

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

CÂMPUS DE ARAÇATUBA

**AVALIAÇÃO DE ÚLCERAS DE CÓRNEA
COMPLICADAS EM CÃES, TRATADAS COM A
MEMBRANA DE POLI(BUTILENO ADIPATO-CO-
TEREFTALATO) (PBAT) E AMIDO TERMOPLÁSTICO
(TPS)**

Giovanna Giuffrida Rodrigues

Médica Veterinária

ARAÇATUBA – SP

2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

CÂMPUS DE ARAÇATUBA

**AVALIAÇÃO DE ÚLCERAS DE CÓRNEA
COMPLICADAS EM CÃES, TRATADAS COM A
MEMBRANA DE POLI(BUTILENO ADIPATO-CO-
TEREFTALATO) (PBAT) E AMIDO TERMOPLÁSTICO
(TPS)**

Giovanna Giuffrida Rodrigues

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Lima de Andrade

Dissertação apresentada à
Faculdade de Medicina
Veterinária – Unesp, Campus
de Araçatuba, como parte das
exigências para a obtenção do
título de Mestre em Ciência
Animal (Fisiopatologia Médica e
Cirúrgica)

ARAÇATUBA – SP

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da FMVA / UNESP

R696a Rodrigues, Giovanna Giuffrida
Avaliação de úlceras de córnea complicadas em cães, tratadas com a membrana de poli (Butileno Adipato-Cotereftalato) (PBAT) e amido termoplástico (TPS) / Giovanna Giuffrida Rodrigues. – Araçatuba: [s.n.], 2017.
58 f. il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2017
Orientador: Prof. Dr. Alexandre Lima de Andrade

1. Materiais Biocompatíveis 2. Úlcera da Córnea 3. Oftalmologia 4. Microcirurgia I.Título.

CDD 636.7

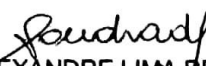
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: AVALIAÇÃO DE ÚLCERAS DE CÓRNEA COMPLICADAS EM CÃES, TRATADAS
COM A MEMBRANA DE POLI(BUTILENO ADIPATO-CO-TEREFTALATO) (PBAT) E
AMIDO TERMOPLÁSTICO (TPS)

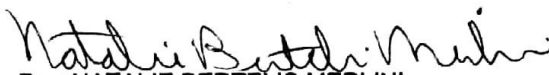
AUTORA: GIOVANNA GIUFFRIDA RODRIGUES

ORIENTADOR: ALEXANDRE LIMA DE ANDRADE

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA ANIMAL, área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. ALEXANDRE LIMA DE ANDRADE
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp


Profa. Dra. FLÁVIA DE REZENDE EUGÊNIO
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp


Dra. NATALIE BERTELIS MERLINI
Doutora em Medicina Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Câmpus de Botucatu/Unesp

Araçatuba, 25 de agosto de 2017.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

GIOVANNA GIUFFRIDA RODRIGUES – nascida em 22 de julho de 1987, na cidade de Santos – SP. Médica Veterinária graduada pela Universidade Estadual de Londrina, no ano de 2010. Participou do Programa de Residência Médico-Veterinária na área Clínica Médica, Cirúrgica e Anestesiologia de Animais de Companhia, com ênfase em Clínica Cirúrgica, no período de março de 2011 a fevereiro de 2013, pela mesma instituição. Em março de 2015, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária – FMVA, Câmpus de Araçatuba, na área de concentração em Fisiopatologia Médica e Cirúrgica, sob orientação do Professor Adjunto Alexandre Lima de Andrade.

AGRADECIMENTOS

A todos os educadores, sobretudo aos que fizeram parte da minha trajetória, edificando minha vida pessoal e acadêmica.

Aos animais, sempre e a todo momento. Àqueles que preencheram o meu coração no dia a dia em Araçatuba: Caju, Inuki, Mei, Pirata, Belinha, Mel, Tartaruga.

Aos colegas médicos veterinários que conviveram comigo nesta jormanda.

Ao meu orientador Alexandre Lima de Andrade, que me deu oportunidade, me ensinou, incentivou e ajudou. Que sorte a minha!

À professora Flavia de Rezende Eugênio, pelos ensinamentos, discussões de caso clínico e compreensão.

À professora Flavia de Almeida Lucas, por gentilmente participar da banca de meu Exame Geral de Qualificação, e por sua contribuição.

À professora Natalie Bertelis Merlini, sempre uma inspiração! Seu sucesso me faz feliz.

Às professoras Alessandra de Almeida Lucas e Rosario Elisa Suman Bretas, e ao Laboratório de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de São

Carlos (UFSCar), por nos receberem, fornecerem materiais e suporte técnico-científico para a execução deste trabalho.

À professora Maria Cecília Rui Luvizotto, pelos dias de estudo.

Aos funcionários do Hospital Veterinário “Luis Quintiliano de Oliveira”, docentes e alunos da Faculdade de Medicina Veterinária- Unesp, campus de Araçatuba, pela acolhida generosa.

A Aline Cardoso Pereira e Juliana Tessália Wagatsuma, por me auxiliarem demais durante esses dois anos de Unesp/ FMVA.

À professora Carmen Lucia Scortecchi Hilst, por absolutamente tudo.

A duas criaturas que sustentaram, por muitos anos, a minha felicidade e a minha motivação; e que infelizmente não conseguiram alcançar este dia comigo: minha filha Hannah e meu grande amigo Eduardo Yudi Hashizume. Difícil pesar o que sinto mais, saudade ou gratidão.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	9
SUMMARY.....	10
CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	11
REFERÊNCIAS.....	23
CAPÍTULO 2- AVALIAÇÃO DE ÚLCERAS DE CÓRNEA COMPLICADAS EM CÃES, TRATADAS COM A MEMBRANA DE POLI(BUTILENO ADIPATO-CO-TEREFTALATO) (PBAT) E AMIDO TERMOPLÁSTICO (TPS).....	33
RESUMO.....	33
1 INTRODUÇÃO.....	34
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
2.1 Confeção e esterilização das membranas de PBAT/ TPS.....	37
2.2 Animais.....	38
2.3 Ceratoplastia lamelar utilizando membrana sintética à base de PBAT/TPS.....	39
2.4 Avaliação clínica posoperatória.....	39
2.5 Análise estatística.....	40
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
4 CONCLUSÃO.....	45
5 REFERÊNCIAS.....	47

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Página

Tabela 1-	Distribuição de animais incluídos no estudo quanto à raça, sexo, idade e causa da ceratite ulcerativa. Araçatuba (SP), 2017.....	55
Figura 1-	Membrana de PBAT/TPS- folha íntegra (à esquerda) e após recortada em fragmentos de 1 cm ² e embaladas individualmente e esterilizadas com radiação gama- carga de 10 Gray (Gy) (à direita).	56
Figura 2-	Dados referentes a mediana dos escores de blefarospasmo, secreção ocular, hiperemia conjuntival e vascularização corneal nos momentos avaliados.....	57
Figura 3-	Imagem fotográfica da evolução posoperatória do uso da membrana de PBAT/TPS no tratamento de úlcera de córnea profunda. Paciente #3, ShihTzu, macho, dois anos de idade. Em (A) no M0. Nota-se alteração do contorno da córnea em região paracentral com exposição da membrana de Descemet; em (B), aspecto pós-operatório imediato; Em (C), evolução clínica aos três dias de pós-operatório. Notar edema corneal nas adjacências da membrana e vascularização corneal do tipo dicotomizada em direção ao enxerto; em (D), aspecto no M7. Notar atenuação vascular e edema corneal difuso; em (E), evolução pós-operatória aos 15 dias. Notar melhora	

do edema e membrana adequadamente aplicada no leito da úlcera; em
(F) aspecto clínico aos 30 dia de posoperatório (M30) após remoção da
membrana e sutura. Notar leucoma cicatricial restrito a lesão tratada e
granuloma de ponto
perilesional.....

AVALIAÇÃO DE ÚLCERAS DE CÓRNEA COMPLICADAS EM CÃES, TRATADAS COM A MEMBRANA DE POLI(BUTILENO ADIPATO-COTEREFTALATO) (PBAT) E AMIDO TERMOPLÁSTICO (TPS)

RESUMO- A ceratite ulcerativa é uma condição comum e importante e ocorre quando o epitélio e uma quantidade variável de estroma são perdidos. Atualmente, tem-se estudado o emprego de membrana de polímeros sintéticos, para reparação tectônica, em substituição aos tecidos biológicos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o tratamento, por ceratoplastia lamelar com o uso da membrana de Poli(butileno adipato-co-tereftalato) (PBAT) / Amido Termoplástico (TPS), de úlceras de córnea de seis cães da rotina clínica. Foram avaliados os aspectos clínicos quanto a: blefarospasmo, hiperemia conjuntival, secreção ocular, vascularização corneal, e sinais de extrusão da membrana aos terceiro, sétimo, décimo quinto e trigésimo dias de posoperatório (M3, M7, M15, M30). Com os valores obtidos, foi realizada análise descritiva dos resultados, com cálculo de porcentagem e mediana dos dados e escores adotados. Quanto ao blefarospasmo, este foi leve até M3, tornando-se ausente em M30. A secreção ocular esteve sob forma leve até o M7 e se tornou ausente até o M30. Com relação à hiperemia conjuntival, observou-se que foi intensa no M0 e regrediu temporalmente até M15. A vascularização corneal teve importância clínica a partir de M7, tornando-se intensa no M15 e moderada no M30. Após remoção da membrana, observou-se cicatrização corneal e manutenção da estrutura do bulbo do olho. Com base nos resultados obtidos e nas condições aqui estabelecidas, é possível concluir que a membrana de PBAT/TPS constituiu-se em alternativa viável de ceratoplastia lamelar.

Palavras-chave: Materiais biocompatíveis, úlceras da córnea, oftalmologia, córnea, microcirurgia.

**EVALUATION OF COMPLICATED CORNEAL ULCERS IN DOGS TREATED
WITH POLY(BUTYLENE ADIPATE-CO -TEREPHTHALATE) (PBAT) /
TERMOPLASTIC STARCH (TPS) MEMBRANE.**

SUMMARY- Ulcerative keratitis or corneal ulcer is a common and important condition and occurs when the epithelium and a variable amount of stroma are lost. Nowadays, the use of synthetic polymer membranes has been studied for tectonic repair, replacing biological tissues. The aim of this study was to evaluate the treatment of corneal ulcers of six dogs from clinical routine by interlamellar keratoplasty with Poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) / Thermoplastic Starch (TPS) membranes. The clinical aspects regarding blepharospasm, conjunctival hyperemia, ocular secretion, corneal vascularization, and membrane extrusion signals at third, seventh, fifteenth and thirtieth postoperative days (M3, M7, M15, M30) were evaluated. With the obtained data a descriptive analysis of the results was performed, with calculation of percentage and median of the data and adopted scores. As for blepharospasm, it was mild to M3, becoming absent in M30. The ocular secretion, was in light form until the M7, and became absent until the M30. Conjunctival hyperemia was observed to be intense in M0 and regressed temporarily to M15. The corneal vascularization had clinical importance from M7, becoming intense in M15 and moderate in M30. After removal of the membrane, corneal healing was observed, and the structure of the eye bulb was maintained. Based on the results obtained and the conditions established herein, it is possible to conclude that the PBAT / TPS membrane is a viable alternative to lamellar keratoplasty.

Key words: Biocompatible materials, corneal ulcer, ophthalmology, cornea, microsurgery.

CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS

A **córnea**, em conjunto com a esclera, compõe a túnica fibrosa do bulbo ocular sendo a região de transição entre elas, denominada limbo. São atribuídos, basicamente, duas funções a ela: uma barreira mecânica protegendo estruturas intraoculares e óptica permitindo a refração da luz até a retina para formação da imagem (GELATT, 2003; SLATTER, 2005).

Segundo Slatter e Dietrich (2007), a córnea apresenta cinco camadas: filme lacrimal pré-corneal, epitélio e membrana basal, estroma, membrana de Descemet e endotélio. A espessura da córnea central no cão é de $0,558 \pm 0,076$ mm e a periférica dorsal é $0,617 \pm 0,073$ mm, do que se conclui que a mesma é mais delgada na porção axial e mais espessa na periferia (GELATT, 2003).

O filme lacrimal pré-corneal é um fluido trilaminar complexo medindo aproximadamente 7,0 a 10,0 μm . Sua camada externa consiste de fosfolípidos produzidos pelas glândulas tarsais sebáceas, com função de aumentar a tensão superficial da lágrima, limitando a evaporação precoce da camada aquosa. A camada intermediária ou aquosa é secretada pelas glândulas lacrimais principais, acessória e glândula da terceira pálpebra. Além da água, esta camada contém eletrólitos, glicose, uréia, glicoproteínas e proteínas, incluindo imunoglobulina A e G, albumina, beta-lisina, lisozima e lactoferrina. Assim, suas funções restringem-se a limpar o conteúdo estranho da bolsa conjuntival, lubrificar a passagem das pálpebras e da terceira pálpebra sobre o epitélio, servir como meio para passagem de nutrientes, oxigênio, células inflamatórias, substâncias bactericidas, fatores de crescimento e imunoglobulinas. Além disso, ela pode fornecer uma superfície lisa e opticamente uniforme com uma maior eficiência óptica. A camada interna de mucina (glicoproteínas desidratadas) é derivada de células caliciformes conjuntivais, apresentando função de se ligar à camada aquosa hidrofílica e lipofóbica ao epitélio corneal com moléculas de mucoproteína (RIBEIRO et al. 2008; SLATTER; DIETRICH, 2007).

O epitélio corneal é do tipo pavimentoso estratificado não queratinizado, sendo composto de seis a oito camadas celulares que se renovam a cada dez dias, em média, graças a um ciclo biológico de morte celular programada chamado de apoptose. Apresentam padrão básico de células superficiais escamosas, células aladas, células epiteliais basais aderidas à membrana basal por hemidesmossomos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; SLATTER, 2005).

Com a divisão das células basais, as “células-filhas” são forçadas em direção à superfície, tornando-se achatadas como células aladas e perdendo, gradualmente, suas organelas, tornando-se células superficiais escamosas (SLATTER, 2005). Células tronco do limbo são responsáveis pela substituição e regeneração teciduais. São indispensáveis à manutenção da integridade da superfície corneal, promovendo sua renovação em condições normais e a reepitelização em processos reparatórios (RYMER, 2000).

O estroma representa 90% da da espessura total córnea e é formado por fibrócitos, ceratócitos, matriz de proteoglicanos e glicosaminoglicanos, e por lamelas de fibras de colágeno do tipo I dispostas paralelamente (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). O espaçamento perfeito entre as fibrilas de colágeno é determinado pelo grau de hidratação da córnea e pela disposição ao redor das fibrilas de colágeno de mucopolissacarídeos e glicoproteínas, com carga negativa, repelindo-se com igual intensidade. A ruptura no arranjo regular das lamelas ou alterações quanto ao tipo de colágeno induzirão à opacificação e perda da sua transparência. Ceratócitos são capazes de sintetizar colágeno, glicosaminoglicanos e mucoproteínas da substância fundamental estromal e de se transformar em fibrócitos produzindo colágeno não transparente após a lesão. O período de substituição do colágeno pode estender-se por anos (SLATTER; DIETRICH, 2007).

A membrana de Descemet é a membrana basal do endotélio continuamente construída por ele, composta por finas fibrilas de colágeno com propriedades elásticas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). Quando ocorre perda total do estroma em feridas corneais profundas a membrana de Descemet

apresenta-se escura em reflexo ao conteúdo ocular, porém transparente, salientada para fora em sua porção central, não se corando com a fluoresceína por ser lipofílica, ao contrário do epitélio. Tais lesões sinalizam o rompimento iminente da córnea. Pequenos defeitos produzidos por feridas penetrantes podem ser preenchidos por nova membrana secretada pelas células endoteliais, porém em defeitos extensos, isto não ocorre (SLATTER, 2005).

O endotélio (camada unicelular) tem a espessura de uma célula e reveste a câmara anterior. Em razão da alta atividade metabólica, células endoteliais contêm numerosas mitocôndrias e retículo endoplasmático liso e rugoso abundantes. Apresenta capacidade mínima de replicação dependendo da idade e espécie. A perda de células é substituída pela migração de células adjacentes existentes (GELATT, 2003; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; SLATTER, 2005).

A entrada de água na córnea ocorre sob influência da pressão intraocular e do caráter hidrofílico do colágeno estromal e dos mucopolissacarídeos. As barreiras endotelial e epitelial limitam a entrada de água na córnea. A água sai por evaporação a partir da superfície corneal anterior, e no endotélio, contra o gradiente de pressão intraocular. Neste caso, ocorre drenagem ativa de eletrólitos e água do estroma corneal para o humor aquoso na dependência de energia, através das bombas de sódio e potássio ATPase, constituindo-se na principal função endotelial. O estado corneal de desidratação relativa é importante para manutenção da transparência da córnea. Quando o quantitativo de água aumenta, ocorre separação da malha de colágeno estromal, causando opacidade pela dispersão da luz. Isso pode ocorrer pelo aumento da pressão intraocular, nos casos de glaucoma, lesão endotelial e lesões epiteliais (GELATT, 2003; SLATTER, 2005).

A córnea é o componente refrativo mais poderoso dos olhos dos animais domésticos. Sua claridade e transparência são resultantes da ausência de vasos e células sanguíneas, ausência de pigmentos, epitélio com superfície não queratinizada, superfície óptica lisa conferida pelo filme lacrimal, organização em malha das fibrilas de colágeno de diâmetro e espaço uniforme que elimina a

dispersão da luz por interferência destrutiva e controle do conteúdo aquoso (SLATTER; DIETRICH, 2007).

O epitélio é altamente innervado por nervos sensoriais, sendo um dos tecidos mais sensíveis do organismo, servindo como função protetora. Os nervos ciliares longos (derivados da divisão oftálmica do nervo trigêmeo) ramificam-se dentro do estroma anterior e do epitélio, onde as terminações nervosas ficam desembainhadas. A densa inervação além de causar intensa dor em lesões superficiais, também deflagra o reflexo do axônio quando estimulados, resultando em miose, hiperemia ocular e blefarospasmo (SLATTER; DIETRICH, 2007).

O metabolismo da glicose é a fonte mais importante de energia para as camadas da córnea. São metabolizados dois terços de glicose pela via *Embden-Meyerhof* produzindo piruvato, seguida pelo ciclo de *Krebs* na presença de oxigênio; e um terço pelo desvio hexose-monofosfato. O endotélio recebe a maior parte do seu oxigênio do humor aquoso, ao passo que o resto da córnea recebe principalmente da atmosfera através do filme lacrimal pré-corneal, dos capilares do limbo e conjuntiva (SLATTER, 2005).

Quanto à **cicatrização da córnea**, salienta-se que é conduzida pela ação combinada de mediadores inflamatórios e de fatores do crescimento gerados posteriormente à injúria, devido à sua avascularidade. A reparação cicatricial na córnea envolve migração, mitose e diferenciação celulares. (SLATTER, 2005). Dentre os fatores de crescimento, apontam-se o fator de crescimento epidermal (EGF), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento transformador β (TGF β), fator de crescimento de ceratinócitos (KGF); além de neurotropinas (NGF) e interleucinas (IL1, TNF α) (REINACH; POKORNY, 2008).

O EGF está presente na lágrima, sendo produzido pelas glândulas lacrimais e células do epitélio corneal. Entre as suas funções, citam-se a participação no *turn-over* das células epiteliais, aumento da síntese do RNA e do

DNA, mitogênese das células epiteliais e de fibroblastos estromais e estímulo à diferenciação celular (REINACH; POKORNY, 2008).

O PDGF é liberado ou secretado por diferentes tipos celulares, como plaquetas, macrófagos, fibroblastos, células da musculatura lisa e por células endoteliais vasculares. Ele atua aumentando a força de tensão na ferida e, de forma sinérgica, com outros fatores de crescimento, na reparação cicatricial (REINACH; POKORNY, 2008).

O TGF β induz proliferação e migração de fibroblastos do estroma corneal e induz alteração da síntese de matriz extracelular. Ele é sintetizado nas células epiteliais e em fibroblastos estromais. Um aumento desregulado nos níveis de TGF β pode promover maior formação de edema, opacidade e infiltrado inflamatório (REINACH; POKORNY, 2008).

A angiogênese é um mecanismo de múltiplos passos controlados por fatores ativadores e inibidores, que são liberados quando algum estímulo induz à mudança das células endoteliais de estado de quiescência para um fenótipo de replicação e invasão (IRUELA-ARISPE et al., 1997). Atualmente, é inegável o papel do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) que pertence a um grupo de glicoproteínas diméricas que inclui o fator de crescimento placentário (PIGF), VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E e VEGF-F (VALIATTI et al., 2011). Entre eles, o VEGF-A é o mais investigado atualmente, pois possui maior propriedade pró-angiogênica, permitindo o aparecimento de novos vasos. O VEGF-B é fracamente angiogênico, porém ele permite a persistência de vasos já existentes (IRANI et al., 2017).

O epitélio corneal apresenta grande capacidade de regeneração que se dá por uma seqüência sistematizada de eventos, podendo ser dividido em três fases: migração, proliferação e adesão epitelial (SLATTER, 2005). Dentro de um período de tempo curto após a lesão, células basais circunjacentes à margem da lesão tornam-se achatadas, suas membranas emitem prolongamentos digitiformes (filopódios) e deslizam-se para recobrir a área afetada. Neste

momento, enzimas presentes na lágrima fazem com que haja destruição dos mecanismos de adesão intercelular. Pequenas lesões podem ser reparadas rapidamente nas primeiras 24 horas pela simples migração celular. Uma vez que as células reparam o defeito, elas restabelecem mecanismos de adesão e ocorre intensa atividade mitótica com reconstrução epitelial em múltiplas camadas. Recoberta a área lesada, a migração celular cessa e a resposta mitótica diminui consideravelmente. Uma córnea totalmente desnuda pode ser reepitelizada em um período entre quatro e sete dias (GELATT, 2003; SLATTER, 2005).

Defeitos estromais superficiais são preenchidos por faces epiteliais com o deslizamento epitelial sobre o defeito, então, mitose ocorre e o defeito é preenchido com células epiteliais. Em defeitos profundos, o epitélio recobre rapidamente a superfície e infiltração e regeneração ocorrem no estroma subjacente. Feridas estromais descomplicadas sofrem cicatrização avascular, mas em lesões infectadas e destrutivas, ocorre cicatrização vascularizada, como em outros lugares do corpo (GELATT, 2003; SLATTER, 2005).

Durante o reparo da matriz extracelular do estroma corneal, é necessário balanço coordenado entre síntese, degradação e remodelamento, no qual enzimas proteolíticas (metaloproteinases da matriz) apresentam função importante (OLLIVIER et al., 2007). Células epiteliais, fibroblastos, polimorfonucleares e algumas bactérias, como *Pseudomonas sp.*, produzem tais enzimas (GELATT, 2003). Ceratites ulcerativas estão associadas a níveis iniciais elevados de atividade proteolítica no filme lacrimal, com decréscimo durante a cicatrização da úlcera. Em contrapartida, úlceras em “melting”, com progressiva dissolução estromal, mantêm níveis elevados de atividade proteolítica no filme lacrimal com retardo na cicatrização (COUTURE et al., 2006; OLLIVIER et al., 2007; WILLEFORD et al., 1998). O sucesso do tratamento clínico ou cirúrgico em úlceras de córnea é refletido na redução da atividade proteolítica do filme lacrimal (OLLIVIER et al., 2007).

As metaloproteinases da matrix (MMPs) são proteases endógenas divididas em quatro classes de enzimas: collagenases, gelatinases (MMP-2 e

MMP-9), estromalisinases e as com especificidade para membranas celulares (COUTURE et al., 2006; OLLIVIER et al., 2007). Em cães, a MMP-2 e a MMP-9 apresentam maior importância em termos de remodelação e degradação do colágeno do estroma corneal. (OLLIVIER et al., 2007).

Ceratites ulcerativas ou úlceras da córnea são uma condição comum e importante em animais domésticos; ocorrem quando o epitélio e uma quantidade variável de estroma são perdidos. Consideradas emergências oftálmicas, podem progredir, resultando em danos importantes e risco de perda de visão. No tratamento da úlcera de córnea, o passo mais importante é a determinação da causa e sua remoção. As ulcerações corneais são associadas, frequentemente, a traumas, corpos estranhos, anormalidades ciliares e palpebrais, deficiências do filme lacrimal, lesões químicas e infecções bacterianas, virais e micóticas (GALERA et al., 2009).

A classificação mais aceita para os propósitos clínicos leva em consideração a profundidade do envolvimento corneal e exposição de estruturas intra-oculares. São elas: ulceração superficial, ulceração profunda, descemetocle, prolapso de íris e endoftalmite. Independente da causa inicial, todas as úlceras têm progressão potencial para endoftalmite, se não tratadas (GELATT, 2003, GILGER, 2007; SLATTER, 2005).

Os sinais clínicos que trazem a suspeita de úlcera são: dor e blefarospasmo (comumente de início agudo), epífora, secreção ocular mucóide ou purulenta, fotofobia, edema corneal perilesional, hiperemia conjuntival, vascularização corneal e miose, em casos de uveíte reflexa (GILGER, 2007).

Úlceras de córnea não são, com frequência, visíveis a olho desarmado, mesmo com boa iluminação. A fluoresceína é um corante solúvel em água que não cora a córnea normal, pois não transpassa o epitélio hidrofóbico. Se o epitélio está incompleto ou rompido, a fluoresceína penetra o estroma corneal hidrofílico, corando-o de verde brilhante. Em lesões corneais profundas, o centro da lesão pode falhar em absorver o corante, apresentando coloração enegrecida

e indicando que a membrana de Descemet, que não se cora com a fluoresceína, está se protraindo, ou seja, a descemetocelose está presente. Se não tratadas, a membrana se rompe, com o extravasamento de humor aquoso. (GELATT, 2003; SLATTER, 2005).

Condutas terapêuticas tendem a aliviar a dor, proteger e restaurar a anatomia da córnea. São empregadas variadas substâncias farmacológicas, posologias e associações de técnicas, de acordo com a apresentação clínica, progressão e origem da lesão (GALERA et al., 2009).

Os enxertos de **membranas biológicas** são materiais alternativos utilizados, principalmente, nos casos severos de deficiência das células germinativas. A cápsula renal equina, testada primeiramente por Andrade et al. (1999), foi utilizada em comparação com enxerto conjuntival pedunculado em descemetocelose, apresentando retorno precoce à transparência com cicatrização semelhante, facilidade na aplicação e indicação principalmente quando o enxerto conjuntival é contra-indicado (infecção bacteriana conjuntival) (LAUS et al., 1999). A escama de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) mostrou-se útil para fins tectônicos após ceratectomias superficiais (LAUS et al., 2000). O emprego da membrana de celulose microfibrilar na ceratoplastia lamelar em coelhos apresentou bons resultados, ocorrendo assimilação do implante sem rejeição, maior rapidez na regeneração epitelial com mínima vascularização e infiltração de polimorfonucleares (MACEDO, 2010).

A membrana amniótica tem sido utilizada por alguns profissionais como opção terapêutica cirúrgica nos casos mais graves de defeitos epiteliais persistentes, além da proteção mecânica, por possuir fatores de crescimento (EGF, TGF- β , HGF, KGF) e estimuladores da epitelização (KOIZUMI et al., 2000; PENA et al., 2007; SATO et al., 1998). Por não expressar a maioria dos antígenos de histocompatibilidade, não induz à rejeição após o transplante, causando mínima resposta inflamatória (HOULIHAN et al., 1995; SAMPAIO et al., 2006). A membrana amniótica, quando aplicada na córnea, permite a restauração do estroma, produzindo uma membrana basal epitelial saudável

para a proliferação e diferenciação epitelial (FAIRBANKS et al., 2003; GODOY et al., 2002; PRABHASAWAT et al., 2001), não interferindo na velocidade de cicatrização (MONTEIRO et al., 2000). Porém, Pontes et al. (2008) utilizando como bandagem (face epitelial voltada contra a superfície corneal) em úlceras superficiais de córnea de coelhos, observaram retardo na epitelização, não devendo ser utilizada.

A membrana basal amniótica serve de substrato ideal para o crescimento, desenvolvimento, facilitando a migração, prevenindo apoptose e manutenção das células germinativas (clonogenicidade). Este fenômeno explica o crescimento de células epiteliais do limbo *ex vivo* e posterior transplante na superfície corneal afetada, obtendo-se excelentes resultados (ESPANA et al., 2003; JANG et al., 2006; SANGWAN et al., 2003). Em estudo semelhante, Yam et al. (2002) observaram em células epiteliais do limbo cultivadas decréscimo na expressão de TGF- β , aumento na expressão do inibidor de metaloproteinase tipo 1 (que promove aumento no número de receptores EGF), favorecendo o crescimento e diferenciação do epitélio.

Em deficiência induzida de células germinativas, a membrana amniótica apresentou, clinicamente, redução no defeito epitelial persistente, sendo que nestes animais, o epitélio corneal neoformado foi mais organizado. No entanto, não foi observado retorno da transparência corneal no tempo do estudo, que foi de 30 dias (ANDRADE, 2009).

As membranas são conservadas congeladas à -80°C, porém pode haver diferença na solução utilizada. Na comparação entre solução de dimetilsulfóxido (DMSO) puro e solução de glicerol em meio de cultura MEM (Mineral Essential Medium) (proporção 1:1), não houve redução no número de fatores de crescimento e citocinas, entretanto houve maior integridade tecidual na conservação com glicerol/MEM (PENA et al., 2007).

Há grande interesse no desenvolvimento de biomateriais com boa relação ambiental e adequada resposta tecidual. Estudos em engenharia tecidual

empregam polímeros de origem natural ou sintética em aplicações médicas como em reparo de cartilagens e fraturas ósseas. **Polímeros biodegradáveis** são alvo de pesquisas, como alternativa de baixo impacto no manejo de resíduos (FUKUSHIMA et al., 2012).

Morales et al., 2005 demonstraram que o uso de poliuretana derivada do óleo de mamona (*Ricinus communis*) produz baixo grau de resposta inflamatória e ausência de sinais de toxicidade. A Quitosana, polissacarídeo catiônico proveniente de deacetilação da quitina, é amplamente utilizada para produção de embalagens, e apresenta propriedades antimicrobianas, biodegradabilidade, biocompatibilidade e atoxicidade (BARIAKI et al., 2014; WANG et al., 2012). Tem sido utilizada associada ou não a polímeros sintéticos na indústria de embalagens (BROEK et al., 2015) e apresenta aprovação da *Food and Drug Administration* (FDA) (WANG et al., 2012).

Sintetizada por algumas espécies de bactéria, a celulose bacteriana é um biopolímero aplicado às indústrias médica e alimentícia. Diversas celulosas bacterianas vêm sendo investigadas para avaliação de biocompatibilidade. Também é alvo de pesquisas de controle de liberação de medicamentos (*drug delivery*) (MACEDO et al., 2010; ULLAH et al., 2016). O Mucoadesivo Hidrogel foi utilizado em ceratites bacterianas experimentais em coelhos, e mostrou-se como alternativa viável aos colírios à base de gatifloxacina (KESAVAN et al., 2016).

Os **polímeros sintéticos biodegradáveis** são descritos como materiais em que há maior controle de propriedades físico-químicas (FUKUSHIMA et al., 2012). Existe um apelo de mercado para o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis (*eco-friendly*), e que apresentem boa performance (WEI et al., 2015), orientando diversas pesquisas para desenvolvimento, produção e avaliação destes materiais.

O Policaprolactona (PCL) é um poliéster linear, alifático e semicristalino, conhecido pela biocompatibilidade e absorbilidade, apresentando boas características mecânicas. Atualmente, há estudos aliando suas características hidrofóbicas a compostos polímeros hidrofílicos (ELZEIN et al., 2004; SARASAM

& MADIHALLY, 2005). O Poli(ácido láctico) (PLA) é utilizado em aplicações médicas e na indústria de embalagens, é biodegradável em condições de compostagem industrial e derivado da fermentação de açúcares provenientes de carboidratos como cana de açúcar e tapioca (AL-ITRY, 2012).

Reparações tectônicas corneais com nanofibras de Poli (glicerol sebacate)-poli (ϵ -caprolactona) são relatadas em humanos, apresentando cito e imunocompatibilidade (SAHELI, 2017) e membranas de Poly D,L-lactide-co-glicolide (PLGA), associadas a explantes de limbo, já foram demonstradas como material substituto à membrana amniótica humana em reparações corneais (DESHPANDE et al., 2013).

O **Poli(butileno adipato-co-tereftalato) (PBAT)** é um copolímero alifático-aromático proveniente da indústria petroquímica (WEI et al., 2015). Totalmente biodegradável, com peso molecular relativamente baixo, hidrofóbico, degradado em poucas semanas quando em contato com enzimas naturais e/ou em temperaturas entre 140-230 °C. Sua estrutura molecular confere estabilidade térmica e propriedades mecânicas, bem como flexibilidade (GUO et al., 2015). O PBAT, com seu alto custo e pobres características físicas limitam seu uso em diversas áreas (MOHANTY; NAYAK, 2012). Comercializado sob as marcas Ecoflex™® (BASF) e Easter-bio® (Eastman Chemical), tem sido utilizado, experimentalmente, em aplicações médicas, como em implantes ósseos. Em escala nanométrica não demonstrou citotoxicidade potencial sobre osteoblastos e fibroblastos, *in vitro* (FUKUSHIMA et al., 2012; FUKUSHIMA et al., 2013).

O **amido termoplástico (TPS)** é um composto proveniente do processamento do amido, polímero encontrado em tubérculos, adicionados a plastificantes, como glicerol e água, sob aquecimento 90-180°C (WEI et al., 2016). Para obtenção do TPS, várias técnicas industriais de processamento de plásticos podem ser utilizadas, tais como extrusão, injeção e moldagem por compressão, ou mesmo em misturadores internos. Os TPS apresentam fracas propriedades mecânicas e alta sensibilidade à umidade (hidrofílico), as quais são os principais fatores limitantes na sua aplicação. Suas propriedades são afetadas principalmente pelas condições de processamento, pelo teor de

plastificante e pela cristalinidade (CORRADINI et al., 2007). O TPS tem como vantagem sua origem em fontes renováveis, baixo custo, grande disponibilidade, biodegradabilidade (STEPTO, 2006), e pode ser processado em equipamentos utilizados na produção de plásticos convencionais (TEIXEIRA, 2007).

A mistura do amido com outros polímeros sintéticos biodegradáveis promove o aumento da velocidade de biodegradação e redução de custo, visto que os polímeros biodegradáveis sintéticos são relativamente mais caros que até mesmo outros polímeros sintéticos mais convencionais e não biodegradáveis (TEIXEIRA, 2007).

Com base no exposto, optou-se nesta pesquisa estudar, originalmente, os aspectos clínicos da aplicação do PBAT/TPS como alternativa de membrana no reparo de úlceras de córnea profundas/complicadas em cães. Para tanto, empreendeu-se aplicá-la, conforme os princípios técnicos das ceratoplastias com membranas biológicas. Optou-se por avaliações clínicas com base nas fases clássicas da cicatrização, conforme empreenderam outros autores. (GELATT, 2003). No **capítulo 2** desta dissertação de Mestrado, será apresentado o artigo gerado a partir da pesquisa aqui realizada. Com base nos resultados encontrados, pode-se admitir que a membrana de PBAT/TPS constitui-se em mais uma alternativa de tratamento às úlceras de córnea, cujo tratamento cirúrgico é necessário para reparação tectônica desta estrutura.

REFERÊNCIAS

AL-TRY, R.; LAMNAWAR, K.; MAAZOUZ, A. Improvement of thermal stability, rheological and mechanical properties of PLA, PBAT and their blends by reactive extrusion with functionalized epoxy. **Polymer Degradation and Stability**, v. 97, p. 1898-1914, 2012.

ANDRADE, A. L.; LAUS, J. L.; FIGUEIREDO-FLORENCIO, B. C. M. The use of preserved equine renal capsule to repair lamellar corneal lesions in normal dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v.2, p. 79-82, 1999.

ANDRADE, A. L.; GOMES, J. A. P.; LUVIZOTTO, M. C. R.; PERRI, S. H. V.; CAMPOS, M. Aspectos clínicos e morfológicos do transplante da membrana amniótica sobre a córnea de coelhos com deficiência induzida de células germinativas do limbo. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.1, p.127-142, 2009.

BARIAKI, M.; OLIAEI, E.; SEDDIQI, H.; HONARKAR, H. Preparation and application of chitin and its derivatives: A review. **Iranian Polymer Journal**, v.23 (4), p. 307-326, 2014.

BROEK, L. A. M.; KNOOP, R. J. I.; KAPPEN, F. H. J.; BOERIU, C. G. Chitosan films and blends for packaging material. **Carbohydrate Polymers**, v. 116, p. 237-242, 2015.

COUTURE, S.; DOUCET, M.; MOREAU, M.; CARRIER, M. Topical effect of various agents on gelatinase activity in the tear film of normal dogs.

Veterinary Ophthalmology, v.9, n.3, p.157–164, 2006

DESHPANDE, P.; RAMACHANDRAN, C.; SANGWAN, V. S.; MACNEIL, S. Cultivation of limbal epithelial cells on electrospun poly (lactide-co-glycolide) scaffolds for delivery to the cornea. **Methods in Molecular Biology**, v.1014, p.179-185, 2013.

ELZEIN, T.; NASSER-EDDINE, M.; DELAITE, C.; BISTAC, S. DUMAS, P. FTIR study of polycaprolactone chain organization at interfaces. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 273, n.2, p. 3811-387, 2004.

ESPANA, E. M.; TI, S-E.; GRUETERICH, M.; TOUHAMI, TSENG, A.; S. C. G. Corneal stromal changes following reconstruction by ex vivo expanded limbal epithelial cells in rabbits with total limbal stem cell deficiency. **British Journal of Ophthalmology**, v.87, p.1509–1514, 2003.

FAIRBANKS, D.; VIEIRA, L. A.; SANTOS, W. D.; ATTIE, G. C. G.; GOMES, J. A. P.; FREITAS, D. Membrana amniótica no tratamento dos afinamentos corneais e esclerais. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v.66, p. 66-71, 2003.

FUKUSHIMA, K.; RASYIDA, A.; YANG, M. Characterization, degradation and biocompatibility of PBAT based nanocomposites. **Applied Clay Science**, v. 80-81, p. 291-298, 2013.

FUKUSHIMA, K.; WU, M. ; BOCCHINI, S.; RASYIDA, A.; YANG, M. PBAT based nanocomposites for medical and industrial applications. **Materials Science and Engineering C**, v.32, p. 1331-1351, 2012.

GALERA, P. D.; LAUS, J. L.; ORIÁ, A. P. Afecções da tunica fibrosa. In: **Oftalmologia clínica e cirurgia em cães e em gatos**. São Paulo: Roca, 2009. p. 69-96.

GELATT, K. N. **Manual de oftalmologia veterinária**. Barueri: Manole, 2003. p. 594.

GILGER, B. Diseases and surgery of the canine cornea and sclera. In: **Veterinary Ophthalmology**, 4th ed., Iowa: Blackwell Publishing, 2007. v.2, p.690-752.

GODOY, C. A. L.; GUERRA, J. L.; BARROS, P. S. M. Ceratoplastia lamelar em cães utilizando membrana fetal eqüina como enxerto. Estudo experimental. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v.65, p. 545-549, 2002.

GUO, G.; ZHANG, C.; DU, Z.; ZOU, W.; TIAN, H.; XIANG, A.; LI, H. Structure and property of biodegradable soy protein isolate/ PBAT blends. **Industrial Crops and Products**, v.74, p.731-736, 2015.

HOULIHAN, J.M.; BIRO, P.A.; HARPER, H.M.. The human amnion is a site of MHC class 1b expression evidence for the expression of HLA-E and HLA-G. **The Journal of Immunology**, v .154, p.5665-5674, 1995.

IRANI, Y. D.; SCOTNEY, P. D.; KLEBE, S. ; MORTIMER, L. A.; NASH, A. D.; WILLIAMS, K. A. An Anti-VEGF-B Antibody Fragment Induces Regression of Pre-Existing Blood Vessels in the Rat Cornea. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 58, n 9, p. 3404-3413, 2017.

IRUELA-ARISPE, M. L.; DVORA, K. H. Angiogenesis: a dinamic balance of stimulators and inhibitors. **Thrombosis and Haemostasis**, v.76, p.672-88, 1997.

JANG, I.-K.; AHN, J.-I.; SHIN, J.-S.; KWON, Y.-S.; RYU,Y.-H.; LEE, J.-K.; PARK, J.-K.; SONG, K.-Y.; YANG, E.-K.; KIM, J.-C. Transplantation of reconstructed corneal layer composed of corneal epithelium and fibroblasts on a lyophilized amniotic membrane to severely alkali-burned cornea. **Journal Artificial Organs and Transplantation**, v.30, n.6, p.424-431, 2006.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, , 2004. p. 487.

KESAVAN, K.; KANT, S.; PANDIT, J. K. Therapeutic effectiveness in the treatment of experimental bacterial keratitis with ion-activated mucoadhesive hydrogel. **Ocular Immunology and Inflammation**, v. 24, n. 5, p.489-492, 2016.

KOIZUMI, N. J.; INATOMI, T. J.; SOTOZONO, C. J.; FULLWOOD, N. J.; QUANTOCK, A.J.; KINOSHITA, S. Growth factor mRNA and protein in preserved human amniotic membrane. **Current Eye Research**, v.20, n.3, p. 173-177, 2000.

LAUS, J. L.; FERREIRA A. L.; ANDRADE, A. L. The use of the sardine scale (*Sardinella brasiliensis* - STEIDACHNER, 1859), preserved in glicerine, in experimental lamellar keratoplasties in dogs. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 37, n. 1, 2000.

LAUS, J. L.; GALERA, P. D.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; et al. Bilateral lamellar keratoplasty in descemetocoele treatment in dog with botulism by use of equine renal capsule and conjunctival pedicle graft. **Ciência Rural**. Santa Maria, v.29, n.2, p.355-359, 1999.

MACEDO, L. R.; RIBEIRO, A. P.; CONCEIÇÃO, L. F.; GALERA, P. D.; LAUS, J. L. Experimental lamellar keratoplasty in rabbits using microfibrillar cellulose

membrane. Clinical, morphological and immunohistochemical findings. **Ciência Rural**, v. 40, n.2, p. 378-383, 2010.

MONTEIRO, E. C. L.; SCHELLINI, S. A.; MARQUES, M. E. A.; KAMEGASAWA, A.; PADOVANI, C. R. Tratamento da úlcera corneana experimental com membrana amniótica. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v.63, n.1, p.33-37, 2000.

MORALES, A.; BARROS, P. S. M.; NETO, J. B.; CHIERICE, G.; NETO, S. C.; MIGLIATI, E. R. Emprego experimental da poliuretana derivada de óleo de mamona (*Ricinus communis* L.) em implantes lamelares, interlamelares e penetrantes na córnea de coelhos. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science** v. 42, n.1, p. 31-37, 2005.

OLLIVIER, F. J.; GILGER, C. B.; BARRIE, K. P.; KALLBERG, M. E.; PLUMMER, C. E.; O'REILLY, S.; GELATT, K. N.; BROOKS, D. E. Proteinases of the cornea and preocular tear film. **Veterinary Ophthalmology**, v.10, n.4, p.199–206, 2007.

PRABHASAWAT, P.; TESAVIBUL, N.; KOMOLSURADEJ, W. Single and multilayer amniotic membrane transplantation for persistent corneal epithelial defect with and without stromal thinning and perforation. **British Journal of Ophthalmology**, v. 85, p.1455-1463, 2001.

PONTES, K. C. S.; BORGES, A. P. B.; DUARTE, T. S.; MORATO, G. L.; ZAVAN, V.; ELEOTÉRIO, R. B.; CARLO, E. C. Membrana amniótica canina utilizada como bandagem em úlcera superficial de córnea de coelhos – aspectos clínicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.5, p.1069-1074, 2008.

PENA, J. D. O.; MELO, G. B.; GOMES, J. A. P.; HAAPALAINEN, E. F.; KOMAGOME, C. M.; SANTOS, N. C.; FILHO, A. A. S. L.; RIZZO, L. V. Análise ultraestrutural e de fatores de crescimento de diferentes métodos de preservação da membrana amniótica utilizada em cirurgia ocular. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v.70, n.5, p. 756-762, 2007.

RIBEIRO, A. P.; BRITO, F. L. DA C.; MARTINS, B. DA C.; MAMEDE, F.; LAUS, J. L. Qualitative and quantitative tear film abnormalities in dogs. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.2, p.568-575, 2008.

REINACH, P. S. & POKORNY, K.S. The corneal epithelium: clinical relevance of cytokine-mediated responses to maintenance of corneal health. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, Santa Maria, v.71, supl.6, p.80-88, 2008.

RYMER, S.; BURNIER, M.; MARINHO, D.; KWITKO, S.; BELFORT JR., R.; ROHR, D. Transplante autólogo de limbo conjuntival e de limbo córneo-conjuntival no tratamento das queimaduras químicas oculares em coelhos. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v.65, p. 161-170, 2002.

SAHELI, S.; CZUGALA, M.; STAFIEJ, P.; FATHI, M.; BAHNERS, T.; GUTMANN, J. S.; SINGER, B. B.; FUCHSLUNGER, T. Poly (glycerol sebacate)- poly (ϵ - caprolactone) blend nanofibrous scaffold as intrinsic bio- and immunocompatible system for corneal repair. **Acta Biomaterialia**, v. 50, p. 370-380, 2017.

SAMPAIO, R. L.; RANZANI, J. J. T.; JÚNIOR, V. R.; STACCIARINI, M. S.; BRAGA, E. M.; BORREZZI, C. Aspectos clínicos e imunopatológicos da ceratoplastia com membrana amniótica xenógena fresca e conservada em glicerina. Estudo experimental em coelhos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.6, p.1077-1085, 2006.

SANGWAN, V. S.; VEMUGANTI, G. K.; SINGH, S.; BALASUBRAMANIAN, D. Successful Reconstruction of Damaged Ocular Outer Surface in Humans using Limbal and Conjunctival Stem Cell Culture Methods. **Bioscience Reports**, v.23, n.4, p. 169-174, 2003.

SATO, H.; SHIMAZAKI, J.; SHIMAZAKI, N. Role of growth factors for ocular surface reconstruction after amniotic membrane transplantation. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v.39, p.428, 1998.

SLATTER, D. **Fundamentos de oftalmologia veterinária**. 3 ed. São Paulo: Roca, 2005. p. 686.

SLATTER, D.; DIETRICH, U. Córnea e esclera. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**, 3° ed. Barueri: Manole, 2007. v.2, p. 1368-1396.

STEPTO, R.F.T. understanding the processing of thermoplastic starch. **Macromolecular Symposia**, v. 245-246, p. 571-577, 2006.

TEIXEIRA, E. M. **Utilização de amido de mandioca na preparação de novos materiais termoplásticos**. Tese (Doutorado em Físico-Química) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de Paulo, São Carlos, 2007.

ULLAH, H.; WAHID, F.; SANTOS, H. A.; KHAN, T. Advances in biomedical and pharmaceutical applications of functional bacterial cellulose-based nanocomposites. **Carbohydrates Polymers**, v. 150, p. 330-352, 2016.

WANG, T.; WANG, I.; LU, J.; YOUNG, T. Novel chitosan-polycaprolactone blends as potential scaffold and carrier for corneal endothelial transplantation. **Molecular Vision**, v. 18, p. 255-264, 2012.

WEI, D.; WANG, H.; XIAO, H.; ZHENG, A.; YANG, Y. Morphology and mechanical properties of poly(butylene adipate-co-terephthalate)/ potato

starch blends in the presence of synthesized reactive compatibilizer or modified poly(butylene adipate-co-terephthalate). **Carbohydrate Polymers**, v. 123, p. 275-282, 2015.

WEI, D.; WANG, H.; ZIAEE, Z.; CHIBANTE, F.; ZHENG, A.; XIAO, H. Non-leaching antimicrobial biodegradable PBAT films through a facile and novel approach. **Materials Science and Engineering C**, v. 58, p.986-991, 2016.

WILLEFORD K. O.; MILLER, W. W.; ABRAMS, K. L.; VAUGHN, B. M. Modulation of proteolytic activity associated with persistent corneal ulcers in dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v.1, n.1, p.5-8, 1998.

YAM, H.-F.; PANG, C.-P.; FAN, D. S.-P.; FAN, B.-J.; YU, E. Y.-W.; LAM, D. S.-C. Growth factor changes in ex vivo expansion of human limbal epithelial cells on human amniotic membrane. **Córnea**, v.21, n.1, p.101–105, 2002.

CAPÍTULO 2- AVALIAÇÃO DE ÚLCERAS DE CÓRNEA COMPLICADAS EM CÃES, TRATADAS COM A MEMBRANA DE POLI(BUTILENO ADIPATO-COTEREFTALATO) (PBAT) E AMIDO TERMOPLÁSTICO (TPS)

RESUMO- A ceratite ulcerativa é uma condição comum e importante e ocorre quando o epitélio e uma quantidade variável de estroma são perdidos. Atualmente, tem-se estudado o emprego de membrana de polímeros sintéticos, para reparação tectônica, em substituição aos tecidos biológicos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o tratamento, por ceratoplastia lamelar com o uso da membrana de Poli(butileno adipato-co-tereftalato) (PBAT) / Amido Termoplástico (TPS), de úlceras de córnea de seis cães da rotina clínica. Foram avaliados os aspectos clínicos quanto a: blefarospasmo, hiperemia conjuntival, secreção ocular, vascularização corneal, e sinais de extrusão da membrana aos três, sete, quinze e trinta dias de posoperatório (M3, M7, M15, M30). Com os valores obtidos, foi realizada análise descritiva dos resultados, com cálculo de porcentagem e mediana dos dados e escores adotados. Quanto ao blefarospasmo, este foi leve até M3, tornando-se ausente em M30. A secreção ocular esteve sob forma leve até o M7 e se tornou ausente até o M30. Com relação à hiperemia conjuntival, observou-se que foi intensa no M0 e regrediu temporalmente até M15. A vascularização corneal teve importância clínica a partir de M7, tornando-se intensa no M15 e moderada no M30. Após remoção da membrana, observou-se cicatrização corneal e manutenção da estrutura do bulbo do olho. Com base nos resultados obtidos e nas condições aqui estabelecidas, é possível concluir que a membrana de PBAT/TPS constitui-se em alternativa viável de ceratoplastia lamelar.

Palavras-chave: Materiais biocompatíveis, úlcera da córnea, oftalmologia, córnea, microcirurgia.

1 INTRODUÇÃO

A córnea, em conjunto com a esclera, compõe a túnica fibrosa do bulbo do olho sendo a região de transição entre elas, denominada limbo. São atribuídas a ela, basicamente, duas funções: barreira mecânica de proteção às estruturas intraoculares e uma função óptica, permitindo a refração da luz até a retina para formação da imagem (GELATT, 2003; SLATTER, 2005), constituindo o componente refrativo mais poderoso dos olhos dos animais domésticos (SLATTER; DIETRICH, 2007).

Pela sua localização externa, a córnea é uma estrutura vulnerável a traumas resultantes de anormalidades dos anexos oculares ou oriundos de brigas e acidentes. A ceratite ulcerativa ou úlcera de córnea é uma condição comum e importante em cães e ocorre quando o epitélio e uma quantidade variável de estroma são perdidos. Pela inexistência de vasos na córnea, o mecanismo de cicatrização é conduzido pela ação combinada de mediadores inflamatórios e de fatores do crescimento gerados posteriormente à injúria, e envolve migração, mitose e diferenciação celulares (SLATTER, 2005).

No tratamento da úlcera de córnea, o passo mais importante é a determinação da causa de base para tratá-la. Entre elas, elencam-se as mais comuns: trauma, corpo estranho perfurante, distiquíase, triquíase, entrópio, cílio ectópico, ceratoconjuntivite seca, edema corneal crônico (glaucoma), hiperadrenocorticism, tumores nas margens palpebrais, ceratite herpética (gatos) e ceratopatia senil (GELATT, 2003; GILGER, 2007; SLATTER, 2005). A classificação mais aceita para os propósitos clínicos leva em consideração a profundidade do envolvimento corneal e exposição de estruturas intra-oculares. Sendo elas: ulceração superficial, ulceração profunda, descemetocel, prolapso de íris e endoftalmite. Independente da causa inicial, todas as úlceras têm progressão potencial para endoftalmite, se não tratadas.

Condutas terapêuticas tendem a aliviar a dor, proteger e restaurar a anatomia da córnea. São empregadas variadas substâncias farmacológicas, posologias e associações de técnicas, de acordo com a apresentação clínica, progressão e origem da lesão (GALERA et al., 2009).

Neste sentido, enxertos de membranas biológicas são utilizados, principalmente, nos casos graves de deficiência das células germinativas. A cápsula renal equina preservada em glicerina foi testada, primeiramente, por Andrade et al. (1999) em um estudo experimental em cães, sendo demonstrado um retorno precoce à transparência, facilidade na aplicação e preconizada principalmente quando o enxerto conjuntival é contraindicado (infecção bacteriana conjuntival) (LAUS et al., 1999). A escama de sardinha (*Sardinella brasiliensis*, LINNAEUS, 1937) mostrou-se útil para fins tectônicos após ceratectomias superficiais (LAUS et al., 2000). O emprego da membrana de celulose microfibrilar na ceratoplastia lamelar em coelhos apresenta bons resultados, ocorrendo assimilação do implante sem rejeição, maior rapidez na regeneração epitelial, com mínima vascularização e infiltração de polimorfonucleares (MACEDO, 2008). A membrana amniótica tem sido utilizada por alguns autores como opção terapêutica cirúrgica nos casos mais graves de defeitos epiteliais persistentes, pois ela, além da proteção mecânica, possui fatores de crescimento (EGF, TGF- β , HGF, KGF) e estimuladores da epitelização (SATO et al., 1998; KOIZUMI et al., 2000; PENA et al., 2007). Quando aplicada na córnea, permite a restauração do estroma, produzindo uma membrana basal epitelial saudável para a proliferação e diferenciação epitelial (FAIRBANKS et al., 2003; GODOY et al., 2002; PRABHASAWAT et al., 2001), não interferindo na velocidade de cicatrização (MONTEIRO et al., 2000). Porém, Pontes et al. (2008), ao utilizarem-na como bandagem (face epitelial voltada contra a superfície corneal) em úlceras superficiais de córnea de coelhos, observaram retardo na epitelização, sendo contraindicada nestes casos.

Há grande interesse no desenvolvimento de biomateriais com boa relação ambiental e adequada resposta tecidual. Estudos em engenharia tecidual

empregam polímeros de origem natural ou sintética em aplicações médicas como em reparo de cartilagens e fraturas ósseas. Polímeros biodegradáveis são alvo de pesquisas, como alternativa de baixo impacto no manejo de resíduos (FUKUSHIMA et al., 2012), pois existe um apelo de mercado para o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis (*eco-friendly*), e que apresentem boa performance (WEI et al., 2015). Morales et al., 2005 demonstraram que o uso de poliuretana derivada do óleo de mamona (*Ricinus communis*) produz baixo grau de resposta inflamatória e ausência de sinais de toxicidade. A Quitosana, polissacarídeo catiônico proveniente de deacetilação da quitina, é amplamente utilizada para produção de embalagens e apresenta propriedades antimicrobianas, biodegradabilidade, biocompatibilidade e atoxicidade (BARIAKI et al., 2014; WANG et al., 2012).

Os polímeros sintéticos biodegradáveis são descritos como materiais em que há maior controle de propriedades físico-químicas (FUKUSHIMA et al., 2012). O Poli(butileno adipato-co-tereftalato) (PBAT) é um copolímero alifático-aromático proveniente da indústria petroquímica (WEI et al., 2015). Totalmente biodegradável, com peso molecular relativamente baixo, hidrofóbico, degradado em poucas semanas quando em contato com enzimas naturais e/ou em temperaturas entre 140-230 °C. Sua estrutura molecular confere estabilidade térmica e propriedades mecânicas, bem como flexibilidade (GUO et al., 2015). O PBAT, com seu alto custo e pobres características físicas limitam seu uso em diversas áreas (MOHANTY; NAYAK, 2012). Comercializado sob as marcas Ecoflex™® (BASF) e Easter-bio® (Eastman Chemical), tem sido utilizado, experimentalmente, em aplicações médicas, como em implantes ósseos. Em escala manométrica, não demonstrou citotoxicidade potencial sobre osteoblastos e fibroblastos, *in vitro* (FUKUSHIMA et al., 2012; FUKUSHIMA et al., 2013).

O amido termoplástico (TPS) é um composto proveniente do processamento do amido, sendo um polímero encontrado em tubérculos, na presença de plastificantes, como glicerol e água, sob aquecimento à 90-180°C (WEI et al., 2016). Para obtenção do TPS, várias técnicas industriais de processamento de

plásticos podem ser utilizadas, tais como extrusão, injeção e moldagem por compressão, ou mesmo em misturadores internos. Os TPSs apresentam fracas propriedades mecânicas e alta sensibilidade à umidade (hidrofílico), que são os principais fatores limitantes da sua aplicação. Suas propriedades são afetadas principalmente pelas condições de processamento, pelo teor de plastificante e pela cristalinidade (CORRADINI et al., 2007). Ele tem como vantagens sua origem em fontes renováveis, baixo custo, grande disponibilidade, biodegradabilidade (STEPTO, 2006), e pode ser processado em equipamentos utilizados na produção de plásticos convencionais (TEIXEIRA, 2007).

A mistura do amido com outros polímeros sintéticos biodegradáveis promove o aumento da velocidade de biodegradação e redução de custo, visto que os polímeros biodegradáveis sintéticos são relativamente mais caros que até mesmo outros polímeros sintéticos convencionais e não biodegradáveis (TEIXEIRA, 2007).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi de avaliar clinicamente os efeitos da membrana de PBAT/TPS como enxerto sintético na técnica de ceratoplastia lamelar para o tratamento de úlceras corneais profundas e/ou complicadas em cães.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Confeção e esterilização das membranas de PBAT/TPS

As membranas de PBAT/TPS foram confeccionadas e cedidas pelo Laboratório de Engenharia de Materiais da UFSCar sob a forma de folhas (Figura 1), com proporções de PBAT/TPS de 70:30, 60:40 e 50:50. Optou-se, neste estudo, por utilizá-las na proporção 60:40, devido à sua textura mais maleável observada à manipulação prévia, em comparação às outras. Frente a isto, julgou-se que, talvez, ela fosse mais confortável aos olhos dos animais incluídos no estudo. Além disso, Wei et al. (2016) a descreveram com a de melhor performance quanto às propriedades mecânicas. Posteriormente, foram

recortadas em fragmentos de 1cm², acondicionadas individualmente e esterilizadas por radiação gama na empresa CBE Tecnologia (CBE, Cotia-SP). Utilizou-se a irradiação a partir de 10Gy até 30Gy. Ato contínuo e em laboratório de microbiologia, as membranas esterilizadas foram incluídas em placas de semeadura de Ágar sangue, para se verificar a eficiência da esterilização em diferentes doses de radiação. A dose de mínima irradiada, encontrada com ausência de crescimento bacteriano foi já a partir de 10 Grays (Gy). Optou-se por tal método de esterilização, pois a membrana utilizada apresenta propriedades hidrofílicas, e degradável em temperaturas acima de 140° C, sendo contraindicado outros métodos por aquecimento e químicos.

2.2 Animais

Inicialmente, foram triados como possíveis casos a serem incluídos no estudo, animais portadores de úlcera de córnea espontânea atribuída a diversas causas. Foram incluídos seis (n=6) pacientes selecionados pelo serviço de Oftalmologia do Hospital Veterinário (HV) “Luiz Quintiliano de Oliveira” - Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba/Unesp, portadores que apresentam ulcerações corneais graves e/ou complicadas e profundas. Para todos os pacientes houve permissão prévia de seus tutores, que assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido sobre a conduta terapêutica a ser adotada.

Todos os animais foram submetidos ao exame físico geral, exame oftálmico completo e exames complementares (sorologia para leishmaniose, hemograma completo, contagem total de plaquetas e bioquímicos renal e hepático) para avaliações preanestésicas e cirúrgicas.

Para todos os cães, foi adotado o mesmo protocolo de tratamento clínico, a partir do primeiro atendimento: colírios à base de tobramicina (Tobramicina 0,3%®, Biosintética/Aché) a cada três horas, diclofenaco sódico (Still colírio®, Allergan), a cada 12 horas durante 20 dias e sulfato de atropina 0,5% (Atropina

colírio 0,5%®, Allergan) a cada 12 horas por três dias. No posoperatório, foi administrado cloridrato de tramadol (Cloridrato de tramadol®, Medley) (3,0 mg/kg a cada oito horas, por via oral, durante cinco dias). Os tutores foram esclarecidos sobre o uso de colares do tipo “elisabetano”, como forma de prevenção à automutilação. Nos casos em que a causa foi a ceratoconjuntivite seca, foi instituída a terapia com colírio de tacrolimus 0,03% (Tacrolimus®, Ophthalmos), a cada oito horas, *ad eternum*.

2.3 Ceratoplastia lamelar utilizando membrana sintética à base de PBAT/TPS

O procedimento cirúrgico ocorreu em até vinte e quatro horas após a data da admissão clínica. Após preparação rotineira para cirurgia oftálmica (Slatter, 2005), e, sob efeito de anestesia geral balanceada associada ao uso de bloqueadores neuromusculares, os cães foram submetidos à ceratoplastia lamelar, empregando-se fio náilon cirúrgico 8-0 (Mononaylon 8-0®, Ethicon) e um padrão de sutura simples contínua ou sutura interrompida. Durante o procedimento cirúrgico, as membranas de PBAT/TPS foram recortadas, com o auxílio de um *punch* cirúrgico, respeitando-se a dimensão do defeito corneal (diâmetro) e contemplando, em torno de 2mm, além das bordas da lesão. Aos trinta dias de posoperatório o animal foi submetido a procedimento anestésico geral, para remoção da membrana. Ressalta-se que as causas de base, de resolução cirúrgica, foram corrigidas no mesmo tempo operatório da aplicação da membrana.

2.4 Avaliação clínica posoperatória

Os pacientes foram avaliados por exame físico e oftálmico completos com auxílio de lâmpada de fenda (KOWA, modelo SL-15) e os dados foram compilados na ficha específica modificada, segundo Andrade et al. (2009), contendo os seguintes parâmetros de avaliação: blefarospasmo, secreção ocular, hiperemia conjuntival (0-ausente; 1-leve; 2-moderado; 3-intenso),

vascularização corneal a partir do limbo (0-ausente, 1-proliferação vascular até 2,0mm; 2- de 2,0 a 4,0mm; 3- de 4,0 a 6,0mm; 4- de 6,0 a 8,0mm). Os parâmetros de opacidade corneal, defeito epitelial, quemose, conjuntivalização, descemetocelose e perfuração corneal foram categorizados como (0) -ausente e (1) -presente.

Foram adotados os seguintes momentos de avaliação: M0 - momento de avaliação durante a primeira consulta com queixa principal de ceratite ulcerativa; as demais avaliações ocorreram aos três, sete, quinze e trinta dias de pós-operatório e sendo nominadas como M3, M7, M15 e M30, respectivamente.

Em todos os momentos de avaliação, a aparência da cicatrização corneal foi observada por análise das fotografias, obtendo-se a extensão (em diâmetro) dos defeitos corneais existentes (úlceras, opacidade, vascularização). Todas as imagens foram capturadas na mesma distância focal. As avaliações foram realizadas por dois avaliadores que computavam, individualmente, os escores dos parâmetros estudados.

2.5 Análise estatística

Adotou-se a análise descritiva dos resultados, com cálculo de porcentagem e mediana dos dados e escores obtidos pelos dois avaliadores.

3 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Dos animais estudados, houve predominância da raça ShihTzu (67%), seguido por Boxer (17%) e Poodle (17%). A mediana de idade dos pacientes foi de 24 meses (mínimo de 11 e máximo de 60 meses). A ocorrência de úlceras corneais e as diversas causas de base associadas não apresentam qualquer fator predisponente associado ao sexo; contudo no presente estudo, houve maior representatividade de machos (83,3%).

Entre as causas de base associadas às lesões corneais, observou-se que 50% apresentaram ceratoconjuntivite seca (CCS), 33,3% apresentavam entrópio e em 33,3% foi diagnosticada distiquíase (Tabela 1).

Quanto aos tipos abordados de ulcerações, metade dos casos (n=3, 50%) era de perfuração corneal (casos #1, #3 e #4), 33% de descemetocèle (casos #5 e #6) e 16,7% de úlcera profunda (caso #2).

No que se refere ao blefarospasmo, observou-se, clinicamente, que ele foi leve até os três primeiros dias, tornando-se ausente, até o final da avaliação clínica. Quanto à secreção ocular, pesquisada qualitativa e quantitativamente para os tipos: seroso, seromucoide, mucoide, mucopurulento e purulento, observou-se que esteve sob forma leve até o M7, quando se tornou ausente até o M30. Houve predominância para o tipo mucoso. Em relação à hiperemia conjuntival, observou-se que esta foi intensa no M0 e regrediu temporalmente até os 15 dias de posoperatório.

Sobre a vascularização corneal, pode-se observar importância clínica a partir do sétimo dia de posoperatório, tornando-se intensa no M15 e moderada no M30. A Figura 2, apresenta graficamente os dados.

Com relação aos demais parâmetros avaliados, não houve presença de quaisquer deles nos animais estudados, com exceção da opacidade corneal. Quanto a ela, observou-se leucoma cicatricial formado ao longo do tratamento na extensão do diâmetro da lesão inicial. No M30, após remoção da membrana, observou-se cicatrização corneal, comprovada pelo teste de tingimento pela fluoresceína e manutenção da estrutura do bulbo do olho.

Apesar da evolução posoperatória ter sido satisfatória em todos os casos, houve deiscência da sutura e soltura parcial do enxerto em um deles (caso #5), decorrente de autotraumatismo. No entanto, o mesmo ocorrera na véspera de completar os 30 dias de posoperatório. Em dois casos (casos #4 e #6), houve intercorrências clínicas sistêmicas ao longo das avaliações, representadas por hemoparasitose (M15) e gestação indesejada (M7), sem repercussão, aparente,

no quadro oftálmico. A Figura 3 demonstra a evolução posoperatória do emprego da membrana de PBAT/TPS.

Na proporção selecionada para o emprego no presente estudo (60:40), a adição de TPS ao PBAT esteve calcada pelos melhores resultados em relação a custos, performance e biodegradabilidade, pois a força tênsil do TPS se mantém estável em concentrações menores de 10 % e maiores que 30% (WEI et.al., 2016). Não se encontraram óbices em conduzir as manobras cirúrgicas de ceratoplastia lamelar com a membrana de PBAT/TPS, apesar das mesmas apresentarem uma consistência firme, textura pouco flexível em relação às membranas biológicas, requerendo, portanto, uma manipulação cirúrgica precisa, principalmente, no ato das perfurações com a agulha encastada ao fio. Para aplicá-la, empregou-se, ora o padrão contínuo, ora o padrão interrompido, conforme a sua acomodação no leito da úlcera e curvatura da córnea. Nas úlceras de menor diâmetro, havia facilidade em suturá-la, empregando-se o padrão simples contínuo e, nas de maior diâmetro, o padrão simples interrompido; ambas em uma técnica não perfurante total, conforme descreveu Slatter (2005). Por se tratar de um material que não havia sido utilizado anteriormente, adotou-se o que é preceito na cirurgia oftalmológica moderna, quando do emprego das membranas biológicas e enxertos autógenos (SLATTER, 2005). Hakanson; Merideth (1987), Scagliotti (1988) e Bloog et al. (1989) falaram em favor da utilização dos fios sintéticos na sutura de membranas biológicas sobre a superfície ocular, por se tratarem de materiais pouco reativos, sendo o que foi adotado neste estudo.

A observação de maior incidência de úlcera de córnea em cães da raça ShihTzu neste estudo, também foi relatada por PACKER et al. (2015) que atribuem, tal fato, ao formato da cabeça de cães braquicefálicos, associado a uma abertura palpebral relativamente grande, pregas nasais proeminentes e exposição da esclera, que se constituem em fatores de risco para ocorrência de úlceras corneais.

Em oftalmologia clínica, elencam-se como causas de úlcera de córnea, as anormalidades palpebrais, ciliares, ceratoconjuntivite seca e traumas (GILGER, 2007; SLATTER, 2005). O mesmo foi observado entre os pacientes incluídos no estudo, que as apresentavam de forma isolada ou associada. Entre elas, destaca-se a ceratoconjuntivite seca.

Quanto aos períodos admitidos para o estudo clínico, empreendeu-se adotá-los com base na evolução das fases clássicas da reparação tecidual e em estudos da mesma natureza (GELATT, 2003; GILGER, 2007; SLATTER, 2005). Pode-se admitir que os momentos escolhidos permitiram avaliar os parâmetros adotados quanto ao comportamento da membrana sintética aplicada. Entre eles, o blefarospasmo, que embora presente, considerado leve até o terceiro dia de avaliação, tornou-se ausente até o final da observação clínica (M30). Este sinal talvez esteja relacionado à estimulação das terminações nervosas do epitélio e estroma corneais (WARING, 1984) pelo contato com uma membrana que é mais rígida e também com fios de sutura junto à córnea, o que poderia sensibilizar as incursões palpebrais, ou uveítes reflexas, a despeito de não poderem ser avaliadas (KERN, 1990). O comportamento dos animais, que pareciam confortáveis com o implante da membrana já aos três dias de posoperatório, poderia reforçar essa conjectura.

O predomínio de secreção mucoide encontrada nestes pacientes, provavelmente foi decorrente de processo inflamatório conjuntival associado à gravidade das úlceras e às doenças de base, que deflagram o estímulo das células caliciformes, aumentando o quantitativo de secreção mucóide (GONÇALVES, 1975). No presente estudo, houve importância clínica deste parâmetro nos primeiros sete dias de posoperatório, sendo ausente até o final do estudo.

A hiperemia conjuntival é comum em conjuntivites agudas (YANOFF; FINE, 1989). Ela aparece rapidamente após um trauma ou exposição a alérgenos ou toxinas. Era esperado, portanto, que se observasse tal ocorrência após o

procedimento cirúrgico (Figura 2). Porém, ela regrediu temporalmente até os 15 dias (M15) de posoperatório, retornando, sob a forma leve, aos 30 dias. Neste caso, infere-se que a presença da membrana com seus compósitos exerça estímulo inflamatório crônico, o que coincide com o pico da estimulação angiogênica corneal nos pacientes estudados. Neste sentido, a vascularização corneal observada foi crescente, atingindo seu ápice aos 15 dias de posoperatório, com regressão gradual entre os 15 e 30 dias, sendo persistente ao final da observação clínica (M30). A angiogênese é um mecanismo de múltiplos passos controlados por fatores ativadores e inibidores, que são liberados quando algum estímulo induz à mudança das células endoteliais de estado de quiescência para um fenótipo de replicação e invasão (IRUELA-ARISPE et al., 1997). Como a córnea é uma estrutura avascular, era esperado que a membrana induziria à vascularização corneal, pois o mecanismo de cicatrização nesta estrutura é conduzido pela ação combinada de mediadores inflamatórios e de fatores de crescimento gerados posteriormente à injúria. Entre eles, destacam-se o fator de crescimento epidermal (EGF), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento transformador beta (TGF- β), fator de crescimento de ceratinócitos (KGF), neurotropinas (MGF) e interleucinas (Il-1 e fator de necrose tumoral alfa – TNF- α). No entanto, atualmente, é inegável o papel do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) que pertence a um grupo de glicoproteínas diméricas, que inclui o fator de crescimento placentário (PlGF), VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E e VEGF-F (VALIATTI et al., 2011). Entre eles, o VEGF-A é o mais investigado atualmente, pois ele tem maior propriedade proangiogênica, permitindo o aparecimento de novos vasos (IRANI et al., 2017). O VEGF-B é fracamente angiogênico, porém ele permite a persistência de vasos já existentes. Embora não tenha sido objetivo deste estudo avaliá-los, é possível inferir que ambos (VEGF-A e VEGF-B) tenham participado do processo de vascularização corneal dos cães com esta membrana sintética, com participação ativa do VEGF-A até o 15º dia de posoperatório, quando possivelmente o VEGF-

B assumiu a manutenção dos vasos e posterior redução gradativa (IRANI et al., 2017).

A evolução clínica dos animais submetidos ao tratamento com a membrana de PBAT/ TPS foi semelhante à relatada com técnicas já estabelecidas, tais como: enxerto conjuntival livre e pediculado, ou com o emprego da escama de sardinha e cápsula renal equina preservada (LAUS et al., 2000; ANDRADE et al., 1999). Não foram observadas lesões de padrão colagenolítico com ocorrência de lesões do tipo “melting” e nem sinais clínicos de extrusão da membrana. Destaca-se que em todos exames oftalmológicos, de todos os pacientes, não foi observada alteração de pressão ocular, de forma significativa, ao longo dos momentos avaliados e que os pacientes portadores de ceratoconjuntivite seca apresentaram seus valores do teste da lágrima de Schirmer dentro dos valores de referência, a partir da primeira avaliação posoperatória.

A despeito das complicações observadas, pode-se admitir que os casos #1, #3 e #6, tratavam-se de úlceras mais graves com perfuração mínima, o que gerou, ao final da observação, um aspecto cicatricial mais exuberante, marcadamente com menor transparência pela ocorrência de sinéquia anterior (casos #1 e #6), mas que não interferiu na acuidade visual destes pacientes, comprovada pelo teste de ameaça visual.

4 CONCLUSÃO

Inferi-se que houve adequada cobertura do leito da úlcera, proteção e cicatrização, sugerindo ter ocorrido logo abaixo da membrana sintética, sem que a mesma fosse incorporada à córnea, diferentemente do que ocorre nas ceratoplastias com enxertos biológicos (GILGER, 2007). A evidência clínica de que isto ocorreu foi comprovada pelo teste de tingimento pela fluoresceína, que se mostrou negativo em todas as avaliações posoperatórias.

É inegável que o assunto em questão mereça novas e originais investigações. O uso da membrana de PBAT/TPS parece uma alternativa razoável no tratamento de úlceras de córnea profundas, haja vista que ela permitiu a cicatrização sem ser incorporada à estrutura corneal. Cogita-se, portanto, que esta membrana sintética desempenhou proteção física à ulceração corneal, promovendo resistência mecânica e estabilidade estrutural, sem perda ocular. Apesar da sua textura pouco flexível em relação a outras membranas biológicas, os pacientes não demonstraram desconforto adicional, enquanto a membrana permaneceu suturada à superfície ocular. Percebeu-se, também, boa aceitação do procedimento por parte dos tutores e do aspecto cosmético final.

Com base nos resultados obtidos e nas condições aqui estabelecidas, é possível concluir que a membrana de PBAT/TPS constitui-se em alternativa viável de ceratoplastia lamelar, apesar da disponibilidade deste material ser, ainda, restrita. Enfatiza-se que estudos adicionais sejam realizados, aplicando-a em um número maior de pacientes sob mesmas condições, e adotando-se períodos mais longos de avaliação. Outro ponto a se ressaltar, é que a membrana ainda não se encontra disponível em escala comercial para fins médicos, sendo sua fabricação ainda restrita às indústrias de embalagens.

O estudo foi realizado nas dependências da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba / UNESP – campos de Araçatuba. Os atendimentos ambulatoriais e as cirurgias foram realizadas no Hospital Veterinário (HV) “Luiz Quintiliano de Oliveira”. O referido trabalho foi analisado e aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal seguindo as recomendações do COBEA (processo FOA número: 1103/2015).

5 REFERÊNCIAS

ANDRADE, A. L.; LAUS, J. L.; FIGUEIREDO-FLORENCIO, B. C. M. The use of preserved equine renal capsule to repair lamellar corneal lesions in normal dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v.2, p. 79-82, 1999.

ANDRADE, A. L.; GOMES, J. A. P.; LUVIZOTTO, M. C. R.; PERRI, S. H. V.; CAMPOS, M. Aspectos clínicos e morfológicos do transplante da membrana amniótica sobre a córnea de coelhos com deficiência induzida de células germinativas do limbo. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.1, p.127-142, 2009.

BARIAKI, M.; OLIAEI, E.; SEDDIQI, H.; HONARKAR, H. Preparation and application of chitin and its derivatives: A review. **Iranian Polymer Journal**, v.23 (4), p. 307-326, 2014.

BLOGG, J.R.; STANLEY, R.G.; DUTTON, A.G. Use of conjunctival pedicle grafts in the management of feline keratitis nigrum. **Journal of Small Animal Practice**, v. 30, n. 6, p. 678-684, 1989.

CORRADINI, E.; TEIXEIRA, E. M. T.; AGNELLI, J. A. M.; MATTOSO, L. H. C. **Amido termoplástico**. Documentos Embrapa Instrumentação Agropecuária- São Carlos. ISSN 1518-7179; 30. p.27, 2007.

FAIRBANKS, D.; VIEIRA, L. A.; SANTOS, W. D.; ATTIE, G. C. G.; GOMES, J. A. P.; FREITAS, D. Membrana amniótica no tratamento dos afinamentos corneais e esclerais. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v.66, p. 66-71, 2003.

FUKUSHIMA, K.; RASYIDA, A.; YANG, M. Characterization, degradation and biocompatibility of PBAT based nanocomposites. **Applied Clay Science**. v. 80-81, p. 291-298, 2013.

FUKUSHIMA, K.; WU, M.; BOCCHINI, S.; RASYIDA, A.; YANG, M. PBAT based nanocomposites for medical and industrial applications. **Materials Science and Engineering C**, v.32, p. 1331-1351, 2012.

GALERA, P. D.; LAUS, J. L.; ORIÁ, A. P. Afecções da tunica fibrosa. In: **Oftalmologia clínica e cirurgia em cães e em gatos**. São Paulo: Roca, 2009. p. 69-96.

GELATT, K. N. **Manual de oftalmologia veterinária**. Barueri: Manole LTDA. p 594, 2003.

GILGER, B. Diseases and surgery of the canine cornea and sclera. In: **Veterinary Ophthalmology**, 4th ed., Iowa: Blackwell Publishing, v.2, p.690-752, 2007.

GODOY, C. A. L.; GUERRA, J. L.; BARROS, P. S. M. Ceratoplastia lamelar em cães utilizando membrana fetal eqüina como enxerto. Estudo experimental. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v.65, p. 545-549, 2002.

GONÇALVES, C. P. Keratitis. In: _____. **Oftalmologia**. 4. ed. Brasília: Atheneu, 1975. p. 131-140.

GUO, G. ; ZHANG, C. ; DU, Z. ; ZOU, W. ; TIAN, H. ; XIANG, A. ; LI, H. Structure and property of biodegradable soy protein isolate/ PBAT blends. **Industrial Crops and Products**, v.74, p.731-736, 2015.

HAKANSON, N. E.; MEREDITH, R. E. Conjunctival pedicle grafting in the treatment of corneal ulcers in the dog and cat. **Journal of American Animal Hospital Association**, v. 23, p. 641-648, 1986.

IRANI, Y. D.; SCOTNEY, P. D.; KLEBE, S. ; MORTIMER, L. A.; NASH, A. D.; WILLIAMS, K. A. An Anti-VEGF-B Antibody Fragment Induces Regression of Pre-Existing Blood Vessels in the Rat Cornea. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 58, n 9, p. 3404-3413, 2017.

IRUELA-ARISPE, M. L., DVORA, K. H. Angiogenesis: a dinamic balance of stimulators and inhibitors. **Thrombosis and Haemostasis**, v.76, p.672-88, 1997.

KERN, T. J. Ulcerative Keratitis. **Veterinary Clinical North American Small Practice**, v 20. P643-66, 1990.

KOIZUMI, N. J.; INATOMI, T. J.; SOTOZONO, C. J.; FULLWOOD, N. J.; QUANTOCK, A.J.; KINOSHITA, S. Growth factor mRNA and protein in preserved human amniotic membrane. **Current Eye Research**, v.20, n.3, p. 173-177, 2000.

LAUS, J. L.; GALERA, P. D.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; et al. Bilateral lamellar keratoplasty in descemetocoele treatment in dog with botulism by use of equine renal capsule and conjunctival pedicle graft. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, n.2, p.355-359, 1999.

LAUS, J. L.; FERREIRA A. L.; ANDRADE, A. L. The use of the sardine scale (*Sardinella brasiliensis* - STEIDACHNER, 1859), preserved in glicerine, in experimental lamellar keratoplasties in dogs. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 37, n. 1, 2000.

MACEDO, L. R. **Emprego de membrana de celulose microfibrilar na ceratoplastia lamelar em coelhos (*O. cuniculus*, Linnaeus, 1758): aspectos clínicos, morfológicos e imunoistoquímicos**, 59 p., 2008. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

MOHANTY, S.; NAYAK, S. K. Biodegradable Nanocompositos of Poly (butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT and Organically Modified Layered Silicates. **Journal Polymers Environment**, v.20, p. 195-207, 2012.

MONTEIRO, E. C. L.; SCHELLINI, S. A.; MARQUES, M. E. A.; KAMEGASAWA, A.; PADOVANI, C. R. Tratamento da úlcera corneana experimental com membrana amniótica. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v.63, n.1, p.33-37, 2000.

MORALES, A.; BARROS, P. S. M.; NETO, J. B.; CHIERICE, G.; NETO, S. C.; MIGLIATI, E. R. Emprego experimental da poliuretana derivada de óleo

de mamona (*Ricinus communis* L.) em implantes lamelares, interlamelares e penetrantes na córnea de coelhos. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, v. 42, n.1, p. 31-37, 2005.

OLLIVIER, F. J.; GILGER, C. B.; BARRIE, K. P.; KALLBERG, M. E.; PLUMMER, C. E.; O'REILLY, S.; GELATT, K. N.; BROOKS, D. E. Proteinases of the cornea and preocular tear film. **Veterinary Ophthalmology**, v.10, n.4, p.199–206, 2007.

PACKER, R. M.; HENDRICKS, A.; BURN, C. C. Impact of facial conformation on canine health: corneal ulceration. **PLoS**, v 10, n 5, p. 1-16, 2015.

PRABHASAWAT, P.; TESAIBUL, N.; KOMOLSURADEJ, W. Single and multilayer amniotic membrane transplantation for persistent corneal epithelial defect with and without stromal thinning and perforation. **British Journal of Ophthalmology**, v. 85, p.1455-1463, 2001.

PONTES, K. C. S.; BORGES, A. P. B.; DUARTE, T. S.; MORATO, G. L.; ZAVAN, V.; ELEOTÉRIO, R. B.; CARLO, E. C. Membrana amniótica canina utilizada como bandagem em úlcera superficial de córnea de coelhos – aspectos clínicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.5, p.1069-1074, 2008.

PENA, J. D. O.; MELO, G. B.; GOMES, J. A. P.; HAAPALAINEN, E. F.; KOMAGOME, C. M.; SANTOS, N. C.; FILHO, A. A. S. L.; RIZZO, L. V. Análise ultraestrutural e de fatores de crescimento de diferentes métodos de

preservação da membrana amniótica utilizada em cirurgia ocular. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v.70, n.5, p. 756-762, 2007.

SATO, H.; SHIMAZAKI, J.; SHIMAZAKI, N. Role of growth factors for ocular surface reconstruction after amniotic membrane transplantation. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v.39, p.428, 1998.

SCAGLIOTTI, R. H. Tarsoconjunctival Island Graft for the treatment of deep corneal ulcers, descemetoceles, and perforations in 35 dogs and 6 cats. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)**, v. 3, n. 1, p. 69-76, 1988.

SHEIKH, Z.; HAMDAN, N.; IKEDA, Y.; GRYNPAN, M.; GANSS, B.; GLOGAUER, M. Natural graft tissues and synthetic biomaterials for periodontal and alveolar bone reconstructive applications: a review. **Biomaterials Research**, v. 21, p.9, 2017.

SLATTER, D. **Fundamentos de oftalmologia veterinária**. 3 ed. São Paulo: Roca, 2005 p. 686.

SLATTER, D.; DIETRICH, U. Córnea e esclera. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. v.2, 3 ed. Barueri: Manole, 2007. p.1368-1396.

STEPTO, R.F.T. Understanding the processing of thermoplastic starch. **Macromolecular Symposia**, 245-246, p. 571-577, 2006.

TEIXEIRA, E. M. **Utilização de amido de mandioca na preparação de novos materiais termoplásticos**. 201 f., 2007. Tese (Doutorado em Físico-Química) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

VALIATTI, F. B.; CRISPIM, D.; BENFICA, C.; VALIATTI, B. B.; KRAMER, C. K.; CANANI, L. H. Papel do fator de crescimento vascular endothelial na angiogênese e na retinopatia diabética. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**. n. 55, v.2, p. 106-113, 2011.

WANG, T.; WANG, I.; LU, J.; YOUNG, T. Novel chitosan-polycaprolactone blends as potential scaffold and carrier for corneal endothelial transplantation. **Molecular Vision**. v. 18, p. 255-264, 2012.

WARING, G. O. Corneal structure and pathophysiology. In: LEIBOWITZ, H. **Corneal disorders: clinical diagnosis and management**. Philadelphia: WB Saunders, 1984. p. 3-25.

WEI, D.; WANG, H.; XIAO, H.; ZHENG, A.; YANG, Y. Morphology and mechanical properties of poly(butylene adipate-co-terephthalate)/ potato starch blends in the presence of synthesized reactive compatibilizer or modified poly(butylene adipate-co-terephthalate). **Carbohydrate Polymers**, v. 123, p. 275-282, 2015.

WEI, D.; WANG, H.; ZIAEE, Z.; CHIBANTE, F.; ZHENG, A.; XIAO, H. Non-leaching antimicrobial biodegradable PBAT films through a facile and novel approach. **Materials Science and Engineering C**, v. 58, p.986-991, 2016.

YANOFF, M.; FINE, B. S. **Ocular pathology: a text and atlas**, 3 ed., p. 737, 1989.

Tabela 1- Distribuição de animais incluídos no estudo quanto à raça, sexo, idade e causa da ceratite ulcerativa- Araçatuba (SP), 2017

Animal	Raça	Sexo	Idade	Causa da Ceratite ulcerativa
1	Poodle	M	5 anos	CCS e Trauma
2	ShihTzu	M	4 anos	CCS
3	ShihTzu	M	2 anos	Distiquíase
4	ShihTzu	F	11 meses	CCS, Distiquíase e Entrópio
5	ShihTzu	M	2 anos	Entrópio
6	Boxer	M	2 anos	Trauma

M: macho; F: fêmea; CCS: ceratoconjuntivite seca.



Figura 1- Membrana de PBAT/TPS- folha íntegra (à esquerda) e após recortada em fragmentos de 1 cm² e embaladas individualmente e esterilizadas com radiação gama- carga de 10 Gray (Gy) (à direita).

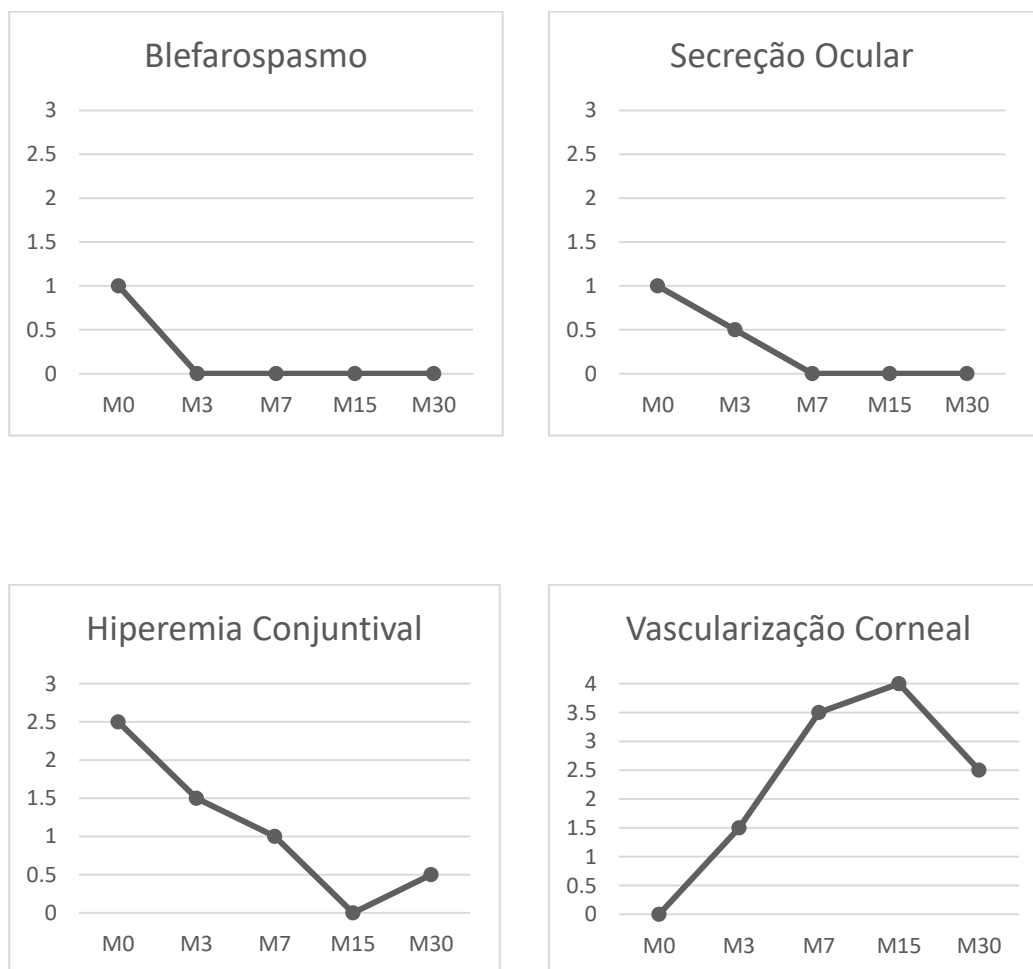


Figura 2- Dados referentes a mediana dos escores de blefarospasmo, secreção ocular, hiperemia conjuntival e vascularização corneal nos momentos avaliados.

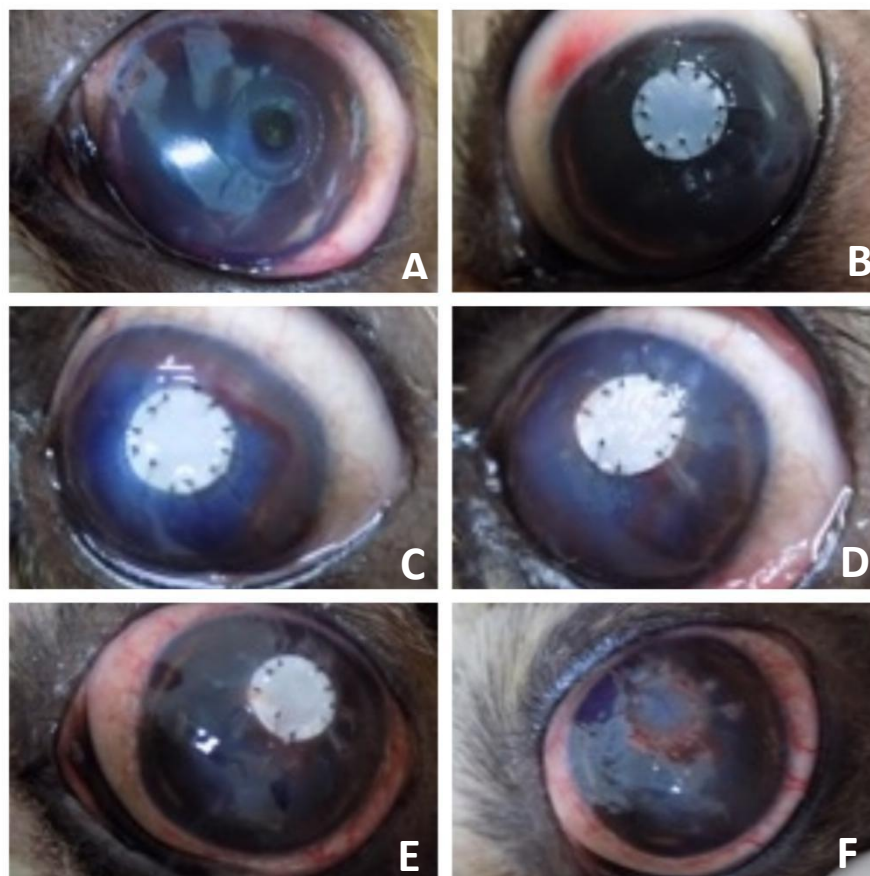


Figura 3- Imagem fotográfica da evolução posoperatória do uso da membrana de PBAT/TPS no tratamento de úlcera de córnea profunda. Paciente #3, ShihTzu, macho, dois anos de idade. Em (A) no M0. Nota-se alteração do contorno da córnea em região paracentral com exposição da membrana de Descemet; em (B), aspecto posoperatório imediato; Em (C), evolução clínica aos três dias de posoperatório. Notar edema corneal nas adjacências da membrana e vascularização corneal do tipo dicotomizada em direção ao enxerto; em (D), aspecto no M7. Notar atenuação vascular e edema corneal difuso; em (E), evolução posoperatória aos 15 dias. Notar melhora do edema e membrana adequadamente aplicada no leito da úlcera; em (F) aspecto clínico aos 30 dias de posoperatório (M30) após remoção da membrana e sutura. Notar leucoma cicatricial restrito a lesão tratada e granuloma de ponto perilesional.