

CRIODESIDRATAÇÃO: TÉCNICA ALTERNATIVA PARA CONSERVAÇÃO DE SISTEMA RESPIRATÓRIO OVINO COM FINS DIDÁTICOS

BRENDLER, Nathália Portella^{1*}
BRUM, Aline Vargas¹
SOARES, Jéssica Taiane Brum¹
VILLAGRAN, Kaian Machado¹
MORALES, Talia De Godoy¹

CORADINI, Marcia Goulart Lopes²
ROSSATO, Andressa Dutra Piovesan²
BIANCHI, Eloisa²

RESUMO: A conservação de peças cadavéricas é necessária para evitar a deterioração dos tecidos e permitir a observação direta das estruturas no estudo anatômico. No Brasil, o formaldeído é amplamente utilizado no laboratório de anatomia, mas sua toxicidade faz com que novas técnicas sejam exploradas. À vista disso, o presente estudo visou desenvolver e descrever a técnica de criodesidratação para a conservação do sistema respiratório de um ovino com a finalidade de preservar a morfologia dos órgãos, reduzir o uso de formol no ambiente laboratorial e contribuir com o acervo didático do Instituto de Desenvolvimento Educacional de Bagé – Faculdade IDEAU. O método de criodesidratação consistiu em etapas de dissecação, pesagem, fixação em formol, congelamento e descongelamento sucessivos e envernizamento do material. Após finalizada, a peça criodesidratada apresentou-se leve, inodora, sem demanda de produtos químicos para a manutenção e com boa preservação das estruturas anatômicas. Logo, conclui-se que a criodesidratação é um método vantajoso que permite a visualização dos órgãos que compõem o sistema respiratório sem danificar as peças.

Palavras-chave: Conservação. Criodesidratação. Sistema respiratório. Técnicas anatômicas.

ABSTRACT: The conservation of cadaveric pieces is necessary to avoid tissue deterioration and allows direct observation of structures in the anatomical study. In Brazil, formaldehyde is widely used in the anatomy laboratory, but its toxicity makes new techniques to be explored. In view of this, the present study aimed to develop and describe the cryodehydration technique for the conservation of the respiratory system of a sheep in order to preserve the morphology of the organs, reduce the use of formaldehyde in the laboratory environment and contribute to the Institute's educational collection of Educational Development of Bagé – Faculty IDEAU. The cryodehydration method consisted of successive stages of dissection, weighing, formalin fixation, freezing and thawing and varnishing of the material. After completion, the cryodehydrated piece was light, odorless, without demand for chemical products for maintenance and with good preservation of anatomical structures. Therefore, it is concluded that cryodehydration is an advantageous method that allows the visualization of the organs that make up the respiratory system without damaging the parts.

Keywords: Conservation. Cryodehydration. Respiratory system. Anatomical techniques.

1 INTRODUÇÃO

O estudo da anatomia dos animais domésticos se faz essencial na formação do médico veterinário. Para que tal disciplina seja ministrada, é importante que os estudantes façam a observação direta das estruturas, de forma que melhor compreendam suas localizações e

¹ Discentes do Curso de Medicina Veterinária, Nível 2 2021/2 - Faculdade IDEAU – Bagé/RS.

² Docentes do Curso de Medicina Veterinária, Nível 2 2021/2 - Faculdade IDEAU – Bagé/RS.

*E-mail para contato: brendler.np@gmail.com

funções nos sistemas. No entanto, as técnicas de conservação de cadáveres mais difundidas utilizam o formaldeído como conservante, cujas propriedades tóxicas põem em risco a saúde de quem manipula os materiais.

Para solucionar esse obstáculo, outros métodos destacam-se como alternativas ao uso do formol, dentre eles a criodesidratação. Fundamentada em sessões de congelamento e descongelamento sucessivos, a criodesidratação é um método de baixo custo e mínima toxicidade ao mesmo tempo que garante órgãos de fácil acondicionamento e grande durabilidade.

Nesse contexto, o objetivo desse projeto foi desenvolver e descrever a técnica de criodesidratação para a conservação do sistema respiratório de um ovino, com a finalidade de preservar a morfologia dos órgãos, reduzir o uso de formol no ambiente laboratorial e contribuir com o acervo didático do Instituto de Desenvolvimento Educacional de Bagé – Faculdade IDEAU.

2 DESENVOLVIMENTO

Nesta parte do trabalho serão detalhados o referencial teórico, a metodologia empregada e os resultados encontrados. Contém a exposição ordenada e pormenorizada do assunto tratado no estudo.

2.1 Referencial Teórico

2.1.1 Anatomia do sistema respiratório

A divisão anatômica do sistema respiratório se baseia na localização dos órgãos dentro ou fora da cavidade torácica (FAILS, 2019). O trato respiratório superior está localizado na cabeça e consiste em nariz e faringe. Já o trato respiratório inferior está situado no tórax e é formado pela laringe, traqueia, brônquios e pulmões (REECE, 2017). A Figura 1 ilustra o sistema respiratório de um ovino.

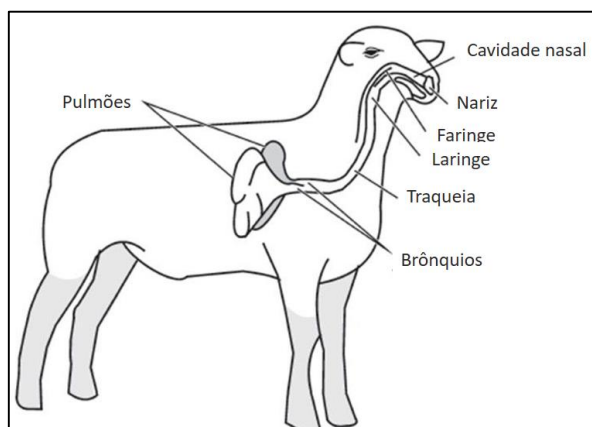


Figura 1: Ilustração do sistema respiratório ovino.

Fonte: Norris, 2002, p. 67.

König e Liebich (2016) definem o nariz como a primeira via pela qual o ar entra no sistema respiratório, composta pelas narinas externas (e cartilagens nasais associadas), cavidade nasal (com o meato e as conchas nasais) e seios paranasais (cavidades preenchidas com ar). A cavidade nasal é dividida em direita e esquerda pelo septo nasal, o qual é formado pelos ossos etmoide e vômer e rostralmente por cartilagem hialina.

A faringe é um canal musculomembranoso que participa do sistema respiratório ao conectar a cavidade nasal à laringe. Por sua vez, a laringe é um órgão musculocartilaginoso cilíndrico que tem a função de impedir a aspiração de corpos estranhos pelo trato respiratório inferior. As cartilagens que formam a laringe são: epiglótica, tireóideia, aritenóideas e cricóideia, mostradas na Figura 2 (KÖNIG; LIEBICH, 2016).

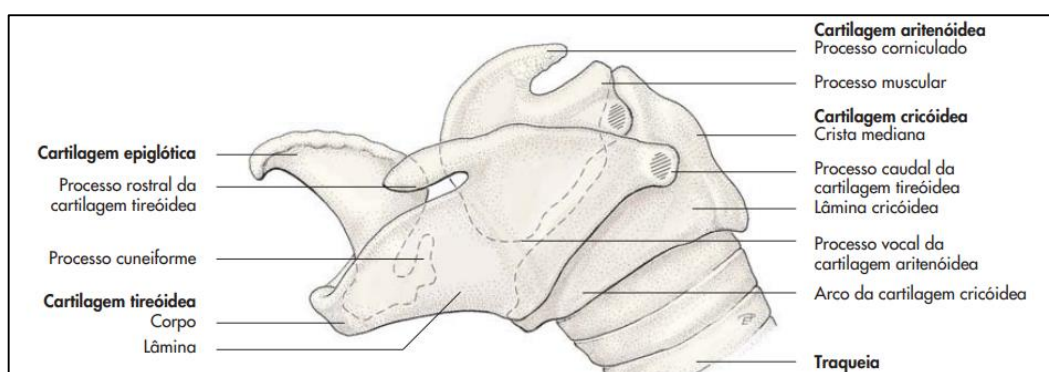


Figura 2: Representação da laringe.

Fonte: König e Liebich, 2016, p. 387.

A traqueia é um tubo resistente e flexível formado por uma série de cartilagens hialinas rígidas em forma de meia lua que varia em quantidade entre as espécies – enquanto um ovino pode apresentar de 48 a 60 anéis, os suínos exibem de 29 a 36. As cartilagens estão conectadas entre si por ligamentos anulares e a parede posterior é coberta pelo músculo traqueal transversos.

Na altura da base do coração, a traqueia divide-se em dois ramos chamados brônquios e cada qual penetra em um dos pulmões e ramifica-se nos chamados bronquíolos (KÖNIG; LIEBICH, 2016).

Os pulmões são órgãos elásticos preenchidos de ar, com textura esponjosa e coloração rosada. O direito está conectado ao esquerdo pela bifurcação da traqueia. Os pulmões são revestidos pela pleura, que possui um folheto visceral (interno) e outro parietal (externo). Entre os folhetos da pleura existe a cavidade pleural, que abriga uma fina camada de líquido pleural (KÖNIG; LIEBICH, 2016).

Segundo König e Liebich (2016), os lobos do pulmão são definidos pela ramificação da árvore brônquica e, assim, cada brônquio abastece um lobo. Na espécie ovina, o pulmão esquerdo é dividido em um lobo cranial (subdividido em partes cranial e caudal) e um lobo caudal. Já no pulmão direito, além do lobo cranial (também subdividido) e caudal, também há um lobo médio e um lobo acessório. Os lobos pulmonares apresentam divergências entre as espécies domésticas, evidenciadas na Figura 3.

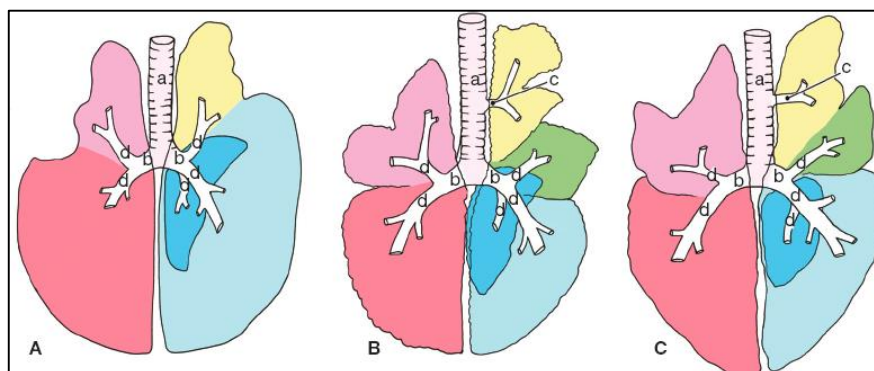


Figura 3: Vista dorsal dos pulmões de equinos (A), ruminantes (B) e suínos (C). (a) representa a traqueia; (b), brônquios primários; (c) brônquio traqueal (apenas ruminantes e suínos); (d), brônquios lobares. Em rosa, o lobo cranial esquerdo; em vermelho, o lobo caudal esquerdo; em amarelo, o lobo cranial direito; em verde, lobo médio direito; em azul-claro, o lobo caudal direito; em azul-escuro, o lobo acessório.

Fonte: Fails, 2019, p. 263.

Dentro do pulmão, os brônquios se dividem em ramos menores chamados bronquíolos verdadeiros, bronquíolos terminais e bronquíolos respiratórios. Os bronquíolos respiratórios chegam aos pequenos sacos repletos de ar denominados alvéolos (KÖNIG; LIEBICH, 2016).

2.1.2 Histologia do sistema respiratório

Conforme Junqueira e Carneiro (2017), o sistema respiratório pode ser dividido em duas porções segundo suas funções: porção condutora, que guia, umedece, aquece e purifica o ar

inspirado; e porção respiratória, que realiza a hematose, isto é, a troca gasosa entre ar e sangue. A Figura 4 apresenta como estão divididas essas duas porções do sistema respiratório.

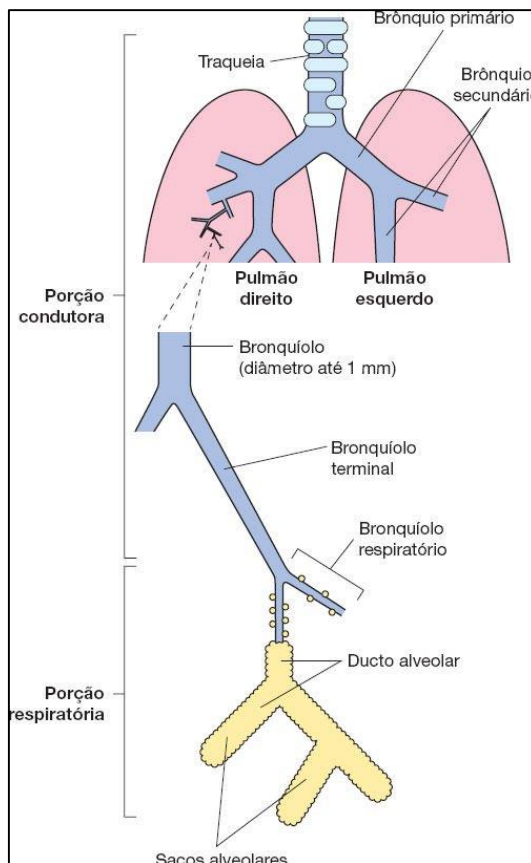


Figura 4: Esquema da divisão funcional.
Fonte: Junqueira e Carneiro, 2017, p. 348.

A porção condutora é formada pelas cavidades nasais, faringe, laringe, traqueia, brônquios, bronquíolos e bronquíolos terminais; ao passo que a porção respiratória consiste em bronquíolos respiratórios, ductos alveolares, sacos alveolares e alvéolos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

2.1.2.1 Porção condutora

As fossas nasais subdividem-se em três regiões denominadas vestíbulo, área respiratória e área olfatória. A estrutura da mucosa que reveste sua superfície altera-se de acordo com a região em que se encontra (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

O vestíbulo é a porção mais anterior e dilatada das fossas nasais. Sua mucosa é a continuação da epiderme da face, com epitélio estratificado pavimentoso. As vibrissas (pelos) e a secreção de glândulas formam uma barreira que impede a entrada de partículas grosseiras nas vias respiratórias (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

A área respiratória constitui a maior parte da cavidade nasal e é revestida por epitélio pseudoestratificado cilíndrico ciliado com células caliciformes, denominado “epitélio respiratório” apesar de não realizar hematose (Figura 5). A lâmina própria é abundante em glândulas mistas, cujas secreções mantêm as paredes nasais úmidas. O muco produzido tanto pelas glândulas como pelas células caliciformes tem a função de prender microrganismos e partículas inertes (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

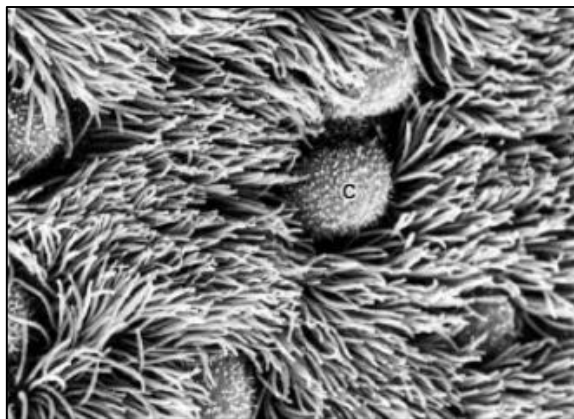


Figura 5: Epitélio respiratório, com muitos cílios e células caliciformes (C)
Fonte: Junqueira e Carneira, 2017, p. 351.

A área olfatória está situada na parte superior das fossas nasais e é responsável pela sensibilidade olfatória. É revestida por um neuroepitélio cilíndrico pseudoestratificado formado por células olfatórias (neurônios bipolares com cílios receptores de estímulos odorantes), de sustentação (cilíndricas com o pigmento que determina a cor marrom da mucosa olfatória) e basais (células-tronco). Sua lâmina própria é rica em vasos, nervos e glândulas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

Depois das fossas nasais, o ar segue pela faringe, dividida em nasofaringe, com epitélio respiratório, e orofaringe, revestida por epitélio estratificado. A faringe está conectada à traqueia pela laringe, um tubo revestido por epitélio respiratório e sustentado por cartilagens hialinas e elásticas unidas entre si por tecido conjuntivo fibroelástico (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

A traqueia segue até a entrada dos brônquios e é revestida internamente por epitélio respiratório e apresenta peças cartilaginosas de hialina e músculo liso. A lâmina própria da mucosa é formada por tecido conjuntivo frouxo rico em fibras elásticas, glândulas seromucosas e vasos sanguíneos. Externamente, uma camada adventícia de tecido conjuntivo liga o órgão aos tecidos vizinhos (GARTNER, 2020).

Abrahamsohn (2016) explica que os brônquios são divididos em extrapulmonares e intrapulmonares. Enquanto os extrapulmonares possuem mucosa idêntica à da traqueia, os intrapulmonares apresentam epitélio cilíndrico simples ciliado. A camada muscular lisa apresenta-se em espiral e as cartilagens anteriormente em forma de “C” dão lugar a pequenas peças de cartilagem hialina.

Cada brônquio intrapulmonar origina vários bronquíolos, ou seja, tubos de pequeno diâmetro, sem cartilagens ou glândulas. Com a progressiva ramificação dos bronquíolos, o epitélio torna-se cúbico simples não ciliado e sem células caliciformes (ABRAHAMSOHN, 2016). A transição entre traqueia, brônquios e bronquíolos fica evidente na Figura 6.

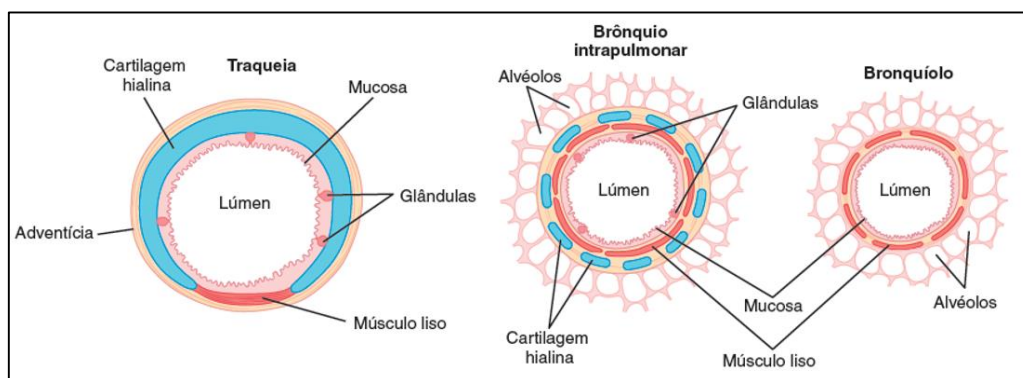


Figura 6: Comparação da estrutura histológica da traqueia, brônquio e bronquíolo.
Fonte: Abrahamsohn, 2016, p. 287.

Os bronquíolos terminais são semelhantes aos bronquíolos propriamente ditos, porém sua parede é mais delgada e possuem as células de Clara, que produzem proteínas contra poluentes. Denominam-se terminais por formarem as últimas partes da porção condutora (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

2.1.2.2 Porção respiratória

A porção respiratória é especializada em realizar a troca gasosa entre o ar e o sangue, fornecendo o oxigênio (O_2) e removendo o excesso de dióxido de carbono (CO_2) da corrente sanguínea (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

Os bronquíolos respiratórios dão início à porção respiratória e caracterizam-se pelas discontinuidades de sua parede de onde surgem dilatações saculares chamadas alvéolos. As demais porções dos bronquíolos respiratórios são revestidas por epitélio simples cúbico ciliado com células de Clara, circundado por uma camada delgada de tecido conjuntivo e músculo liso (OVALLE; NAHIRNEY, 2014).

A ramificação dos bronquíolos respiratórios origina os ductos alveolares, que são condutos longos e tortuosos revestidos por epitélio cúbico simples e feixes musculares que circundam a abertura dos alvéolos. Os ductos alveolares são a última porção a apresentar músculo liso (OVALLE; NAHIRNEY, 2014).

Alvéolos são pequenas invaginações encontradas nos sacos alveolares, ductos alveolares e bronquíolos respiratórios. Constituem as últimas porções da árvore brônquica e são responsáveis pela estrutura esponjosa do parênquima pulmonar. A parede alveolar, também chamada septo interalveolar, é comum a dois alvéolos adjacentes e é formada por dois tipos celulares, os pneumócitos do tipo I e do tipo II (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

Os pneumócitos do tipo I são células pavimentosas que permitem a fácil difusão do O_2 para o sangue, unidas entre si por junções oclusivas que em condições fisiológicas evitam a passagem de fluido extracelular para a luz do alvéolo. Os pneumócitos do tipo II são células cúbicas produtoras de surfactante, um complexo lipoprotéico que diminui a tensão superficial e evita o seu colapso na expiração (ABRAHAMSOHN, 2016).

2.1.3 Fisiologia do sistema respiratório

O sistema respiratório é responsável pela troca gasosa entre o ar e o sangue, de forma que o oxigênio entre no organismo e o dióxido de carbono seja expelido para o ambiente. Essa função é essencial ao organismo dos animais, pois as células demandam um suprimento constante de oxigênio para a produção de energia através da quebra de moléculas orgânicas em um processo chamado respiração celular, cujo produto final é o CO_2 (WEST, 2013).

Os processos envolvidos na troca gasosa, como ventilação, distribuição de gás dentro do pulmão, difusão entre alvéolos e capilares, transporte de O_2 e CO_2 entre pulmões e tecidos e, por fim, a difusão de gases entre o sangue e os tecidos estão apresentados na Figura 7.

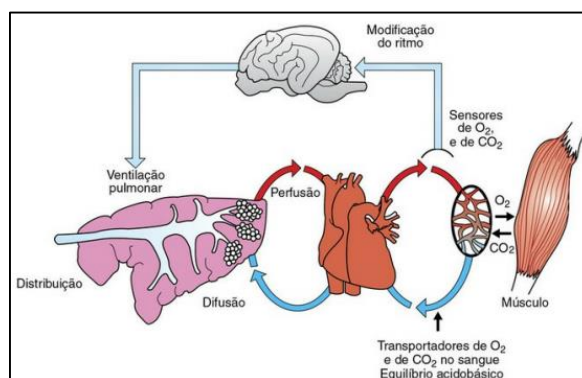


Figura 7: Os processos envolvidos na troca gasosa.

Fonte: Klein, 2014, p. 495.

Segundo Klein (2014), a ventilação pode ser definida como o movimento de entrada e saída de ar nos pulmões. A ventilação minuto (VE) é o volume total de ar que entra ou sai das vias respiratórias e dos alvéolos por minuto. Por distribuir-se tanto entre espaço morto (assim denominado por não realizar troca gasosa), quanto pelos alvéolos (onde ocorre a difusão de gases), o VE pode ser expresso na fórmula: $VE = VA + VD$, onde VA significa ventilação alveolar e VD ventilação de espaço morto.

A ventilação do espaço morto é o volume de ar que entra e sai sem participar das trocas gasosas. Isso ocorre quando o ar circula dentro das vias aéreas, as quais não possuem membranas especializadas nessa função, ou no interior de alvéolos com diminuição da perfusão capilar. Entretanto, essa ventilação não é totalmente desperdiçada, pois auxilia na umidificação e termorregulação do ar inalado e o espaço morto alveolar pode tornar-se funcional quando é necessário um maior fluxo de ar durante exercícios (REECE, 2017).

Para Klein (2014), a inspiração é a entrada de ar que envolve a dilatação do tórax e dos pulmões através da contração dos músculos respiratórios, o que gera uma pressão alveolar subatmosférica que conduz o ar para dentro do sistema respiratório. Já na expiração, as fibras elásticas que estavam sob tensão relaxam e ocorre a retração passiva dos pulmões, o que aumenta a pressão alveolar e elimina o ar do sistema respiratório.

Os intercâmbios gasosos ocorrem por difusão simples em resposta a diferenças de pressão, ou seja, movimentam-se de uma área de alta pressão para uma de baixa pressão. No corpo, há dois tipos simultâneos de respiração: respiração externa, que é a troca de oxigênio e dióxido de carbono entre o alvéolo e o sangue capilar; e a respiração interna, que consiste na troca de gases entre os tecidos e o sangue (COVILLE; BASSERT, 2010).

Na respiração externa, o oxigênio é difundido do ar inspirado para o sangue no capilar pulmonar, uma vez que o ar no alvéolo contém oxigênio a uma pressão (PO_2) mais alta do que o sangue que flui nos capilares. Por outro lado, o dióxido de carbono faz o percurso contrário e difunde-se do capilar em direção ao alvéolo para ser eliminado na expiração (COVILLE; BASSERT, 2010).

Ao chegar nos capilares alveolares, o oxigênio combina-se de forma fraca e facilmente reversível com a hemoglobina para formar a oxiemoglobina. Cada hemácia tem várias hemoglobinas no seu interior, as quais são proteínas especializadas no transporte de oxigênio. Quando o sangue nos capilares pulmonares é exposto a uma pressão de oxigênio relativamente alta no ar alveolar, o oxigênio liga-se à hemoglobina, mas quando o sangue nos capilares dos

tecidos do corpo é exposto ao líquido tecidual, que apresenta pressões relativamente baixas de oxigênio, o oxigênio é rapidamente liberado da hemoglobina (REECE, 2017).

Portanto, na respiração interna ocorre a difusão do oxigênio do sangue para o líquido tecidual em função das diferenças de pressão parcial de oxigênio. Como o oxigênio no líquido tecidual encontra-se a uma pressão mais elevada do que o oxigênio no interior das células, este difunde-se rapidamente para as demais células, onde participa do metabolismo (COVILLE; BASSERT, 2010).

2.1.4 Métodos de conservação de órgãos

A observação direta de peças anatômicas contribui para as habilidades aplicativas, assimilativas e compreensivas da disciplina de anatomia e prepara os estudantes para uma situação real (KIMURA; CARVALHO, 2010). Em aulas práticas, é importante que as peças sejam reutilizadas, pois não há possibilidade de reposição constante de órgãos frescos (CARMO, 2017).

Assim, a conservação se faz necessária para evitar a autólise dos tecidos e possibilitar o estudo prolongado dos espécimes (ZOFOLI, 2017). Em laboratórios de anatomia, as vísceras e cadáveres são fixados em substâncias que alteram as propriedades químicas dos materiais de forma que não haja proliferação de microrganismos, o que evita a deterioração dos tecidos e previne a proliferação de patógenos perigosos aos humanos (CORRÊA, 2003).

Além disso, a finalidade de empregar uma técnica de conservação é também preservar a forma, cor, consistência e flexibilidade mais próximas ao que seria encontrado em um animal vivos. Os fixadores mais comuns são o formaldeído, a glicerina e o álcool etílico (CARMO, 2017).

O formaldeído (CH_2O), também conhecido como formalina, formol, aldeído fórmico ou metanol, é o fixador e conservante mais utilizado em laboratórios de anatomia como meio de prevenir a putrefação de órgãos e cadáveres (RODRIGUES, 2010). De acordo com Mies (1994), sua grande eficiência deve-se ao baixo custo e facilidade de penetração nos tecidos – seis milímetros em doze horas.

Entretanto, o formaldeído é irritante para as mucosas e tóxico quando inalado ou ingerido. Tendo isso em vista, a conservação de coleções anatômicas pela técnica de formalização, na qual os órgãos são imersos permanentemente em uma solução de formol, põe

em risco a segurança de seus manipuladores já que todo manuseio requer contato direto com a substância (CARMO, 2017).

O glicerol ($C_3H_8O_3$) é um composto orgânico com grande capacidade antisséptica contra fungos e bactérias, exceto formas esporuladas (ALVARENGA, 1992). A glicerina (forma comercial do glicerol com pureza de 95%) é associada ao álcool absoluto nos protocolos de glicerinação, os quais garantem a preservação da morfologia próxima da forma original. No entanto, a glicerina tem um custo alto e dificuldade de aplicação quando comparada aos outros fixadores (RODRIGUES, 2010).

O álcool etílico (C_2H_6O) tem bom poder conservador, em contrapartida é altamente inflamável e desidrata muito as peças. Por isso, a fixação pelo álcool etílico é pouco empregada na maioria das preparações de tecidos animais, sendo mais recomendada em anatomia vegetal e em histoquímica (RODRIGUES, 2010).

Como alternativa às demais técnicas tóxicas ou de custo muito elevado, destaca-se a criodesidratação, que consiste em sessões de congelamento e descongelamento sucessivos até que ocorra a perda de água em torno de 70%. Nesse método, o formaldeído é utilizado apenas em uma etapa, a fixação, e não é necessário depositar as peças em solução de formol depois de desidratadas. Embora muito eficaz, a relativa demora da desidratação pode ser uma desvantagem (SILVA et al., 2013).

Segundo Teixeira et al. (1990), a criodesidratação baseia-se no princípio de que o aumento de volume da água no interior das células durante o congelamento forma cristais de gelo grandes o suficiente para romper a membrana celular. Esse rompimento, por sua vez, facilita a saída de líquido intracelular e causa a desidratação da peça, a qual implica na extinção de microrganismos decompositores que necessitam de água.

Ao desenvolver a criodesidratação de vísceras do canal alimentar, Kremer et al. (2011) relata que a repetição do procedimento gera fissuras macroscópicas nos tecidos que aumentam ainda mais o escoamento de líquido durante o descongelamento. Nessa fase, não é recomendado expor ao sol, pois pode haver ressecamento excessivo da peça.

A rigidez das peças e aspecto esbranquiçado são resultados verificados por Antonioli et al. (2016) durante a execução de criodesidratação em encéfalos bovinos, realizada na Faculdade IDEAU – Getúlio Vargas/RS. Acredita-se que a mudança de coloração se deve à grande perda de água da estrutura.

2.2 Material e Métodos

O método de criodesidratação obedeceu à seguinte sucessão de procedimentos: dissecação, pesagem, fixação em formol, ciclos de congelamento e descongelamento e envernizamento do material.

Para a execução desta técnica, foi utilizado o sistema respiratório de um ovino da raça corriedale, idade de 10 meses, proveniente de doação pela chácara Pozzer, localizada em Alexandrina no corredor Olhos D'Água, Bagé-RS. Os órgãos foram lavados para a remoção de resíduos, transportados em uma caixa térmica com gelo reciclável e armazenados sob refrigeração durante 24 horas até a dissecação.

Posteriormente, foi realizado o procedimento de dissecação com auxílio de bisturi e pinça anatômica para rebater o esôfago e o tecido adiposo (Figura 8). Além dos materiais básicos de dissecação, foram utilizados equipamentos de proteção individual (EPI), como luvas de látex, máscaras respiratórias e jaleco.



Figura 8: Sistema respiratório dissecado. Esôfago à esquerda; sistema respiratório ao centro; tecido adiposo à direita.

Fonte: SOARES, J. B., 2021. Bagé, RS.

Em seguida, o sistema respiratório foi pesado em balança eletrônica (balança digital Amira – modelo com plataforma). A Figura 9 retrata o processo de pesagem.

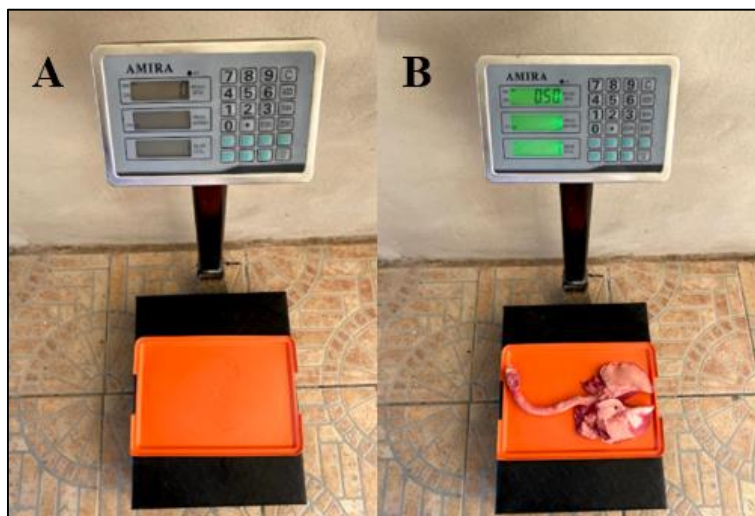


Figura 9: Realização da tara (A) e pesagem do sistema respiratório (B).
Fonte: VILLAGRAN, K. M., 2021. Bagé, RS.

A etapa de fixação consistiu em imergir totalmente o sistema respiratório em solução de formol a 10% por 72 horas em um recipiente plástico com tampa. Tendo em vista a toxicidade do formol, o procedimento foi feito com EPI no laboratório de parasitologia do Hospital Veterinário São Francisco vinculado à Faculdade IDEAU, como mostra a Figura 10.



Figura 10: Grupo reunido no laboratório para a etapa de fixação.
Fonte: ARAUJO, S.K., 2021. Bagé, RS.

A solução de formol a 10% foi obtida através da diluição de uma parte do formol a 37% (forma comercial do produto) em nove partes de água, medidas em um béquer. A fim de evitar que alguma estrutura ficasse exposta ao ar, os órgãos foram cobertos por uma flanela (Figura 11).



Figura 11: Sistema respiratório imerso em solução de formol a 10% e coberto por uma flanela.
Fonte: MORALES, T. G., 2021. Bagé, RS.

Decorrido o período de fixação, a peça foi lavada em água corrente para retirar o excesso de formol, envolto em um saco plástico devidamente identificado e levado ao *freezer* para dar início às sessões de congelamento por 48 horas e descongelamento em temperatura ambiente por 24 horas. A técnica utilizada foi adaptada de trabalhos (SOUZA et al., 2016; CURY, 2013) que submeteram os órgãos ao mesmo período de congelamento e descongelamento. Na Figura 12 observam-se os processos de lavagem e congelamento.



Figura 12: Lavagem das vísceras (A) e congelamento (B).
Fonte: BRENDLER, N. P., 2021. Bagé, RS.

A fase de contínuos congelamentos e descongelamentos foi dividida em ciclos com duração de seis dias. Ao final de cada ciclo, o sistema respiratório foi pesado em balança digital após sofrer descongelamento com o objetivo de verificar o percentual de perda de peso do material. Esse processo foi repetido até que houvesse perda de 70% do seu peso inicial.

Ao atingir o peso pré-estabelecido, o sistema respiratório foi finalizado com aplicações de verniz em *spray* com intervalos de secagem e acondicionado em uma caixa de vidro. A peça criodesidratada foi encaminhada ao laboratório de anatomia do Instituto de Desenvolvimento Educacional de Bagé – Faculdade IDEAU, onde terá a função de proporcionar aos alunos e público em geral a oportunidade de conhecer a anatomia do sistema respiratório da espécie ovina.

2.3 Resultados e Discussão

Durante o processo de fixação em formol, a flanela foi de extrema importância para que a penetração da substância nos tecidos fosse homogênea. Em um primeiro momento, os pulmões flutuaram sobre a solução de formol devido à sua natureza esponjosa e, após 24 horas, evidenciou-se o início de autólise na região exposta ao ar (Figura 13). Para solucionar esse problema, o sistema respiratório foi coberto com uma flanela que o tornou menos suscetível à flutuação e garantiu o êxito da etapa.



Figura 13: Início do processo de autólise na área delimitada pelo círculo.
Fonte: BRUM, A. V., 2021. Bagé, RS.

A criodesidratação atingiu seu objetivo quanto à redução do emprego de formaldeído, já que sua manipulação foi necessária somente em uma etapa, diferentemente da técnica de formalização descrita por Carmo (2017) que exige contato constante com a substância. No processo aqui exposto, o odor característico do formol extinguiu-se a partir do quarto ciclo de congelamento.

Durante o período de pesagem e avaliação das estruturas, correspondente a 13 ciclos, observou-se a contínua perda de água que refletiu diretamente no peso das estruturas. A partir da análise do gráfico (Figura 14), é possível verificar que foram necessários 11 ciclos para que o sistema respiratório perdesse 70% de massa em relação às peças frescas, o que determina o fim do processo conforme Silva et al. (2013).

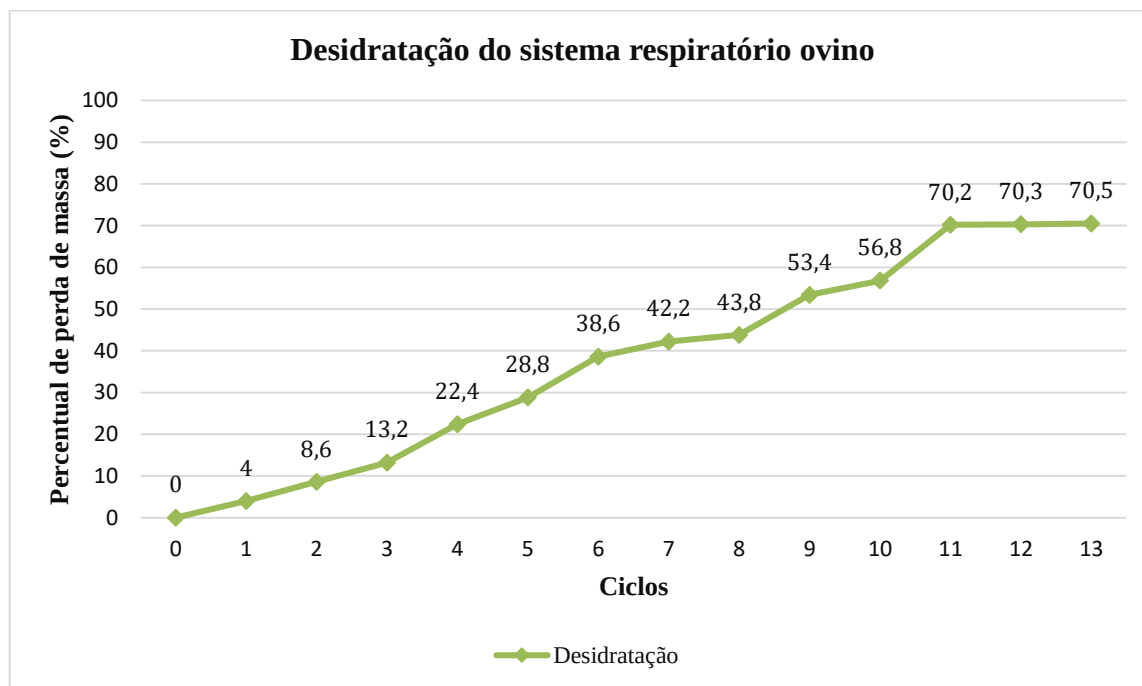


Figura 14: Desidratação do sistema respiratório ovino ao longo de 13 ciclos experimentais, cada ciclo corresponde a seis dias.

Fonte: Os Autores, 2021.

A curva de desidratação mais acentuada entre o oitavo e 11º ciclo pode ser explicada pela exposição da peça ao sol nos períodos de descongelamento. Anteriormente, o material era mantido ao abrigo da luz e do vento de acordo com as recomendações de Kremer et al. (2011), mas o processo de perda de água mostrou-se mais eficiente quando exposto ao sol. Para evitar o ressecamento excessivo relatado pelo autor, os descongelamentos dos últimos dois ciclos foram feitos na sombra.

A fissura dos tecidos é citada por Kremer et al. (2011) como positiva ao permitir maior extravasamento de líquido para o exterior dos órgãos. Contudo, a retração tecidual no presente estudo resultou em rompimento do músculo liso da porção distal da traqueia. Assim, foi necessário unir as porções através de uma sutura com fio de nylon (Figura 15).



Figura 15: Sutura da traqueia com fio de nylon evidenciada pela área circulada.
Fonte: BRENDLER, N. P., 2021. Bagé, RS.

Quanto ao aspecto da peça criodesidratada, a rigidez e a coloração esbranquiçada corroboraram com os resultados obtidos por Antonioli et al. (2016). Portanto, apesar da anatomia do sistema respiratório ser preservada, houve mudanças evidentes quanto à tonalidade e maleabilidade dos órgãos. A Figura 16 mostra a peça finalizada.



Figura 16: Sistema respiratório ovino criodesidratado.
Fonte: BRENDLER, N. P., 2021. Bagé, RS.

Após o envernizamento, o sistema respiratório mostrou-se sólido, leve e resistente ao manuseio. Além disso, permitiu a fácil evidência das estruturas anatômicas.

3 CONCLUSÃO

Através dos resultados obtidos, conclui-se que o método de criodesidratação utilizado na conservação do sistema respiratório de um ovino atingiu todos objetivos propostos. Primeiramente, sua execução obteve êxito e evidenciou diversas vantagens, como fácil exequibilidade, baixo custo e preservação dos aspectos morfológicos.

Ademais, atendeu à necessidade de redução do uso de formol, cuja insalubridade é conhecida, e permitiu uma prática menos prejudicial à saúde de professores, alunos e funcionários. Em contrapartida, demandou um longo tempo de preparo em relação às técnicas tradicionais de fixação.

Portanto, a criodesidratação é uma alternativa viável e sustentável para o aprimoramento do ensino de Medicina Veterinária. O propósito de contribuir com o acervo didático do Instituto de Desenvolvimento Educacional de Bagé – Faculdade IDEAU foi contemplado, visto que a peça produzida foi enviada ao laboratório de anatomia animal para ser utilizada como instrumento didático em aulas práticas.

REFERÊNCIAS

ABRAHAMSOHN, P. **Histologia**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

ALVARENGA, J. **Possibilidades e limitações da utilização de membranas biológicas preservadas em cirurgia**. In DALECK, C.R. Tópicos em cirurgia de cães e gatos. Jaboticabal: Fundação de estudos e pesquisas em Agronomia – Universidade Estadual Paulista, 1992, p 33-39.

ANTONIOLLI, E.C.; PINTO, B.A; WEBBER, A.R.; DEJAN, W.S.; FILHO, J.R.S.; MAHL, D.L.; OLIVEIRA, F.; PIEROZAN, M.K.; URIO, E.A. **Criodesidratação do sistema nervoso**. Getúlio Vargas: Faculdades IDEAU, 1-7, 2016.

CARMO, L. do. **Criodesidratação de rins e corações de suínos utilizando estufa de ar com ventilação forçada**. 2017. 48 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal, Universidade Estadual de Maringá, Umuarama, 2017.

CORRÊA, W. R. **Isolamento e identificação de fungos filamentosos encontrados em peças anatômicas conservadas em solução de formol a 10%**. 2003. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2003.

COVILLE, T. P.; BASSERT J. M. **Anatomia e fisiologia clínica para medicina veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

CURY, F. S.; CENSONI, J. B.; AMBRÓSIO, C. E. Técnicas anatômicas no ensino da prática de anatomia animal. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p. 688-696, 2013.

FAILS, A. D. **Frandsen**: anatomia e fisiologia dos animais de produção. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019.

GARTNER, L. **Tratado de histologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2020.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**: texto e atlas. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

KIMURA, A. K.; CARVALHO, W. L. **Estudo da relação custo x benefício no emprego da técnica de glicerinação em comparação com a utilização da conservação por formol**. Trabalho de Conclusão de Curso (Extensão em Higiene Ocupacional) -Universidade Estadual Paulista, 2010.

KLEIN, B. G. **Cunningham**: tratado de fisiologia veterinária. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H. **Anatomia dos animais domésticos**: texto e atlas colorido. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

KREMER, R.; SCHUBERT, J. M. BONFÍLIO, N. S. **Criodesidratação de vísceras do canal alimentar no preparo de peças anatômicas para estudo veterinário**. Pubvet. Londrina, v. 5, n. 13, ed. 160, art. 1081, 2011.

MIES, C. **Molecular biological analysis of paraffin-embedded tissues**. Human Pathology, Miami, v. 25: p. 555-560, jun. 1994.

NORRIS, F. **The respiratory system**. College Station: Texas A&M University, 2002.

OVALLE, W. K.; NAHIRNEY, P. C. **Netter**: bases da histologia. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

REECE, W. O. **Dukes**: fisiologia dos animais domésticos. 13ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

RODRIGUES, H. **Técnicas anatômicas**. 4. ed. Vitória: GM Editora, 2010.

SILVA, B.; ARAÚJO, A.; GILINO, X.; LINDEN, D.; LIMA, F. **Preparo de peças anatômicas através do método de criodesidratação**. XIII Jornada de Pesquisa, Ensino e Extensão – JEPEX, 2013, Recife, 09 a 13 de novembro.

SOUZA, D. P. DE et al. **CRIODESIDRATAÇÃO**: Técnica Alternativa no Preparo de Peças Anatômicas no Laboratório de Anatomia Veterinária – Campus Muzambinho. 8a Jornada Científica e Tecnológica do IFSULDEMINAS. 5o Simpósio de Pós-Graduação. Anais...Passos, MG.: 2016



TEIXEIRA, A.; TEIXEIRA, A. F.; GUARENTI, V. P. J. **Desidratação de músculos no preparo de peças anatômicas**. Revista Brasileira de Ciências Morfológicas, v. 7/8, n.2/1, p.45-7, 1990-1991.

WEST, J. B. **Fisiologia respiratória**: princípios básicos. 9. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

ZOFOLI, M. B. **Avaliação de métodos alternativos para conservação de peças anatômicas e suas aplicações conscientes no laboratório de anatomia animal**. 2017. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2017.