

UTILIZAÇÃO DE PELE DE TRUTA ARCO-ÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*), SOB DOIS MÉTODOS DE ESTERILIZAÇÃO, NA HERNIOPLASTIA ABDOMINAL DE *Rattus norvegicus*, VARIEDADE *WISTAR*: ESTUDO EXPERIMENTAL

USE OF RAINBOW TROUT SKIN (Oncorhynchus mykiss), UNDER TWO STERILIZATION METHODS, IN ABDOMINAL HERNIOPLASTY OF Rattus norvegicus, WISTAR VARIETY: EXPERIMENTAL STUDY

Danielle Rangel Neves¹; Sírnia da Fonseca Jorge²; Daniela Mello Vianna Ferrer²;
Juan Benito Campos Diz Atan²; Carolina Seabra da Costa³

RESUMO

A busca do aprimoramento de novos biomateriais para hernioplastias é exponente na pesquisa médica, visto que, apesar da alta incidência de correções herniárias, ainda são relatadas complicações pós-operatórias e recidivas herniárias. Dentre os fatores que contribuem para o sucesso de um biomaterial, enquadram-se a sua composição, estrutura e porosidade, tempo de absorção, o sítio cirúrgico e a técnica empregada. A pele de Truta Arco-íris apresenta estudos promissores a presença de colágeno e peptídeos, este peixe é mundialmente produzido e comercializado. Esta pesquisa objetiva testar a utilização da pele de Truta Arco-íris como biomaterial à procedimentos de hernioplastias abdominais em ratos. O experimento utilizou 40 ratos Wistar, que receberam os implantes do peixe sob dois métodos de desinfecção e conservados em glicerina 100%. Estes animais foram divididos em dois grupos, determinados conforme o agente de desinfecção (clorexidina ou glutaraldeído), e subdivididos quanto ao período de eutanásia em 7, 15, 30 e 90 dias de pós-operatório. Foram realizadas avaliações ponderais, clínicas e macroscópica. Espera-se que este estudo possa comprovar a viabilidade e a segurança do uso da pele de Truta Arco-íris como malha cirúrgica para hernioplastias de parede abdominal. Os implantes de pele de Truta com processamento em clorexidina mostraram-se inviáveis para utilização cirúrgica, por sua absorção precoce em sete dias, acarretando a recidiva herniária. Enquanto, os implantes de pele de Truta com processamento em glutaraldeído demonstraram resultados promissores, com integridade do implante em até 90 dias de pós-operatório, apesar de apresentar alterações clínicas e formações de aderências moderadamente consideráveis.

Palavras – chave: Biomaterial. Glutaraldeído. Clorexidina.

ABSTRACT

The search for the improvement of new biomaterials for hernioplasties is important in medical research, since, despite the high incidence of hernia repairs, postoperative complications and hernia recurrences are still reported. Among the factors that contribute to the success of a biomaterial are its composition, structure and porosity, absorption time, the surgical site and the technique used. Rainbow Trout skin shows promising studies on the presence of collagen and peptides, this fish is produced and sold worldwide. 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 the fish implants under two disinfection methods and preserved in 100% glycerin. These animals were divided into two groups, determined according to the disinfection agent (chlorhexidine or glutaraldehyde), and subdivided according to the euthanasia period at 7, 15, 30 and 90 days postoperatively. Weight, clinical and macroscopic assessments were carried out. It is expected that this study will prove the feasibility and safety of using Rainbow Trout skin as surgical mesh for abdominal wall hernioplasties. Trout skin implants processed in chlorhexidine proved to be unfeasible for surgical use, due to their early absorption within seven days, leading to hernial recurrence. Meanwhile, trout skin implants processed in glutaraldehyde demonstrated promising results, with implant integrity up to 90 days postoperatively, despite presenting clinical changes and moderately considerable adhesion formation.

Keywords: Biomaterial. Glutaraldehyde. Chlorhexidine.

1 Discente do Curso de Graduação em Medicina Veterinária do UNIFESO – daniellerrangeln@gmail.com

2 Docente do Curso de Graduação em Medicina Veterinária do UNIFESO- dmvferrer@gmail.com; siriavet@unifeso.edu.br; juanatan@unifeso.com.br

3 Mestranda do programa de pós-graduação em clínica e reprodução animal da UFF – carolinaseabra@outlook.com

INTRODUÇÃO:

Hérnias são definidas como um defeito na parede abdominal onde um tecido ou órgão sofre uma protusão total ou parcial. São compostas por três estruturas: o anel, que por sua vez é o próprio defeito da cavidade abdominal, o saco e o conteúdo herniário. São acometidas em áreas onde as fibras musculares são mais frágeis, como a região abdominal, fâscias e aponeuroses (1). Na rotina médica, as hérnias são consideradas uma das mais comuns patologias de tratamento cirúrgico. As principais hérnias que atingem os animais são as perineais, umbilicais e diafragmáticas (2).

O tratamento consiste em corrigir o defeito na parede muscular e reposicionar as estruturas em seu lugar anatômico, sendo denominado hernioplastia. Essa técnica cirúrgica, tem como objetivo realizar a rafia na parede muscular, junto a uma malha biológica, e assim, proporcionar sustento dos órgãos e reestabelecer a pressão intra-abdominal (1). A escolha do cirurgião sobre a melhor técnica e material de implantação tem relação direta ao sucesso do procedimento. Devido a isso, desafios na medicina moderna ainda são encontrados na busca de reações pós-operatórias mais brandas em procedimentos de hernioplastia (3).

Materiais provenientes de estruturas de animais são denominadas de membranas biológicas. Pesquisas relatam que as respostas inflamatórias são menores em comparação a utilização de malhas sintéticas. Vale ressaltar que, o uso dessas malhas serve de arcabouço para a resposta cicatricial da parede abdominal. (4). A escolha da utilização de membranas biológicas dá-se pelo seu baixo custo de obtenção, preparo simples e reação tecidual reduzida ou ausente (5). A baixa reatividade e rápida incorporação no organismo do hospedeiro e a alta resistência a tração dos implantes biológicos estão relacionados ao alto percentual de colágeno na matriz extracelular de diferentes espécies. Esses discretos efeitos cicatriciais são proporcionados devido a uma interação dessas fibras colagenosas ao processo cicatricial dos mamíferos estabelecendo uma similaridade celular, podendo servir como um arcabouço de colágeno estimulantes para as células do organismo do próprio paciente. (6).

O uso de pele de peixes e anfíbios vem crescendo muito atualmente na medicina regenerativa (7). Na área terapêutica vem sendo descoberto que a pele de truta arco-íris possui propriedades peptídicas que vem sendo isoladas e estudadas, principalmente em relação aos aspectos antimicrobianos e antioxidantes (8).

OBJETIVO:

O objetivo do presente estudo foi avaliar o uso da pele de truta arco-íris como malha biológica para hernioplastia abdominais em ratos.

METODOLOGIA:

Este experimento foi submetido a Comissão de Ética do Uso de Animais de Experimentação (CEUA/UNIFESO) do Centro Universitário Serra dos Órgãos, e aprovado sob registro nº528/21. E encontra-se de acordo com a Lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008 (Diário Oficial da União, 2008), também, em conformidade com os princípios adotados internacionalmente, sobre a utilização, manutenção e proteção de animais de laboratório. Todas as seções do estudo aderem às Diretrizes ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments), para publicação de pesquisas utilizando animais.

Para o desenvolvimento desta pesquisa, foram utilizados 40 ratos (*Rattus norvegicus albinus*), linhagem Wistar, machos, com idade aproximada de 3 meses e peso de 300 ± 50 g. Estes animais foram provenientes e permaneceram alojados na Instalação de Ciência Animal do Centro Universitário Serra dos Órgãos-UNIFESO, no *Campus* Quinta do Paraíso, em Teresópolis/RJ, em caixas de polipropileno (43 cm x 23 cm x 16 cm), com tampa de arame cromado, zincado ou aço inox, com laterais retangulares e forradas de maravalha autoclavada, enriquecidas com rolos de papelão e brinquedos suspensos. Ainda, mantidos sob ciclo circadiano (12 horas claro, 12 horas escuro), temperatura ambiente de 22 ± 2 °C, umidade relativa do ar entre 45% e 60% e exaustão de ar de 10 – 15 trocar de ar/hora, além de ração comercial para roedores e água potável ad libitum.

Os grupos deste experimento foram, primeiramente, divididos conforme o processamento dos implantes, em dois grandes grupos de 20 animais, o primeiro grupo recebeu implantes de pele de Truta com processamento em solução degermante de Clorexidina 2% (Riohex® 2% 1L, fabricante: Rioquímica) (Grupo C), e o segundo, recebeu os implantes processados em Glutaraldeído 0,5% (Glutaron® 2% 1L, fabricante: Rioquímica) (Grupo G). Assim, os 40 animais deste estudo foram divididos em Grupo C e Grupo G, contendo 20 animais em cada grupo. Posteriormente cada grupo foi redividido em 4 subgrupos de 5 animais, designados conforme o período pós-operatório de eutanásia, em 7, 15, 30 e 90 dias. 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 paramentação e luvas estéreis desde a limpeza dos peixes, até o manuseio final dos implantes. A solução de Clorexidina degermante foi adquirida comercialmente já na concentração de 2% (Riohex® 2% 1L, fabricante: Rioquímica), sendo apenas transferida para recipiente de vidro autoclavado no momento da confecção dos implantes de pele de Truta. Já a solução de Glutaraldeído foi adquirida comercialmente na concentração de 2% (Glutaron® 2% 1L, fabricante: Rioquímica), sendo necessário diluição até concentração desejada. A diluição do glutaraldeído iniciou-se com a tamponagem da água destilada com solução fosfato-salina (Solução Tampão PBS 1X 500mL; fabricante: Nova Biotecnologia) adquirida já na concentração ideal de 1x, com pH final 7.4. Por fim, a solução tamponada de água destilada foi utilizada para diluição proporcional do glutaraldeído, através da proporção em volume da solução, e a proporção em volume do Glutaraldeído 2%, até alcançar a concentração de 0,5% na solução de Glutaraldeído, a qual também foi alocada em recipiente de vidro estéril no momento do preparo dos implantes.

As peles de Truta Arco-íris foram obtidas em parceria ao Escritório Regional Serrano da FIPERJ, por meio de tratário comercial, acordando as normas legais higiênico-sanitárias, localizado no município de Nova Friburgo-RJ. Foram obtidos 6 peixes deste criatório, pesando aproximadamente 350 ± 50 gramas, os quais foram alocados em gelo imediatamente após a despesca, sendo dessensibilizados, e permanecendo sob imersão no gelo, com temperatura aproximada de $0^{\circ}\text{C} (\pm 2)$, durante o percurso até o 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 foi realizado o processamento dos peixes e preparo dos implantes. Em seguida, foi realizada retirada das escamas, evisceração e limpeza dos peixes em água corrente, seguindo de incisão crânio caudal, paralela à coluna vertebral, a partir de onde separou-se da espinha e dos filés 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), com as dimensões aproximadas de 16 cm de comprimento e 7 cm de largura, variando conforme a correspondente porção do corpo. 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

juntos da 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 antisepsia. O primeiro grupo (Grupo C) foi processado com a desinfecção dos implantes de pele de truta através da imersão destes em solução de Clorexidina 2% degermante, por 60 minutos, seguidas de lavagem abundante com NaCl 0,9% estéril. O segundo grupo de implantes (Grupo G) teve seu processo de desinfecção realizado através da imersão das peles de truta em Glutaraldeído 0,5%, com os fragmentos mantidos imersos nas soluções 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. Ao fim dos 18 dias, os fragmentos foram enxaguados com NaCl 0,9% estéril, antecedendo a continuidade do processamento. Após esta etapa de desinfecção química, antecedendo a conservação, as peles de ambos os grupos foram imersas em Álcool 92,8%, durante 10 minutos. Em seguida a rápida imersão, as peles passaram por secagem e leve desbridamento com gaze, de sua porção epidérmica, objetivando retirada de resquícios bióticos do ambiente em que a truta se desenvolveu. Na próxima etapa, foram encaminhadas para recipiente de vidro vedável e autoclavado contendo solução comercial de Glicerina 100% (Glicerina 1L; fabricante: Rioquímica), em quantidade suficiente para cobrir os implantes. Estas peles permaneceram sob conservação em glicerina por, no mínimo, 30 dias. No momento de sua utilização, foi realizada reidratação destes implantes submersos em solução NaCl 0,9% por período mínimo de 20 minutos.

A técnica anestésica empregada neste experimento, preconizou o manejo consciente dos animais, sendo realizada evitando ao máximo o estresse, e respeitando os ideais de bem-estar dos animais de experimentação. A anestesia inalatória aconteceu através de uma estação anestésica para ratos e camundongos, da Brasmed®, com vaporizador calibrado para Isoflurano, empregado em circuito aberto, através de câmara anestésica ou na máscara facial ideal para a espécie. O procedimento foi iniciado com a contenção química dos animais em circuito aberto, através de câmara anestésica, com entrada para mangueira diretamente da estação de anestesia, contendo a mistura de gases de Isoflurano e Oxigênio 100%. Após os animais sedados, foi realizada a indução anestésica através da administração da associação de Cetamina (Cetamin® 10%; Syntec) (dose: 75mg/Kg) e Xilazina (Xilazin® 2%; Syntec) (10mg/Kg) via intraperitoneal. A partir, com a mensuração da frequência cardíaca e saturação de oxigênio, conjunto aos reflexos corpóreos, o plano anestésico dos animais foi estabilizado através de máscara facial,

com a mistura de gases (Isoflurano e Oxigênio), com CAM de 1-3. Durante o trans anestésico os animais e o ambiente foram submetidos a controle térmico, a fim de reduzir a hipotermia ocasionada pelo procedimento anestésico e cirúrgico, com compressas aquecidas nos trans e pós-operatório. A analgesia dos animais foi realizada com a administração de Cloridrato de Tramadol (dose: 12,5 mg/Kg) (Tramadon® 50mg/mL; Cristalía), via subcutânea, imediatamente após o fim do procedimento cirúrgico, e durante os 5 dias sequentes de pós-operatório, por mesma via. Em cada dia de cirurgia, foram separados 10 ratos, sendo 5 animais que receberam pele de Truta preparada com a clorexidina degermante 2%, e os outros 5 que receberam pele preparada com glutaraldeído. Então, o manejo que antecede as cirurgias foi feito com o preparo de 10 kits instrumentais, panos de campo, respectivamente um para cada roedor e recipiente de metal para a hidratação das peles. Os animais foram submetidos a tricotomia abdominal total após a anestesia, a fim de diminuir as contaminações durante o procedimento cirúrgico. A técnica cirúrgica foi feita compreendendo uma laparotomia mediana xifo-púbica. Começando por incisão de pele, colocação de dois reparos em pele, ao lado direito da incisão, com fio de nylon 4.0, dissecação de subcutâneo e criação de uma falha, com base na linha alba, em toda porção direita da parede muscular abdominal, incluindo aponeurose e fâscias musculares, músculo e peritônio. Estima-se que esta falha compreendeu cerca de 1,5 centímetros em eixo transversal e 3,0 centímetros em eixo longitudinal, da porção direita da parede muscular abdominal. A técnica de implantação foi com o implante de pele de Truta com a epiderme em direção as vísceras, fixada por sutura contínua simples, interrompida em cada borda da ferida separadamente, com fio de nylon 4.0. A síntese da ferida cutânea ocorreu em padrão interrompido, “Wolf” ou “u horizontal”, com fio de nylon 4.0. O pós-operatório imediato seguiu com a administração, via subcutânea, do opióide Cloridrato de Tramadol (12,5 mg/Kg). Com posterior realocação dos ratos em suas caixas de polipropileno com maravalha autoclavada, posicionadas sob colchão termicamente aquecido, onde os animais foram cobertos para manutenção da temperatura e observados individualmente até completamente despertados da anestesia.

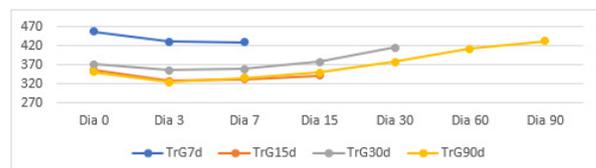
Após os cinco dias seguintes ao procedimento cirúrgico, foi realizada a mensuração da dor nos animais através do manual de códigos e expressões faciais de dor em ratos de laboratório, mediante a escala Grimace para ratos, onde o resgate analgésico foi realizado com mesmo opioide, por mesma via a cada 24 horas. Os animais também foram submetidos a administração do antimicrobiano Enrofloxacin (Zelotril® 10%; Agener) (dose:

100mg/1 Litro de água) na água de beber, durante os 8 dias sequentes ao procedimento cirúrgico.

RESULTADOS:

Foi feita a análise ponderal do dia 0 (D0) até o dia 3 (D3) todos os animais dos subgrupos, tanto de glutaraldeído quanto de clorexidina, demonstraram perda de peso. A partir do dia 7 (D7), observou-se que, 70% apresentaram ganho de peso, 10% mantiveram o peso e 20% continuaram perdendo o peso. Ao 15º dia os animais demonstraram sucessivo ganho de peso e aos subsequentes períodos de análise, os indivíduos exibiram recuperação completa e ganho ponderal. Ao 30º dia todos os animais apresentavam pesos superiores ao mensurado ao dia do procedimento cirúrgico, assim como, ganho de peso sucessivo ao 60º e 90º dia de pós-cirúrgico. Conforme visto no grupo de roedores que receberam implantes confeccionados com glutaraldeído, sua análise ponderal média obteve o ápice de perda de peso ao 3º dia, seguido por um início de recuperação evidenciado ao 7º dia, com progresso constante de ganho de peso aos períodos subsequentes, com isso, o subgrupo dos animais eutanasiados em 7 dias de pós-operatório não apresentaram recuperação ponderal do dia do procedimento até a eutanásia. Ao 15º dia observou-se que, 53,4% dos animais apresentaram peso ainda inferior ao registrado em D0, enquanto 40% dos animais apresentavam peso superior, e 6% mantiveram peso idêntico ao do dia do procedimento cirúrgico. Aos intervalos de análise seguintes, o ganho de peso corporal permaneceu constante, com todos os animais superando o peso inicial, tanto em média no grupo quanto individualmente. A análise estatística do peso dos animais não demonstrou relevância estatística ($p=0.16$) (Figura 1).

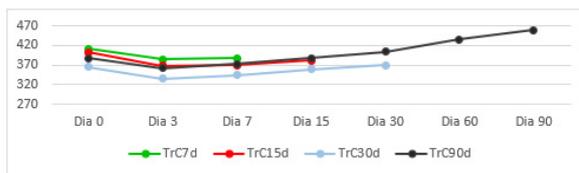
Figura 1- Gráfico da variação do peso médio dos roedores pertencentes ao grupo glutaraldeído



A análise ponderal média do grupo de clorexidina, também demonstrou que todos os subgrupos, ao 3º dia, obtiveram o ápice da perda ponderal, a partir do 7º dia foi observado início da recuperação do peso dos animais com 80% destes apresentando ganho de peso, 5% mantiveram o peso corporal e 15% ainda apresentaram perda de peso. Ao 15º dia 100% dos animais apresentaram ganho de

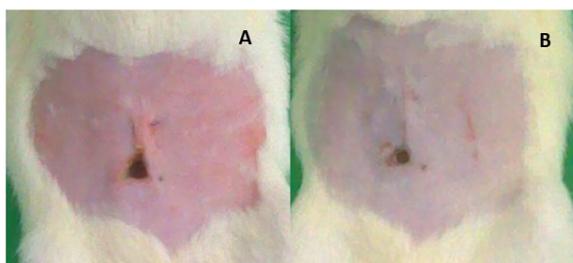
peso. No 30° dia, 80% dos animais apresentavam ganho de peso, enquanto 20% apresentaram perda de peso, em referência a análise realizada ao 15° dia. Ao 60° dia 100% dos animais apresentaram sucessivo ganho de peso, assim como também foi observado a análise final, ao 90° dia de pós-operatório. A análise estatística do peso dos animais do grupo com as peles de Truta com processamento em clorexidina também não demonstrou relevância estatística ($p=0.60$) (Figura 2).

Figura 2- Gráfico da variação do peso médio dos roedores pertencentes ao grupo clorexidina



Foi feita análise clínica dos roedores. No grupo glutaraldeído, observou-se alteração clínica em apenas 2 dos 20 animais, ou seja, apenas 10% dentre todos os subgrupos, independente do período de pós-operatório, obtiveram alteração clínica. Em sete dias de pós-operatório de todos os grupos, não foram observadas alterações clínicas, com isso, o grupo TrG7 não manifestou nenhum tipo de complicação. O grupo TrG15d demonstrou 1 animal (20%) com deiscência de sutura depois do 7° dia de pós-operatório, a qual seguiu a cicatrização por segunda intenção, estando no dia da eutanásia sem evolução infecciosa ou inflamatória (Figura3).

Figura 3 – A) Grupo TrG15d – Fotomicrografia da deiscência de sutura em 7 dias; B) Sua evolução em 15 dias

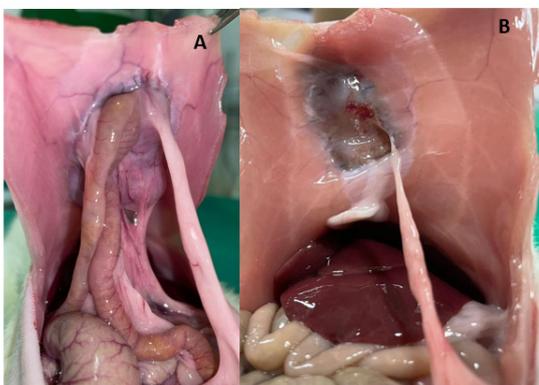


O grupo TrG30d não apresentou alteração pós-operatória durante seu período de análise de 30 dias. O grupo TrG90d não demonstrou alteração clínica imediata, porém, aos 15 dias de pós-operatório, um dos animais apresentou reação ao fio de sutura, obteve também sinais de infecção, com a formação de um abscesso, que regrediu espontaneamente e completamente após três dias e ocorreu a cicatrização por segunda intenção, sem sinais de piora. O grupo Clorexidina, a maioria dos animais apresentaram alterações pós-operatórias, como edema, seroma e abaulamento abdominal.

Porém não foram observadas as alterações como deiscência de sutura, abscessos ou infecções. Todos os animais desse grupo obtiveram alteração clínica em algum período pós-operatório. O subgrupo TrC7d demonstrou alterações como edema e abaulamento abdominal, todas em grau leve a moderado. No primeiro dia de pós operatório, foi observado edema no roedor número 1 que se estendeu até o dia 2, nessa mesma data, o roedor número 3 também foi ocasionado com edema. No dia 3 até o dia 7 observou-se abaulamento abdominal moderado em roedor número 1, 2 e 3, leve em roedor número 4 e 5. Concluindo então, a presença de edema em 40% dos animais e abaulamento abdominal em 100% dos animais. O subgrupo TrC15d também demonstrou alterações como edema e abaulamento abdominal. No 1° dia de pós operatório, o roedor número 3 apresentou edema grave, onde também foi observado no roedor número 2 no 2° dia. No 3° dia, foi visto que apenas o roedor número 3 apresentou abaulamento abdominal. No 7° dia, todos os animais apresentavam abdômen abaulado, sendo roedores números 1 e 4 de grau leve e 2, 3 e 5 em grau moderado, permanecendo dessa forma até o dia da eutanásia. Foi observado edema em 40% dos animais e abaulamento abdominal em 100% dos animais. O subgrupo TrC30d apresentou quadros de seroma e abaulamento abdominal. Até o 7° dia, não foram observadas alterações nos animais deste grupo, entretanto, a análise do sétimo dia revelou formação de seroma em 3 animais, estando roedor número 1 grave, número 2 muito grave e número 3 moderado. No 15° dia foram observados abaulamento abdominal de grau leve em 100% dos animais. O subgrupo TrC90d demonstrou alterações como edema, seroma e abaulamento abdominal. Ao 2° dia de pós operatório, foi observado que o roedor de número 1 possuía edema e o roedor de número 2 possuía abaulamento abdominal, o qual seguiu aos demais períodos da análise. Ao 7° dia foi vista a formação de seroma no roedor número 2, o qual foi drenado através da sutura cutânea, ao 30° dia foi observado abaulamento abdominal moderado em roedor número 1 e leve em roedores números 2, 3, 4 e 5. Sendo assim, no grupo de animais que recebeu pele de truta com processamento em clorexidina, demonstrou maior percentual de complicações em ocorrências de alterações clínicas em pós-operatório como edemas, seromas e abaulamento abdominal. Totalizando 20 animais deste grupo, o edema apareceu em 20% destes e o seroma também na mesma porcentagem, 20%. O abaulamento abdominal foi observado a partir do terceiro dia, em 35% dos animais. Posteriormente, ao sétimo dia, 100% destes apresentavam abaulamento abdominal em diferentes graus, os quais permaneceram até o designado momento de eutanásia, sem evolução positiva ou negativa, em todos os animais, independente do grupo. A análise

se macroscópica também foi feita, Na observação das cavidades abdominais durante a necrópsia, revelaram formação de aderências entre estruturas intracavitárias e o fio de sutura ou implante em todos os animais, independente dos grupos, clorexidina e glutaraldeído, ou período de pós-operatório. De forma geral, dos 40 animais contabilizados, foram observadas 73 formações de aderências, sendo 28% em omento, 40% em ligamento testicular direito, 25% em ligamento testicular esquerdo, 1,4% em mesentério, 5,6% em intestino, não foram observadas aderências em outras estruturas. Também não foram observadas presença de fistula entérica em nenhum dos animais com presença de aderências envolvendo intestino, mesmo após aderências manipuladas e desfeitas, independente do grupo ou período de análise. O grupo de animais com implantes confeccionados em glutaraldeído, apresentou formações de aderência em omento, ligamento testicular direito, ligamento testicular esquerdo, mesentério e intestino. Obtiveram classificações em grau 1 ou leve, ou grau 3 ou grave, visto conforme grau de adesão e estruturas aderidas. Neste grupo, durante a avaliação macroscópica, foi possível observar a presença e integridade do implante, independente do período pós-operatório em que a análise ocorreu, dias 7, 15, 30 e 90 dias de pós cirúrgico. A análise macroscópica do grupo glutaraldeído como um todo, constatou o total de 31 formações de aderências (Figura 4), sendo 36% destas em omento, 39% em ligamento testicular direito, 16% em ligamento testicular esquerdo, 6% em intestino e 3% em mesentério. Sendo então, 85% destas em grau 1 ou leve e 15% em grau 3 ou grave, contudo, nenhuma das aderências apresentaram complicações, como fistulas ou rupturas.

Figura 4- Roeores do grupo TrG90d. A) Aderência de intestino e lig. testicular esquerdo em roedor número 2, grau 3. B) Aderência de lig. testicular direito em roedor número 4



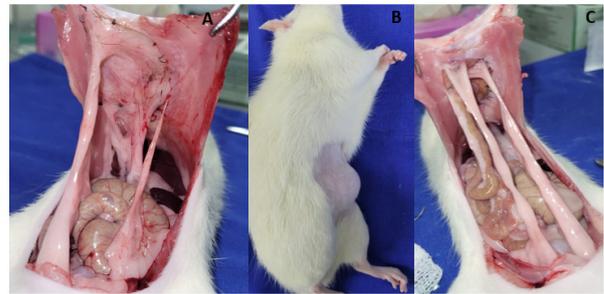
Ainda, foi observado até 3 formações de aderências por animal simultaneamente, do total de 20 animais, 55% destes apresentaram apenas uma formação de aderência, 35% apresentaram 2 for-

mações de aderências e 10% apresentaram três formações de aderências. Os animais do grupo eutanasiados aos 7 dias de pós-operatório (TrG7d) apresentaram total de 9 formações de aderências, das quais 44% destas em omento, 34% em Ligamento testicular direito, 11% em mesentério e 11% em intestino. Sendo então 78% destas classificadas em G1 ou leve e 22% classificadas em grau G3 ou grave. Ainda, os implantes permaneceram fixos ao local de implantação sendo deferido pela cor do tecido muscular. O subgrupo de animais eutanasiados aos 15 dias de pós-operatório (TrG15d) apresentou total de 9 formações de aderências, sendo 22% em omento, 45% em Ligamento testicular direito e 33% em Ligamento testicular esquerdo. As formações de aderências neste grupo foram todas classificadas em Grau 1, ou leve. Contudo, os implantes ainda se mostravam visíveis e fixos, sendo diferenciados pela sua cor em comparação com o tecido muscular. O subgrupo de animais eutanasiados aos 30 dias de pós-operatório (TrG30d) apresentaram total de 5 formações de aderências, sendo neste grupo todos os animais com apenas 1 formação de aderência, variando conforme a estrutura, todas classificadas em Grau 1 ou leve. Assim, 40% destas encontravam-se envolvendo omento, 40% ligamento testicular direito, e 20% delas em ligamento testicular esquerdo. Ainda, observou-se que os implantes de pele de Truta arco-íris estavam macroscopicamente íntegros, com diferenciação de pigmentação notável e sutura fixa em seus bordos, mesmo após as aderências desfeitas. O último subgrupo do Grupo Glutaraldeído, os animais eutanasiados aos 90 dias de pós-operatório (TrG90d), apresentaram um total de 8 formações de aderências, sendo 38% destas envolvendo omento, 50% envolvendo ligamento testicular direito, e 12% envolvendo intestino. Sendo assim, 4 animais apresentaram aderências classificadas em Grau 1 ou leve, roedores números 1, 3, 4 e 5, enquanto o roedor número 2 apresentou aderência em Grau 3 ou grave. Os implantes apresentavam-se macroscopicamente visíveis, diferindo em coloração do tecido muscular, apesar de aparentemente encapsulados, as suturas de fixação eram de possível observação e encontravam-se fixas. Os grupos de animais que receberam implantes de pele de Truta com processamento em clorexidina, Grupo C, demonstrou presença de formações de aderências em todos os animais. As estruturas envolvidas englobaram omento, ligamento testicular direito, ligamento testicular esquerdo e intestino. Estas aderências demonstraram Grau 1 ou leve e Grau 3 ou grave, com tudo, mesmo após desfeitas não apresentaram dano a estrutura intracavitária ou a região aderida. Em todo o grupo, durante análise clínica foi observado abaulamento abdominal, o qual descobriu-se posteriormente ser secundário a absorção precoce ou ruptura do implante,

sendo assim, foi constatada recidiva herniária em alguns animais e foi possível observar a integridade total e fixação do implante durante a avaliação macroscópica. Em alguns casos, foi possível observar parte do implante, sendo ele encapsulado ou não, e em outros animais apenas o fio de sutura em musculatura. Estas alterações foram observadas em todos subgrupos de períodos pós-operatórios de análise. No total, foram analisadas 42 formações de aderências, onde 23,8% destas envolviam omento, 40,4% ligamento testicular direito, 30,9% ligamento testicular esquerdo, e 4,7% envolviam o intestino. Ainda, do total de 20 animais, 25% apresentaram apenas uma formação de aderência, 35% apresentaram duas formações de aderências, e 40% dos animais apresentaram três formações de aderências.

O subgrupo dos animais eutanasiados no período de 7 dias de pós operatório (TrC7d) apresentou aderências envolvendo omento, ligamento testicular direito e ligamento testicular esquerdo. A avaliação dos implantes demonstrou recidiva herniária em todos os animais, onde a ausência total do implante ocorreu em 40% dos animais e a presença parcial da malha foi observada em 60% dos animais. Foi analisado o total de 7 formações de aderências, sendo todas em grau 1 ou leve, ainda, observou-se que 14% das aderências envolviam omento, 58% ligamento testicular direito e 28% ligamento testicular esquerdo. Todos os animais deste subgrupo apresentaram grau 1 ou leve. Durante a análise, foi notado que houve ausência completa dos implantes em 40% dos animais, estando estes apenas com o fio de sutura fixo em musculatura e sendo possível em observação macroscópica. Os 60% restante possuíam o implante em parte, porém, fistuloso ou rompido. O grupo de animais eutanasiados aos 15 dias de pós-operatório, TrC15d, apresentaram no total 10 formações de aderências, sendo 20% em omento, 40% em ligamento testicular esquerdo, 30% em ligamento testicular direito e 10% em intestino. Apenas 20% apresentaram aderências classificadas em grau 3 ou grave, os 80% restante apresentaram aderências de grau 1 ou leve. A ausência completa do implante foi observada em apenas um animal, roedor número 1, onde no local correspondente havia presença de tecido aparentemente fibrinoso, os demais roedores número 2, 4 e 5, foi possível ainda observação dos implantes de pele de Truta, que apresentavam-se parcialmente rompido, ocasionando a recidiva herniária, por fim, o roedor número 3 demonstrou a presença do implante encapsulado e junto a um líquido com aparência de seroma, o qual foi drenado internamente (Figura 5).

Figura 5- A) Roedor número um com o implante envolto por tecido fibrinoso; B) Recidiva herniária em roedor número 4; C) Aderência de intestino, lig. testicular esquerdo e direito em sutura com implante rompido, roedor número 5, grau 3



O grupo de animais eutanasiados aos 30 dias de pós-operatório, TrC30d, apresentaram um total de 12 formações de aderências, sendo 25% em omento, 33% em ligamento testicular direito, 33% em ligamento testicular esquerdo e 9% em intestino. Ainda, 80% dos animais apresentaram aderências em grau 1 ou leve, e 20% deles apresentou em grau 3 ou grave. A ausência completa dos implantes não foram observadas, entretanto, em dois animais, roedores números 1 e 3, o implante encontrava-se encapsulado em tecido de aparência fibrinosa, tendo pouca visibilidade, somente em alguns pontos, enquanto em outros não era possível observar por conta do encapsulamento ou aderências sobrepostas. Foi estimado que os implantes desses animais encontravam-se em processo de absorção. Aos demais 60% dos animais, foi possível a observação parcial da malha, sendo dos roedores números 2 e 4 parcialmente rompidos e do roedor número 5 parcialmente absorvido, sendo em grande porção ausente. Por fim, o último subgrupo dos animais que receberam o implante confeccionado em clorexidina, TrC90d, apresentaram em total 13 formações de aderências, sendo 31% em omento, 28% em ligamento testicular direito e 31% em ligamento testicular esquerdo. Com tudo, todos os roedores apresentaram aderências de grau 1 ou leve. A ausência completa dos implantes foi observada em 80% dos animais, roedores número 1, 3, 4 e 5. Durante a avaliação macroscópica foi observado a presença de cápsula de aparência fibrinosa em roedor número 2 e 3, com ausência de recidiva herniária.

DISCUSSÃO:

A perda de peso inicial, até o terceiro dia de pós operatório, pode ser justificada por prováveis alterações metabólicas causadas pelo procedimento anestésico-cirúrgico, como observam Sartori e Mello (9), onde os pequenos roedores submetidos a anestésias gerais tendem a apresentar queda de peso após recuperação anestésica. Ainda vale

ressaltar que, o trauma cirúrgico também pode colaborar para a diminuição do peso dos animais em pós-operatório, onde também foi observado em demais estudos experimentais similares que obtiveram o mesmo trauma cirúrgico, como em Jorge (7), Jorge et al. (10) e Costa (11) que relatam a perda ponderal dos roedores usados para o experimento em até 7 dias de pós-operatório. No grupo de animais que receberam pele tratada com glutaraldeído, não foram observados a presença de edemas e seromas, alterações descritas em estudos com técnica cirúrgica e proposta de biomaterial orgânico similar, como relatado por Burger (12) e Jorge (7), ou até mesmo com material sintético como cita Diogo-Filho et al. (13). Nesse experimento, 5% dos roedores que receberam peles confeccionadas com glutaraldeído apresentaram deiscência de sutura, discordando de Jorge (7) onde a autora constatou que 40% dos animais que receberam pele de rã touro e 10% dos que receberam polietileno de baixa densidade laminar bolhoso apresentaram deiscência de sutura. Essa menor taxa de deiscência de sutura pode ser atribuída ao meio de confecção do implante e/ou ao tipo de sutura cutânea empregada. A síntese cutânea dos roedores foi feita com a técnica de “Wolf” ou “u-horizontal”, concordando com Burger (12), que relata o uso deste tipo de rafia em roedores é de melhor resposta, pois assim, mesmo roendo a ponta do fio, continua ancorada em sua pele, evitando a deiscência de sutura. A deiscência de sutura ocorreu somente em ratos que receberam o implante confeccionado com glutaraldeído, concordando com Vivas et al. (14) que afirmam que o glutaraldeído pode levar a alta toxicidade no local do implante, podendo então, ser uma possível explicação para o ocorrido. Os animais que tiveram implantes confeccionados com clorexidina, apresentaram aparecimento de edema e seroma, concordando com Lopes et al. (15) que destacam o seroma como uma das complicações mais comuns, independente da técnica ou malha da hernioplastia utilizada. De acordo com o autor, o aparecimento de seromas em pesquisas utilizando roedores é atribuído ao fato de não ser realizada a sutura de subcutâneo, para a redução de espaço morto, entre a malha e a pele, principalmente por conta dos roedores não possuírem tecido adiposo no espaço subcutâneo. No presente estudo 20% dos animais do grupo clorexidina, apresentaram seromas autolimitantes, percentual superior ao encontrado por Bellows et al. (16), que apresentou uma taxa de 12% de aparecimento de seroma em um estudo utilizando malha biológica em hernioplastias em humanos. O edema apareceu em 20% dos roedores deste grupo, como também foi visto na pesquisa de Burger (12) e Jorge (7), que também apresentaram baixa incidência, podendo estar relacionado com o período ápice do trauma cirúrgico. A partir

do sétimo dia de pós-operatório, todos os animais do grupo Clorexidina, apresentaram abaulamento abdominal, concordando Montgomery (6), onde o autor cita a presença de abaulamento abdominal no uso de malha biológica, e suspeitando-se de frouxidão do implante, podendo ser absorção precoce com recidiva herniária, a qual foi de possível confirmação através da avaliação visual durante análise macroscópica. De acordo com Montgomery (6) a presença de abaulação abdominal é de extrema importância, podendo ser indicativo de absorção precoce da malha biológica, esse acontecimento pode levar a uma falha no reparo herniário, ou seja, trazendo uma recidiva herniária. Neste estudo todos os animais em todos os períodos pós-operatórios estudados demonstraram o aparecimento de aderências à malha biológica, destas aderências grande parte foi constituída de omento, que é comumente visto em algumas pesquisas como, Vidor et al. (14), Leal et al. (17) e Jorge (7), que utilizaram próteses compostas por peritônio de paca, pericárdio bovino e pele de rã touro respectivamente, onde demonstraram aderências de omento em suas malhas com 100% de incidência, apresentando incidências maiores quando comparado a essa pesquisa. Além disso, Burger (12) enfatiza que o omento não causa prejuízos ao paciente quando aderido, sendo considerado importante, pois sua presença pode ser usada para combater infecções por absorver e destruir materiais estranhos. O biotério onde esse experimento foi realizado possuía climatização controlada, os animais eram alocados no ambiente com temperatura entre 20°C e 22°C, esta temperatura baixa pode ter favorecido a ocorrência de aderências de ligamento testiculares ao fio de sutura ou implante, concordando com Jorge (7) que relata a formação de aderências entre o ligamento testicular e o implante é causada pelo mecanismo de termorregulação dos roedores, onde os testículos se movem para a porção intra-abdominal, mantendo assim, contato direto com a porção caudal do implante. Estima-se que roedores que tiveram ambos os ligamentos, esquerdo e direito, aderidos é devido ao implante acabar se deslocando conforme a compensação da parede abdominal aos movimentos dos animais, deixando assim, um ligamento testicular mais centralizado que o outro. Neste estudo, foi apresentado 11% de aderência de mesentério (Grupo G) e 4,7% de intestino (Grupo C), que de acordo com a pesquisa de Russi (18) é relatado que a aderência de mesentério e intestino em malha sintética, tem a justificativa pela presença de células mesoteliais, que possuem semelhança com as células endoteliais vasculares, originados do mesoderma, possuindo fonte de mediadores inflamatórios, fatores quimiotáticos e apresentando células de aderência para neutrófilos que interagem com os receptores leucocitários, tendo assim, aderência e migração

de neutrófilos para o local de agressão. Os resultados encontrados nesta pesquisa, utilizando pele de Truta em dois métodos diferentes de conservação, demonstraram diferenças importantes com relação a baixo tempo de absorção (Grupo C) e acentuados processos inflamatórios (Grupo G) quando comparados aos resultados obtidos por Jorge (7), Sousa Filho (19) e Costa (11), que utilizaram próteses biológicas com pele de anfíbios e peixes, onde foi visto maior tempo de absorção, sem recidiva herniária, menor processo inflamatório e menores números de aderências.

CONCLUSÃO:

Os implantes processados em clorexidina são inviáveis ao uso cirúrgico devido a absorção precoce. Entretanto, os implantes confeccionados por glutaraldeído, apesar das reações observadas, apresentaram características promissoras ao uso cirúrgico.

AGRADECIMENTOS:

Ao Centro Universitário Serra dos Órgãos-UNIFESO, Projeto de Iniciação Científica e Pesquisa (PICPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro-FAPERJ e a Federação dos Pescadores do Estado do Rio de Janeiro – FIPERJ.

REFERÊNCIAS:

1. 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.
2. Everling EM, Bandeira DS, Gallotti FM, Boscardi P, Tonattofilho AJ, Grezzana-Filho TJM. Open vs laparoscopic hernia repair in the Brazilian Public Health System. *Arq. Gastroenterol.* 2020; 57 (4): 484-490.
3. Utrabo CAL, Czeczko NG, Busato CR, Montémor-Netto MR, Lipinski L, Malafaia O. Dentre as telas Prolene®, Ultrapro® Ebard soft® qual apresenta melhor desempenho no reparo da parede abdominal? *ABCD Arq Bras Cir Dig.* 2021; 34 (1): 1-6.
4. Quitzan JG, Rahal SC, Rocha NR, Crocci AJ. Comparação entre pericárdio bovino preservado em glicerina e malha de poliéster no reparo de falhas da parede abdominal em ratos. *Acta Cirúrgica Brasileira*, São Paulo, 2003; 18 (4): 297- 301.
5. Azevedo RA, Stopiglia AJ. Principais materiais biológicos e sintéticos utilizados em cirurgias para reconstrução de parede abdominal na Medicina Veterinária: revisão de literatura *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP / Journal of Continuing Education in Animal Science of CRMV-SP* 2018; 16 (2): 42-46.
6. Montgomery A. The battle between biological and synthetic meshes in ventral hernia repair. *Hernia*, 2013; 17:3-11.
7. Jorge SF. Avaliação Clínica, Termográfica e Morfológica da Utilização da Pele de Rã-Touro (*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]. Seropedica-Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Veterinária; 2016.
8. Ramezanzade L, Hosseini SF, Nikkhah M. Biopolymer-coated nanoliposomes as carriers of rainbow trout skin-derived antioxidant peptides. *Food chemistry.* 2017; 234: 220-229.
9. Sartori AS, Mello JRB. Anestesia em animais de laboratório: revisão bibliográfica. *Veterinária em Foco*, 2018; 15(2):19-28.
10. Jorge SF, Sousa Filho JCD, Costa CS, Coelho RP, Souza MF, Gitirana LB, Figueiredo MA. Utilização da pele de tilápia do Nilo e rã-touro em hernioplastia de parede abdominal de *Rattus norvegicus* variedade wistar. *Revista da JOPIC*, 2021; 6 (10)
11. 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.
12. 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.
13. Diogo-Filho A, Lazarini BCM, Vieira-Junior F, Silva GJ, Gomes HL. Avaliação das aderências pós-operatórias em ratos submetidos à peritoniotomia com tela de polipropileno associada à nitrofurazona. *Arquivo de Gastroenterologia*, 2004; 41(4): 245-249.

- 14.. Vivas DG, Lopes JVR, Souza ASFS, Sirelli L, Escócio VA, Pacheco EBAV, Nogueira VA, Silva MFA. Avaliação morfológica e tensiométrica de pericárdio bovinos pré-tratados em glutaraldeído e conservados em glicerina. UFRPE- Medicina Veterinária, 2021; 15 (2): 130- 137.
15. Lopes S, Mayer A, Spiandorllo V, Matisoski A, Bonato F, Treml R. Seroma gigante pós hernioplastia incisional com tela não absorvível (polipropileno). Arq. Catarinenses de Medicina, 2014; 43 (3), 58-61.
16. Bellows CF, Smith A, Malsbury J, Helton WS. Repair of incisional hernias with biological prosthesis: a systematic review of current evidence. The American Journal of Surgery, 2013; 205(1).
17. Leal LM, Ferreira ARS, Reis ACG, Martins LL, Garcia Filho SP, Machado RF. O uso do peritônio de paca conservado em solução supersaturada de açúcar a 300% ou glicerina a 98% implantados na parede abdominal de ratos. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec, 2014; 66 (5); 1383-1391,
18. Russi, RF. Estudo comparativo da celularidade da reação inflamatória aguda na serosa e mesentério intestinais às telas de poliamida e polipropileno em ratos wistar com peritonite fecal por técnica morfométrica. 2004. 60f. [Dissertação] Mestrado em Medicina – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.
19. Sousa Filho JCD. Utilização Da Pele De Tilápia Do Nilo (*Oreochromis Niloticus*) Na Hernioplastia Da Parede Abdominal De *Rattus Norvegicus*, Variedade Wistar. 2019. 73f. [Dissertação]- Graduação de Medicina Veterinária – Centro Universitário Serra dos Órgãos, Teresópolis, 2019.