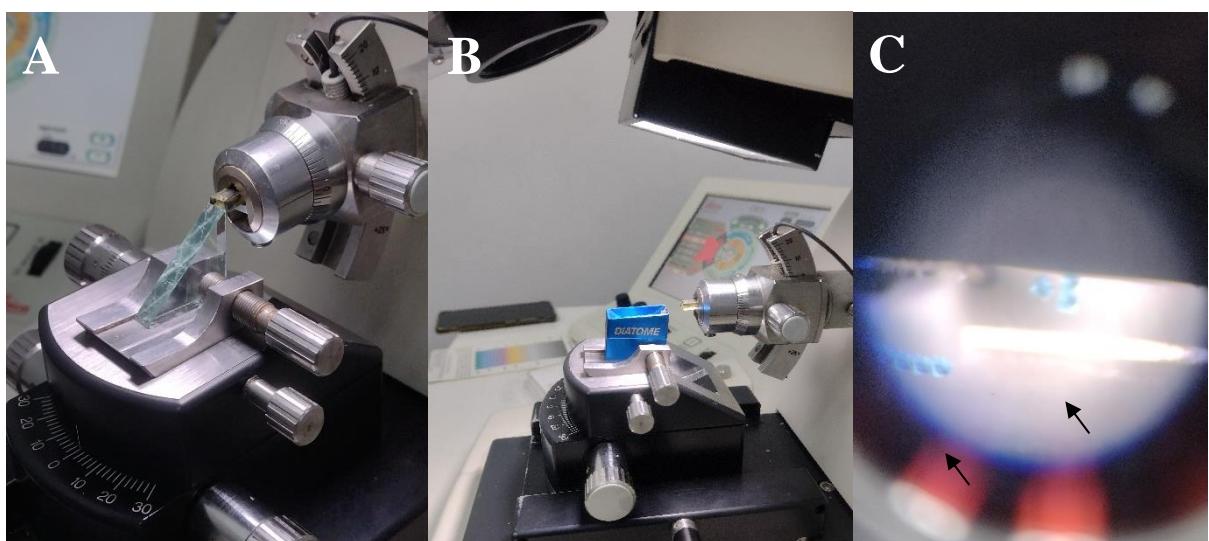


Figura 14. Execução de cortes de fragmento omental no interior de bloco de resina Spurr em ultramicrótomo. **A.** Realização de corte do bloco para formar uma pirâmide com a área de interesse no centro. **B.** Realização do corte ultrafino seriado em lâmina de diamante. **C.** Cortes ultrafinos seriados corados (seta).

Para MEV, após a etapa de desidratação, as amostras foram desidratadas completamente e sofreram preparo no aparelho Unidade de ponto crítico Baltec CPDO30 (BAL-TEC/Leica Microsystems Bannockburn, IL, USA), onde houve a última troca do etanol 100% para gás carbônico (sobre 60-70 atm a 8°C) e remoção da tensão superficial da amostra (Figura 15).

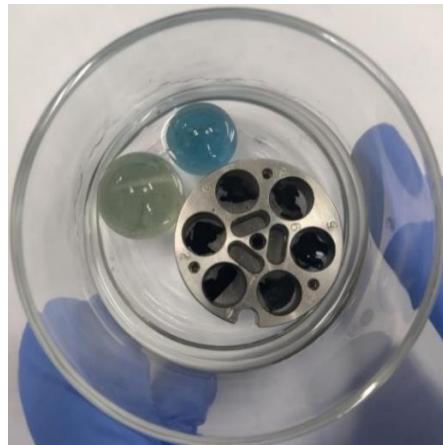


Figura 15. Amostras de omento de cadelas durante última etapa de desidratação preparadas a etanol 100% para sofrerem a etapa de ponto crítico (Baltec CPDO30) com uso de gás carbônico sobre 60-70 atm a 8°C.

Após sofrer ponto crítico as amostras foram posicionadas sob o stub de MEV em cima de uma fita dupla face de carbono colante (Nemtape®). A seguir, o último processo, a metalização, foi realizado no Metalizador Leica EM SCD 050 (Leica Microsystems, Bannockburn, IL, USA). Nesta etapa, as amostras foram revestidas com uma fina camada de ouro (Figura 16) para análise posterior. O tempo de metalização realizado foi de 70 segundos com corrente de 40mA. Este processo foi efetuado para elevar o número de elétrons secundários, e facilitar a interação dos feixes de elétrons do microscópio com as amostras, contribuir para a formação da imagem e evitar o fenômeno denominado carregamento (acúmulo de feixes primários na superfície da amostra).



Figura 16. Amostras de omento de cadelas fixadas em *stub* com fita dupla face de carbono colante após processo de metalização realizado no Metalizador Leica EM SCD 050 (Leica Microsystems, Bannockburn, IL, USA).

Após preparação, as secções das amostras omentais de cada espécie foram examinadas nos microscópios eletrônico de transmissão (JEOL 1200 EX Ltd., Tokyo, Japan) e de varredura (Zeiss EVO 10) (Figura 17) na Unidade de Microscopia Avançada do Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem (CENABIO) da UFRJ com apoio de tecnólogos (CENABIO).

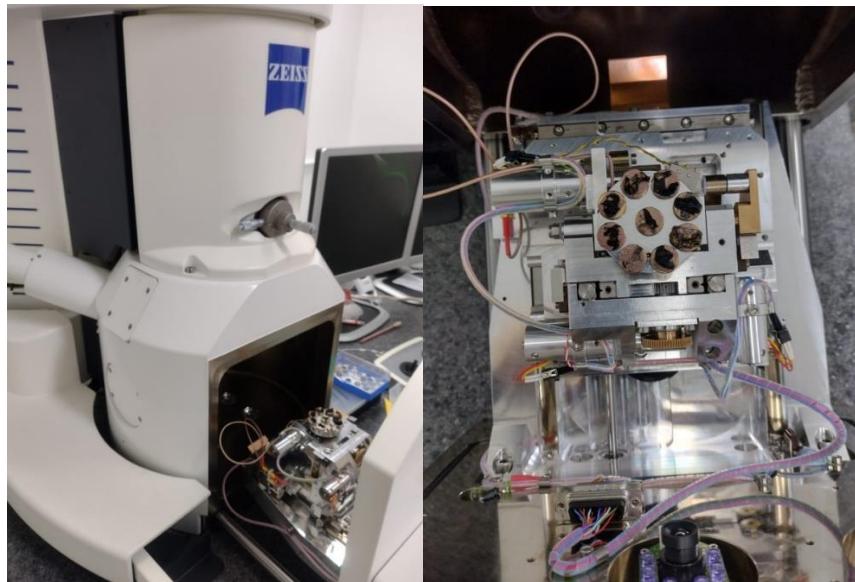


Figura 17. Amostras de omento maior de cadelas e gatas posicionadas para análise em microscópio eletrônico de varredura (Zeiss EVO 10) na Unidade de Microscopia Avançada do Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem (CENABIO) da UFRJ.

Após obtenção das imagens por microscopia eletrônica, foi realizada a medição das estruturas analisadas (células, estruturas da membrana, poros) por meio do programa ImageJ (versão 1,53t), com a escala ajustada para cada imagem obtida no CENABIO – RJ conforme a barra de escala específica em cada registro. Foram calculados, e registrados, o diâmetro das estruturas visualizadas, largura e comprimento para descrição posterior.

3.6 Preparo das Amostras para Análise Histológica

O exame histológico foi realizado no Laboratório de Histopatologia do Setor de Anatomia Patológica da UFRRJ. Os tecidos fixados foram desidratados em 6 banhos em série de solução alcóolica (concentração crescente), diafanizados em 3 banhos de xanol e então parafinados em parafina líquida a 60°C. A seguir, o tecido parafinizado foi emblocado, e então, foram executados cortes histológicos de 4 micrômetros os quais foram corados pelo método de Hematoxilina & Eosina (H&E) descrito a seguir conforme procedimento operacional padrão do laboratório.

Os fragmentos foram desparafinados em banhos de xanol, hidratados em banhos de álcool etílico a 70% (dois minutos em cada), lavados em água, corados pela hematoxilina por 4 minutos, lavados em água novamente, corados pela eosina por 2 minutos, lavados em água, desidratados em banhos de álcool etílico absoluto, seguidos de banhos de xanol e montados com lamínula e solução de xanol e goma damar.

Nas objetivas de 20 e 40 analisou-se a morfologia da área adiposa e translúcida, as principais células encontradas em cada região específica, a presença e quantidade de células inflamatórias e de possíveis *Milky spots* em cada espécie.

3.7 Preparo das Amostras para Análise por Imunohistoquímica

A análise imunohistoquímica foi realizada no Laboratório de Imunohistoquímica do Setor de Anatomia Patológica da UFRRJ. Novos cortes de 4 μ m foram realizados nos blocos de parafina, de 10 gatas e 12 cadelas. Os cortes foram recuperados em lâminas de vidro devidamente identificadas que foram desparafinadas por 4 horas em estufa a 60°C e em banhos de xanol e reidratadas em banhos sucessivos de álcool antes da recuperação antigênica.

A recuperação antigênica foi realizada com tampão High pH9 (Envision-Dako®), em banho maria a 98°C por 20 minutos. O bloqueio de peroxidases endógenas foi realizado com solução de peróxido de hidrogênio a 8%, por 15 minutos em metanol, e o bloqueio de reações inespecíficas com leite em pó desnatado diluído a 5% por 15 minutos.

Utilizou-se os anticorpos anti-CD79a diluição 1:200 (Clone HM47 – Camundongo; Invitrogen®), anti-CD3 diluição 1:100 (Clone CD3-12 – Camundomgo; Bio-Rad®) e anti-Iba1 1:1000 (Policlonal – Coelho; Invitrogen®). Os anticorpos primários foram incubados em câmara úmida a 37°C por 30 minutos. Utilizou-se como sistema de detecção o EnVision FLEX+ - Dako®, com 30 minutos de incubação do polímero em câmara úmida a 37°C. A reação foi revelada com cromógeno Diaminobenzidina (DAB- Dako®) a uma diluição de 1 microlitro do cromógeno para 50 microlitros de Substrate Buffer (Dako®) por 5 minutos em cada lâmina. Posteriormente as lâminas foram coradas em hematoxilina de Harris por 20 segundos, desidratadas em banhos sucessivos de álcool, xilol e montadas com lamínula para análise. Um linfonodo de cada espécie foi utilizado como controle positivo e negativo.

As lâminas foram examinadas em microscópio óptico (Nikon Eclipse E200) pelo mesmo profissional experiente. As fotomicrografias foram obtidas por um microscópio Zeiss Axioscope A1 e capturadas com câmera Zeiss Axiocam IC5 de 5 megapixels, por meio do software Zen Blue Lite.

Para contagem das células marcadas de forma intensa pelos anticorpos primários CD3, CD79a e Iba1, foi feita contagem manual no programa Mosaic 3, modo Manual Class (função *counting*), a partir de fotos de 5 campos/lâmina em área adiposa e translúcida em objetiva de 40 capturadas pela câmera Michrome 6.

3.7.1 Padronização do protocolo para análise imunohistoquímica

Inicialmente, foram submetidos a teste uma lâmina de amostra omental de cada espécie e outra de amostra de linfonodo (controle) para cada espécie. Todas foram submetidas ao protocolo utilizando-se anticorpos para CD79a e Iba1. A seguir, foi realizado para cada animal: 1 lâmina sem utilização de anticorpo primário (apenas com polímero); 1 lâmina com anticorpo primário e polímero completo (com *link* proteína amplificadora da reação) e 1 lâmina com anticorpo primário (sem a proteína *link*).

Na análise destas lâminas percebemos que houve maior reação (marcação) com o protocolo sem a proteína amplificadora da reação, sendo este escolhido para as demais amostras. Então, as lâminas foram incubadas com os anticorpos primários CD3, CD79a e Iba1 por 2 horas em câmara úmida à temperatura de 37°C. Foi utilizado como sistema de detecção o EnVision+ Dual Link System-HRP (Dako®) e a revelação da reação realizada com o cromógeno diaminobenzidina (DAB) diluído em Substrate Buffer (Dako®). As lâminas foram coradas com hematoxilina de Harris por 5 minutos.

3.8 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada pelo Software SigmaPlot (versão 11). As variáveis analisadas na imunohistoquímica (marcação de células/5campos) foram comparadas entre as espécies pelo teste de MannWhitney. Para detecção de diferenças estatísticas significantes foi considerado $p<0,05$ (5%). Em relação aos dados da microscopia de luz e eletrônica, foi realizada análise descritiva das estruturas observadas por campo.

4 RESULTADOS

4.1 Cirurgia

Ao todo, 30 animais atenderam aos critérios de seleção, sendo 15 cadelas e 15 gatas. Entretanto, durante a cirurgia verificou-se em uma cadelha piometra fechada e em outra aderências à cavidade abdominal e, portanto, foram excluídas do estudo.

Em relação às cadelas (60% dos pacientes), a maioria era sem raça definida (SRD); entre as demais foram operadas cadelas da raça Dachshund, Blue Heller, Pinscher (7,7% de cada raça) e duas da raça American Pit Bull (15%). Quanto à idade, 60% dos animais eram adultos, com idade variando entre 2 e 5 anos, com média de 2 anos e três meses (ANEXO B).

Quanto às gatas, elas não tinham raça definida, e são, portanto, denominadas como Pelo Curto Brasileiro (PCB). Em relação à idade, 53,3% das pacientes eram filhotes (≤ 1 ano) e as demais adultas (46,7%), com idade entre 2 e 4 anos, com média de 1 ano e 10 meses (ANEXO C).

Durante a execução das cirurgias nessas espécies não houve intercorrências no transanestésico, nem óbito de qualquer animal. Ainda, uma gata estava gestante em fase inicial (gata 15), e o prosseguimento da cirurgia foi possível com autorização do responsável pelo animal. Como estas pacientes estavam bem clinicamente, sem alterações significativas nos exames clínico e laboratoriais, foram encaminhadas para a cirurgia, sendo diagnosticadas apenas no momento transcirúrgico. A paciente felina encontrava-se estável na anestesia, sem sinais de peritonite e, portanto, foi submetida à OVH e coleta de fragmento omental.

4.2 Análise Macroscópica

No omento das espécies estudadas, duas regiões puderam ser distinguidas: a região translúcida e a região rica em tecido adiposo. Em nenhum omento, a olho nu, visualizaram-se as estruturas denominadas OALT (tecido linfoide associado ao omento) ou MS.

4.3 Histologia das Amostras Omentais

4.3.1 Histologia das amostras omentais de cadelas

No omento das cadelas foi perceptível duas áreas distintas permeadas por vasos sanguíneos e linfáticos: uma área translúcida e outra rica em tecido adiposo distribuídas por toda extensão das amostras coletadas.

Nas áreas translúcidas observou-se composição por duas folhas de células mesoteliais opostas, cada uma composta por uma única camada de células mesoteliais contínuas, sobrepostas à camada submesotelial constituída principalmente por fibrilas difusas de colágeno, células dispersas semelhantes a fibroblastos e alguns capilares (Figura 18). As células mesoteliais eram achatadas e alongadas e com núcleo alongado e fino.

Grandes agregados de células linfoides (OALT - *Mylk spots*) não foram verificados na área translúcida omental de cadelas na histopatologia. Notava-se um maior número de células inflamatórias com distribuição perivasicular, na área translúcida e na área de transição entre parte translúcida e adiposa. Nos locais onde havia grupos de células inflamatórias as células mesoteliais e membrana basal aparentemente eram contínuas.

Na análise das lâminas foi possível perceber que os vasos sanguíneos são facilmente detectáveis como é possível observar também nas Figuras 18 e 19.

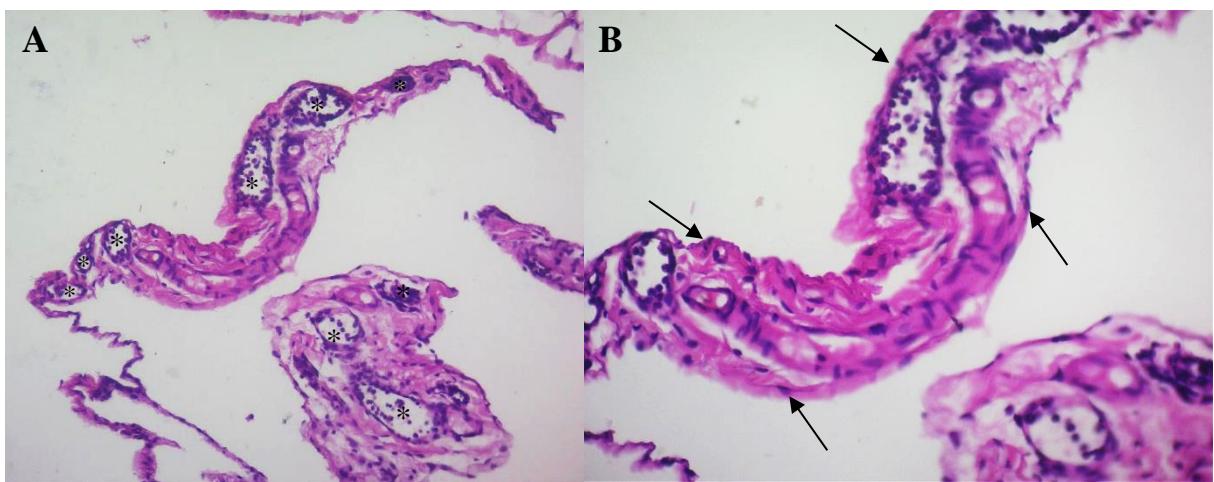


Figura 18. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área translúcida com vasos sanguíneos submesoteliais e monocamada de células mesoteliais recobrindo a superfície (H&E). **A.** Note os vasos sanguíneos (asterisco) dispersos na camada submesotelial. Obj. 10. **B.** Monocamada de células mesoteliais com núcleos achatados (setas). Obj. 20.

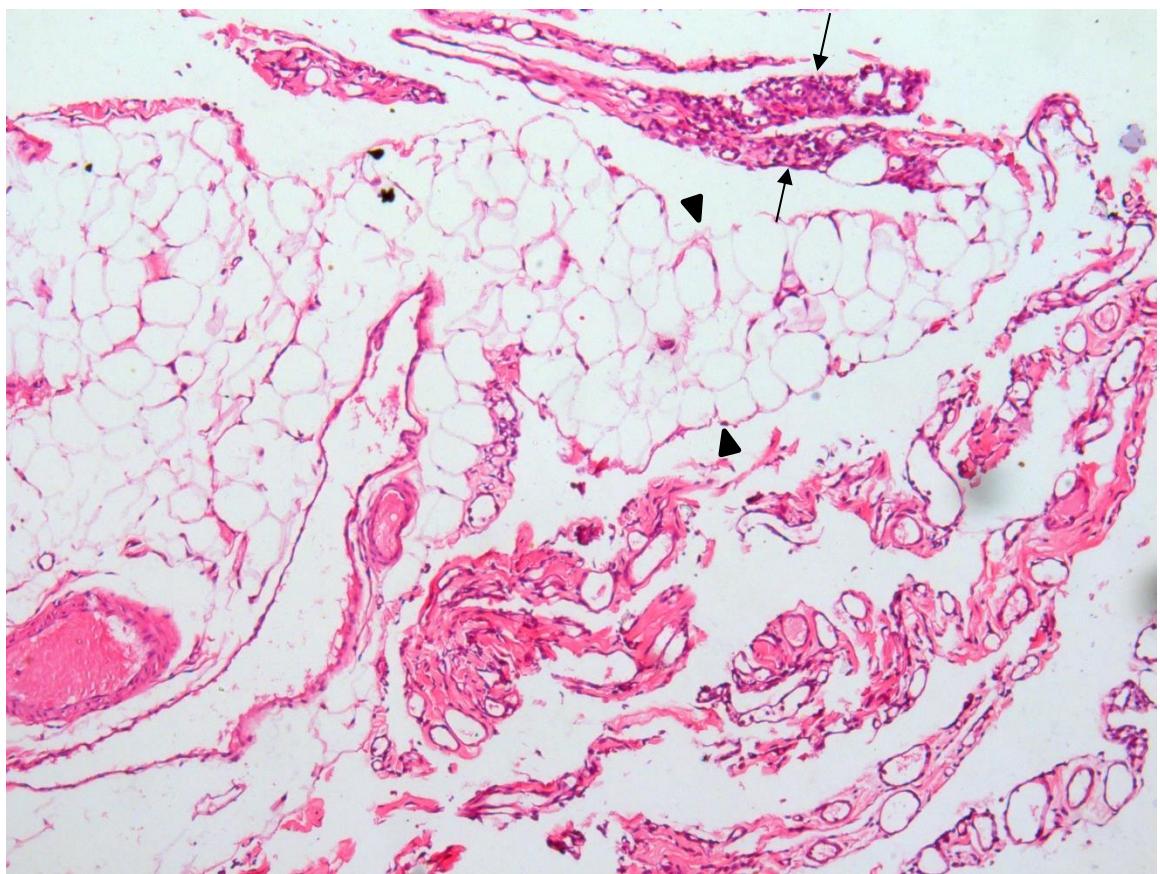


Figura 19. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área translúcida e infiltrado inflamatório misto (setas) próximo de vasos da camada submesotelial. Note também a região adiposa, mais espessa (cabeças de seta). Obj. 10 (H&E).

Foi possível observar infiltrado inflamatório misto com mais de 50 células de defesa em

4 pacientes. Nestes animais, entre as células inflamatórias havia um predomínio de macrófagos e neutrófilos, entretanto, linfócitos e plasmócitos também foram visualizados (Figuras 20 e 21). Nos demais animais, foram encontrados apenas poucos macrófagos e neutrófilos junto aos vasos sanguíneos (perivasicular) assim como percebido nos dados específicos de cada lâmina no Quadro 3.

Quadro 3. Descrição microscópica de células inflamatórias de amostras de fragmento omental de cadelas submetidas à ovariohisterectomia eletiva conforme a área estudada.

Cadelas (nº de registro da lâmina histológica)	Região translúcida	Região adiposa
38704	Raros neutrófilos e macrófagos junto aos vasos.	-
38710	Raros neutrófilos e macrófagos junto aos vasos.	Raros neutrófilos junto aos vasos.
39062	Raros neutrófilos e macrófagos junto aos vasos.	Raros neutrófilos junto aos vasos.
39087	Raros neutrófilos e macrófagos junto aos vasos.	Raros neutrófilos junto aos vasos.
39128	Agregados de mais de 50 células inflamatórias junto aos vasos.	Maior quantidade de colágeno em região submesotelial.
39194	Raros neutrófilos e macrófagos junto aos vasos.	-
39195	Raros neutrófilos e macrófagos junto aos vasos.	Discreta área de fibrose submesotelial.
39288	Agregados de mais de 50 células inflamatórias em área de transição*	*
39289	Raros neutrófilos e macrófagos junto aos vasos.	-
39430	Raros neutrófilos e macrófagos junto aos vasos.	Raros neutrófilos junto aos vasos.
39431	Agregados de mais de 50 células inflamatórias junto aos vasos.	Raros neutrófilos junto aos vasos.
39505	Raros neutrófilos e macrófagos junto aos vasos.	Raros neutrófilos junto aos vasos.
39506	Agregados de mais de 50 células inflamatórias junto aos vasos.	Raros neutrófilos junto aos vasos.

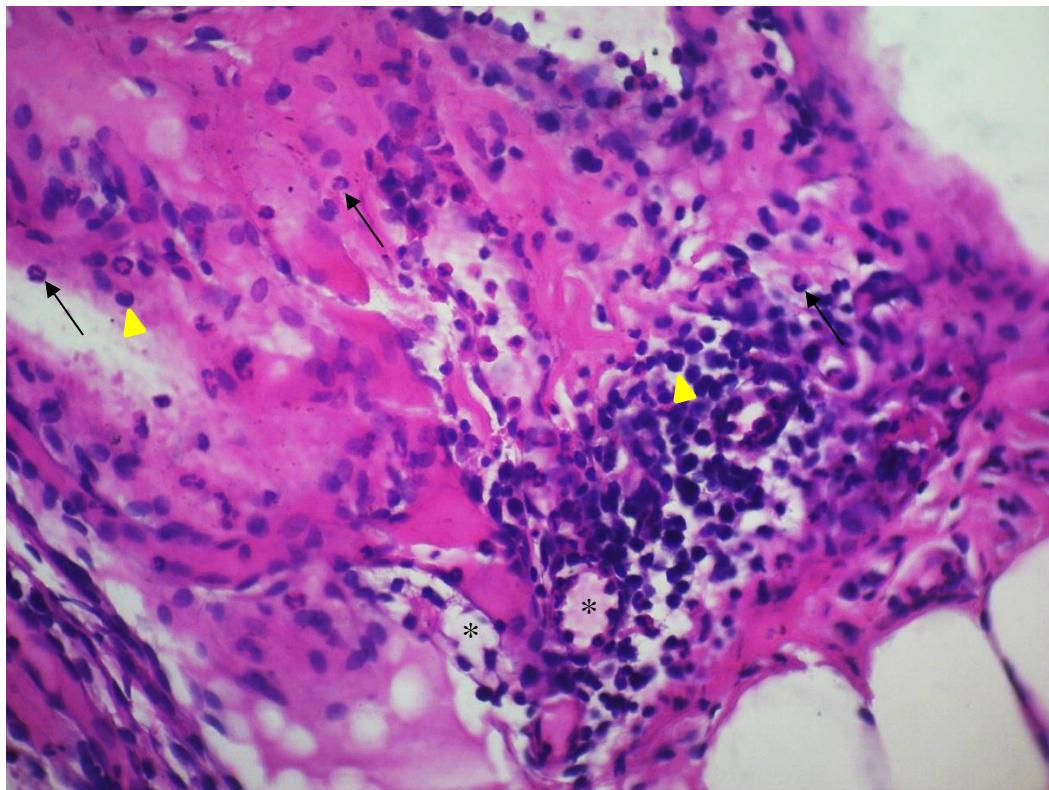


Figura 20. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando infiltrado inflamatório misto ao redor de vasos (asterisco) de área translúcida (transição para adiposa), além de fibrose. Obj. 40 (H&E). Note a presença de neutrófilos (seta preta) e linfócitos (cabeça de seta amarela) e fibras colágenas.

A continuidade da camada mesotelial foi de difícil identificação em alguns pacientes, uma vez que o tecido omental é frágil, principalmente na área translúcida. A paciente número 11 (ANEXO B) também apresentou fibrose submesotelial (Figura 21). Esta paciente não apresentava alterações macroscópicas no omento como hiperemia ou quaisquer sinais de peritonite.

A região rica em adipócitos era revestida também por células mesoteliais contínuas, porém era mais espessa que a região translúcida, devido ao grande número de adipócitos. As células adiposas apresentavam volumoso citoplasma pálido, por vezes com vacúolos evidentes. Os núcleos dos adipócitos eram pequenos ou imperceptíveis e deslocados para a periferia pelo acúmulo de gordura (Figura 22). A camada submesotelial era constituída por numerosos adipócitos, vasos sanguíneos e tecido conjuntivo similar, porém mais escasso que o observado na região translúcida. As células mesoteliais eram achatadas e alongadas e com núcleo alongado e fino (Figuras 22 e 23).

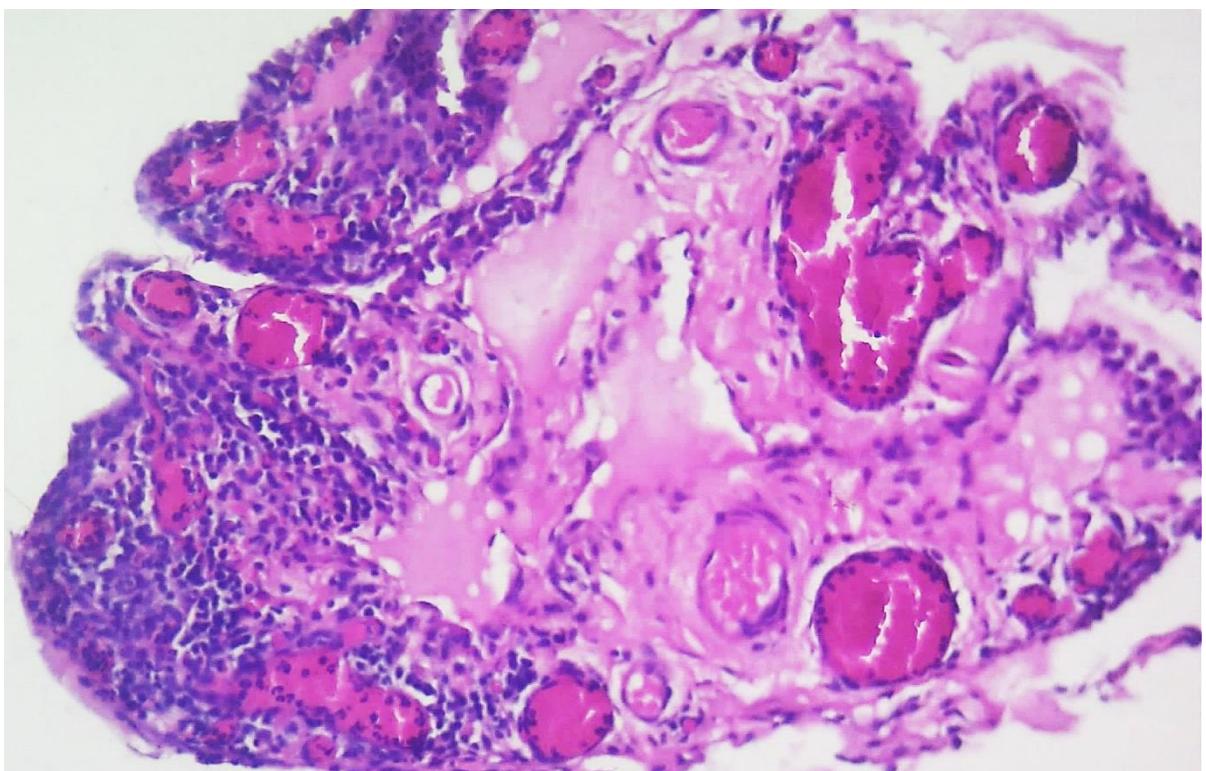


Figura 21. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área translúcida com infiltrado inflamatório misto ao redor de vasos sanguíneos da região submesoelial. Obj. 20 (H&E). Note a moderada quantidade de tecido conjuntivo (fibrose).

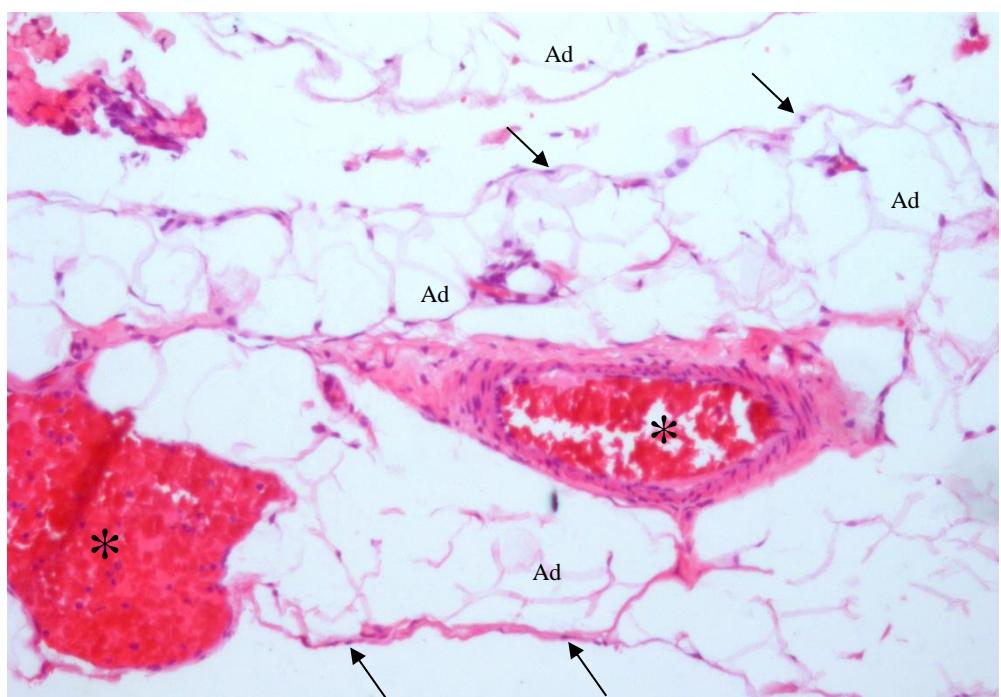


Figura 22. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área rica em tecido adiposo com vasos sanguíneos submesoteliais (asterisco) e monocamada de células mesoteliais recobrindo a superfície com evidência do núcleo alongado e basofílico (seta). Note os adipócitos (Ad) com seu núcleo deslocado para a periferia da célula. Obj. 20 (H&E).

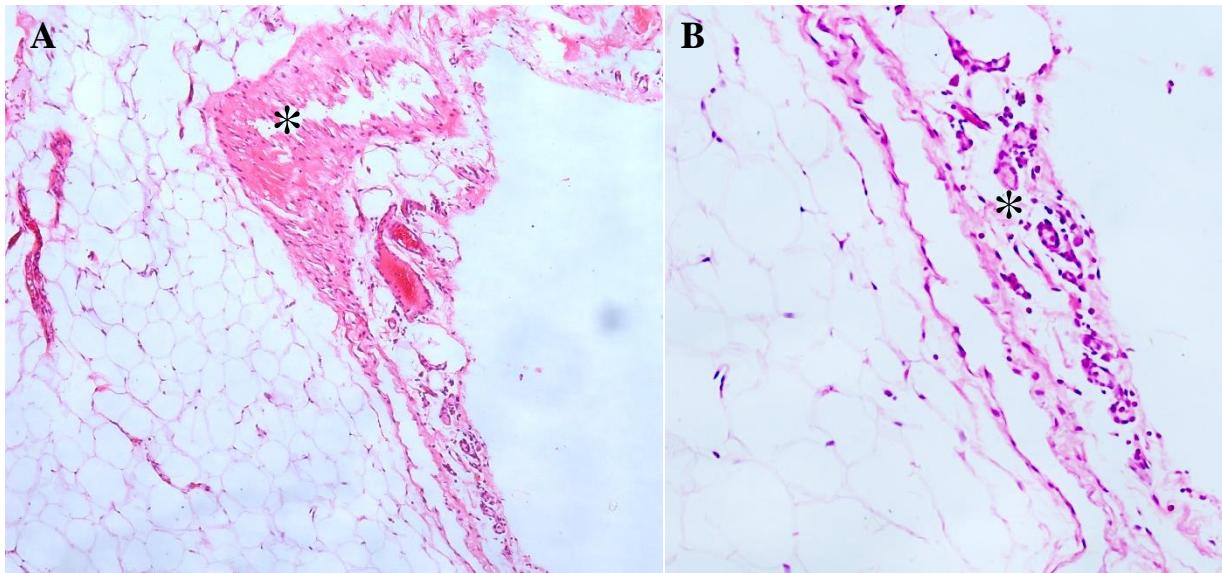


Figura 23. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área rica em tecido adiposo com vasos submesoteliais e monocamada de células mesoteliais recobrindo a superfície (H&E). **A.** Note a presença de um vaso sanguíneo em destaque (asterisco). Obj. 20. **B.** Maior aumento. Nota-se a junção da região translúcida (asterisco) com a área rica em gordura. Obj. 40.

Em dois animais havia moderada fibrose da camada submesotelial da região rica em gordura (Figura 24).

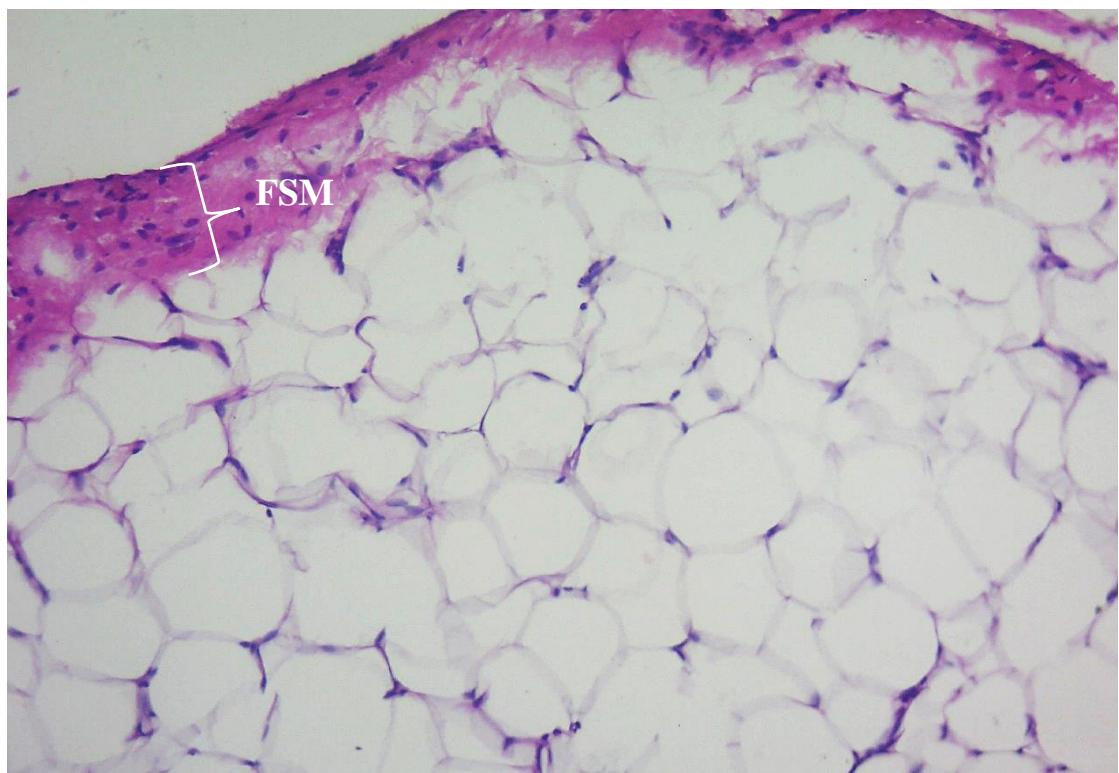


Figura 24. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área rica em tecido adiposo com fibrose submesotelial - FSM (colchetes). Obj. 20 (H&E).

A área rica em tecido adiposo apresentava septos de tecido conjuntivo que foram facilmente perceptíveis na Cadeia 4 (Figura 25).

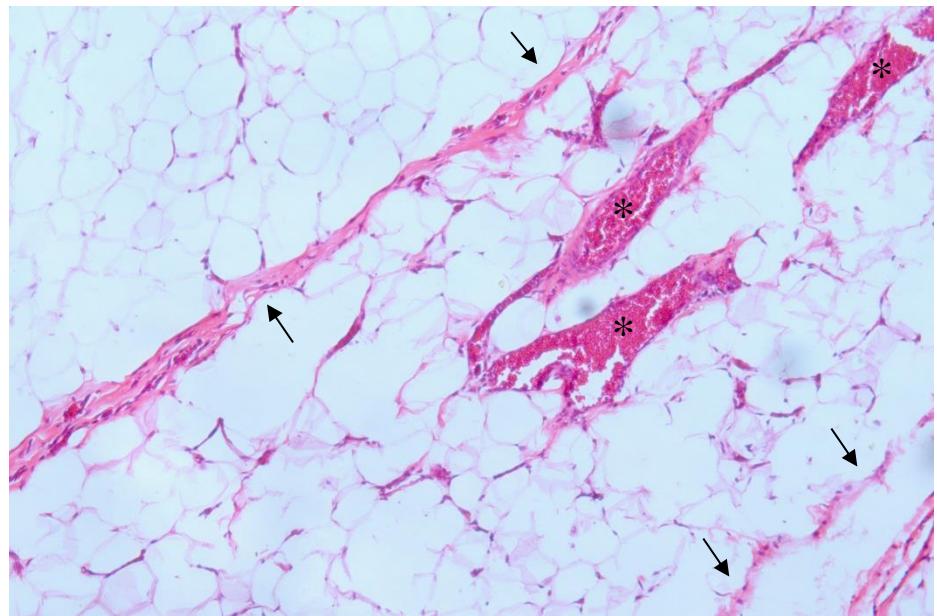


Figura 25. Fotomicrografia de amostra de omento de cadeia evidenciando área rica em tecido adiposo e com septos (seta) de tecido conjuntivo e vasos sanguíneos (asterisco). Obj. 20 (H&E).

Células inflamatórias eram raras na região rica em adipócitos. Em geral, foi encontrado raros neutrófilos junto aos vasos sanguíneos (Quadro 3) como observado nas figuras 26 e 27. Nos locais onde havia grupos de células inflamatórias as células mesoteliais e membrana basal aparentemente eram contínuas. Não foram encontradas na área adiposa do omento das cadelas analisadas grandes agregados de células de defesa.

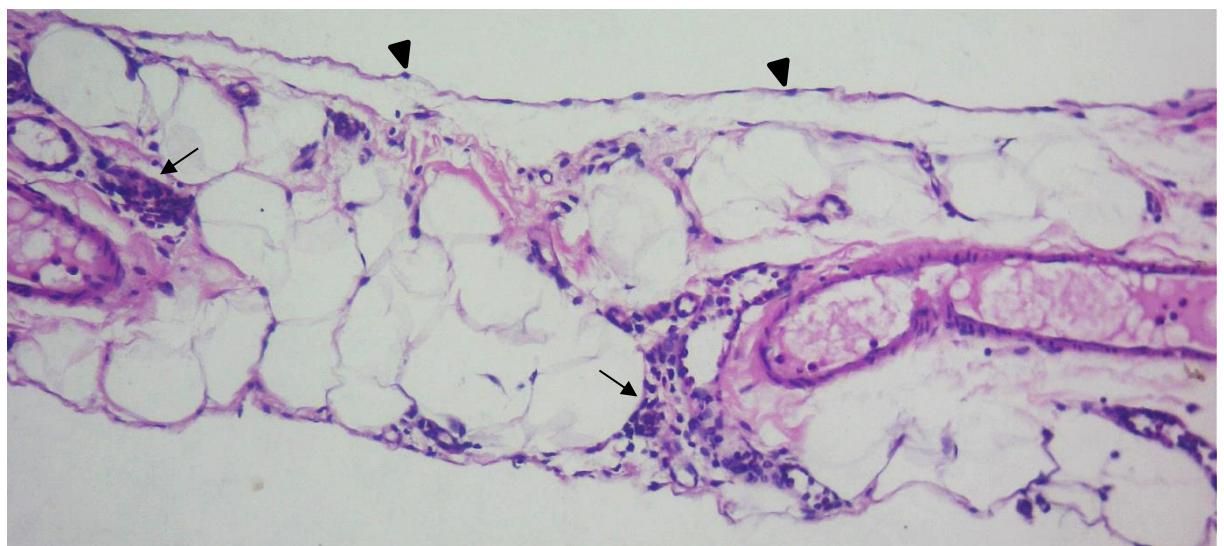


Figura 26. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadeia evidenciando área rica em tecido adiposo com infiltrado inflamatório misto (seta) junto aos vasos sanguíneos submesoteliais. Obj. 20 (H&E). Note a camada de células mesoteliais que recobrem a superfície omental com os núcleos em evidência (cabeça de seta).

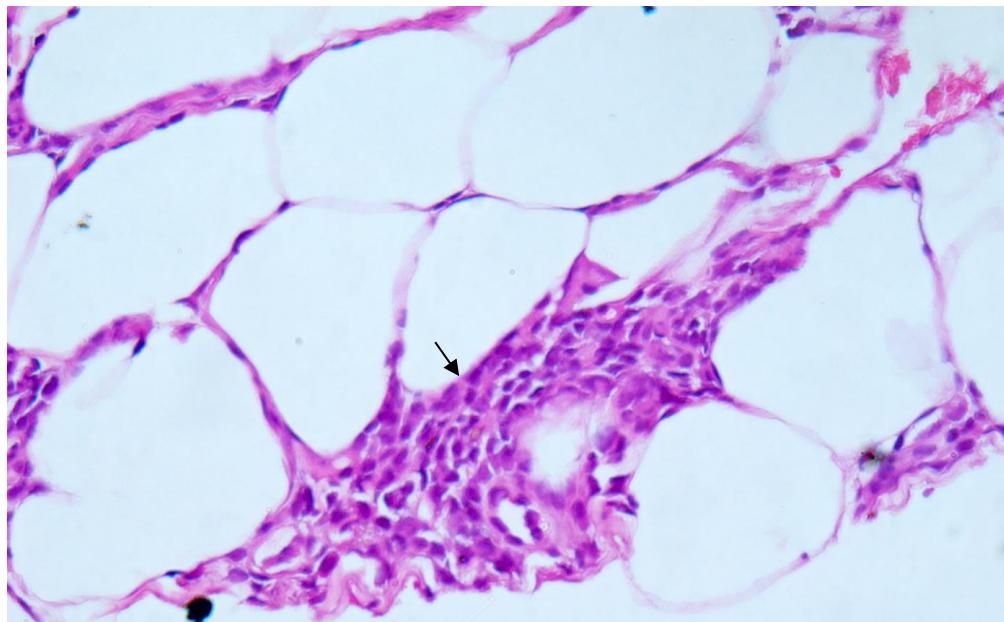


Figura 27. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadelas evidenciando área rica em tecido adiposo com infiltrado inflamatório misto (seta) ao redor de um vaso sanguíneo. Obj. 40 (H&E).

4.3.2 Histologia das amostras omentais de gatas

No omento das gatas, assim como no das cadelas, foi perceptível duas áreas distintas permeadas por vasos sanguíneos e linfáticos, uma área translúcida e outra rica em tecido adiposo distribuídas por toda extensão das amostras coletadas.

A área translúcida do omento das gatas também é composta por duas folhas contínuas de células mesoteliais opostas, sobrepostas à camada submesotelial, levemente mais fina que nas cadelas, constituída principalmente por fibrilas difusas de colágeno, células dispersas semelhantes a fibroblastos e alguns capilares (Figura 28).

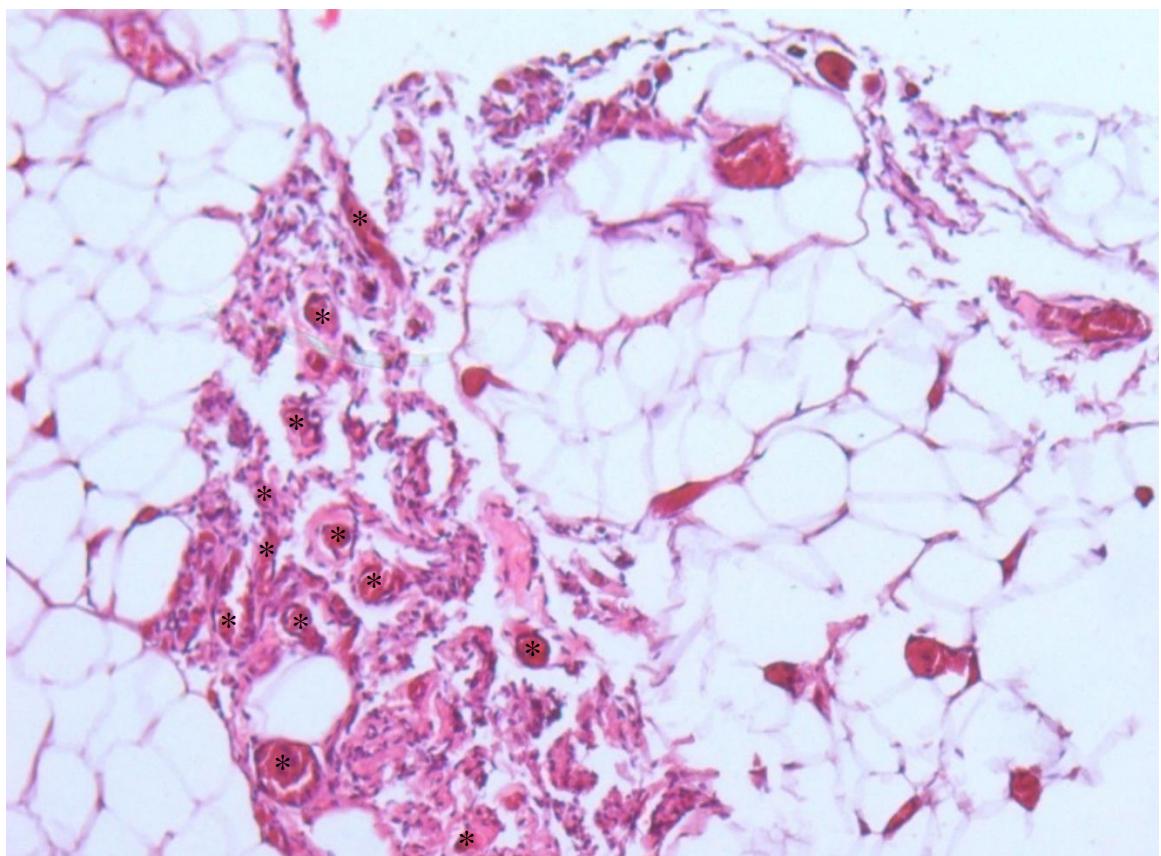


Figura 28. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de gata com evidência da área translúcida (área de transição) e área rica em tecido adiposo com vasos sanguíneos entremeados. Presença de inúmeros capilares (asterisco). Obj. 20.

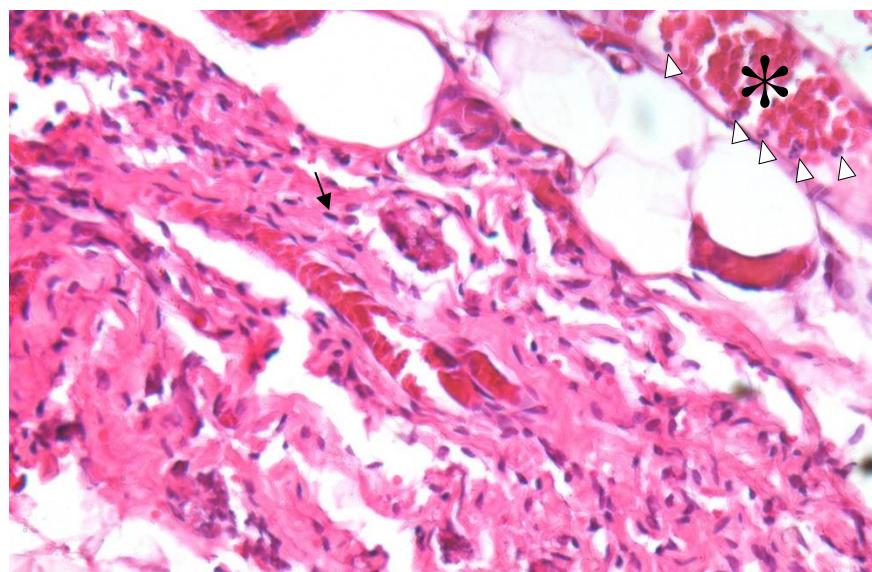


Figura 29. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de gata com área translúcida com vasos submesoteliais e maior número de fibras colágenas e tecido conjuntivo. Obj. 40. Note um vaso sanguíneo (asterisco) e cinco neutrófilos em seu interior (cabeça de seta).

Na área translúcida das gatas havia um menor número de células inflamatórias que nas cadelas. Ainda, não foram detectados grandes agregados de células de defesa, apenas raros

neutrófilos e macrófagos localizados, em geral, junto aos vasos. Os dados específicos de cada animal encontram-se no Quadro 4.

Quadro 4. Descrição microscópica de células inflamatórias de amostras de fragmento omental de gatas submetidas à ovariohisterectomia eletiva conforme a área estudada.

Gatas (nº de registro da lâmina histológica)	Região translúcida	Região adiposa
38951	Raros neutrófilos e macrófagos junto aos vasos.	Raros neutrófilos junto aos vasos.
38952	Raros neutrófilos e macrófagos junto aos vasos.	Raros neutrófilos junto aos vasos.
38953	Raros neutrófilos e macrófagos junto aos vasos.	Raros neutrófilos junto aos vasos. Hemorragia focal.
39088	Raros neutrófilos e macrófagos junto aos vasos.	Raros neutrófilos junto aos vasos.
39117	Raros neutrófilos e macrófagos junto aos vasos.	Raros neutrófilos junto aos vasos.
39129	Agregados de até 5 neutrófilos e macrófagos junto aos vasos.	-
39130	-	-
39217	Raros neutrófilos e macrófagos junto aos vasos.	-
39284	Raros neutrófilos e macrófagos junto aos vasos.	-
39285	Agregados de até 5 neutrófilos e macrófagos junto aos vasos.	Raros neutrófilos junto aos vasos.
39286	Raros neutrófilos e macrófagos junto aos vasos.	Raros neutrófilos junto aos vasos.
39287	Raros neutrófilos e macrófagos junto aos vasos.	Raros neutrófilos junto aos vasos.
39507	Agregados de até 5 neutrófilos e macrófagos junto aos vasos.	Raros neutrófilos junto aos vasos.
39508	-	-

As áreas ricas em tecido adiposo foram de fácil observação, sendo possível notar o revestimento por células mesoteliais contínuas (Figura 30) e escassas fibrilas de colágeno em região submesotelial. Os adipócitos caracterizavam-se por volumoso citoplasma pálido e núcleo, muitas vezes imperceptível, ou deslocado para a periferia (Figura 30). A camada submesotelial constitui-se por numerosos adipócitos, vasos sanguíneos e tecido conjuntivo similar, porém mais escasso que o observado na região translúcida (Figura 31).

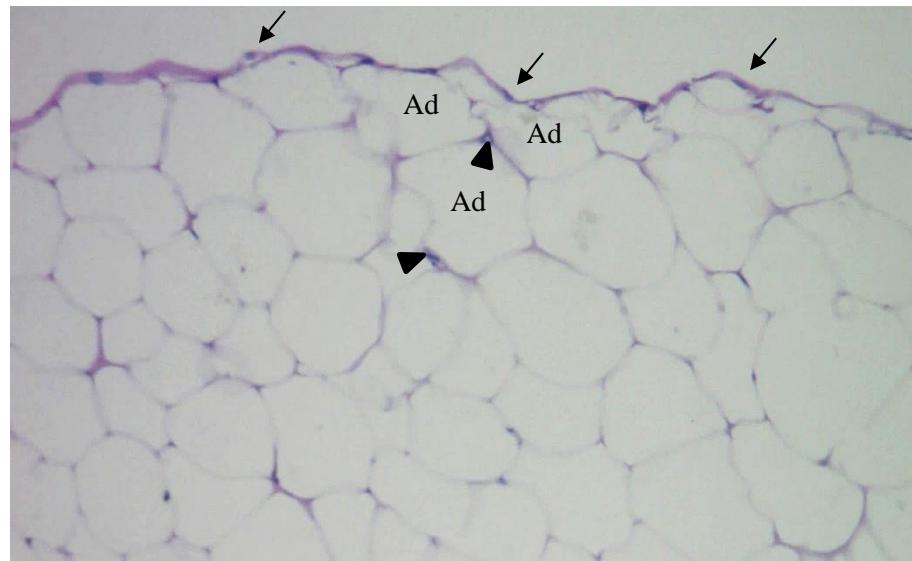


Figura 30. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de gata evidenciando área rica em tecido adiposo. Obj. 20. (H&E). Observe a monocamada de células mesoteliais que recobre a superfície com evidência do núcleo basofílico (seta). Note os adipócitos (Ad) com seus núcleos periféricos (cabeça de seta) e volumoso citoplasma claro.

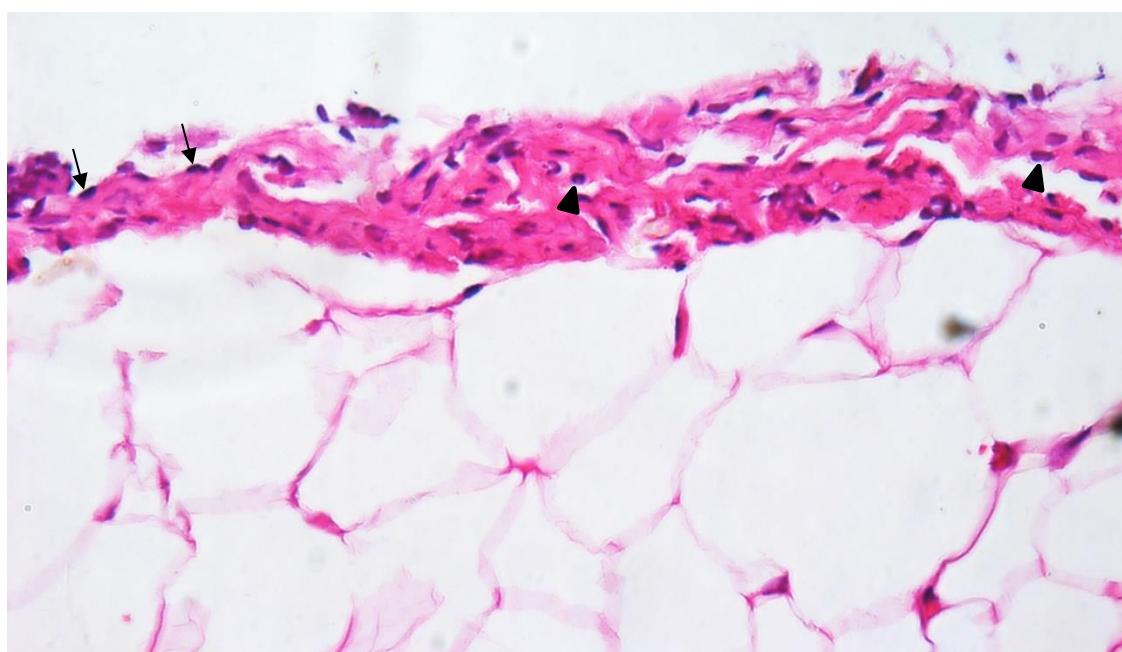


Figura 31. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de gata evidenciando área rica em tecido adiposo. Obj. 40 (H&E). Note a camada mesotelial (setas) e submesotelial com fibras colágenas e fibroblastos e raras células inflamatórias (cabeça de seta).

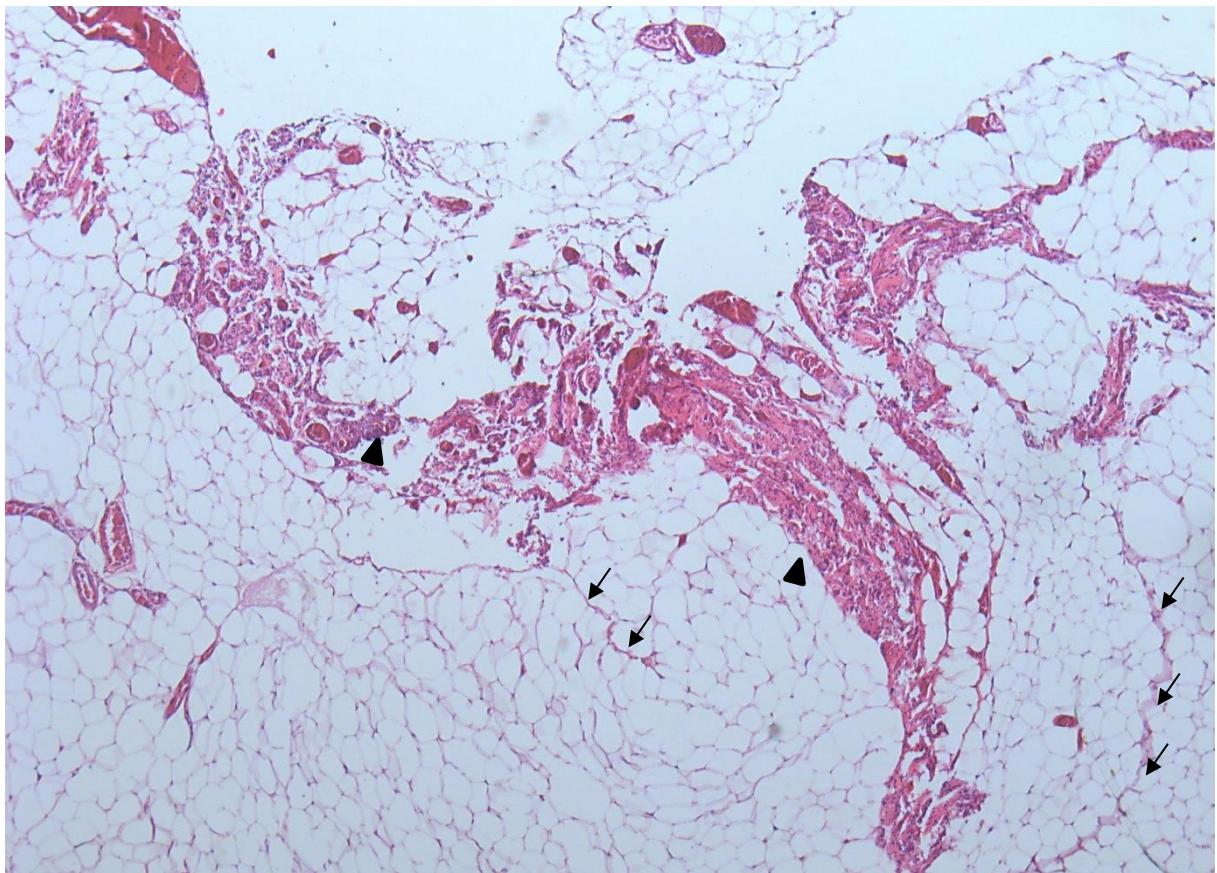


Figura 32. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de gata evidenciando área rica em tecido adiposo e infiltrado inflamatório misto (cabeça de seta) em área de transição para área translúcida. Note os septos que dividem a área adiposa (setas). Obj. 10 (H&E).

O infiltrado inflamatório era mais escasso que nas cadelas na região rica em adipócitos sendo observado, em geral, raros neutrófilos (Figuras 32 e 33) junto aos vasos sanguíneos como discriminado no Quadro 4. Manchas leitosas não foram encontradas na área adiposa (Figuras 32 e 33) do omento das gatas analisadas. Nos locais onde havia grupos de células inflamatórias as células mesoteliais e membrana basal aparentemente eram contínuas.

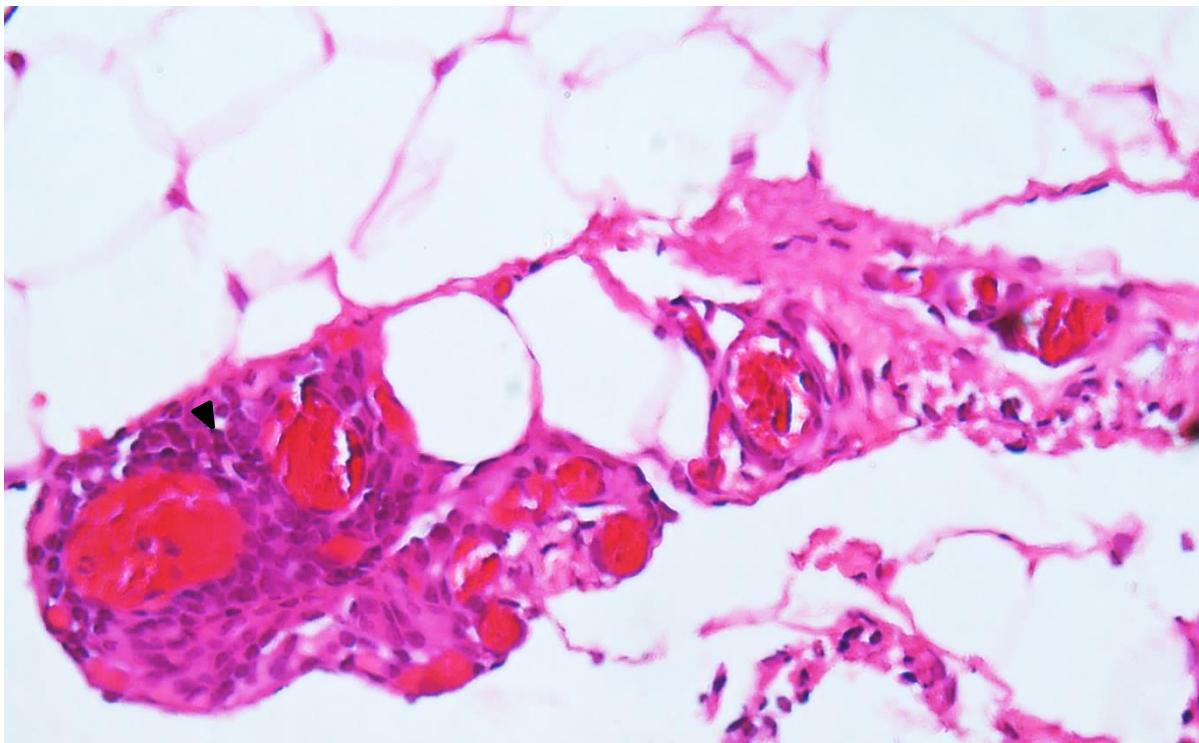


Figura 33. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de gata evidenciando margem de uma área rica em tecido adiposo com infiltrado inflamatório misto (cabeça de seta), fibras colágenas, fibroblastos e tecido conjuntivo entremeados aos vasos sanguíneos. Obj. 40 (H&E).

4.4 Imunohistoquímica

4.4.1 Imunohistoquímica das amostras de cadelas

Na análise imunohistoquímica de amostras omentais de 10 cadelas notamos um número escasso de células do sistema imune na maioria das amostras. Com o marcador CD79a (linfócito B) encontramos um número que variou entre 0-3 linfócitos B/5campos, apenas duas pacientes tiveram um número maior de células marcadas, em uma cadelas (nº reg. 39288) evidenciaram-se 146 linfócitos B/5campos (Figuras 34) e em outra (nº reg. 39431) 32 linfócitos B/5campos (Figura 35). Com o marcador CD3, somente uma paciente (nº reg. 39288) continha 33 linfócitos T (Figuras 36), as demais não apresentaram marcação. Com o marcador Iba1 (macrófago e célula dendrítica), quatro animais tiveram contagem entre 11 e 29 células/5 campos, sendo que a metade teve uma população de macrófagos e células dendríticas maior (Quadro 5), a saber: 94, 110 (Figura 37), 145, 497 (Figura 38) e 506 células/5 campos (Figuras 39 e 40). Por estatística descritiva, a mediana foi de 29 macrófagos e células dendríticas/5 campos marcados na área translúcida, excluindo os dois resultados considerados *outlier* (497 e 506 células).

Quadro 5. Número de células marcadas, localizadas na área translúcida, com os anticorpos primários CD3 (linfócito T- Bio-Rad®), CD79 (linfócito B - Invitrogen®) e Iba1 (células dendríticas e macrófagos - Invitrogen®) pela análise de imunohistoquímica de 10 amostras omentais de cadelas.

Nº Reg. da lâmina (cadelas)	Área translúcida (nº de células/5 campos)		
	CD79a	CD3	Iba1
38704	1	0	11
38710	0	0	NP
39062	1	0	13
39087	1	0	29
39194	3	0	110
39288	146	33	506
39430	2	0	20
39431	32	0	497
39506	0	0	145
39505	0	0	94

*Lâmina com defeito na preparação, não pesquisado (NP).

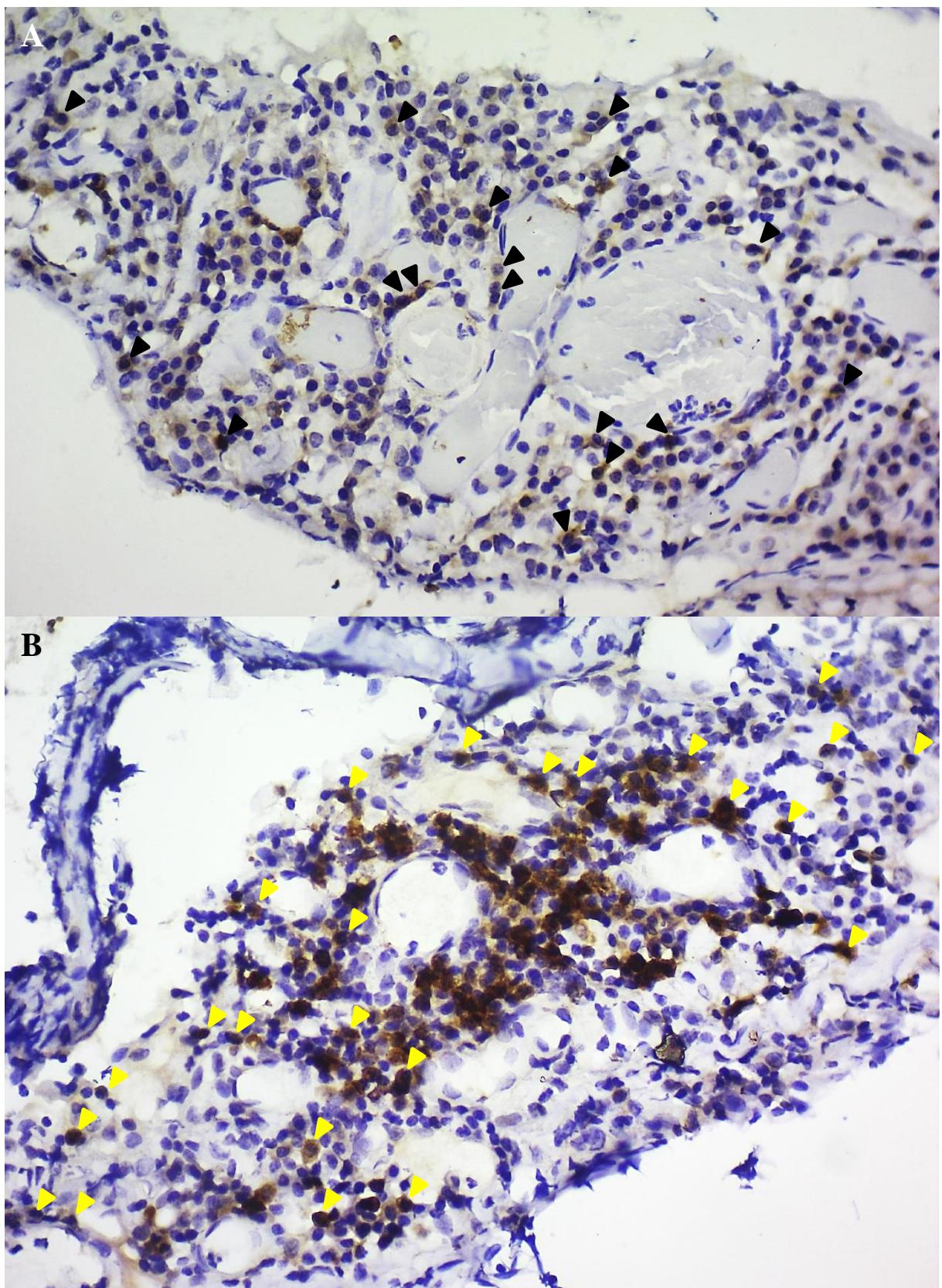


Figura 34. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área translúcida com linfócitos B em destaque pelo marcador CD79 com coloração amarronzada em evidência alguns sinalizados (cabeça de seta preta **A** e amarela **B**). Obj. 40.

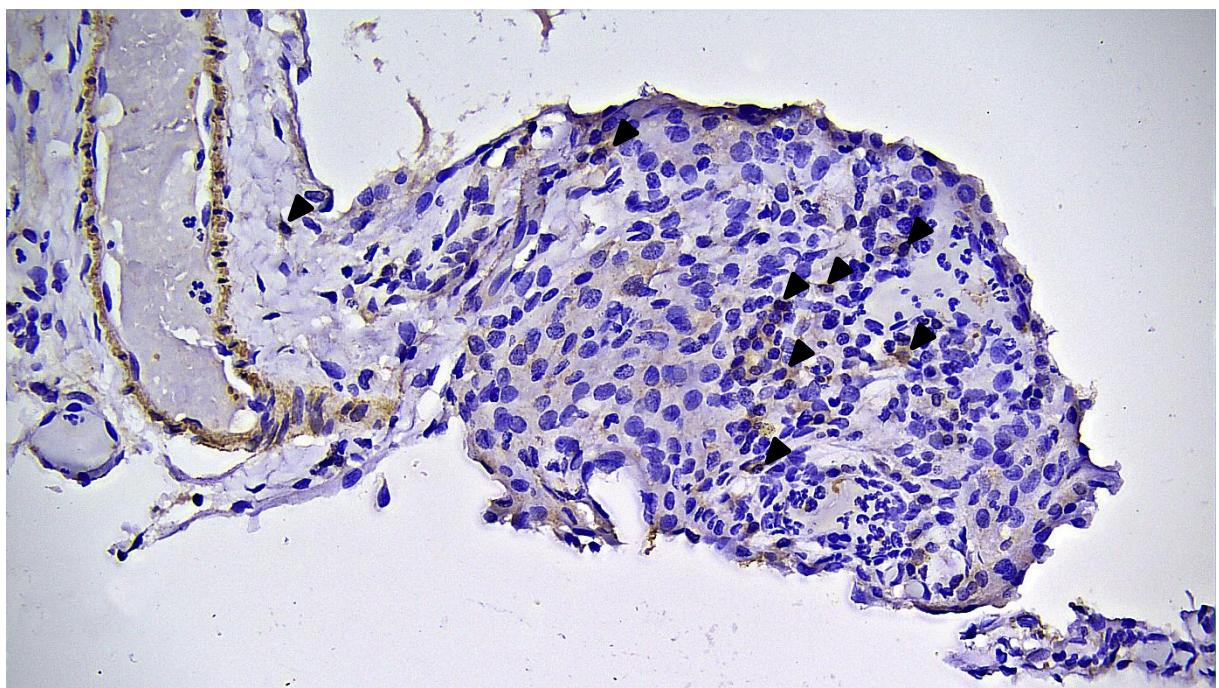


Figura 35. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área translúcida com linfócitos B em destaque pelo marcador CD79 com coloração amarronzada (cabeça de seta). Obj. 40.

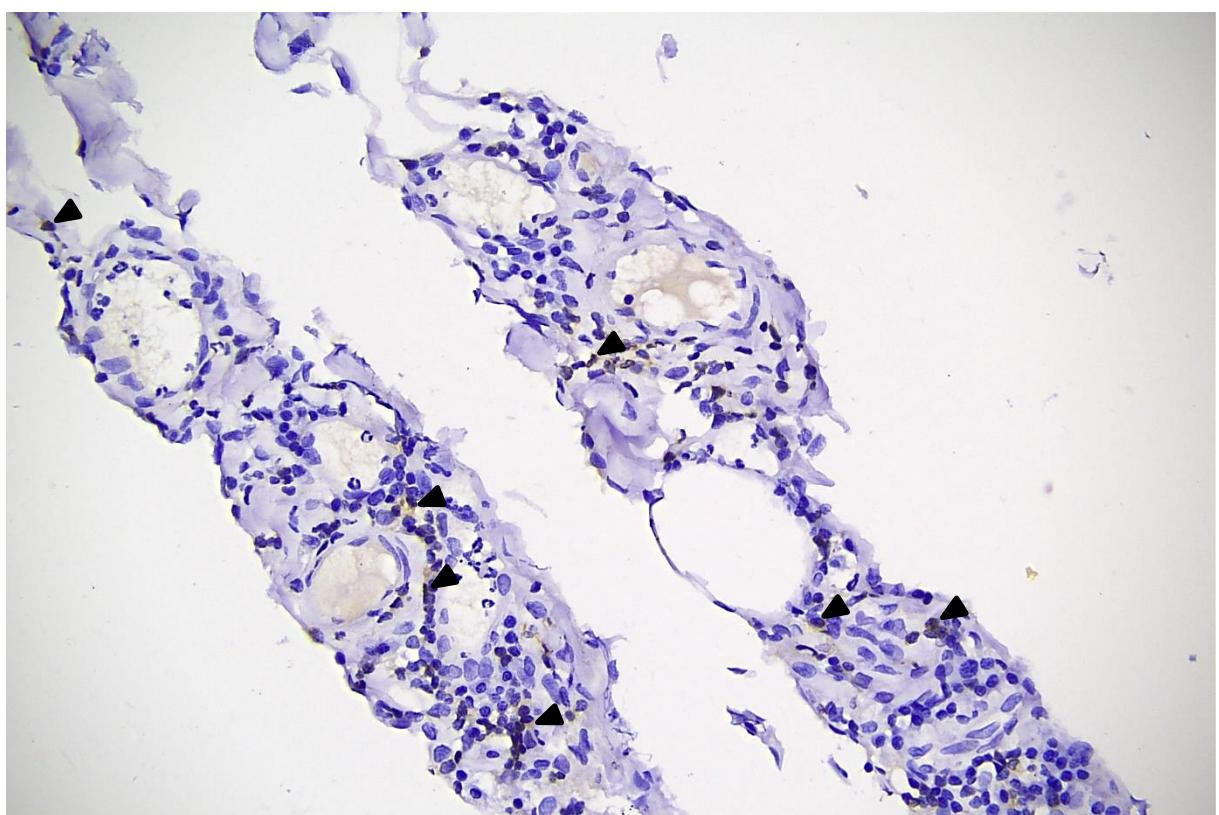


Figura 36. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área translúcida com linfócitos T em destaque pelo marcador CD3 com coloração amarronzada (cabeça de seta). Obj. 40.

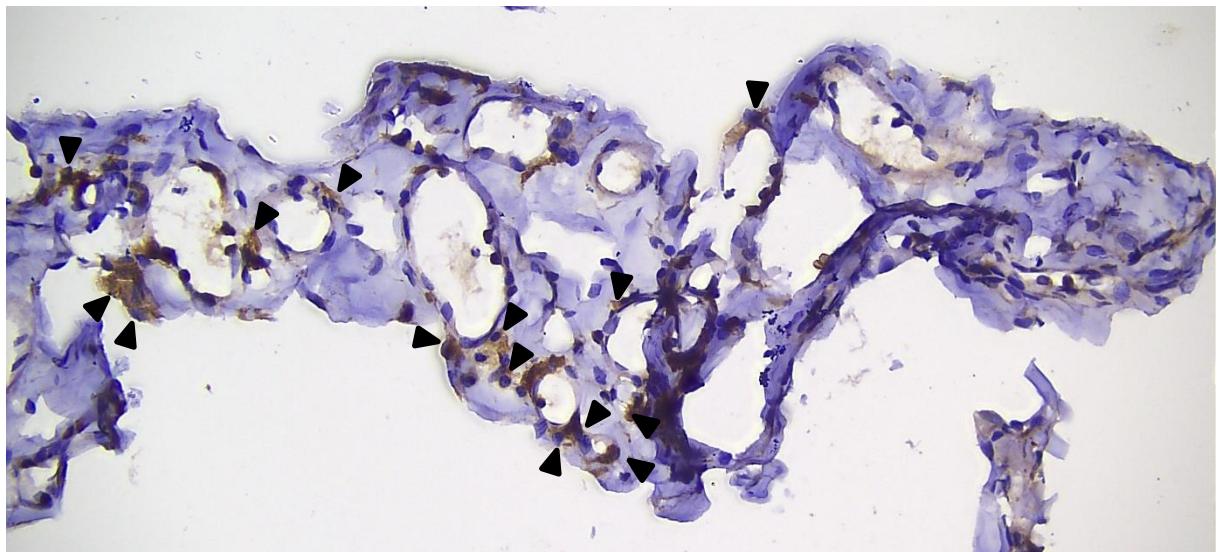


Figura 37. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área translúcida com macrófagos e células dendríticas em destaque pelo marcador Iba 1 com coloração amarronzada (cabeça de seta). Obj. 40.

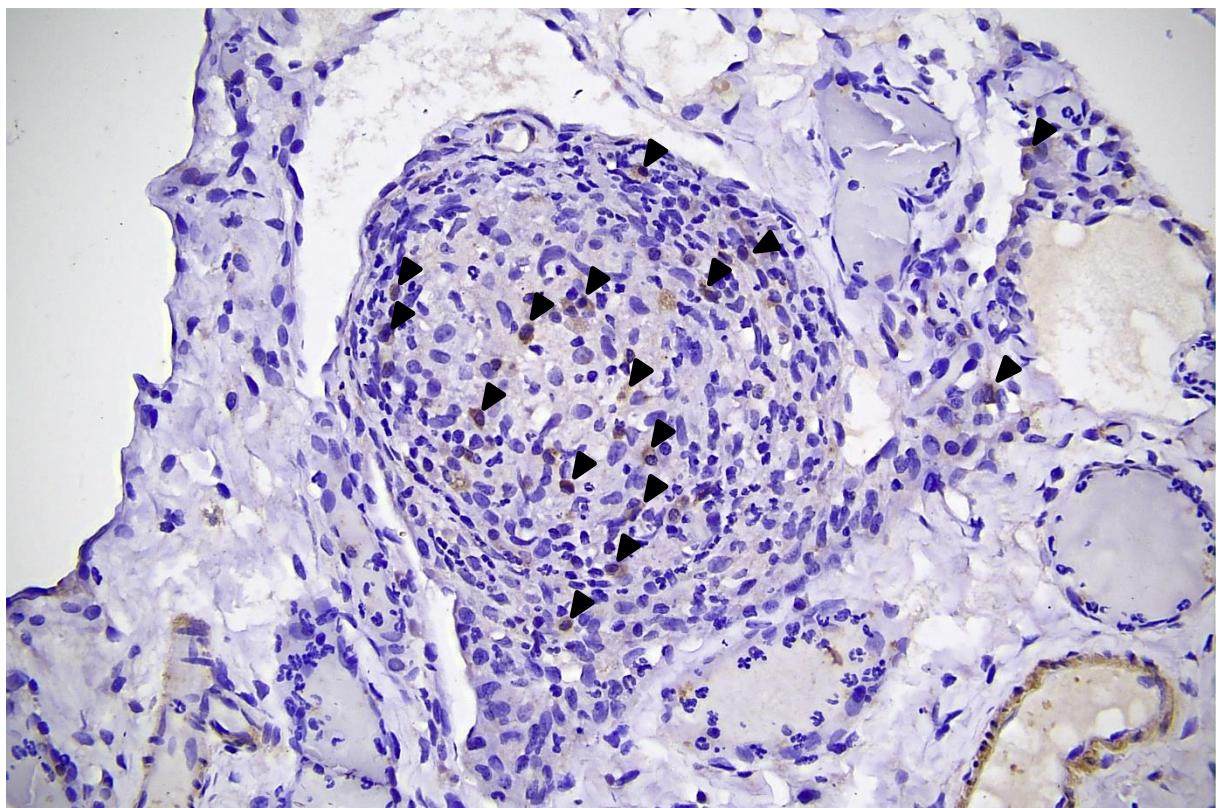


Figura 38. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área translúcida com macrófagos e células dendríticas em destaque pelo marcador Iba 1 com coloração amarronzada (cabeça de seta). Obj. 40.

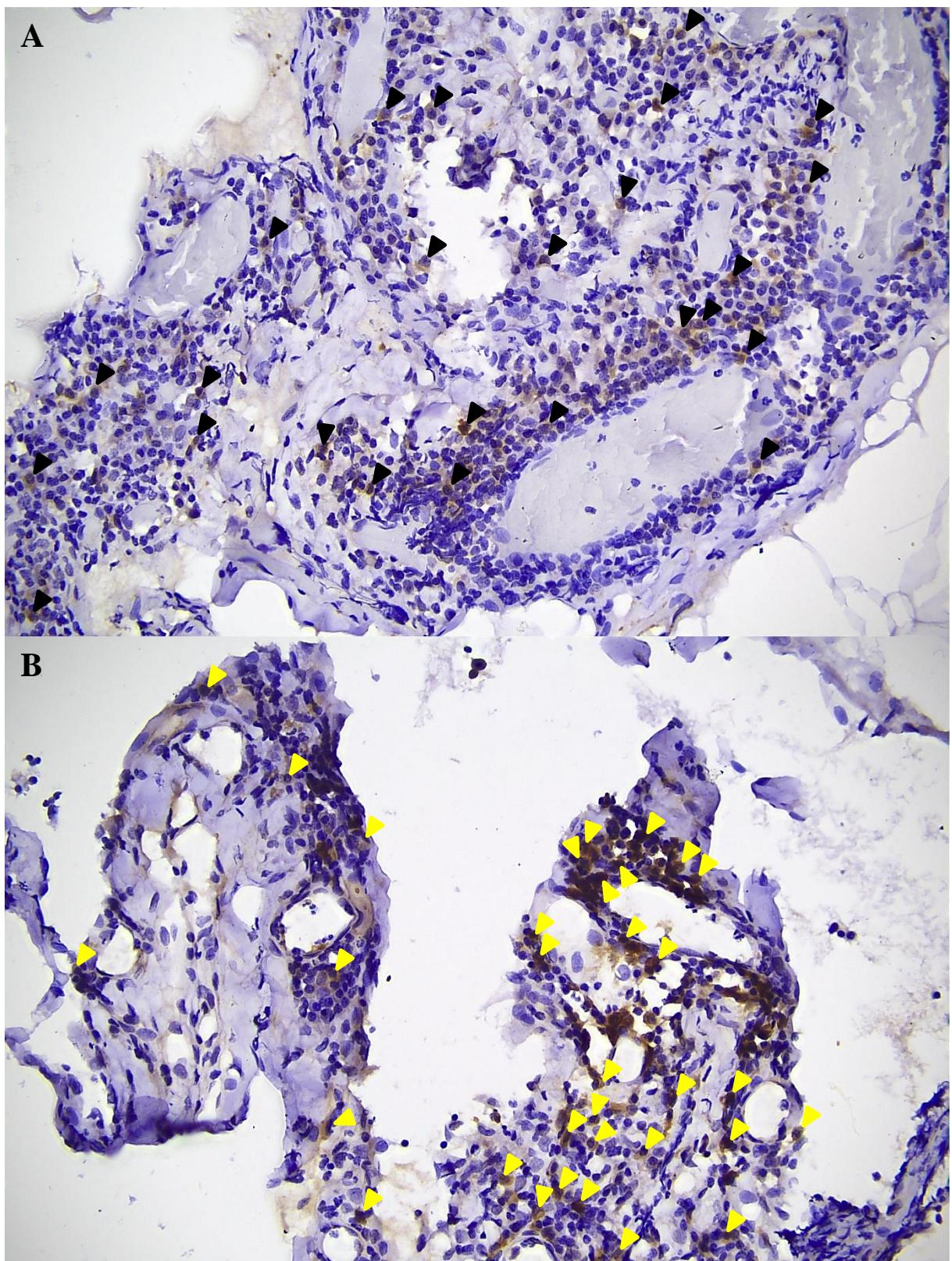


Figura 39. A e B. Fotomicrografias de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área translúcida com macrófagos e células dendríticas em destaque pelo marcador Iba 1 com coloração amarronzada (cabeça de seta preta em A e amarela em B). Obj. 40.

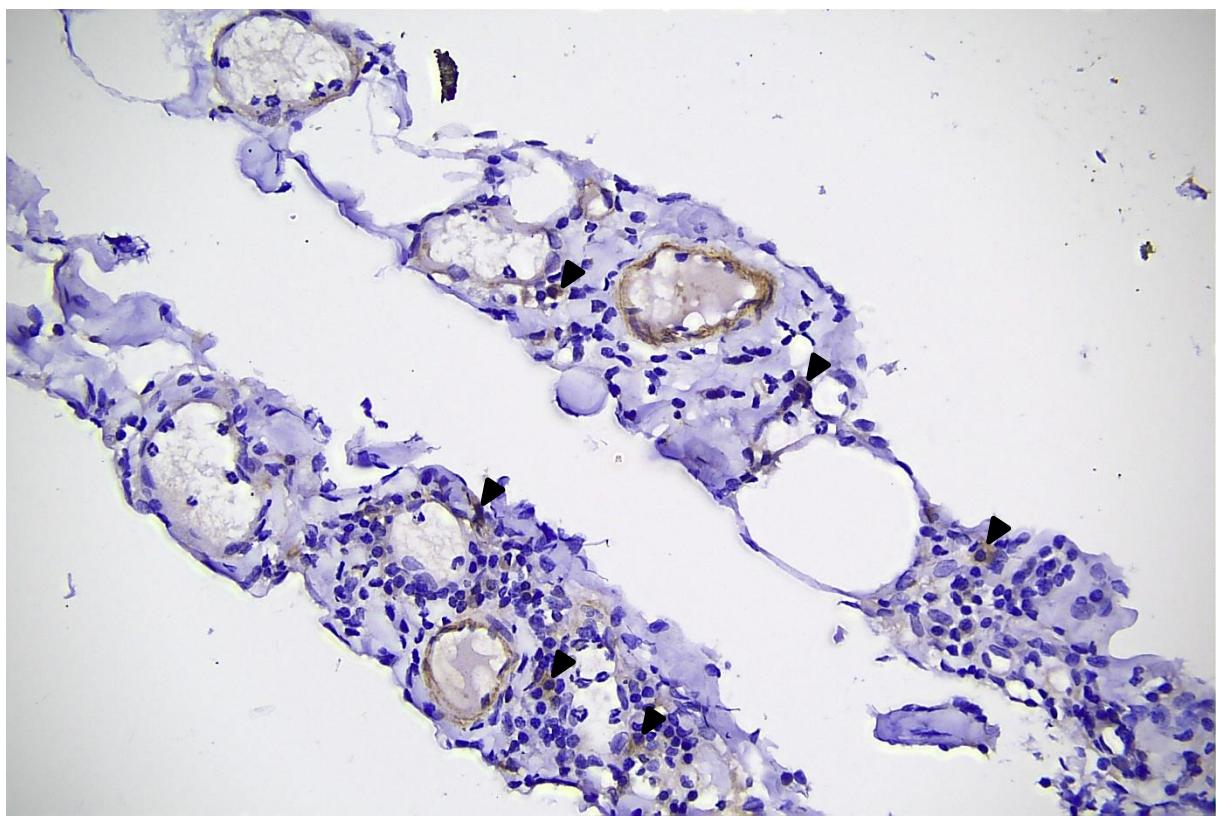


Figura 40. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área translúcida com macrófagos e células dendríticas em destaque pelo marcador Iba 1 com coloração amarronzada (cabeça de seta). Obj. 40.

Na área rica em tecido adiposo o número de células de defesa foi escasso, não houve marcação de células pelos marcadores CD79a e CD3, no marcador Iba1 foi possível notar entre 0-8 células dendríticas ou macrófagos/5 campos (Figura 41), 3 pacientes revelaram um número maior de 21, 31 e 51 células dendríticas ou macrófagos/5 campos, assim como demonstrado no Quadro 6. Por estatística descritiva, a mediana foi de 6 macrófagos e células dendríticas /5 campos marcados na área adiposa.

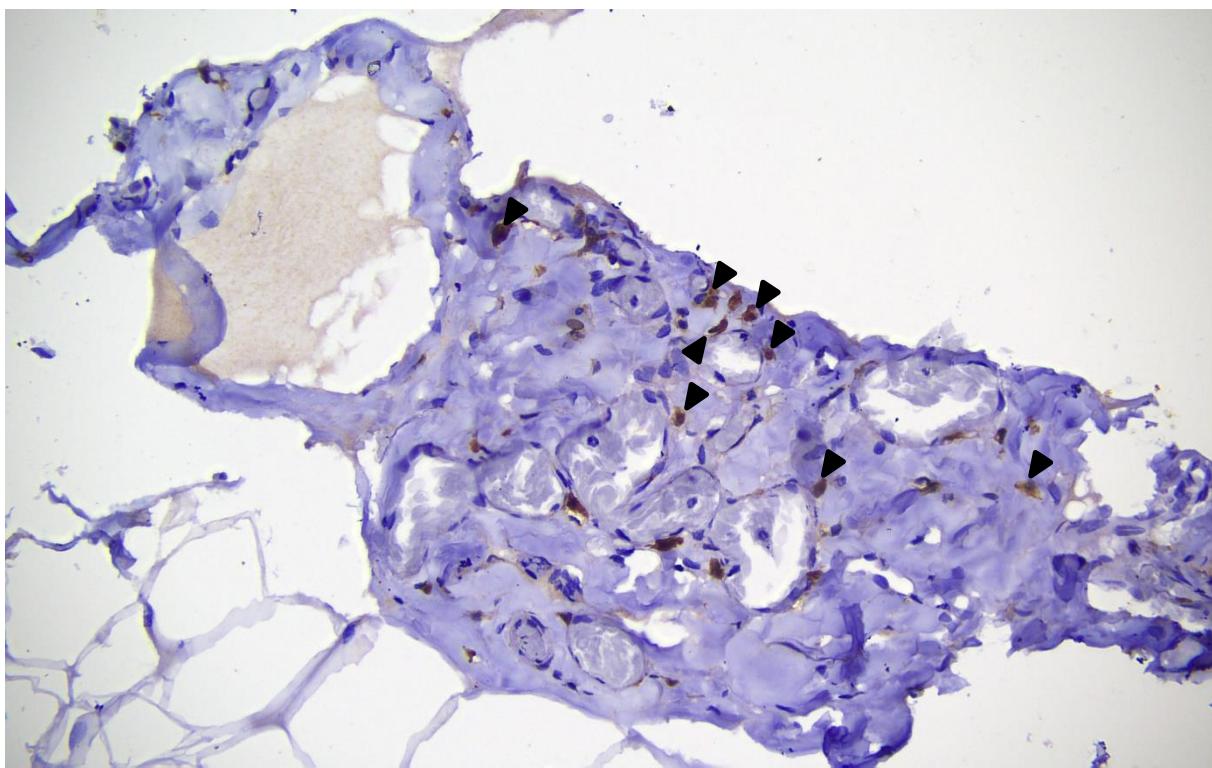


Figura 41. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área adiposa com macrófagos e células dendríticas em destaque pelo marcador Iba 1 com coloração amarronzada (cabeça de seta) na camada submesotelial. Obj. 40.

Quadro 6. Número de células marcadas, localizadas na área rica em tecido adiposo, com anticorpos primários Iba 1 (macrófagos e células dendríticas - Invitrogen®) pela análise de imunohistoquímica de 10 amostras omentais de cadelas.

Nº Reg da lâmina (cadelas)	Iba1 (nº de células/5 campos)
38704	3
38710	NP
39062	2
39087	4
39194	8
39288	31
39430	21
39431	51
39506	6
39505	2

*Lâmina com defeito na preparação, não pesquisado.

Comparamos as células que foram marcadas pelo Iba 1 (células dendríticas e macrófagos) entre as regiões omentais estudadas (área translúcida e rica em adipócitos) pelo teste de Mann Whitney, uma vez que foram dados considerados não paramétricos. Houve diferença estatística significante, sendo $p = 0,034$ ($p < 0,05$).

4.4.2 Imunohistoquímica das amostras de gatas

Na análise imunohistoquímica de 12 amostras omentais de gatas notamos a presença de

células da população imune avaliadas somente na área translúcida. Nesta região pelo marcador CD79a (linfócito B) encontramos 1 linfócito B/5campos apenas em dois animais. No marcador CD3, nenhuma célula foi corada pelo marcador de linfócitos T (Figura 42) e, no marcador Iba1 (macrófago e célula dendrítica) a contagem foi 0-12 células/5campos (Figura 43). Assim como demonstrado no Quadro 7. Por estatística descritiva, a mediana foi de 2 macrófagos e células dendríticas /5 campos marcados na área translúcida.

Assim como nas lâminas de histologia, a manutenção da integridade da área translúcida nos felinos foi difícil, provavelmente devido à espessura mais fina desta região.

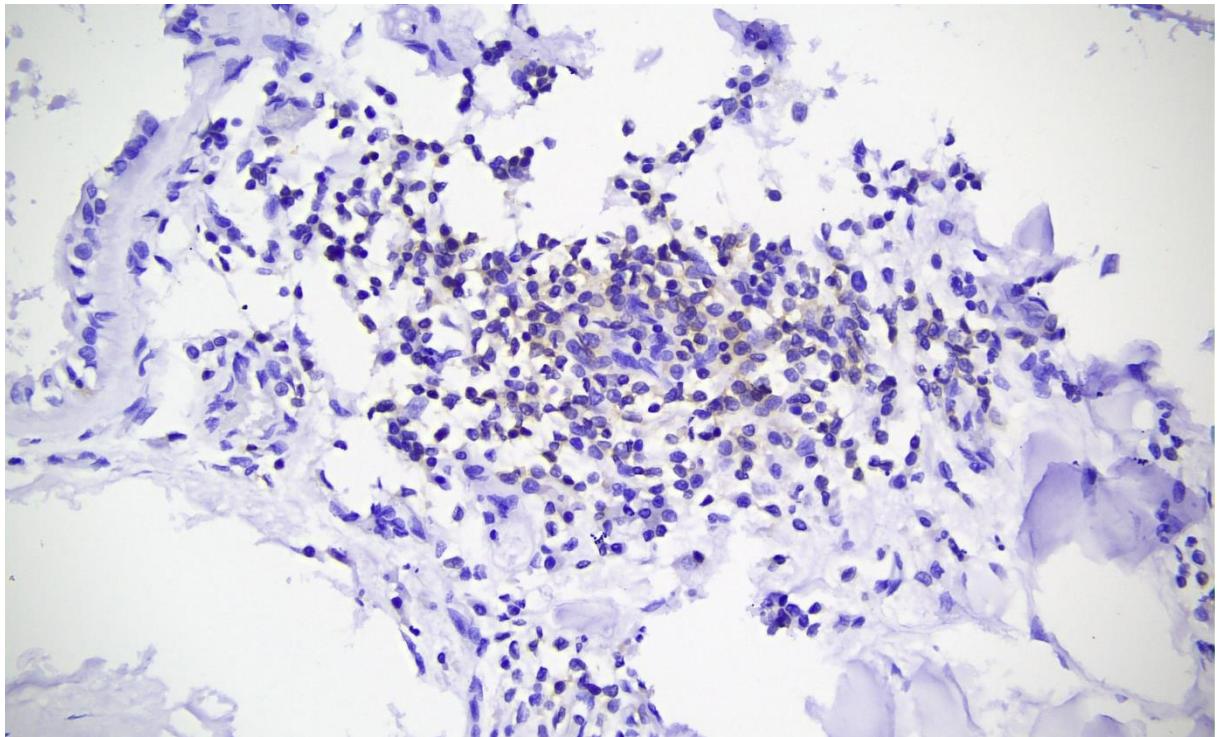


Figura 42. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de gata evidenciando área translúcida sem células em destaque pelo marcador CD3. Obj. 40.

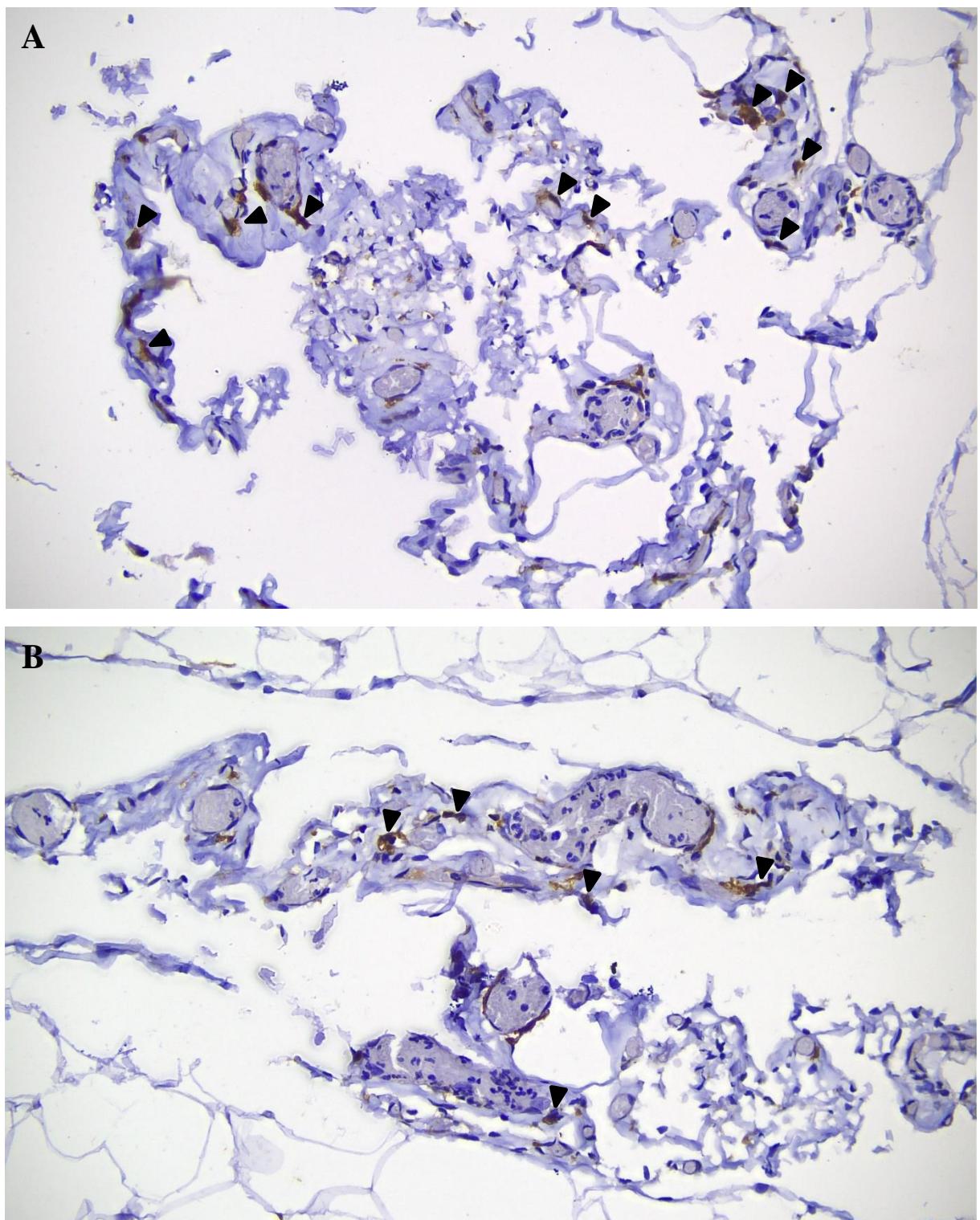


Figura 43. Fotomicrografia de amostra de omento saudável de gata evidenciando área translúcida com macrófagos e células dendríticas em destaque pelo marcador Iba 1 com coloração amarronzada (cabeça de seta). Obj. 40.

Quadro 7. Número de células imunomarcadas, localizadas na área translúcida, com anticorpos primários Iba 1 (macrófagos e células dendríticas - Invitrogen®) pela análise de imunohistoquímica de 12 amostras omentais de gatas.

Nº Reg da lâmina (gatas)	Iba1 (nº de células/5 campos)
38952	2
38953	10
39088	7
39117	12
39130	2
39217	0
39284	0
39285	1
39286	3
39287	0
39429	4
39508	0

Na região rica em tecido adiposo das gatas não foram coradas células por nenhum dos marcadores utilizados (CD3, CD79 e Iba1).

4.5 Microscopia Eletrônica de Varredura

4.5.1 Microscopia eletrônica de varredura das amostras omentais das cadelas

Na visualização do omento de cadelas na microscopia eletrônica de varredura (MEV) a percepção das duas regiões distintas visível, com uma área translúcida (Tr) e outra rica em tecido adiposo (Ad) (Figura 44). A área Tr possui a aparência de rede, com finas trabéculas que se comunicam com a adiposa (Figura 45. A), e foi observada a transição clara entre uma área e a outra (Figura 45. B).

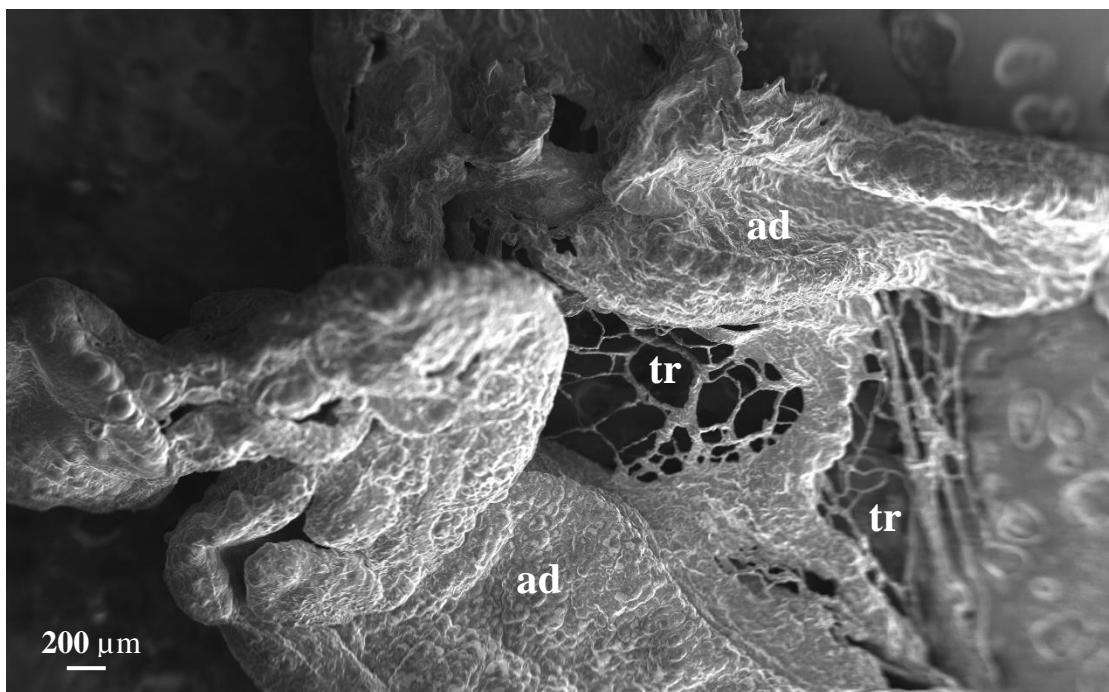


Figura 44. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadela. Note as duas áreas distintas: área translúcida (tr) e área rica em tecido adiposo (ad). Magnificação 49x.

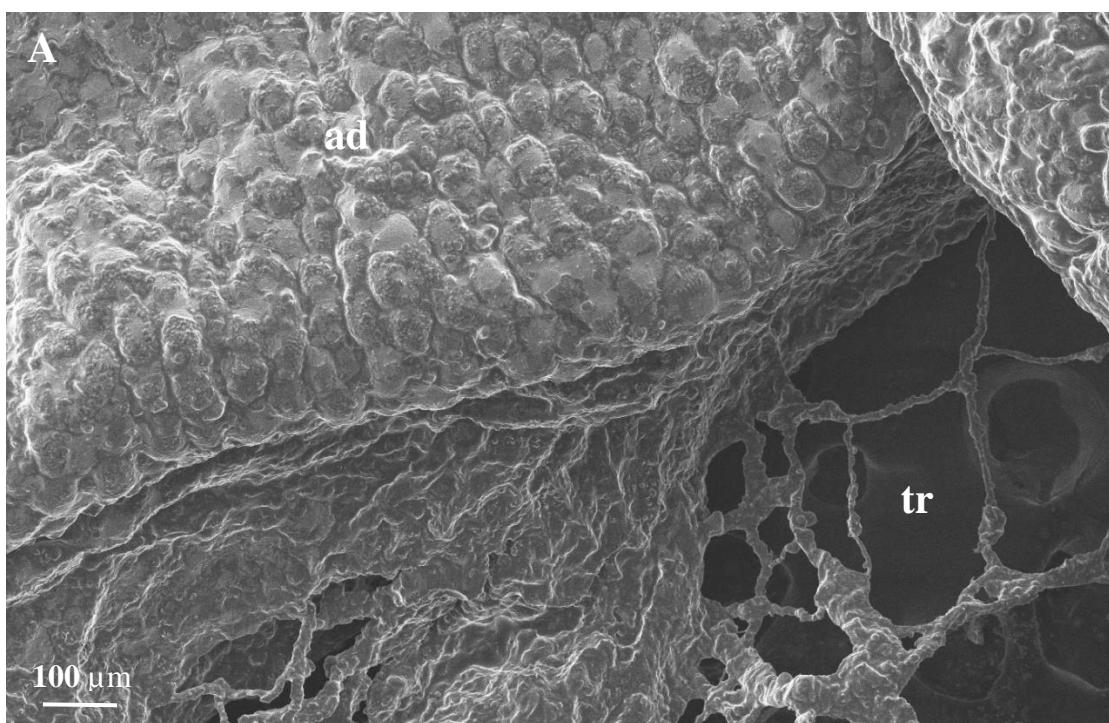


Figura 45. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadela. A. Note a transição da área adiposa para a translúcida. Magnificação 183x.

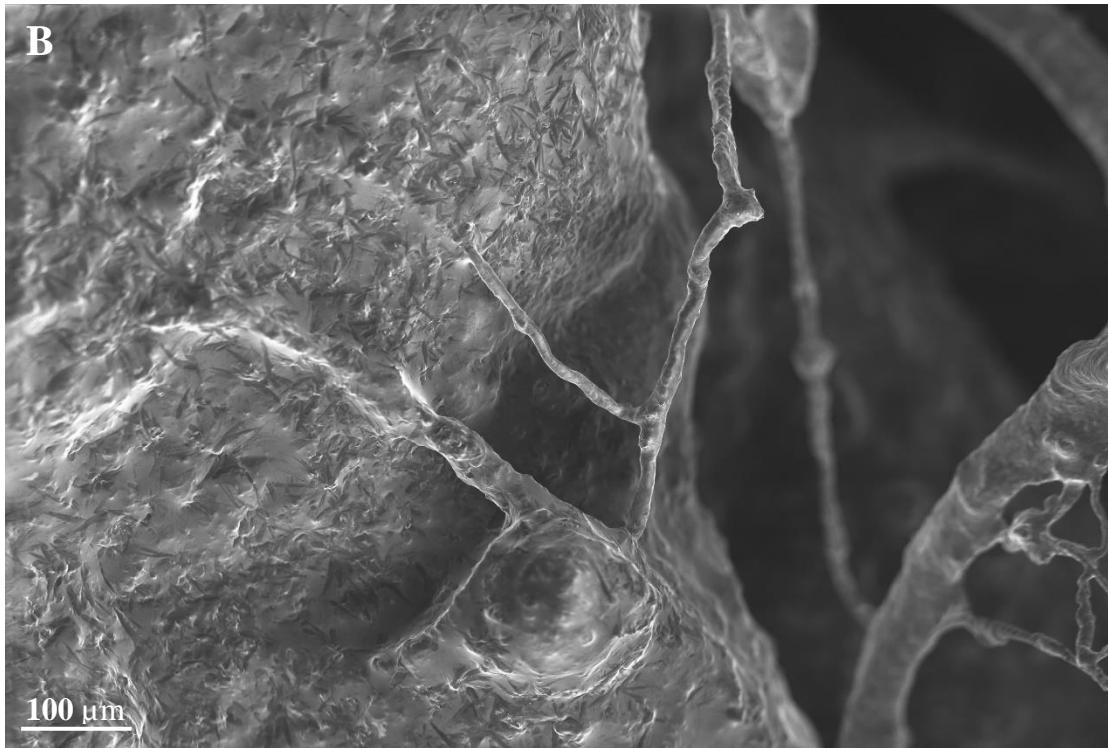


Figura 45. Continuação. B. Note a intersecção entre as regiões omentais. Magnificação 299x.

Na área translúcida o diâmetro das trabéculas variou entre 19,63 μm a 375,43 μm , com média de 91,83 μm nas cadelas. Calculamos os diâmetros de 30 trabéculas em cada paciente cuja área translúcida foi registrada. Ainda, calculamos diâmetros de 10 fenestrações próximas à área adiposa (média de 60,58 μm) e 10 no centro da área translúcida (média de 238,83 μm). Percebemos que as janelas possuíam menor diâmetro quando estavam próximas à área adiposa e, à medida que se distanciavam dos adipócitos, eram mais largas (Figura 46).

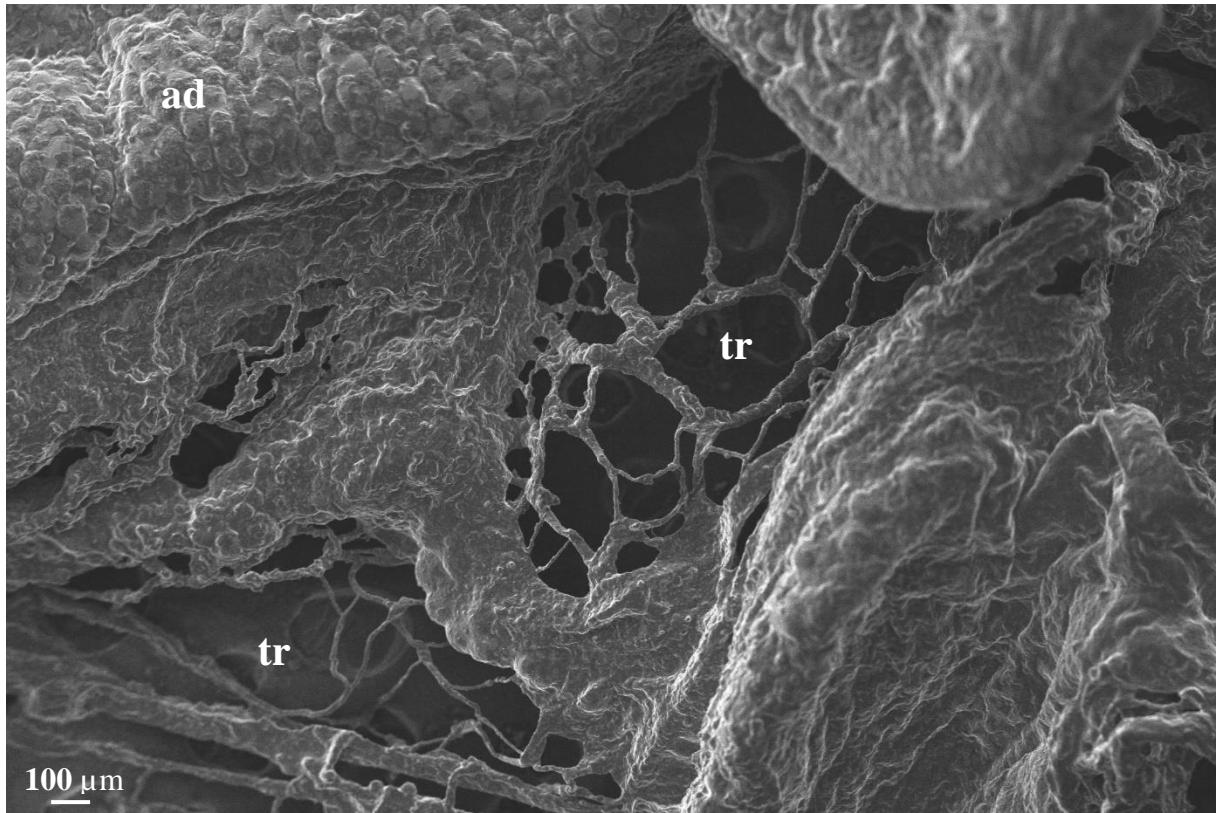


Figura 46. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadela. Note que as fenestras da área translúcida (tr) possuem menor diâmetro próximas à área adiposa (ad) e aumentam seu diâmetro à medida que se distanciam dos adipócitos. Magnificação 101x.

Em maior magnificação da área Tr, foi possível notar aumento de diâmetro na parede da trabécula que sugere ser o local do núcleo da célula mesotelial, que reveste esta região (Figura 47). A superfície das trabéculas é irregular, com minúsculas projeções como é possível notar na Figura 47; não foram percebidas microvilosidades na superfície da área Tr.

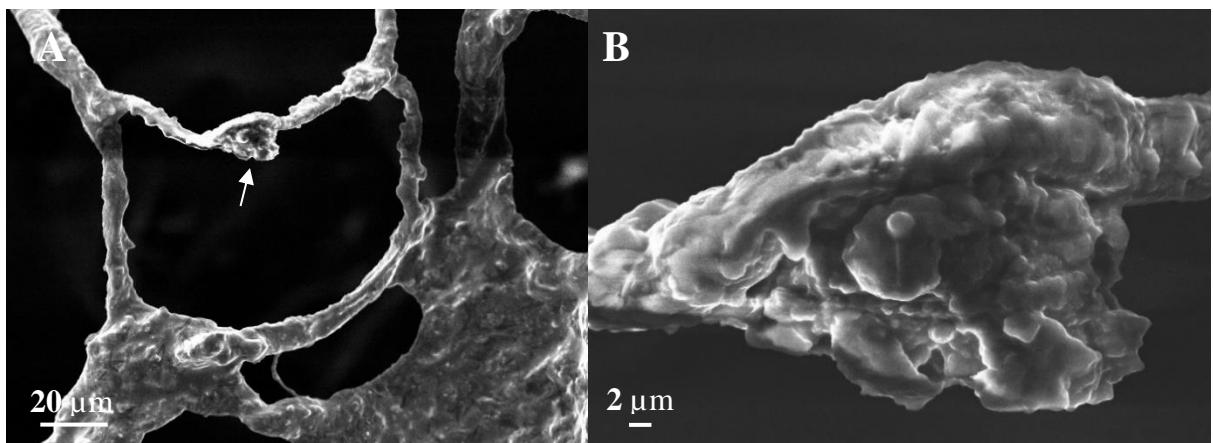


Figura 47. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadela evidenciando detalhes da área translúcida. **A.** Note o arranjo das fenestrações e o núcleo da célula mesotelial (seta). **B.** Em evidência o núcleo de uma célula mesotelial.

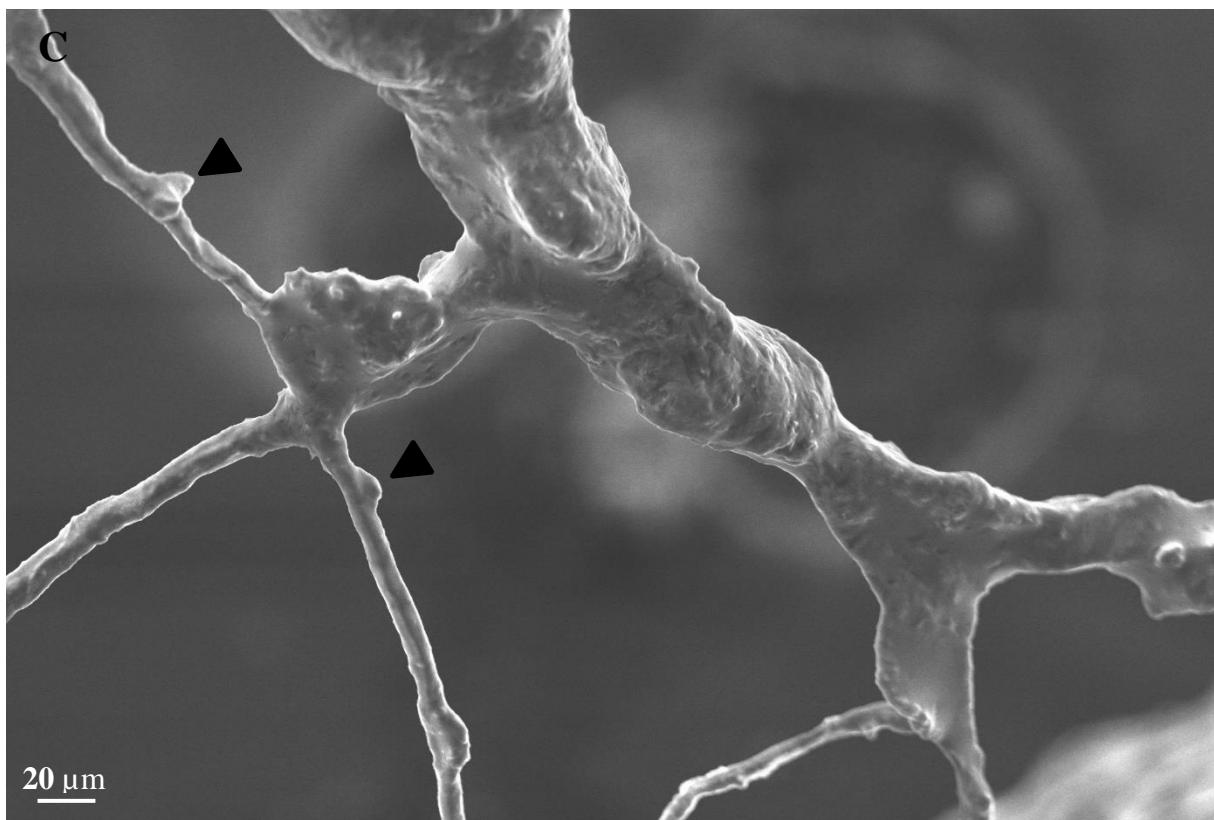


Figura 47. Continuação. C. Observe que a superfície das trabéculas é irregular, com minúsculas projeções (cabeça de seta). Magnificação 744x.

Na análise da área Tr além das fenestrações notadas na configuração de rede, foi observado nas cadelas a distribuição aleatória de minúsculos orifícios, que denominamos poros, localizados entre as trabéculas, como é demonstrado na Figura 48. O diâmetro destes poros variou entre 2,9 μm e 24,67 μm , com média de 15,15 μm . Ainda, foi notado na Cadeia 1 uma projeção em uma de suas fenestradas, conforme demonstrado na Figura 49, que mediu 322,88 μm de comprimento.

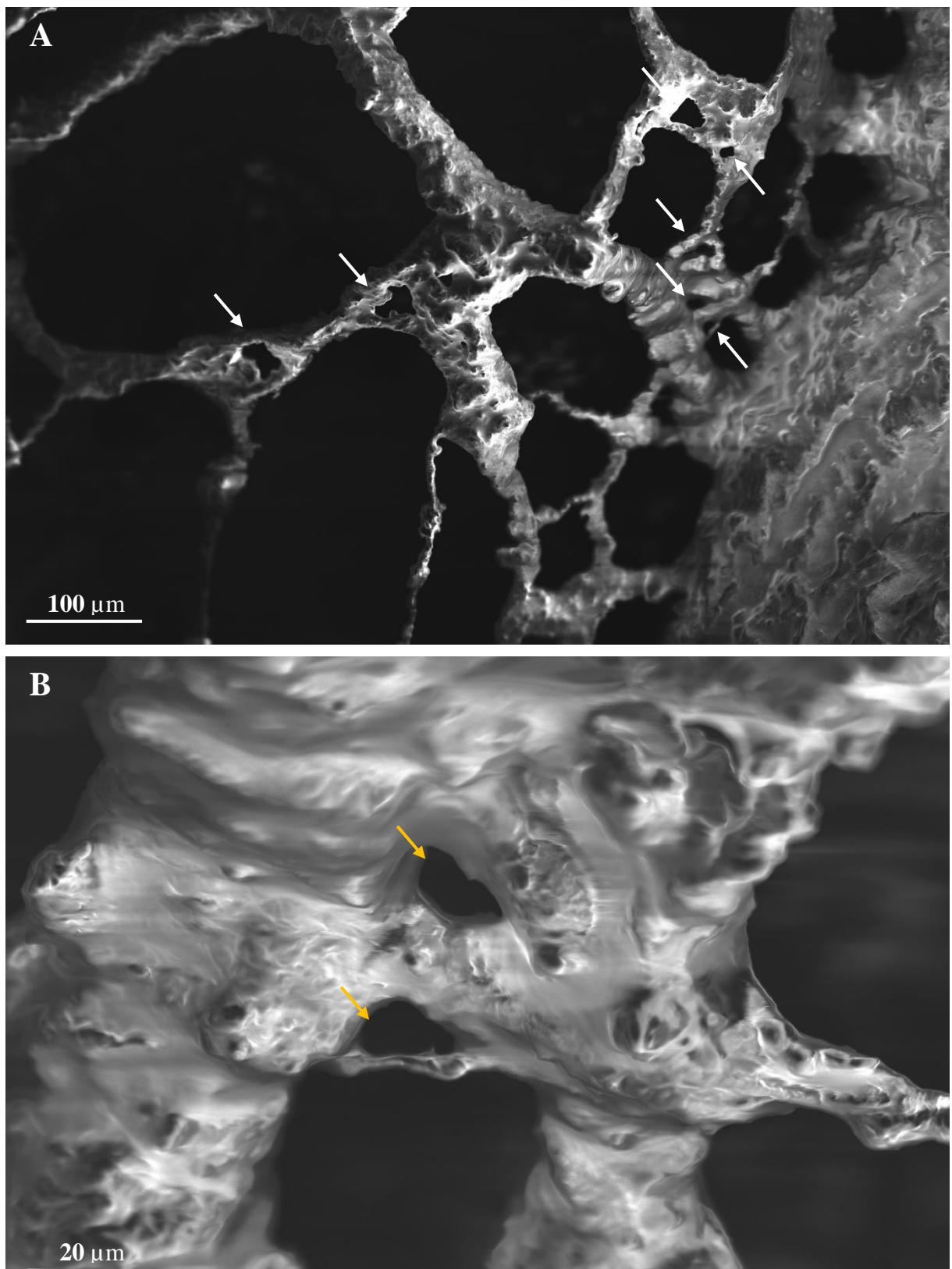


Figura 48. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadela evidenciando detalhes da área translúcida. **A.** Note dois poros no arranjo das fenestrações. Magnificação de 368x. **B.** Em evidência dois poros (setas amarelas). Magnificação de 2,15Kx.

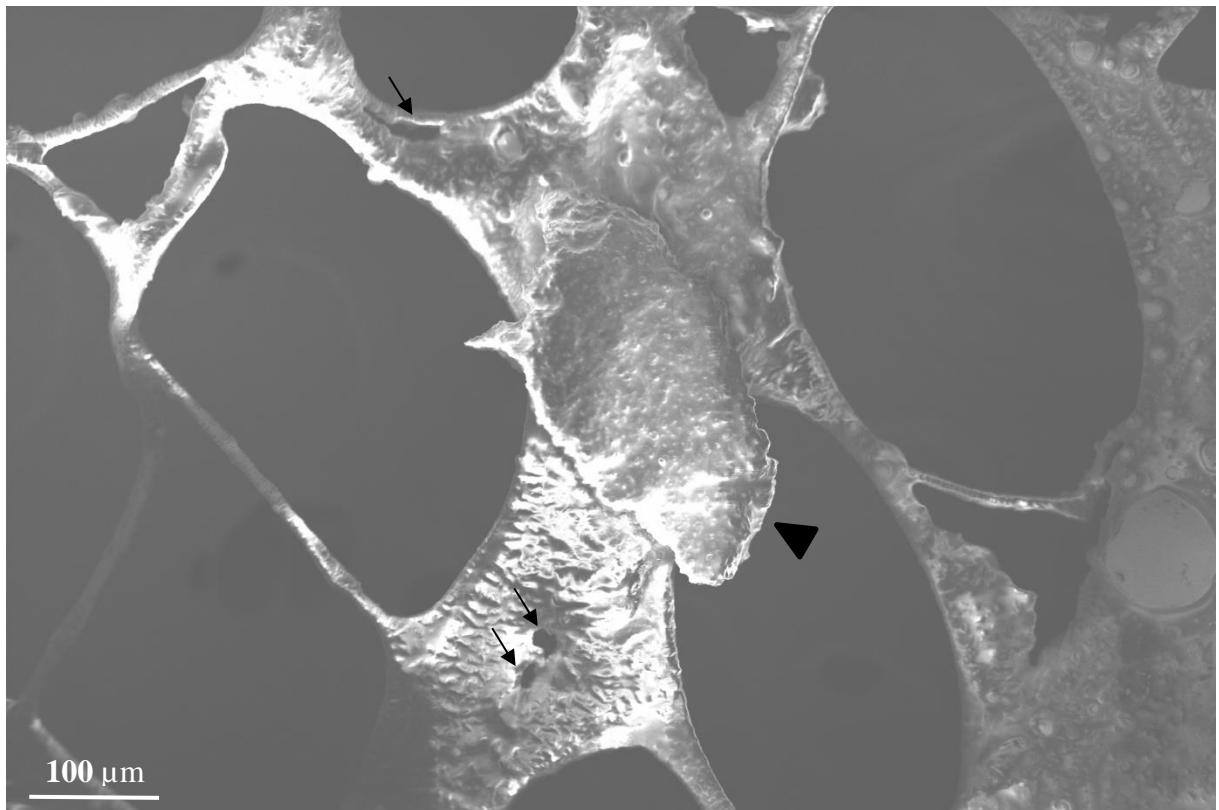


Figura 49. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadelas evidenciando detalhes da área translúcida. Note uma projeção entre uma das trabéculas (cabeça de seta) e os poros (seta) entre as fenestrações. Magnificação de 324x.

A área rica em tecido adiposo (Ad) das cadelas possui um arranjo semelhante a um plástico bolha, devido à impressão que os adipócitos, um ao lado do outro em íntimo contato, fazem, adjacentes às células mesoteliais (Figura 50. A), região já descrita como semelhante a paralelepípedos. Uma vez que os adipócitos são estruturas arredondadas e encontram-se subjacentes à camada mesotelial há esta conformação; eles formam uma espécie de impressão sob as células mesoteliais que são pavimentosas. A superfície da área Ad é irregular com minúsculas projeções (Figura 50. B) quando visualizada na vista lateral. Algumas imagens de MEV revelaram estruturas na superfície do omento semelhantes a cristais, porém acreditamos estar associado ao preparo da amostra, uma vez que após a interação do feixe de elétrons do microscópio com a amostra omental, a superfície da região percorrida por eles tornou-se mais regular (Figura 51).

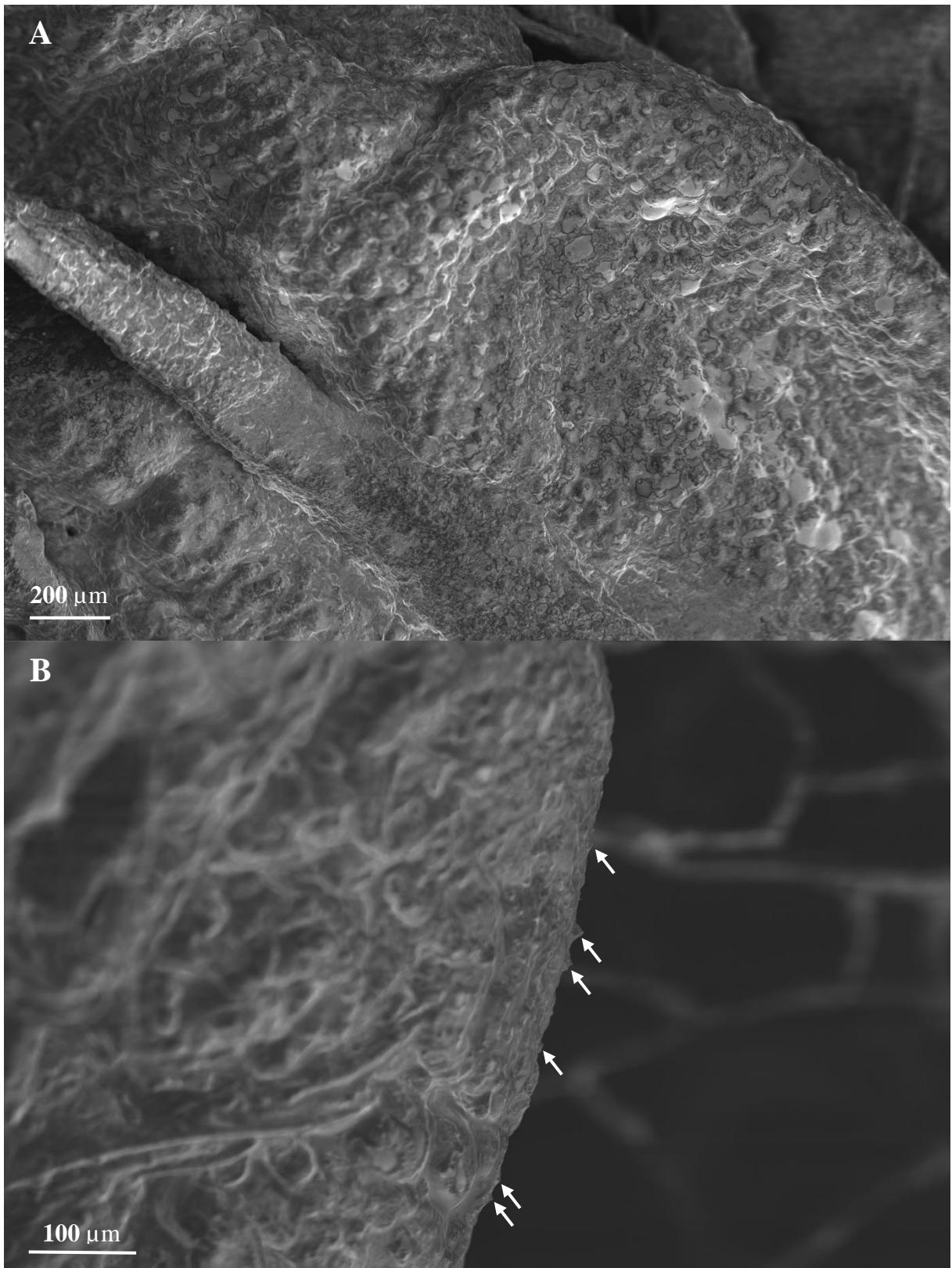


Figura 50. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadela evidenciando detalhes da área rica em tecido adiposo. **A.** Note o arranjo das células mesoteliais semelhante a paralelepípedos. Magnificação de 130x. **B.** Em maior magnificação (345x) percebemos que a superfície é irregular e apresenta minúsculas projeções (seta) em vista lateral com algumas em destaque.

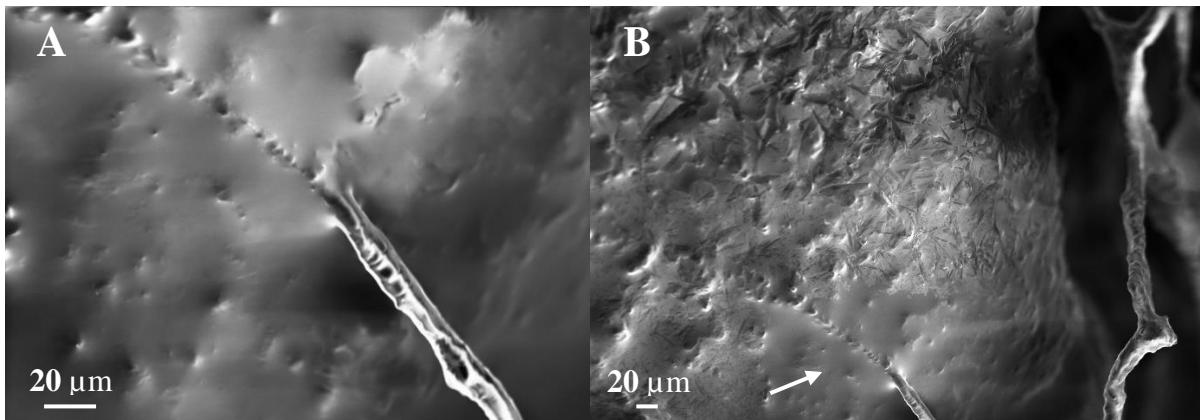


Figura 51. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadelas evidenciando detalhes da intersecção da área rica em tecido adiposo com a translúcida. **A.** Note a origem de um dos lados de uma trabécula, com a superfície regular. Magnificação de 1,28Kx. **B.** Região anterior após a interação dos feixes de elétrons do microscópio eletrônico. Magnificação 513x. Note a área recém visualizada mais regular (seta), sem os cristais observados ao redor.

Na área Ad notamos em duas cadelas algumas estruturas arredondadas que pareciam se projetar e que, eventualmente, se romperam ou se abriram (Figura 52). É possível que sejam adipócitos que emergiram da área adiposa, pois, em geral, são estruturas arredondadas e todas são de tamanho parecido, cujo diâmetro variou entre 68,460 μm a 105,903 μm , com média de 84,204 μm . Os dados referentes às medições de área, comprimento e largura destas estruturas estão no Quadro 7.

Quadro 7. Dados referentes às medições de área, comprimento e largura das estruturas arredondadas localizadas na superfície da área adiposa do omento de cadelas.

Projeções arredondadas cadelas (μm)	A	B	C	D
Área	2885,248	9137,935	13215,735	6001,877
Eixo longitudinal	52,930	102,810	156,234	108,237
Eixo transversal	71,122	105,903	91,333	68,460

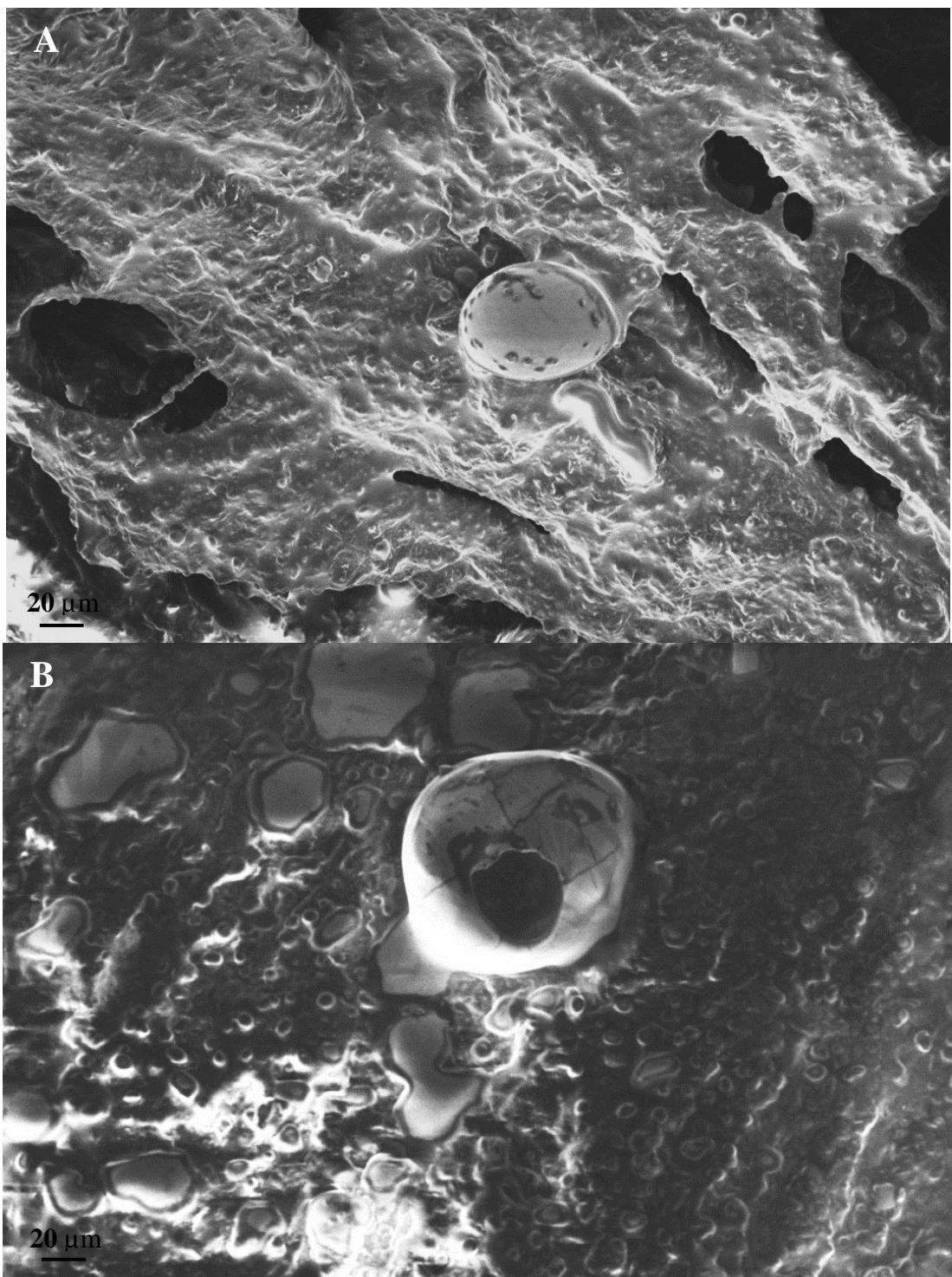


Figura 52. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadela evidenciando detalhes da área rica em tecido adiposo. Note em A uma projeção arredondada do omento íntegra (magnificação 712x) e em B após sua ruptura/abertura (magnificação 680x), assim como em C. Magnificação de 777x.

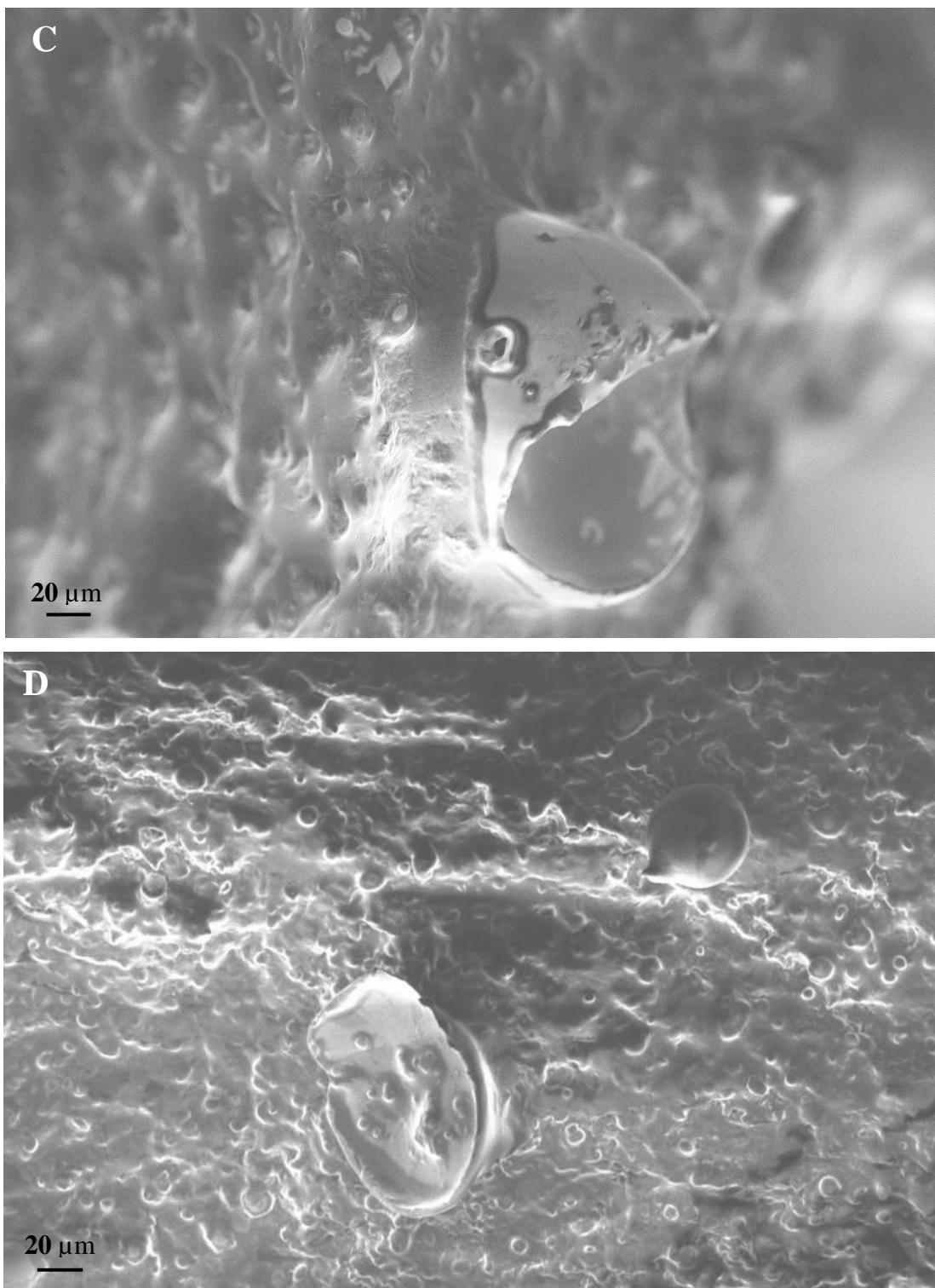


Figura 52. Continuação. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadelas evidenciando detalhes da área rica em tecido adiposo. Note uma projeção arredondada do omento em **C** (magnificação de 777x) e em **D** após sua ruptura/abertura. Magnificação 712x.

Ao longo da superfície do omento na área Ad encontramos, em todas as cadelas, minúsculos orifícios na superfície do tecido (Figura 53), cujo diâmetro variou entre 56,9 μm e 252,45 μm , com média de 135,2 μm . Por um destes orifícios havia uma estrutura que parecia se projetar através dele (cadelas número 13), o que nos leva a crer que seja um canal (Figura 54).

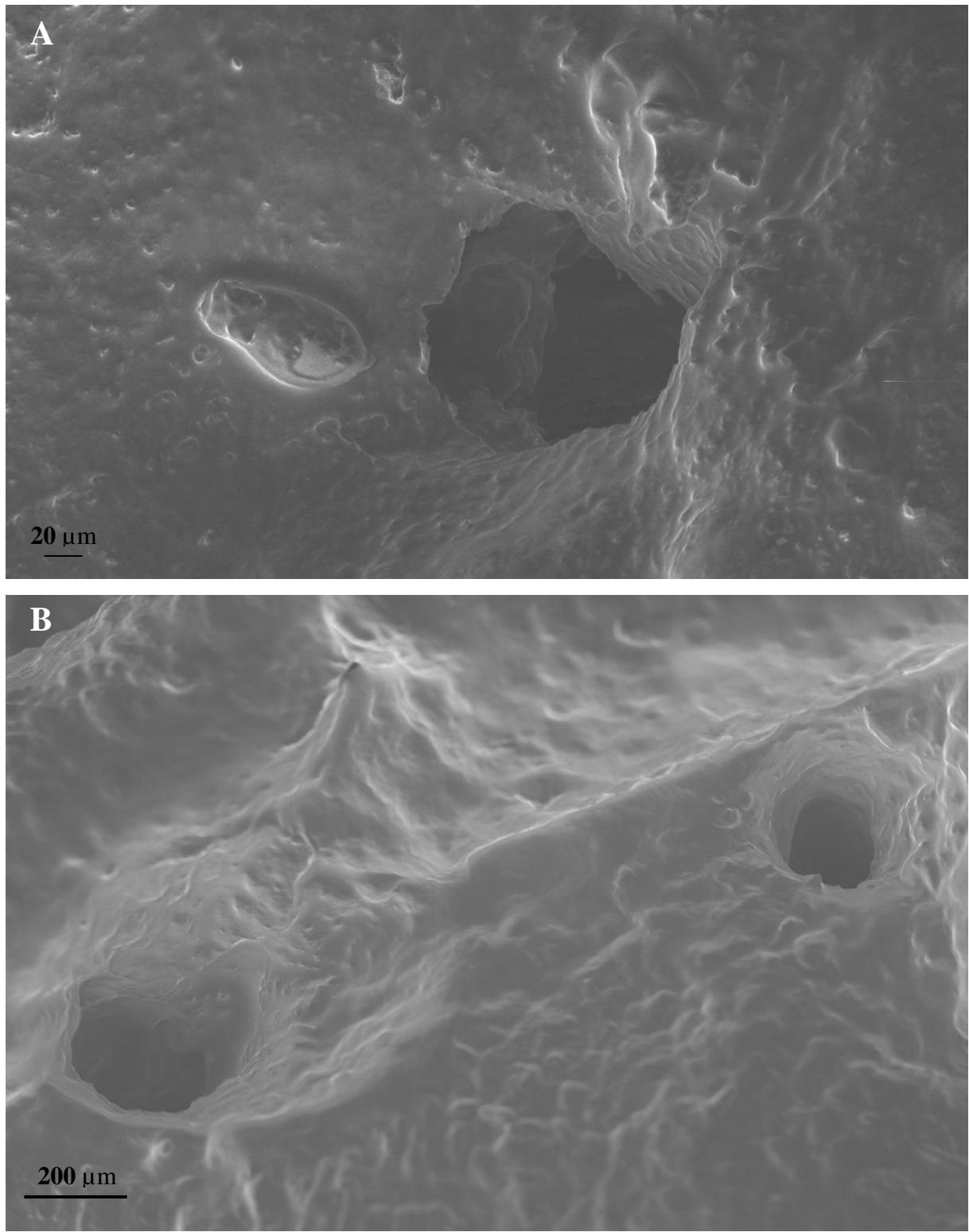


Figura 53. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadela evidenciando detalhes da área rica em tecido adiposo. Note em **A** um orifício localizado na superfície omental (magnificação 578x) e em **B** dois orifícios próximos. Magnificação de 162x.

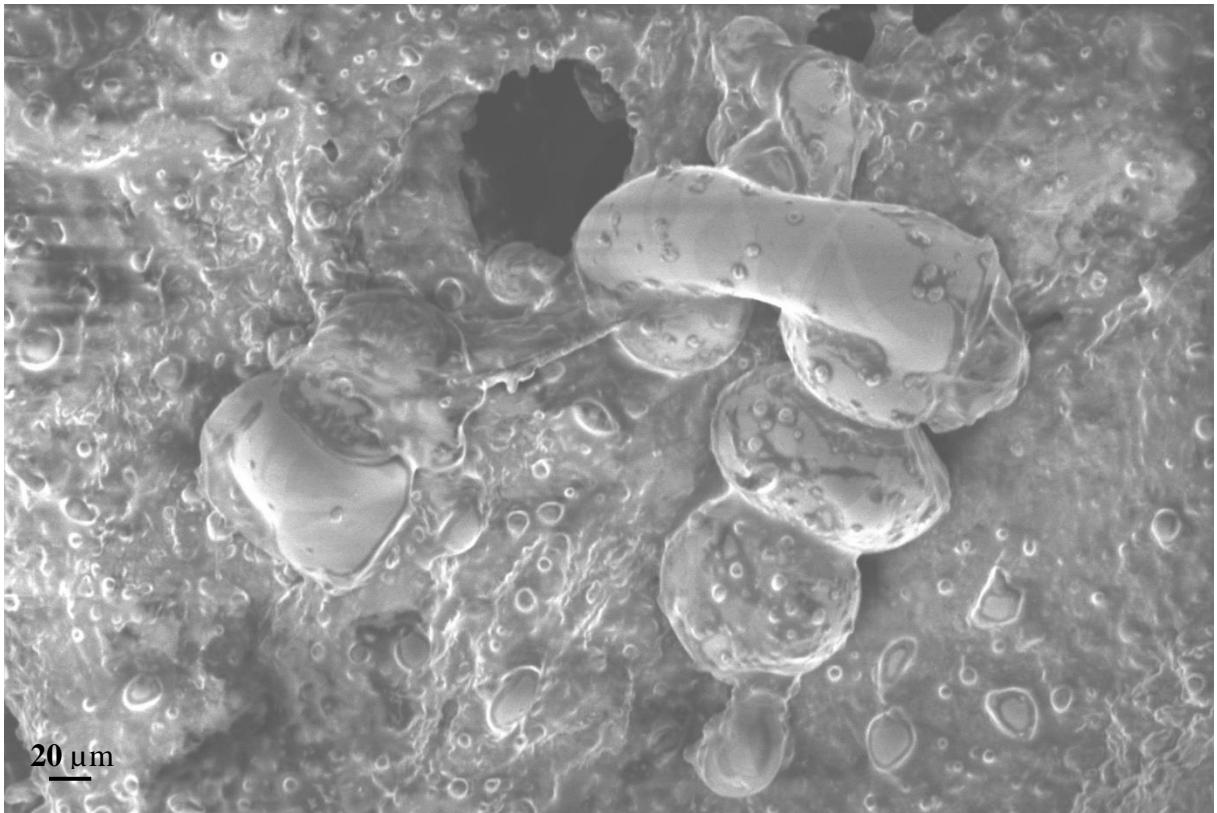


Figura 54. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de cadela evidenciando detalhes da área rica em tecido adiposo. Note um orifício localizado na superfície omental e uma estrutura que se projeta através dele. Magnificação 524x.

4.5.2 Microscopia eletrônica de varredura das amostras omentais das gatas

Na visualização do omento de seis gatas na MEV a percepção das duas regiões distintas foi visível, com uma área translúcida (Tr) e outra rica em tecido adiposo (Ad) (Figura 55). A área Tr possui a aparência de rede, com finas trabéculas que se comunicam com a adiposa (Figura 55), sendo possível visualizar a transição clara entre as regiões quando analisamos em maior magnificação (Figura 56).

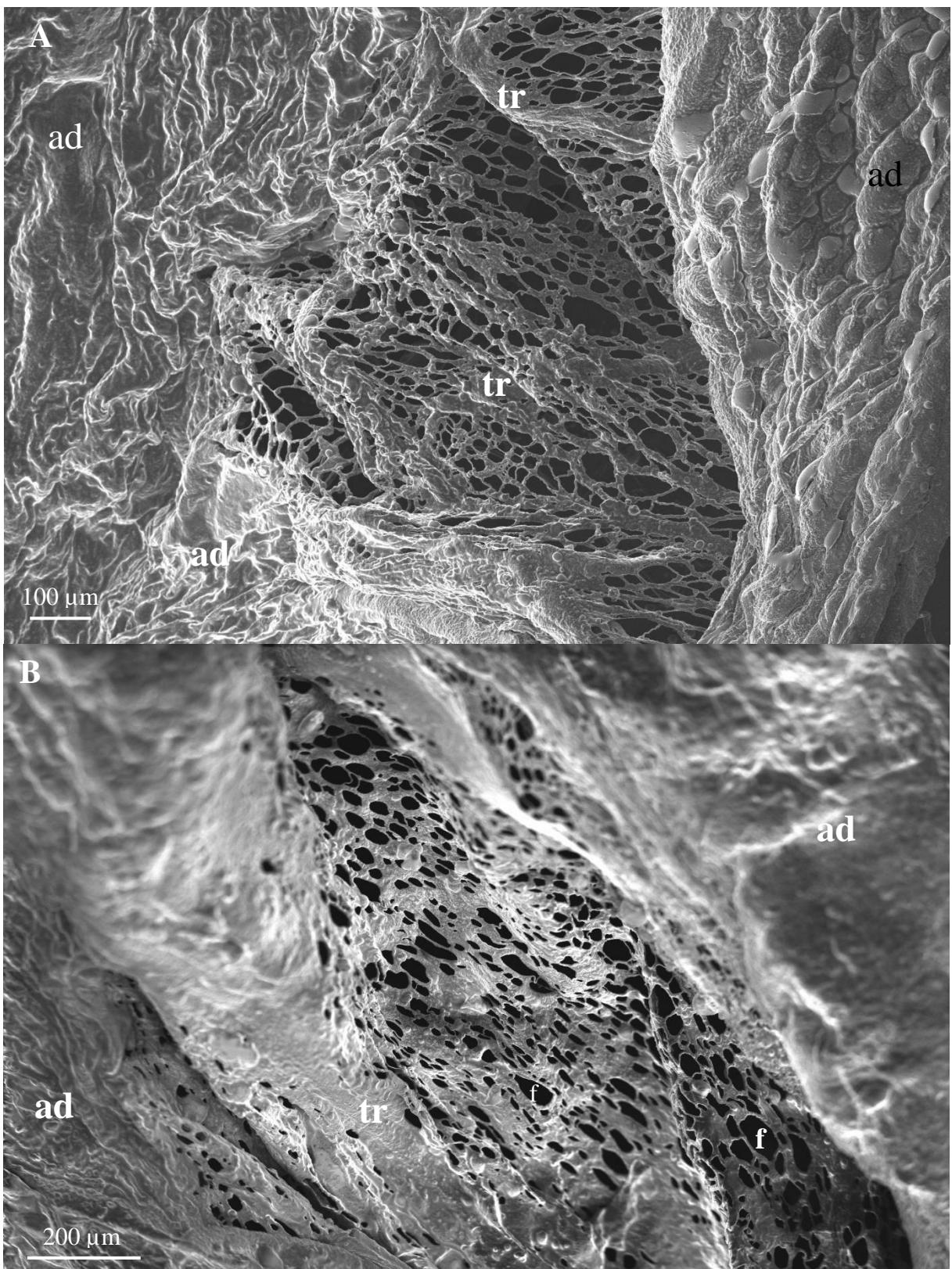


Figura 55. Microscopia eletrônica de varredura de amostras omentais de gatas. **A.** Note as duas áreas distintas: área translúcida (**tr**), rica de fenestras (**f**), e a área rica em tecido adiposo (**ad**). Magnificação 189x. **B.** Magnificação 181x.

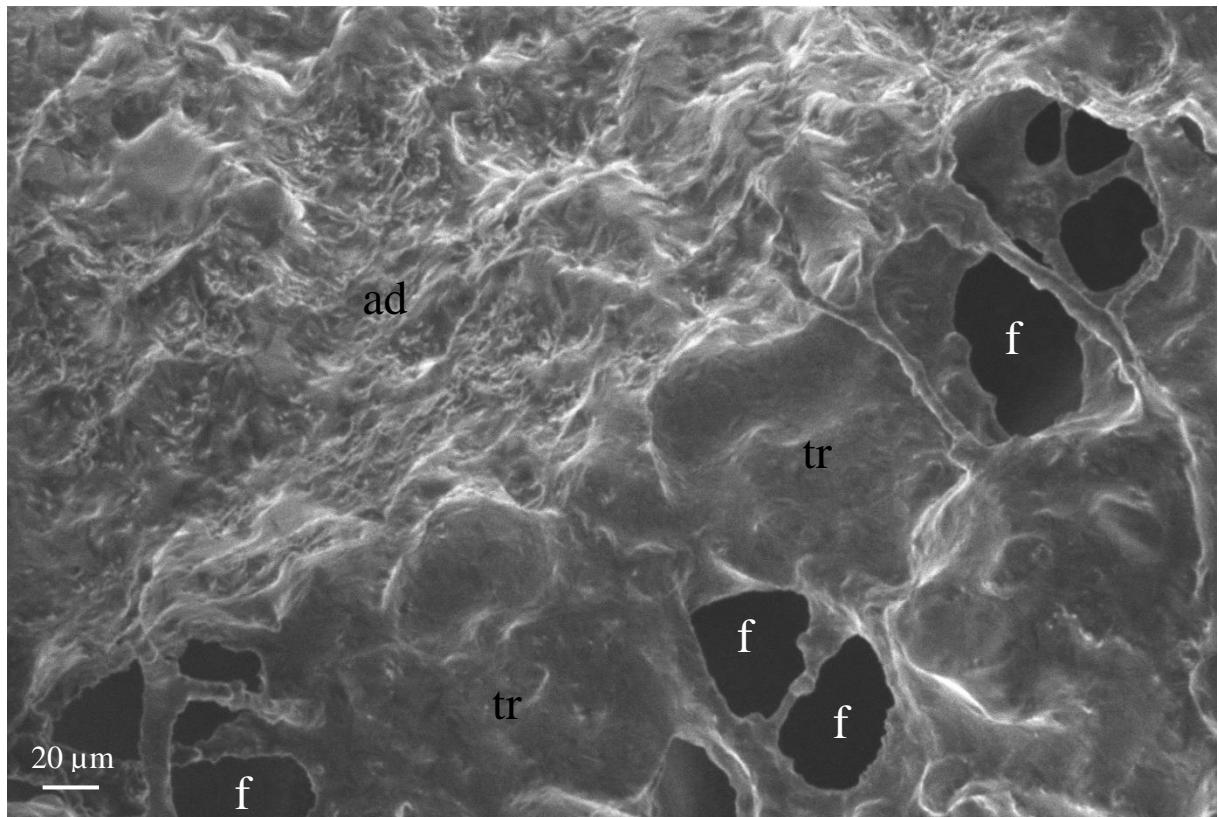


Figura 56. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental de gata. Note a transição entre as duas áreas distintas do omento: área translúcida (tr), com algumas fenestradas em evidência (f) e a área rica em tecido adiposo (ad). Magnificação 700x.

O omento das gatas possui fenestradas por toda sua rede com padrão de tamanho homogêneo; não demonstraram aumento conforme se distanciam da área de transição entre a área Tr e a Ad (Figura 57. A). Notou-se também que entre as fenestradas há áreas com tecido contínuo evidente que foi denominado como septos da área translúcida (Figura 57. B).

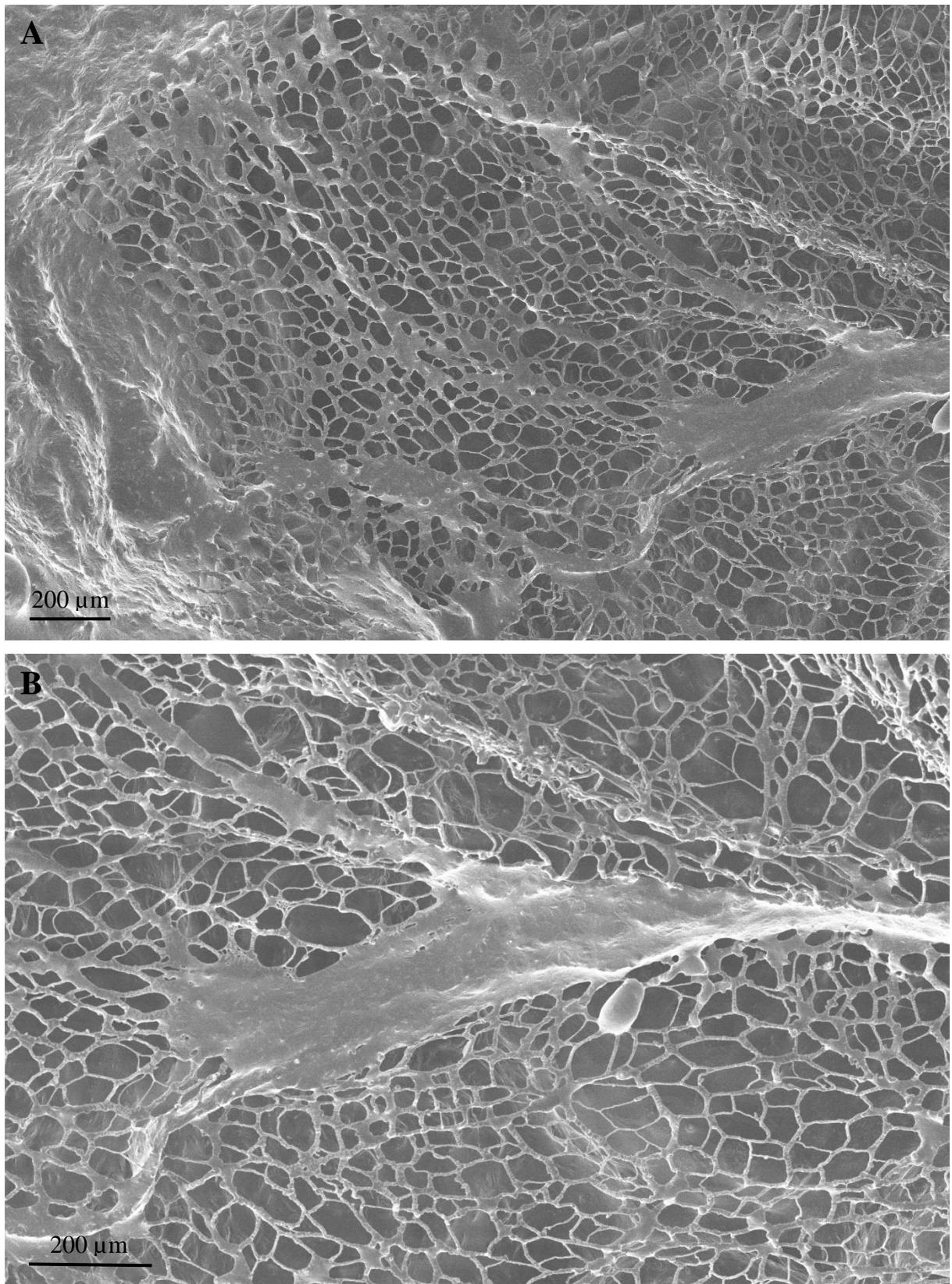


Figura 57. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental de gata evidenciando detalhes da área translúcida. **A.** Note que a área translúcida se assemelha a uma rede. Magnificação 130x. **B.** Note área entre as fenestras com tecido contínuo. Magnificação 197x.

Ao se aproximar da área translúcida notamos que as fenestras possuem sua superfície

irregular, com aumento abrupto do diâmetro em algumas regiões que sugere representar o núcleo das células mesoteliais de revestimento. Ainda, alguns animais demonstraram as redes mais finas como na Figura 58.

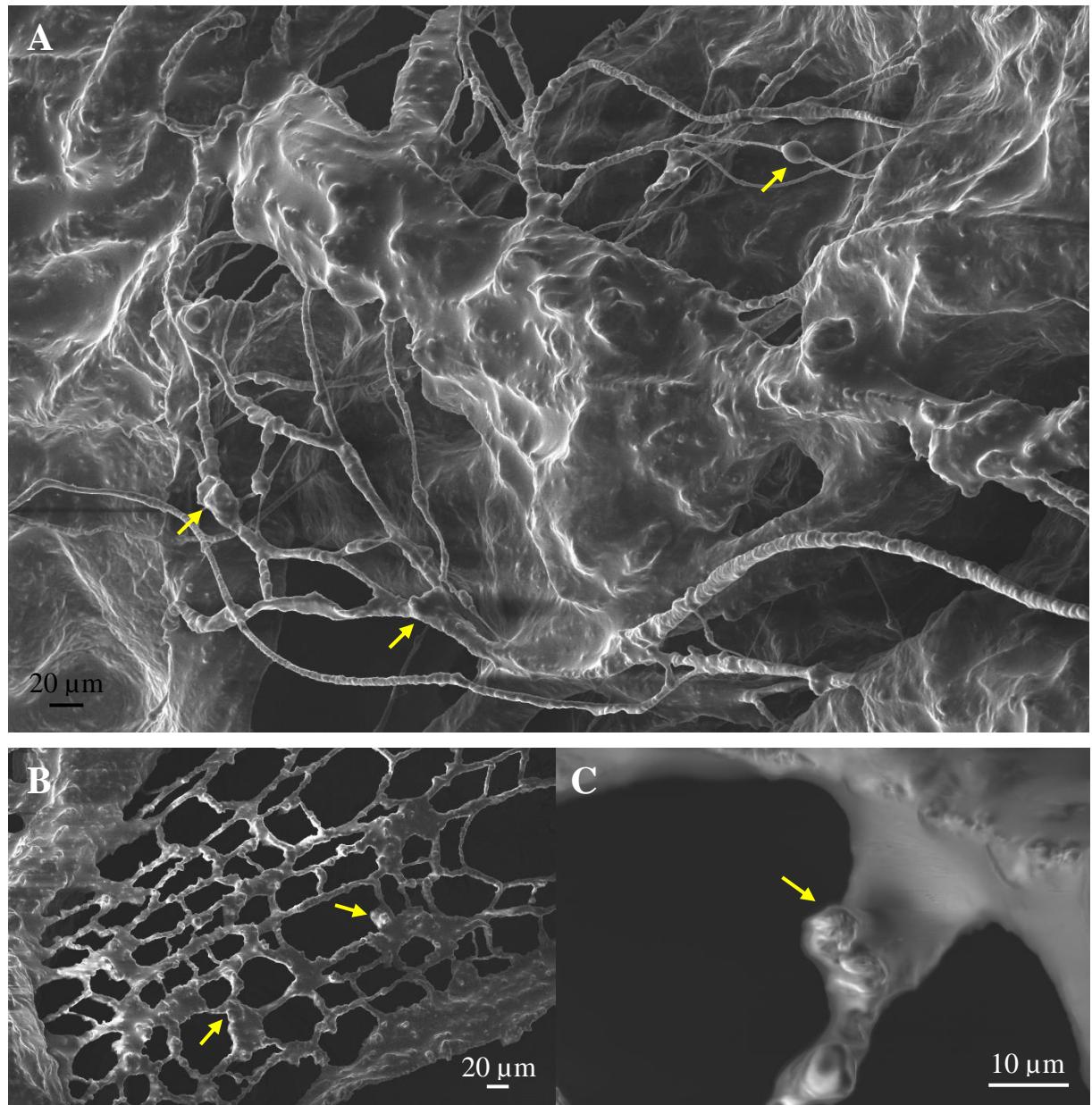


Figura 58. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental de gata evidenciando detalhes da área translúcida. A. Note a área translúcida com finas fenestruras. Magnificação 503x. B. Note a superfície irregular das fenestruras com o núcleo de algumas células mesoteliais (seta amarela). Magnificação 593x. C. O núcleo de uma célula mesotelial em destaque na seta amarela. Magnificação 4,55Kx.

A área rica em gordura revelou diferenças em sua distribuição. Em algumas áreas a presença dos adipócitos é evidente, demonstrando serem estruturas arredondadas que se encontraram subjacentes à camada mesotelial que, por vezes, formaram uma espécie de impressão sob as células mesoteliais achatadas se destacando (Figura 59. A). Em um animal inclusive os adipócitos pareciam se destacar dos demais (Figura 59. B e C).

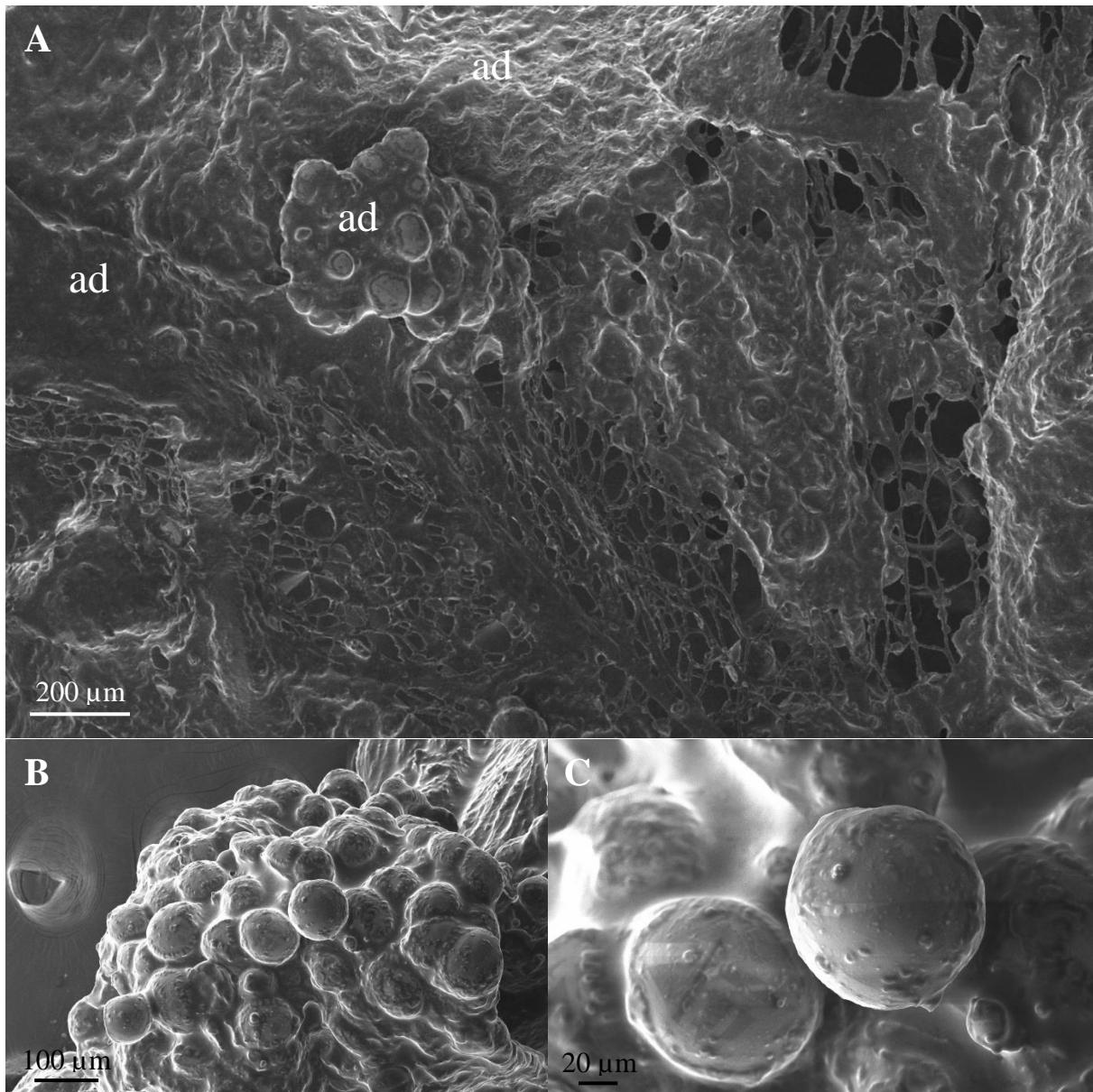


Figura 59. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental de gata evidenciando detalhes da área adiposa. **A.** Note duas apresentações distintas com e sem a impressão subjacente das células adiposas. Magnificação 139x. **B.** Note uma área com exposição das células adiposas arredondadas. Magnificação 353x. **C.** Uma célula adiposa se destaca das demais. Magnificação 1.13Kx.

Na área Ad notou-se, em quatro gatas, algumas estruturas arredondadas que pareciam se projetar (Figura 60). Em geral, eram estruturas arredondadas que variaram seu diâmetro entre 6,226 μm a 29,999 μm , com média de 14,0721 μm .

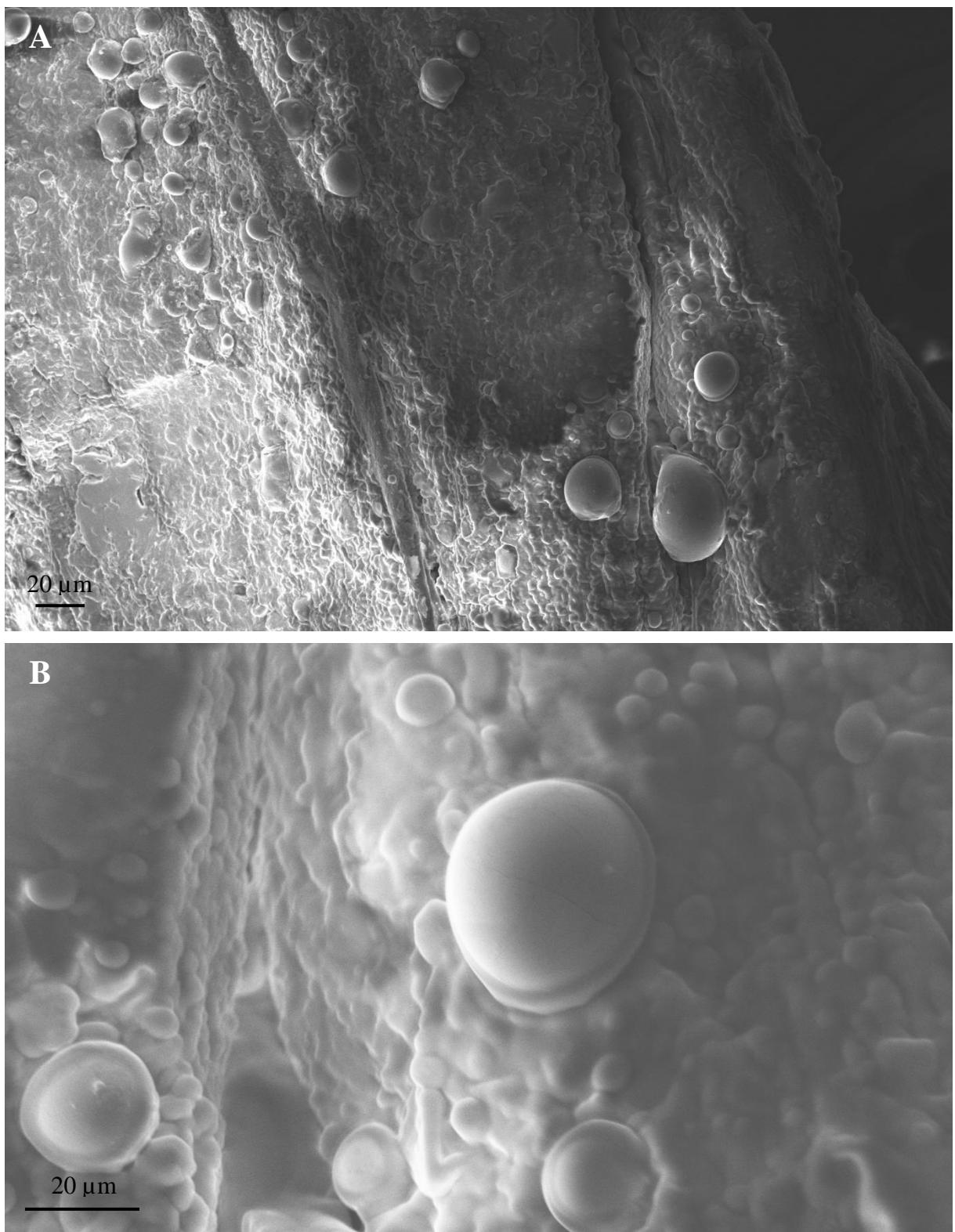


Figura 60. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de gata evidenciando detalhes da área rica em tecido adiposo. Note em **A** inúmeras projeções arredondadas do omento íntegras (magnificação 778x) e em **B** após aumento da magnificação (3.62Kx).

Ainda, na área Ad observou-se, em metade das gatas, algumas estruturas arredondadas que pareciam se projetar. Algumas delas assemelham-se às estruturas anteriores e que,

eventualmente, se romperam ou se abriram (Figuras 61, 62 e 63), outras que eram estruturas arredondadas maiores que variaram o diâmetro entre 103,179 μm e 164,247 μm (média de 122,136 μm) algumas com minúsculas aberturas centrais (Figuras 62 e 63). Os dados referentes às medições de área, comprimento e largura destas estruturas estão no Quadro 8.

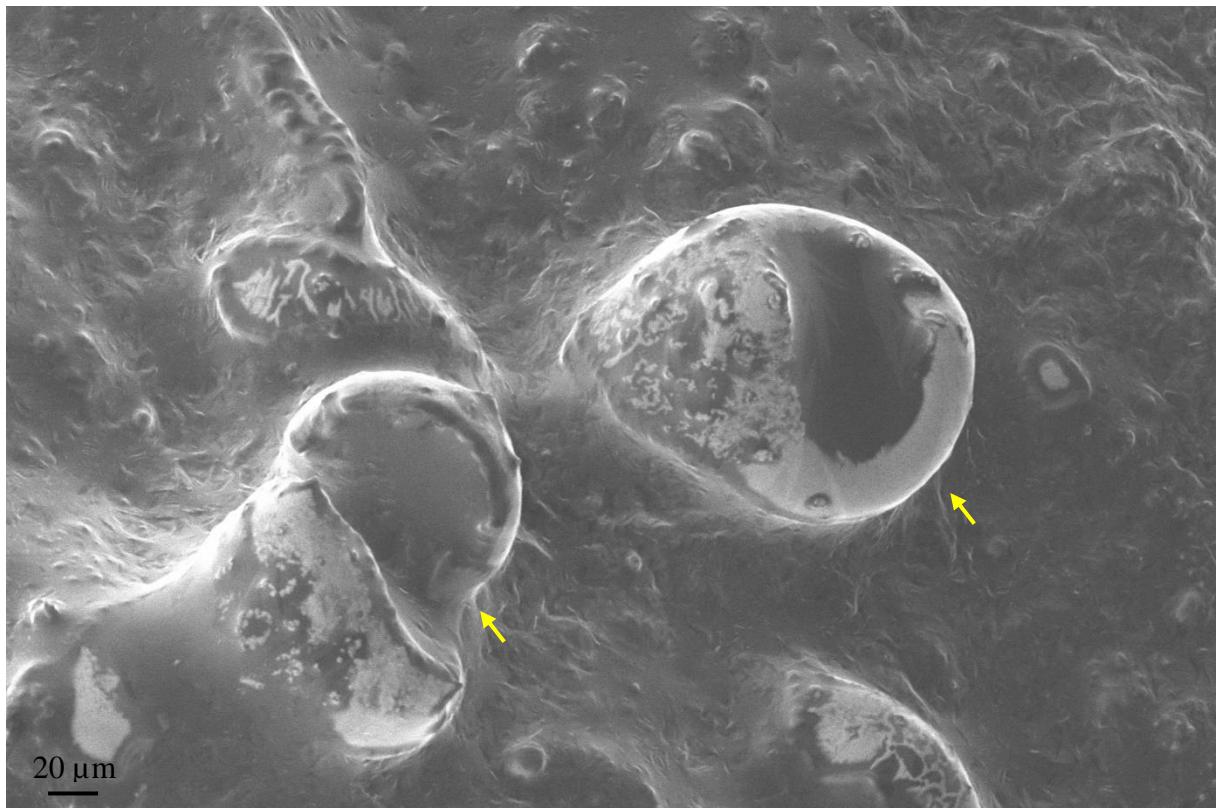


Figura 61. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de gata evidenciando detalhes da área rica em tecido adiposo. Note duas projeções arredondadas do omento (seta amarela) após sua ruptura/abertura. Magnificação 606x.

Quadro 8. Dados referentes às medições de área, comprimento e largura das estruturas arredondadas localizadas na superfície da área adiposa do omento de gatas.

Projeções arredondadas cadelas (μm)	A	B	C	D
Área	15357,841	14609,052	34833,540	23180,817
Eixo longitudinal	160,237	125,649	239,965	152,597
Eixo transversal	125,665	153,923	181,240	188,201

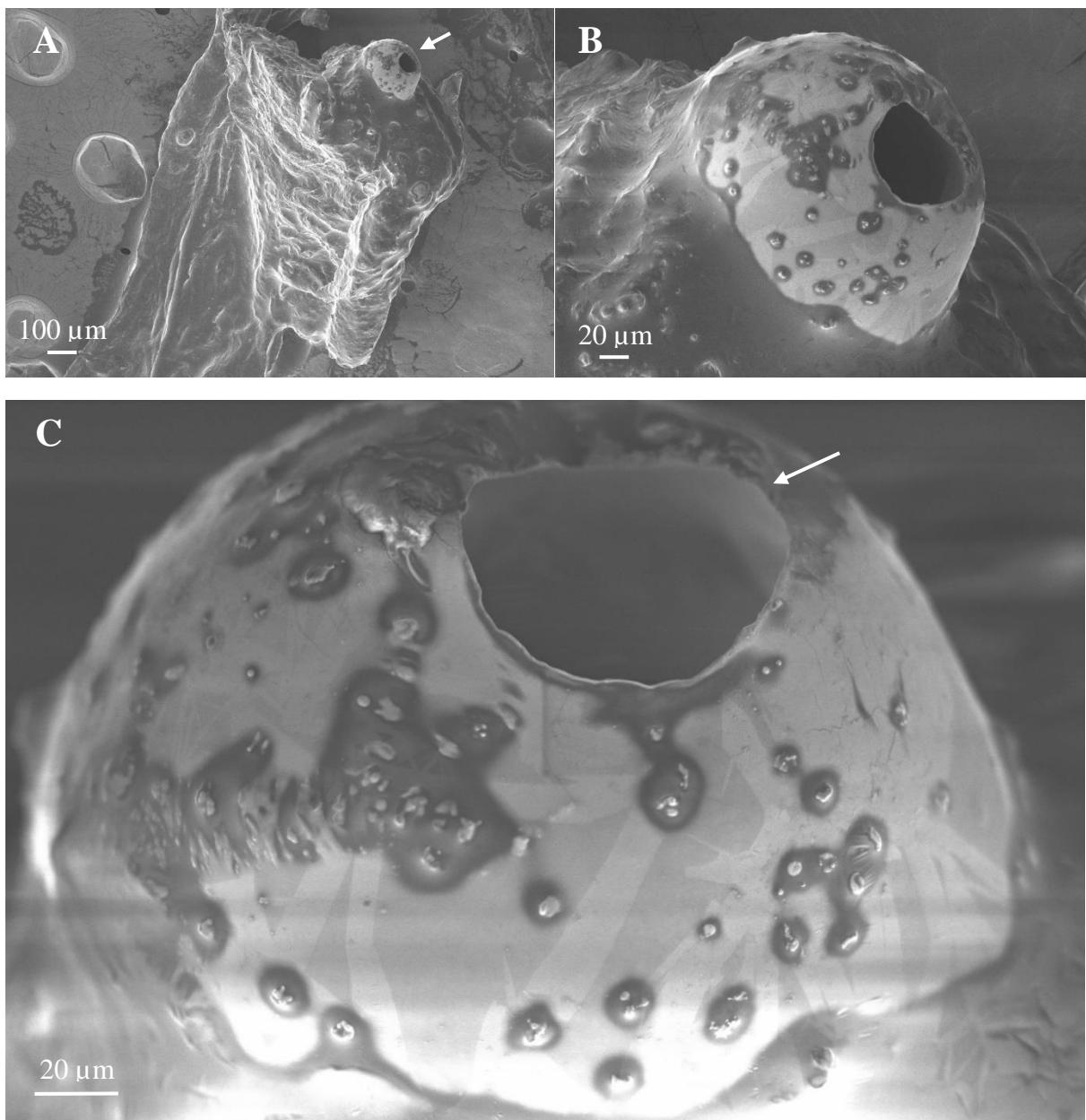


Figura 62. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de gata evidenciando detalhes da área rica em tecido adiposo. **A.** Note uma estrutura na superfície arredondada que se destaca na área adiposa (seta branca) em magnificação de 160x. **B.** Em maior magnificação (811x). **C.** Estrutura vista de frente, diâmetro de 240 μm , destacando sua abertura/ruptura (seta branca). Magnificação de 1,15Kx.

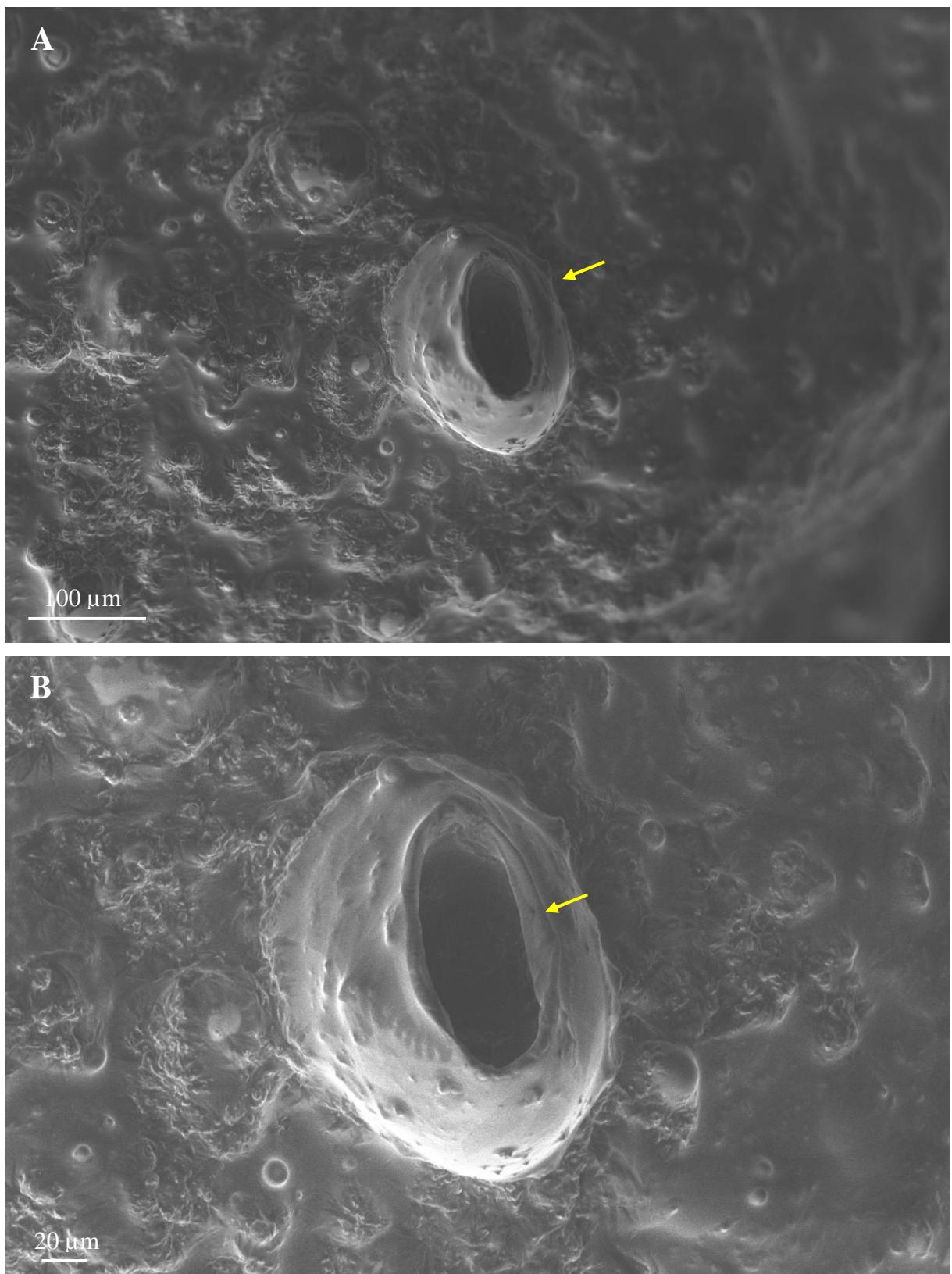


Figura 63. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de gata evidenciando detalhes da área rica em tecido adiposo. **A.** Note uma estrutura na superfície arredondada, com diâmetro de 152,5 μm , que se destaca na área adiposa (seta amarela). Magnificação de 368x. **B.** Em destaque sua abertura (seta amarela). Magnificação de 687x.

Na análise de toda superfície omental das gatas notamos em duas pacientes duas estruturas alongadas na área adiposa, como projeções omentais, que podem ser visualizadas na Figura 64.

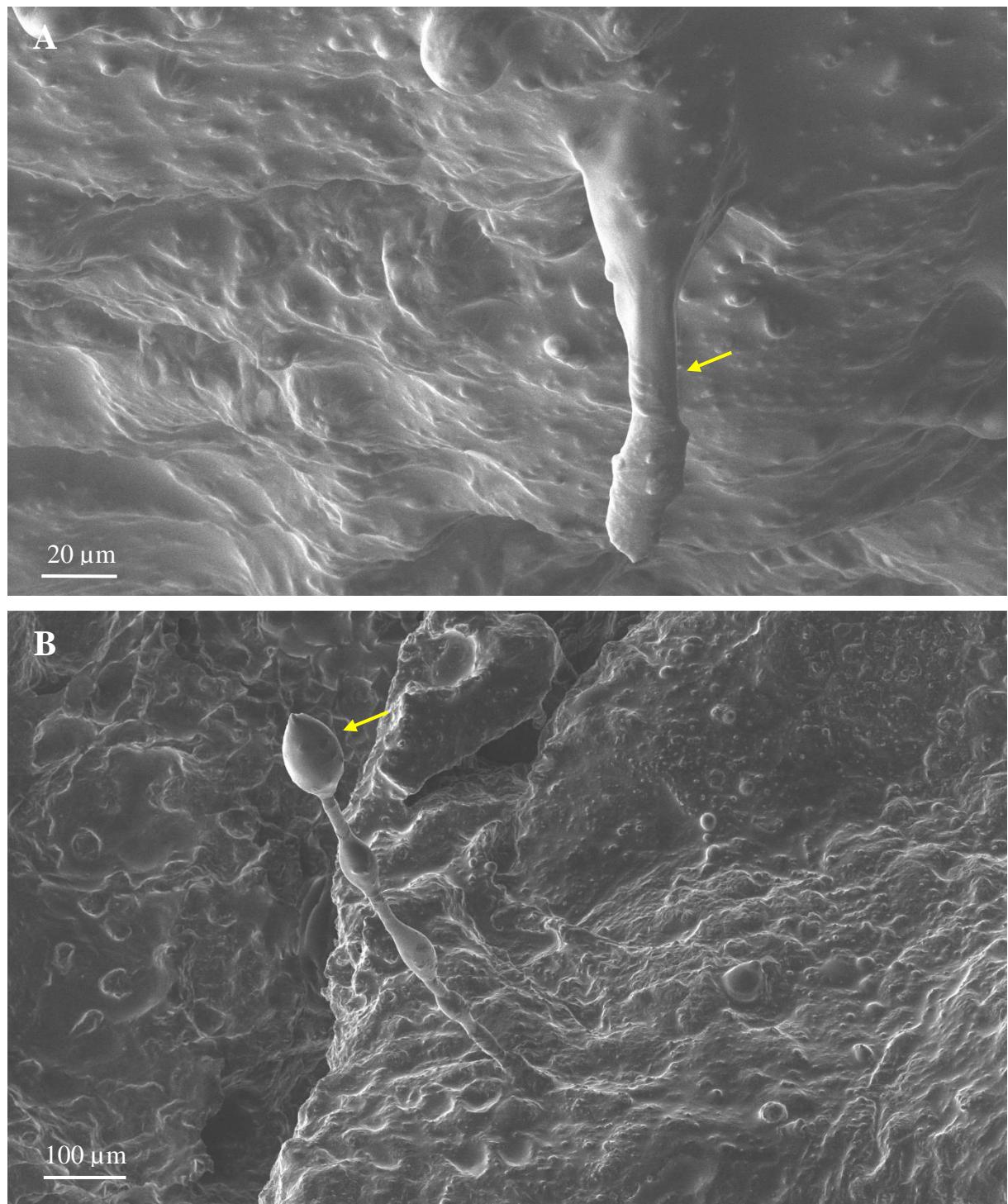


Figura 64. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de gata evidenciando detalhes da área rica em tecido adiposo. **A.** Note uma estrutura alongada (seta amarela) na superfície, com comprimento de 121,802 μm , que se destaca na área adiposa. Magnificação de 1,12Kx. **B.** Observe outra estrutura alongada (seta amarela), com comprimento de 559,5 μm na superfície. Magnificação de 241x.

Ao longo da superfície da área adiposa observamos aberturas que denominamos de poros em pelo menos duas pacientes, cujo diâmetro foi de 12,938 μm (Figura 65. **A**) e 63,380 μm (Figura 65. **B**).

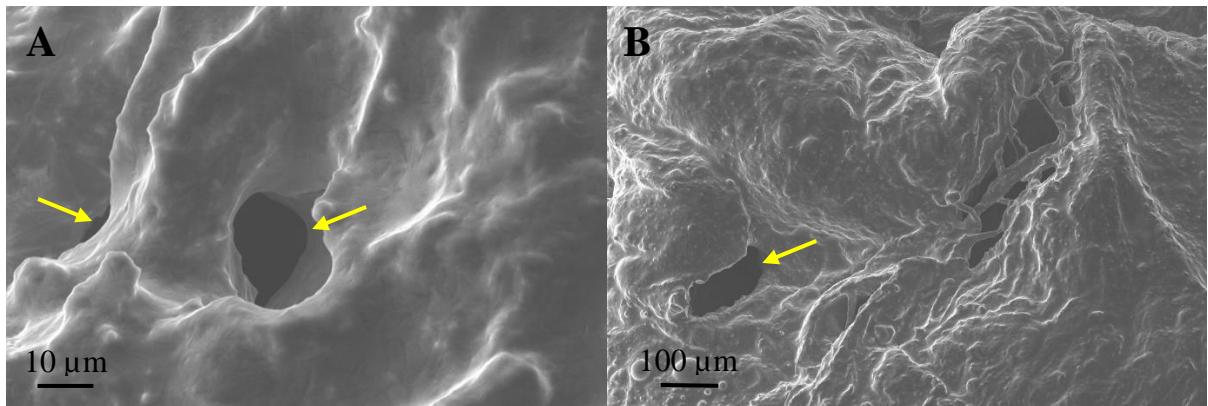


Figura 65. Microscopia eletrônica de varredura de amostra omental saudável de gata evidenciando detalhes da área rica em tecido adiposo. **A.** Note dois poros na superfície da área adiposa (seta amarela). Magnificação de 2,81Kx. **B.** Em evidência outro poro. Magnificação de 285x.

4.6 Microscopia Eletrônica de Transmissão

4.6.1 Microscopia eletrônica de transmissão das amostras omentais das cadelas

Foi perceptível, também pela microscopia eletrônica, as duas áreas distintas do omento: área translúcida (Tr) e rica em tecido adiposo (Ad). Na área Tr foi possível perceber seu revestimento por uma camada única de mesotélio, sendo que em alguns cortes ultrafinos, notamos a presença das células mesoteliais alongadas e com núcleo mais eletrodenso (Figura 66). Ainda, abaixo do mesotélio percebemos a camada submesotelial com tecido conjuntivo disperso, fibrilas de colágeno, eventuais fibroblastos e vasos sanguíneos espalhados de forma aleatória (Figura 66). Em volta dos vasos sanguíneos por vezes foram notadas células endoteliais que revestiam a estrutura (Figura 66 e 67. **A**). Em alguns cortes ultrafinos notou-se fibroblastos com feições características de intensa síntese proteica devido à dilatação das cisternas do retículo endoplasmático granular no citoplasma celular (Figura 67. **B**).

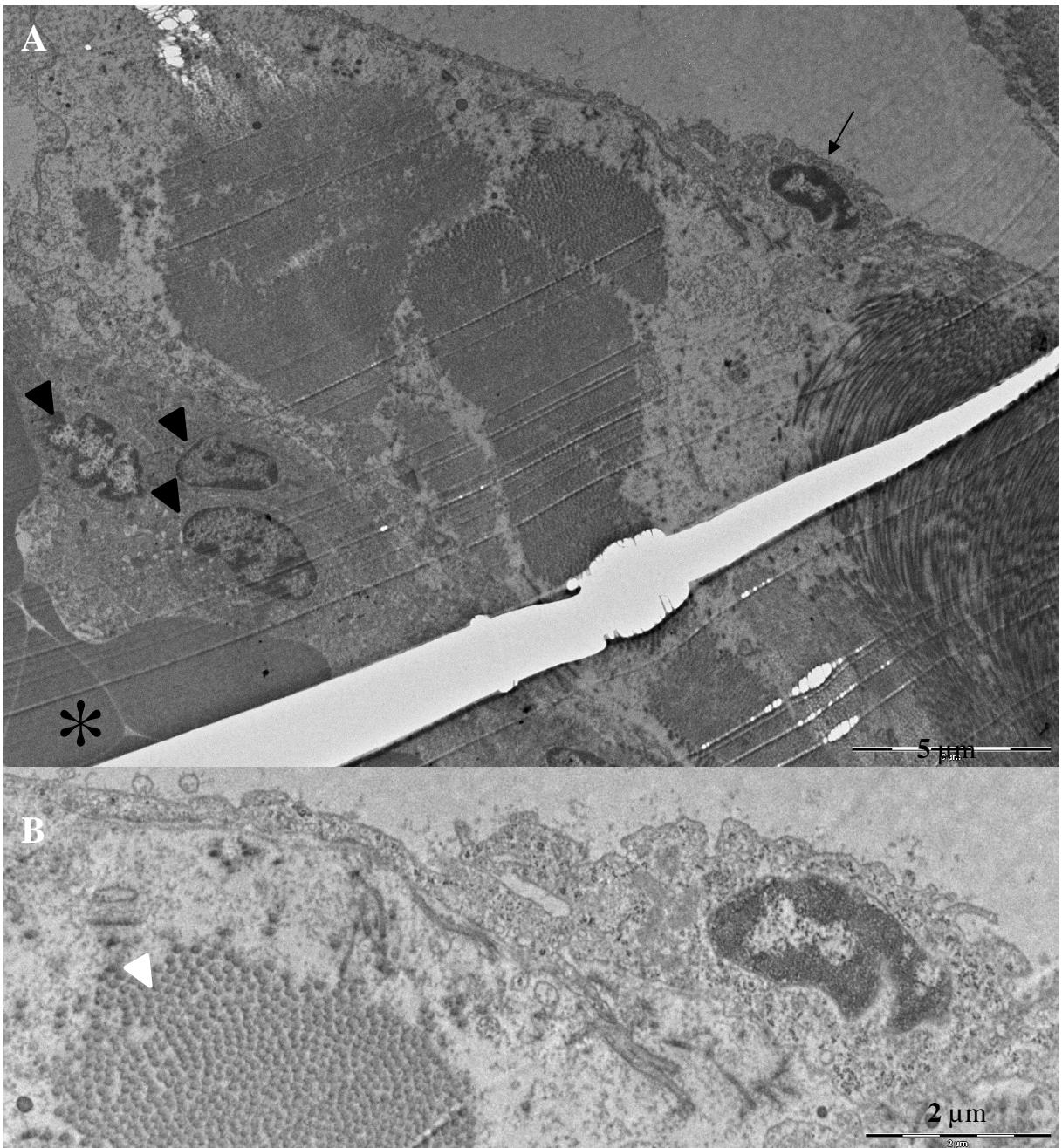


Figura 66. Microscopia eletrônica de transmissão de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área translúcida revestida por células mesoteliais e uma camada submesotelial. **A.** Note a célula mesotelial alongada (seta) e a camada submesotelial composta por tecido conjuntivo, fibrilas de colágeno e um vaso sanguíneo (asterisco) com suas células endoteliais no entorno (cabeça de seta). **B.** Note em destaque a célula mesotelial medindo 8,3 μ m e as fibrilas de colágeno (cabeça de seta branca).

Além de macrófagos, foram observados em uma das amostras da Cadela 4 (Figura 68) pelo menos 34 plasmócitos medindo em média 5,6 μ m de diâmetro, com seu retículo endoplasmático granular evidente localizado no citoplasma, característico destas células (Figura 69 e 70). Também foi notado nesta paciente a presença de uma célula desorganizada, possivelmente em processo de apoptose (Figura 70).

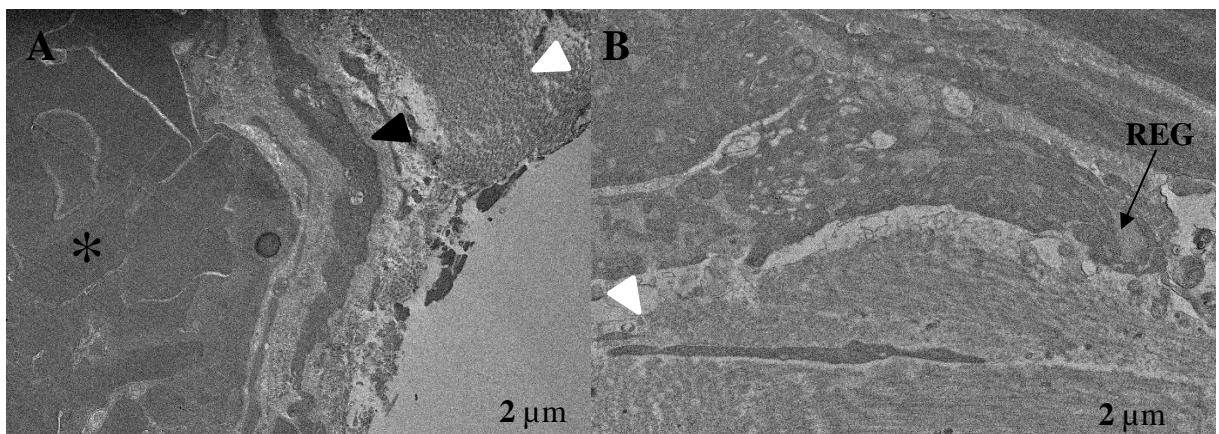


Figura 67. Microscopia eletrônica de transmissão de amostra de omento saudável de cadela evidenciando área translúcida revestida por células mesoteliais e uma camada submesotelial com inúmeras fibrilas de colágeno (cabeça de seta branca). **A.** Note um fibroblasto medindo 12 μm com seu núcleo alongado na camada submesotelial (cabeça de seta preta) e um vaso sanguíneo (asterisco). **B.** Observe o citoplasma de um fibroblasto com as cisternas do retículo endoplasmático granular dilatadas (seta preta) evidenciando intensa síntese proteica.

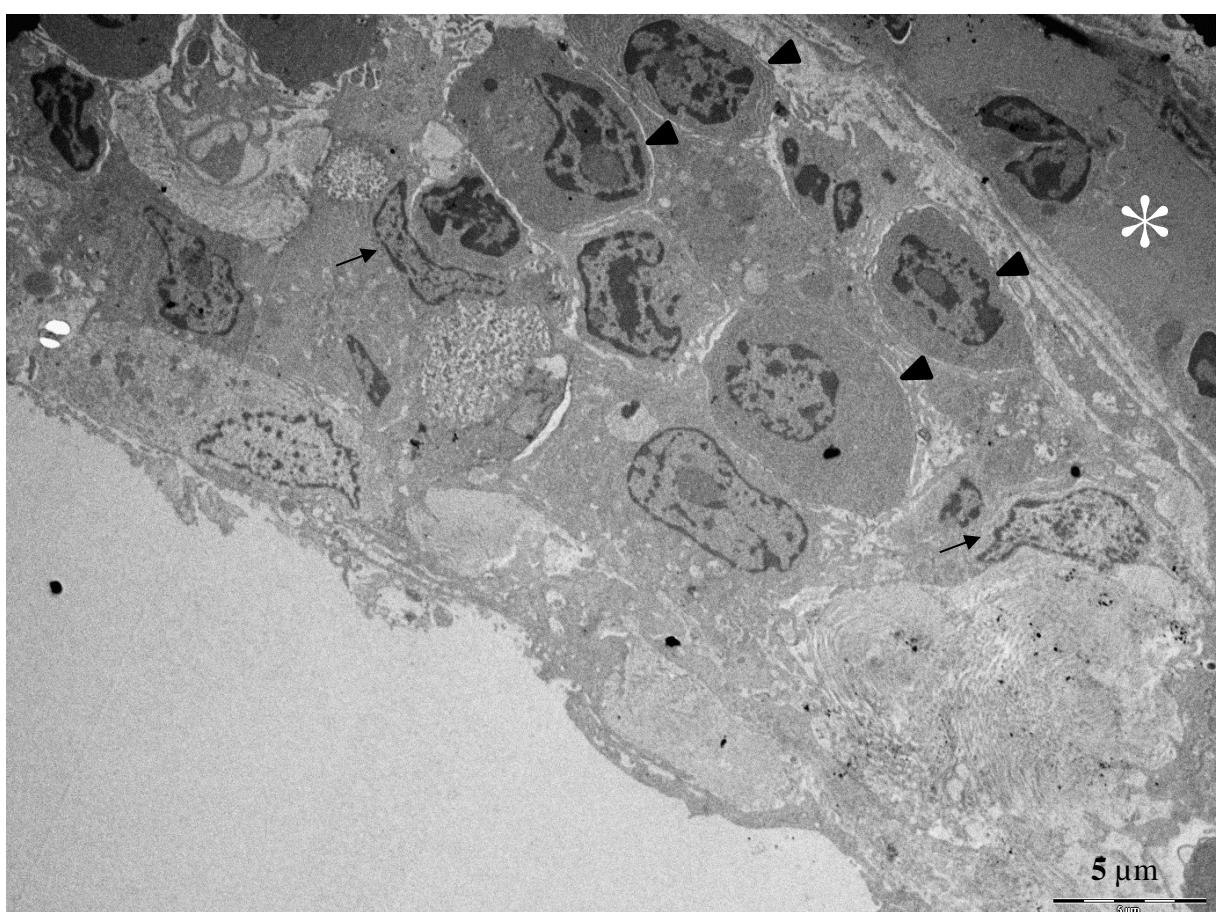


Figura 68. Microscopia eletrônica de transmissão de amostra omental saudável de cadela evidenciando infiltrado inflamatório em área translúcida. Note na camada submesotelial a presença de fibroblastos (seta) e plasmócitos (cabeça de seta), fibrilas de colágeno e um vaso sanguíneo (asterisco).

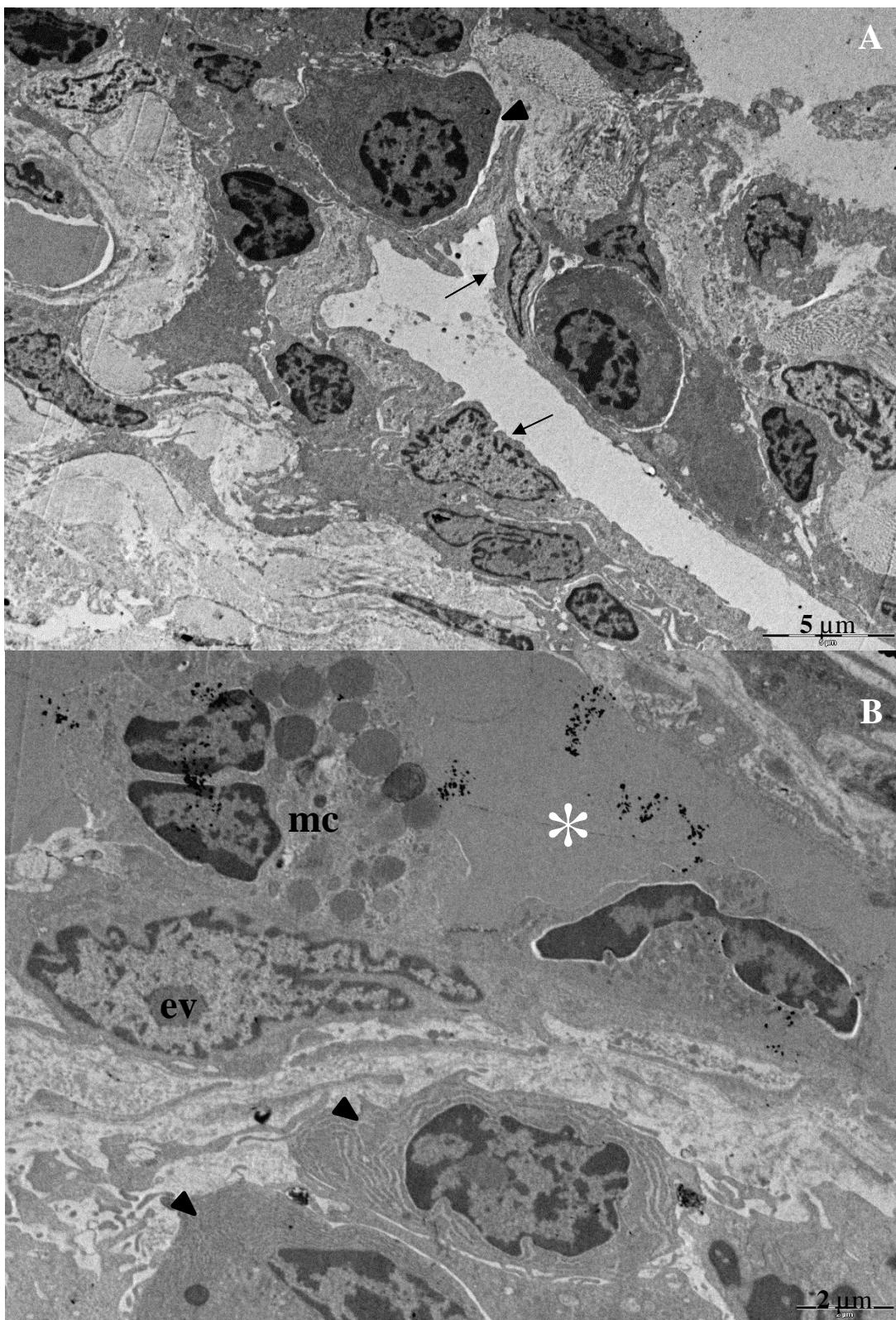


Figura 69. Microscopia eletrônica de transmissão de amostra omental saudável de cadela evidenciando infiltrado inflamatório misto em área translúcida (Tr). **A.** Note as células mesoteliais recobrindo a área Tr (seta) e na camada submesotelial a presença de plasmócitos (cabeça de seta), fibrilas de colágeno e tecido conjuntivo. **B.** Nota-se a presença de um vaso sanguíneo (asterisco), uma célula endotelial (ev), plasmócitos (cabeça de seta) perivasculares e um macrófago (**mc**) intravascular em processo de fagocitose.

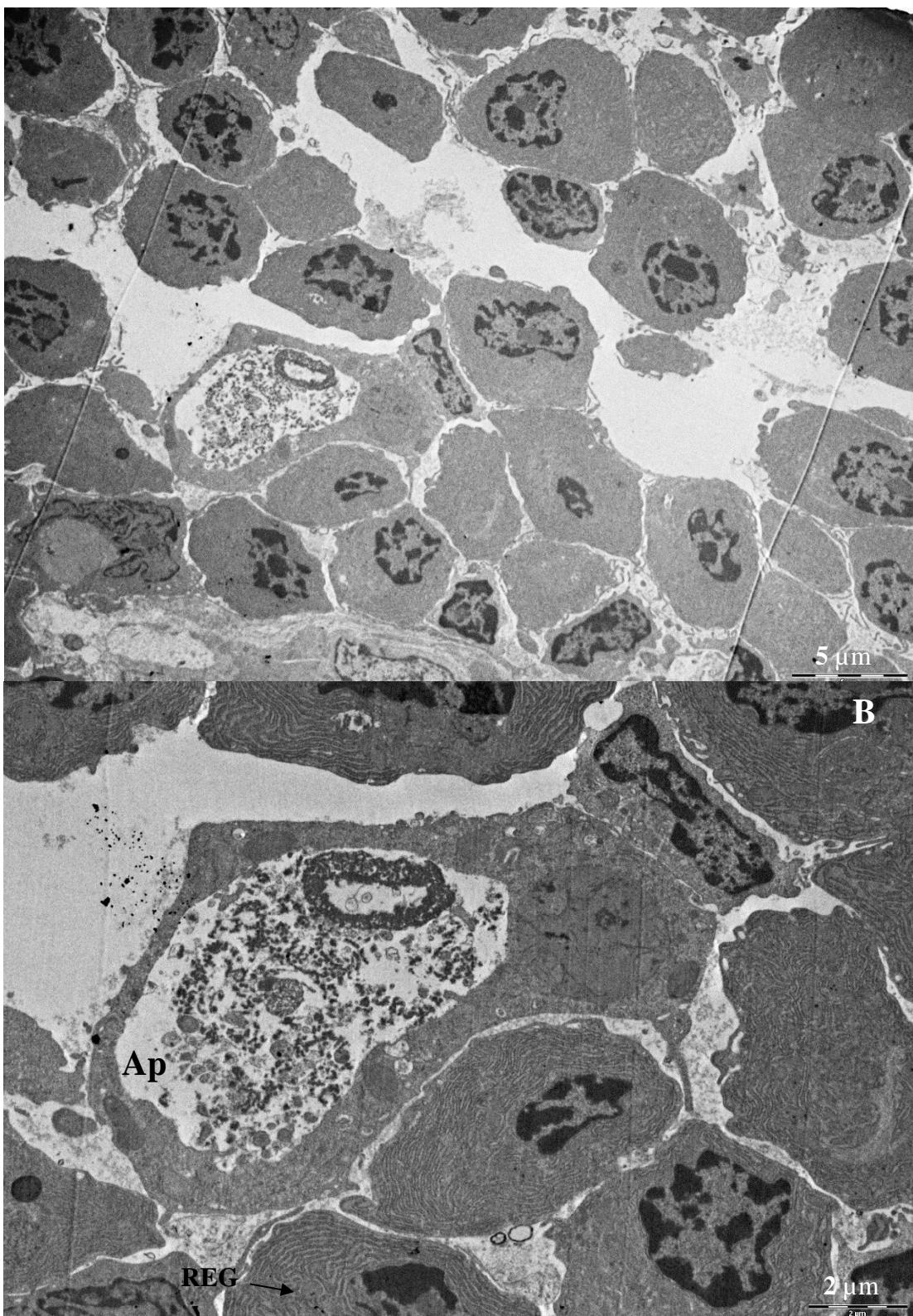


Figura 70. Microscopia eletrônica de transmissão de amostra omental saudável de cadelas evidenciando infiltrado inflamatório misto em área translúcida. **A.** Note a presença de inúmeros plasmócitos na camada submesotelial dispersos no tecido conjuntivo e uma célula em apoptose (**ap**). **B.** Com maior magnificação note as cisternas do retículo endoplasmático granular (**REG**) estreitas e paralelas dispersas no citoplasma dos plasmócitos.

A área rica em tecido adiposo na microscopia eletrônica de transmissão nas cadelas foi

visualizada facilmente, entretanto, pelos adipócitos serem células grandes em comparação às demais do omento, os cortes ultrafinos acabam revelando somente pequenas partes deles, e não foi encontrado o revestimento mesotelial desta região por esta análise. Notou-se o contato íntimo entre cada adipócito, como é visível na Figura 71. Em maior magnificação notamos que existem pequenos vacúolos na membrana celular do adipócito (3 animais), cujos diâmetros variaram entre $0,052 \mu\text{m}$ e $0,738 \mu\text{m}$, com média de $0,26 \mu\text{m}$ (Figuras 71 e 72). Nos cortes ultrafinos observou-se entre os adipócitos vasos sanguíneos e fibrilas de colágeno (Figuras 72 e 73), e as células endoteliais em diferentes cortes (Figura 73. A e B).

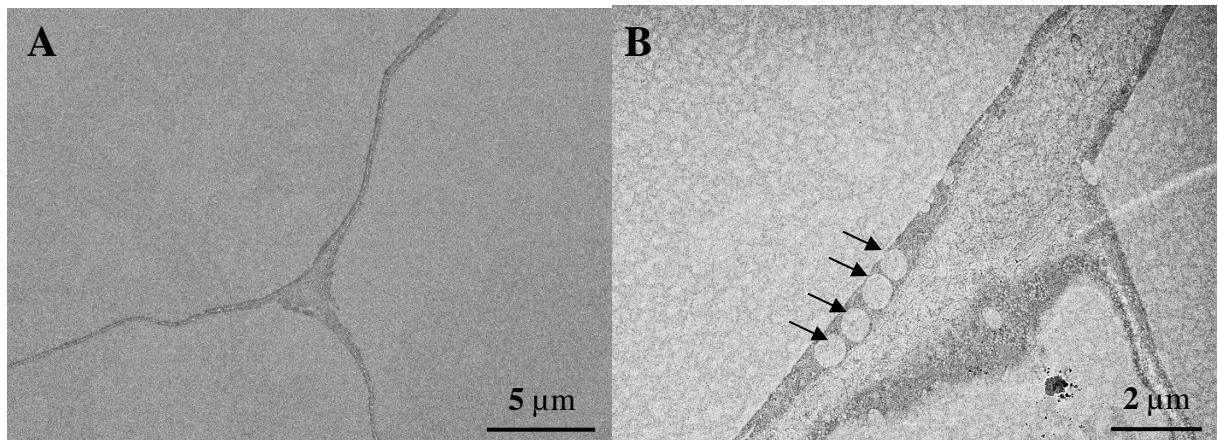


Figura 71. Microscopia eletrônica de transmissão de amostra omental saudável de cadela evidenciando área rica em tecido adiposo. **A.** Note o íntimo contato entre três adipócitos. **B.** Com maior magnificação note os vacúolos na membrana do adipócito (seta) e a matriz intercelular.

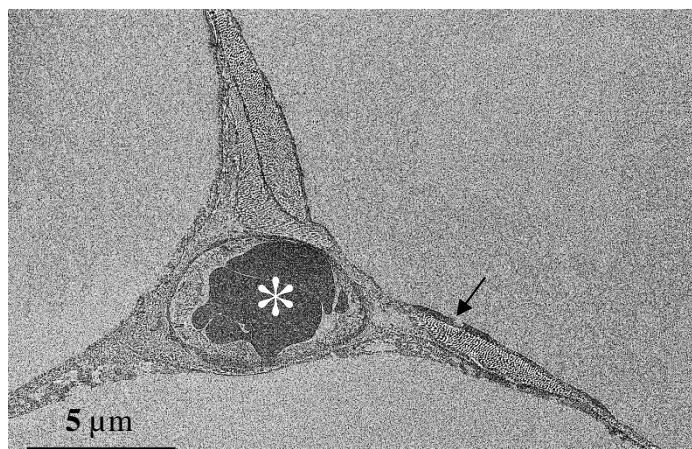


Figura 72. Microscopia eletrônica de transmissão de amostra omental saudável de cadela de área adiposa. Note um vaso sanguíneo (asterisco) em corte transversal entre três adipócitos além do vacúolo na membrana (seta) e as fibrilas de colágeno no interstício celular.

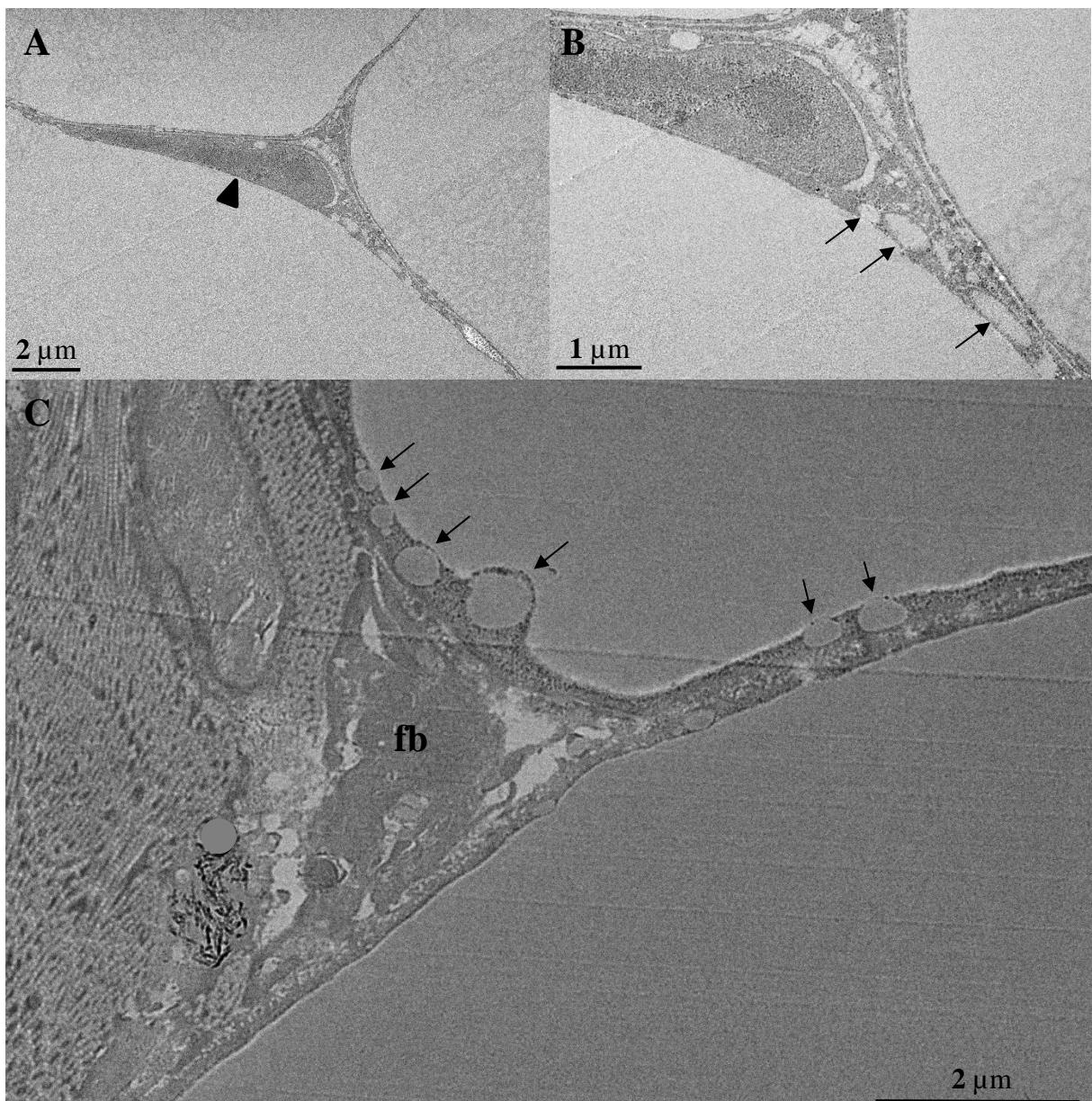


Figura 73. Microscopia eletrônica de transmissão de amostra omental saudável de cadela em evidência a área adiposa. **A.** Intersecção entre três adipócitos revelando o núcleo de uma célula endotelial (cabeça de seta). **B.** Em maior magnificação observe os vacúolos na membrana (seta) do adipócito. **C.** Região submesotelial da área adiposa repleta de fibrilas de colágeno e um fibroblasto em contato íntimo com dois adipócitos (**fb**) e os numerosos vacúolos na membrana do adipócito (seta).

4.6.2 Microscopia eletrônica de transmissão das amostras omentais das gatas

Durante a análise dos cortes ultrafinos das gatas alguns achados dificultaram a análise; eles apresentaram inúmeras dobras, pouco ou excesso de material contrastante e “dentes” da navalha de diamante muitos marcados no momento da análise. Estes achados atrapalharam a visualização da área translúcida, dessa forma, apenas a área adiposa foi registrada.

Na área rica em tecido adiposo não foi possível encontrar o revestimento mesotelial, notamos o íntimo contato entre as células adiposas e tecido conjuntivo na camada submesotelial (Figura 74). Assim como nas cadelas, devido ao fato de os adipócitos serem células grandes em comparação às demais do omento, os cortes ultrafinos acabam revelando somente pequenas

partes deles. Em maior magnificação notamos que existem pequenos vacúolos na membrana celular do adipócito (2 animais) cujos diâmetros variaram entre 0,25 μm a 0,729 μm , com média de 0,47 μm (Figuras 75 e 76). Alguns cortes ultrafinos revelaram os vasos sanguíneos entremeados entre os adipócitos, fibroblastos e fibrilas de colágeno (Figuras 75 e 76).

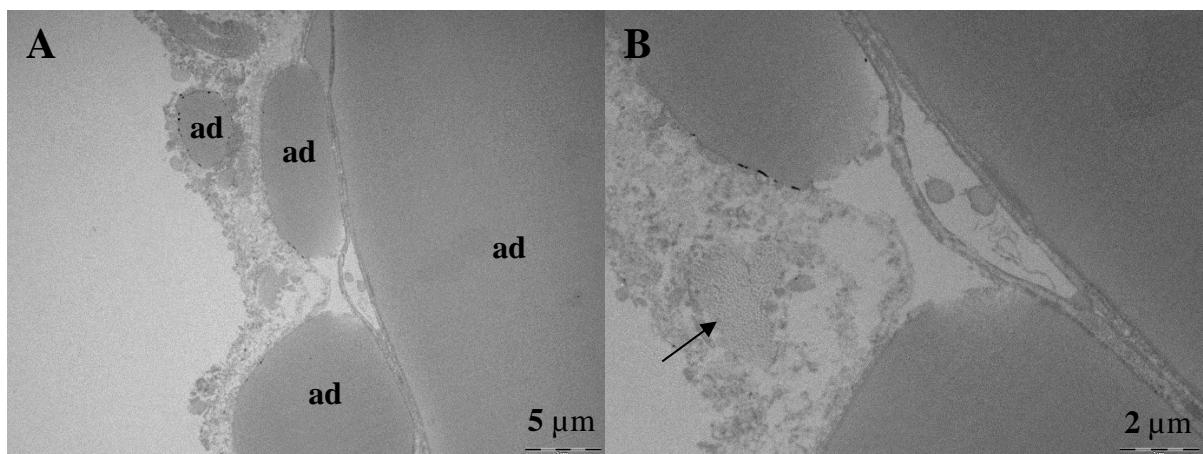


Figura 74. Microscopia eletrônica de transmissão de amostra omental saudável de gata evidenciando área rica em tecido adiposo. **A.** Note o íntimo contato entre quatro adipócitos (ad) e a camada submesotelial com tecido conjuntivo disperso e fibrilas de colágenos (seta) notadas em **B** com maior magnificação.

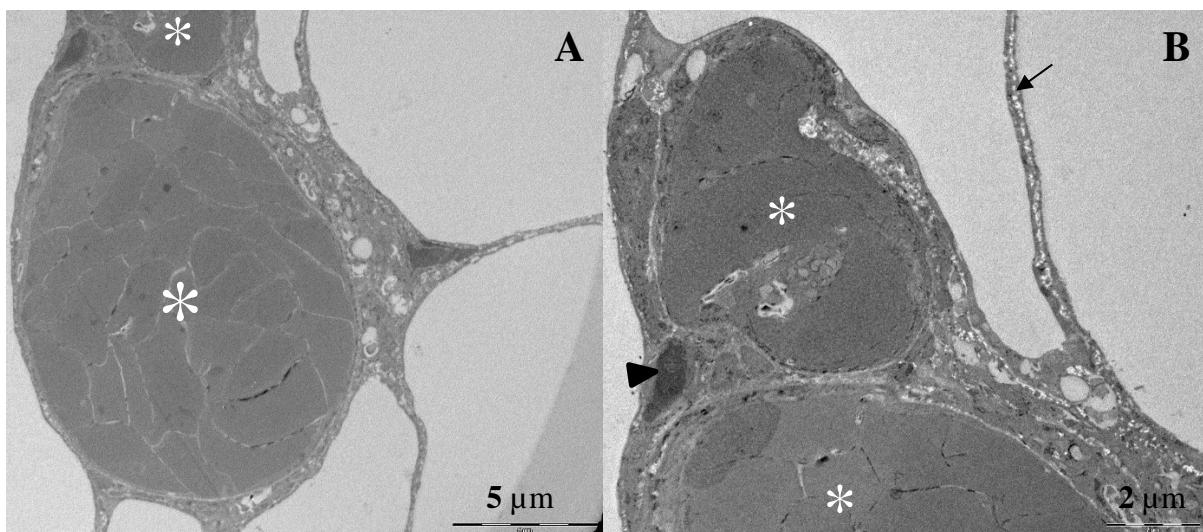


Figura 75. Microscopia eletrônica de transmissão de área adiposa de amostra omental saudável de gata. **A.** Interseção entre seis adipócitos e dois vasos sanguíneos (asterisco) entre eles. **B.** Núcleo de uma célula endotelial mais eletrodenso (cabeça de seta) e fibrilas de colágeno menos eletrodensas (seta).

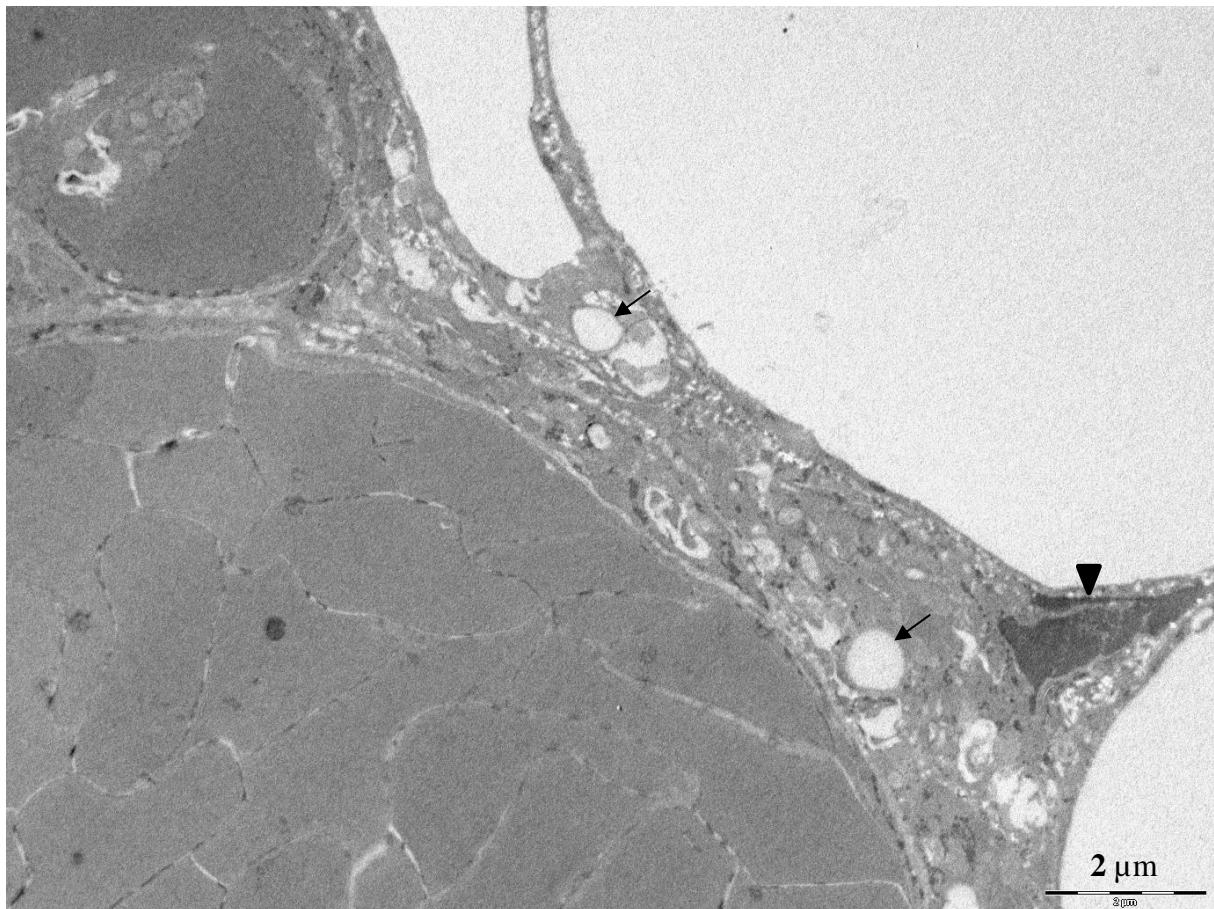


Figura 76. Microscopia eletrônica de transmissão de amostra omental saudável de gata em evidência a área adiposa. Em destaque note os vacúolos entre os adipócitos, o núcleo de um fibroblasto (cabeça de seta) e as fibras de colágeno com menor eletrodensidade (setas).

Nas imagens registradas de microscopia eletrônica dos 6 animais não foram visualizadas células inflamatórias na área adiposa.

5 DISCUSSÃO

Durante as análises macroscópica, por histologia, imunohistoquímica e microscopia eletrônica das amostras omentais de cadelas e gatas não foram encontradas as clássicas manchas leitosas (*Milky spots*), estruturas especializadas e organizadas presentes nas áreas ricas em tecido adiposo no omento do homem (LIU et al., 2016; WANG et al., 2019) e de ratos (WILKOSZ et al., 2005). Essas estruturas são compostas por mais de 600 células imunes (SHIMOTSUMA et al., 1991) em sua maioria macrófagos, e em menor quantidade, linfócitos B e T (KRIST et al., 1995; YILDIRIM et al., 2010; WANG et al., 2019). Ao contrário do observado nessas espécies, notou-se algumas células imunes, em maior número macrófagos, na área translúcida principalmente próximo aos vasos sanguíneos das cadelas e gatas.

Os omentos de cadelas e gatas, macroscopicamente, revelaram ser semelhantes no que se refere à presença de duas áreas distintas: uma área translúcida fina com aspecto de rede (repleta de fenestras) e uma rica em adipócitos, análogo ao observado no omento saudável de cães (HUYGHE et al., 2015), de ratos (WILKOSZ et al., 2005) e do homem (WILKOSZ et al., 2005; WANG et al., 2019). À manipulação e no preparo para as análises, o omento das gatas revelou

ser mais frágil, rompendo-se facilmente, principalmente na área translúcida.

Esclarecer a composição omental auxilia diretamente na compreensão de sua função e aplicação cirúrgica, tanto no interior da cavidade abdominal quanto extra peritonealmente. O revestimento omental nas espécies estudadas era composto por células mesoteliais distribuídas em uma camada única e contínua sobreposta à camada submesotelial constituída por diferentes células dependendo da região observada, assim como observado por outros autores na espécie canina (HUYGHE et al., 2015), em ratos e humanos (WILKOSZ et al., 2005). Esta composição era esperada uma vez que o omento é originário do peritônio que recobre as vísceras abdominais e as cavidades serosas (MUTSAERS, 2002; ISAZA-RESTREPO et al., 2018).

Na histologia das amostras omentais de cadelas e gatas, nos locais onde havia grupos de células inflamatórias, as células mesoteliais e a membrana basal aparentemente eram contínuas, distintamente do observado em ratos (WILKOSZ et al., 2005) e no homem (KRIST et al., 1995, YILDIRIM et al., 2010) cuja camada mesotelial era descontínua na altura dos aglomerados de células de defesa (MS), sugerindo abertura para possível migração celular. Não se verificou também descontinuidade das células mesoteliais e da membrana basal no único estudo realizado em cães saudáveis (HUYGUE et al., 2015). É provável que em animais com afecções abdominais seja possível observar mudança nessa conformação.

Apesar das células mesoteliais serem conhecidas pela presença de suas microvilosidades apicais (MUTSAERS, 2002; van BAAL et al., 2017), já visualizadas anteriormente em outras espécies (WILKOSZ et al., 2005; HUYGHE et al., 2015), nas análises de MET elas não foram observadas nos animais estudados. Provavelmente devido ao estado de saúde dos animais, uma vez que a densidade e a distribuição das microvilosidades podem modificar-se conforme o estado fisiológico ou patológico do paciente (YUNG & CHAN, 2012). Acredita-se que estas estruturas estejam associadas à captura de bactérias (WANG et al., 2013) e, portanto, devem manifestar-se em animais com afecções instaladas na cavidade abdominal, distintamente dos pacientes de nosso estudo que eram saudáveis.

A clássica apresentação de OALT (*Milky spot*), com cada agregado constituído por mais de 600 células imunes, como descrito em omento saudável de homens (SHIMOTSUMA et al., 1991), não pode ser confirmada em cadelas e gatas no exame microscópico. Macroscopicamente, à olho nu, também não havia indicações da presença de MS. Consequentemente, a presença de aberturas entre as células mesoteliais a nível dos MS, descritas em alguns estudos (KRIST et al. 1995; YILDIRIM et al., 2010), não foi identificada nos omentos caninos e felinos. No trabalho em cães, os agregados de células imunes, MS não ultrapassaram 25 células (HUYGUE et al., 2015).

Por outro lado, Wilkosz e colaboradores (2005), mencionam a presença de MS na área adiposa do omento de ratos, descrevendo-os como densos agregados de células inflamatórias, entretanto, não quantificam essas células e na única figura do trabalho que diz respeito às MS, esse agregado não tem mais que 600 células. Ao que tudo indica, para cães e gatos, e até mesmo em ratos, esses agregados podem não ser numericamente similares aos que ocorrem no homem, e esse aspecto precisaria ser melhor definido, para não haver confusão quanto à existência, ou não, dos MS nas espécies animais.

Em humanos e ratos, a população de células de defesa encontradas no omento (MS/OALT) situam-se na área rica em adipócitos (WILKOSZ et al., 2005; WANG et al., 2019). Porém, nas amostras de omento das cadelas e gatas avaliadas, estes achados foram distintos, tendo sido encontrado maior número de células imunes na área translúcida; compararamos o número de células coradas pelo marcador imunohistoquímico Iba 1 (macrófagos e células dendríticas) detectadas na área translúcida com a adiposa e houve diferença estatística significativa ($p = 0,034$) nas amostras de cadelas. Nas gatas, detectamos células coradas pelo Iba 1 somente na área translúcida. O mesmo quadro foi observado na análise histológica do omento de cadelas e gatas que havia mais células inflamatórias na região translúcida. Em quatro

cadelas havia mais de 50 células, entre macrófagos, neutrófilos e, em duas destas pacientes, plasmócitos. Nas demais cadelas havia raros neutrófilos e macrófagos próximo aos vasos sanguíneos. Nas gatas, junto aos vasos sanguíneos, havia na área translúcida agregados de até 5 neutrófilos e macrófagos em três animais, nos demais havia raros neutrófilos e macrófagos. Na área adiposa em ambas as espécies notaram-se raros neutrófilos junto aos vasos sanguíneos. Verificou-se maior número de células inflamatórias junto aos vasos sanguíneos em área de transição entre a área translúcida e adiposa.

Na análise por imunohistoquímica utilizamos o marcador Iba1 que detecta macrófagos e células dendríticas, e foi impossível em nossa análise a diferenciação destas células. Como os principais estudos que analisaram a composição do omento do homem (KRIST et al., 1995; YILDIRIM et al., 2010; LIU et al., 2016) revelaram um maior número de macrófagos nas MS, dessa forma, foi considerado em nosso trabalho que as células que foram imunomarcadas por este anticorpo nas amostras de cadelas e gatas, também sejam macrófagos.

No omento das espécies estudadas, em geral, foram encontrados parcisos linfócitos B e T maduros por meio da imunohistoquímica, principalmente na área translúcida. Nesta região omental, o número foi maior em uma cadelas, com 146 linfócitos B, 33 linfócitos T e 506 macrófagos e células dendríticas. A população de célula de defesa mais encontrada em cães foram os macrófagos e células dendríticas com variação de 0-506 células/5 campos, (animais com 94, 110, 145, 497 e 506 células/5 campos). Na espécie felina, detectamos 0-12 células/5campos (mediana 2 células/5campos). Acreditamos que a contagem de células imunes elevadas nas duas cadelas e em uma gata pode ter ocorrido devido às características individuais dos pacientes, pois estudos humanos detectaram algum grau de discrepância na proporção entre as células de defesa omentais (PLATELL et al., 2000; YILDIRIM et al., 2010), existindo também proporções variáveis de macrófagos e linfócitos observadas entre manchas leitosas individuais (LIU et al., 2015). A evidenciação celular pelo marcador Iba 1 foi mais significativa na região translúcida das cadelas e gatas estudadas à imunohistoquímica, considerando-se, portanto, que os macrófagos foram as células em maior número nessa região.

Na área translúcida de cadelas, pela imunohistoquímica algumas células foram coradas pelo marcador Iba1 de macrófagos, com variação de 0-31 células/5 campos, houve pouca marcação de linfócitos B (0-3 linfócitos B/5campos) e linfócitos T (uma paciente com 33 linfócitos T/5 campos). Estes achados são parecidos com estudos de MS não estimuladas de humanos que demonstraram acúmulo específico pré-formado, sobretudo de macrófagos no estroma omental, e secundariamente, por linfócitos B e T (KRIST et al., 1995; YILDIRIM et al., 2010; WANG et al., 2019). Yldirim e colaboradores (2010) descrevem que, em diferentes espécies, as MS podem ter uma função distinta em relação às populações de linfócitos.

Na área rica em tecido adiposo das cadelas, o número de células de defesa foi escasso, nenhuma célula foi corada pelos marcadores de linfócitos B e T; no marcador Iba1 foi possível notar entre 0-8 células/5 campos; três pacientes revelaram um número maior: 21, 31 e 51 células/5 campos (mediana 6 células/5 campos). Nas gatas, nenhuma célula foi corada pelos marcadores usados na imunohistoquímica na área adiposa. Em humanos, existe a hipótese de as MS reduzirem com a idade do paciente (LIU et al., 2016), entretanto, em animais esta relação ainda não foi estabelecida, e em nosso estudo a faixa etária não foi selecionada com o objetivo desta avaliação. Portanto, é necessário a realização de novos estudos com maior número de animais e distintas faixas etárias pré-selecionadas para observar a influência da idade na população imune omental.

Os achados da população imune residente no omento das cadelas e gatas foram discrepantes - observamos animais com raras células junto aos vasos e outros com mais de 500 células/5 campos. A composição e proporção das células imunes omentais demonstra-se variável conforme estudos publicados, tanto nos animais quanto no homem (KRIST et al., 1995; WILKOSZ et al., 2005; YILDIRIM et al., 2010; HUYGHE et al., 2015; LIU et al., 2015).

Inúmeras variáveis podem influenciar na população de células de defesa omentais, como por exemplo, em humanos acometidos por neoplasias na cavidade peritoneal, a população de linfócitos T torna-se maior, seguida pelos linfócitos B e macrófagos (LIU et al., 2015). Ainda, no homem, estas diferenças se justificam uma vez que as MS são focos de invasão e metástases de células tumorais intraperitoneais (LIU et al., 2016). Em animais, não há estudos que comparam a composição e proporção das células de defesa omentais em pacientes com neoplasias abdominais ou metástases omentais.

Além disso, na metodologia utilizada, a população de pacientes, o número de MS contadas, a especificação dos anticorpos monoclonais utilizados (KRIST et al., 1995; LIU et al., 2015) também podem influenciar na detecção das células imunes omentais. Fatores associados ao estado de saúde do animal talvez possam afetar a população de células de defesa omentais, pois em humanos, o número de MS se eleva em resposta à infecção, semelhante à resposta vascular à inflamação (LIU et al., 2016; WANG et al., 2019). Em humanos, Krist e colaboradores (1995) sugerem que o componente linfocítico dos MS poderia aumentar durante as peritonites e apresentarem a aparência de linfonodos. Portanto, novos estudos são necessários para analisar o omento de animais com afecções peritoneais a fim de avaliar a composição e proporção das células imunes neste tecido.

Uma vez que a marcação mais evidente na imunohistoquímica foi aquela produzida pelo marcador Iba 1, que identifica macrófagos e células dendríticas, consideradas apresentadoras de antígeno (APC's) pode-se especular que estes achados revelam função do omento na ativação dos linfócitos T, pois as APC's, por meio do processamento de antígenos, digerem parcialmente proteínas e geram peptídeos que se ligam às moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC). Este processo é essencial, uma vez que os linfócitos T não reconhecem as moléculas antigênicas nativas, somente àquelas com MHC na membrana celular (JUNQUEIRA, 2004). A função exata dos macrófagos omentais ainda não é clara, porém, em um estudo experimental com ratos, estas células do omento desempenharam papel importante na destruição de células tumorais o que sugere possível ação na prevenção de recorrências peritoneais locais (OOSTERLING et al., 2005).

A maior presença de macrófagos no omento saudável das espécies estudadas, provavelmente se dá como uma reserva ou população transitória destas células. As APC's desempenham um mecanismo relevante na defesa peritoneal, porque as células dendríticas possuem grande capacidade de capturar e processar antígenos, e na presença de inflamação ou penetração de antígenos, elas se tornam maduras e são atraídas para esses locais e, então, migram para os órgãos linfáticos ativando os linfócitos T (JUNQUEIRA, 2004). Como o omento tem grande capacidade de mobilidade e aderências peritoneais (KIRBY, 2017), estas células podem ser direcionadas por toda a cavidade abdominal através dele.

Os linfócitos T, presentes no omento das espécies estudadas, estão diretamente associados à imunidade celular, ou seja, eles reagem e matam células que exibem em sua superfície moléculas estranhas, como as bactérias ou células virais (JUNQUEIRA, 2004). Os linfócitos B estão associados à imunidade humoral quando ativados por antígenos, pois após proliferação e diferenciação, atuam na produção de anticorpos (plasmócitos) a fim de neutralizar e destruir moléculas estranhas. Tanto o linfócito B quanto o T não se distribuem de forma uniforme nos órgãos linfoides (JUNQUEIRA, 2004), então era esperado encontrá-los distribuídos de forma heterogênea no omento. Wang e colaboradores (2019) consideram que o omento e os MS sejam, estrutural e funcionalmente, projetados para isolar bactérias mecanicamente e limitar a propagação da infecção, ao mesmo tempo em que montam uma resposta imune humoral e citotóxica. Apesar dos MS não terem sido observados no omento das cadelas, linfócitos B e T foram marcados nas análises por imunohistoquímica o que sugere que estas funções possam ocorrer nesta espécie.

Na MEV da superfície da área rica em tecido adiposo foram observadas inúmeras

estruturas arredondadas que se projetavam externamente nas duas espécies. Acreditamos que se tratavam de adipócitos, uma vez que os adipócitos do tecido adiposo unilocular podem aumentar de tamanho, conforme acumulam gordura em seu interior. Suas funções provavelmente estão associadas à reserva de gordura, uma das características omentais mais conhecida (DOOM et al., 2014; HUYGHE et al., 2015).

Os “poros” observados sob microscopia eletrônica de varredura e transmissão nas amostras omentais das duas espécies, tanto na superfície da área translúcida quanto na adiposa, podem facilitar a entrada de substâncias em contato com células inflamatórias e outros mediadores imunológicos omentais (WANG et al., 2019). Além dos poros, observou-se nas áreas translúcidas das duas espécies à MEV, inúmeras fenestrações com aparência de uma malha, semelhante a uma rede demonstradas anteriormente em ratos (WILKOSZ et al., 2005), em gatos (OWAKI et al., 2012) e em cães (HUYGHE et al., 2015). A conformação da área translúcida pode contribuir para adesão e migração transcelular, funções do omento (ISAZA-RESTREPO et al., 2018). Ainda, sendo o omento derivado de peritônio, os poros e as fenestrações podem estar associados ao transporte de fluidos e solutos na cavidade abdominal, uma vez que o peritônio atua no transporte seletivo de fluidos (MUTSAERS, 2002; SUSAN E TAK MAO, 2012; van BAAL et al., 2017).

Acreditamos que as estruturas arredondadas com minúscula abertura central (0,15-0,25mm de diâmetro) observadas à MEV, que se projetavam na área adiposa omental de cadelas e gatas, correspondam aos estômatos linfáticos. O estômato linfático é a cavidade formada na junção de duas ou mais células mesoteliais (MUTSAERS, 2002), que comunica diretamente o sistema linfático às cavidades serosas para atuar como um tipo de “canal”, relevante para a migração de células de defesa, resposta inflamatória e drenagem de fluidos do peritônio (WANG et al., 2010). Estas estruturas também foram consideradas presentes no omento do homem (MUTSAERS, 2002; WANG et al., 2010). Podem ser essenciais na presença de infecções abdominais, uma vez que são consideradas o portal de entrada na cavidade peritoneal para células de defesa em resposta a tal afecção (WANG et al., 2019).

Os achados da histologia, imunohistoquímica e ultraestrutura do omento saudável de cadelas e gatas demonstram que, apesar da ausência de MS, os quais tem organização específica, estrutura e composição bem descrita em humanos (LIU et al., 2016; WANG et al., 2020), o omento pode abrigar um número variável de células de defesa, e pode desempenhar papel relevante no combate às doenças instaladas na cavidade abdominal. Na cirurgia reparadora, a utilização deste tecido é frequente e esta reserva de população imune pode ser direcionada extraperitonealmente, quando o omento é utilizado em enxertos pediculados ou livres em outras cavidades ou na superfície corporal. Este recurso é bem explorado na cirurgia veterinária (FRANKLIN et al., 2011; STEGEN et al., 2015; MOURA, 2017; KIRBY, 2017; MACPHAIL & FOSSUM, 2019).

Os gatos, que possuem inúmeras dificuldades no reparo cutâneo em comparação aos cães (BOHLING et al., 2006), podem ser beneficiados com retalhos de omento, pois a presença de APC’s e outros recursos, como os estômatos linfáticos no omento felino, podem representar mecanismos importantes na limpeza e combate à infecção em feridas cutâneas. Em humanos, hipotetiza-se que o número exacerbado de macrófagos em locais de infecção em pacientes com peritonite se dá devido à maciça migração destas células a partir do omento, uma vez que o trabalho de Di Nicola (2019) demonstrou que esse tecido auxiliou na migração ativa à região afetada rica em macrófagos; isto indica que o omento é uma fonte de macrófagos para o reparo intrabdominal e, consequentemente, pode ter efeito semelhante em aplicações fora dessa cavidade. Além disso, a presença de células-tronco omentais contribuem para as propriedades clinicamente relevantes desse tecido durante a cicatrização e controle da infecção (WANG et al., 2019), o que pode ser valioso no reparo de feridas em gatos.

Os benefícios da aplicação do omento em cirurgia oncológica reconstrutiva ainda não foram bem estudados em animais, tendo sido encontrado somente um relato na literatura veterinária com seu uso na forma livre em grandes defeitos cutâneos em dois cães (FERNANDES et al., 2018), com participação da autora. Estudos em ratos e humanos sugerem que o omento contribui para a recidiva de neoplasias devido à peculiar e rica vascularização pró angiogênica presente em torno das MS (SORENSEN et al., 2009; KOPPE et al., 2014) e ao fato de as células tumorais contidas no líquido peritoneal ligarem-se preferencialmente às MS (SORENSEN et al., 2009). Entretanto, como em cadelas e gatas não foram identificadas MS, a influência destas estruturas no desenvolvimento tumoral pode ser consideravelmente modificada.

6 CONCLUSÃO

O omento de cadelas e gatas quando avaliado, sem qualquer doença peritoneal, revelou ter estrutura anatômica semelhante ao observado em ratos e no homem: composto por duas regiões, translúcida e rica em tecido adiposo, revestidas por células mesoteliais distribuídas em uma camada única e contínua, sobreposta à camada submesotelial, e constituída por diferentes células, dependendo da região observada. As células mesoteliais que recobrem o omento de cadelas e gatas não apresentam descontinuidade na altura de aglomerados de células imunes, distinto do observado no omento do homem e de ratos.

A clássica apresentação de OALT (*Milky spots*), com cada agregado constituído por mais de 600 células imunes, como descrito em omento saudável de homens, não pode ser confirmada em cadelas e gatas. Não foram notadas tais regiões especializadas, apenas aglomerados de células de defesa, em especial, macrófagos, seguidas de linfócitos B e T; especialmente, na região translúcida destas espécies, revelam papel importante deste tecido na defesa imune inata e humoral.

A presença de estômatos linfáticos e poros na superfície do omento, e fenestrações nas regiões translúcidas, sugerem mecanismos que podem facilitar a passagem das células de defesa e transporte através da superfície omental.

A estrutura do omento nas espécies estudadas revela a presença de mecanismos que podem contribuir para sua aplicação na cirurgia veterinária, como auxílio ao reparo tecidual.

Devido à ausência das MS, a relação do omento com as neoplasias em cães e gatos precisa ser melhor estabelecida, visando-se a possibilidade de sua aplicação em feridas por exéreses de massas tumorais.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGNER, C.; YEOMANS, D.; DUJOVNY, M. The neurochemical basis for the applications of the greater omentum in neurosurgery. **Neurological Research**, v.23, p.7-15, 2001.
- APPARÍCIO, M.; VICENTE, W.R.R.; PIREZ, E.A.; MOSTACHIO, G.Q.; RIBEIRO, A.P.C.; COVIZZI, G.J.; GADELHA, C.R.F.; CARVALHO, M.B. Omentalização prostática em cães, **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.43, n.6, p.754-761, 2006.
- AZARI, O.; MOLAEI, M.M.; KHEIRANDISH, R.; ALIABAD, S.H.; SHADDEL, M. Effect

of autologous omental free graft on wound healing process in experimental cervical oesophagus incision in dog: short-term preliminary histopathological study. **Comparative Clinical Pathology**, Londres, v.21, p.559–563, 2012.

BAILEY, A.P.; SCHUTT, A.K.; PASTORE, L.M.; STOVALL, D.W. Pelvic pedicle omental flaps and autologous free omental grafts in a rabbit model. **Fertility Research and Practice**, Londres, v.1, n.3, p.1-6, 2015.

BALTZER, W. I.; COOLEY, S.; WARNOCK, J. J.; NEMANIC, S.; STIEGER-VANAGAS, S. M. Augmentation of diaphyseal fractures of the radius and ulna in toy breed dogs using a free autogenous omental graft and bone plating. **Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology**, Alemanha, v.28, n.2, p.131–139, 2015.

BIGHAM-SADEGH, A.; MIRSHOKRAEI, P.; KARIMI, I.; ORYAN, A.; APARVIZ, A.; SHAFIEI-SARVESTANI, Z. Effects of Adipose Tissue Stem Cell Concurrent with Greater Omentum on Experimental Long-Bone Healing in Dog. **Connective Tissue Research**, Reino Unido, v.53, n.4, p.334–342, 2012.

BOHLING, M.W.; HENDERSON, R.A.; SWAIM, S.F. Comparison of the role of the subcutaneous tissues in cutaneous wound healing in the dog and cat. **Veterinary Surgery**, Reino Unido, v.35, p.3–14, 2006.

BOZZOLA, J.J. The Past, Present, and Future of Electron Microscopy. In: BOZZOLA, J.J. **Electron microscopy: principles and techniques for biologists**. 2 ed. Boston: Jones & Bartlett, Cap. 1, p.31, 1999.

BROCKMAN, D.J.; PARDO, A.D.; CONZEMIUS, M.G.; CABELL, L.M.; TROUT, N.J. Omentum-enhanced reconstruction of chronic nonhealing wounds in cats: techniques and clinical use. **Veterinary Surgery**, Reino Unido, v.25, p.99-104, 1996.

BUDRAS, K.D.; HOROWITZ, A.; WUNSCHE, A. Abdominal cavity. **Anatomy of the dog**. 3 ed. Hannover: Schlutersche, p. 50-57, 2002.

BUDRAS, K.D.; FRICKE, W.; MCCARTHY, P.H.; RICHTER, R. **Anatomy of the Dog: An Illustrated Text**. 5 ed. Hannover: Schlutersche, 224 p., 2007.

CAMPBELL, B.G. Omentalization of a nonresectable uterine stump abscess in a dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, EUA, v.224, n.11, p.1799–1803, 2004.

CAMPOS, A.C.S.; FERNANDES, M.E.S.L.; LIMA, V.T.; FERNANDES, B.A.; COELHO, C.M.M.; SILVA, M.F.A. Ovariosalpingohysterectomy Technique Adapted in Bitches (*Canis familiaris*): Advantages and Limitations. **Acta Scientiae Veterinariae**, Rio Grande do Sul, v.48, n.1718, p.1-6, 2020.

CASTRO, L.A.S. **Processamento de amostras para microscopia eletrônica de varredura**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p. 10-11,17, 2001.

CORNELL, K.; TOBIAS, K.M. Pancreas. In.: TOBIAS, K.M.; JOHNSTON, S.A. **Veterinary Surgery – Small Animal**. 2 ed. St. Louis: Elsevier. Cap.97, p. 4389-4424, 2017.

DE SOUZA, W. **Técnicas de Microscopia Eletrônica Aplicadas às Ciências Biológicas**. 3 ed. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microscopia, p.410-411, 2007.

DI NICOLA, V. Omentum a powerful biological source in regenerative surgery. **Regenerative Therapy**, Amsterdam, v.11, p.182–191, 2019.

DI PAOLO, N.; SACCHI, G.; GAROSI, G.; SANSONI, E.; BARGAGLI, L.; PONZO, P.; TANGANELLI, P.; GAGGIOTTI, E. Omental milky spots and peritoneal dialysis — review and personal experience. **Peritoneal Dialysis International**, Reino Unido, v. 25, p. 48–57, 2005.

DOOM, M.; DE ROOSTER, H.; VAN BERGEN, T.; GIELEN, I.; KROMHOUT, K.; SIMOENS, P.; CORNILLIE, P. Morphology of the Canine Omentum Part 1: Arterial Landmarks that Define the Omentum. **Anatomia, Histologia, Embriologia**, Alemanha, v.45, n.1, p.37–43, 2014.

DYCE, K.M.; SACK, W.O.; WENSING C.J.G. O Aparelho digestório. In: **Tratado de anatomia veterinária**. 4 ed, Cap.3. Rio de Janeiro: Elsevier, p.252 e 253, 2010.

EVANS, H.E.; DE LAHUNTA, A. **Miller's anatomy of the dog**. 4. ed. St Louis: Saunders/Elsevier, 2013.

FALCÃO, M.V.C.; RAMOS, C.V.R.; TEIXEIRA, A.C.S.C.; MOURA, A.P.R.; CORRÊA, C.G.; TEIXEIRA, J.G.C.; HENRIQUES, M.O.; SILVA, M.F.A. Retalho de omento como adjuvante no reparo cutâneo na pseudocicatrização em gatos - Relato de caso. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v.38, n.2, p.75-80, 2016.

FERNANDES, M.E.S.L.; CAMPOS, A.C.S.; PETRY, L.C.; CAMPOS, F.S.; OLIVEIRA, F.R.; PINTO, J.V.; PEIXOTO, A.J.R.; SILVA, R.S.S.; SILVA, M.F.A. Aplicação de enxerto de omento em leito potencialmente infectado em face de cão após maxilectomia parcial por neoplasmas malignos: relato de dois casos. **Investigação**, v.17, n.4, 61p., 2018. Disponível em: <http://publicacoes.unifran.br/index.php/investigacao/article/view/2749>. Acesso em: 28 de junho de 2023.

FERNANDES, M.E.S.L. **Influência do enxerto omental livre na cicatrização de feridas cutâneas experimentais em coelhos**. 2020. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária – Patologia e Ciências Clínicas. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2020.

FERNANDES, M.E.S.L.; PEIXOTO, A.J.R.; CAMPOS, A.C.S.; BORGES, D.A.; PEREIRA, G.O.; OLIVEIRA, J.; OLIVEIRA, L.M.S.; NOGUEIRA, V.A.; JORGE, S.F.; SILVA, M.F.A. Free omental graft without vascular microanastomosis in the cutaneous wound healing of rabbits. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.74, n.5, p.785-799, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-12700>. Acesso em: 28 de junho de 2023.

FERRO, A.B. **Imunohistoquímica**. Lisboa: Escola superior de tecnologia da saúde de Lisboa-livros, p.1-3, 2014.

FRANKLIN, A.; FEARNSIDE, S.; BRAIN, P. Omentalisation of a caudal mediastinal abscess in a dog. **Australian Veterinary Journal**, Australia, v.89, n.6, p.217–220, 2011.

GALLETI, S.R., Introdução à microscopia eletrônica. **Instituto Biológico**, São Paulo, v.65, n.1/2, p.33-35, jan./dez., 2003.

GRAY, M.J. Chronic axillary wound repair in a cat with omentalization and omocervical skin flap. **Journal of Small Animal Practice**, Reino Unido, v.46, n.10, p.499-503, 2005.

HALL, J.C.; HEEL, K.A.; PAPADIMITRIOU, J.M.; PLATELL, C. The pathobiology of peritonitis. **Gastroenterology**, Egito, v.114, p.185, 1998.

HAYARI, L; HERSHKO D.D.; SHOSHANI H.; MAOR R.; MORDECovich D.; SHOSHANI G. Omentopexy improves vascularization and decreases stricture formation of esophageal anastomoses in a dog model. **Journal of Pediatric Surgery**, EUA, v. 39, n. 4, p. 540-544, 2004.

HEEL, K. A.; HALL, J. C. Peritoneal defences and peritoneum-associated lymphoid tissue. **British Journal of Surgery**, Reino Unido, v.83, n.8, p.1031–1036, 1996.

HYUGHE, S.; DE ROOSTER, H.; DOOM, M.; VAN DEN BROECK, W. The microscopic structure of the omentum in healthy dogs: the mystery unravelled. **Anatomia, Histologia, Embryologia Journal of Veterinary Medicine**, Alemanha, v.45, p.209-218, 2015.

ISAZA-RESTREPO, A.; MARTIN-SAAVEDRA, J.S.; VELEZ-LEAL, J.L.; VARGAS-BARATO, F.; RIVEROS-DUEÑAS, R. The Peritoneum: Beyond the Tissue – A Review. **Frontiers in Physiology**, Suíça, v.9, p.738, 2018.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Sistema Imunitário e Órgãos Linfáticos. In: **Histologia básica**. 10. ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro. Cap. 14. p. 298-306, 2004.

KIRBY, B.M. Peritônio e cavidade peritoneal. In.: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. Vol.1. 3.ed. Barueri, SP: Manole, cap.30, 414-445, 2007.

KIRBY, B.M. Peritoneum and Retroperitoneum. In.: TOBIAS KM, JOHNSTON SA. **Veterinary Surgery – Small Animal**. St. Louis:Elsevier. 2 ed. Cap. 86, 1392-1423, 2017.

KONIG, H.E., LIEBICH, H-G. **Anatomia dos animais domésticos: texto e atlas colorido**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, p. 52 e 335-341, 2016.

KOPPE, M. J.; NAGTEGAAL, I. D.; DE WILT, J. H. W.; CEELEN, W. P. Recent insights into the pathophysiology of omental metastases: pathophysiology of omental metastases. **Journal of Surgical Oncology**, EUA, v.110, n.6, p.670–675, 2014.

KRIST, L. F. G.; EESTERMANS, I. L.; STEENBERGEN, J. J. E.; HOEFSMIT, E. C. M.; CUESTA, M. A.; MEYER, S.; BEELEN, R. H. J. Cellular composition of milky spots in the human greater omentum: An immunochemical and ultrastructural study. **The Anatomical Record**, EUA, v.241, n.2, p.163–174, 1995.

LIEBERMANN, M.D. The great omentum: anatomy, embryology and surgical applications. **Surgical Clinics of North American**, EUA, v. 80, p.275-93, 2000.

LIU, J-Y; YUAN, J-P; GENG, X-F; QU, A-P; LI, Y. Morphological study and comprehensive cellular constituents of milky spots in the human omentum. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, EUA, v.8, n.10, p.12877–12884, 2015.

LIU, J.; GENG, X.; LI, Y. Milky spots: omental functional units and hotbeds for peritoneal cancer metastasis. **Tumor Biology**, Holanda, v.37, n.5, p.5715–5726, 2016.

MACPHAIL, C. Cirurgia do sistema tegumentar. In: FOSSUM, T.W. **Cirurgia de pequenos animais**. 4. ed., Rio de Janeiro: Elsevier. Cap.16, p.702 (pdf), 2014.

MACPHAIL, C.; FOSSUM, T.W. Surgery reproductive and genital systems. In.: FOSSUM, T.W. **Small animal surgery**. 5. ed., Rio de Janeiro: Elsevier. Cap.26, p. 720,767, 2019.

MENEZES, M.P.; COSTA, R.C.; CONCEIÇÃO, M.E.B.A.M.; MINTO, B.W.; DIAS, L.G.G.G. Treatment of a femoral septic nonunion in a dog with interlocking nail stabilization associated to corticospongyous bone autograft and greater omentum flap: case report. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.72, n.1, p.87-92, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-11156>. Acesso em: 28 de junho de 2023.

MOURA, A.P.R. **Extensão de retalhos omentais em gatos (*Felis catus*) para aplicação em feridas distais dos apêndices locomotores**. 2017. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária – Patologia e Ciências Clínicas. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2017.

MUTSAERS, S.E. Mesothelial cells: Their structure, function and role in serosal repair. Review article. **Respirology**, Australia, v.7, p.171–191, 2002.

NEMETH, N.; MIKO, I. Transplantation and microsurgical anastomosis of free omental grafts: Experimental animal model of a new operative technique in dogs. **Microsurgery**, EUA, v. 23, n.5, p.414–418, 2003.

OLIVEIRA, S.L. Reconstrução de parede torácica com o emprego associado de retalho muscular do grande dorsal, malha de polipropileno e retalho pediculado de omento após ressecção de sarcoma de tecidos moles em cão - relato de caso. **Investigação**, Franca, SP, v.17, n.4, p.1-2, 2018.

OOSTERLING, S. J.; VAN DER BIJ, G. J.; BÖGELS, M.; VAN DER SIJP, J. R. M.; BEELEN, R. H. J.; MEIJER, S.; VAN EGMOND, M. Insufficient ability of omental milky spots to prevent peritoneal tumor outgrowth supports omentectomy in minimal residual disease. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, Alemanha, v.55, n.9, p.1043–1051, 2005.

ORAKPOGHENOR, O.; AVAZI, D.O.; MARKUS, T.P.; OLAOLU, O.S. A Short Review of Immunochemistry. **Immunogenetics: Open Access**, v.3, p.120, 2018.

OWAKI, M.; OONO, H.; NAKAJIMA, N.; OHTA, G.; OKANO, S.; KAKIZAKI, T.; YOSHIOKA, K. Scanning Electron Microscopic Study for Pore Formation of the Greater Omentum of Cats. **Anatomia, Histologia, Embryologia**, Alemanha, v.42, n.2, p.151–154, 2012.

PAP-SZEKERES J, PETO K, NÉMETH N, CSERNI G, FURKA I, SVÉBIS M, CSERNI T, BRÁTH E, MIKÓ I. Extraabdominalisan átültetett cseplesz lebény mikrocirkulációjának intraoperativ vizsgálata laser Doppler flowmetria segítségével kutyán [Intraoperative laser doppler flowmetry of the tissue microcirculation of extraperitoneal transplanted omental flaps on dogs]. **Magyar Sebeszet**. Hungria. Apr, v.58, n.2, p.116-9, 2005.

PASCOLI, A.L.C.R. **Utilização de flap de omento para indução da cicatrização de enxertos cutâneos em suíños**. 2017. Dissertação (Doutorado em Cirurgia Veterinária). Medicina Veterinária. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Jaboticabal. 2017.

PLATELL, C.; COOPER, D.; PAPADIMITRIOU, M.; HALL, J. C. The omentum. **World Journal of Gastroenterology**, EUA, v. 6, n. 2, p. 169-176, 2000.

RADLINSKY, M.; FOSSUM, T.W. Surgery of the Digestive System. In.: FOSSUM, T.W. **Small animal surgery**. 5. ed., Rio de Janeiro: Elsevier. Cap.18, p.376, 440, 451, 469, 2019. a

RADLINSKY, M.; FOSSUM, T.W. Surgery of the liver. In.: FOSSUM, T.W. **Small animal surgery**. 5. ed., Rio de Janeiro: Elsevier. Cap. 20, p.565, 608, 2019. b

RAMOS-VARA, J. A.; KIUPEL, M.; BASZLER, T.; BLIVEN, L.; BRODERSEN, B.; CHELACK, B.; CZUB, S.; DEL PIERO, F.; SHARON DIAL, E. J.; EHRHART, T.G.; MANNING, L.; PAULSEN, D.; VALLI, V.E.; WEST, K. Suggested Guidelines for Immunohistochemical Techniques in Veterinary Diagnostic Laboratories. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, EUA, v.20, n.4, p.393-413, 2008.

REE, J.J.; BALTZER, W.I.; TOWNSEND, K.L. Augmentation of arthrodesis in dogs using free autogenous omental graft. **Canadian Veterinary Journal**, Canada, v.57, p.835-841, 2016.

REE, J.J.; BALTZER, W.I.; NEMANIC, S. Randomized, controlled, prospective clinical trial of autologous greater omentum free graft versus autogenous cancellous bone graft in radial and ulnar fractures in miniature breed dogs. **Veterinary Surgery**, EUA, v.47, p.392- 405, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/vsu.12774>. Acesso em: 28 de junho de 2023.

ROSS W.E.; PARDO A.D. Evaluation of an omental pedicle extension technique in the dog. **Veterinary Surgery**, EUA, v.22, p.37-43, 1993.

SACCHI, G.; DI PAOLO, N.; VENEZIA, F.; ROSSI, A.; NICOLAI, G.; GAROSI, G. Possible Role of Milky Spots in Mesothelial Transplantation. **The International Journal of Artificial Organs**, Reino Unido, v.30, n.6, p.520–526, 2007.

SHIMOTSUMA, M., TAKAHASHI, T., KAWATA, M., DUX, K. Cellular subsets of the milky spots in the human greater omentum. **Cell and Tissue Research**, Tokyo, 264, 599–601, 1991. <https://doi.org/10.1007/BF00319049>

SORENSEN, E. W.; GERBER, S. A.; SEDLACEK, A. L.; RYBALKO, V. Y.; CHAN, W. M.; LORD, E. M. Omental immune aggregates and tumor metastasis within the peritoneal cavity. **Immunologic Research**, EUA, v.45, n.2-3, p.185–194, 2009.

STEGEN, L.; VAN GOETHEM, B.; BEERDEN, C.; GRUSSENDORF, C.; DE ROOSTER, H. Use of greater omentum in the surgical treatment of a synovial cyst in a cat. **Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere / Heimtiere**, Alemanha, v.43, n.2, p.115–119, 2015.

TEIXEIRA, J.G.C.; CAVALCANTI, M.B.; FERNANDES, M.E.S.L.; SILVA, R.V.V; SANTOS, M.A; CAMPOS, D.R.; SILVA, M.F.A. Comportamento do enxerto omental livre sem anastomose vascular implantado em feridas experimentais de gatos. **Ciência Rural** [online], Santa Maria, RS, v.50, n.9, e20190284. Disponível em <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20190284>. Acesso em: 28 de junho de 2023.

van BAAL, J. O.; Van de VIJVER, K. K.; NIEUWLAND, R.; van NOORDEN, C. J. F.; van DRIEL, W. J.; STURK, A.; KENTER, G.G.; RIKKERT, L.G.; LOKA, C.A.R. Review: the

histophysiology and pathophysiology of the peritoneum. **Tissue Cell**, Reino Unido, v.49, p.95–105, 2017.

VINEBERG, A. Revascularization of the right and the left coronary arterial systems: Internal mammary artery implantation, epicardectomy and free omental graft operation. **The American Journal of Cardiology**, EUA, v.19, p.344, 1967.

WANG, Z.-B.; LI, M.; LI, J.-C. Recent Advances in the Research of Lymphatic Stomata. **The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology**, EUA, v.293, n.5, p.754–761, 2010.

WANG, J.; FENG, X.; ZENG, Y.; FAN, J.; WU, J.; LI, Z.; XINHUI, L.; RONG, H.; FENGXIAN, H.; XUEQING, Y.; YANG, X. Lipopolysaccharide (LPS)-induced autophagy is involved in the restriction of *Escherichia coli* in peritoneal mesothelial cells. **BMC Microbiology**, Reino Unido, v.13, n.1, p.255, 2013.

WANG, A. W.; PRIETO, J. M.; CAUVI, D. M.; BICKLER, S. W.; DE MAIO, A. The greater omentum – a vibrant and enigmatic immunologic organ involved in injury and infection resolution. **Shock**, EUA, v.53, n.4, p.384–390, 2019.

WHITE, R.A.S. Prostate. In.: TOBIAS KM, JOHNSTON SA. **Veterinary Surgery – Small Animal**. St. Louis: Elsevier. 2 ed. Cap. 113, p.5026-5065, 2017.

WILKOSZ, S.; IRLANDA, G.; KHWAJA, N.; WALKER, M.; BUTT, R.; GIORGIO-MILLER, A.; HERRICK, S.E. A comparative study of the structure of human and murine greater omentum. **Anatomy and Embryology**, Alemanha, v.209, p.251-261, 2005.

YILDIRIM, A.; AKTAŞ, A.; NERGİZ, Y.; AKKUŞ, M. Analysis of human omentum-associated lymphoid tissue components with S-100 an immunohistochemical study. **Romanian Journal of Morphology and Embryology**, Romenia, v.51, n.4, p.759–764, 2010.

YUNG, S.; CHAN, T. M. Pathophysiological Changes to the Peritoneal Membrane during PD-Related Peritonitis: The Role of Mesothelial Cells. **Mediators of Inflammation**, Reino Unido, v.2012, p.1–21, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2012/484167>. Acesso em: 28 de junho de 2023.

8 ANEXOS

ANEXO A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (PPGMV)

Título da Pesquisa: **“Análises histopatológica, imunohistoquímica e ultraestrutural de omento saudável em cadelas e gatas.”**

Nome e e-mail dos Responsáveis pela pesquisa:

- Professora Doutora Marta Fernanda Albuquerque da Silva – martafas@ufrj.br
- Ana Carolina de Souza Campos (Doutoranda em Medicina Veterinária – PPGMV UFRRJ) – carolinacampos@ufrj.br

Telefone CEUA/UFRRJ: 2682-3051.

Número protocolo CEUA: 4549020822.

Prezado (a) Sr. (Sra.),

O Sr.(Sra.) está sendo convidado(a) a autorizar a participação de seu animal em nosso trabalho de pesquisa, que tem como finalidade analisar o omento saudável de cães e gatos por meio de microscopia eletrônica e imunohistoquímica. Para isso, será coletada uma pequena amostra de omento (2cm x 2cm) durante a realização da cirurgia de castração de cadelas e gatas, conhecida no meio médico como ovariosalpingohisterectomia. Será realizada técnica de castração conforme descrito na literatura médica veterinária.

Na pesquisa pretendemos realizar, anteriormente à castração, a ligadura dos vasos omentais com fio de sutura absorvível e posterior coleta de um fragmento do omento, que é um tecido que está ligado ao estômago dos mamíferos e se estende até a cavidade pélvica. Ele é conhecido popularmente como “policial da cavidade”, pois está envolvido em inúmeros processos inflamatórios/infecciosos levando células de defesa, vascularização, aderindo em lesões intra-abdominais impedindo inclusive, por vezes, hemorragias.

Ao participar deste estudo o Sr.(Sra.) permitirá que sua cadela ou gata, seja operada pela equipe do Grupo de Pesquisa (Cirurgia Veterinária UFRRJ) e após o procedimento, os medicamentos pós-operatórios serão fornecidos pelo(a) Sr.(Sra.), seguindo a receita prescrita no dia do procedimento. A cirurgia de castração será realizada por médico veterinário especializado na área de Clínica Cirúrgica de Animais de Companhia (cães e gatos).

O Sr. (Sra.) tem liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer prejuízo para o seu animal. Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa através do e-mail dos responsáveis, listados acima. Se necessário, poderá entrar em contato com Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFRRJ. Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos princípios éticos no uso de animais, elaborados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), sobre a utilização de animais em atividades educacionais e em experimentos que envolvam espécies definidas na Lei 11.794/2008, e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFRRJ.

Todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente os pesquisadores/professores terão conhecimento dos dados. Esperamos que este estudo a partir da análise da ultraestrutura do omento saudável em cães e gatos e analisar sua composição

básica para compreender seus mecanismos de funcionamento nestas espécies.

Não haverá nenhum custo adicional para a participação do seu animal no estudo, além do valor já informado para a realização da cirurgia. Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para a participação de seu animal nesta pesquisa. Preencher, por favor, os itens que se seguem:

Dados de identificação do animal

Nome do animal e/ou número de registro (tatuagem, microchip, etc):_____

Espécie:_____ Raça:_____ Pelagem:_____ Sexo:_____

Data de nascimento:_____/_____/_____

Dados de identificação do proprietário ou responsável

Nome:_____

Documento de identidade nº:_____ Data nascimento:_____/_____/_____

Endereço:_____ Nº:_____

Apto:_____ Bairro:_____ Cidade:_____ Cep:_____

Telefone: (0____)_____

Consentimento Livre e Esclarecido

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa.

Assinatura do Responsável pelo animal

Assinatura do Pesquisador

Data:_____/_____/_____

ANEXO B. Detalhes quanto à idade e raça das cadelas submetidas à ovariohisterectomia eletiva e remoção de fragmento omental.

Número	Raça	Idade	Filhotes Adultas
01	Pit bull	7 meses	
02	SRD	8 meses	
03	SRD	9 meses	
04	SRD	1 ano	
05	Dachshund	1 ano	
06	Pit Bull	2 anos	
07	Pinscher	2 anos	
08	Bull Heller	2,7 anos	
09	SRD	3 anos	
10	SRD	3 anos	
11	SRD	3 anos	
12	SRD	3 anos	
13	SRD	5 anos	

ANEXO C. Detalhes quanto à idade e raça das gatas submetidas à ovariohisterectomia eletiva e remoção de fragmento omental.

Número	Raça	Idade	Filhotes Adultas
01	PCB	6 meses	
02	PCB	7 meses	
03	PCB	8 meses	
04	PCB	8 meses	
05	PCB	8 meses	
06	PCB	1 ano	
07	PCB	1 ano	
08	PCB	1 ano	
09	PCB	2 anos	
10	PCB	2 anos	
11	PCB	2 anos	
12	PCB	2 anos	
13	PCB	2 anos	
14	PCB	3 anos	
15	PCB	4 anos	