

# ESTUDO PRELIMINAR DA UTILIZAÇÃO DE PELE DE TRUTA ARCO-ÍRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) EM HERNIOPLASTIA ABDOMINAL DE RATOS (*RATTUS NOVERGICUS*)

## PRELIMINARY STUDY OF THE USE OF RAINBOW TROUT SKIN (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) IN ABDOMINAL HERNIOPLASTY OF RATS (*RATTUS NOVERGICUS*)

Síria da Fonseca Jorge, Carolina Seabra da Costa, Danielle Rangel Neves, Luiza Eduarda Bulhões Moreira, Marcelo Abidu Figueiredo, Mauricio Alves Chagas

### RESUMO

A busca por aprimoramento de biomateriais para hernioplastias é uma área de destaque na pesquisa médica devido às complicações pós-operatórias e recidivas herniárias que ocorrem com alta incidência em todo mundo. Fatores como composição, estrutura, porosidade, tempo de absorção, sítio cirúrgico e técnica empregada são cruciais para o sucesso de uma prótese. A pele de Truta Arco-íris, rica em colágeno e peptídeos, amplamente produzida e comercializada globalmente, mostra potencial nesse contexto. Este estudo buscou avaliar a aplicação da pele de Truta Arco-íris em hernioplastias abdominais em ratos. Utilizando 40 ratos Wistar, os implantes foram preparados com dois métodos de desinfecção e conservados em glicerina 100%. Os grupos foram divididos com base no agente de desinfecção (clorexidina ou glutaraldeído), e os períodos de eutanásia foram fixados em 7, 15, 30 e 90 dias pós-operatórios. Avaliações ponderais, clínicas e macroscópicas foram realizadas. O estudo visa comprovar a viabilidade e segurança da pele de Truta Arco-íris como malha cirúrgica para hernioplastias. Implantes processados com clorexidina mostraram-se inviáveis devido à absorção precoce em sete dias, levando à recidiva herniária. Por outro lado, os implantes com glutaraldeído apresentaram resultados promissores, mantendo integridade até 90 dias pós-operatórios, apesar de alterações clínicas e aderências moderadas.

**Palavras-chave:** Biomaterial. Pele de Truta arco-íris. Hernioplastia

### ABSTRACT

The search for the improvement of new biomaterials for hernioplasties is prominent in medical research, given that, despite the high incidence of hernia corrections, postoperative complications and hernia recurrences are still reported. Among the factors contributing to the success of a biomaterial are its composition, structure and porosity, absorption time, surgical site, and the technique employed. Rainbow Trout skin shows promising studies due to the presence of collagen and peptides, and this fish is globally produced and marketed. This research aims to test the use of Rainbow Trout skin as a biomaterial for abdominal hernioplasty procedures in rats. The experiment used 40 Wistar rats, which received fish implants under two disinfection methods and were preserved in 100% glycerin. These animals were divided into two groups, determined by the disinfection agent (chlorhexidine or glutaraldehyde), and subdivided by the euthanasia period at 7, 15, 30, and 90 days postoperatively. Weight, clinical, and macroscopic evaluations were performed. It is expected that this study can prove the feasibility and safety of using Rainbow Trout skin as a surgical mesh for abdominal wall hernioplasties. Clorexidine-processed Trout skin implants were found to be unviable for surgical use due to early absorption in seven days, leading to hernia recurrence. Meanwhile, glutaraldehyde-processed Trout skin implants showed promising results, maintaining implant integrity up to 90 days postoperatively, despite moderately significant clinical changes and adhesion formations.

**Keywords:** Biomaterials. Rainbow trout skin; Hernioplasty

## 1. INTRODUÇÃO

As hérnias abdominais são definidas como a protusão anormal de órgão ou tecido através de defeito em parede muscular abdominal adjacentes, estas constituem uma das principais patologias sujeitas a tratamento cirúrgico na prática médica <sup>1,2</sup>. A correção cirúrgica das hérnias varia de acordo com as dimensões do defeito herniário, estado do sítio cirúrgico, e acessibilidade <sup>3</sup>. A escolha da técnica cirúrgica e da malha implantada está diretamente relacionada ao sucesso do procedimento. Apesar de amplamente realizadas e relatadas, as hernioplastias ainda apresentam recorrências e complicações <sup>4</sup>, por isso a busca por novas malhas e técnicas que levem a reações pós-operatórias suaves e nestes procedimentos continua a ser um desafio <sup>4</sup>.

Apesar de amplamente utilizadas, as malhas ou telas cirúrgicas de origem sintéticas ainda são descritas apresentando complicações como seromas, dor e inflamação crônicas, infecções persistentes, recidiva por ruptura, entre outros. Essas complicações podem ser atribuídas à indução de uma reação moderada ou exacerbada de corpo estranho do organismo frente ao biomaterial sintético e inabsorvível <sup>5,6,7,8</sup>.

As malhas cirúrgicas biológicas são geralmente derivadas de tecidos de animais ou cadáveres, processadas de diversas formas, descontaminadas e conservadas, para enfim utilização <sup>7,9</sup>. As características inerentes aos tecidos de origem biológica, como o elevado percentual de colágeno proporcionam resistência e capacidade de suportar tensão, além da similaridade celular entre o organismo hospedeiro e a matriz colágena corroborarem com o processo de cicatrização dos mamíferos, resultando em efeitos cicatriciais discretos e possibilitando o uso como arcabouço colágeno para os tecidos circundantes <sup>8,9</sup>. As malhas cirúrgicas de origem biológica são atualmente empregadas em sítios cirúrgicos com histórico de infecção ou infecção crônica e são objeto de estudo em experimentos em busca de materiais acessíveis para os mais diversos tratamentos <sup>5,8,10,11</sup>.

O uso da pele de peixes e anfíbios como base de membranas biológicas é uma área em crescimento na medicina regenerativa <sup>11,12,13</sup>. Devido à sua característica absorvível e alto percentual de fibras de colágeno, as peles dos peixes permitem a infiltração celular, acelerando o processo cicatricial <sup>14</sup>. A truta arco-íris apresenta propriedades antimicrobianas peptídicas ribossômicas em sua pele, além do elevado percentual de colágeno <sup>15,16,17</sup>.

O glutaraldeído é um agente desinfetante bactericida utilizado no processamento de membranas biológicas desde a década de 1960 <sup>18</sup>. Com o desenvolvimento de pesquisas, este meio continua sendo utilizado e testado como tratamento pré-conservante de xeno-enxertos, devido à sua capacidade de estabilização celular <sup>19,20,21,22,23</sup>. A clorexidina é um composto com significativo potencial antimicrobiano e elevado poder antisséptico, principalmente pela alta afinidade entre a substância e o tecido cutâneo, e a baixa toxicidade local ou sistêmica em concentrações até 2% <sup>11</sup>.

O objetivo do presente estudo é avaliar a eficácia da pele de truta arco-íris, desinfetada com glutaraldeído ou clorexidina, e preservada em glicerina, como malha cirúrgica biológica em hernioplastias abdominais realizadas em ratos.

## 2. METODOLOGIA

### 2.1 Considerações éticas

Este estudo foi conduzido de acordo com as diretrizes ARRIVE23. Aprovado pela Comissão de Ética do Uso de Animais de Experimentação (CEUA/UNIFESO) do Centro Universitário Serra dos Órgãos, com registro n°528/21, de acordo com a Lei n°11.794 de 8 de outubro de 2008 (Diário Oficial da União, Brasil, 2008).

Neste experimento foram utilizados como modelo de ensaio 40 ratos, machos (*Rattus norvegicus albinus*) da linhagem Wistar, com idade média de 3 meses e peso de 300 ± 50g. Permaneceram alojados na Instalação de Ciência do UNIFESO. Em caixas de polipropileno (43 cm x 23 cm x 16 cm) forradas de maravalha autoclavada e enriquecidas com brinquedos, sob condições de ciclo circadiano, temperatura ambiente de 22 ± 2 °C, umidade relativa do ar entre 45% e 60% e exaustão de ar de 10 – 15 trocas de ar/hora, tendo total acesso a ração comercial Nuvilab® alimento completo (Fabricante: Quimtia) e água potável ad libitum, trocadas a cada 24 horas.

Estes animais foram divididos em dois grupos de 20 ratos, denominados conforme o agente do processamento das peles, em Grupo GTr (animais que receberam implante de pele de truta processada em glutaraldeído 0.5%) e Grupo CTr (animais com implantes processados em Clorexidina 2%). A partir, dentro dos dois grupos, foram divididos em 4 subgrupos, conforme o período pós-operatório de eutanásia, em 7, 15, 30 e 90 dias, cada com 5 animais. Não foi utilizado grupo controle devido ao princípio dos 3R's, considerando a vasta literatura com implantes biológicos de diversas origens, composições e processamentos, a expansão dos estudos das peles de peixes como curativos biológicos, a ampla exposição dos efeitos das malhas cirúrgicas sintéticas e a possibilidade de um parâmetro contralateral no mesmo animal para análise termográfica.

## 2.2 Divisão Dos Grupos E Local De Experimentação

Neste trabalho foram utilizados 40 *Rattus norvegicus*, variedade Wistar, machos, jovens, com peso ( $400 \pm 50$ ) e tamanho semelhantes. Os animais foram divididos em dois grupos de 20 ratos, um primeiro recebeu o implante de pele de Truta tratada com Clorexidina degermante, e um segundo, onde os implantes foram tratados com Glutaraldeído 0,5%. Estes dois grupos de animais foram subdivididos quanto ao período pós operatório de eutanásia, em 4 subgrupos (Tabela 1), ao sétimo, décimo quinto, trigésimo e nonagésimo dia de pós-operatório.

Tabela 1: Exemplificação da divisão dos grupos de animais

	7 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	90 DIAS
Preparação com clorexidina 2%	Grupo TC7d (n=5)	Grupo TC15d (n=5)	Grupo TC30d (n=5)	Grupo TC90d (n=5)
Preparação com glutaraldeído 0,5%	Grupo TG7d (n=5)	Grupo TG15d (n=5)	Grupo TG30d (n=5)	Grupo TG90d (n=5)

## 2.3 Preparo das peles, das soluções conservantes e confecção dos implantes de truta arco-íris

O preparo dos materiais e das soluções para confecção dos implantes de pele de Truta foi a primeira etapa para realização do experimento, é válido ressaltar que todos os procedimentos foram realizados preconizando reduzir ao máximo a contaminação, através da autoclavagem dos recipientes e materiais, além da utilização de luvas estéreis desde a limpeza dos peixes, até o manuseio final dos implantes.

As peles de Truta Arco-íris foram obtidas em parceria ao Escritório Regional Serrano da FIPERJ, por meio de criatório especializado e dentro das normas legais, localizado no município de Nova Friburgo-RJ. Foram obtidos 6 animais deste criatório, pesando aproximadamente  $350 (\pm 50)$  gramas, os quais foram colocados em gelo imediatamente após a despesca, sendo dessensibilizados, e permanecendo sob trocas de gelo, com temperatura aproximada de  $0^{\circ}\text{C} (\pm 2)$ , durante 24 horas, após foram encaminhadas ao laboratório de Controle de Produtos de Origem Animal (CPOA), do Centro Universitário Serra dos Órgãos – UNIFESO, no Campus Quinta do Paraíso, em Teresópolis-RJ, onde realizou-se o processamento e preparo dos implantes.

A partir, o processo de desinfecção foi realizado com dois diferentes agentes, de duas diferentes formas, as quais determinaram os dois principais grupos deste experimento.

A solução de Clorexidina 2% foi adquirida comercialmente na concentração ideal, e na forma degermante, condizendo com as metodologias anteriores desta linha de pesquisa 11,24,25. Já a solução de Glutaraldeído foi adquirida comercialmente na concentração de 2%, sendo preparada através da diluição proporcional em água destilada tamponada em solução fosfato-salina PBS, com pH final 7.4, até a concentração desejada de 0,5% 20,21,22.

Após a retirada das escamas, evisceração e limpeza dos peixes em água corrente, foi realizada uma incisão crânio caudal, paralela à coluna vertebral, a partir de onde foi realizada a separação da espinha e dos files do peixe, ainda com a pele, a qual foi separada da carne das Trutas através de instrumento cortante (faca) por fricção.

Dos seis peixes totalizou-se 12 fragmentos de pele (duas porções por peixe, uma ao lado direito e outra ao lado esquerdo do animal). Após a retirada dos fragmentos de pele das Trutas, ainda, realizou-se a limpeza minuciosa, com instrumento cortante, retirando todos os fragmentos de carne que ainda permaneceram juntas a pele, assim como resquícios de tecido adiposo, ósseo e escamas.

Com as peles dentro das diretrizes de limpeza, as mesmas foram divididas em dois grupos de seis fragmentos, concretizando os dois grupos diretrizes de antissepsia.

O primeiro grupo de animais foi submetido ao processo de desinfecção dos implantes de pele de Truta através da imersão destes em solução comercial de Clorexidina degermante 2%, por 60 minutos, seguidas de lavagem abundante com NaCl 0,9% estéril 11,24,25.

O segundo grupo de implantes foi submetido ao processo de antissepsia realizado através da imersão das peles de Truta em Glutaraldeído, o qual foi adquirido comercialmente com a concentração de 2%, em forma de desinfetante hospitalar, e em seu preparo foi realizada a diluição deste desinfetante em proporção até a concentração de 0,5%, com água destilada tamponada em solução salina-fosfatada PBS, com pH final 7.4 21,22 A partir, os fragmentos de pele de Truta foram imersos nas soluções de Glutaraldeído 0,5% durante 18 dias, em recipientes de vidro vedados e autoclavados, os quais permaneceram ao abrigo da luz, em local com circulação de ar, em temperatura ambiente 11,24,25.

Após o processo de desinfecção química, antecedendo conservação as peles de ambos os grupos foram rapidamente imersas em Álcool 92,8% durante 10 minutos 26. Após a rápida imersão, as peles passaram por secagem e leve desbridamento com gaze, de sua porção epidérmica, objetivando retirada de resquícios mucosos do ambiente em que a Truta se desenvolveu. Seguindo encaminhadas sem enxague para recipiente de vidro vedável e autoclavado contendo solução comercial de Glicerina 100%, em quantidade suficiente a emergir os implantes. Estas peles permaneceram sob conservação em glicerina por, no mínimo, 30 dias 25,26. No momento de sua utilização foi realizada a reidratação destes implantes com solução NaCl 0,9%, por período mínimo de 20 minutos 11,24,25 (Figura 1).

Figura 1: Preparo das peles de truta. (A) Peles de truta imersas em clorexidina 2%, (B) peles de Truta imersas em glutaraldeído 0,5%. (C) Peles de truta sendo secas ao fundo da imagem, e imersas em glicerina, a frente.



## 2.4 Técnica anestésica

Para o experimento, foi empregada técnica anestésica que preconiza o manejo consciente dos ratos, evitando estresse e respeitando o bem-estar dos animais 27. A anestesia inalatória foi realizada com a estação de anestesia em circuito Baraka neonatal (Altech®), com vaporizador universal, para Isoflurano.

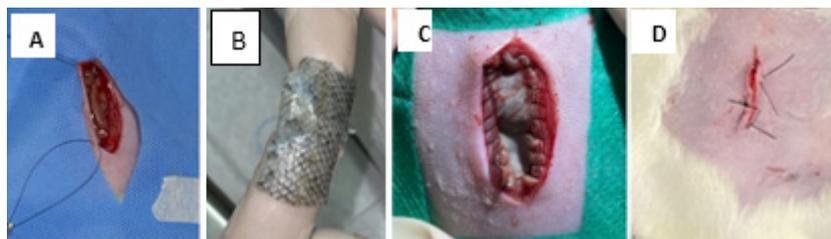
O procedimento iniciou com a contenção química individualmente na câmara anestésica com Isoflurano e Oxigênio 100%, em vaporizador universal 27,28, e, em seguida, foi administrada a associação de Cetamina (Cetamin® 10%; Syntec) (75mg/Kg) e Xilazina (Xilazin® 2%; Syntec) (10mg/Kg), via intraperitoneal 28. A estabilização do plano anestésico foi realizada por meio da mensuração da frequência cardíaca, saturação de oxigênio e reflexos corpóreos, com a utilização da máscara facial 28. Durante o transanestésico, a temperatura dos animais e do ambiente foi controlada com fontes brandas de calor. A analgesia foi realizada com a administração de Cloridrato de Tramadol (Tramadon® 50mg/mL; Cristalía) (12,5 mg/Kg), via subcutânea, imediata-

mente após o fim do procedimento cirúrgico e durante os cinco dias seguintes de pós-operatório, com escores de dor mensurados através da escala *Grimace* para ratos e resgate analgésico realizado em caso de necessidade. As capturas termográficas foram realizadas com a contenção química dos animais na câmara anestésica, seguida pela manutenção da sedação com máscara facial e a mesma mistura de gases 28, com retorno à consciência em 1-2 minutos após a interrupção dos gases.

## 2.5 Técnica Cirúrgica

A técnica cirúrgica e envolveu laparotomia mediana xifo-púbica, com incisão de pele, posicionamento de dois reparos em pele do lado direito, dissecação de subcutâneo e criação de uma falha na parede abdominal direita (1.5cm em eixo transversal e 3cm em eixo longitudinal). A fixação da pele foi realizada com implante de pele de Truta, com a epiderme em direção às vísceras, fixada por sutura contínua simples, interrompida em cada borda da ferida separadamente, com fio de nylon 4.0 11,24,25. A síntese da incisão cutânea foi realizada em padrão interrompido “Wolf”, com fio de nylon 4.0 24,25,29 (Figura 2).

Figura 2: Técnica Cirúrgica. (A) criação de uma falha na parede abdominal direita (1.5cm em eixo transversal e 3cm em eixo longitudinal), (B) peles de truta após hidratação em solução fisiológica estéril, (C) peles de truta suturadas à parede abdominal, (D) Sutura de “Wolf” na pele.



## 2.6 Manejo pós-operatório

Os ratos foram realocados em caixas com maravalha autoclavada e colchão termicamente aquecido, sendo observados individualmente até despertarem da anestesia 27,28. Não foi administrado anti-inflamatório, mas foi administrada enrofloxacin (Zelotril® 10%; Agener) por 8 dias na água de beber 27,28.

## 2.7 Análise Clínica

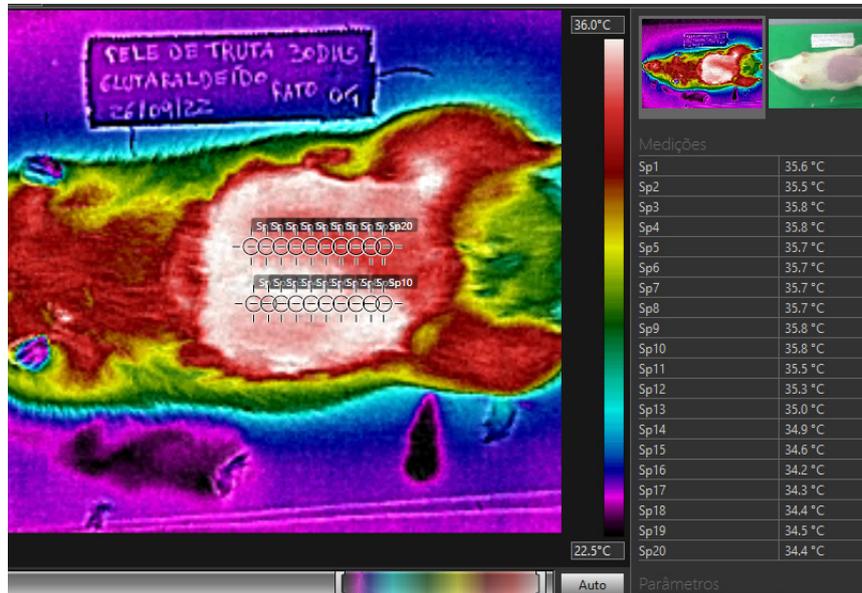
Os animais foram pesados no dia do procedimento cirúrgico e nos dias 3, 7, 15, 30, 60 e 90 pós-operatórios, com comparação individual e entre grupos. Foram avaliados visualmente e com relação ao seu comportamento nos dias 5, 7, 15, 30, 60 e 90, com foco na mobilidade locomotora e presença de edema, seromas, hematomas, abscessos, fístulas, necrose e deiscência de sutura, utilizando um escore de ausente (-) a muito grave (++++). 11,24,25.

## 2.8 Análise Termográfica

Imagens termográficas foram capturadas através de um termógrafo Flir® T420, com resolução de 320x240 e sensibilidade de 0.045°C. A captura foi realizada no dia da cirurgia e nos dias 3, 7, 15, 30, 60 e 90 de pós-operatório, com os ratos sedados e em decúbito dorsal. As imagens foram tratadas no aplicativo Flir Tools®, para mensurar e comparar as temperaturas cutâneas do lado abdominal direito (com o implante) e esquerdo (“controle”). Foram criados 10 pontos aleatórios, formando uma linha imaginária craniocaudal, paralelos, em cada região abdominal (LD e LE) (Figura 3) 11,24,25, cada qual com sua temperatura, fornecida através do software, proporcionando o cálculo da temperatura média em cada lado do abdômen, em cada rato e período pós-operatório. A diferença entre as médias dos dois lados foi comparada observacionalmente

no mesmo animal, em cada período, e a média da temperatura média dos lados abdominais foi calculada por grupo, nos diferentes períodos pós-operatórios, permitindo a comparação das médias de temperatura de cada lado, em cada período pós-operatório, e a observação da maior ou menor diferença de temperatura dos lados abdominais, com o passar dos períodos.

Figura 3: Demonstração do software Flit Tools® após análise termográfica, ao lado as temperaturas correspondentes aos pontos.



## 2.9 Análise macroscópica

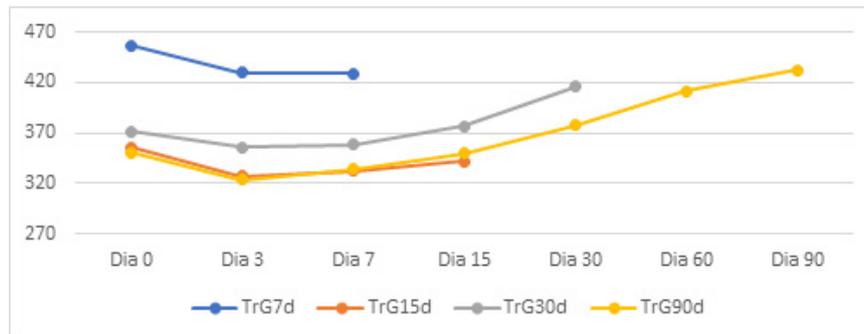
Seguindo a Resolução Normativa nº 37 do CONCEA (2018) e Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008. Com eutanásia dos animais através de contenção química em caixa de acrílico (Isoflurano e Oxigênio CAM 4-5), até completamente inconscientes, após administração intraperitoneal da sobredosagem de Cetamina (180mg/Kg) e Xilazina (30mg/Kg), quando completamente anestesiados, com redução de seus parâmetros vitais, finalizando com a administração de Cloreto de Potássio por via intracardíaca. A necropsia foi realizada através de grande incisão em forma de “U”, permitindo a observação da musculatura abdominal completa, vísceras abdominais e aderências formadas, com grau de adesão disposto em escala gravitacional (Grau 0 ou ausente – ausência de aderências; Grau 1 ou leve (+) – número de aderências menor ou igual a 3, de caráter fibrinoso, que se desfazem facilmente através de manipulação; Grau 2 ou moderado (++) – número de aderências maior que 3, de caráter firmes e/ou resistentes a manipulação, entre alças intestinais, sem envolver parede abdominal; Grau 3 ou grave (+++) – aderências firmes, resistentes a manipulação, envolvendo parede abdominal e órgão ou estrutura; Grau 4 ou muito grave (++++) – aderências firmes, resistentes a manipulação, entre alças intestinais e parede abdominal, com ocorrência de fistula entérica) 11,24,25.

## 3. RESULTADOS

A análise ponderal foi realizada do dia 0 (D0) ao dia 3 (D3), revelando que todos os animais, tanto nos subgrupos de glutaraldeído quanto de clorexidina, apresentaram perda de peso. A partir do sétimo dia (D7), 70% dos animais demonstraram ganho de peso, 10% mantiveram o peso e 20% continuaram a perder peso. No 15º dia, os animais apresentaram ganho de peso sucessivo, e nos períodos subsequentes, houve recuperação completa e ganho ponderal. Ao 30º dia, todos os animais tinham pesos superiores aos do dia do procedimento cirúrgico, com ganhos sucessivos também no 60º e 90º dia de pós-cirúrgico.

Ao analisar o grupo de roedores com implantes de glutaraldeído (Figura 4), observou-se que a perda de peso atingiu o pico no 3º dia, seguido por uma recuperação inicial no 7º dia e progressão constante de ganho de peso nos períodos subsequentes. No entanto, o subgrupo de animais eutanasiados em 7 dias não apresentou recuperação ponderal desde o dia do procedimento até a eutanásia. Aos 15 dias, 53,4% dos animais tinham peso inferior ao registrado em D0, enquanto 40% tinham peso superior, e 6% mantiveram o peso do dia do procedimento cirúrgico. A análise estatística do peso dos animais não mostrou relevância estatística, em nenhum dos subgrupos analisados ( $p>0.05$ ).

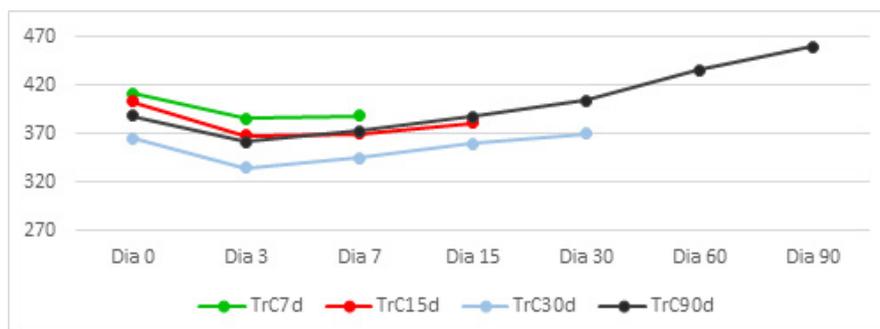
Figura 4- Gráfico da variação do peso médio dos roedores pertencentes ao grupo glutaraldeído



Fonte: Autoria própria, 2023

A análise ponderal média do grupo de clorexidina (Figura 5) também mostrou que, ao 3º dia, todos os subgrupos atingiram o pico de perda ponderal. A partir do 7º dia, houve início da recuperação de peso, com 80% dos animais apresentando ganho de peso, 5% mantendo o peso e 15% ainda perdendo peso. No 15º dia, todos os animais apresentaram ganho de peso. Aos 30 dias, 80% dos animais tinham ganho de peso, enquanto 20% apresentaram perda de peso em relação à análise do 15º dia. No 60º dia, 100% dos animais apresentaram ganho de peso sucessivo, o que se manteve na análise final do 90º dia de pós-operatório. A análise estatística do peso dos animais não mostrou relevância estatística, em nenhum dos subgrupos analisados ( $p>0.05$ ).

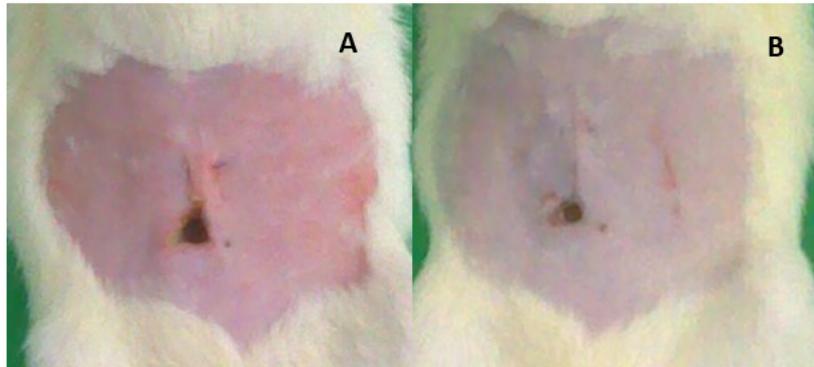
Figura 5- Gráfico da variação do peso médio dos roedores pertencentes ao grupo clorexidina



Fonte: Autoria própria, 2023

A análise clínica dos roedores revelou que no grupo de glutaraldeído, apenas 10% dos animais, independentemente do período pós-operatório, apresentaram alteração clínica (Figura 6). No grupo de clorexidina, a maioria dos animais apresentou alterações pós-operatórias, como edema, seroma e abaulamento abdominal. No entanto, não foram observadas alterações como deiscência de sutura, abscessos ou infecções em nenhum dos grupos.

Figura 6- (A) Grupo TrG15d - Fotomicrografia da deiscência de sutura em 7 dias; (B) Sua evolução em 15 dias



Fonte: Arquivo pessoal, 2022.

A análise termográfica do Grupo GTr, ao dia do procedimento cirúrgico, os animais apresentaram temperaturas baixas e próximas entre os lados abdominais direito e esquerdo; ao 3º dia LE (lado esquerdo) com temperatura superior, temperaturas não tão próximas (decorrente da ausência de vascularização do implante conjunto ao intenso infiltrado inflamatório ao sítio cirúrgico); ao 7º dia as temperaturas estavam próximas com LD (lado direito) superior (reação inflamatória imediata e intensa, com aderência e início de infiltrado celular ao implante); ao 15º dia temperaturas afastadas e LD ainda superior (decorrente a reação inflamatória tardia, formações de aderências, processo de neovascularização do implante, conhecimento deste como “corpo estranho”). Ao 30º dia ainda LD mais quente, com temperaturas afastadas, o que segue sendo observado ao 60º dia (reação inflamatória tardia, aderências formadas). Ao 90º temperaturas mais próximas, LD ainda superior (redução da reação inflamatória tardia, provável início de neovascularização na tela, formação de fibroses e fibras colagenosas, com incorporação de capsula fibrosa ao redor da malha de truta, em processo de incorporação ao organismo do hospedeiro). Não foram observadas significância estatística entre as temperaturas dos lados abdominais por subgrupo, com  $p > 0.05$  em todas as análises realizadas.

O grupo CTr apresentou, no dia do procedimento cirúrgico temperaturas baixas em ambos os lados abdominais (por conta da cirurgia e técnica anestésica). Ao 3º dia foram observadas temperaturas afastadas com LE superior (decorrentes do trauma cirúrgico, com infiltrado celular ao sítio muscular, e não vascularização do implante). Ao 7º dia as temperaturas dos lados abdominais apareceram próximas, com LD superior (consequente a reação inflamatória imediata, com intenso infiltrado celular, formação de aderências ao implante). Ao 15º dia temperaturas afastadas com LE superior (em decorrência a recidiva herniária observada em avaliação clínica e imagens termográfica, os animais apareciam sem implante em grande porção, e com ruptura deste em outra porção de animais, o que promove a menor temperatura na região direta, e faz com que as temperaturas sejam aproximadas e variem conforme os períodos quanto a região mais quente, pela “visualização” das vísceras e região muscular adjacente com infiltrado celular crônico). Ao 30º dia LD superior, temperaturas afastadas (formações de aderências, reação de absorção do implante). Ao 60º dia, temperaturas próximas, LE superior (hernias com Implante absorvido). 90º dia, LD superior, temperaturas afastadas (implantes absorvidos e aderências formadas ao local da cirurgia). Não foram observadas significância estatística entre as temperaturas dos lados abdominais por subgrupo, com  $p > 0.05$  em todas as análises realizadas.

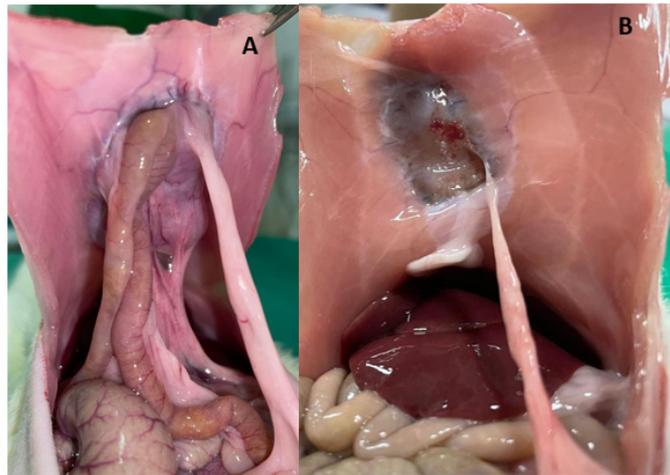
Assim como, não foram observadas diferenças estatísticas a análise de temperatura do lado com o implante de pele ao longo dos períodos pós-operatórios,  $p = 0.1586$ .

Na análise macroscópica durante a necropsia, foram observadas formações de aderências entre estruturas intracavitárias, fios de sutura e implantes em todos os animais, independentemente do grupo ou período pós-operatório. No total, foram contabilizadas 73 formações de aderências, com 28% em omento, 40% em

ligamento testicular direito, 25% em ligamento testicular esquerdo, 1,4% em mesentério e 5,6% em intestino. Não foram observadas fistulas entéricas em nenhum animal com aderências envolvendo o intestino.

O grupo de animais com implantes de glutaraldeído apresentou formações de aderência em várias estruturas, com 85% classificadas como grau 1 (leve) e 15% como grau 3 (grave). Não foram observadas complicações, como fistulas ou rupturas, nem após aderências manipuladas e desfeitas (Figura 7).

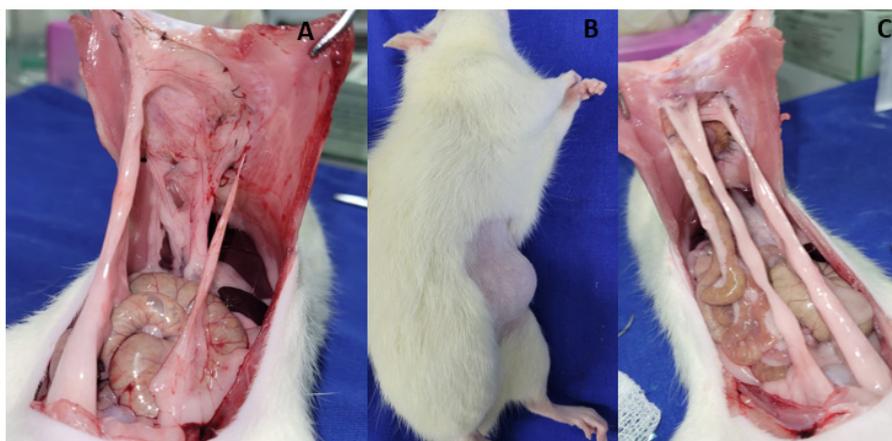
Figura 7- Roeores do grupo TrG90d. (A) Aderência de intestino e lig. testicular esquerdo, grau 3. (B) Aderência de lig. testicular direito, grau 1.



Fonte: Arquivo pessoal, 2022.

No grupo de animais que receberam implantes de clorexidina, as aderências envolviam omento, ligamento testicular direito, ligamento testicular esquerdo e intestino. As aderências foram classificadas como grau 1 (leve) e grau 3 (grave), sem complicações adicionais, como fistulas ou rupturas. A recidiva herniária foi observada em todos os animais, alguns destes por ruptura do implante, absorção total ou parcial, e ruptura com encapsulamento, ademais a parede abdominal mantinha-se íntegra (Figura 8).

Figura 8- (A) Roedor com o implante envolto por tecido fibrinoso; (B) Recidiva herniária; (C) Aderência de intestino, lig. testicular esquerdo e direito em sutura com implante rompido, grau 3.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

#### 4. DISCUSSÃO

A perda de peso inicial até o terceiro dia de pós-operatório pode ser atribuída a prováveis alterações metabólicas induzidas pelo procedimento anestésico-cirúrgico, conforme observado por Sartori e Mello<sup>27</sup>. Esses pequenos roedores, submetidos a anestésias gerais, tendem a manifestar queda de peso após a recuperação anestésica. Vale destacar também que o trauma cirúrgico pode contribuir para a redução do peso pós-operatório, corroborando com estudos semelhantes, como os de Jorge<sup>11</sup>, Jorge et al. <sup>24</sup>, e Costa <sup>25</sup>, que reportaram perda ponderal em roedores até 7 dias após o procedimento cirúrgico.

No grupo de animais que recebeu pele tratada com glutaraldeído, não foram identificados edemas e seromas, em contraste com estudos que utilizaram técnicas cirúrgicas semelhantes e biomateriais orgânicos propostos, como os de Burger <sup>29</sup> e Jorge <sup>24</sup>. Em nosso experimento, 5% dos roedores que receberam peles confeccionadas com glutaraldeído apresentaram deiscência de sutura, divergindo dos resultados de Jorge <sup>24</sup>, que relatou taxas mais elevadas de deiscência com outros tipos de implantes. Essa menor taxa de deiscência pode ser atribuída ao método de confecção do implante e/ou ao tipo de sutura cutânea empregada, seguindo a técnica de “Wolf” ou “u-horizontal,” em consonância com Burger<sup>29</sup>, que destaca sua eficácia em roedores.

A deiscência de sutura foi exclusiva nos roedores que receberam implantes confeccionados com glutaraldeído, alinhando-se com as observações de Vivas e colaboradores <sup>19</sup>, que associam o glutaraldeído à alta toxicidade no local do implante. No grupo com implantes de clorexidina, os animais apresentaram edema e seroma, concordando com Montgomery<sup>9</sup>, que destacam o seroma como uma das complicações mais comuns em hernioplastias, independente da técnica ou malha utilizada.

A partir do sétimo dia de pós-operatório, todos os animais do grupo Clorexidina apresentaram abaulamento abdominal, indicando possível absorção precoce com recidiva herniária, conforme sugerido por Montgomery <sup>9</sup>. Ocorrências como essas são cruciais, pois podem resultar em falhas no reparo herniário e recidiva da hérnia.

As baixas temperaturas médias dos animais no dia do procedimento cirúrgico estão correlacionadas à hipotermia trans e pós-operatória, decorrentes da técnica anestésica e do procedimento cirúrgico, como descrevem Sartori e Mello<sup>27</sup> e Flecknell e Thomas<sup>28</sup> com alterações metabólicas decorrentes da hipotermia trans-anestésica em ratos.

A temperatura elevada na região abdominal esquerda no dia do procedimento cirúrgico e no terceiro dia pós-operatório, em ambos os grupos GTr e CTr, podem ser correlacionadas ao trauma cirúrgico na região adjacente, com intenso infiltrado inflamatório, e à ausência de vascularização ou infiltrado celular no implante. É observado um infiltrado celular inflamatório agudo no sítio cirúrgico imediatamente após o pós-cirúrgico, a partir do primeiro dia pós-cirúrgico, com infiltrado de neutrófilos Jorge <sup>11</sup>.

A partir, ao GTr, a termografia infravermelha capta a radiação emitida pela movimentação celular no tecido cutâneo, o trauma cirúrgico pós-operatório imediato, e o reconhecimento do corpo estranho pelo organismo em resposta ao biomaterial leva a uma maior atividade celular, sendo diretamente relacionada ao que é observado por histologia, como descrevem Jorge <sup>24</sup> e Jorge e colaboradores<sup>11</sup>. A captura de temperaturas mais altas ao lado do implante de pele de truta a partir do sétimo dia é consequência do infiltrado celular no implante e do início da angiogênese, como os autores Jorge <sup>24</sup> e Jorge e colaboradores <sup>11</sup> também observam em seus estudos com termografia e malhas biológicas. Assim como nos períodos finais, onde o implante inicia o processo de incorporação, conforme observado na histologia. A reação inflamatória tardia é descrita em estudos com malhas biológicas de glutaraldeído <sup>22</sup> assim como o processo de angiogênese e incorporação do implante, como foi observado por histologia pelos autores Jorge<sup>24</sup>.

Aos animais do grupo CTr foi observada absorção precoce do implante em termografia, condizendo com o observado em Jorge e colaboradores <sup>11</sup>, onde foi possível observar ruptura do implante de pele de Rã-touro através da imagem termográfica. Por consequência a ruptura, as análises dos demais períodos variam quanto ao lado abdominal com temperatura superior, o que pode ser correlacionado a presença da hérnia e por isso, vezes

região visceral com maior temperatura, vezes a região muscular adjacente a hernia, porém apensar de próximas em alguns períodos, não apresentando a mesma temperatura em ambas as regiões.

Todos os animais em todos os períodos pós-operatórios estudados neste experimento apresentaram aderências à malha biológica. Grande parte dessas aderências envolveu o omento, corroborando com pesquisas anteriores<sup>11,24,25</sup>, que utilizaram próteses compostas por peritônio de paca, pericárdio bovino e pele de rã touro, observando incidências de aderências de omento em 100% dos casos. Destaca-se que a climatização controlada do biotério pode ter favorecido a ocorrência de aderências de ligamento testicular ao fio de sutura ou implante, conforme apontado por Jorge 24.

No total, este estudo revela diferenças marcantes em relação ao tempo de absorção (Grupo C) e processos inflamatórios acentuados (Grupo G) quando comparado a outros estudos que utilizaram peles de anfíbios e peixes em próteses biológicas.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A pele de truta Arco-íris processadas em glutaraldeído 0,5% apresenta funcionalidade como malha cirúrgica em hernioplastias abdominais, mantendo o posicionamento da parede muscular, sustentando as vísceras intracavitária e permitindo a movimentação normal dos ratos, apesar das reações clínicas moderadas, conforme as análises clínicas, termográficas e macroscópicas realizadas neste experimento. Apesar, diante a estudos com concentrações menores de glutaraldeído, a pele de truta pode apresentar potencial como malha cirúrgica, com efeitos mais brandos.

A pele de truta Arco-íris processada em clorexidina não apresenta funcionalidade como malha cirúrgico para hernioplastias abdominais, por absorção precoce levando a recidiva herniária. Apesar da absorção completa dos implantes, não foram observados clinicamente sinais de toxemia sistêmica ou qualquer outro efeito ao organismo dos animais, nem por necropsia da parede e cavidade abdominal, durante os 90 dias de observação pós-operatória.

## 6. AGRADECIMENTOS

Centro Universitário Serra dos Órgãos-UNIFESO.  
Projeto de Iniciação Científica e Pesquisa – PICPq -UNIFESO.  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ.  
Escritório Regional Serrano – FIPERJ.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Everling EM, Bandeira DS, Gallotti FM, Bossardi P, Tonattofilho AJ, Grezzana-Filho TJM. Open vs laparoscopic hernia repair in the Brazilian Public Health System: A 11-year Nationwide population-based study. *Arq. Gastroenterol.* 2020;57(4):484-490. doi: 10.1590/S0004-2803.202000000
2. Ricciardi BF, Chequim LH, Gama RR, Hasegawa L. Correção de hérnia abdominal com tela envolta por tecido fibroso – estudo em ratos Wistar. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, 2012; 39(3):195-200.
3. Smeak DD. Abdominal Wall Reconstruction and Hernias. In: Johnston SA, Tobias KM. *Veterinary surgery small animal*. 2.ed. St. Louis: Elsevier; 2018. p.1564-1591.
4. Utrabo CAL, Czezczko NG, Busato CR, Montemór-Netto MR, Lipinski L, Malafaia O. Dentre as telas Pro-lene®, Ultrapro® Ebard soft® qual apresenta melhor desempenho no reparo da parede abdominal? *ABCD Arq Bras Cir Dig.* 2021;34(1).
5. Klinge U, Park JK, Klosterhalfen B. ‘The ideal mesh?’. *Pathobiology.* 2013;80(4):469-175.

6. Quiroga-Centeno AC, Quiroga-Centeno CA, Guerrero-Macías S, Navas-Quintero O, Gómez-Ochoa SA. Systematic review and meta-analysis of risk factors for Mesh infection following Abdominal Wall Hernia Repair Surgery. *Am J Surg.* 2022;224(1 Pt A):239-246
7. Londono R, Badylak SF. Biologic Scaffolds for Regenerative Medicine: Mechanisms of In vivo Remodeling. *Annals of Biomedical Engineering.* 2014;43(3):577– 92.
8. Shi H, Wang R, Dong W, Yang D, Song H, Gu Y. Synthetic Versus Biological Mesh in Ventral Hernia Repair and Abdominal Wall Reconstruction: A Systematic Review and Recommendations from Evidence-Based Medicine. *World J Surg.* 2023;47(10).
9. Montgomery A. The battle between biological and synthetic meshes in ventral hernia repair. *Hernia.* 2013;17:3-11.
10. Junqueira LC, Carneiro J. *Histologia básica.* 12.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan Ltda; 2013. 558 p.
11. Jorge SF, Sousa Filho JCD, Costa CS, Coelho RPC, Souza MF, Gitirana LB, Figueiredo MA. Utilização de pele de Tilápia do Nilo e Rã-touro em hernioplastia de parede abdominal de *Rattus norvegicus*, variedade Wistar. *Revista Jopic.* 2021;6(10). ISSN 2525-7293.
12. Lima-Junior EM, Picollo NS, Miranda MJB, Ribeiro WLC, Alves APNN, Ferreira GE, Parente EA, Moraes-Filho MO. Uso da pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*), como curativo biológico oclusivo, no tratamento de queimaduras. *Rev. Bras. Queimaduras.* 2017;16:1-8.
13. Torres ATS, Lopes BB, Silva AM, Dias MTPM, Bruno ZV, Nunes APN, Junior EML, de Moraes Filho MO, Paier CRK, Rodrigues FAR, Bezerra LRPS. Neovaginoplasty with tilapia fish skin: a series of eleven cases. *Int Urogynecol J.* 2022;33(8):2185-2193.
14. Elango J, Bu Y, Bin B, Geevaretnam J, Robinson JS, Wu W. Effect of chemical and biological cross-linkers on mechanical and functional properties of shark catfish skin collagen films. *Food Bioscience.* 2017;17:42–51.
15. Fernandes JM, Smith VJ. A novel antimicrobial function for a ribosomal peptide from rainbow trout skin. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 2002;296(1):167–171.
16. Fernandes JMO, Molle G, Kemp GD, Smith VJ. Isolation and characterisation of oncorhyncin II, a histone H1-derived antimicrobial peptide from skin secretions of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Developmental & Comparative Immunology.* 2004;28(2):127–138.
17. Ramezanzade L, Hosseini SF, Nikkhah M. Biopolymer-coated nanoliposomes as carriers of rainbow trout skin-derived antioxidant peptides. *Food Chemistry.* 2017;234:220-229.
18. Baucia JA, Leal Neto RM, Rogero JR, Nascimento N. Tratamentos anticalcificantes do pericárdio bovino fixado com glutaraldeído: comparação e avaliação de possíveis efeitos sinérgicos. *Braz. J. Cardiovasc. Surg.* 2006;21(2):180-187.
19. Vivas, D. G., Lopes, J. V. R., Souza, A. S. F. S., Sirelli, L., Escócio, V. A., Pacheco, E. B. A. V., Nogueira, V. A., & Silva, M. F. A. da. (2021). Avaliação morfológica e tensiométrica de pericárdio bovino pré-tratados em glutaraldeído e conservados em glicerina. *Medicina Veterinária (UFRPE)*, 15(2), 130- 137. doi: 10.26605/medvet-v15n2-2541
20. ANDRADE, G.B.; SILVA, M. F. A. Aspectos patológicos do implante de pericárdio bovino tratado pelo glutaraldeído e pela glicerina em parede abdominal de camundongos. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 44, p. 1-7, 2016
21. Maizato, M. J., Higa, O. Z., Mathor, M. B., Camillo, M. A., Spencer, P. J., Pitombo, R. N., Zavaglia, C. A., & Leirner, A. A. (2003). Glutaraldehyde-treated bovine pericardium: effects of lyophilization on cytotoxicity and residual aldehydes. *Artificial organs*, 27(8), 692–694. <https://doi.org/10.1046/j.1525-1594.2003.07275.x>
22. Costa CB, Andrade GB, Silva MFA. Aspectos patológicos do implante de pericárdio bovino tratado pelo glutaraldeído e pela glicerina em parede abdominal de camundongos. *Acta Scientiae Veterinariae.* 2016;44:1-7.
23. Costa BA, Lima Júnior EM, Moraes Filho MO, Fachine FV, Moraes MEA, Silva Júnior FR, Soares MFAN, Rocha MBS. Use of Tilapia Skin as a Xenograft for Pediatric Burn Treatment: A Case Report. *Journal of Burn Care & Research.* 2019;40(5):714-717.
24. Jorge SF. Avaliação Clínica, Termográfica e Morfológica da Utilização da Pele de RãTouro (*Lithobates*

*catesbeianus*) e do Polietileno de Baixa Densidade Laminar Bolhoso (Plástico Bolha) na Hernioplastia da Parede Abdominal de *Rattus norvegicus*, variedade Wistar. [Tese de Doutorado]. Seropédica-Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Veterinária; 2016.

25. Costa CS. Utilização Da Pele De Rã-Touro (*Lithobates Catesbeianus*) Na Hernioplastia Abdominal De *Rattus Norvegicus*, Variedade Wistar: estudo experimental. 2021. 72f. [Dissertação] Graduação em Medicina Veterinária – Centro Universitário Serra dos Órgãos, Teresópolis, 2021.

26. Soares LG, de Oliveira FS, Queiroz ABPS, de Medeiros ACSR, Bariani Junior AF, Fechia ADS, Rocha TASS. Biomechanics of the fresh and conserved bovine pericardium. *Anat Histol Embryol*. 2021.

27. Sartori AS, Mello JRB. Anestesia em animais de laboratório: revisão bibliográfica. *Veterinária em Foco*, 2018; 15(2):19-28.

28. Flecknell P. Rodent analgesia: Assessment and therapeutics. *Vet J*. 2018;232:70-77. doi:10.1016/j.tvjl.2017.12.017.

29. Burger, CP. Telas de polipropileno e de submucosa de intestino de suíno na reparação de falhas na parede abdominal de ratos (*Rattus norvegicus Albinus*). [Tese de Doutorado]. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2014.