

# Prótese vascular derivada do látex

## *Latex-derived vascular prosthesis*

Marcelo Luiz Brandão<sup>1</sup>, Joaquim Coutinho Netto<sup>2</sup>, Jose Antonio Thomazini<sup>3</sup>, João José Lachat<sup>3</sup>,  
Valdair Francisco Muglia<sup>4</sup>, Carlos Eli Piccinato<sup>5</sup>

### Resumo

**Contexto:** O desenvolvimento de prótese vascular tem sido vital para os avanços e realizações da cirurgia vascular reconstrutora durante as últimas 5 décadas.

**Objetivos:** Desenvolver um novo modelo de prótese vascular microperfurada, confeccionada em tecido recoberto com um composto derivado do látex natural da seringueira (*Hevea brasiliensis*) e avaliar sua perviedade, trombogenicidade, biocompatibilidade e o processo de cicatrização, além de algumas propriedades mecânicas (adaptabilidade, elasticidade, impermeabilidade e possibilidade de sutura), utilizando como controle a prótese de politetrafluoretileno expandido no mesmo animal.

**Métodos:** Quinze cães foram separados em três grupos de cinco animais. Implantou-se a prótese de tecido e látex microperfurada e, no membro pélvico contralateral, a prótese de politetrafluoretileno expandido em todos os cães. O seguimento pós-operatório foi de 4, 8 e 12 semanas. A apreciação dos resultados foi feita segundo as avaliações clínicas dos pulsos, complicações (coleção líquida, deiscência, granuloma e infecção), arteriografias, análise macroscópica e elétron-micrografias de varredura.

**Resultados:** Os testes estatísticos aplicados não evidenciaram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) em relação às complicações pós-operatórias e perviedade dos enxertos. Ambas as próteses integraram-se adequadamente aos tecidos circunvizinhos, com um tecido de incorporação formado por fibras colágenas. Constatou-se a presença de neointima recoberta por endotélio em toda a extensão da superfície luminal da prótese de tecido e látex microperfurada. Ao contrário, na prótese de politetrafluoretileno expandido, o desenvolvimento endotelial sobre a superfície neointimal limitou-se às regiões próximas às anastomoses.

**Conclusões:** A prótese de tecido e látex microperfurada demonstrou qualidades estruturais (adaptabilidade, elasticidade, impermeabilidade e possibilidade de sutura) satisfatórias como substituto vascular. Estimulou o crescimento endotelial além das regiões de contato com a artéria nas anastomoses e foi biocompatível no sistema arterial do cão, apresentando adequada integração tecidual.

**Palavras-chave:** Prótese vascular, látex, politetrafluoretileno, endotélio, porosidade, artéria femoral.

### Abstract

**Background:** The development of vascular grafts has been crucial for advances and achievements in reconstructive vascular surgery over the past 5 decades.

**Objectives:** To develop a new model of microperforated vascular graft using fabric covered with a natural latex-derived polymer taken from *Hevea brasiliensis* and assess its patency, thrombogenicity, biocompatibility and healing process, besides some mechanical properties (adaptability, elasticity, impermeability and possibility of suture), using expanded polytetrafluoroethylene graft as control.

**Methods:** Fifteen dogs were divided into three groups of five animals. The microperforated latex graft was implanted in all dogs and the expanded polytetrafluoroethylene graft was implanted in the contralateral pelvic limb. Postoperative follow-up was 4, 8 and 12 weeks. Analysis of results was performed according to clinical evaluation of pulses, complications (fluid collection, dehiscence, granuloma and infection), arteriography, macroscopic analysis and scanning electron microscopy.

**Results:** Statistical tests revealed no significant differences ( $p > 0.05$ ) concerning post-operative complications and graft patency. Both grafts were properly integrated to surrounding tissues, with connective tissue formed by collagen fibers. A neointimal layer covering all extension of the luminal surface was observed in the microperforated latex graft. Conversely, the endothelial development over the neointimal surface was limited to regions adjacent to the anastomoses in the expanded polytetrafluoroethylene graft.

**Conclusions:** The microperforated latex graft showed satisfactory structural qualities (adaptability, elasticity, impermeability and possibility of suture) as a vascular substitute. It stimulated endothelial growth beyond contact regions with the artery in anastomoses and was biocompatible in the dog's arterial system, presenting adequate tissue integration.

**Keywords:** Vascular graft, latex, polytetrafluoroethylene, endothelium, porosity, femoral artery.

1 . Doutor, Departamento de Cirurgia e Anatomia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo (FMRP-USP), Ribeirão Preto, SP.

2 . Professor associado, Departamento de Bioquímica e Imunologia, FMRP-USP, Ribeirão Preto, SP.

3 . Professor Doutor, Divisão de Anatomia, Departamento de Cirurgia e Anatomia, FMRP-USP, Ribeirão Preto, SP.

4 . Professor Doutor, Divisão de Ciências da Imagem, Departamento de Clínica Médica, FMRP-USP, Ribeirão Preto, SP.

5 . Professor titular, Divisão de Cirurgia Vascular, Departamento de Cirurgia e Anatomia, FMRP-USP, Ribeirão Preto, SP.

Trabalho realizado no Laboratório de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental, Departamento de Cirurgia e Anatomia, FMRP-USP, Ribeirão Preto, SP.

Apoio financeiro parcial: CAPES e CNPq.

Artigo submetido em 18.01.07, aceito em 05.04.07.

## Introdução

Após Mrué<sup>1</sup> ter descrito o primeiro modelo de uma prótese esofágica biossintética constituída a partir de uma membrana derivada do látex natural polimerizado extraído da seringueira (*Hevea brasiliensis*), Freitas<sup>2</sup> desenvolveu um remendo vascular biocompatível deste mesmo material, implantando-o nas artérias femorais de cães. Recentemente, uma biomembrana de látex tem sido utilizada para tratamento de úlceras dos membros inferiores de diversas etiologias<sup>3,4</sup> e em miringoplastias<sup>5</sup> em humanos.

Grisotto<sup>6</sup> utilizou próteses tubulares confeccionadas a partir de um retalho de tecido tipo “meia fina” banhado com látex natural. Após 4 semanas do implante em artérias femorais de cães, estas próteses apresentaram 75% de perviedade, excelente integração aos tecidos circunvizinhos e células endoteliais jovens recobrando toda superfície interna. O resultado em relação a este crescimento endotelial foi a razão para continuar o desenvolvimento deste novo substituto vascular, ampliando o tempo de observação pós-operatória e acrescentando microporosidade na sua parede, no sentido de sua aproximação aos modelos empregados na prática clínica.

Portanto, neste trabalho, objetivou-se avaliar a perviedade, a trombogenicidade, a biocompatibilidade, o processo cicatricial estimulado pelo material e determinadas propriedades mecânicas (adaptabilidade, elasticidade, impermeabilidade e possibilidade de sutura), utilizando como controle a prótese de politetrafluoretileno expandido (ePTFE).

## Métodos

Foram utilizados quinze cães mestiços (*Canis familiaris*), fêmeas, adultas, cujo peso variou entre 15 e 20 kg. O planejamento cirúrgico foi fundamentado e executado segundo os Princípios Éticos na Experimentação Animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal - COBEA<sup>7</sup>. O protocolo de pesquisa foi previamente submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em

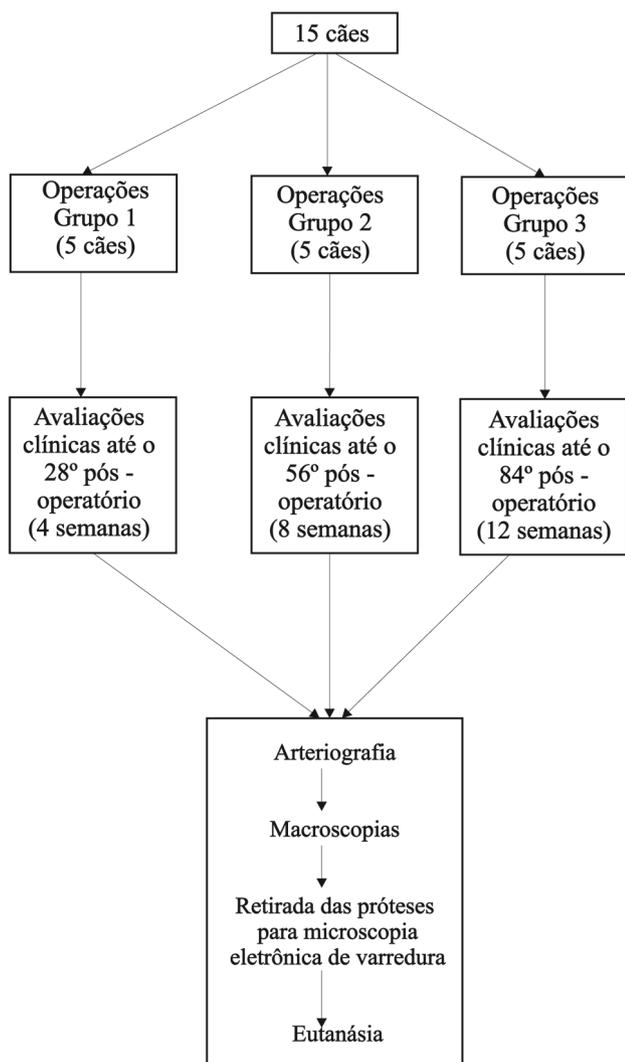
Pesquisa (CEP) da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP).

Os animais foram distribuídos aleatoriamente, por sorteio, em três grupos experimentais de cinco cães. Cada animal, individualmente, foi seu próprio controle, sendo implantada em um dos membros pélvicos uma nova prótese vascular microperfurada de tecido de nylon embebido com um composto derivado do látex natural da seringueira (*Hevea brasiliensis*) e, no membro pélvico contralateral, uma prótese tradicional de ePTFE, ambas com 3,5 cm de comprimento e 0,4 cm de diâmetro, em substituição a um segmento de 3,0 cm da artéria femoral comum. A única dessemelhança entre os grupos foi o tempo de observação clínica pós-operatória até o momento da arteriografia e da eutanásia para retirada das próteses (Figura 1).

## Descrição da técnica de confecção da prótese

A nova prótese foi desenvolvida por um trabalho conjunto dos Departamentos de Bioquímica e Imunologia (Laboratório de Neuroquímica) e de Cirurgia e Anatomia da FMRP-USP e do Grupo de Fotônica do Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo (IFSC-USP). A manufatura da prótese de tecido e látex microperfurada (TLM) foi realizada conforme a seqüência descrita a seguir:

- envolvimento de um molde de vidro com um retalho de tecido constituído de 85% de poliamida e 15% de elastano;
- imersão do molde envolvido com o tecido em um Becker contendo 500 mL do composto derivado do látex natural a uma temperatura ambiente de 15 a 25 °C, por 20 a 30 segundos;
- emersão do molde e aquecimento em estufa a 70 °C;
- remoção da prótese do bastão de vidro por meio de resfriamento em água corrente;
- reaquecimento da prótese em estufa a 70 °C, completando, assim, o processo de secagem e polimerização do látex;



**Figura 1** - Número de grupos, de animais, tempo de observação e procedimentos pós-operatórios

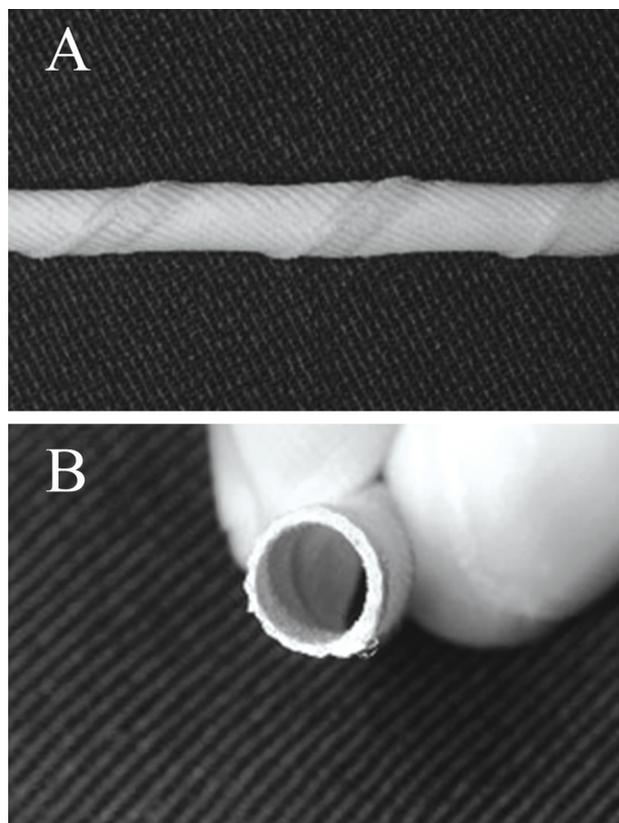
- nova retirada da estufa e resfriamento espontâneo, atingindo a temperatura ambiente (15 a 25 °C).

As próteses foram microperfuradas em toda sua extensão. As microperfurações apresentavam diâmetro da ordem de 50  $\mu\text{m}$  e o espaçamento entre elas era de 0,44 mm. Para este procedimento, utilizou-se o *laser Q-Switched* de Nd:YAG dobrado em frequência (comprimento de onda de 532 nm) focalizado sobre a prótese, com duração do pulso de 70 ps ( $70 \times 10^{-12}$  s), tempo de exposição de 150 ms/furo e uma potência de 200 mW.

#### **Implante das próteses**

Os acessos às artérias femorais foram feitos por inguilotomias longitudinais. As próteses (Figura 2)

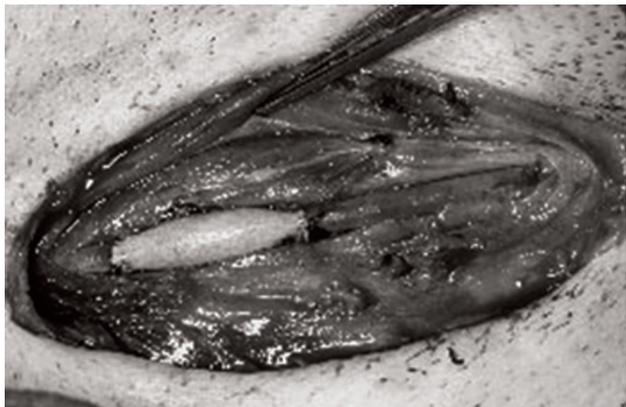
foram anastomosadas às artérias por meio de sutura contínua simples com fios de polipropileno 7-0 com agulha cardiovascular 3/8 – 1 cm (Prolene<sup>®</sup>, Ethicon). A extremidade a ser anastomosada inicialmente também foi escolhida por sorteio.



**Figura 2** - Aparência final da prótese de tecido e látex microperfurada. A) Superfície externa (observar a particularidade da configuração helicoidal do tecido); B) detalhe do diâmetro interno e da parede da prótese (aproximadamente 1,00 mm)

Após a liberação do fluxo, a hemostasia na linha de sutura era aguardada pela própria coagulação sangüínea do animal ou, circunstancialmente, com pontos simples adicionais hemostáticos (Figura 3).

Durante a primeira semana de pós-operatório, os animais foram submetidos a exames clínicos diários para avaliação da perviedade dos enxertos (palpação do pulso) e para detectar o aparecimento de complicações no sítio cirúrgico. Após os primeiros sete dias de



**Figura 3** - Aspecto do implante da prótese de tecido e látex microperfurada na artéria femoral do cão após liberação do fluxo sanguíneo

pós-operatório, o exame clínico foi realizado semanalmente até o momento da eutanásia para remoção das próteses. As complicações catalogadas foram: coleção líquida (hematoma ou seroma), deiscência de sutura, granuloma e infecção. Esgotado o tempo de observação clínica em cada grupo, o pulso foi qualificado como normal, diminuído ou ausente, e as complicações como presentes ou ausentes.

Ao término das 4, 8 e 12 semanas, os cães foram novamente anestesiados e submetidos à arteriografia para avaliar e documentar as condições de perviedade das próteses. As informações qualitativas e quantitativas analisadas foram: perviedade (ausência de estenose ou oclusão da prótese), estenose não-significativa (quando a estenose apresentava comprometimento menor que 70% do diâmetro da artéria femoral), estenose significativa (quando a estenose apresentava comprometimento igual ou maior que 70% do diâmetro da artéria femoral) e trombose (oclusão da prótese).

Após as arteriografias, foram realizadas inguinotomias para retirada das próteses. Durante os procedimentos, avaliaram-se as seguintes características locais determinadas pela presença do material implantado: incorporação ou aderência da prótese aos tecidos vizinhos, dilatação da prótese, formação de pseudoaneurismas anastomóticos, coleção líquida, fibrose e/ou granuloma.

Em seguida, as próteses foram removidas, seccionando-se as artérias femorais aproximadamente um centímetro proximal e distalmente às anastomoses. As peças foram imersas em solução fixadora de formol a 10% em temperatura ambiente, e enviadas para análise microscópica.

Finalmente, os cães foram submetidos à eutanásia por meio de uma injeção intravenosa de solução de tiopental sódico a 5% na dose de 50 mg/kg.

### *Microscopia eletrônica de varredura (MEV)*

Utilizou-se um microscópio eletrônico de varredura Jeol – JSM 5200 (Japão) e filmes 120 mm (ISO 400) da Kodak® para avaliação e documentação de amostras das superfícies externas e internas de todas as próteses implantadas. Os pontos de coleta das amostras foram as regiões de transição entre a artéria e a prótese (anastomoses proximal e distal) e a região média das próteses.

Foram analisados os seguintes parâmetros: formação de tecido fibroso e neoformação vascular periprótese, hiperplasia neointimal nas áreas de anastomoses, migração (infiltração) do tecido colágeno e da neoformação vascular pelas porosidades da prótese, organização da camada fibrinosa (neointima) na superfície luminal e proliferação endotelial na superfície de fluxo da prótese, sendo cada um destes itens catalogado como ausente ou presente.

### *Análise estatística*

O nível crítico a partir do qual as diferenças foram consideradas significativas foi de 5% ( $p < 0,05$ ). Os parâmetros clínicos e arteriográficos de cada grupo foram analisados individualmente e entre eles. Para estas apreciações, foi empregado o *software Statistic Package Science Social* (SPSS) versão 8.0, utilizando os seguintes testes estatísticos<sup>8,9</sup>: (1) teste da mediana, para comparações entre os grupos, relacionando-se cada variável a um único tipo de prótese (ePTFE x ePTFE ou TLM x TLM). Nos casos onde os valores não permitiam sua utilização (valores constantes), foi substituído pelo teste de Kruskal-Wallis; (2) teste de McNemar,

para comparações dentro de cada um dos grupos, relacionando-se cada variável aos dois tipos de próteses (ePTFE x TLM).

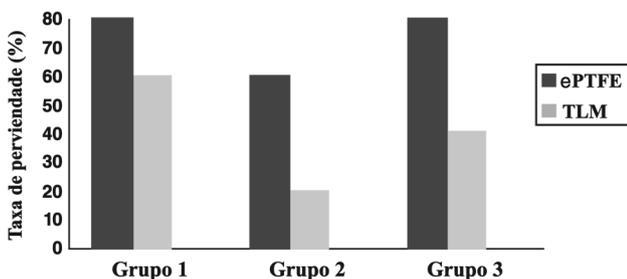
As análises dos resultados da macroscopia e da elétron-microscopia de varredura foram feitas descritivamente.

**Resultados**

Na análise global, observou-se taxa de infecção com deiscência de 3,3% (1/30 inguilotomias). As complicações não infecciosas (formação de granuloma e seroma), foram de 6,6% (2/30 inguilotomias), totalizando 10% a taxa geral de complicações (3/30 inguilotomias), sendo esta aceitável devido às dificuldades para antiseptia destes animais quando mantidos livres nos canis.

Quando da análise individual das complicações para cada tipo de prótese, estas foram de 13,3% para a prótese de TLM (2/15 implantes), que apresentou uma inguilotomia com infecção e deiscência (6,6%) e outra com granuloma e seroma (6,6%). A prótese de ePTFE apresentou taxa de complicações menor, de 6,6% (1/15 implantes), devido ao desenvolvimento de granuloma com seroma em uma inguilotomia.

Houve perda de pulso femoral (trombose do enxerto) em treze dos trinta membros pélvicos, com comprometimento de nove próteses de TLM e quatro próteses de ePTFE (Figura 4).

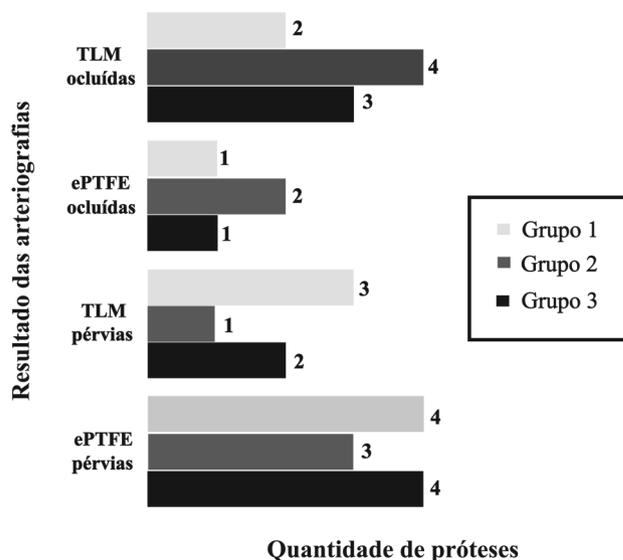


**Figura 4** - Taxa de perviabilidade nas próteses de politetrafluoretileno (ePTFE) e de tecido e látex microperfurada (TLM) por grupo de cães

Ressalta-se, nas avaliações clínicas, que nenhum cão demonstrou pulso diminuído, sendo apenas normal ou ausente. Os animais que apresentaram ausência de

pulso (trombose do enxerto) evoluíram inicialmente com diminuição da temperatura no membro pélvico ipsilateral e certa dificuldade na marcha. Entretanto, transcorridos 10 a 15 dias do pós-operatório, recuperaram a temperatura normal do membro e a capacidade deambulatoria, independentemente do tipo de prótese implantada, mantendo-se a ausência de pulso.

A análise geral das trinta arteriografias demonstrou perviedade em dezessete próteses (onze de ePTFE e seis de TLM), sendo que duas de ePTFE apresentaram imagens com estenoses não significativas (20 e 30%). Ocorreram trombozes em treze enxertos (quatro de ePTFE e nove de TLM) (Figura 5).



**Figura 5** - Resultado das arteriografias nos 3 grupos de cães submetidos ao implante de próteses de politetrafluoretileno (ePTFE) expandido ou de tecido e látex microperfurada (TLM)

Os testes estatísticos aplicados não evidenciaram diferenças significativas (p > 0,05) em relação às complicações pós-operatórias, presença de pulso e resultados das arteriografias quando se compararam os dois tipos de próteses dentro de cada grupo de cães (ePTFE x TLM). Do mesmo modo, não ocorreram diferenças significativas quando se confrontou cada um dos modelos de próteses entre os 3 grupos de animais (ePTFE x ePTFE ou TLM x TLM).

A prótese de TLM apresentou elasticidade adequada, adaptabilidade e facilidade de manuseio, principalmente no momento de suturá-la com a artéria receptora. A agulha penetrou facilmente na parede da prótese e esta se moldou muito bem ao estroma arterial.

Durante o procedimento de dissecação cirúrgica para a retirada dos enxertos, observou-se um tecido de incorporação brilhante e transparente envolvendo completamente os 2 modelos de próteses. Este tecido, ao redor das próteses de TLM, exibiu uma consistência mais delicada. Ao contrário, as próteses de ePTFE apresentavam um tecido de incorporação mais espesso, com uma reação fibrosa mais marcante.

Outra característica macroscópica em comum, verificada naquelas 27 próteses (13 de TLM e 14 de ePTFE) que não apresentaram complicações clínicas, foi a presença de um revestimento externo espesso, rugoso e brilhante, recobrendo completamente as próteses nas regiões das anastomoses e continuando-se com as adventícias das duas extremidades arteriais (Figura 6).

Em relação ao crescimento do tecido de revestimento interno, este se expandiu completamente por toda a superfície luminal das próteses de ePTFE e de TLM em todos os grupos de cães, ou seja, nos dois tipos de próteses o tecido de revestimento interno manteve-se ininterrupto com a íntima de ambas as extremidades arteriais. No entanto, ao se comparar os dois tipos de próteses, também foi possível notar que o tecido de revestimento interno da prótese de TLM apresentou um desenvolvimento mais consistente (maior espessura) do que o da prótese de ePTFE em todos os grupos de animais (Figura 7).

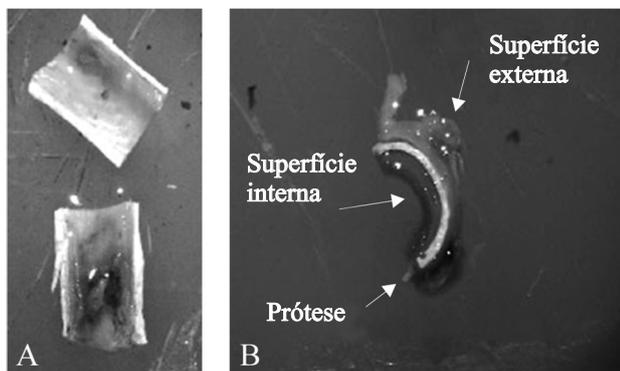
As elétron-micrografias de varredura dos revestimentos das superfícies externa e interna das próteses de ePTFE e de TLM implantadas também demonstraram resultados idênticos nos 3 grupos de animais. Em ambas as próteses, houve crescimento de um tecido conjuntivo de sustentação (neoadventícia), constituído por fibras colágenas semelhantes àquelas encontradas na adventícia da artéria. Deve ser enfatizado que as mesmas características observadas nas neoadventícias das pró-



**Figura 6** - Macrofotografias dos enxertos de A) tecido e látex e B) politetrafluoretileno expandido, após suas remoções, demonstrando a continuidade da adventícia de ambas as extremidades arteriais com o tecido de incorporação formado sobre as superfícies externas das próteses implantadas nos 3 grupos de animais

teses com 4 semanas de pós-operatório permaneceram inalteradas com 8 e 12 semanas (Figura 8).

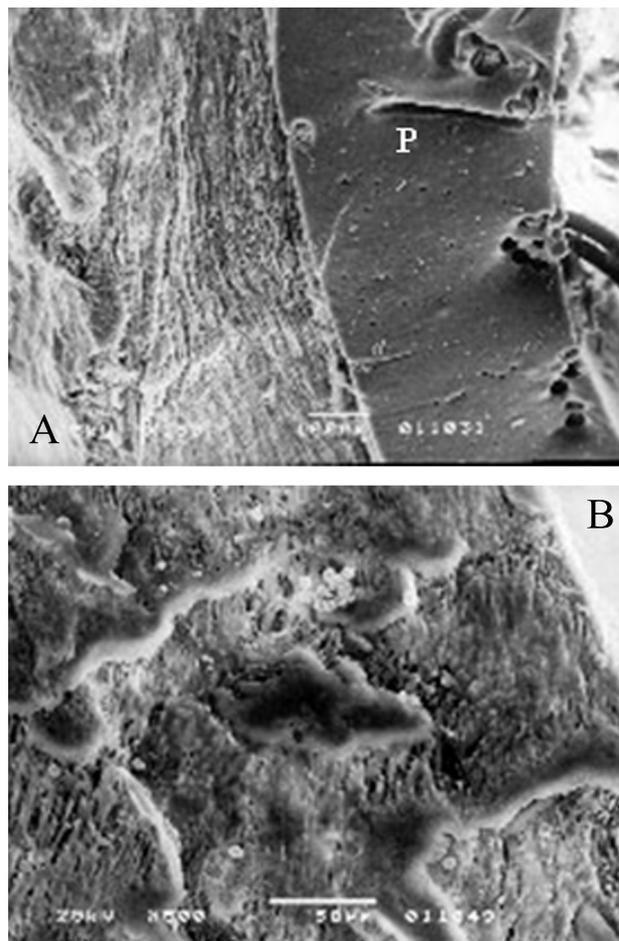
Após 4 semanas da cirurgia, foi possível observar a formação de tecido fibrinoconjuntivo revestindo inteiramente as superfícies luminas dos dois tipos de próteses. Este tecido era ininterrupto, com a íntima da artéria em ambas as anastomoses, caracterizando um desenvolvimento neointimal nas duas próteses. Na prótese de ePTFE, notou-se a continuidade do tecido fibrinoconjuntivo transmural com a neointima na superfície interna. Da mesma forma, na prótese de TLM, a neointima aprofundou-se para o interior das cavidades formadas pelo *laser* na superfície luminal. Não se identificaram diferenças entre a neointima formada a partir da anastomose proximal com aquela originada



**Figura 7** - Macrofotografias evidenciando: A) delgado tecido de revestimento na região central da superfície interna da prótese de politetrafluoretileno expandido (ePTFE) (imagem superior) e presença de espesso tecido de revestimento na região central da superfície interna da prótese confeccionada com látex (imagem inferior); B) tecidos de revestimentos formados nas superfícies externas (mais espessos) e internas (mais delicados) das próteses de tecido e látex microperfuradas (TLM). Características semelhantes foram encontradas nas próteses de politetrafluoretileno expandido

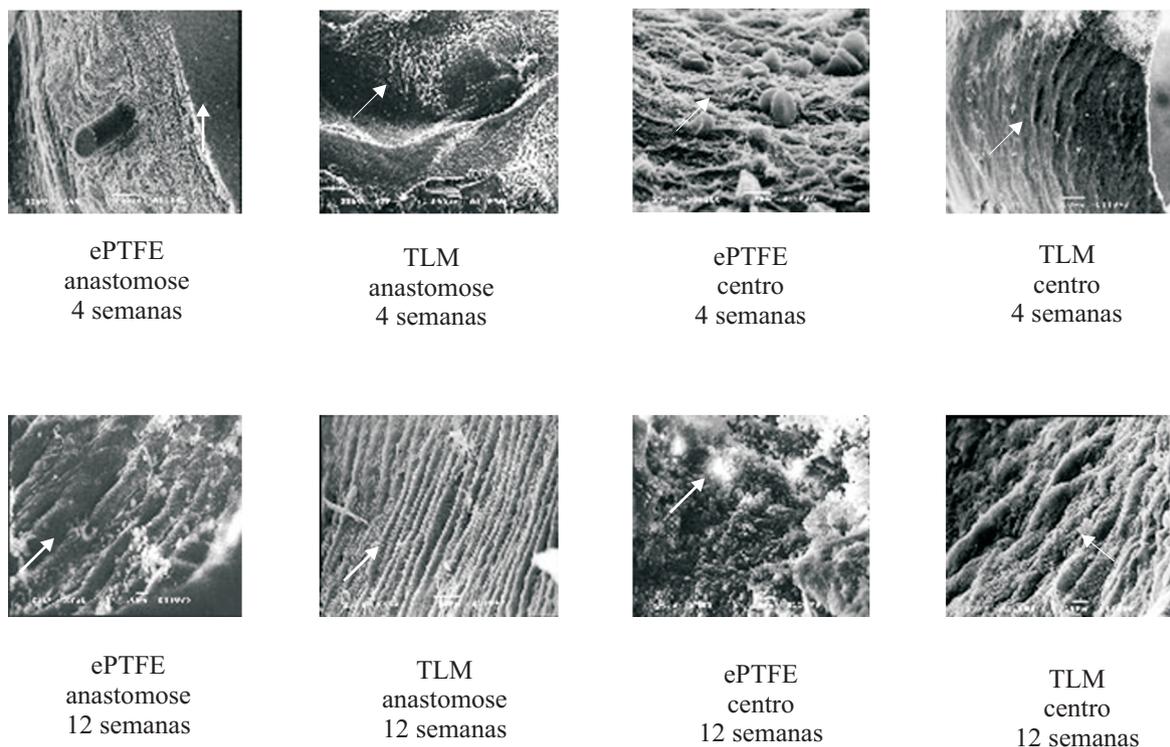
da anastomose distal. As mesmas características observadas nas neointimas dos enxertos com 4 semanas de pós-operatório permaneceram inalteradas com 8 e 12 semanas.

Especificamente em relação ao desenvolvimento endotelial, constataram-se diferenças entre as próteses de ePTFE e TLM. Reconheceu-se a presença de células endoteliais jovens em ambas as próteses, 4 semanas após a operação. Entretanto, no ePTFE, esse crescimento limitou-se às regiões próximas das anastomoses, não ocorrendo sua progressão para a região central desta prótese, a qual permaneceu revestida apenas pelo tecido neointimal. Ao contrário, na prótese de TLM, o endotélio desenvolveu-se por toda neointima, ocupando inclusive a região média desta prótese, porém em menor proporção, o que pressupõe o crescimento centrípeto a partir das anastomoses. O revestimento endotelial das duas próteses recobriu completamente as zonas de suturas (transição artério-prótese) e foi contínuo com o endotélio das extremidades arteriais adjacentes. O endotélio formado nas próteses era semelhante ao endotélio arterial típico.



**Figura 8** - A) Elétron-micrografia de varredura (150 X) de corte transversal da prótese de tecido e látex microperfurada (P) com 4 semanas de implantação. Observar presença de uma camada neo-adventícia (NA) bastante desenvolvida, constituída por diversas camadas de fibras colágenas superpostas, principalmente em um arranjo circular em torno da prótese. B) Elétron-micrografia de varredura (500 X) em corte transversal da estrutura nodo-fibrilar da prótese de politetrafluoretileno expandido com 4 semanas de implantação. Notar um completo preenchimento dos espaços internodais por fibrina e elementos figurados do sangue

A cobertura endotelial na região média da prótese de TLM apresentou desenvolvimento maior das células endoteliais, quase idêntico ao das regiões das anastomoses, após 4 e 12 semanas da operação. Não se observou o desenvolvimento de endotélio na região média da prótese de ePTFE. Não houve diferenças nas características do endotélio nas extremidades das anastomoses proximal e distal nos três grupos (Figura 9).



**Figura 9** - Elétron-micrografias de varredura das superfícies internas das próteses de politetrafluoretileno expandido (ePTFE) e de tecido e látex microperfurada (TLM) com 4 e 12 semanas de implantação em artéria femoral de cão, demonstrando a presença de desenvolvimento endotelial no enxerto de ePTFE apenas próximo à anastomose e o notável crescimento de endotélio por toda extensão da prótese de TLM, com formações de saliências e depressões paralelas (setas) muito semelhante ao endotélio arterial típico neste animal

## Discussão

Ainda que os enxertos autógenos arteriais ou venozos representem a aproximação do substituto vascular ideal e proporcionem os melhores resultados nas reconstruções vasculares, é evidente que tais enxertos nem sempre se encontram disponíveis ou são adequados, muitas vezes porque já foram utilizados ou existem riscos de complicações associadas à retirada da veia. Por estas e outras razões, faz-se necessária a opção de um substituto sintético, o que sustenta o interesse da pesquisa neste campo da cirurgia vascular<sup>10,11</sup>.

A seleção dos pacientes e a indicação da cirurgia são importantes em determinar o sucesso clínico a longo prazo das revascularizações com enxertos e podem explicar algumas das variações nos resultados descritos na literatura. Desde que muitos enxertos são inicialmente testados em vários modelos experimentais em animais, deve ser levado em consideração que existe

grande variação interespecie na resposta à prótese vascular implantada. Estes modelos propõem examinar a interação sangue-prótese em termos do efeito do material na função plaquetária, coagulação sangüínea, fibrinólise e infiltração celular, além de muitas outras características biológicas e mecânicas.

De maneira geral, a cicatrização dos substitutos vasculares tem sido primariamente estudada em três espécies: no suíno, no cão e em humanos<sup>12</sup>. Alguns autores descrevem que o comportamento das próteses nos cães é o que mais se assemelha daquele em humanos, o que explica a sua preferência como o modelo animal favorito para avaliação de enxertos vasculares<sup>13-15</sup>, opinião ratificada por Sauvage<sup>16</sup>, que acredita que a cicatrização humana nunca seja melhor do que a que se observa nos cães. Assim, um enxerto que cicatriza mal nesses animais não terá melhor resultado nos seres humanos.

Entretanto, tal opinião não é consenso na literatura, sendo o modelo suíno apontado como o que mais se aproxima do humano em relação às características do sistema cardiovascular e para análises da cicatrização, coagulação, fibrinólise e plaquetas<sup>17</sup>. Todavia, no suíno pode ocorrer a completa neo-endotelização da superfície de fluxo da prótese, diferentemente do que ocorre em humanos e nos cães<sup>15,18</sup>. Estas discrepâncias devem ser lembradas quando da revisão e comparação de resultados publicados.

Assim sendo, neste trabalho foi selecionado o modelo canino porque suas características de cicatrização (em relação ao processo de endotelização da superfície interna do enxerto) são morfológicamente similares àquelas observadas em humanos. Nestas duas espécies, a cicatrização da prótese além de uma zona limitada adjacente às anastomoses é muito menos completa, restringindo-se à proliferação do tecido fibroso vascularizado dentro dos interstícios até cerca da metade da espessura da sua parede, na maioria dos casos com pouca progressão esperada depois disso<sup>16</sup>.

Wu et al.<sup>19</sup>, em estudo de implantes de enxertos vasculares em diferentes regiões anatômicas no mesmo cão, definiram o período de 8 semanas como ideal para avaliar próteses arteriais, pois seus achados neste intervalo de tempo foram comparáveis aos encontrados após 3 anos de implante no mesmo experimento.

No presente trabalho, houve 3 períodos distintos de tempo de observação: 4, 8 e 12 semanas. Com estes intervalos, foi possível avaliar adequadamente a manutenção da perviedade e as características de cicatrização dos enxertos (reação de encapsulamento, endotelização e hiperplasia neointimal) de forma seqüencial.

Os resultados clínicos obtidos ratificam a biocompatibilidade já descrita do composto do látex natural da seringueira utilizado na confecção da prótese de TLM<sup>1-3,5,6,20-25</sup>.

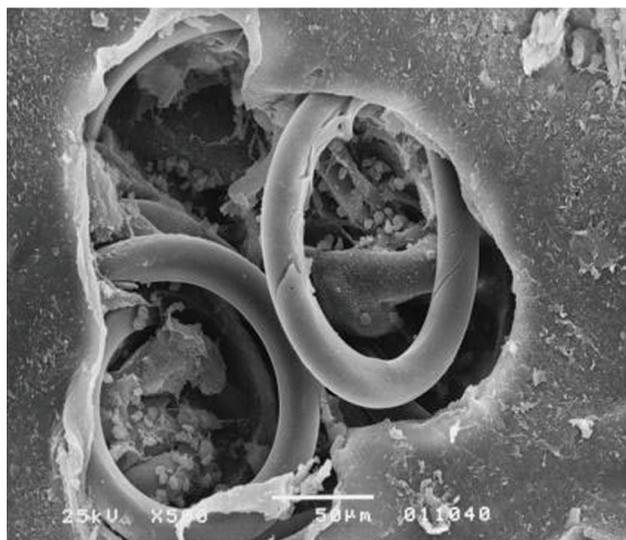
A prótese de TLM apresenta ainda a característica de biomaterial, ou seja, é um material sintético usado para substituir parte de um sistema vivo ou para funcionar em íntimo contato com um tecido vivo.

A combinação entre o tecido de poliamida e elastano e o composto derivado do látex natural prestou-se bem à confecção da prótese tubular, mostrando-se fisicamente resistente até a 12<sup>a</sup> semana de observação, já que não ocorreu nenhum caso de instabilidade dimensional (dilatação).

Desde as fases iniciais do desenvolvimento dos enxertos sintéticos têxteis, a porosidade tem sido apreciada como uma importante característica para o sucesso de um substituto vascular, sendo também considerada essencial para a funcionalidade das próteses vasculares sintéticas de pequeno calibre. Teoricamente, a porosidade é requerida para a transferência de fluidos e íons através da matriz do enxerto. Além disso, o material poroso fornece uma armação ou estrutura para o crescimento interno dos tecidos perivasculares<sup>12</sup>. Os resultados verificados com as próteses de ePTFE e de TLM neste trabalho ratificam este conceito.

Ambos os enxertos demonstram a presença de tecido fibrinoconjuntivo e elementos figurados do sangue através das suas microporosidades. O maior desenvolvimento da rede de fibrina no ePTFE pode ser devido às características particulares da microporosidade deste material, que apresenta apenas nodos interconectados por finas fibrilas, ao contrário da prótese de TLM, onde se observa a presença de orifícios com contornos e tamanhos diferentes (diâmetros de 54 a 441 µm), distribuídos irregularmente. Esses orifícios, muito provavelmente, são as aberturas dos microtúneis formados no corpo da parede da prótese durante a passagem (transfixação) pelo feixe de *laser* (Figura 10).

Os enxertos vasculares sintéticos com melhores resultados clínicos são compostos de uma estrutura de suporte porosa e um material usado para fechar os interstícios da armação, caso eles sejam suficientemente largos para possibilitar a saída do sangue. A estrutura de suporte é classificada como microporosa se os interstícios forem tão pequenos que a viscosidade e a tensão superficial do sangue heparinizado impeçam a hemorragia, ou como macroporosa se esses fatores não conseguirem evitar a perda sangüínea. Uma estrutura microporosa não necessita de qualquer material adicio-



**Figura 10** - Elétron-micrografia de varredura da superfície interna da prótese de tecido e látex microperfurada (TLM). Orifício produzido pelo *laser*, com formato anelar, contorno irregular e contendo filamentos da *Lycra*<sup>®</sup> íntegros (seta). Aumento ao microscópio de 500 x

nal para fechar seus interstícios microscópicos e pode ser usada sem pré-coagulação, inclusive nos pacientes heparinizados. O ePTFE é um exemplo desse tipo de estrutura. Embora contenha cerca de 85% de espaços abertos na sua malha, é impermeável ao sangue, provavelmente devido ao comprimento mais significativo dos seus canais intersticiais (cerca de 800  $\mu\text{m}$ ) em comparação com seu pequeno calibre, em torno de 15 a 30  $\mu\text{m}$ <sup>16</sup>.

Apesar de não demonstrado nitidamente pelas elétron-microscopias de varredura, a técnica utilizada para microperfurar a prótese de TLM foi eficiente em produzir microporosidade na sua parede. Esta propriedade foi comprovada empiricamente por um teste de vazamento de água e pela observação de um pequeno sangramento (tipo “transudação”) após a liberação do fluxo sanguíneo durante as cirurgias para implantação das próteses.

O crescimento transmural do tecido de cicatrização foi contínuo na prótese de ePTFE. Na prótese de TLM, essa continuidade foi prejudicada pela irregularidade dos microtúneis e possivelmente pela presença de monofilamentos do tecido no interior dos orifícios, ainda

que isso possa representar uma estrutura de suporte para a organização da rede de fibrina. Não se observaram diferenças nas neoadventícias formadas nos dois tipos de próteses, sendo as mesmas contínuas com a adventícia arterial, integrando-se adequadamente aos tecidos perivasculares.

Verificou-se crescimento endotelial em ambas as próteses após 4 semanas de operação. No ePTFE esse crescimento se limitou às zonas perianastomóticas, não observando-se sua presença na região central da prótese, a qual permaneceu revestida internamente apenas pelo tecido neointimal. Tal característica se manteve nos grupos com 8 e 12 semanas de pós-operatório, confirmando resultados descritos anteriormente na literatura com este tipo de substituto vascular<sup>26,27</sup>.

Ao contrário, na prótese de TLM observou-se o crescimento de uma cobertura endotelial por toda a neoíntima, inclusive na região média desta prótese. Devido ao maior desenvolvimento da camada endotelial encontrar-se próximo às anastomoses, deduz-se que a progressão destas células tem um caráter centrípeto. O revestimento endotelial recobriu completamente as zonas de suturas (transição artério-prótese) e foi contínuo e semelhante ao endotélio das extremidades arteriais adjacentes.

Nos animais dos grupos com 8 e 12 semanas de pós-operatório, a camada endotelial da região central da prótese de TLM apresentou desenvolvimento maior, semelhante ao observado nos sítios de anastomoses.

Esses resultados são muito significativos porque, à semelhança do que ocorre em humanos, o desenvolvimento endotelial no cão normalmente se mantém nas zonas perianastomóticas, conforme evidenciado no ePTFE, não sendo descrito nenhum material com capacidade de estimular o crescimento endotelial por toda sua extensão nesta região anatômica de implantação<sup>18,26,28-30</sup>.

Os resultado em relação ao crescimento endotelial na prótese de TLM assume grande importância pelas características peculiares do seu desenvolvimento nos enxertos vasculares sintéticos em humanos (à semelhança do cão). Como, até o momento, nenhum substi-

tuto vascular foi revestido inteiramente por endotélio nesses dois gêneros de animais, abre-se uma grande perspectiva no desenvolvimento desta prótese, consubstanciado por um material que finalmente possa estimular o crescimento endotelial muito além das proximidades das extremidades arteriais.

### Conclusões

A prótese de TLM demonstrou propriedades mecânicas (adaptabilidade, elasticidade, impermeabilidade e possibilidade de sutura) que favorecem seu uso como substituto vascular. Em relação às propriedades biológicas, mostrou-se biocompatível no sistema arterial do cão, apresentando adequada integração tecidual e crescimento endotelial além das regiões de contato com a artéria nas anastomoses, sendo a neointima inteiramente revestida por endotélio.

### Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Sérgio Carlos Zilio e ao Dr. Lino Misoguti, do Grupo de Fotônica do Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo (IFSC – USP), pela execução das microperfurações a laser nas próteses vasculares de látex; a Sra. Silvia Helena Epifânio, pelo inestimável auxílio nas cirurgias e confecção das próteses; a João Sérgio Epifânio, pelo cuidado com os animais, e aos funcionários do Laboratório de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental e de Microscopia Eletrônica da FMRP-USP.

### Referências

- Mrué F. Substituição do esôfago cervical por prótese biossintética de látex: estudo experimental em cães [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto; 1996.
- Freitas MAS. Avaliação da prótese de látex natural como remendo em arterioplastias femorais. Estudo experimental em cães [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto; 2001.
- Frade MA, Valverde RV, de Assis RV, Coutinho-Netto J, Foss NT. Chronic phlebotomic cutaneous ulcer: a therapeutic proposal. *Int J Dermatol.* 2001;40:238-40.
- Frade MA, Cursi IB, Andrade FF. Management of diabetic skin wounds with a natural latex biomembrane. *Med Cutan Iber Lat Am.* 2004;32:157-62.
- Oliveira JAA, Hyppolito MA, Coutinho-Netto J, Mrué F. Miringoplastia com a utilização de um novo material biossintético. *Rev Bras Otorrinolaringol.* 2003;69:649-55.
- Grisotto PC. Desenvolvimento de uma nova prótese vascular derivada do látex natural e sua utilização na substituição de um segmento da artéria femoral de cão [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto; 2003.
- COBEA [site na Internet]. Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Princípios éticos na experimentação animal. Disponível em: <http://www.cobea.org.br/etica.htm#3>. Acessado: 21/10/2006.
- Monteiro Filho, G. Segredos da estatística em pesquisas científicas. Goiânia: Vieira; 2004.
- Siegel S. Nonparametric statistics for the behavioral sciences. New York: McGraw-Hill; 1956.
- Bosiers M, Deloose K, Verbist J, et al. Heparin-bonded expanded polytetrafluoroethylene vascular graft for femoropopliteal and femorocrural bypass grafting: 1-year results. *J Vasc Surg.* 2006;43:313-8.
- Kashyap VS, Ahn SS, Quinones-Baldrich WJ, et al. Infrapopliteal-lower extremity revascularization with prosthetic conduit: a 20-year experience. *Vasc Endovascular Surg.* 2002;36:255-62.
- Tabbara M, White RA. Biologic and prosthetic materials for vascular conduits. In: Veith FJ, Hobson RW 2nd, Williams RA, Wilson SE, editors. *Vascular surgery: principles and practice.* New York: McGraw-Hill; 1994. p. 523-35.
- Campbell CD, Goldfarb D, Roe R. A small arterial substitute: expanded microporous polytetrafluoroethylene: patency versus porosity. *Ann Surg.* 1975;182:138-43.
- Kempczinski RF. Vascular Grafts (Overview). In: Rutherford RB, editor. *Vascular surgery.* Philadelphia: WB Saunders; 1995. p. 470-4.
- Brophy CM, Ito RK, Quist WC, et al. A new canine model for evaluating blood prosthetic arterial graft interactions. *J Biomed Mater Res.* 1991;25:1031-8.
- Sauvage LR. Biologic Behavior of Grafts in the Arterial System. In: Haimovici H, editor. *Vascular surgery.* Massachusetts: Blackwell; 1996. p. 158-93.
- Mehran RJ, Ricci MA, Graham AM, Carter K, Symes JF. Porcine model for vascular graft studies. *J Invest Surg.* 1991;4:37-44.
- Sauvage LR, Berger KE, Wood SJ, et al. Interspecies healing of porous arterial prostheses: observations, 1960 to 1974. *Arch Surg.* 1974;109:698-705.
- Wu MH, Shi Q, Kouchi Y, et al. Implant site influence on arterial prosthesis healing: a comparative study with a triple implantation model in the same dog. *J Vasc Surg.* 1997;25:528-36.
- Lachat JJ, Mrué F, Thomazini JA, et al. Morphological and biochemical studies of biocompatibility of a membrane manufactured from the natural latex of *Hevea brasiliensis*. *Acta Microsc.* 1997;6:758-9.
- Mente ED, Ceneviva R, Coutinho Netto J. Transplante de ilhotas pancreáticas em dispositivos de imunisolamento celular: resultados iniciais. *Acta Cir Bras.* 2001;16(Supl. 1):84-7.
- Mrué F. Neoformação tecidual induzida por biomembrana de látex natural com polilisina. Aplicabilidade na neoformação esofágica e da parede abdominal. Estudo experimental em cães [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto; 2000.

23. Mrué F, Coutinho Netto J, Ceneviva R, et al. Evaluation of the biocompatibility of a new membrane. *Mat Res.* 2004;7:277-83.
24. Pinho ECCM, Sousa SJF, Schaud F, Lachat JJ, Coutinho Netto J. Uso experimental da biomembrana de látex na reconstrução conjuntival. *Arq Bras Oftalmol.* 2004;67:27-32.
25. Sader SL, Coutinho-Netto J, Barbieri Neto J, et al. Substituição parcial do pericárdio de cães por membrana de látex natural. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2000;15:338-44.
26. Berger K, Sauvage LR, Rao AM, Wood SJ. Healing of arterial prostheses in man: its incompleteness. *Ann Surg.* 1972;175:118-27.
27. Contreras MA, Quist WC, LoGerfo FW. Effect of porosity on small-diameter vascular graft healing. *Microsurgery.* 2000;20:15-21.
28. Sauvage LR, Berger K, Beilin LB, et al. Presence of endothelium in an axillary: femoral graft knitted Dacron with an external velour surface. *Ann Surg.* 1975;182:749-53.
29. Malone JM, Moore WS, Campagna G, Bean B. Bacteremic infectability of vascular grafts: the influence of pseudointimal integrity and duration of graft function. *Surgery.* 1975;78:211-6.
30. Brewster DC. Prosthetic grafts. In: Rutherford RB, editor. *Vascular surgery.* Philadelphia: WB Saunders; 1995. p. 492-521.

---

Correspondência:

Carlos Eli Piccinato

Depto. de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

Av. Bandeirantes, 3.900

CEP 14049-900 – Ribeirão Preto, SP

Tel.: (16) 3602.2407 (16) 3633.0836

E-mail: cepiccin@fmrp.usp.br

## ***Colega Associado da SBACV***

Você está convidado a participar do crescimento e consolidação do J Vasc Bras - como autor, leitor ou revisor.

Leia e divulgue; conheça as normas e submeta seus trabalhos.

---

### **Jornal Vascular Brasileiro - Secretaria Editorial**

Av. Protásio Alves, 1981 - sala 401

CEP 90410-002 - Porto Alegre, RS - Fone: (51)3388.5000

E-mail: [jvascbr@terra.com.br](mailto:jvascbr@terra.com.br)

### **JORNAL VASCULAR BRASILEIRO**

Cirurgia Vascular, Endovascular e Angiologia



Órgão Oficial da Sociedade Brasileira de Angiologia e de Cirurgia Vascular J Vasc Bras 2007 - Vol.6 - Nº1