

USO DA TÉCNICA DE CRIODESIDRATAÇÃO NA CONSERVAÇÃO DO SISTEMA REPRODUTOR FEMININO E MASCULINO DA ESPÉCIE OVINA.

CARVALHO, Camilla Cabaldi¹
DA SILVA, Aryadne Domingues¹
DOS SANTOS, Gabriella Staggemeier¹
SIMÕES, Nathália Pagalday¹
CORADINI, Márcia Goulart Lopes¹
LINDEN, Liana de Salles Van Der²
SANTOS, Amanda de Souza²
TEIXEIRA, Bruno Borges Machado²

RESUMO: O trabalho teve como objetivo descrever e aplicar a técnica de criodesidratação em sistemas reprodutores de ambos sexos de ovinos, os quais tinham idade de 18 meses, tendo sido doados por criador residente da cidade de Rosário do Sul/RS. A escolha da criodesidratação foi feita por ser uma técnica antiga que utiliza sessões de congelamento e descongelamento para obter peças anatômicas conservadas, sem odores, leves e de fácil utilização em laboratórios de anatomia. Há outras técnicas para conservação, mas optou-se pelo uso da criodesidratação aliada ao formaldeído tanto por ser a técnica mais viável pela facilidade de conseguir bons resultados e manter as características das peças anatômicas usadas, quanto pela manutenção. A criodesidratação, por si só, não necessita de outros agentes para ter um bom resultado a curto prazo, porém como as peças irão ficar expostas no laboratório da Faculdade Ideau - campus Bagé, esta técnica foi aliada ao fixador e conservante formaldeído, cujo uso é mais comum por ter um baixo custo quando comparado a outros fixadores, como por exemplo a glicerina pura. Concluindo, o trabalho teve seus objetivos satisfatoriamente alcançados para aprendizagem teórico-prático.

Palavras-chave: Técnicas anatômicas, conservação de órgãos, ovinocultura.

ABSTRACT: The objective of this work was to describe and apply the cryodehydration technique in reproductive systems of both sexes of sheep, which were 18 months old, and which have been donated by a breeder from Rosário do Sul / RS. The choice for cryodehydration was made because it is an ancient technique which uses freezing and thawing sessions to obtain preserved anatomical pieces, without odors, light weight and easy to use in anatomy laboratories. There are other techniques for preservation, but the use of formaldehyde-based cryodehydration has been chosen because it is the most feasible technique to achieve good results, in order to keep the characteristics of the used anatomical pieces, as well as for the maintenance. Cryodehydration itself does not require other agents to have a good short term result, but as the pieces will be exposed in the laboratory of Faculdade Ideau - campus Bagé, it was associated with the fixative and preservative formaldehyde, which is more commonly used because of its lower cost, when compared to other fasteners, as for example the pure glycerin. Concluding, the work had its objectives satisfactorily achieved for theoretical-practical learning.

Keywords: Anatomical techniques, organs conservation, sheep farming.

¹ Medicina Veterinária, Nível 2 2017/1 - Faculdade IDEAU – Getúlio Vargas/RS.

*E-mail para contato: camilla_cabaldi@hotmail.com

1 INTRODUÇÃO

O Rio Grande do Sul é o estado brasileiro com o maior número de ovinos, onde a criação tem grande importância econômica e cultural. Os cinco estados com o maior número de ovinos detêm mais de 70% do total de animais do Brasil (IBGE, 2011).

A caprinovinocultura está apresentando um ciclo de crescimento mundial. Este crescimento intensificou-se nas últimas décadas em países em desenvolvimento, detentores dos maiores rebanhos (FONSECA, 2005).

Segundo o mesmo autor, dentro desta perspectiva, haverá ampla necessidade de se assistir a reprodução destes animais, para permitir aumento da eficiência reprodutiva e/ou produtiva dos rebanhos, ou para multiplicação mais eficiente de genótipos superiores.

O conhecimento do aparelho reprodutor masculino e feminino é de suma importância para um melhor entendimento anatômico e do funcionamento do sistema reprodutivo.

O aparelho reprodutivo do macho ovino é constituído por: testículos, epidídimo, ducto deferente, glândulas acessórias do pênis, pênis, prepúcio. O aparelho reprodutivo da fêmea ovina é constituído por ovários, tubas uterinas, útero, vagina, vulva (FONSECA, 2005).

Há mais de cinco mil anos, a conservação de peças anatômicas é um tema de grande importância para os envolvidos na área de Anatomia. A utilização das mesmas é um dos métodos de ensino aplicados nas universidades em todo mundo (KIMURA; CARVALHO, 2010). Segundo os mesmos autores, o estudo em peças reais contribui no treinamento prático do aprendizado, melhorando a compreensão e a assimilação do conteúdo teórico.

Tratando-se de laboratórios de anatomia, estes têm como objetivos o estudo de peças anatômicas sintéticas e cadavéricas sendo indispensável o manuseio das mesmas. As peças passam por dissecação e reparação para estudo, sendo conservadas na grande maioria em solução de formaldeído a 10% ou pela técnica de glicerinação (FREITAS et al., 2009).

A criodesidratação é uma técnica antiga que utiliza seções de congelamento e descongelamento para obter peças anatômicas conservadas sem odor, leves e de fácil utilização em laboratórios de anatomia (KREMER, SCHUBERT & BONFÍGLIO, 2011).

O presente trabalho teve como objetivo descrever a utilização da técnica de criodesidratação em um sistema reprodutor ovino masculino e feminino, para fins didáticos, no Laboratório de Anatomia Veterinária da faculdade IDEAU, campus Bagé, tendo como

finalidade contribuir para o aperfeiçoamento da técnica e agregar mais conhecimento anatômico dos órgãos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Anatomia e Fisiologia do sistema reprodutivo:

Segundo Granados. et.al. (2006) o aparelho reprodutivo masculino é composto por:

Testículos: em número de dois, com forma ovalada, alojados na bolsa escrotal, em posição vertical. Sua função é produzir espermatozoides e hormônios;

Epidídimo: canal que serve para transporte e reservatório de espermatozoides produzidos no testículo;

Ducto deferente: tem função de transportar os espermatozoides no momento da ejaculação;

Glândulas acessórias do pênis: são responsáveis pela produção de líquidos que nutrem os espermatozoides e estão situadas junto à uretra;

Pênis: é o órgão masculino responsável pela cópula, ou seja, através dele os espermatozoides são depositados no órgão genital feminino;

Prepúcio: é uma camada de pele que recobre e protege o pênis;

Segundo o mesmo autor o aparelho reprodutivo feminino é composto por:

Ovários: têm forma arredondada e são do tamanho de uma avelã, apresentando em sua superfície estruturas denominados folículos que ao amadurecerem liberam o óvulo. Os ovários também produzem os hormônios responsáveis pelo estro, manutenção da gestação e do parto;

Tubas uterinas: são tubos sinuosos que unem o ovário ao útero. Uma vez liberado pelo ovário, o óvulo desce pela tuba uterina e na presença de espermatozoides, ocorre a fecundação, que por sua vez desce para o útero, fixando-se e dando continuidade à gestação;

Útero: é o órgão em que ocorre o desenvolvimento da gestação. Consiste em um corpo verdadeiro e dois cornos, os quais se conectam as tubas. O útero separa-se da vagina pela cérvix (ou colo uterino), que tem como função proteger a gestação do ambiente da vagina e do meio exterior;

Vagina: é ampla e tubular, com comprimento médio de 4,4 cm. Está situada entre a cérvix e a vulva, recebe o pênis durante a cópula, sendo também o canal do parto no momento do nascimento.

Vulva: é a porção mais externa do aparelho genital da fêmea e na porção inferior encontra-se o clitóris.

2.2 Histologia do sistema reprodutivo:

O ovário apresenta a zona periférica ou cortical, e a zona central ou medular. (PIEZZI e FORNÉS, 2014).

Segundo os mesmos autores, o córtex ovariano é caracterizado pela presença de estruturas esféricas de tamanhos predominantemente pequenos, denominadas folículos ovarianos, enquanto a medula é formada fundamentalmente por um tecido conjuntivo frouxo onde se encontram numerosos vasos sanguíneos.

Na tuba uterina a camada mais interna é representada por uma mucosa, a qual forma grandes pregas de aspecto ramificado. A mucosa é constituída por um epitélio de revestimento simples cilíndrico, apoiado em uma lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo, à qual se segue a túnica muscular (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013).

Segundo os mesmos, a túnica muscular é constituída por células musculares lisas em diferentes direções. No tecido conjuntivo que ocupa o espaço entre fibras musculares ocorrem abundantes vasos sanguíneos de pequeno calibre, entre os quais se encontram vênulas, capilares e arteríolas.

Nos testículos cada túbulo seminífero é composto pelo epitélio seminífero, pela membrana basal e pelas células peri tubulares mióides que envolvem o túbulo (EURELL e FRAPPIER, 2012).

As células de Sertoli são escassas no epitélio seminífero e apresentam formato de “chama de vela” e estão próximas à membrana basal. Possuem núcleo ovóide proeminente. O citoplasma da célula de Sertoli rodeia as células vizinhas e entra em contato com o lúmen tubular (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013).

O epidídimo é um tubo longo de trajeto tortuoso e enovelado. Estas curvas e contracurvas se agrupam em três regiões conhecidas como cabeça, corpo e cauda do epidídimo. Este tubo recebe ductos em seu início e se continua com o ducto deferente em sua extremidade distal. Devido à sua tortuosidade, os cortes histológicos podem mostrar

segmentos do ducto do epidídimo em sentidos longitudinal, oblíquo ou transversal. O ducto do epidídimo é formado pelo epitélio epididimário. O epitélio é pseudo-estratificado cilíndrico alto, composto predominantemente por células cilíndricas (PIEZZI e FORNÉS, 2014).

O pênis é composto principalmente por três corpos cilíndricos de tecido erétil. (EURELL e FRAPPIER, 2012).

2.3 Técnicas de conservação de tecidos.

Atualmente, o método mais empregado para a conservação de peças anatômicas é a formalização, na qual utiliza-se o formaldeído (“formol”) como fixador e conservador. Essa substância apresenta como principal vantagem o baixo custo. Entretanto, existem vários fatores negativos advindos de sua utilização, tais como: elevado peso das peças (devido ao encharcamento) e rigidez excessivos. Devido a sua volatilidade provoca odor repulsivo, irritação das mucosas, além de ser comprovadamente prejudicial à saúde, ocasionando efeitos cancerígenos (KRUG et al., 2011).

Devido às desvantagens do “formol”, diversas técnicas vêm sendo executadas como métodos alternativos à sua utilização. Podemos citar a criodesidratação, glicerinação, injeção de látex e injeção de vinilite seguido de corrosão (CURY et al., 2013).

A glicerina semipurificada pode ser uma alternativa para os elevados custos de aquisição da glicerina pura, sendo ela proveniente da produção de biodiesel, visto que é um produto prejudicial ao meio ambiente quando descartado de forma incorreta (CARVALHO et al., 2013).

Segundo Cury et.al. (2013), o uso do formaldeído pode ou não ser completamente descartado, já que as técnicas de glicerinação podem ser executadas tanto em peças frescas quanto em peças já formalizadas a 10% para serem dissecadas antes do procedimento.

A glicerina tem a capacidade de desidratação celular, atuando como fungicida e bactericida. A técnica de glicerinação proporciona melhor preservação das peças anatômicas com diversas vantagens como: a leveza que as mesmas adquirem no processo de conservação, a morfologia é preservada o mais próximo da forma original e a coloração, facilitando a identificação de várias estruturas de difícil visualização. Além disso, a glicerina é uma substância inodora, não irrita as mucosas, não é carcinogênica e não possui um risco de contaminação ambiental tão elevado em comparação ao formol (KRUG et al., 2011).

2.4 Criodesidratação

Existem várias técnicas para preservação de tecidos animais. Para eleger a mais viável para a preparação, conservação e manutenção é importante levar em conta as vantagens que o método pode apresentar, sendo elas a visualização das peças conforme a estrutura, cor, textura, tamanho e posição desejada. Além do custo, peso das peças e, por fim, o bem-estar de quem manipula tais estruturas (CURY et al., 2013).

Além do uso do formol e da glicerina cujo são as técnicas mais conhecidas e utilizadas devido à maior aproximação das características reais das peças, existe uma técnica de ótima alternativa na conservação de peças individuais e animais inteiros, conhecida como criodesidratação (KREMER et al., 2011).

Segundo Teixeira et al. (1991) e Teixeira et al. (1996), citados por Kremer et al. (2011), a criodesidratação é uma técnica de conservação que envolve a desidratação de estruturas anatômicas pelo frio, submetidas a congelamentos e descongelamentos repetitivos, com as seguintes vantagens: fácil acondicionamento, dispensa o uso de fixadores (“formol”) na conservação, baixo custo da técnica, durabilidade e leveza das peças.

A técnica é baseada no princípio de que o congelamento lento da água no interior da célula, causa sua expansão e forma cristais de gelo grandes o suficiente para romper a membrana plasmática celular. Através de repetições do procedimento um número maior de rupturas acontece na parede celular, facilitando a liberação de água do tecido (HINER & HANKINS, 1947; KOONZ & RAMSBOTTON, 1939).

A retração dos tecidos é uma característica inevitável na técnica de criodesidratação devido à total perda de água da peça utilizada, porém não é considerado um fator de grave influencia no estudo dos alunos, mostrando apenas uma pequena deformação em algumas estruturas devido a retração tecidual (FREITAS et al., 2009).

3 Metodologia

Para a realização da técnica de criodesidratação foram utilizadas peças do sistema reprodutor feminino e masculino, oriundos de ovinos da raça ideal, provenientes da cidade de Rosário do Sul, doados pelo proprietário Carlos Augusto dos Santos.

Não foi informada a causa *mortis* do animal;

O sistema reprodutor masculino fornecido para a técnica não estava completo, o carneiro era castrado e por esse motivo não possuía os testículos;

As peças obtidas foram resfriadas, mensuradas e foto documentadas. Para um melhor desenvolvimento do método foi realizada a utilização de formaldeído.



Figura 1- Órgão reprodutor masculino de um ovino- Foto: CARVALHO, C.C., 2017. Faculdade Ideau-Bagé, RS.



Figura 2- Órgão reprodutor feminino de um ovino- Foto: CARVALHO, C.C., 2017. Faculdade Ideau-Bagé, RS.

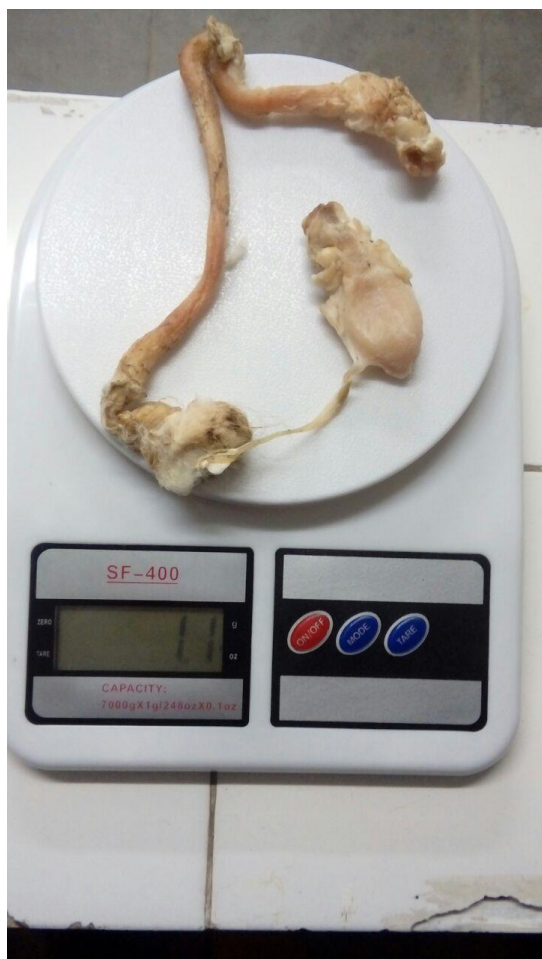


Figura 3- Órgão reprodutor masculino de um ovino com a bexiga urinária- Foto: CARVALHO, C.C., 2017. Faculdade Ideau- Bagé, RS.



Figura 4- Órgão reprodutor feminino de um ovino- Foto: CARVALHO, C.C., 2017. Faculdade Ideau- Bagé, RS.

Conforme o quadro 1 temos os processos da técnica de criodesidratação.

Quadro 1: Processo da técnica de criodesidratação nos órgãos reprodutores.

Data	Procedimento	Peso dos órgãos	Observações
15/08	Os órgãos foram colocados imersos no formol diluído em água, durante 48 horas. 5ml de formol diluído em 3 litros de água		Os órgãos não foram pesados antes de serem colocados no formol.

17/08	Os órgãos foram retirados do formol após as 48 horas, notou-se que ocorreu uma mudança na coloração do órgão;	Feminino:2,5g Masculino:1,7g	Foram lavados em água corrente e feita a retirada de tecido adiposo.
17/08	Primeiro congelamento		
21/08	Descongelado	Feminino:2,2g Masculino:1,4 g	
22/08	Congelado		
24/08	Descongelado	Feminino: 2,0g Masculino: 1,2g	
25/08	Congelado		
28/08	Descongelado	Feminino: 1,8g Masculino: 1,1g	
29/08	Congelado		
31/08	Descongelado	Feminino: 1,7g Masculino: 1,0g	
01/09	Congelado		
04/09	Descongelado	Feminino: 1,6g Masculino: 0,9g	
05/09	Congelado		
11/09	Descongelado	Feminino: 1,5g Masculino: 0,8g	
12/09	Congelado		
18/09	Descongelado	Feminino: 1,3g Masculino: 0,7g	
19/09	Congelado		
25/09	Descongelado	Feminino: 1,0g Masculino: 0,7g	
26/09	Congelado		
28/09	Descongelado	Feminino: 0,9g Masculino: 0,6g	
29/09	Congelado		
02/10	Descongelado	Feminino: 0,8g Masculino: 0,5g	
04/10	Congelado		
09/10	Descongelado	Feminino: 0,8g Masculino: 0,4g	
10/10	Congelado		
16/10	Descongelado	Feminino: 0,6g Masculino: 0,4g	



Figura 5- Órgão reprodutor masculino de um ovino-
Foto: CARVALHO, C.C., 2017. Faculdade Ideau-
Bagé, RS.



Figura 6- Órgão reprodutor feminino de um ovino-
Foto: CARVALHO, C.C., 2017. Faculdade Ideau-
Bagé, RS

4. Resultados e Discussão

O processo de conservação foi considerado eficiente, após 13 ciclos de congelamentos e descongelamentos, pelo fato dos resultados esperados terem sido alcançados.

Concordando com Freitas et al. (2009) observamos que a retração dos tecidos decorrente da perda de moléculas de água, não seria um fator negativo, mesmo havendo uma deformação nos órgãos, contudo, ainda é possível compreender a anatomia do órgão.

Durante o processo o gasto com conservantes para preparar e manter as peças foi considerado mínimo, pois foi utilizado formaldeído uma única vez antes do primeiro congelamento.

Constatou-se facilidade no acondicionamento da peça, não havendo necessidade de guardar a peça em caixas ou tanques com fixadores, sendo utilizado um freezer para a realização da técnica, sendo que o mesmo não será necessário para a manutenção da peça.



Figura 7- Órgão reprodutor masculino de um ovino
Após a técnica de criodesidratação-
Foto: CARVALHO, C.C., 2017. Faculdade Ideau-
Bagé, RS.



Figura 8- Órgão reprodutor feminino de um ovino
após a técnica de criodesidratação- Foto:
CARVALHO, C.C., 2017. Faculdade Ideau- Bagé, RS.

3 CONCLUSÃO

Dessa forma, observamos que a criodesidratação, como técnica de preparação de peças anatômicas para estudo em anatomia veterinária, é uma opção de baixo custo que oferece vantagens de acondicionamento, transporte e manutenção quando realizada nos órgãos dos

sistemas reprodutores feminino e masculino em relação às demais técnicas tradicionais que utilizam fixadores em sua manutenção.

Conclui-se que o projeto de aperfeiçoamento teórico prático teve seus objetivos alcançados, pois obteve um resultado satisfatório e contribuiu para o conhecimento dos alunos de uma técnica anatômica alternativa da Medicina Veterinária.

REFERÊNCIAS

ANTONIOLLI C. B. **Seminário apresentado na disciplina de Endocrinologia da reprodução (VET00169) do programa de pós-graduação em ciências veterinárias da UFRGS.** Disponível em: <<https://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/foliculos.pdf>> Acessado em: 25/09/2017

CARVALHO Y.K., ZAVARIZE K.C., MEDEIROS L.S. & BOMBONATO P.P. 2013. **Avaliação do uso da glicerina proveniente da produção de biodiesel na conservação de peças anatômicas.** *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 33(1):115-118.

CURY, F. S.; CENSONI, J. B.; AMBRÓSIO, C. E. 2013. **Técnicas anatômicas no ensino da prática de anatomia animal.** *Pesquisa Veterinária Brasileira*. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v33n5/22.pdf>> Acessado em: 01/09/2017

EURELL J. **Histologia veterinária de Dellmann.** P233-256, 2012.

FONSECA, J. F. 2005. **Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em ovinos e caprinos.** Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/44472/1/AAC-Estrategias-para-o-controle.pdf>> Acessado em: 30/08/2017

FREITAS I.B., SOUZA A.M. & SANTOS R.M.B. 2009. **Técnica anatômica aplicada na conservação de cortes segmentares em *Canis familiaris* e *Decapterus macarellus*.** IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão, UFRPE, Recife, p.1-3. (Resumo) Disponível em <<http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0721-2.pdf>> Acessado em: 01/09/2017

GRANADOS L.B.C., DIAS A. J. B., SALES M. P. 2006. **Aspectos gerais da reprodução de caprinos e ovinos.** Disponível em: <<http://www.capritec.com.br/pdf/reproducaoodeovinosecaprinos.pdf>> Acessado em: 26/08/2017

HINER, R.L.; HANKINS, O.L. **Temperatures of freezing affects tenderness of Beef.** *Food Ind.*, v. 19, p.1078, 1947.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. **Produção da Pecuária Municipal 2011**. Disponível em:

<ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/2011/ppm2011.pdf> Acessado em: 20/08/2017

JUNQUEIRA L.; CARNEIRO J. **Histologia básica**. P414-431, 2013.

KIMURA A.K.E. & CARVALHO W.L. 2010. **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 de Extensão em Higiene Ocupacional, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, SP. 30p.

KOONZ, C.H.; ROMSBOTTON, J.M. **A method for studying the histological structure of frozen products**. I. Poultry. Food Res., v.4, p.117, 1939.

KREMER, R., SCHUBERT, J. M. e BONFÍGLIO, N. S. 2011. **Criodesidratação de vísceras do canal alimentar no preparo de peças anatômicas para estudo veterinário**; Disponível em:<<http://www.pubvet.com.br/artigo/1580/criodesidrataccedilatildeo-de-viacutesceras-do-canal-alimentar-no-preparo-de-peccedilas-anatocircmicas-para-estudo-veterinaacuterio>> Acessado em:29/08/2017

KRUG, L.; ROMAN, L.I. **Conservação de peças anatômicas com glicerina loira**. 2011. In: I Mostra de Iniciação Científica – I MIC. Anais... Instituto Federal Catarinense, campus Concórdia, SC, Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v36n7/1678-5150-pvb-36-07-00671.pdf>> Acessado em: 20/08/2017

TEIXEIRA, A.; TEIXEIRA, A.F.; GUARENTI, V.P.J. **Desidratação de músculos no preparo de peças anatômicas**. Rev. bras. Ciên. Morfol., v.7/8, n.2/1, p. 45-47, 1990-1991.

TEIXEIRA-FILHO, *et al.* **A técnica de criodesidratação aplicada em órgãos cavitários e parenquimatosos**. Braz. J. morphol., n.2, p.177-180, 1996.