

Estudo preliminar da água de coco para preservação de enxertos teciduais em transplante

Preliminary study of coconut water for graft tissues preservation in transplantation

JORGE MIGUEL SCHETTINO CÉSAR¹; ANDY PETROIANU, TCBC-MG²; LEONARDO DE SOUZA VASCONCELOS³; VALBERT NASCIMENTO CARDOSO⁴; LUCIENE DAS GRAÇAS MOTA³; ALFREDO JOSÉ AFONSO BARBOSA⁵; CRISTINA DUARTE VIANNA SOARES⁴; AMANDA LIMA DE OLIVEIRA⁶

R E S U M O

Objetivo: verificar a eficácia da água de coco na preservação de tecidos para transplante. **Métodos:** cinquenta ratas *Wistar* foram distribuídas aleatoriamente em cinco grupos, de acordo com as seguintes soluções de preservação para enxertos teciduais: Grupo 1- Ringer lactato, Grupo 2- Solução de Belzer, Grupo 3- Água de coco maduro, Grupo 4- Água de coco verde, Grupo 5- Água de coco modificada. No Grupo 5, a água de coco verde foi modificada à semelhança da solução de Belzer. De cada animal, retirou-se o baço, os ovários e um segmento de pele do dorso. Esses tecidos foram preservados durante seis horas em uma das soluções. Em seguida, os enxertos foram reimplantados. A recuperação da função dos tecidos implantados foi avaliada 90 dias após a cirurgia, por meio de cintilografia esplênica, exames de sangue. Os tecidos implantados foram coletados para estudo anatomopatológico.

Resultados: as dosagens séricas não apresentaram diferença entre os cinco grupos, exceto pelos animais do Grupo 5, que apresentaram valores mais elevados de IgG do que o Grupo 1, e pelas diferenças em relação ao FSH entre os grupos 1 e 2 ($p < 0,001$), 4 e 2 ($p = 0,03$), 5 e 2 ($p = 0,01$). A cintilografia esplênica não foi diferente entre os grupos. O tecido ovariano foi melhor preservado em água de coco maduro ($p < 0,007$). **Conclusão:** as soluções à base de água de coco preservam baço, ovário e pele de rato durante seis horas, mantendo sua função normal.

Descritores: Cocos, Soluções para preservação de órgãos, Transplante autólogo, Baço, Pele, Ovário.

INTRODUÇÃO

Os métodos para preservar órgãos e tecidos para transplante associam-se à supressão do metabolismo, por hipotermia. O sangue é substituído por solução de preservação para tornar o órgão tolerante à hipotermia. A composição das soluções de preservação é determinante à tolerância do órgão armazenado em hipotermia¹⁻⁴. A introdução da solução da Universidade de Wisconsin ou solução de Belzer, no final da década de 1980, foi um grande avanço na preservação de órgãos².

Estudos realizados com gametas de várias espécies animais mostraram que a água de coco verde (endosperma da *Cocos nucifera L.*) pode ser usada com sucesso na preservação dos folículos pré-antrais de caprinos e ovinos, sêmen de ovelhas, porcos e humanos. Essa solução foi testada também como meio de conservação e maturação de oócitos imaturos de ovários bovino e como meio de cultura para embriões de camundongos e bovinos³.

O objetivo deste estudo foi verificar a eficácia da água de coco na preservação de enxertos teciduais, com vista a transplante autólogo, considerando o alto custo das soluções de preservação em uso.

MÉTODOS

Este estudo foi conduzido de acordo com as recomendações das Normas Internacionais para Proteção Animal e do Código Brasileiro de Experimentação Animal (1988), "Princípios Éticos na Experimentação Animal", segundo a Lei Federal nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, tendo sido provado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG sob o nº 220/2009 e pela Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Minas Gerais, memorando nº 054/11.

Cinquenta ratas *Wistar* com três meses de vida, pesando entre 200g e 250g foram alocadas em gaiolas apropriadas, cinco animais por gaiola, em ambiente com

1. Doutor em Medicina pelo Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas a Cirurgia e Oftalmologia da Faculdade de Medicina da UFMG; 2. Professor Titular do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da UFMG; 3. Professor Adjunto do Departamento de Propedêutica Complementar da Faculdade de Medicina da UFMG; 4. Professor Associado da Faculdade de Farmácia da UFMG; 5. Professor Titular do Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da UFMG; 6. Estudante da Faculdade de Medicina da UFMG.

temperatura entre 20°C e 28°C (M=25°C), umidade natural e fotoperíodos de luz e escuridão de 12/12h, com ventilação natural por exaustão mecânica. Os animais tiveram livre acesso à água e ração padrão de laboratório para roedores (Labina®, Purina®, Brasil) durante os períodos pré e pós-operatórios.

Após período de adaptação de 15 dias, as ratas foram distribuídas aleatoriamente em cinco grupos com dez animais cada, seguindo orientação de significância estatística. A aleatorização foi feita na distribuição dos animais em gaiolas separadas, sem levar em conta característica alguma. Cabe ressaltar que todos os animais eram provenientes de ninhadas de mesma raça e procedência, reunidas em um único grupo com idades e pesos similares. Os grupos foram determinados pela solução de preservação utilizada: Grupo 1 – Ringer lactato; Grupo 2 – Solução de Belzer (ViaSpan, Bristol-Meyers Squibb Pharmaceutical, Dublin.); Grupo 3 – Água de coco maduro; Grupo 4 – Água de coco verde; Grupo 5 – Água de coco modificada.

Os cocos foram obtidos no mercado local, no dia de sua utilização, íntegros, com oito a 12 meses de idade. Parte do mesocarpo e endocarpo foi removida para expor o endosperma, sem lesá-lo. Após antisepsia de sua super-

fície com polivinilpirrolidona-iodo, contendo 1% de iodo ativo, polividona 10% (Rioquímica, São José do Rio Preto, São Paulo), o endosperma foi cortado com lâmina de bisturi estéril e a água do coco foi aspirada com cateter periférico 14G x 22" (B.B. Braun®, Melsungen, Germany) e seringa hipodérmica de plástico de 20ml (B.D. Plastipak®, Curitiba, PR, Brasil) e transferida para cuba metálica. A esterilidade da água de coco extraída foi confirmada, por amostragem, com sua inoculação em placas de Petri com meio de cultura bacteriana.

A solução de água de coco modificada foi preparada no Centro de Desenvolvimento Analítico Farmacêutico – UFMG, tendo por base a composição hidroeletrólítica da água de coco verde. Foram feitas mudanças em sua composição eletrolítica, para torná-la semelhante à solução de Belzer¹. Durante o procedimento, devido à precipitação do sal fosfato de magnésio, foi necessária a redução do pH da solução para 7, pelo acréscimo de ácido clorídrico. A concentração final da solução modificada é mostrada em relação a outras soluções de preservação e as de água de coco verde e maduro, cujas composições eletrolíticas foram dosadas por amostragem e utilizadas neste estudo (Tabela 1).

Tabela 1 - Composição hidroeletrólítica e outros componentes de soluções de preservação tecidual e de água de cocos verde, maduro e modificada (mg/L)⁴.

	RL	ER	rER	UW	Celsior	LPD	HTK	CV	CM	M
pH	7,4	7,2	–	7,4	7,3	7,4	7,1	6,9	6,9	7,0
Na ⁺	234	180	2070	540	180	3024	27	252,08	466,67	540
K ⁺	7,2	2070	180	2250	27	72	16,2	933,33	3000	2250
Mg ²⁺	–	–	–	90	23,4	–	–	66,26	237,2	90
Cl ⁻	196,2	270	270	–	74,7	1854	–	–	–	2569
Cálcio	5,4	–	–	–	0,26	–	–	–	–	–
SO ₄ ²⁻	–	–	90	–	–	–	–	<1	<1	90
PO ₄ ³⁻	–	1035	1035	450	–	660,6	–	238,7	1324,58	450
HCO ₃ ⁻	–	180	180	–	–	–	–	–	–	–
Glicose	–	0,35	0,35	–	–	–	–	NM	583,33	NM
Lactobionato	–	–	–	180	80	–	–	–	–	–
Glutaciona	–	–	–	5,4	3	–	–	–	–	–
Rafinose	–	–	–	54	–	–	–	–	–	–
Carboidratohidroxietil	–	–	0,5	–	–	–	–	–	–	–
Adenosina	–	–	–	9	–	–	–	–	–	–
Histidina	–	–	–	–	30	–	324	–	–	–
Triptofano	–	–	–	–	–	–	3,6	–	–	–
Quetogluturato	–	–	–	–	–	–	1,8	–	–	–
Manitol	–	–	–	–	60	–	54	–	–	–
Glutamato	–	–	–	–	2	–	–	–	–	–
Lactato	50,4	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Osmolaridade (mOsm/L)	272	400	380	320	360	285	310	>300	>300	NM

ER – Solução Euro-Collins, rER - Solução Euro-Collins com pouco potássio, UW – Solução de Wisconsin/Belzer, LPD – Solução dextran com pouco potássio/Toronto, RL – Ringer lactato, HTK – Solução de Histidina-triptofano-quetogluturato, CV - Água de coco verde laboratório, CM - Água de coco maduro, M – Água de coco modificada, Na⁺ – Sódio, K⁺ – Potássio, Mg²⁺ – magnésio, Cl⁻ – Cloro, SO₄²⁻ – Sulfato, PO₄³⁻ – Fosfato, HCO₃⁻ – Bicarbonato, NM – Não mensurável pelo kit do laboratório Hidrocepe, mOsmol/L – miliosmois por litro.

O peso dos animais foi verificado imediatamente antes do procedimento cirúrgico. O dia da operação foi considerado o primeiro dia do experimento. Sob anestesia geral com infusão intramuscular da associação de cloridrato de quetamina 10% (Agener União, Embu-Guaçu, São Paulo) (60mg/kg) e xilasina 2% (Agener União, Embu-Guaçu, São Paulo) (8mg/kg). Realizou-se tricotomia da parede abdominal e região dorsal interescapular, seguida de antissepsia da parede abdominal e região dorsal, com solução de polivinilpirrolidona, contendo 1% de iodo ativo, polividona 10% (Rioquímica, São José do Rio Preto, São Paulo).

Através da laparotomia mediana do apêndice xifoide até a região pélvica, o baço e os dois ovários foram retirados após ligadura e secção de seus pedículos vasculares. O baço foi cortado em quatro segmentos, com lâmina de bisturi. Esses órgãos e tecidos foram imediatamente imersos na solução de preservação correspondente ao seu grupo, mantida a 4°C durante seis horas. Após o fechamento do abdome, um segmento de pele total do dorso do animal foi retirado e mergulhado na mesma solução de preservação que já continha o baço e os ovários. As bordas da ferida do local doador foram aproximadas com fio de náilon 4-0.

Durante seis horas, com os órgãos mantidos em solução de preservação, os ratos foram mantidos em gaiolas separadas, sem água ou ração, mas com movimentação livre. Decorrido esse período, os ratos foram novamente anestesiados, de acordo com a técnica descrita. Em seguida, retirou-se a sutura abdominal, abrindo a cavidade. Os quatro fragmentos esplênicos foram suturados lado a lado sobre o omento maior, com fio de náilon 4-0⁵. Todos os procedimentos foram realizados em condições de assepsia⁶. Ambos os ovários foram fixados com fio de náilon 4-0 na gordura pélvica direita⁷. A cavidade abdominal foi fechada em dois planos, com sutura contínua, utilizando fio de seda 3-0. Terminada a operação abdominal, abriu-se a ferida cutânea do dorso e o retalho de pele retirado da solução de preservação foi fixado sobre a fáscia muscular superficial do leito da ferida, utilizando fio de náilon 4-0⁸.

Nos três meses seguintes de acompanhamento, os cinco animais foram avaliados diariamente quanto ao seu estado de saúde. Ao final do período de cada acompanhamento, todos os ratos foram pesados e preparados para estudo funcional dos enxertos. Os animais foram novamente anestesiados de acordo com a técnica descrita.

A função fagocitária dos enxertos esplênicos autógenos foi qualitativa e quantitativamente avaliada por meio de cintilografia, utilizando como contraste o radiofármaco fitato de sódio marcado com tecnécio-99m (⁹⁹Tc^m-fitato de sódio) 90 dias após a operação. Em seguida, após a coleta de sangue e morte dos animais, foram retirados três fragmentos do lobo esquerdo do fígado e os enxertos esplênicos para medir sua radiação em um contador de radiação gama. Calculou-se a radiação emitida pelo implante esplênico em relação à média das medidas dos três fragmentos hepáticos. Essa captação representou a

quantidade de coloide fagocitada pelo tecido mononuclear fagocitário do fígado e do baço.

Foram coletadas amostras de sangue da veia cava abdominal para dosagem de hemácias, hemoglobina, hematócrito, leucócitos, IgM, IgG, FSH e estradiol. A retirada desse sangue fez com que o rato morresse por hipovolemia.

Após a coleta do sangue, foram retirados os fragmentos esplênicos do omento e ovários implantados na pelve e o enxerto de pele. O aspecto macroscópico dos tecidos foi avaliado e, a seguir, eles foram imersos em solução de formaldeído a 4% (Formol a 10%). Amostras foram recolhidas para processamento histológico e coradas por hematoxilina e eosina, para análise à microscopia óptica, por um único patologista, que desconhecia o grupo ao qual o tecido pertencia. A análise foi qualitativa para os tecidos esplênico, ovariano e cutâneo, variando os valores de 1 a 5, conforme as estruturas teciduais desses órgãos se apresentassem em comparação à estruturas morfológicas de pele, baço e ovários histologicamente normais.

Foram empregados os testes: paramétrico ANOVA, não paramétrico de Kruskal-Wallis, o teste de comparações múltiplas de Tukey, o teste de comparações múltiplas não paramétrico, o teste de homogeneidade de variância de Levene. Os tamanhos amostrais e o poder do teste foram obtidos por meio do software PASS versão 11. As diferenças foram consideradas significativas quando correspondentes a $p < 0,05$.

RESULTADOS

Os animais permaneceram saudáveis, ganhando peso durante o período pós-operatório até a sua morte no 90º dia dos implantes autógenos. Não foram percebidas alterações de comportamento.

Não houve diferença na captação do radiofármaco pelos enxertos esplênicos dos cinco grupos. As dosagens séricas de leucócitos, hemácias, hemoglobina, hematócrito, IgM e estradiol não apresentaram diferença entre os cinco grupos quanto aos parâmetros testados.

O grupo cujos tecidos foram conservados em solução de coco modificado apresentou valores mais elevados de IgG em relação ao grupo cuja preservação foi em Ringer lactato ($p=0,03$).

Os animais cujos tecidos foram conservados em solução de Ringer lactato apresentaram valores menores de FSH que o grupo com conservação em solução de Belzer, valor de $p < 0,001$. O grupo cuja conservação ocorreu em solução de coco verde mostrou valores de FSH menores que o grupo com conservação em solução de Belzer, valor de $p=0,03$. No grupo cujos tecidos foram conservados em solução de coco modificado os valores de FSH foram menores que o grupo com conservação em solução de Belzer, valor de $p=0,01$.

Os fragmentos esplênicos reduziram seu tamanho e estavam aderidos à borda hepática. Os fragmentos ovarianos localizaram-se na gordura pélvica, com tamanho reduzido.

Os implantes cutâneos evoluíram com áreas de necrose durante os primeiros sete dias. Formaram-se, em seguida, áreas de feridas granuladas e, posteriormente, cicatrizes pouco visíveis. O estudo microscópico dos implantes cutâneos não encontrou diferença entre as soluções de preservação estudadas. O estudo microscópico dos implantes esplênicos também não encontrou diferença entre as soluções de preservação estudadas.

Na análise microscópica dos tecidos ovarianos verificou-se a preservação em água de coco maduro mais eficaz do que o grupo cujos tecidos foram preservados pela água de coco modificada ($p=0,01$) e em relação ao grupo cujos tecidos foram preservados pela solução de Belzer ($p=0,007$) (Figura 1).

DISCUSSÃO

A escolha dos tecidos estudados neste trabalho deveu-se à sua facilidade de mobilização e por fazerem parte de linhas de pesquisa iniciadas em 1983⁹⁻¹².

As imagens cintilográficas registraram a captação do radiofármaco pelos implantes esplênicos com dificuldade, devido à sobreposição da imagem hepática¹³. Entretanto, as dosagens de emissão de radiação pelos fragmentos de baço implantados não deixaram dúvida de que 12 semanas tenham sido suficientes para sua recuperação funcional fagocitária^{13,14}. Não houve diferença entre os líquidos de conservação estudados em relação à avaliação da função dos implantes esplênicos pela cintilografia, que é método mais sensível para indicar captação por células esplênicas do que as análises sanguíneas¹⁴.

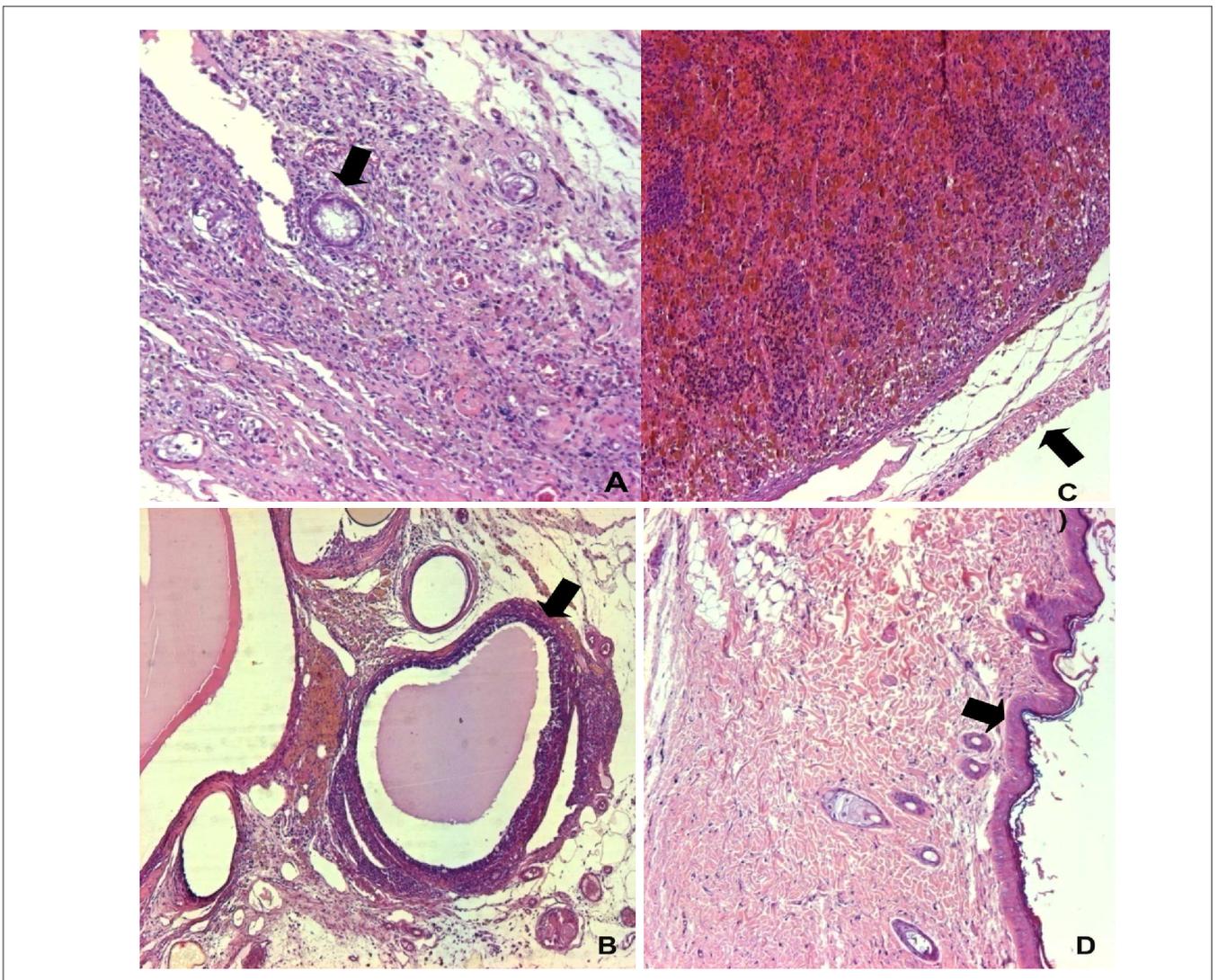


Figura 1 - Cortes histológicas dos tecidos estudados, preservados em água de coco maduro. (HE, 100x). A) Parênquima ovariano com tecido fibroso e processo inflamatório, apresentando folículo ovariano preservado (seta); B) Tecido ovariano com cistos foliculares indicando degeneração tecidual (seta); C) Tecido esplênico hemorrágico com folículos linfáticos, capilares sinusoides e cápsula esplênica íntegra (seta); D) Tecido cutâneo com epiderme (seta) e derme com folículos pilosos e tecido conjuntivo fibroso.

Os maiores níveis de IgG observados na conservação com solução de coco modificado em relação à conservação com solução de Ringer lactato pode significar melhor preservação esplênica naquela solução, talvez devido à sua composição química.

Em outros estudos, a solução de água de coco foi tão eficaz quanto à solução de *Braun-Collins* na preservação do folículo pré-antral de caprinos a 4°C e em temperaturas maiores. Por outro lado, mostrou-se eficaz na preservação de sêmen, maturação de oócito e cultura de embrião¹⁵. Neste estudo, as soluções de água de coco foram tão eficazes quanto as demais soluções na preservação dos implantes esplênico, ovariano e cutâneo. A dificuldade em evidenciar diferença entre a preservação tecidual pelas soluções em estudo pode ser devida ao curto período de preservação (seis horas), insuficiente para determinar o tempo máximo de capacidade conservadora de cada solução.

Outros autores relataram que a água de coco pode ser tão eficaz como solução salina para preservação de folículo ovariano em determinadas condições¹⁶. Essa informação justificaria a dificuldade para se evidenciar diferenças entre as soluções de preservação como Ringer lactato e Belzer. Por outro lado, esse período é suficiente na prática para o transporte dos tecidos do doador até seu implante no receptor.

O 3-indol-ácido acético (IAA), presente na água de coco, principal hormônio vegetal, pode ligar-se a fatores animais de crescimento do tecido ovariano e aumentar sua ação¹⁵. Entretanto, o presente estudo não evidenciou vantagens das soluções à base de coco na preservação dos tecidos, as quais poderiam dever-se à presença de substâncias como o IAA, exceto por melhor preservação histológica ovariana na solução de coco maduro em relação às soluções de coco modificado e de Belzer.

A solução de coco modificado possui composição eletrolítica semelhante à solução de Belzer e foi submetida a processo físico-químico de esterilização e alteração de pH, o que pode ter alterado as propriedades naturais da água de coco¹⁷, justificando preservação não adequada do tecido ovariano, assim como pela solução de Belzer. Os níveis mais elevados de FSH podem sugerir

menos eficácia da solução de Belzer para preservação da função ovariana.

Uma das propriedades principais da água de coco é atribuída à atividade antioxidante, por seu conteúdo de ácido ascórbico e glutathione³. A atividade antioxidante, necessária para as soluções de preservação¹⁸ diminui ao submeter a água de coco ao calor. A maior concentração de potássio nas soluções de Belzer e coco modificado poderia ser um fator para explicar a pior capacidade de preservação, por causa de particularidades do tecido ovariano¹⁹. Entretanto, a água de coco maduro, que possui níveis altos de potássio, foi tão eficaz quanto as demais substâncias na preservação dos implantes em estudo, com tendência a melhor preservação histológica da pele e ovários.

A ausência de glicose na solução de Belzer, presença de substratos inertes como responsáveis pela sua concentração osmótica e sua alta viscosidade²⁰ podem ter prejudicado a preservação do tecido ovariano e talvez o tecido cutâneo. Outros autores observaram que substâncias de preservação enriquecidas com nutrientes apresentaram melhor preservação de alguns tecidos, como fígado, pâncreas e intestino delgado em relação à solução de Belzer²¹.

A água de coco foi tão eficaz quanto as demais soluções na preservação dos implantes cutâneos. Alguma alteração da composição química da água de coco com seu amadurecimento, alterações de açúcares ou outros microelementos, redução da atividade enzimática, podem explicar a melhor preservação dos implantes nessa solução²².

Neste estudo observou-se que as soluções à base de água de coco foram tão eficientes como as demais soluções na preservação do baço, pele e ovário de ratos, durante seis horas. Há a necessidade de reforçar os achados deste trabalho com estudos de outros tecidos e órgãos, bem como de maior variabilidade de espécies animais. Há ainda a necessidade de estabelecer o período máximo de conservação tecidual em água de coco resfriada. As soluções de água de coco preservaram a vitalidade tecidual de baço, ovário e pele de rato durante seis horas, mantendo sua função. De acordo com a evolução dos trabalhos para busca de uma solução de preservação, este trabalho poderá gerar uma nova patente útil para o Brasil.

A B S T R A C T

Objective: To verify the effectiveness of coconut water in preserving tissues for transplant. **Methods:** Fifty male Wistar rats were randomly distributed in five groups, according to the following preservation solutions for tissue grafts: Group 1: Lactated Ringer; Group 2: Belzer solution; Group 3: mature coconut water; Group 4: green coconut water; Group 5: modified coconut water. In Group 5, the green coconut water has been modified like the Belzer solution. From each animal we harvested the spleen, ovaries and skin of the back segment. These tissues were preserved for six hours in one of the solutions. Then, the grafts were reimplanted. The recovery of the function of the implanted tissues was assessed 90 days after surgery, by splenic scintigraphy and blood exam. The implanted tissues were collected for histopathological examination. **Results:** The serum levels did not differ among groups, except for the animals in Group 5, which showed higher levels of IgG than Group 1, and differences in relation to FSH between groups 1 and 2 ($p < 0.001$), 4 and 2 ($p = 0.03$) and 5 and 2 ($p = 0.01$). The splenic scintigraphy was not different between groups. The ovarian tissue was better preserved in mature coconut water ($p < 0.007$). **Conclusion:** the coconut water-based solutions preserves spleen, ovary, and rat skin for six hours, maintaining their normal function.

Key words: Coconut, Organ preservation solutions, Autogenous transplantation, Ovary, Spleen, Skin.

REFERÊNCIAS

- Southard JH, Belzer FO. Organ preservation. *Annu Rev Med.* 1995;46:235-47.
- Todo S, Podesta L, Ueda Y, Imventarza O, Casavilla A, Oks A, et al. Comparison of UW with other solutions for liver preservation in dogs. *Clin Transplant.* 1989;3(5):253-9.
- Silva AE, Cavalcante LF, Rodrigues BA, Rodrigues JL. The influence of powdered coconut water (ACP-318®) in in vitro maturation of canine oocytes. *Reprod Domest Anim.* 2010;45(6):1042-6.
- Mühlbacher F, Langer F, Mittermayer C. Preservations solutions for transplantation. *Transplant Proc.* 1999;31(5):2069-70.
- Braga AA, Malagó R, Anacleto TP, Silva CR, Andreollo NA, Fernandes FL. Histological aspects of autologous transplantation of different fragments of the spleen in rats. *Acta Cir Bras.* 2012;27(12):880-4.
- Marques RG, Caetano CE, Diestel CF, Lima E, Portela MC, Oliveira AV, et al. Critical mass of splenic autotransplant needed for the development of phagocytic activity in rats. *Clin Exp Immunol.* 2012;170(1):77-85.
- Díaz-García C, Milenkovic M, Groth K, Dahm-Kähler P, Olausson M, Brännström M. Ovarian cortex transplantation in the baboon: comparison of four different intra-abdominal transplantation sites. *Hum Reprod.* 2011;26(12):3303-11.
- Kamran A, Javad FM, Sahram F, Jaber MS. A comparison of survival and secondary contraction in expanded versus conventional full-thickness skin grafts: an experimental study in rats. *Eplasty.* 2012;12:e20.
- Petroianu A. Esplenectomia subtotal e anastomose esplenorrenal proximal para o tratamento da hipertensão portal. *Rev bras cir.* 1983;73(2):101-4.
- Vasconcellos LS, Alberti LR, Petroianu A, Nunes MB. Viabilidade e função endócrina de auto-implantes ovarianos com drenagem pela veia porta ou cava. *Reprod clim.* 2001;16(4):259-63.
- Petroianu A, Alberti LR, Vasconcellos LS. Allogeneic and autologous ovarian orthotopic transplantation without a vascular pedicle: morphological, endocrinologic and natural pregnancy assessment. *J Obstet Gynaecol Res.* 2007;33(1):24-31.
- Alberti LR, Vasconcellos LS, Petroianu A. Avaliação endócrina e morfológica de transplante autólogo de ovários íntegros e fatiados em coelhas. *Rev bras anal clin.* 2007;39(1):63-6.
- Sajtos E, Balint A, Brath E, Nemeth N, Peto K, Kovacs J, Galuska L, et al. Long-term following-up of viability of spleen autotransplants in the Beagle canine model. *Acta Cir Bras.* 2012;27(2):95-101.
- Di Carlo I, Pulvirenti E, Toro A. A new technique for spleen autotransplantation. *Surg Innov.* 2012;19(2):156-61.
- Lima GL, Costa LL, Cavalcanti DM, Rodrigues CM, Freire FA, Fontenele-Neto JD, et al. Short-term storage of canine preantral ovarian follicles using a powdered coconut water (ACP)-based medium. *Theriogenology.* 2010;74(1):146-52.
- Costa SHF, Santos RR, Ferreira MAL, Machado VP, Rodrigues APR, Ohashi OM, et al. Preservation of goat preantral follicles in saline or coconut water solution. *Bras J vet Res anim Sci.* 2002;39(6):324-30.
- Awua AK, Doe ED, Agyare R. Exploring the influence of sterilisation and storage on some physicochemical properties of coconut (Cocos nucifera L.) water. *BMC Res Notes.* 2011;4:451.
- Dolińska B, Ostróžka-Ciećlik A, Caban A, Rimantas K, Leszczyńska L, Ryszka F. Influence of trace elements on stabilization of aqueous solutions of ascorbic acid. *Biol Trace Elem Res.* 2012;150(1-3):509-12.
- Arnautakis GJ, Allen JG, Merlo CA, Baumgartner WA, Conte JV, Shah AS. Low potassium dextran is superior to University of Wisconsin solution in high-risk lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant.* 2010;29(12):1380-7.
- Guibert EE, Petrenko AY, Balaban CL, Somov AY, Rodriguez JV, Fuller BJ. Organ preservation: current concepts and new strategies for the next decade. *Transfus Med Hemother.* 2011;38(2):125-42.
- Kimura Y, Okitsu T, Xibao L, Teramae H, Okonogi A, Toyoda K, et al. Improved hypothermic short-term storage of isolated mouse islets by adding serum to preservation solutions. *Islets.* 2013;5(1):45-52.
- Vigliar R, Sdepanian VL, Fagundes-Neto U. Perfil bioquímico da água de coco de coqueiros de região não litorânea. *J Pediatr.* 2006;82(4):308-12.

Recebido em 10/02/2014

Aceito para publicação em 25/04/2014

Conflito de interesse: nenhum.

Fonte de financiamento: nenhuma.

Endereço para correspondência:

Andy Petroianu

E-mail: petroian@medicina.ufmg.br