

Ensaio biomecânico da túnica albugínea bovina conservada em glicerina 98% para utilização como membrana biológica

Biomechanical test of bovine tunica albuginea preserved in 98% glycerin for use as a biological membrane

Fábio Ferreira de Queiroz^I Guilherme Chagas Cordeiro^{II} Ana Bárbara Freitas Rodrigues^{III}
Leonardo Serafim da Silveira^{III}

RESUMO

As membranas biológicas são biomateriais de origem orgânica, geralmente constituídas por colágeno. São utilizadas em diversos fins, dependendo da característica de cada material conservado. A túnica albugínea está sendo mais utilizada atualmente como uma membrana biológica e suas características ainda precisam ser estudadas. O objetivo deste trabalho foi avaliar as características estruturais relacionadas à biomecânica da túnica albugínea bovina conservada em glicerina 98% para utilização como membrana biológica. Para a análise da influência da idade do animal doador sobre a resistência da membrana, foram separados dois grupos. Foram testadas 34 amostras, sendo 17 amostras de membranas oriundas de animais com até um ano e onze meses de idade e o mesmo número de amostras oriundas de animais com idade entre dois e quatro anos. Sendo assim, formou-se um subgrupo com corpos de prova testados a partir de um corte transversal ao sentido longitudinal da membrana com 12 amostras, e outro constituído por corpos de prova testados a partir de cortes feitos na direção longitudinal da membrana, também com 12 amostras. Os resultados de resistência à tração não mostraram diferenças entre os grupos em nenhuma das comparações.

Palavra-chave: biomaterial, implante natural, resistência.

ABSTRACT

The biological membranes are biomaterials formed by structures of organic origin, usually collagen. They are used for many purposes depending on the characteristics of this material. The tunica albuginea is being used recently as

a biological membrane and its characteristics however need to be studied and discussed. The aim of this study was to evaluate the structural features related to the biomechanics of bovine tunica albuginea preserved in 98% glycerin for use as a biological membrane. To analyze the influence of age on the resistance of the membrane, they were separated in two groups. There were tested 34 samples, 17 samples of membranes from animals up to one year and eleven months and 17 samples from animals with two until four years old. Two groups were formed in order to sense the correlation of membrane tension and resistance of the material. Thus was formed a sub-group with specimens tested from a longitudinal cross-section of the membrane with 12 samples and another sub-group composed of samples tested from cuts made in the longitudinal direction of the membrane with 12 samples. The results of tensile strength test did not show differences between groups in any of the comparisons.

Key words: biomaterial, natural implant, resistance.

INTRODUÇÃO

A perda tecidual é uma das complicações encontrada por cirurgiões em procedimentos emergenciais, além de situações crônicas em que os tecidos já se encontram bastante retraídos, condição que impede a reconstrução da anatomia normal sem alto nível de tensão. Não somente a parede abdominal, mas também a parede torácica, a diafragmática, a região perineal e a cavidade oral sofrem perdas difíceis de

^IPrograma de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Hospital Veterinário, 28013-602, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil. E-mail: fabiofdequeiroz@ig.com.br. Autor para correspondência

^{II}Laboratório de Engenharia Civil (LECIV), Centro de Ciência e Tecnologia (CCT), UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.

^{III}Laboratório de Morfologia e Patologia Animal (LMPA), Centro de Ciência e Tecnologia Agropecuária (CCTA), UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.

reconstituir. Diante dessas situações, torna-se necessário a utilização de artifícios como materiais compatíveis com o organismo para obter uma estrutura que imite, substitua ou sirva de suporte para o tecido perdido por período específico, até que o organismo consiga reconstruir a parte lesada ou a substituir por tecido cicatricial do próprio animal.

Pensando nesse fim, enxertos e implantes podem ser utilizados como material reparador de perda tecidual. O enxerto é um transplante cujas células mantenham viabilidade vital no hospedeiro, diferentemente do implante, que é o transplante cujas células sem viabilidade são substituídos ou incorporados por tecidos do receptor (PIGOSSI, 1971; FERREIRA, 2008; SALBEGO, 2010).

Segundo MARQUES (2005), FERREIRA (2008) e SALBEGO (2010), assim como os enxertos, os implantes são classificados de acordo com o local de origem do material. Os heterólogos são os oriundos de espécies diferentes em relação ao receptor. Já os homólogos são obtidos de indivíduo da mesma espécie daquele que receberá o material. Os implantes autólogos são aqueles de que o doador e o receptor são o mesmo indivíduo. Conforme esses mesmos autores, diferente dos enxertos, os implantes podem ser classificados como sintéticos ou não biológicos, os quais são produzidos em laboratório ou a partir de materiais não celulares.

Os implantes também podem ser chamados de biomateriais, o que é definido como qualquer substância ou combinação de substâncias que não sejam drogas ou fármacos, de origem natural ou sintética, os quais podem ser utilizados durante qualquer período de tempo, como parte ou como todo de sistemas que tratam, aumentam ou substituem quaisquer tecidos, órgãos ou funções do corpo (ROUSH, 2007; ALMEIDA FILHO et al., 2007; FILADELPHO et al., 2009). O tecido biológico deve ser escolhido sempre que possível por possuir a vantagem, em relação aos materiais sintéticos, de ser incorporado ao organismo receptor e de servir como suporte temporário para o processo cicatricial via formação de tecido conjuntivo fibroso (MAZZANTI et al., 2003).

O colágeno é o biomaterial de origem natural mais amplamente utilizado devido a algumas características bem conhecidas como a biocompatibilidade, a quimiotaxia para fibroblastos, a ativação e atração de neutrófilos e a ampla disponibilidade, como citado por GASQUE et al. (2008). O colágeno é utilizado de várias formas na clínica atual, como ponte de sustentação no desenvolvimento do tecido de cicatrização, como material de preenchimento no reparo ósseo e agente hemostático, além de servir também como implantes para as mais diversas especialidades médicas, como, por exemplo, no tratamento de queimaduras, como barreira física na regeneração tecidual guiada (GASQUE et al., 2008).

Os testículos, de maneira geral, têm uma cápsula fina de tecido conjuntivo denominada de túnica

albugínea (ROSS & PAWLINA, 2008). A albugínea não apresenta muita diferença em sua arquitetura histológica e anatomia dentre as espécies animais domésticas, variando apenas a espessura e a presença ou não de septos, os quais não ocorrem em algumas aves (GETTY, 1986; ROSS & PAWLINA, 2008). É composta por tecido conjuntivo denso, caracterizada por uma maior quantidade de fibras colágenas e um menor número de células, comparado com o tecido conjuntivo frouxo. Nessa membrana biológica, o tecido conjuntivo denso é classificado como não-modelado ou levemente modelado, já que possui feixes de fibras de colágeno grosseiros entrelaçados dispostos ao acaso, formando uma rede que resiste a trações de todas as direções. De forma diferente, o tecido conjuntivo denso modelado apresenta feixe de fibras grosseiras orientados paralelamente, tornando-o resistente à tração em sentido longitudinal da disposição das fibras, porém sem maior resistência na direção transversal dos feixes de fibras colágenas (BANKS, 1992; GARTNER & HIATT, 2003).

Para a conservação de qualquer material biológico para implante, existe a necessidade de um meio de conservação. A glicerina 98% tem sido o meio amplamente divulgado como forma de preservação, devido a suas vantagens como a capacidade de desidratação do material, poder anti-séptico, pouca toxicidade em concentrações baixas e o custo baixo (RODASKI et al., 2000; GUIMARÃES et al., 2007). Para a utilização no organismo, todo material conservado em glicerina deve ser reidratado por um tempo mínimo que varia de acordo com a densidade do material, pois a glicerina tem um grande poder de desidratação e é isso que lhe dá a característica de conservante (RAISER et al., 2001).

Este estudo tem como objetivo avaliar a resistência mecânica, relacionada à biomecânica das túnicas albugíneas bovina, por meio de ensaios de tração direta em amostras retiradas nas direções transversal e longitudinal em relação ao eixo longitudinal do testículo. Além disso, procurou investigar a influência da faixa etária do bovino doador da membrana na resistência à tração nas direções transversal e longitudinal.

MATERIAL E MÉTODOS

Para o experimento, foram utilizados fragmentos de túnicas albugíneas conservados em glicerina a 98%. Estas foram reidratadas em solução fisiológica por uma hora, de acordo com RAISER (2001), utilizando tendão calcâneo homólogo de cão.

Após a reidratação das túnicas albugíneas, estas foram fragmentadas em fitas de aproximadamente 1cm de largura e 3cm de comprimento nas direções transversal e longitudinal em relação ao maior eixo do testículo, e foram feitas todas as mensurações de comprimento, largura e espessura com auxílio de um micrômetro (precisão de 0,01mm). Esses dados são

importantes por se tratarem do cálculo da área (em mm^2) do corpo de prova que é utilizado para mensurar a resistência. Para a realização dos testes tensiométricos (resistência à tração axial), foi utilizada uma máquina universal de ensaios Shimadzu AG-X 100kN, do Laboratório de Estruturas e Materiais do Programa de Engenharia Civil da COPPE/UFRJ. Os ensaios de resistência à tração axial foram realizados com velocidade de $0,5\text{mm s}^{-1}$ e célula de carga de 500N.

O estudo tensiométrico compreendeu a análise da resistência à tração axial e do deslocamento da amostra até a ruptura. A resistência à tração (em MPa) foi calculada a partir da razão entre a força máxima (em N) e a área da seção transversal da amostra de túnica (em mm^2). O valor em MPa foi, posteriormente, convertido em quilograma-força por centímetro quadrado ($1\text{MPa} \approx 10\text{kgf cm}^{-2}$). Por sua vez, o deslocamento da amostra até a ruptura foi monitorado através de sensor de deslocamento instalado na prensa.

Para a análise da influência da idade sobre a resistência da membrana, foram separados dois grupos. Foram testadas 34 amostras, sendo 17 oriundas de animais com a faixa etária de um ano a um ano e onze meses de idade e 17 amostras oriundas de animais com faixa etária de dois anos até quatro anos de idade. Dois subgrupos foram formados visando à correlação entre a direção de aplicação da força de tração e a direção

principal das fibras do material. Sendo assim, formou-se um subgrupo com corpos de prova, testados a partir de um corte transversal ao sentido longitudinal da membrana com 12 amostras, e outro subgrupo formado por corpos de prova, testados a partir de cortes feitos na direção longitudinal da membrana, com 12 amostras.

A comparação entre os diferentes resultados dos ensaios tensiométricos foi feita por comparação entre médias, ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$), utilizando o teste t de Student.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tempo utilizado para reidratação das membranas foi de uma hora em solução salina. Justificase o tempo pelo fato de ter sido o mesmo encontrado em outros artigos em revistas indexadas, de material conservado em glicerina, e era um tempo comum a todos os trabalhos pesquisados, como exemplo o de RAISER et al. (2001).

De acordo com os resultados de tração, a túnica albugínea apresenta grande capacidade de deformação e resistência superior a 10kgf cm^{-2} ($\approx 1\text{MPa}$), atingindo uma média de $19,6\text{kgf cm}^{-2}$, com desvio padrão de $8,37\text{kgf cm}^{-2}$. A figura 1 mostra um exemplo do comportamento à tração de um corpo de prova de uma túnica (carga aplicada na direção transversal) até a

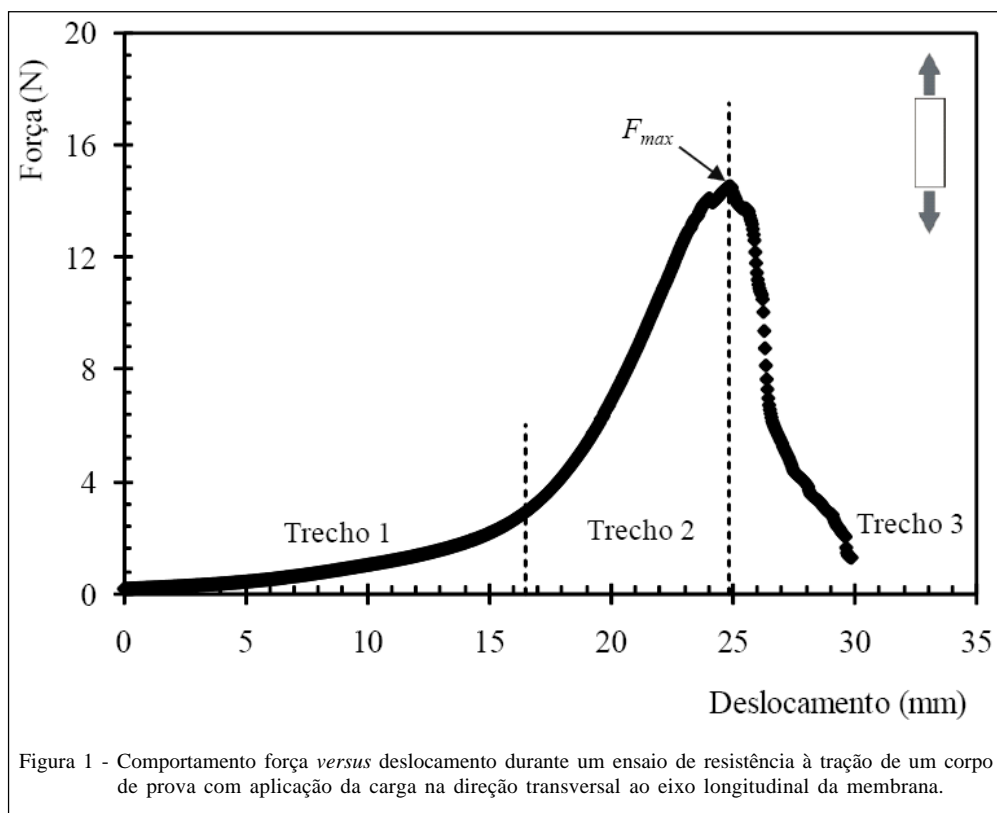


Tabela 1 - Resultados da comparação entre resistência da túnica albugínea e a idade do bovino doador do material no teste de tração.

Amostra (animais de 1 ano a 1 ano e 11 meses)	Resistência (kgf cm ⁻²)	Amostra (animais de 2 a 4 anos)	Resistência (kgf cm ⁻²)
01	36,1	01	30,2
02	24,3	02	25,6
03	10,3	03	10,5
04	13,5	04	8,6
05	11,2	05	15,7
06	21,2	06	12,8
07	16,4	07	15,0
08	11,3	08	20,0
09	12,8	09	17,0
10	41,1	10	25,3
11	29,7	11	16,7
12	11,9	12	28,1
13	16,1	13	34,0
14	13,9	14	22,2
15	13,7	15	18,2
16	20,6	16	29,2
17	8,8	17	23,1
Média	18,4	Média	20,72
Desvio padrão	9,40	Desvio padrão	7,31

ruptura, que ocorreu para a força máxima (em Newtons, N) indicada no gráfico (F_{max}).

Pela análise do gráfico da figura 1, pode-se observar que, à medida que a força de tração aumentou, o alongamento do corpo de prova também aumentou. O comportamento à tração da membrana pode ser dividido em três partes, definidas no gráfico como três trechos da curva força *versus* deslocamento. Inicialmente, um grande alongamento foi alcançado para pequenos valores de força de tração (trecho 1). Nesse caso, o aumento do comprimento da membrana foi superior a 50%. No trecho 2, observa-se um aumento considerável da força à medida que o corpo de prova foi alongado. Esse comportamento foi mantido até o alcance da força máxima (F_{max}), que caracteriza a resistência à tração da membrana para as dimensões adotadas neste trabalho. A partir do deslocamento relativo à força máxima, as fibras da membrana foram gradualmente rompidas, o que caracteriza uma região (trecho 3) de queda da força com aumento do alongamento do corpo de prova. Esse mesmo comportamento foi verificado para os demais corpos de prova, independente da direção de aplicação de carga em relação à direção das fibras. É importante ressaltar que o alongamento máximo observado neste ensaio foi igual ao comprimento inicial da membrana, o que evidencia a enorme capacidade de deformação da túnica albugínea.

A partir dos valores médios de resistência à tração, calculados para os dois grupos em relação à idade, pode-se concluir que as membranas oriundas

de animais com a faixa etária de um ano de idade a um ano e onze meses alcançaram uma resistência média de 18,4kgf cm⁻², com um desvio padrão de 9,4kgf cm⁻². Por sua vez, para as membranas oriundas de bovinos com a faixa etária de 2 a 4 anos de idade, a resistência média atingida foi de 20,7kgf cm⁻², com um desvio padrão de 7,3kgf cm⁻² (Tabela 1).

A comparação entre as médias da resistência das membranas das duas faixas etárias mostrou que não existe diferença significativa entre elas. Esses resultados estão de acordo com os estudos de GETTY (1986) e ROSS & PAWLINA (2008), que citaram não existir uma variação significativa na espessura da túnica albugínea de animais com diferentes faixas etárias dentro da mesma espécie, condição que poderia influenciar diretamente na resistência do material.

Quanto aos valores médios de resistência obtidos em ensaios com aplicação de carga nas direções transversal e longitudinal ao eixo longitudinal do testículo, pode-se observar que as membranas que sofreram tração na direção transversal alcançaram uma média de 18,8kgf cm⁻², com um desvio padrão de 11,2kgf cm⁻². Em relação às membranas ensaiadas com a carga aplicada na mesma direção das fibras da membrana, a média atingida foi de 20kgf cm⁻², com um desvio padrão de 6,4kgf cm⁻² (Tabela 2).

A comparação entre os diferentes valores médios de resistência mostrou que não existe diferença significativa entre a resistência à tração nas duas direções avaliadas, concordando com BANKS (1992)

Tabela 2 - Resultados da comparação entre a resistência da túnica albugínea e o sentido de tração ao qual o material foi colocado (transversal ou longitudinal ao maior eixo do testículo).

Amostra Transversal	Resistência (kgf cm ⁻²)	Amostra Longitudinal	Resistência (kgf cm ⁻²)
1	36,1	1	21,2
2	24,3	2	16,4
3	10,3	3	30,2
4	13,5	4	25,6
5	11,2	5	12,8
6	11,3	6	15,0
7	12,8	7	20,0
8	41,1	8	17,0
9	29,7	9	29,2
10	10,5	10	23,1
11	8,6	11	20,6
12	15,7	12	8,8
Média	18,76	Média	19,99
Desvio-padrão	11,19	Desvio padrão	6,44

e GARTNER & HIATT (2003), que classificaram este tecido como tecido conjuntivo denso não-modelado ou levemente modelado, caracterizado por possuir feixes de fibras de colágeno grosseiros, entrelaçados, dispostos ao acaso, formando uma rede que resiste à tração em todas as direções. Essa característica é muito interessante para a aplicação que se propõe neste trabalho, uma vez que a túnica albugínea pode ser utilizada em situações em que os esforços de tração são multidirecionais.

É importante enfatizar que a alta dispersão verificada nos ensaios (coeficientes de correlação superiores a 30%) é típica de ensaios de tração direta e, neste caso, acoplam as diferenças intrínsecas das amostras de túnica albugínea.

CONCLUSÃO

A túnica albugínea é um material com elevada resistência tensil, porém com grande capacidade de deformação na tração, o que pode ser muito importante para implantes em regiões que necessitam de mobilidade. Os resultados possibilitam, ainda, concluir que não há variação da resistência à tração do material em relação à direção de aplicação da carga (transversal ou longitudinal), o que pode garantir a aplicação da túnica albugínea em regiões sujeitas a esforços em diferentes direções.

Pode-se concluir ainda que a faixa etária de um ano a um ano e onze meses e dois a quatro anos dos bovinos doadores de membranas não influencia significativamente na resistência desse material.

AGRADECIMENTO

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento do projeto de pesquisa.

COMITÊ DE ÉTICA

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética de Uso de Animais (CEUA), Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) com o protocolo nº 110.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA FILHO, E. et al. Biomateriais: deposição de hidroxiapatita sobre superfície de Ti-CP modificada por aspersão térmica. *Química Nova*, v.30, n.5, p.1229-1232, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v30n5/a34v30n5.pdf>>. Acesso em: 29 nov. 2011. doi: 10.1590/S0100-40422007000500034.
- BANKS, J.W. *Histologia veterinária aplicada*. 2.ed. São Paulo: Manole, 1992. 629p.
- FERREIRA, M.P. *Comparação de enxerto ósseo cortical autógeno e implante cortical alógeno liofilizado, congelado a -70°C ou conservado no mel na substituição de segmento diafisário do fêmur de gatos domésticos*. 2008. 139f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.
- FILADELPHO, A.L. et al. Aspectos histológicos do implante de matrizes de colágeno no tecido subcutâneo de ratos. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, v.7, n.12, 9p, 2009.
- GARTNER, L.P.; HIATT, J.L. *Tratado de histologia em cores*. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 456p.
- GASQUE, K.C.S. et al. Avaliação da biocompatibilidade de uma membrana de pericárdio bovino acelular e seu potencial como carreador de osteoblastos. *Ciência Odontológica Brasileira*, v.11, n.1, p.58-66, 2008.

- GETTY, R. **Sisson/Grossman anatomia dos animais domésticos**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. V.1, 1134 p.
- GUIMARÃES, G.C. et al. Avaliação histológica de membranas biológicas bovinas conservadas em glicerina e a fresco. **Bioscience Journal**, v.23, n.3, p.120-127, 2007.
- MARQUES, R.G. **Técnica operatória e cirurgia experimental**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. 948 p.
- MAZZANTI, A. et al. Hernioplastia diafragmática em cão com pericárdio bovino conservado em solução supersaturada de açúcar. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n.6, p.677-684, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352003000600005&lng=pt&nrm=isso>. Acesso em: 03 dez. 2011. doi: 10.1590/S0102-09352003000600005.
- PIGOSSI, N. Estudo experimental e clínico sobre o emprego, como implante, da dura-máter homóloga conservada em glicerina à temperatura ambiente. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.17, n.8, p.263-278, 1971.
- RAISER, A.G. et al. Homoimplante ortotópico de tendão calcâneo em cães. Conservação, assepsia e implantação. **Ciência Rural**, v.31, n.1, p.89-94, 2001. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/0D/cr/v31n1/a14v31n1.pdf>>. Acesso em: 30 nov. 2011. doi: 10.1590/S0103-84782001000100014.
- RODASKI, S. et al. Esfincteroplastia anal externa experimental com membrana de peritônio bovino preservada em glicerina a 98%, em cães. **Archives of Veterinary Science**, v.5, p.55-60, 2000.
- ROSS, M.H.; PAWLINA, W. **Histologia, texto e atlas em correlação com biologia celular e molécula**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 908p.
- ROUSH, J.K. Biomateriais e implantes cirúrgicos. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3.ed. São Paulo: Manole, 2007. V.1, p.141-148.
- SALBEGO, F.Z. **Enxerto ou implante homólogo na correção de defeito ósseo segmentar femoral em cães associado à inoculação da fração de células mononucleares da medula óssea**. 2010. 211f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.