

Biocompatibilidade e mecanismos de angiogênese de implantes cutâneos de membrana de látex (*Hevea brasiliensis*) em bovinos e equinos (resultados parciais).

Marina ZIMMERMANN; Eugênio Gonçalves de ARAÚJO; Fernanda Figueiredo MENDES; Danilo Ferreira RODRIGUES

**Universidade Federal de Goiás – UFG. Escola de Veterinária e Zootecnia.
www.vet.ufg.br**

Palavras-chave: implante, látex, equino, bovino.

Introdução

O látex natural é a seiva retirada da seringueira (*Hevea brasiliensis*) que as tribos indígenas da Amazônia utilizavam em seu estado original, de forma empírica, para curar feridas de pele. Pesquisadores observaram que ele é um cicatrizante, uma defesa natural da planta. A principal propriedade atribuída ao látex, quando utilizado em implantes e curativos, é a de promover angiogênese na fase de proliferação e reparo, promovendo assim, a cicatrização mais rápida de tecidos lesados (MRUÉ, 2000; ZIMMERMANN, 2007). Os componentes do látex responsáveis por seu efeito cicatrizante e angiogênico foram descritos por Mendonça (2004) que demonstrou ser uma proteína presente no látex da seringueira a biomolécula responsável pela atividade indutora da regeneração tecidual.

Desde 1975 ELMO et al. descreveu como deve ser um implante ideal: ser de baixo custo de produção, ser de fácil manipulação, promover o crescimento dos tecidos do hospedeiro, permitir que o tecido cicatricial tenha força igual ao tecido normal, ser resistente às infecções, não elucida resposta inflamatória exacerbada, não promover a formação de aderências e fístulas e não ter suas características físicas alteradas pelos líquidos tissulares. Deve ainda, ser flexível, inerte, poroso e resistente. Devido a essas características agrupadas, não existe ainda um substituto ideal; motivando novas pesquisas por um implante que reúna a maioria, se não todas, as características descritas.

O implante com membrana de látex natural pode se constituir em uma alternativa com vantagens sobre a técnica de enxerto autólogo, por não necessitar de sítio doador, também vantajoso se comparado aos enxertos homólogos por não oferecer risco de transmissão de doenças infecciosas. Além do baixo custo, não necessita de meio conservante além de ser de fácil manuseio, adequando-se e favorecendo as necessidades da clínica cirúrgica na atualidade. Essa nova membrana pode ser uma solução prática, barata e eficaz para ser utilizada como implante em equinos e bovinos, pois em muitos casos, o custo, principalmente em animais de produção, o tempo, para o restabelecimento completo do animal e a eficiência, determina a realização e sucesso do tratamento.

Material e métodos

Foram utilizados seis equinos e seis bovinos da raça nelore, provenientes do plantel da escola de medicina veterinária – UFG, fêmeas e machos, com idades semelhantes. A anestesia e o procedimento cirúrgico foi realizada com a contenção do animal, sedação com detomidina (0,02mg/kg/IV) nos equinos e xilazina (0,05 mg/kg/IM) nos bovinos, além de bloqueio anestésico local com lidocaína sem vaso constritor. O procedimento cirúrgico foi realizado no dorso, nos dois antímeros, com colocação de três membranas de látex do lado esquerdo e realizadas três incisões do lado direito para controle. Foi feita incisão de pele e subcutâneo, fixação do segmento do implante e posterior dermorrafia com fio mononylon 2-0 em padrão simples interrompido. Foi realizada profilaxia antimicrobiana com Penicilina G Benzatina (40.000 UI/kg/IM) e administrado dipirona (25mg/kg/IM), além de curativo local.

Para comprovação dos mecanismos de angiogênese foram realizadas 4 tipos de análises. A primeira foi a análise macroscópica das lesões, para tal foi confeccionada uma tabela em que o grau de protuberância do local era avaliado por três participantes do grupo, sem contato entre eles no momento da verificação. Foi estipulado uma escala de 0 a 4 em que 0 era ausência de protuberância (saliência) na região afetada e 4 o grau máximo de protuberância. Foram realizadas análises nos dias 15, 30 e 45, coincidindo com a retirada da biopsia.

A análise qualitativa por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi feita com as biopsias conservadas em fixador karnovsky por 24 horas e armazenadas em

solução tampão cacodilato. Após esse procedimento, as amostras foram processadas conforme protocolo do Laboratório de Biologia Molecular da UnB em Brasília, passando por lavagem, solução de ósmio, desidratação e secagem ao ponto crítico, para posterior metalização em placa de ouro e finalmente sua visualização no microscópio eletrônico de varredura.

A histologia, com coloração de H&E e a imunistoquímica com três anticorpos primários: VEGF, cyr-61 ou Macrophage Marker; até o presente momento não foram concluídas.

Resultados e discussão

Na análise macroscópica dos equinos, no 15º dia após implantação da membrana de látex não havia nenhuma protuberância no dorso do lado esquerdo, em que foram feitas as incisões para controle. Do lado direito, onde foram inseridos os implantes de látex, também não foi verificada nenhuma alteração. Os implantes podiam ser identificados ao toque, no local, entretanto, não foi notado nenhum edema, secreção ou abscesso. Apenas um animal manifestou dor quando tocado na lesão, mas este indivíduo possuía um comportamento agressivo e arreadio, sendo difícil discernir entre dor ou desconforto pela contenção. No dia 30, um animal apresentou protuberância de grau 2, que foi causada pela dobra do implante no subcutâneo, no momento de sua colocação. Outro equino apresentou dor do lado direito, na segunda membrana sentido crânio-caudal, mas sem secreção ou abscesso. No último dia de colheita das biopsias, passados 45 de experimento, nenhum equino apresentou alterações no local das feridas experimentais, com ou sem implante, apenas um animal apresentava deiscência de ferida, devido a contaminação, em uma ferida em que o implante já havia sido retirado, sem causar interferência nos resultados do experimento.

Os bovinos quando analisados, demonstraram comportamento diferente frente à presença dos implantes. No dia 15, nenhum animal apresentou protuberância do lado esquerdo (controle), entretanto do lado direito, com os implantes de látex, houve protuberância em todos os animais, variando de acordo com a escala de 1 a 4 predeterminada. No dorso direito, local de implantação da membrana 1, sentido crânio-caudal, um animal obteve grau máximo de saliência, com formação de abscesso, edema, dor e secreção purulenta. As demais

membranas colocadas nesse animal não sofreram alteração significativa. No dia 30, as reações foram menos exacerbadas, a membrana nº 1 já havia sido removida e a escala máxima de saliência ficou em 2 em apenas 2 animais. No 45º dia após implantação das membranas, um animal apresentou grau de protuberância 3, sendo que nas verificações anteriores esse local nunca passou do escore 1, foi possível verificar a presença de pus, edema, dor, e a abertura dos pontos de sutura no local.

Macroscopicamente, o tecido formado envolvendo o implante de látex é mais denso e exuberante nos bovinos, a reação inflamatória e infecciosa apresentada nesses animais deve-se a localização dos implantes, o primeiro possibilitava a lambertura excessiva da região pelos bovinos, seguidos do 2º e 3º com maior dificuldade.

Sem dúvida a resposta inflamatória dos equinos é diferente dos bovinos frente à presença dos implantes de látex. Evidenciou-se macroscopicamente maior rejeição da espécie bovina que equina, embora em nenhuma delas houvesse expulsão da membrana. Em ambas espécies não houve aderência; uma característica desejável em um implante. Em estudos conduzidos por MRUÉ (2000) em que uma parte do esôfago de cães foi substituído por prótese de látex, chamou atenção a ausência de aderência, sendo o implante eliminado nas fezes dos cães após dez dias, com formação de tecido no local da lesão. A aderência é localizada no local da sutura, em que o fio utilizado para confecção desta e o sangue do ferimento tecidual provocam as aderências, como ocorrido no pericárdio de cães (SADER, 2000) e no diafragma de cães (ZIMMERMANN et al, 2008).

Implantes de látex já foram utilizados em bovinos leiteiros portadores de hérnias umbilicais recidivantes, o que garantiu um bom nível de segurança e auxiliou de forma permanente na correção desta afecção (RABELO et al. 2005), entretanto não há relatos da utilização deste material em equinos.

A MEV observou a superfície do implante de látex após serem retirados dos animais, bem como o tecido justaposto a ela, os resultados evidenciaram uma matriz amorfa sobre o implante aos 15 dias, um tecido conjuntivo com fibras colágenas desorganizadas aos 30 e um tecido formado com colágeno maduro aos 45 dias. Resultado semelhante ao encontrado por Mrué et al.(2004) em que apenas 12 horas após a implantação foram visualizadas substancia amorfa sobra a membrana de

látex implantada em cães e ratos. No presente estudo foi possível visualizar fibroblastos, hemácias e um vaso sanguíneo sobre a superfície do tecido em contato com o implante de látex, favorecendo a idéia da reparação tecidual mais rápida com neovascularização da área afetada.

Conclusões

Macroscopicamente os equinos responderam melhor que os bovinos frente ao implante de látex, com menor rejeição e menor resposta inflamatória. Nenhuma das duas espécies apresentou aderência do implante ao tecido. Houve formação de tecido de reparação já aos 15 dias, que se intensificou aos 30 e 45 dias, mesmo nos bovinos com maior reação tecidual à membrana. São necessárias as análises microscópicas para conclusões definitivas quanto à utilização dos implantes.

Referências Bibliográficas

ELMO, J. et al. The use of mersilene mesh in repair of abdominal wall hernias. **Ann Surg**, v. 181, n.5, p.728-733, 1975.

MENDONÇA, R.J. **Caracterização biológica de uma fração angiogênica do látex natural da seringueira *Hevea brasiliensis***. 2004. 47 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2004.

MRUÉ, F. et al. Evaluation of the biocompatibility of a new biomembrane. **Materials research**, v. 7, n.2, p.277-283, 2004.

MRUÉ, F. **Neoformação tecidual induzida por biomembrana de látex natural com polilisina**. Aplicabilidade em neoformação esofágica e da parede abdominal. Estudo experimental em cães. 2000. 112f. Tese (Doutorado em Medicina) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

RABELO, E.R. et al. Emprego do compósito látex, polimida e polilisina a 01% na correção cirúrgica de hérnias umbilicais recidivantes em bovinos leiteros. **Acta Scientiae**, v.33, n.2, p.169–175, 2005.

SADER, S.L. et al. Substituição parcial do pericárdio de cães por membrana de látex natural. **Revista Brasileira Cirurgia Cardiovascular**, v.15, p.338–344, 2000

ZIMMERMANN, M. et al. Teste de biocompatibilidade e resistência de membranas de látex em cães. **Ciência Rural**, v.37, n.6, p.1719-1723, 2007.

ZIMMERMANN, M. et al. Membranas de látex natural na herniorrafia diafragmática experimental em cães. **ABMVZ**, v.60, n.6, p.1476-1483, 2008.