



Uso da membrana de Látex Natural e Colágeno na Regeneração Óssea Guiada de Tíbia de Ratos

Marcela Britto de Paiva^{1*}, Bruna Leonel Carlos¹, Jéssica Suzuki Yamanaka¹, Aline de Azevedo¹, Ana Clara de Oliveira¹, Carla Teresa de Oliveira¹, Márcio Koiti Saito¹, Gabriela Rezende Yanagihara¹, Ana Paula Macedo², Antônio Carlos Shimano¹

¹Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, Brasil

²Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, Brasil

*marcelaphaiva@yahoo.com.br

Resumo, motivação e objetivos: A necessidade de analisar novos biomateriais que auxiliem no processo da regeneração óssea de muitas condições patológicas, tem levado vários pesquisadores a estudarem a membrana do látex natural (LN) produzida a partir da seringueira *Hevea brasiliensis* (BARROS et al, 2016), e o colágeno tipo 1 de origem bovina, pois, estes biomateriais têm mostrado promissores resultados em aplicações biomédicas, apresentando características como biocompatibilidade, crescimento ósseo e estímulo à angiogênese, quando utilizados como coadjuvante no processo de neoformação óssea (BUBALO et al., 2017). Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito das membranas de LN e colágeno no processo de regeneração óssea guiada em tíbia de ratos.

Métodos. Este trabalho foi aprovado pela Comissão de ética em uso de animais da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP/USP), nº 0084/2017. As membranas de LN e LN/COL foram produzidas no laboratório de Bioengenharia, da FMRP/USP seguindo a metodologia de Herculano et al., 2009, adaptada para a adição de colágeno hidrolisado em pó nas membranas de LN/COL. Foi adotado o método “casting”, que consistiu em depositar soluções de LN, ou LN/COL em placa Petri com 6,0cm de diâmetro, formando uma camada de 0,50 mm. As soluções permaneceram em secagem (com temperatura de 24°C ± 2°C) por 48 horas. Em seguida, as membranas foram cortadas em uma área de 6mm e esterilizadas. As membranas de colágeno foram adquiridas comercialmente. As mesmas são produzidas a partir de colágeno tipo 1 de origem bovina. A membrana mais utilizada clinicamente e experimentalmente é a GenDerm da marca Baumer®. Foram utilizados quarenta (40) ratos machos da raça *Rattus norvegicus albinus*, da variedade *Wistar*, com cinco semanas de idade e peso médio de 300 g. Os animais foram anestesiados com ketamina (50 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg), via intramuscular na região posterior da coxa. Após confirmação da anestesia, foi feita tricotomia e a assepsia local, e os animais foram posicionados em tríplex flexão do membro pélvico direito. Foi localizada a articulação do joelho, 1 cm abaixo da articulação, foi realizada uma incisão linear na pele e na musculatura. Os mesmos foram afastados e realizado um defeito ósseo nas tíbias direitas, com uma broca trefina de 2,9 mm de diâmetro externo, acoplado a um motor de baixa rotação (3000 rpm) e constante irrigação de solução fisiológica estéril para evitar o superaquecimento do local. Os animais foram distribuídos em 4 grupos (n=10) de acordo com o tratamento: controle (CON) sem tratamento; tratados com membrana de látex natural (LN); tratados com membrana de látex natural/colágeno (LN/COL); tratados com membrana de colágeno (COL). Após o período experimental de 42 dias, os animais foram submetidos à eutanásia e as tíbias direitas foram dissecadas, limpas das partes moles e submetidas à análise densitométrica(n=10) e mecânica(n=8). Para avaliar a distribuição dos dados



foi utilizado o teste *Shapiro-Wilk*. Para comparação dos grupos foi utilizada a análise de variância de 1 via com pós-teste de Tukey. Foi adotado o nível de significância de 5% para análise dos dados.

Resultados preliminares: Os dados apresentam distribuição normal para densidade mineral óssea ($p=0,450$), força máxima ($p=0,237$) e rigidez relativa ($p=0,217$). Não foram observadas diferenças entre os grupos em relação a variável DMO ($p=0,818$) e rigidez relativa ($p=0,073$). Foi observada diferença em relação à variável força máxima ($p < 0,001$), sendo que o grupo COL teve diferença quando comparado ao grupo CON ($p < 0,001$), grupo LN ($p < 0,001$) e grupo LN/COL ($p < 0,007$). A Tabela 1 apresenta os valores da força máxima, rigidez relativa e DMO entre os grupos.

Discussão e Conclusão: Os achados quantitativos obtidos através da DMO nos permitiu compreender que os tratamentos não influenciaram a DMO, isso pode ter ocorrido devido à alta capacidade de regeneração óssea obtida na espécie animal analisada, não sendo observada diferença entre os grupos tratados e sem tratamento, e também a influência da descarga de peso fisiológica que ocorreu nas tíbias durante a fase experimental pós-cirúrgica. Também foi possível observar de forma quantitativa, que as amostras não se tornaram mais rígidas devido ao tratamento empregado, demonstrando não haver influência. Este resultado foi controverso ao que afirma Augat et al., (2014), pois, segundo ele, o progresso na consolidação óssea deve ser acompanhado por aumento na força e rigidez da estrutura óssea. Estes achados poderão ser confrontados com análises histológicas que estão em andamento, e nos permitirá esclarecer se houve maior ou menor neoformação óssea no local. Em relação à força máxima, apenas o grupo COL apresentou resultado significativo e pode ser explicado pelo alto poder de adesão celular e estímulo a cicatrização promovido (BUBALO et al., 2017). Talvez seja necessário fazer novos ajustes na composição das demais membranas. Concluímos que somente a utilização de membrana de COL apresentou resultados significativos na regeneração óssea guiada em defeitos de tíbias de ratos, porém, são necessárias as análises histológicas e moleculares para confirmar esses achados.

Tabela 1: Resultados da Densidade Mineral óssea (DMO), força máxima e rigidez relativa representadas em média (desvio padrão).

	DMO	Força máxima	Rigidez relativa
CON	0,106 (0,020)	44,08 (6,03)	24,84 (5,81)
LN	0,103 (0,025)	47,78 (4,39)	26,34 (2,48)
LN/COL	0,113 (0,024)	50,85 (6,78)	28,66 (3,17)
COL	0,109 (0,028)	60,40 (3,58)	29,76 (3,31)

Agradecimentos. CAPES

Palavras-chave: Regeneração óssea; Látex; Colágeno; Defeito ósseo; Ratos.

Referências:

- AUGAT, P. et al. Biomechanical methods for the assessment of fracture repair. *Injury*, v.45, n.2, p.32–38, 2014.
- BARROS, N. R. et al. Oxytocin Sustained Release Using Natural Rubber Latex Membranes. *International Journal for Peptide Research & Therapeutics*, v.22, n.4, p.435-444, 2016.
- BUBALO, M. et al. The use of collagen membranes in guided tissue regeneration. *Vojnosanitetski pregled*, v.74, n. 8, p. 1–6, 2017.
- HERCULANO, R. D. et al. Natural Rubber Latex Used as Drug Delivery System in Guided Bone Regeneration (GBR). *Materials Research*, v. 12, n. 2, p. 253–256, 2009.