

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**A MEMBRANA DE LÁTEX COMO IMPLANTE PARA
CORREÇÃO DE DEFEITOS MUSCULARES EM CÃES
E COELHOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Marina Zimmermann

Santa Maria, RS, Brasil

2007

**A MEMBRANA DE LÁTEX COMO IMPLANTE PARA
CORREÇÃO DE DEFEITOS MUSCULARES EM CÃES E
COELHOS**

por

Marina Zimmermann

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Cirurgia Veterinária, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária.**

Orientador: Prof. Alceu Gaspar Raiser

Santa Maria, RS, Brasil

2007

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**A MEMBRANA DE LÁTEX COMO IMPLANTE PARA CORREÇÃO DE
DEFEITOS MUSCULARES EM CÃES E COELHOS**

elaborada por
Marina Zimmermann

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Medicina Veterinária

COMISSÃO EXAMINADORA:

Alceu Gaspar Raiser, Dr.
(Presidente/Orientador)

Ewerton Nunes Moraes, Dr. (UFSM)

Dominguita Lühers Graça, PhD. (UFSM)

Santa Maria, 17 de janeiro de 2007.

DEDICATÓRIA

Visualizar um sonho e acreditar que é possível alcançá-lo mesmo que distante, não temer o futuro e sim criá-lo, sorrir com vontade de chorar e chorar de tanto rir, lutar com ética e respeito por ideais, superar limites fisiológicos, alimentar-se de emoção... Essa vitória eu dedico à Neusa de Castro Zimmermann e Jörg Zimmermann. Obrigada pelo amor incondicional. Que a vida continue, pois vocês, meus pais, já me ensinaram que caminho seguir.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Orientador Dr. Alceu Gaspar Raiser, por todo conhecimento e disponibilidade de transmiti-lo possibilitando meu crescimento profissional e pessoal. Pela confiança e amizade que demonstrou.

Ao professor Dr. Ney Luis Pippi, por ter me estimulado a pesquisar este tema, demonstrando interesse e contribuindo com discussões relevantes, além dos seus conselhos e amizade.

A Professora Dra. Dominguita Lühers Graça, pela análise histopatológica, necropsias e discussões relevantes realizadas durante os três experimentos. Por sua energia positiva e contagiante.

A Professora Dra. Sônia Terezinha dos Anjos Lopes, pelas análises laboratoriais, pelo ombro amigo e o enorme coração que sempre me ajudou profissionalmente e pessoalmente.

Ao Professor Dr. Adriano Carregaro pelas análises estatísticas, procedimentos anestésicos e discussões relevantes dos experimentos. Pela amizade, compreensão e atenção.

A Professora Dra. Carmem L. Godoy, pelo estudo radiográfico e ultra-sonográfico. Pelo carinho e amizade.

Ao Professor e amigo Flávio Silveira por todos os conhecimentos e pelo carinho.

Ao Laboratório de Cirurgia Experimental – LACE, pelas instalações e equipamentos que possibilitaram a realização deste experimento.

Ao Laboratório de Materiais de Construção Civil, LMCC-UFSM principalmente ao Sr. Paulo Obregon, Mauro Santos e Ricardo J. R. Silveira, por contribuir nas discussões do tema e executarem os testes de resistência, pela simpatia e amizade.

Ao Laboratório de Tecnologia Química – Universidade de Brasília, principalmente ao Professor Floriano Pastore Junior, Marcelo Soares da Silva e Renato Lindinger, pelo interesse no tema, contribuindo de maneira relevante na confecção das membranas e pela qualidade e disponibilidade de discussões técnicas, além do carinho e amizade que sempre encontrei.

Ao Biotério Central da UFSM, principalmente ao Médico Veterinário Silvandro Noal, pela cedência dos animais, bem como o alojamento e tratamento deste em parte do experimento. Pela disponibilidade e cordialidade.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq. Pelo apoio à pesquisa e pela bolsa cedida.

A toda equipe deste experimento, Fabrício V.A. Braga, Eduardo B. Santos Junior, Anna Laetícia T. Barbosa, Fernando Silvério da Cruz, Rafael Lukarsewsk, Renata P.B. Steffen e Deisi Novosad. Pelo excelente trabalho realizado, pela dedicação e competência.

Aos amigos e amigas da Pós-graduação, por absolutamente tudo...

As minhas amigas, Domitila Ribeiro, Tatiana Erhardt, Thamara dos Santos, Vanessa Corbucci e Rebeca Bianchi, Fabiana Soares, pelo apoio emocional e carinho sempre.

Aos amigos Marco Montoya, Linda e Junior por todo apoio profissional e pessoal, amizade e carinho.

A minha família, Neusa, Jörg, Andrea, Fábio, Tininha, Fábio França, Marcelo, Noemia, Júlio, Margot, que mesmo longe, sempre estiveram em meu coração. Por me doarem tanto amor, confiança e alegria.

Aos animais que são a minha alegria e verdadeira fonte de inspiração, agradeço a todas as lambidas e abanos, das doze cadelinhas que fizeram parte desse trabalho e aos que se foram por ele, meus sentimentos e profunda admiração.

“... Então; vamos fazer o que é certo.
Dedicar o melhor de nossos esforços
para atingir o inatingível.
Desenvolver ao máximo os dons
que Deus nos concedeu,
E nunca, nunca parar de aprender...”

(Ludwing Beethoven)

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria

A MEMBRANA DE LÁTEX COMO IMPLANTE PARA CORREÇÃO DE DEFEITOS MUSCULARES EM CÃES E COELHOS

AUTORA: MARINA ZIMMERMANN

ORIENTADOR: ALCEU GASPAR RAISER

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 17 de janeiro de 2007.

Esta dissertação apresenta um modelo de implante à base de látex natural para a substituição parcial de diafragma canino. Este poderá ser utilizado em casos de hérnias diafragmáticas, ou situações em que haja perda da integridade do diafragma, impossibilitando sua reconstituição. Para tal, foram testadas sete diferentes membranas, das quais seis foram produzidas experimentalmente e um modelo comercial em uso no mercado, para diferentes fins. Foram realizados testes de resistência para verificar a deformação e elasticidade das membranas. A biocompatibilidade foi avaliada primeiramente em coelhos, nos quais as membranas foram fixadas através de procedimento cirúrgico na bainha do músculo oblíquo externo do abdome e avaliadas quanto a reações de hipersensibilidade e rejeição. Os resultados contra-indicam o uso destas em coelhos. Novos testes foram realizados em cães. As membranas foram reagrupadas e três delas testadas de maneira semelhante, no músculo reto do abdome verificando-se biocompatibilidade com essa espécie. Foram selecionadas duas membranas para a utilização no diafragma canino, sendo testadas frente a um grupo controle, sem membrana. Foi criado um defeito retangular no músculo diafragma, com 4 cm de comprimento e 3 cm de largura, que no grupo 1 e 2 foi substituído pelo implante de membrana de látex correspondente. A avaliação foi feita através de análise do hemograma, por estudo radiográfico, por vídeocirurgia e estudo histopatológico. Pode-se inferir dos resultados que a membrana constituída de: látex natural, mistura vulcanizante e ácido fórmico, foi eficiente na correção do defeito no diafragma canino, promovendo a reparação tecidual e neovascularização local, capaz de manter a função do diafragma e movimentos respiratórios sem causar rejeição durante o período de avaliação.

Palavras-chave: membrana de látex; biocompatibilidade; diafragma; coelhos; cães.

ABSTRACT**LATEX MEMBRANE USED LIKE IMPLANT TO CORRECT
MUSCLES DEFECTS IN DOGS AND RABBITS**

AUTHOR: MARINA ZIMMERMANN

ADVISER: ALCEU GASPAR RAISER

Dates and Place of the Defense: Saint Mary January, 17, 2007.

This dissertation presents an implant model of natural latex to be used on partial canine diaphragm replacement. The implant could be used in cases of diaphragmatic hernias, or significant loss of the diaphragm integrity disabling its reconstitution. For such, seven different membranes had been tested, six of them had been produced experimentally and one is a commercial model in use, for several applications. Firstly, the biocompatibility was evaluated in rabbits. Membranes were implanted between the cutaneous and the oblique abdominal sternum muscles by the means of a surgical procedure and the reactions of hypersensitivity and rejection were evaluated. Mechanical traction tests were performed in control membranes to measure deformation and resistance. Results pointed that the membranes are incompatible, and not able to substitute muscular sheath in rabbits. New tests were made in dogs. The membranes were regrouped and three of them were tested in a similar way, in abdomen straight muscle. Two membranes were selected, for use in the canine diaphragm, and being tested in front a control group, without membrane. A rectangular defect (4 cm in length and 3 cm in width) was created in the diaphragm muscle, which was substituted, in groups 1 and 2, by the implantation of the corresponding latex membrane. The animals were evaluated radiographically, by blood count, video-surgery, and histopathology study. The results showed that the membrane made of natural latex, vulcanizants mixture and formic acid, were efficient in the correction of the diaphragm defect, promoting repair and local neovascularization, capable to keep the respiratory function and movements of the diaphragm without causing rejection during the evaluated period.

Key words: latex membrane; biocompatibility; diaphragm; rabbits; dogs.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 DESENVOLVIMENTO.....	2
2.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.2 ARTIGOS CIENTÍFICOS.....	7
2.2.1 TESTE DE BIOCOMPATIBILIDADE E RESISTÊNCIA DE MEMBRANAS DE LÁTEX EM COELHOS.....	7
2.2.2 TESTE DE BIOCOMPATIBILIDADE E RESISTÊNCIA DE MEMBRANAS DE LÁTEX EM CÃES.....	16
2.2.3 - MEMBRANAS DE LÁTEX NATURAL NA SUBSTITUIÇÃO PARCIAL DE DIAFRAGMA EM CÃES COM AVALIAÇÃO VIDEOCIRÚRGICA.....	26
2.3 DISCUSSÃO.....	39
3 CONCLUSÕES.....	41
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

1 INTRODUÇÃO

O processo de reparação tecidual compreende quatro fases: inflamação, desbridamento, proliferação e reparo, e maturação. A inflamação inicia no momento em que ocorre a perda de integridade tecidual, com a formação de coágulo estabilizando as bordas da ferida, seguida pela liberação de enzimas e fatores quimiotáticos. A migração de células inflamatórias e o desbridamento ocorrem quando se forma um exudato composto de leucócitos, tecidos mortos e fluidos do ferimento com a participação de neutrófilos, monócitos, plaquetas e linfócitos. Isso auxilia na remoção de tecidos necróticos, coágulos e do corpo estranho.

A fase de proliferação e reparo é caracterizada pelo aumento de fibroblastos que migram para o interior do ferimento para sintetizar e depositar colágeno, elastina, e proteoglicanos. À medida que o teor de colágeno dos tecidos aumenta, a fibrina desaparece e o número de fibroblastos e a velocidade de síntese diminuem, marcando o final da fase de reparação (RAISER, 2000; FOSSUM, 2002). A necessidade de oxigênio para movimentação, migração celular e síntese protéica é responsável pelo brotamento e crescimento neovascular da periferia para o centro da ferida que geralmente é hipóxica (RAISER, 2000). A angiogênese está presente em todo o processo de reparação, independente do tecido acometido pela injúria. É reconhecido como um fenômeno de grande importância para a reparação dos tecidos. Os fatores que estimulam a angiogênese durante o processo de reparação não são, ainda, totalmente conhecidos. Os principais envolvidos são fatores de crescimento de células endoteliais e alguns fatores quimiotáticos (MRUÉ, 2000).

A última fase, chamada de maturação, caracteriza-se pelo incremento total de colágeno, seu remodelamento e orientação ao longo das linhas de tensão. As colagenases atuam na dissolução do colágeno de fibras desorientadas, havendo diminuição do colágeno tipo III e aumento do colágeno tipo I. O número de capilares diminui no tecido fibroso, formando cicatrizes pálidas e menos celulares (RAISER, 2000; FOSSUM, 2002).

O látex, seiva da seringueira (*hevea brasiliensis*), possui uma proteína, ainda em fase de ser isolada, que, pela propriedade da quimiotaxia, é capaz de promover neovascularização e com isso, acelerar a reparação do tecido quando em contato com este. O incremento da angiogênese na fase de proliferação e reparação é o que representa vantagens para a utilização desse material como implante. Muito está sendo pesquisado a respeito das propriedades

medicinais do látex e das formas de sua utilização, tanto na rotina hospitalar como em forma de curativos tópicos à disposição do paciente. O Biocure®, chamado de membrana natural para cicatrização, está sendo comercializado para tratamento de ferimentos cutâneos, como úlceras crônicas diabéticas, escaras de decúbito ou ferimentos em geral de difícil cicatrização. Tem sua fórmula patenteada, e é produzido pela Pele Nova Biotecnologia S.A.(PELE NOVA, 1998).

A confecção de um implante requer conhecimentos químicos específicos a respeito dos constituintes da fórmula. Vários materiais podem ser agregados a fim de se ter uma membrana de látex. Alguns conferem maior resistência, enquanto outros maior elasticidade. Outros compostos são quimicamente instáveis, o que pode favorecer hipersensibilidade e rejeição. Foram confeccionadas no Laboratório de Tecnologia Química – LATEQ, da Universidade de Brasília, seis membranas de látex com diferentes componentes e quantidades para serem testados com relação à biocompatibilidade e resistência enquanto implantes, nos estudos apresentados nesta dissertação.

O objetivo do primeiro experimento foi verificar reações de hipersensibilidade e rejeição em coelhos e selecionar uma ou mais membranas para serem utilizadas como implante em diafragma. Optou-se em utilizar coelhos, por serem unidades experimentais de fácil tratamento e menor custo, pretendendo-se extrapolar os resultados para outras espécies.

Os objetivos do segundo experimento foram os mesmos do primeiro, ou seja, verificar qual membrana de látex tem maior afinidade com o receptor (cão), selecionando-a para uso em diafragma, embora o mais importante fosse confirmar ou não em cães, os resultados dos testes de biocompatibilidade encontrados nos coelhos.

No terceiro experimento objetivou-se verificar se os implantes com membrana de látex natural, selecionados anteriormente, poderiam ser usados na substituição parcial de diafragma em cães. Investigou-se também se resultaria na incorporação orgânica deste material bem como na regeneração e neovascularização do tecido. Em caso de rejeição, avaliar a resposta do animal e, na condição final, qual o padrão respiratório apresentado.

Implantes são alternativas para muitos pacientes que sofrem graves injúrias e que, na maioria das vezes, necessitam de tratamentos urgentes. O implante com membrana de látex natural pode se constituir em uma nova 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 e é de fácil manuseio, adequando-se e favorecendo as necessidades da clínica cirúrgica na atualidade.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão Bibliográfica

Como toda grande descoberta, o primeiro estudo conhecido que utilizou o látex para fins medicinais, aconteceu por acaso, quando uma pesquisadora da Universidade de Ribeirão Preto ao tentar reproduzir um modelo de prótese esofágica já conhecida, substituiu certo constituinte por látex natural. Para surpresa da equipe, os resultados foram favoráveis e estimularam as pesquisas que até hoje continuam. Esse estudo, conduzido por MRUÉ (1996/2000) propôs a substituição de um segmento de 4 a 6 cm do esôfago cervical em cães, por prótese à base de látex natural, com diferentes tempos de permanência. Os resultados evidenciaram neoformação tecidual com evidente neovascularização, o que motivou novas pesquisas com a substituição de esôfago cervical em sua circunferência total e ressecções extensas da parede abdominal. O resultado foi neoformação de todos os elementos das camadas esofágicas e a granulação completa das feridas do abdome, em uma extensão de 10x10 cm, num período de 10 dias.

Outro importante estudo testou a membrana de látex natural para o desenvolvimento de um dispositivo para transplante celular encapsulado. Foi construído um protótipo de dispositivo para macroencapsulamento de ilhotas pancreáticas, que foi implantado no tecido subcutâneo de ratos para avaliação da taxa de captação de glicose e aminoácidos, por meio de microdiálise “in vivo”. Não houve rejeição e o dispositivo foi envolto por tecido fibroso com intensa formação vascular, que permaneceu constante ao longo do tempo. A membrana permitiu a difusão de glicose, aminoácidos e albumina, nutrientes importantes para a sobrevivência de células encapsuladas, mas impediu a penetração de células do sistema imune, sugerindo que o dispositivo apresenta potencial para ser utilizado como suporte para o implante de células isoladas (MENTE, 2003).

O tratamento de úlceras de perna em pacientes humanos com a biomembrana de látex, conduz à organização do tecido cicatricial conseqüente à maior produção de fatores de crescimento celular, tornando-se uma boa opção terapêutica para esse tipo de úlcera, devido à

facilidade de aplicação, baixo custo e alta potencialidade na indução da cicatrização (FRADE, 2003).

Em cirurgias cardíacas de pacientes humanos, não se discute mais a necessidade de pericardioplastia, pois o pericárdio aberto, não permite discriminar o sangramento intra e extra pericárdico e propicia a formação de aderências entre o esterno e o ventrículo direito em esternotomias, reduzindo a fração de ejeção, aumentando também os riscos em reoperações. Um estudo realizado com membrana de látex, como substituto parcial de pericárdio em cães, demonstrou ser eficiente em observação até 345 dias, período em que não ocorreu infecção local, nem alterações sensíveis no leucograma e eletrocardiograma. A membrana não se aderiu ao pulmão nem ao epicárdio, salvo nas linhas de sutura, onde se incorporou ao epicárdio nativo. Houve, em 50% dos animais, regeneração completa do pericárdio subjacente à membrana de látex. Essa propriedade indutora de regeneração tecidual não foi observada por essa autora em nenhum outro material inabsorvível (SADER, 2000).

Em estudo conduzido por OLIVEIRA et al. (2003), duzentos e trinta e oito pacientes com perfuração crônica da membrana timpânica e história clínica de otite média crônica, foram submetidos à técnica de miringoplastia com utilização de enxerto livre de fásia do músculo temporal, mais a membrana de látex natural, externamente apoiada nas bordas remanescentes da membrana timpânica e em contato com a fásia temporal. Passados trinta dias, os pacientes foram examinados e foi removida a membrana de látex. Os resultados mostraram biocompatibilidade entre a membrana de látex e o tecido da membrana timpânica humana, ausência de toxicidade e de reações alérgicas. Esse autor atribui, à intensa revascularização da membrana remanescente, a causa do fechamento da perfuração timpânica.

As propriedades do látex igualmente foram estudadas e comprovadas em estudo de regeneração da conjuntiva ocular em coelhos, favorecendo a cicatrização conjuntival comprovada por experimento conduzido por PINHO et al. (2004).

Hérnias constituem um problema na clínica cirúrgica, tanto de pequenos quanto de grandes animais. Muitos materiais sintéticos e biológicos têm sido estudados para a correção destas afecções. A membrana de látex natural ganhou espaço também nesta área, e já foi utilizada na hernioplastia umbilical. Estudo realizado por RABELO et al (2005), em que 12 bovinos leiteiros portadores de hérnias umbilicais recidivantes, cujo anel herniário media de 10x7cm no mínimo, foram tratados utilizando a membrana de látex como implante, o que garantiu um bom nível de segurança e auxiliou de forma permanente na correção desta afecção. Quando comparada à correção de hérnia perineal em um cão, a membrana de látex utilizada demonstrou um comportamento diferenciado, sendo eliminada aos 5 meses de pós-

operatório, mas permitindo a oclusão da hérnia com formação de tecido de granulação e regeneração dos tecidos nativos. SOUSA (2005) realizou pesquisas com quatro diferentes tipos de membranas de látex estruturalmente diferentes, colocadas pré-peritonealmente por inguinoplastia videolaparoscópica em cães. Observando-os por 28 dias de pós-operatório, verificou-se que ocorreu tortuosidade das membranas, a estrutura física não permitiu mantê-las esticadas, resultando no encistamento total, exceto em um tipo de membrana que se incorporou parcialmente. O estudo concluiu pela não recomendação da utilização de nenhum modelo testado, para reforço da região inguinal.

A utilização de implantes pode ser uma alternativa na correção cirúrgica de hérnias diafragmáticas, principalmente as crônicas. Em casos nos quais há necessidade de estabilizar o paciente, podem ocorrer aderências, fibroses e retração do tecido. A correção cirúrgica pode ser dificultada se houver perda tecidual, sendo necessário o uso de enxertos ou implantes. Relatos a respeito da utilização da membrana de látex na correção de hérnias diafragmáticas não foram encontrados em literatura.

2.2 – Artigos Científicos

Os artigos científicos contemplados nesta dissertação tratam dos testes validados pela autora com as novas membranas de látex produzidas no LATEQ - UnB.

2.2.1 – Teste de biocompatibilidade e resistência de membranas de látex em coelhos.

Biocompatibility and resistance test of latex membranes in rabbits.

Artigo Submetido à revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.

RESUMO

O látex natural foi descoberto por pesquisadores por ser um cicatrizante natural da seringueira; a partir daí, estudos vêm sendo desenvolvidos para comprovar as características indutoras de neovascularização e reparação tecidual que foram atribuídas a esse material. Este estudo testou a biocompatibilidade e resistência de sete membranas de látex em doze coelhos da raça Nova Zelândia, sendo seis dessas membranas ainda não utilizadas e uma já testada em estudos prévios. Os implantes foram colocados entre os músculos cutâneo e oblíquo externo do abdome por meio de procedimento cirúrgico e, após quinze dias, foram removidos e submetidos a exames histológicos. Durante este período, os animais foram avaliados quanto a alterações clínicas e macroscópicas nas membranas. Testes mecânicos de tração para determinação de deformação e resistência foram efetuados em amostras controle. Pelos resultados obtidos concluiu-se que as membranas não são compatíveis para substituir a bainha muscular em coelhos.

Palavras-chave: membrana de látex, coelho, biocompatibilidade.

ABSTRACT

The natural latex was discovered by researcher for the healing properties of the Rubber Tree. Studies have been developed to prove the inducing characteristics of tissue vascularization and repair that had been attributed to this material. This study tested the biocompatibility of seven latex membranes in twelve New Zealand rabbits. Six of these membranes have not yet been used while one of them has been tested in several previous studies. Membranes were implanted between the cutaneous and the oblique abdominal sternum muscles by the means of a surgical procedure. In a fifteen days period the animals were evaluated in order to verify clinical and macroscopic alterations of the membranes and, after them were removed and submitted to histological evaluation. Mechanical traction tests were realized in control membranes to measure deformation and resistance. The results

showed that the membranes are incompatible, and not able to substitute the muscular sheath in rabbits.

Key words: latex membranes, rabbits, biocompatibilities.

INTRODUÇÃO

O látex natural é a seiva retirada da seringueira (*Hevea brasiliensis*) que tribos indígenas da Amazônia utilizavam em seu estado natural, de forma empírica, para curar feridas de pele. Pesquisadores observaram que ele é um cicatrizante, uma defesa natural da planta. Próteses desse material foram desenvolvidas na Universidade de São Paulo e a membrana de látex natural foi utilizada com sucesso na reconstrução do esôfago (MRUÉ, 1996), da parede abdominal (MRUÉ, 2000) e do pericárdio de cães (SADER, 2000). A sua biocompatibilidade e favorecimento da reparação tecidual foram constatados em cães e ratos e, no homem, ela já está sendo testada como material indutor de formação tecidual, em pacientes com úlceras crônicas de membros inferiores e nas miringoplastia (PINHO, 2003).

Trabalho recente (PAULO et al., 2005a) utilizou a biomembrana de látex com polilisina a 0,1% na herniorrafia perineal em um cão, permitindo a oclusão do anel herniário, com formação de tecido de granulação após o qual a membrana foi retirada.

RABELO et al. (2004) empregaram esta membrana em hernioplastias umbilicais recidivantes e constataram que ela foi eficaz em doze bovinos leiteiros. Em pesquisas na área de ortopedia visando à regeneração óssea mais eficaz, o látex foi eficiente na reparação de fraturas de tíbia de coelho demonstrando um grande potencial para este tipo de aplicação. Em falhas no crânio de ratos, os resultados foram semelhantes e os pesquisadores acreditam que novas investigações apontam sua utilização em osteoporose, odontologia e reconstituição de ossos da face (ODONTOLOGIKA, 2003).

O objetivo deste estudo foi verificar em coelhos, a biocompatibilidade e a resistência de seis membranas de látex em comparação a um modelo comercial já conhecido, a fim de facilitar a sua obtenção e baratear o custo.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 12 coelhos da raça Nova Zelândia albinos, com seis meses de idade, pesando entre 2,5 e 3,0 kg, machos e fêmeas, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Maria. Os animais foram mantidos em recintos individuais, alimentados com ração comercial e água à vontade. No pré-operatório, eles foram submetidos a jejum hídrico de 12 h e sólido de 24 h e à tricotomia do lado direito e esquerdo para o acesso

cirúrgico e nas orelhas para acesso venoso. A medicação pré-anestésica foi feita com maleato de acepromazina ($0,1\text{mg kg}^{-1}$) e buprenorfina (20mg kg^{-1}), por via intramuscular e, após 15 minutos, foi feita a indução com propofol (2mg kg^{-1}) e cetamina S^+ (1mg kg^{-1}), via intravenosa, e foram mantidos em plano anestésico por infusão contínua com uma mistura de propofol ($0,8\text{mg kg}^{-1}$) e cetamina S^+ ($200\mu\text{g kg}^{-1}$).

Nesses animais foram implantados seis tipos de membranas de látex confeccionadas no Laboratório de tecnologia química da Universidade de Brasília –(LATEQ – UnB), e uma membrana já em uso no comércio. As membranas foram agrupadas conforme sua composição em: M1 - látex *in natura* mais mistura vulcanizante (8ml) e ácido pirolenhoso; M2 - látex *in natura*, mais mistura vulcanizante (8ml) e ácido fórmico; M3 – látex *in natura*, mais mistura vulcanizante (6ml) e ácido fórmico; M4 - látex *in natura*, mais mistura vulcanizante (4ml) e ácido fórmico; M5 - látex *in natura*, mais enxofre (5ml) e ácido fórmico; M6 - látex , *in natura* mais enxofre (3ml) e ácido fórmico; M7: látex centrifugado, polilisina $0,1\%¹$ (modelo comercial).

Para implantação das membranas, em cada coelho foi realizada anti-sepsia tópica com álcool-iodo-álcool, antes do procedimento cirúrgico e profilaxia antimicrobiana com ampicilina sódica (30mg kg^{-1}) por via intravenosa. Do lado esquerdo foram implantadas as membranas numeradas de M1 a M4 e do lado direito as demais. Para isso, a bainha dos músculos oblíquos externos do abdome foi acessada por intervenção cirúrgica, e nela preparadas janelas para fixação de amostras de 1cm^2 , com pontos simples isolados de fio poligalactina-910, n. 3-0. A distância entre cada implante foi de 3cm e a reconstituição do acesso foi realizada com o mesmo fio, em sutura contínua, e na pele com mononáilon 3-0. Decorridos quinze dias da implantação das membranas, cada coelho foi submetido a novo acesso cirúrgico para remoção das mesmas juntamente com o tecido adjacente.

No pós-operatório de cada intervenção foi aplicado flunixin meglumine ($1,1\text{mg kg}^{-1}$) por três dias e efetuados curativos diariamente até a retirada dos pontos ao sétimo dia. Durante quinze dias, em dias alternados, foram observadas as características físico-macroscópicas das feridas e classificadas de acordo com a reação local de cada membrana. Visando facilitar a avaliação foram estabelecidos escores para observar o grau de saliência de cada membrana implantada: grau zero – membrana não palpável; grau 1 - suave saliência; grau 2 – moderada saliência; grau 3 - forte saliência.

¹ Biocure – Pele Nova Biotecnologia S/A, Mato Grosso – MS

Após 15 dias, as membranas e tecidos adjacentes, foram retirados e, imediatamente, acondicionados individualmente em frascos contendo formaldeído a 10%, tamponado, e encaminhadas para estudo histológico. Cada amostra foi incluída em parafina e corada pela hematoxilina-eosina e coloração de azul de toluidina. Nas amostras contendo abscessos foram feitos exames citológico e posteriormente microbiológico.

Testes biomecânicos de tração foram realizados no laboratório de materiais de construção civil, em que se determinou o grau de deformação e resistência de cada membrana antes da implantação, exceto a n. 7, por limitações do equipamento. Para isso, prepararam-se amostras de cada membrana medindo 15 cm de comprimento por 3 cm de largura; a espessura de cada amostra foi determinada com micrômetro, em que obteve-se a média, após dez repetições para cada membrana, como mostra a Tab. 1.

O molde foi fixado por garra metálica com uma haste, e pesos de 100 g foram adicionados a ela, progressivamente, até sua estrição, e posterior ruptura. Com uma régua foi medido o grau de deformação da membrana a cada 30 segundos após a adição de cada peso. Este procedimento foi repetido três vezes para cada membrana calculando-se então, o ângulo de deformação e a resistência do material (Tab 1).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na confecção das membranas foi utilizado o látex *in natura* (não centrifugado) para reduzir o custo da confecção, ácido fórmico, ácido pirolenhoso, enxofre, por ser um vulcanizante mais barato e uma mistura vulcanizante, composta de mercaptobenzotiazol (MBT), que é um acelerador de vulcanização o qual associado ao poliisopreno da borracha torna-se inerte. Foi utilizado, ainda, o dietilditiocarbamato de zinco (ZDEC) que é um ultra acelerador para borracha natural e sintética, muito utilizado em látex, o óxido de zinco que é um ativador para vulcanização e tem ação bactericida conforme descrito em VULCANIZAR (2005). As membranas foram agrupadas conforme sua composição qualitativa e quantitativa, que foi variável, procurando-se aproveitar as vantagens de cada componente da sua constituição, na tentativa de identificar a de maior resistência e compatibilidade com o leito receptor.

De acordo com o escore predeterminado para a variação local de saliência, todas as membranas foram classificadas em grau 2 exceto a de número 7 que obteve grau 1. Esta diferença de escore deve-se ao fato da membrana 7 possuir espessura de 100 µm e melhor qualidade de acabamento, por ser produzida industrialmente, enquanto as outras possuíam 1,4 mm em média. Até o 15^o dia de avaliação pós-operatória, nenhum animal do experimento

evidenciou complicação clínica sistêmica como hipertermia, edema ou dor. Um coelho apresentou abscesso nas M1 e M4 no 8º dia de pós-operatório, outro nas M2 e M3 no 11º dia e, um terceiro, na M3 no 9º dia. Um quarto coelho apresentou abscesso na M6 no 4º dia e outro na M7 no 5º dia após a implantação. A M5 foi a única que não ocorreu abscesso em nenhum animal. Todos os animais que apresentaram abscessos arrancaram os pontos com os dentes, desfazendo os curativos.

O resultado do exame citológico evidenciou grande quantidade de neutrófilos, macrófagos e bactérias nesses locais. O exame de cultura microbiológica revelou o cultivo puro e significativo de *Staphylococcus* coagulase positivo, em todas as amostras, o que caracteriza uma contaminação bacteriana no pós-operatório, causada nos animais que removeram os pontos e lesionaram a ferida cirúrgica, resultando em abscessos.

Optou-se por avaliar as membranas aos 15 dias após a implantação, pois segundo PAULO et al. (2005b), 13,8 dias, em média, foram suficientes para a formação de tecido de granulação em ratos e o material implantado estava praticamente separado do abdome. MRUÉ (1996) destacou a eliminação das próteses esofágicas em cães após dez dias de pós-operatório, com presença de tecido neoformado.

As alterações histológicas evidenciadas aos 15 dias mostram na área de interface tecido/membrana, diferentes graus de reação a cada membrana (Tab. 2) caracterizando-se basicamente pela presença de tecido de granulação. Essas alterações também foram relatadas por PAULO et al. (2005b), exceto para a presença de eosinofilia. Eosinófilos são células predominantemente teciduais que defendem o hospedeiro contra organismos grandes, não fagocitáveis e são atraídos para os tecidos em parte, como resposta imunológica mediada por células T, frente a certos antígenos, principalmente alérgenos (SEARCY, 1998). A presença marcante de eosinófilos (Fig. 1) ao redor dos implantes, no presente experimento, caracteriza uma reação imune local de rejeição em diferentes graus de intensidade de acordo com a composição de cada membrana e difere do estudo realizado por PINHO (2003) que implantou a membrana comercial (grupo 7) na conjuntiva de coelhos e não encontrou esse tipo de reação celular. Essas células foram escassas também na reconstituição de defeitos em ossos de coelhos com essa membrana conforme avaliação de MERETE et al. (1998).

O látex centrifugado perde grande quantidade de proteínas, incluindo as causadoras de reações alérgicas e aquelas que promovem a proliferação de novos vasos e, portanto, exige maiores cuidados no preparo além de ser mais dispendioso. Já o látex não centrifugado, possui um custo inferior e permanece com todas as suas proteínas, inclusive as indutoras de neovascularização em maior quantidade. Essas proteínas alergênicas podem ter sido

responsáveis pela resposta eosinofílica, que esteve presente como reação a todas as membranas implantadas. Quanto aos outros componentes das formulações, tem-se que estão em quantidades mínimas e estáveis nas membranas, entretanto, não são conhecidos estudos que comprovem sua neutralidade.

Os testes de tração a que as amostras foram submetidas revelaram que a composição influencia na deformação e resistência. Para as variáveis paramétricas resistência e deformação utilizou-se a ANOVA para comparação entre os grupos e posteriormente o teste de Bonferroni ($P < 0,05$), com auxílio do programa estatístico GraphPad Prism 4.00 version (GraphPad Software Inc, San Diego – CA, USA). As membranas M1, M2, M3, e M4 são estatisticamente iguais entre si e diferentes de M5 e M6, que por sua vez, não diferem entre si (Tab. 1).

É importante salientar que a espessura da amostra influencia diretamente em sua resistência, sendo essa diretamente proporcional, quando se comparam amostras do mesmo material. As membranas nas diferentes espessuras e composição apresentaram resistência suficiente para sustentação como substituto de bainha muscular neste experimento.

Segundo PAULO et al. (2005b), provavelmente existam diferenças entre espécies, tecidos receptores e entre a manufatura da membrana de látex, indicando a necessidade da continuidade de pesquisas neste campo. Nos coelhos do presente experimento foi observada rejeição das membranas de látex testadas até o 15^o dia de pós-operatório sendo constatado que as mesmas estavam isoladas por tecido conjuntivo. Assim, considera-se que as mesmas atuam como um agente estimulante para a formação de novo tecido que as recobre ou as elimina como se observou nos estudos de MRUÉ (2000) e PAULO et al. (2005b).

Tanto a membrana comercial quanto as novas formulações mostraram resposta tecidual semelhante, na avaliação macroscópica e histológica, e diferiram apenas nas características mecânicas de acordo com suas composição e espessura, o que não seria impedimento para o uso, dependendo do requerimento de resistência da área receptora. No entanto, a reação imune contra-indica seu uso em coelhos.

CONCLUSÃO

As diferentes formulações para as membranas de látex testadas oferecem resistência apropriada para implantação na reparação da bainha muscular em coelhos, entretanto a reação imunológica contra-indica seu uso nesta espécie.

CONSELHO DE ÉTICA

Projeto submetido e aprovado no Comitê de Ética da Universidade Federal de Santa Maria, conforme processo n. 23081.007177/2006-83.

REFERÊNCIAS

MERETE, A. et al. Incomplete bone regeneration of rabbit calvarial defects using different membranes. **Clinical Oral Implants Research**, v.9, n.5, p.313-320, 1998.

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. Dissertação (Doutorado em Medicina) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

MRUÉ, F. **Substituição do esôfago cervical por prótese biosintética de látex**. Estudo experimental em cães. 1996. 86f. Dissertação (Mestrado em Medicina) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

ODONTOLOGIKA. Descoberto novo uso para o látex: reconstrução óssea, **Conexão**. São Paulo, 21 fev. 2003. Capturado em 26 abr. 2006. Online. Disponível na Internet: <http://www.conexaomaster.com.br/index.php?pag=noticia&lang=pt&id=2517>

PAULO, N.M. et al. Biomembrana de látex natural (*Hevea brasiliensis*) com polilisina a 0,1% para herniorrafia perineal em um cão. **Acta Scientiae**, v.33, n.1, p.79–82, 2005a.

PAULO, N.M. et al. Membrana de látex da seringueira (*Hevea brasiliensis*), com e sem polilisina a 0,1% e tela de marlex na reconstrução de defeitos iatrogênicos da parede abdominal de ratos. **Acta Scientiae**, v.20, n.4, p.305, 2005b.

PINHO, E.C.C.M. **Uso experimental da biomembrana de látex na reconstrução conjuntival**. Estudo experimental em cães. 2003. 52f. Dissertação (Mestrado em Medicina) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

RABELO, E.R. et al. Emprego do compósito látex, poliamida 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.

SEARCY, P.G. Sistema Hematopoiético. In: CARLTON, W.W.; McGAVIN, D.M. **Patologia veterinária especial de Thomson**. Porto Alegre: Artmed, 1998. Cap.7, p.327.

VULCANIZAR. Matéria Prima, **Vulcanizar.com.br**. 2005. Capturado em 02 mai. 2006. Online. Disponível na Internet: http://www.vulcanizar.com.br/home_p.asp.

Tabela 1 – Valores médios de espessura, médias e desvios-padrão de diferentes amostras para deformação e resistência de membranas de látex submetidas ao teste mecânico de tração.

Membrana	Espessura (mm)	Deformação (cm)	Resistência (kg)
M1	1,67	77,84 a	19,48 a
M2	1,56	19,0 a	18,75 a
M3	1,34	77,40 a	14,98 a
M4	1,36	81,50 a	17,50 a
M5	1,35	11,60 b	1,13 b
M6	1,44	13,40 b	1,19 b

Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Bonferroni ($P < 0,05$).

M1 – M6 = Membranas de látex agrupadas conforme sua composição.

Tabela 2 – Características histológicas de membranas de látex submetidas ao teste de biocompatibilidade em coelhos.

M 1	Necrose superficial na área de contato com a membrana, neovascularização, eosinofilia. Ausência de mastócitos.
M 2	Reação discreta, neovascularização, eosinofilia. Ausência de mastócitos.
M 3	Reação discreta, neovascularização, eosinofilia Ausência de mastócitos.
M 4	Reação exuberante, neovascularização, eosinofilia intensa Ausência de mastócitos.
M 5	Necrose superficial na área de contato com a membrana, plasmócitos, eosinofilia. Ausência de mastócitos.
M 6	Infiltrado mononuclear perivascular, eosinofilia. Ausência de mastócitos.
M 7	Reação discreta, necrose superficial, eosinofilia. Ausência de mastócitos.

M1 – M7 = Membranas de látex agrupadas conforme sua composição.

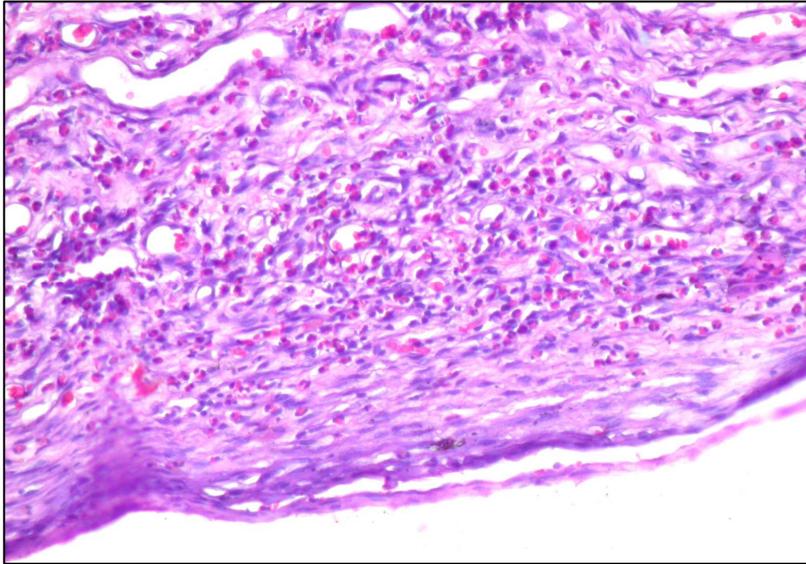


Figura 1 - Reação fibrovascular moderada rica em eosinófilos ao redor de membrana de látex, M 6, implantada em coelho. (Hematoxilina-eosina - 100x).

2.2.2 – Teste de biocompatibilidade e resistência de membranas de látex em cães.

Biocompatibility and resistance test of latex membranes in dogs.

Artigo Submetido à revista Ciência Rural.

RESUMO

O látex natural extraído da seringueira (*Hevea brasiliensis*) possui propriedades indutoras de neovascularização e regeneração tecidual, comprovadas em várias espécies e em diferentes tecidos do organismo. Neste estudo foram testadas a biocompatibilidade e resistência de três membranas de látex em seis cadelas, sendo duas dessas membranas ainda não utilizadas e uma já testada em estudos prévios. Os implantes foram colocados entre os músculos cutâneo e reto do abdome através de procedimento cirúrgico e, após quarenta e cinco dias, foram removidos e submetidos a exames histológicos. Durante este período, os animais foram avaliados quanto à dor, alterações clínicas e macroscópicas nas membranas. Testes mecânicos de tração para determinação de deformação e resistência foram efetuados em amostras controle. Pelos resultados obtidos concluiu-se que as membranas testadas são compatíveis para substituir a bainha muscular em cães, exceto a membrana 2, por apresentar características de rejeição.

Palavras-chave: membrana de látex, cães, biocompatibilidade.

ABSTRACT

The natural latex extracted of the Rubber Tree, has properties to induce characteristics of tissue vascularization and regeneration that had been comproved in different species and tissues. This study tested the biocompatibility of three latex membranes in six dogs. Twice of these membranes have not yet been used, while one of them has been tested in previous studies. Membranes were implanted between the cutaneous and the rectum of the abdomen muscles by a surgical procedure. In a forty five days period, the animals were evaluated for pain, clinical and macroscopic alterations of the membranes and, after the membranes were removed in order to submit them to histological exams. Mechanical traction tests were realized in control membranes to measure deformation and resistance. The results indicated that membranes are compatible, and able to substitute the muscular sheath in dogs, excepting membrane 2, because of it rejecting characteristics.

Key words: latex membranes, rabbits, biocompatibilities.

INTRODUÇÃO

O látex natural é um cicatrizante, uma defesa natural da planta. Muitas pesquisas utilizando este material como implante em diferentes tecidos tem demonstrado resultados satisfatórios o que motiva novos trabalhos nesta área, em diferentes espécies. Próteses desse material foram desenvolvidas na Universidade de São Paulo – USP em que a membrana de látex natural foi utilizada com sucesso na reconstrução do esôfago (MRUÉ, 1996) e na parede abdominal de cães. Os resultados revelaram que a membrana de látex, como um novo material de fonte biológica, possui características bioquímicas que o tornam capaz de interferir no processo de reparação tecidual favorecendo a formação rápida e regular de novo tecido, além de ser de fácil manuseio, dispensando técnicas complexas para sua confecção e utilização (MRUÉ, 2000).

Em decorrência de bons resultados houve um numero crescente de pesquisas: SADER (2000) substituiu parcialmente o pericárdio de cães por membrana de látex com regeneração do pericárdio nativo; trabalho recente utilizou a biomembrana de látex com polilisina a 0,1% na herniorrafia perineal em um cão, permitindo a oclusão do anel herniário, com formação de tecido de granulação e posteriormente retirada da membrana (PAULO et al. 2005a); no homem, a biomembrana de látex foi utilizada no tratamento de úlceras isquêmicas na perna sendo considerada um importante agente indutor de tecido de cicatrização e remodelagem tecidual (FRADE, 2003); em bovinos ela foi empregada com eficácia em hernioplastias umbilicais recidivantes (RABELO et al., 2005); pesquisa com reconstrução conjuntival de coelhos demonstrou favorecimento na cicatrização e neoangiogênese (PINHO et. al., 2004); em ratos, permitiu a formação de tecido conjuntivo fibroso de reparação, em defeitos iatrogênicos de parede abdominal (PAULO et. al., 2005b). Na reparação de falhas no crânio de ratos e os pesquisadores acreditam que novas pesquisas apontam para sua utilização em osteoporose, odontologia e reconstituição de ossos da face (ODONTOLOGIKA, 2003).

O objetivo deste estudo foi verificar em cães, a biocompatibilidade e a resistência de duas membranas de látex em comparação a um modelo comercial já conhecido, a fim de facilitar a sua obtenção e baratear o custo. Com os resultados deste experimento, pretende-se selecionar uma ou mais membranas, para utilização futura, em outros tecidos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas seis cadelas, sem raça definida, adultas, pesando de 8,0 a 12,0 kg, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Maria. Os animais foram

mantidos em recintos individuais, alimentados com ração comercial e água à vontade. No pré-operatório, foram submetidas a jejum hídrico de 12 h e sólido de 24 h, à tricotomia no abdome para o acesso cirúrgico e nos membros anteriores para acesso venoso. A anestesia foi feita com maleato de acepromazina ($0,1\text{mg kg}^{-1}$) e cloridrato de fentanila ($2,5\mu\text{g kg}^{-1}$) como medicação pré-anestésica, por via intramuscular e, após 15 minutos, foram induzidas com propofol (2mg kg^{-1}) intravenoso, sendo mantidas em plano anestésico com halotano. A monitorização do ritmo e frequência cardíaca foi feita em monitor eletrocardiógrafo e a saturação de oxigênio avaliada com oxímetro posicionado na língua do animal. Foram aplicados 30mg kg^{-1} de ampicilina sódica IV, 30 min antes da cirurgia como profilaxia antimicrobiana.

Nesses animais foram implantados dois tipos de membranas de látex confeccionadas no Laboratório de tecnologia química da Universidade de Brasília –(LATEQ – UnB), e uma membrana já em uso no comércio^a. As membranas foram agrupadas conforme sua composição: M1 - látex *in natura* (não centrifugado), o que reduz o custo da confecção; ácido fórmico e uma mistura vulcanizante, composta de mercaptobenzotiazol – MBT, um acelerador de vulcanização, que associado ao poliisopreno da borracha torna-se inerte; dietilditiocarbamato de zinco - ZDEC, um ultra acelerador para borracha natural e sintética, muito utilizado em látex; óxido de zinco, um ativador para vulcanização e bactericida e enxofre que funciona como agente de vulcanização (VULCANIZAR, 2005). M2 - látex *in natura*, mais enxofre (3ml) e ácido fórmico; M3 - látex centrifugado, polilisina 0,1%^a (modelo comercial).

Para implantação das membranas, em cada animal foi realizada anti-sepsia tópica com álcool-iodo-álcool, antes do procedimento cirúrgico. As membranas foram implantadas do lado direito e esquerdo, como referência à linha média, sendo que a M1 e M2 eram colocadas do lado direito e a M3 do lado esquerdo. Para implantação, a bainha do músculo reto do abdome foi acessada por intervenção cirúrgica, e nela preparadas janelas para fixação de amostras das membranas, de 2 cm^2 , com pontos simples isolados de fio mononáilon, n. 3-0. A distância entre cada implante foi de 10 cm e a reconstituição do acesso foi realizada com o fio poligalactina - 910, n.3-0, em sutura contínua, e na pele com mononáilon, n. 3-0. Decorridos quarenta e cinco dias da cirurgia, cada animal foi submetido a novo acesso cirúrgico para remoção das membranas juntamente com o tecido adjacente.

No pós-operatório de cada intervenção, foi avaliada a dor aguda (Tabela – 3) por sete dias, aplicado flunixin meglumine ($1,1\text{ mg kg}^{-1}$) por três dias, e foram efetuados curativos diariamente até a retirada dos pontos ao sétimo dia. Durante quarenta e cinco dias, em dias

alternados, foram observadas as características físicas macroscópicas das feridas e classificadas de acordo com a reação local de cada membrana. Visando facilitar a avaliação foram estabelecidos escores para observar o grau de saliência de cada membrana implantada: grau zero – membrana não palpável, sem saliência; grau 1 – membrana palpável com suave saliência; grau 2 – membrana palpável com forte saliência.

Após 45 dias, as membranas e tecidos adjacentes, foram retirados e, imediatamente, acondicionados individualmente em frascos contendo formaldeído a 10% tamponado e encaminhadas para processamento e estudo histológico. Cada amostra foi incluída em parafina e corada pela hematoxilina-eosina.

Testes biomecânicos de tração foram realizados no laboratório de materiais de construção civil, nos quais se determinou o grau de deformação e resistência de cada membrana antes da implantação, exceto a M3, por limitações do equipamento. Para isso, prepararam-se amostras de cada membrana medindo 15 cm de comprimento por 3 cm de largura; a espessura de cada amostra foi determinada com micrômetro, para obtenção da média, após dez repetições para cada membrana (Tabela 2).

O molde foi fixado por garra metálica com uma haste, e pesos de 100 g foram adicionados a ela, progressivamente, até sua estrição, e posterior ruptura. Com uma régua foi medido o grau de deformação da membrana a cada 30 segundos após a adição de cada peso. Este procedimento foi repetido três vezes para cada membrana. Calculou-se então, o ângulo de deformação e a resistência do material (Tabela 2).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No primeiro dia de pós-operatório a cadela 5 apresentou sialorréia, duas estavam em alerta, mas amedrontadas (1 e 2), três permaneceram deitadas e amedrontadas (3, 4 e 6). Não foi detectada manifestação de dor o que se justifica pelo uso de antiinflamatório no pós-operatório imediato.

Uma cadela apresentou sinus na M2 no 20º dia de pós-operatório, sendo realizada antibiótico terapia até a retirada da membrana. No procedimento de retirada das membranas aos 45 dias, a M1 estava sem alterações macroscópicas em cinco cadelas, em uma possuía secreção serosanguinolenta ao redor. A M2 estava sem alterações em quatro cadelas, em uma estava dobrada mas sem secreção e uma com pus na cadela que apresentara sinus. A M3 estava sem alterações em cinco cadelas e em uma foi observada sua migração para próximo da M1. De acordo com o escore predeterminado, as membranas foram classificadas em: M1

grau 1 em todas as cadelas, M2 grau 1 e grau 2 em três cadelas respectivamente e M3 grau 0 em todas as cadelas. Esta diferença de escore entre as M1 e M3 deve-se ao fato da M3 possuir espessura de 100 μ m enquanto as outras possuem 1,4 mm em média. Já a M2 apresentou forte saliência evidenciando reação local.

Optou-se por avaliar as membranas aos 45 dias para verificar se neste período há presença de neovascularização, tecido neoformado e células indicativas de rejeição. As alterações histológicas evidenciadas aos 45 dias mostram na área de interface tecido/membrana, diferentes graus de reação a cada tipo de membrana (Tabela 1). Os achados deste experimento, neovascularização, presença de infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear e formação de tecido conjuntivo denso em sua maioria, é similar aos resultados encontrados por MRUÉ (1996). Esta autora, em estudo com biomembrana de látex centrifugado em esôfago de cães, relatou presença de infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear, na segunda semana de avaliação evoluindo para redução deste e organização das fibras colágenas do tecido cicatricial na quarta semana de avaliação. MENTE et al. (2003) efetuou teste de biocompatibilidade com membrana de látex em ratos, no período de 21 dias, e também comprovou a ausência de rejeição. Estes dados discordam de PAULO et al. (2005b) que obtiveram na análise histológica de ratos com implante de biomembrana de látex aos 5 e 120 dias, presença de infiltrado inflamatório misto, linfócitos, plasmócitos, eosinófilos e raros mastócitos, sendo o implante rejeitado, entretanto, permitindo a formação de tecido de reparação. Pelo que se observa, a membrana de látex atua como um implante temporário que induz reação tecidual de grau variável e este novo tecido é o responsável pela reparação definitiva no local de implantação.

O látex centrifugado perde grande quantidade de proteínas, incluindo as causadoras de reações alérgicas e aquelas que promovem a neovascularização e, portanto, exige maiores cuidados no preparo além de ser mais dispendioso. Já o látex não centrifugado, possui um custo inferior e permanece com todas as suas proteínas, inclusive as indutoras de neovascularização em maior quantidade.

Produtos derivados do látex são usados largamente na prática médica em forma de sondas, drenos e indumentárias da equipe, entre outros. As reações alérgicas são raras, e devem-se principalmente ao teor de proteínas contido no produto, e à adição de talco, que ao reagir com certas proteínas promove uma potencialização do efeito alergênico (MRUÉ, 1996). Os três modelos de membranas apresentados neste experimento apresentaram baixa alergenicidade, sendo que a M3 é constituída basicamente por carbono e hidrogênio, compatíveis com o organismo animal. Quanto aos outros componentes das formulações das

membranas M1 e M2, esses estão em quantidades mínimas e estáveis nas membranas, entretanto, não são conhecidos estudos que comprovem sua neutralidade. A diferença entre M1 e M2 está na presença do enxofre, que em M2 está em maior quantidade. A M2 apresentou pior resultado por ter baixo índice de vulcanização, devido à ausência de aceleradores e ativadores, que estão presentes na M1. Na vulcanização, a matriz polimérica da borracha é ligada internamente por fortes ligações dissulfídicas, diminuindo assim o contato efetivo dos constituintes da borracha com o meio. Como consequência, o contato destes, inclusive das proteínas alergênicas, são maiores nesta membrana (SILVA, 2006 – informe verbal), causando a rejeição observada.

Os testes de tração a que as amostras foram submetidas revelaram que a composição influencia na deformação e resistência. As membranas M1 e M2 são diferentes entre si, sendo a M1 muito superior à M2 com relação à resistência e deformação, estes dados são diretamente proporcionais (Tabela 2). A M3, por possuir 100 µm, não resistiu nem ao peso mínimo de 340 g do aparelho. É importante salientar que a espessura da amostra influencia diretamente na sua resistência, sendo essa diretamente proporcional, quando se comparam amostras do mesmo material. Dependendo da utilização de cada membrana, pode-se inferir que todas possuem resistência suficiente para sustentação como substituto de bainha muscular.

Segundo PAULO et al. (2005a), provavelmente existam diferenças entre espécies, tecidos receptores e entre as técnicas de manufatura da membrana de látex, indicando a necessidade da continuidade de pesquisas neste campo. Em outra pesquisa conduzida com as membranas de látex implantadas no abdome de ratos, PAULO et al. (2005b) verificaram que elas foram eliminadas a partir do 5º dia de pós-operatório sofrendo completa extrusão em média aos 13,8 dias. Em cães, MRUÉ (2000), observou a eliminação das próteses esofágicas aos dez dias de pós-operatório, enquanto RABELO et al. (2005), não observaram rejeição em hernioplastias umbilicais de bovinos. Nos cães deste experimento foi observada rejeição da M2 testada até o 45º dia de pós-operatório, com presença de secreção purulenta em um animal, além de plasmócitos no exame histológico. O seu uso, portanto está contra-indicado. Já as M1 e M3 não apresentaram características de rejeição neste experimento e podem ser utilizadas como indutoras de tecido fibroso na área de implantação.

CONCLUSÃO

As diferentes formulações para as membranas de látex testadas oferecem resistência apropriada para implantação na reparação da bainha muscular em cães, no entanto apenas as formulações das membranas 1 e 3, são biocompatíveis.

FONTES DE AQUISIÇÃO

^a Biocure – Pele Nova Biotecnologia S/A, Mato Grosso – MS

CONSELHO DE ÉTICA

Projeto submetido e aprovado no Comitê de Ética da Universidade Federal de Santa Maria, processo n. 23081.008621/2006-88.

INFORME VERBAL

Marcelo Soares da Silva. Endereço: QI 14, conjunto “D”, casa 15. Guará 1. Brasília-DF. E-mail: sr.marcelo.silva@gmail.com. 30/08/2006. Contato online.

REFERÊNCIAS

FRADE, C.A.M. **Úlcera de perna: caracterização clínica e perfil imunohistopatológico da cicatrização na presença da biomembrana de látex natural da seringueira**. 2003. 164f. Tese (Doutorado em Medicina) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

MENTE, E.D. et al. Transplante de ilhotas pancreáticas em dispositivo de imunisolamento celular – resultados iniciais. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.16, suppl.1, 2003.

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.

MRUÉ, F. **Substituição do esôfago cervical por prótese biosintética de látex**. Estudo experimental em cães. 1996. 86f. Dissertação (Mestrado em Medicina) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

ODONTOLOGIKA. Descoberto novo uso para o látex: reconstrução óssea, **Conexão**. São Paulo, 21 fev. 2003. Capturado em 26 abr. 2006. Online. Disponível na Internet: <http://www.conexaomaster.com.br/index.php?pag=noticia&lang=pt&id=2517>

PAULO, N.M. et al. Biomembrana de látex natural (*Hevea brasiliensis*) com polilisina a 0,1% para herniorrafia perineal em um cão. **Acta Scientiae**, v.33, n.1, p.79–82, 2005a.

PAULO, N.M. et al. Membrana de látex da seringueira (*Hevea brasiliensis*), com e sem polilisina a 0,1% e tela de marlex na reconstrução de defeitos iatrogênicos da parede abdominal de ratos. **Acta Scientiae**, v.20, n.4, p.305, 2005b.

PINHO, E.C.C.M. et al. Uso experimental da biomembrana de látex na reconstrução conjuntival. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v.67, p.27-32, 2004.

RABELO, E.R. et al. Emprego do compósito látex, poliamida e polilisina a 01% na correção cirúrgica de hérnias umbilicais recidivantes em bovinos leiteiros. **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.

VULCANIZAR. Matéria Prima, **Vulcanizar.com.br**. 2005. Capturado em 02 mai. 2006. Online. Disponível na Internet: http://www.vulcanizar.com.br/home_p.asp.

Tabela 1 – Características histológicas da interface músculo/membrana de látex submetidas ao teste de biocompatibilidade em cães.

M 1	Tecido conjuntivo frouxo rico em vasos sanguíneos, tecido conjuntivo denso, Infiltrado inflamatório mononuclear focal e multifocal. Reação leve.
M 2	Tecido conjuntivo frouxo rico em vasos sanguíneos, tecido conjuntivo denso, Infiltrado inflamatório mononuclear discreto. Presença de plasmócitos.
M 3	Tecido conjuntivo frouxo rico em vasos sanguíneos, tecido conjuntivo denso, Infiltrado inflamatório mononuclear discreto a moderado.

M1 – M3 = Membranas de látex agrupadas conforme sua composição.

Tabela 2 – Valores médios de espessura, médias e desvios-padrão de diferentes amostras para deformação e resistência de membranas de látex submetidas ao teste mecânico de tração.

Membrana	Espessura (mm)	Deformação (cm)	Resistência (kg)
M1	1,56	119,0	18,75
M2	1,44	13,40	1,19
M3	0,1	Não mensurado	<0,43

M1 – M3 = Membranas de látex agrupadas conforme sua composição.

Tabela 3 – Critérios para a avaliação da dor aguda no pós-operatório de cães.

Parâmetro avaliado	Escore de intensidade		
	0	1	2
Batimentos cardíacos	Normal	Taquicardia	
Movimentos respiratórios	Normal	Taquipéia	Padrão abdominal
Temperatura	Normal	Hipertermia	
	37,5 a 39,0°C	> 39,0°C	
Salivação	Normal	Aumentada	
Pupilas	Miose	Midríase	
Luz ambiente			
Estado mental	Dócil	Alerta/medo	Agressivo
Vocalização	Ausência	Presença	
Postura e atitude	Ereta e alegre	Arqueado ou deitado e triste	
Resposta à manipulação	Não reage	Reação leve, esquiva-se	Reação brusca, morde
Locomoção	Normal	Com dificuldade	Não movimentada
Apetite	Normorexia	Hiporexia	Anorexia
Ganho peso	Igual ou ganho	Perda	
Micção	Normal	Com dificuldade, pouco e freqüente	Não urina
Defecação	Normal	Com dificuldade	Não defeca

Os valores abaixo são o somatório do escore alcançado por cada parâmetro, nas diferentes avaliações, para cada animal.

De 0 a 4 – Animal não sente dor.

De 5 a 6 – Animal com dor moderada.

De 7 acima – Animal com dor intensa.

2.2.3 - Membranas de látex natural na substituição parcial de diafragma em cães com avaliação videocirúrgica.

Natural latex membranes in the partial replacement of the dog's diaphragm with videochirurgical evaluation

Artigo Científico submetido à revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.

RESUMO

Hérnias diagramáticas crônicas constituem um grave problema para cirurgiões, principalmente quando não for possível seu fechamento primário. Implantes homólogos e heterólogos, além de enxertos têm sido descritos como alternativas para correção, mas não existem implantes sintéticos de fácil aquisição, para rápida correção dessas alterações. Este estudo propõe a utilização de um implante de membrana de látex natural, de baixo custo, fácil manuseio e com características de promover a neovascularização e reparação tecidual. Foram utilizados 12 cães, separados em três grupos: grupo 1 membrana comercial; grupo 2 membrana LATEQ e grupo 3, controle. Foi criado um defeito retangular no músculo diafragma, com 4cm de comprimento e 3 cm de largura, que no grupo 1 e 2 foi substituído pelo implante de membrana de látex correspondente. Os animais tiveram avaliação através do hemograma, por estudo radiográfico, por videocirurgia e análise histopatológica aos 30 dias. Os resultados mostram que a membrana de látex do grupo 2, foi eficiente na correção do defeito no diafragma, promovendo a reparação e neovascularização tecidual local, sem causar rejeição durante o período de avaliação.

Palavras-chave: implante, membrana de látex, diafragma, cães.

ABSTRACT

Chronic diaphragmatic hernias constitute a serious problem for surgeons, mainly when their primary reduction is not possible. Homologous and heterologous implantations, beyond graft have been described as alternative for correction, but synthetic implantations, of nonexpensive acquisition, for fast correction of these alterations do not exist yet. This study aimed at using a natural latex membrane implantation, of low cost, easy to handle and with characteristics to promote the neovascularization and tissue repair. Twelve dogs were divided in three groups: group 1, commercial membrane; group 2, membrane LATEQ and group 3, control. A rectangular defect (4cm in length and 3cm in width) was created in the diaphragm

muscle, which was substituted, in group 1 and 2, by the implantation of corresponding latex membrane. The animals had been evaluated by radiographic evaluation, blood count, video-surgery, and histopathology study after 30 post operative days. The results showed that the latex membrane of group 2, were efficient in the correction of the diaphragm defect, promoting the repairing and local neovascularization, without causing rejection during the evaluated period.

Key words: implantation, latex membranes, diaphragm, dogs.

INTRODUÇÃO

A utilização de implantes como substituição parcial no diafragma, justifica-se principalmente em casos de hérnia diafragmática (HD) que possibilita aos órgãos abdominais migrarem para a cavidade torácica. Podem ser congênitas ou traumáticas, e o aumento abrupto na pressão intra-abdominal que acompanha golpes forçados na parede abdominal, faz com que os pulmões se desinflatem rapidamente (com a glote aberta), resultando em um gradiente de pressão pleuroperitoneal elevado, que provoca a ruptura do diafragma nos seus pontos mais frágeis, geralmente nas porções musculares. O tratamento cirúrgico de uma HD é mais arriscado quando for realizado em menos de 24 h ou um ano após a lesão. Deve-se retardar o reparo cirúrgico de uma hérnia diafragmática até que o paciente fique estabilizado (FOSSUM, 2002). Nesse período podem ocorrer aderências, fibroses e retração do tecido. Segundo JOHNSON (1993), a formação de aderências maduras com maiores níveis de tecido fibrovascular organizado, iniciam-se a partir da segunda semana após o traumatismo. Nesses casos, a correção cirúrgica pode ser dificultada, principalmente quando houver perda de tecido, e uma alternativa é a reparação com o uso de enxertos ou implantes.

Enxertos autólogos são bastante satisfatórios como o uso de retalho pediculado do músculo grande dorsal para reparo de defeito diafragmático (OLIVEIRA et al., 2000), entretanto agridem a área doadora. Os implantes homólogos constituem uma alternativa atraente na cirurgia, mas as desvantagens são o risco de reações imunológicas e o potencial de transmissão de doenças infecciosas (PACCOLA et al., 2000). MAZZANTI et al. (2001) utilizaram segmento de músculo diafragma como homoiimplante conservado em solução de açúcar 300% por 30 dias, sem observar rejeição. Implante com pericárdio bovino conservado em açúcar promoveu a restauração do defeito no diafragma sem causar evidências de infecção ou rejeição (MAZZANTI et al., 2003). Entretanto, o que torna essas técnicas desvantajosas é a necessidade de doador, meio conservante, conservação por 30 dias antes da utilização ou

possuir banco de implante. Implantes de malhas sintéticas têm alto custo, sendo necessárias alternativas que supram estes déficits.

As características principais de um material sintético para uso como reforço em defeitos herniários são; não estimular rejeição, ou reação de corpo estranho e não produzir reação de hipersensibilidade; não ser modificado fisicamente quando em contato com os tecidos; não produzir carcinogênese nem complicações; ser quimicamente inerte; facilmente manipulável; ser esterilizável; ser resistente ou participar da formação de tecido resistente; e possuir baixo custo (Cumberland, 1952 apud SOUSA, 2005).

A membrana de látex natural vem sendo estudada por ter propriedades indutoras da neovascularização e por auxiliar na reparação tecidual mais rápida. Foi aplicada com sucesso em herniorrafia perineal em um cão, permitindo fechamento do anel herniário, deixando uma base tecidual após sua remoção (PAULO et al., 2005a). Em bovinos com hérnia umbilical recidivante, a membrana de látex possibilitou a correção cirúrgica de caráter permanente (RABELO et al., 2005). Esses resultados pressupõem que a membrana de látex seja uma alternativa para corrigir defeitos do diafragma canino.

A videocirurgia na medicina veterinária é um procedimento cirúrgico recente com aplicação diagnóstica e terapêutica. Essa técnica tem inúmeras vantagens quando comparada a procedimentos tradicionais; como menor traumatismo cirúrgico, dor pós-operatória menos intensa, menor tempo de hospitalização, recuperação mais rápida do paciente e menor custo hospitalar (MALM, 2003). A avaliação pós-operatória com uso desta técnica é pertinente, visto que promove maior bem estar animal e um diagnóstico preciso, possibilitando ainda a biópsia da região em estudo.

O objetivo deste estudo é avaliar a eficiência de uma membrana de látex elaborada a baixo custo, comparada a outra já comercializada para outros fins, na reparação de defeito no diafragma de cão.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas doze cadelas, sem raça definida, adultas, pesando de 8,0 a 12,0kg, clinicamente sadias, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Maria. Os animais foram mantidos em recintos individuais, alimentados com ração comercial e água a vontade.

Foram constituídos três grupos experimentais, com quatro cadelas em cada um: grupo 1 - membrana de látex comercial (Biocure[®]); grupo 2 - membrana de látex confeccionada no laboratório de tecnologia química (LATEQ) e, grupo 3 - controle, em que o próprio segmento

seccionado foi suturado no defeito. A membrana utilizada no grupo 1 é composta de látex centrifugado mais polilisina 0,1%; a membrana de látex utilizada no grupo 2, foi desenvolvida com látex in natura (não centrifugado), água, na proporção de 2:3, foram adicionados, ainda, ácido fórmico e 8 ml de mistura vulcanizante, composta de mercaptobenzotiazol – MBT, dietilditiocarbamato de zinco (ZDEC), óxido de zinco, e enxofre. Para esterilização, a membrana foi submetida à autoclavagem por 15 minutos a 121°C. Esta membrana já foi testada em experimentos prévios quanto à biocompatibilidade e resistência (ZIMMERMANN et al., 2006).

Após jejum prévio de 12 horas e tricotomia ampla no tórax direito os animais foram pré medicados com acepromazina ($0,1 \text{ mg kg}^{-1}$) e cloridrato de fentanila ($2,5 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$) via intramuscular e após 15 minutos, foram induzidos com propofol (2 mg kg^{-1}) intravenoso, sendo mantidos em plano anestésico com halotano. A monitorização do ritmo e frequência cardíaca foi feita em monitor eletrocardiográfico e a saturação de oxigênio avaliada com oxímetro posicionado na língua do paciente. Em cada animal, foram aplicados 30 mg kg^{-1} de cefalotina sódica IV, 30 min antes da cirurgia como profilaxia antimicrobiana. Todos os procedimentos cirúrgicos foram efetuados em bloco cirúrgico com rigoroso controle de assepsia. No trans-operatório, efetuou-se toracotomia intercostal, com acesso pelo oitavo espaço intercostal direito. Foi criado um defeito retangular no músculo diafragma, com 4 cm de comprimento e 3 cm de largura, que, nos animais dos grupos 1 e 2, foi substituído pelo implante de membrana de látex correspondente, fixado por sutura de Wolff, com sobreposição de bordas, com fio mononáilon n. 3-0. No grupo controle, o segmento retangular do músculo diafragma foi removido e refixado seguindo o mesmo procedimento. A seguir foi feita toracorráfia, com aproximação das costelas com fios de náilon 3.0, sutura dos músculos intercostais, grande dorsal e tela subcutânea com fio poliglactina 910 n. 3-0 e a pele com fio de mononáilon 3-0 montado em agulha cuticular. A restituição da pressão negativa foi feita com hiperinsuflação antes do fechamento do último ponto da parede torácica e drenagem por toracocentese do ar residual após o término da cirurgia.

A analgesia foi feita com tramadol de 12 em 12 horas, bloqueio intercostal usando bupivacaina com vasoconstritor, no primeiro dia e antiinflamatório não esteroideal por três dias, além de cuidados tópicos de higienização e bandagem levemente compressiva. A retirada dos pontos cutâneos foi realizada aos 7 dias de pós-operatório.

A avaliação clínica foi feita mediante inspeção diária da ferida cirúrgica, do padrão respiratório e da monitorização da dor nos 10 dias de pós-operatório, com base em um escore de intensidade, descrito na tabela 1. Foi realizado hemograma no dia zero, antes da

intervenção cirúrgica, aos 15 e 30 de pós-operatório. A avaliação estatística desses dados foi obtida através do teste Tukey-Kramer ($P < 0,05$), com auxílio do programa estatístico GraphPad Prism 4.00 version (GraphPad Software Inc, San Diego – CA, USA). Como exame complementar, fez-se ainda estudo radiográfico aos 20 dias de pós-operatório.

A avaliação macroscópica foi realizada através de vídeocirurgia aos 30 dias de pós-operatório. Para isso, o equipamento foi esterilizado com glutaraldeído a 2%, por 40 minutos e após lavado com solução salina. Para acesso, foi feita incisão de pele com bisturi e punção da cavidade abdominal com agulha de Veress, introdução de três trocartes, sendo o primeiro da câmera e os demais do instrumental cirúrgico. O primeiro portal de 10 mm foi colocado na cicatriz umbilical por onde teve acesso a óptica, um segundo portal de 10 mm foi colocado no lado esquerdo do paciente ligeiramente caudal à 13^a costela e um de 5 mm contra-lateral a este, também caudal à 13^a costela. A biopsia, realizada durante a vídeolaparoscopia, foi retirada da borda do defeito diafragmático na sua face abdominal, sentido horizontal, com aproximadamente 0,5cm de comprimento. Após ser obtida, cada amostra foi imediatamente acondicionada em frasco contendo formaldeído a 10% tamponado e encaminhada para estudo histológico. Cada uma delas foi incluída em parafina e corada pela hematoxilina-eosina, para análise morfológica com estudo em microscopia óptica. A toracoscopia foi realizada por meio de colocação de um portal de 10 mm no terço médio do 7^o espaço intercostal direito, após incisão com bisturi, por onde penetrou a óptica. Após inspeção desta, o fechamento foi feito com fio poligalactina 910 e a pele com poliamida 3-0, ambos em pontos simples interrompidos.

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Santa Maria (processo 23081.008621/2006-88) e, ao final, todos os animais utilizados foram castrados e doados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os animais apresentaram boa evolução clínica. Houve formação de edema ao redor da ferida operatória, atribuído ao traumatismo cirúrgico, em dez cadelas, durante os dois primeiros dias de pós-operatório e deiscência da sutura de pele em duas cadelas, atribuídas à lambedura do local. Nesses casos foi orientada a cicatrização por segunda intenção.

Os grupos analisados apresentaram resultados distintos. Nos animais do grupo 1, em que foi utilizada a membrana de látex em uso comercial, os resultados encontrados por videoscopia evidenciaram ocorrência de hérnia diafragmática nos quatro animais estudados.

Três deles com comprovação radiográfica aos 20 dias após implantação, quando se verificou a presença de parte do fígado e a ausência no tórax do estômago e intestino, confirmada por técnica contrastada, que segundo RAISER (1993) e MAZZANTI (2003), é o exame mais eficiente para diagnosticar hérnia diafragmática. Um destes três animais apresentou dispnéia e sons cardíacos abafados, com imagem sugestiva de hidrotórax pelo exame radiográfico. Após toracocentese foram retirados 800 ml de líquido serosangüinolento, o qual, pela análise laboratorial, não possuía contaminação bacteriana. O animal permaneceu com dreno torácico para retiradas diárias de líquido, até se completarem 30 dias de pós-operatório, seguindo orientação de LUDWIG (2000) que cita a necessidade de drenagens contínuas quando houver rápido acúmulo de ar ou líquido no espaço pleural, a qual deve ser continuada enquanto houver produção maior que $2 \text{ ml kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$. Neste animal drenaram-se 200 ml de líquido torácico, duas vezes ao dia, permanecendo o dreno por 10 dias, até a correção cirúrgica da hérnia. O fígado, presente no conteúdo herniário, estava congesto e sob constrição, sendo responsável pela efusão. A profilaxia antibiótica cefalotina (30 mg kg^{-1}) foi instituída até a retirada do dreno para evitar contaminação já que este estava em contato com o meio externo e poderia carrear bactérias para a cavidade torácica, sendo o líquido presente um meio de cultura favorável ao crescimento bacteriano. No quarto animal, no qual não foi possível o diagnóstico por estudo radiográfico, o omento que era o conteúdo herniado, ocluiu e aderiu-se ao local de ruptura, sem trazer alterações clínicas para o animal, o que foi verificado por videoscopia. Aos 25 dias de pós-operatório um animal deste grupo veio a óbito sendo comprovado por necropsia, a migração para a cavidade torácica do baço, intestino delgado e do estômago que sofreu dilatação aguda e foi a *causa mortis*. Neste grupo ocorreu ruptura da membrana de látex em todos os animais, permanecendo os pontos de sutura nas bordas do defeito. Isto se deve ao fato da membrana comercial possuir espessura de $100 \mu\text{m}$, enquanto a membrana do grupo 2 possui $1,4 \text{ mm}$ de espessura, em média.

Nos cães do grupo 2, o estudo radiográfico não evidenciou alterações sugestivas de hérnia diafragmática em nenhum animal. Na avaliação por laparoscopia constatou-se a membrana íntegra e fixa ao diafragma. Em três animais a membrana estava coberta com tecido de granulação, com aderências ao omento em uma cadela e ao fígado nas outras duas. Na quarta cadela deste grupo, o tecido de granulação presente não cobria totalmente a membrana, sendo possível visualizá-la por acesso abdominal e esta não possuía aderências. Não houve evidências macroscópicas de inflamação, líquido ou alterações em vísceras abdominais próximas. Quando avaliadas por toracoscopia, foi visível a formação de tecido de granulação sobre a membrana e esta foi parcialmente visibilizada em dois animais, estando

aparente apenas o fio de sutura recoberto pelo tecido nas demais. Houve aderências do pulmão com o local da incisão, em dois animais, mas nenhum deles apresentou líquido e reação inflamatória no tórax. Aderências do fígado e omento ao diafragma foram achados comuns nos estudos de MAZZANTI et al. (2001/2003) e os autores atribuíram-nas à proximidade do defeito na porção muscular direita do diafragma ao fígado e pelo sangramento observado nas bordas do defeito com conseqüente formação de fibrina, o que também foi observado neste experimento. OLIVEIRA et al. (2000) observaram aderências quando utilizaram retalho pediculado do músculo grande dorsal, tanto com o fígado e omento quanto com o pulmão na parede torácica, fato este atribuído à reação à seda utilizada como fio de sutura, além de manipulação e ausência de uma superfície serosa. Acredita-se que o tipo de implante utilizado, pericárdio bovino (MAZZANTI et al., 2003), músculo diafragma homólogo (MAZZANTI et al., 2001) e retalho pediculado do músculo grande dorsal (OLIVEIRA et al., 2000) sejam os causadores das aderências. O mesmo não ocorre com o implante de membrana de látex, pois este não se adere aos tecidos, mas promove com maior eficiência a formação de tecido de granulação, por estimular a neovascularização. Neste caso, é o tecido de granulação que se adere com facilidade aos tecidos vizinhos, concordando com SOUSA (2005), que em estudo com biomembranas de látex na correção de inguinoplastias, não houve incorporação destas aos tecidos vizinhos nem indução de fibrose. Para PINHO et al. (2004) a membrana de látex quando usada na reparação conjuntival de coelhos, não se aderiu ao tecido subjacente, permanecendo presa pelos pontos de sutura, ocorrendo epitelização. A membrana de látex quando utilizada como implante em pericárdio de cães não se aderiu aos pulmões ou ao epicárdio, exceto na linha de sutura onde se incorporou ao pericárdio nativo (SADER et al., 2000).

Os resultados observados nos animais do grupo 3 foram semelhantes aos do grupo 2 com relação ao exame radiográfico. A avaliação por videoscopia não evidenciou alterações, hérnias ou inflamação e devido à coaptação das bordas do defeito com o retalho e hemostasia adequada neste grupo, foram observadas poucas aderências, que ocorreram do pulmão ao local de sutura no diafragma, em duas cadelas. Um animal deste grupo veio a óbito no pós-operatório imediato à videocirurgia, mas os achados da necropsia não relacionaram nenhuma alteração compatível com o experimento.

O acesso para implantação das membranas foi feito pelo oitavo espaço intercostal direito, conforme descrito por RAISER (1993), possibilitando uma rápida e fácil intervenção cirúrgica. O ponto de Wolff com sobreposição de bordas proporcionou boa vedação entre o implante de látex e o músculo diafragma, sendo que nos animais com ruptura da membrana

(grupo 1), isso se justificou pela espessura desta, já que a sutura permaneceu íntegra neste e nos demais grupos. Esta sutura também foi eficaz quando empregada no estudo de OLIVEIRA et al. (2000) e MAZZANTI (2001). A escolha do fio de sutura, poliamida 3.0, deve-se ao fato de ser um material não absorvível sintético, monofilamentar, resistente e caracterizado por induzir mínima reação tecidual (FOSSUM, 2002), concordando com MAZZANTI (2003) e RAISER, (1993) que utilizaram o mesmo fio de sutura para corrigir defeito no diafragma de cão.

O uso da laparoscopia e da toracoscopia conforme descrito por BECK et al. (2004a/2004b) na avaliação e diagnóstico das hérnias diafragmáticas mostrou-se eficaz na avaliação do implante de forma considerada minimamente invasiva. Foi necessária a conversão para cirurgia aberta, para a redução da hérnia diafragmática, em três animais do grupo 1, pois o fígado encontrava-se encarcerado e friável, impossibilitando sua redução por videocirurgia, em discordância com BECK et al. (2004b) que promoveram a redução de hérnia diafragmática, em oito cães por laparoscopia com êxito. O fígado estava presente em todos os animais, o omento em cinco, o intestino delgado em quatro, o pâncreas e o ceco em dois respectivamente.

Nenhum animal do experimento demonstrou características de dor, quando avaliados pelo escore de 0 a 4 (Tabela 1), isto deve-se ao fato de ter sido feita analgesia pre-emptiva. Outro importante fator que possibilitou a ausência de dor pós-operatória consistiu no uso de anestesia local. GLOWASKI (2002) afirma que esta modalidade promove maior conforto e cooperação do paciente durante procedimentos dolorosos e indica o uso de bloqueio intercostal após toracotomias, sendo indicada a bupivacaina, que promove analgesia de seis horas e, se associada à epinefrina como vasoconstritor, tem seu efeito prolongado e diminui a dose necessária.

Os resultados dos hemogramas evidenciaram diferença significativa na contagem dos linfócitos aos 30 dias de pós-operatório, sendo o grupo 1 estatisticamente diferente do grupo controle e o grupo 2 não tendo diferença significativa entre os tratamentos, pelo teste de Tukey-Kramer ($P < 0,05$). Isso significa que a membrana comercial utilizada no grupo 1 induz maior resposta antigênica no organismo do cão, que o grupo controle, até os 30 dias de análise. Segundo MEYER & HARVEY (1998), os linfócitos são estimulados a proliferar em resposta a uma reação antigênica. A linfocitose é rara em cães e pode ocorrer em resposta a uma estimulação antigênica persistente, infecções crônicas ou reações inflamatórias crônicas (SCHULTZE, 2000; MEYER & HARVEY, 1998). Neste experimento, a membrana de látex está estimulando esta reação.

A microscopia de luz revelou corte longitudinal de músculo estriado, sobre o qual se observa extensa proliferação de tecido fibrovascular (TFV) frouxo, em alguns animais com proliferação de TFV denso, e outros com extensas áreas densamente colagenizadas, com quantidade moderada de infiltrado misto, predominantemente mononuclear. A espessura da proliferação do tecido é equivalente à largura da biopsia. Há neovascularização, reparação tecidual e, na maioria das lâminas, presença de células musculares gigantes. Essas alterações fazem parte da cicatrização tecidual em sua fase de reparo, em que há síntese de colágeno, orientação das fibras e capilares e diminuição do infiltrado inflamatório (FOSSUM, 2002). Não existem na literatura trabalhos citando a utilização da membrana de látex como substituto parcial de diafragma em nenhuma espécie. A neovascularização e reparação tecidual foram descritas por PAULO et al. (2005a/2005b) na herniorrafia perineal de um cão e na reconstrução da parede abdominal de ratos, respectivamente e por RABELO et al. (2005), na correção de hérnias umbilicais de bovinos. Essas pesquisas além daquelas com reconstrução da membrana timpânica (OLIVEIRA et al., 2003) e de úlceras isquêmicas (FRADE, 2003), em seres humanos, na reparação esofágica e da parede abdominal de cães (MRUÉ, 2000) indicam que a membrana induz a formação de uma matriz fibrovascular capaz de substituir o tecido original onde for implantada.

A membrana testada no grupo 1 mostrou-se frágil e não sustentou a tensão no diafragma, possibilitando a hérnia diafragmática, além de induzir reação de antigenicidade. Já a membrana implantada nos animais do grupo 2 (figura 1), foi satisfatória na reparação do diafragma de cães, sendo de fácil manipulação por ser mais espessa e rígida e não induziu reação antigênica, promove a formação de tecido de granulação capaz de dar sustentação e manter a integridade da cavidade torácica, possibilitando a função respiratória e mantendo o bem estar animal, semelhante ao grupo controle.

CONCLUSÃO

A membrana de látex implantada nos cães do grupo 2, pode ser utilizada como substituto parcial do diafragma, promovendo neovascularização e reparação tecidual, mantendo a sua função, com movimentação normal sem evidenciar reação antigênica, até os 30 dias após implantação.

REFERÊNCIAS

BECK, C.A.C. et al. Laparoscopia nas hérnias diafragmáticas: estudo experimental em cães. **Ciência Rural**, v.34, n.6, p.1849-1855, 2004a.

BECK, C.A.C. et al. Toracosopia nas hérnias diafragmáticas: estudo experimental em cães. **Ciência Rural**, v.34, n.6, p.1857-1863, 2004b.

FRADE, C.A.M. **Úlcera de perna: caracterização clínica e perfil imunohistopatológico da cicatrização na presença da biomembrana de látex natural da seringueira.** 2003. 164f. Tese (Doutorado em Medicina) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

FOSSUM, T.W. et al. Cirurgia do sistema respiratório inferior: cavidade pleural e diafragma. In: _____. **Cirurgia de pequenos animais.** São Paulo: Roca, 2002. Cap. 27, p.752-785.

GLOWASKI, M.M. Analgesia in critical care. **Veterinary clinics of North America: small animal practice**, v.32, n.5, p.1127-1144, 2002.

JOHNSON, K.A. Diaphragmatic, pericardial, and hiatal hernia. In: SLATTER, D. **Textbook of small animal surgery.** 2.ed. Philadelphia : Saunders, 1993. V.1, p.455-470.

LUDWIG, L.L. Surgical emergencies of the respiratory system. **Veterinary Clinics of North America: small animal practice**, v.30, n.3, p.531-553, 2000.

MALM, C. **Ovário-histerectomia: estudo experimental comparativo entre as abordagens laparoscópicas e aberta na espécie canina.** 2003. 190f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.

MAZZANTI, A. et al. Hernioplastia diafragmática em um cão com pericárdio bovino conservado em solução supersaturada de açúcar. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n.6, p.677-684, 2003.

MAZZANTI, A. et al. Músculo diafragma homólogo conservado em solução supersaturada de açúcar para reparação de grande defeito no diafragma de cão. **Ciência Rural**, v.31, n.2, p.277-283, 2001.

MEYER, J.D. & HARVEY, W.J. Evaluation of leukocytic disorders. In: _____. **Veterinary laboratory medicine.** Philadelphia: Saunders Company, 1998. Cap.4, p.83-109.

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.

OLIVEIRA, A.A.J. et al. Miringoplastia com a utilização de um novo material biosintético. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v.69, n.5, p.649-655, 2003.

OLIVEIRA, O.L. et al. Retalho pediculado do músculo grande dorsal para reparo de defeito diafragmático experimental em cães. **Ciência Rural**, v.30, n.6, p.1005-1009, 2000.

PACCOLA, C.A.J. et al. Reconstrução do ligamento cruzado anterior com ligamento patelar. Análise comparativa do ligamento autólogo versus homólogo. **Acta ortopédica Brasileira**, v.8, n.4, p.202-208, 2000.

PAULO, N.M. et al. Biomembrana de látex natural (*Hevea brasiliensis*) com polilisina a 0,1% para herniorrafia perineal em um cão. **Acta Scientiae**, v.33, n.1, p.79–82, 2005a.

PAULO, N.M. et al. Membrana de látex da seringueira (*Hevea brasiliensis*), com e sem polilisina a 0,1% e tela de marlex na reconstrução de defeitos iatrogênicos da parede abdominal de ratos. **Acta Scientiae**, v.20, n.4, p.305, 2005b.

PINHO, E.C.C.M. et al. Uso experimental da biomembrana de látex na reconstrução conjuntival. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v.67, p.27-32, 2004.

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.

RAISER, A.G. **Hérnias em cães e gatos – análise de 188 casos e proposição de técnica de herniorrafia para ruptura costal do diafragma**. 1993. 108f. Tese (Tese para acesso à classe de professor titular) - Faculdade de Medicina Veterinária Universidade Federal de Santa Maria.

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

SCHULTZE, E.A. Interpretation of canine leukocyte responses. In: FELDMAN et al. **Schalm's Veterinary Hematology**. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. Cap.55, p.366-381.

SOUSA, H.L. **Avaliação morfológica da utilização da prótese de látex na inguinoplastia videolaparoscópica**. Estudo experimental em cães. 2005. 69f. Tese (Doutorado em Medicina) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

ZIMMERMANN, M. et al. Teste de biocompatibilidade e resistência de membranas de látex em cães. **Ciência Rural**, encaminhado para publicação, 2006.

Tabela 1 – Critérios para a avaliação da dor aguda no pós-operatório de cães.

Parâmetro avaliado	Escore de intensidade		
	0	1	2
Batimentos cardíacos	Normal	Taquicardia	
Movimentos respiratórios	Normal	Taquipnéia	Padrão abdominal
Temperatura	Normal 37,5 a 39,0°C	Hipertermia > 39,0°C	
Salivação	Normal	Aumentada	
Pupilas (luz ambiente)	Miose	Midríase	
Estado mental	Dócil	Alerta/medo	Agressivo
Vocalização	Ausência	Presença	
Postura e atitude	Ereta e alegre	Arqueado ou deitado e triste	
Resposta à manipulação	Não reage	Reação leve, esquiva-se	Reação brusca, morde
Locomoção	Normal	Com dificuldade	Não movimentada
Apetite	Normorexia	Hiporexia	Anorexia
Ganho peso	Igual ou ganho	Perda	
Micção	Normal	Com dificuldade, pouco e freqüente	Não urina
Defecação	Normal	Com dificuldade	Não defeca

Os valores abaixo são o somatório do escore alcançado por cada parâmetro, nas diferentes avaliações, para cada animal.

De 0 a 4 – Animal não sente dor.

De 5 a 6 – Animal com dor moderada.

De 7 acima – Animal com dor intensa.

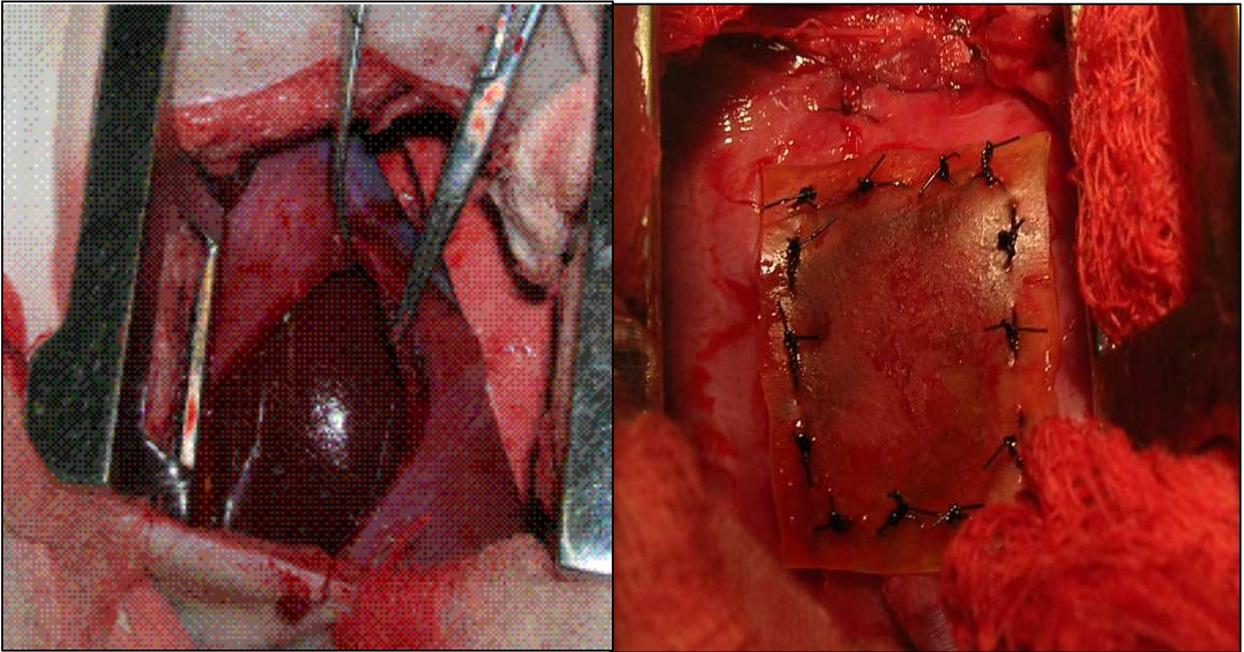


Figura 1- Animal do grupo 2, em que se evidenciam: A) o aspecto do defeito provocado no diafragma; B) Membrana de látex natural após ser suturada sobre o defeito no diafragma.

2.3 – Considerações finais

As membranas de látex produzidas e utilizadas neste estudo, possuem características exclusivas que garantem resistência e uma estrutura rígida que mantém a tensão e a elasticidade. Foram elaboradas com matéria-prima natural, de forma artesanal, sendo um produto nacional e de baixo custo. As sete membranas testadas em coelhos provocaram hipersensibilidade e rejeição, características indesejáveis para um implante. Entretanto, os resultados positivos obtidos com o emprego do látex, quando testado em seres humanos, cães, bovinos, ratos e até mesmo em coelhos motivaram a realização dos experimentos com as novas membranas desse material em caninos.

Das seis membranas formuladas:

M1-látex *in natura* mais mistura vulcanizante (8ml) e ácido pirolenhoso,

M2 -látex *in natura*, mais mistura vulcanizante (8ml) e ácido fórmico,

M3 -látex *in natura*, mais mistura vulcanizante (6ml) e ácido fórmico,

M4- látex *in natura*, mais mistura vulcanizante (4ml) e ácido fórmico

M5 - látex *in natura*, mais enxofre (5ml) e ácido fórmico,

M6 - látex , *in natura* mais enxofre (3ml) e ácido fórmico,

A M1 foi excluída do teste de biocompatibilidade em cães, porque este ácido é produzido pela queima da madeira e tem potencial carcinogênico, devido à presença de alcatrão, acetona e metanol. A M2, M3 e M4; possuem apenas variações quantitativas em sua composição, tendo sido selecionada a membrana 2. Ocorre o mesmo com as membranas, M5 e M6, em que a 6 foi selecionada para o teste de biocompatibilidade em cães. Para o segundo experimento as membranas foram reagrupadas em:

M1 - látex *in natura*, mais mistura vulcanizante (8 ml) e ácido fórmico,

M2 - látex *in natura*, mais enxofre (3 ml) e ácido fórmico,

M3 - látex centrifugado, polilisina 0,1% (modelo comercial).

Os resultados possibilitaram a seleção de duas membranas (M1 e M3), para corrigir defeito no diafragma canino, sendo testadas frente ao grupo controle, o que possibilitou afirmar que a membrana fabricada para este estudo, M1, possui as características desejadas em um implante: não favorece a rejeição, não estimula reação de corpo estranho e não produz reação de hipersensibilidade; é facilmente manipulável; esterilizável; mostrou-se resistente e participou da formação de tecido resistente; e ainda possui baixo custo. Além disso, favorece o processo de reparação tecidual.

Outros estudos devem ser incentivados para estabelecer em que espécies esse material pode ser utilizado, em que tecidos e qual é a sua reação a longo prazo.

3 CONCLUSÃO

A membrana de látex, composta de látex *in natura*, mais mistura vulcanizante (8 ml) e ácido fórmico, auxilia na fase de reparo. Pode ser utilizada na substituição parcial de diafragma canino, formando tecido de granulação que dá sustentação ao diafragma possibilitando movimentos respiratórios normais. Constitui um novo material, com menor custo, de fácil armazenamento e manuseio. Outros estudos devem ser feitos para que este implante possa ser utilizado na rotina cirúrgica e seus efeitos em longo prazo. A membrana apresenta biocompatibilidade com a espécie canina, mas não para coelhos.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FRADE, C.A.M. **Úlcera de perna: caracterização clínica e perfil imunohistopatológico da cicatrização na presença da biomembrana de látex natural da seringueira.** 2003. 164f. Tese (Doutorado em Medicina) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

FOSSUM, T.W. et al. Cirurgia do sistema respiratório inferior: cavidade pleural e diafragma. In: _____. **Cirurgia de pequenos animais.** São Paulo: Roca, 2002. Cap. 27, p.752-785.

MENTE, E.D. et al. Transplante de ilhotas pancreáticas em dispositivo de imunoisolamento celular – resultados iniciais. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.16, suppl.1, 2003.

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.

MRUÉ, F. **Substituição do esôfago cervical por prótese biosintética de látex.** Estudo experimental em cães. 1996. 86f. Dissertação (Mestrado em Medicina) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

OLIVEIRA, A.A.J. et al. Miringoplastia com a utilização de um novo material biosintético. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v.69, n.5, p.649-655, 2003.

PELE NOVA. Biocure, Pele nova Biotecnologia S.A. 1998. Capturado em 09 nov. 2006. Online. Disponível na Internet: <http://www.pelenova.com.br/site>

PINHO, E.C.C.M. et al. Uso experimental da biomembrana de látex na reconstrução conjuntival. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v.67, p.27-32, 2004.

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

RAISER, A G. Regeneração tecidual. In: _____. **Patologia Cirúrgica Veterinária.** 1. ed. Santa Maria, 2000. cap. 5, p. 83-95.

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.

SOUSA, H.L. **Avaliação morfológica da utilização da prótese de látex na inguinoplastia videolaparoscópica.** Estudo experimental em cães. 2005. 69f. Tese (Doutorado em Medicina) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.