

Suely Romano Bernardes

**Avaliação da injeção de polietileno gel
no subcutâneo de ratos**

Orientadora: Prof^a Dr^a Silvana Artioli Schellini

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Cirurgia, área de concentração em Bases Gerais da Cirurgia e Cirurgia Experimental, da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista – UNESP, para obtenção do título de Mestre.

Botucatu – SP

2002

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO DE AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ELZA NUMATA

Bernardes, Suely Romano

Avaliação da injeção de polietileno gel no subcutâneo de ratos / Suely Romano Bernardes. – 2002.

Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2002.

Orientadora: Silvana Artioli Schellini

1. Biomateriais – Estudos experimentais 2. Implantes artificiais – Estudos experimentais

CDD 617.95

Palavras-chave: Biomateriais; Polietileno gel; Reposição de volume; Ratos; Implantes; Aumento de tecidos moles

Dedico este trabalho e todo o meu amor à minha queridíssima mãe,

Luísa Romano Bernardes

e ao meu muito amado e saudoso pai,

José Bernardes

*por tudo de bom que sempre me deram e que eu nunca saberei retribuir
à altura, porque sou muito pequena diante de sua grandeza.*

Obrigada, minha Mãe!

Obrigada, meu Pai!

À Prof^a Dr^a Silvana Artioli Schellini,

que me concedeu o prazer e o privilégio de tê-la como minha orientadora, agradeço por todas as horas que me dedicou, todo o interesse, o esforço por ver essa jornada concluída e os inúmeros exemplos que me deu.

E o maior deles, sem dúvida, não se esgotará neste trabalho: o de que é possível, sim, fazer com que as horas de um dia se multipliquem por tantas quantas sejam necessárias para que uma tarefa seja cumprida!

Minha homenagem e gratidão sinceras.

Agradecimentos

Agradeço, primeiramente, a

Deus

porque, além de me ajudar em todos os momentos, como sempre faz, deu-me forças para que eu não me desanimasse nunca diante dos percalços que enfrentei para chegar até aqui.

E, para não permitir que eu dormisse ao volante, como tantas vezes tive vontade de fazer enquanto dirigia nas soníferas retas da Castelo Branco, designou para mim um efficientíssimo Anjo da Guarda, a quem agradeço também!

Graças, Senhor, porque pude terminar mais essa viagem!



Também agradeço a cada uma das pessoas que participaram de meu esforço, oferecendo-me, tão gentil e desinteressadamente, seu tempo, seu apoio e palavras de estímulo.

Especialmente:

Agradecimentos

- ❖ *Ao Prof. Dr. Romualdo Rossa, da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, por todas as vezes que me atendeu e me orientou com tanta gentileza, oferecendo-me seu imprescindível apoio técnico e sua amabilidade;*
- ❖ *Ao Prof. Dr. Carlos Roberto Padovani, do Depto. de Bioestatística do Instituto de Biociências – UNESP, pela boa-vontade com que me ajudou na análise estatística e pelo prestígio que conferiu à minha aula de qualificação;*
- ❖ *À Prof^a Dr^a Suzana Matayoshi, do Depto. de Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, por suas palavras altamente estimulantes e pela amabilidade com que sempre me recebe;*
- ❖ *À Prof^a Dr^a Mariângela E. Marques, do Depto. de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP pela gentileza ao orientar-me quanto à análise histopatológica deste trabalho;*
- ❖ *Aos professores do Depto. de Oftalmologia da Faculdade de Medicina de Botucatu: Prof^a Dr^a Maria Rosa Bet de Moraes Silva, Prof^a Dr^a Amélia Kamegasawa, Dr^a Eliane Chaves Jorge, Dr. Edson Nacib Jorge, Dr. Felipe Heimbeck e Dr. Antonio Carlos Rodrigues, sempre amáveis e solícitos;*

Agradecimentos

- ❖ *À Marta Regina R. Sarzi e a Carlos Alberto Martins, do Laboratório de Cirurgia Experimental (Oftalmologia) da FMB – UNESP: meus dois auxiliares especiais e fundamentais: ai de mim sem eles!*
- ❖ *Ao pessoal da Secretaria de Pós-Graduação da FMB-UNESP: Vera Lúcia Aparecida Mengue, Natanael Pinheiro Sales, Regina Célia Spadin e Lílian Cristina N. B. Nunes: pela paciência, atenção e bom humor;*
- ❖ *Às bibliotecárias Elza Numata, Luciana Pizzani e Rosemary Cristina Silva, que tão prontamente me orientaram quanto à ficha catalográfica e às referências bibliográficas;*
- ❖ *À Elisete Semião e à Flávia Gonçalves, do Depto. de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia da Cabeça e Pescoço da FMB- UNESP, pela presteza ao me auxiliarem sempre que necessitei;*
- ❖ *A José Carlos Georgete, do Laboratório Experimental de Clínica Médica da FMB – UNESP pela ajuda preciosa que me deu ao franquear-me as dependências de seu laboratório, mesmo aos sábados e domingos, fazendo com meu trabalho de morfometria rendesse sobremaneira;*

- ❖ *Aos meus queridos irmãos Flávio Romano Bernardes e Sonia Cristina Bernardes e ao meu cunhado Augusto Francisco Neto, que pronta e gentilmente me auxiliaram numa grande complicação que tive com o computador quando este trabalho estava praticamente pronto: não fosse por sua ajuda, todos os meus arquivos poderiam ter se perdido!*
- ❖ *À Dra. Jessie Freire Gomes dos Reis, pessoa especial para mim, que tem me tomado pela mão e me levado adiante, dando-me, abnegadamente, horas preciosas de seu tempo;*
- ❖ *Ao Dr. Benício Dini de Mendonça, meu ex-sócio e sempre amigo, que me incentivou a iniciar esta jornada;*

e a todas as pessoas, que de uma forma ou de outra, contribuíram para que eu pudesse terminá-la.



A UM POETA

(Olavo Bilac)

*Longe do estéril turbilhão da rua
Beneditino, escreve! No aconchego
Do claustro, na paciência e no sossego,
Trabalha, e teima, e lima, e sofre, e sua!*

*Mas que na forma se disfarce o emprego
Do esforço; e a trama viva se construa
De tal modo que a imagem fique nua,
Rica mas sóbria, como um templo grego.*

*Não se mostre na fábrica o suplício
Do mestre. E natural, o efeito agrade,
Sem lembrar os andaimes do edifício:*

*Porque a Beleza, gêmea da Verdade,
Arte pura, inimiga do artifício,
É a força e a graça na simplicidade.*

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas.....	10
Lista de Figuras	11
Lista de Tabelas e Medidas.....	14
Resumo.....	15
1 — Introdução:	17
1.1 — Materiais Autólogos	19
1.2 — Materiais Homólogos	21
1.3 — Materiais Xenogênicos:	23
1.4 — Materiais Aloplásticos:	25
1.5 — O Polietileno:	27
1.5.1 — A descoberta do polietileno	28
1.5.2 — O polietileno na cirurgia oftalmológica:	31
2 — Objetivos:	35
3 — Materiais e métodos:	36
3.1 — Animais Utilizados:	36
3.2 - Grupos Experimentais	36
3.3 - Parâmetros Avaliados	37
3.1.1 — Avaliação clínica:	37
3.1.2 — Avaliação histopatológica:	37
3.1.2 - Avaliação morfométrica	38
3.4 – Polietileno Utilizado.....	38
3.5 - Procedimento para injeção do PG	39
3.6 - Manutenção dos animais	40
3.7 - Sacrifício dos animais	40
3.8 - Obtenção dos espécimes para estudo	40
3.9 - Preparo do material para estudo	41
3.9.1 – Desidratação e diafanização	41
3.9.2 – Emblocagem	41
3.9.3 – Fixação.....	42
3.9.4 – Desidratação	42
3.9.5 – Pré-infiltração	43

3.9.6 – Infiltração.....	43
3.9.7 – Inclusão	43
3.9.8 – Colocação em moldes	43
3.9.9 – Secagem em estufa	43
3.9.10 – Corte em resina.....	43
3.9.11 – Coloração em hematoxilina/ eosina	44
3.10 – Metodologia para o exame morfométrico	45
3.11 – Avaliação estatística dos resultados	46
4 - Resultados:	47
4.1 – Avaliação geral da proposta	47
4.2 –Avaliação clínica e evolução dos animais	48
4.3 – Avaliação histopatológica.....	48
4.3.1	48
4.3.2	49
4.3.3	49
4.3.4	50
4.3.5	50
4.3.6	51
4.3.7	51
4.3.8	51
4.4 - Avaliação morfológica.....	61
5 - Discussão:	62
6 - Conclusões:	75
7 - Referências bibliográficas:	76
Apêndice 1:.....	89
Apêndice 2:	107
Abstract:	108

LISTA DE ABREVIATURAS

A1	área da pseudocápsula
A2	área da zona de integração
FMB	Faculdade de Medicina de Botucatu
G1	sacrifício 7 dias após a injeção de polietileno gel
G2	sacrifício 15 dias após a injeção de polietileno gel
G3	sacrifício 30 dias após a injeção de polietileno gel
G4	sacrifício 45 dias após a injeção de polietileno gel
G5	sacrifício 60 dias após a injeção de polietileno gel
G6	sacrifício 90 dias após a injeção de polietileno gel
G7	sacrifício 180 dias após a injeção de polietileno gel
G8	sacrifício 365 dias após a injeção de polietileno gel
HE	hematoxilina-eosina
kg	quilograma
mg	miligrama
PG	polietileno gel
PMMA	polimetilmetacrilato
SP	São Paulo
TX	Texas
UNESP	Universidade Estadual Paulista
X 10	aumento de 10 vezes
X 40	aumento de 40 vezes
X 100	aumento de 100 vezes

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1:** fórmula química de um polímero (hidrocarboneto)_____ **29**
- FIGURA 2:** O polietileno gel é apresentado em seringa de 3 ml, com agulha 30x7. Por tratar-se de substância flexível, note-se que a mesma amoldou-se à seringa. _____ **38**
- FIGURA 3:** As setas indicam o local de aplicação do PG (região dorsal mediana). _____ **39**
- FIGURA 4:** Lâminas prontas. Cada uma contém cinco cortes seriados de um mesmo animal. _____ **45**
- FIGURA 5:** Fotomicrografia de rato do G1. As áreas opticamente vazias correspondem aos grânulos de polietileno (pe). A resposta fibrovascular cresce por entre os grânulos. Pseudocápsula (pc - seta) (Hematoxilina-eosina – HE - X 40). _____ **52**
- FIGURA 6:** Fotomicrografia de rato do G1. Inúmeras hemácias (seta) e exsudato fibrinóide por entre os grânulos de polietileno (HE - X 40). ____ **52**
- FIGURA 7:** Fotomicrografia de rato do G2. Espaços preenchidos por reação fibrovascular (☆) e poucas células inflamatórias na periferia do material. Polietileno (P) (HE - X 10). _____ **53**
- FIGURA 8:** Fotomicrografia de rato do G2. Observar a reação fibrovascular com poucas células inflamatórias e hemácias por entre os grânulos de polietileno (P). (HE – X 40) _____ **53**

FIGURA 9 - Fotomicrografia de rato do G3. Área da periferia do material com a resposta fibrovascular (seta) mais densa que nos grupos anteriores (HE - X 10) _____ **54**

FIGURA 10: Fotomicrografia de rato do G3. Região central da cavidade com a presença de tecido de granulação de Polietileno (P) (HE- X 100). **54**

FIGURA 11: Fotomicrografia de rato do G4 Pseudocápsula. A reação fibrovascular contendo escassas células inflamatórias já preenche toda a cavidade. Os neovasos contêm hemácias (seta) (HE - X 100). _____ **55**

FIGURA 12: Fotomicrografia de rato do G4. A reação tecidual preenche os espaços entre grânulos de polietileno (P). (MD) (HE - X 40). _____ **55**

FIGURA 13: Fotomicrografia de rato do G5. Observar o tecido de granulação com características de maduro, envolvendo os grânulos de polietileno principalmente na periferia do material. (setas) (HE - X 10). **56**

FIGURA 14: Fotomicrografia de rato do G5. A reação tecidual é pobre em células inflamatórias (HE - X100). _____ **56**

FIGURA 15: Fotomicrografia de rato do G6. Observar que os espaços entre os grânulos de polietileno estão preenchidos por tecido de granulação (HE- X40). _____ **57**

FIGURA 16: Fotomicrografia de rato do G6. Ao redor do material, pseudocápsula (seta). Grânulos de polietileno (P) envoltos por tecido de granulação (HE - X100). _____ **57**

FIGURA 17: Fotomicrografia de rato do G7. A pseudocápsula (seta) tornou-se estreita e densa. Observar que as características do tecido de granulação de polietileno são de tecido maduro, com aspecto de colágeno (estrela) (HE- X40). _____ **58**

FIGURA 18: Fotomicrografia de rato do G7. Densa fibrose com escassas células inflamatórias permeiam os grânulos de polietileno (HE- X40). _ **58**

FIGURA 19: Fotomicrografia de rato do G8. Pseudocápsula (seta) estreita e densa. Fibrose e com pouca reação inflamatória (HE- X40).— **59**

FIGURA 20: Fotomicrografia de rato do G8. A integração do polietileno com o hospedeiro ocorreu com formação de densa fibrose e com pouca reação inflamatória (HE - X40). _____ **59**

FIGURA 21: Fotomicrografia de rato do G8. Observar o colágeno entre os grânulos de polietileno (seta) (HE - X100) _____ **60**

LISTA DE TABELAS E MEDIDAS

TABELA 1: Mediana e valores mínimo e máximo das áreas da pseudocápsula e zona de integração com respectivos resultados do teste estatístico de comparação dos grupos. Análise de variância não-paramétrica (Teste de Kruskal-Wallis) **61**

RELAÇÃO COMPLETA DAS MEDIDAS DE ÁREA (A1 E A2)
(Apêndice 1) **89**

RELAÇÃO DA MÉDIA DAS MEDIDAS DE A1 E A2: Média das medidas obtidas para A1 (área da pseudocápsula) e A2 (área da zona de integração), por animal e por grupo (Apêndice 2) **107**

RESUMO

Esta pesquisa foi realizada com o objetivo de se avaliar o comportamento do polietileno gel como um material para ser usado para a reposição de volume ou aumento de tecidos moles e para se estudar as reações teciduais que se seguem à sua injeção no subcutâneo dorsal de ratos. **Material e método:** uma injeção de 01 cc de polietileno gel (Makron Biopolímeros Ltda. – Mogi das Cruzes - SP – Brasil) foi efetuada na região subcutânea dorsal de 24 ratos brancos, machos, pesando cerca de 200 gramas cada um, sob anestesia geral, tricotomia e assepsia. Os animais foram separados em oito grupos e foram sacrificados 7 (G1), 15 (G2), 30 (G3), 45 (G4), 60 (G5), 90 (G6), 180 (G7) e 365 (G8) dias após a injeção da substância a ser estudada. Os espécimes foram removidos e preparados para o exame histopatológico. Este foi realizado ao microscópio óptico e foi realizada também a análise morfométrica dos dados obtidos. Os resultados foram submetidos à análise estatística (Kruskal-Wallis). **Resultados:** a comparação entre os grupos revelou que o polietileno gel esteve presente através de todo o período experimental, provocando escassa reação tecidual, com poucas células inflamatórias, principalmente na periferia do material

e no começo do experimento. Posteriormente, essa reação foi mais densa, avançando para o centro do material e também com poucas células inflamatórias. Nenhum sinal de infecção foi observado durante o período experimental. **Conclusões:** a manutenção do PG, com reação inflamatória muito discreta e sem sinais de rejeição ou infecção, leva-nos a considerar este material como sendo uma boa opção para reposição de volume e para aumento de tecidos moles.

Palavras-chave: biomateriais; polietileno gel; reposição de volume; aumento de tecidos moles; ratos; implantes.

1. INTRODUÇÃO

O aumento e a reposição de volume dos tecidos moles são dos mais procurados procedimentos em todo o mundo, há séculos, e têm se tornado cada vez mais importantes, à medida que os pacientes e cirurgiões requerem mais e melhores resultados funcionais e estéticos, sem maiores procedimentos cirúrgicos.

Nos últimos 10 anos, principalmente, tem ocorrido um enorme interesse pelos materiais a serem administrados sob a forma injetável para preenchimento e aumento de tecidos moles. Como resultado, este é um campo muito promissor para pesquisas e o desenvolvimento de novos materiais tem possibilitado o emprego destas substâncias para tratamento em humanos (Elson, 1995), especialmente pelos cirurgiões que tratam de estética e rejuvenescimento da face, usando técnicas minimamente invasivas (Ellis et al., 2001).

Assim, por exemplo, o uso de substâncias líquidas ou injetáveis para reposição de deficiências de volume pode ser útil, dentre outras situações, para o tratamento de rugas periorais ou

periorbitais, devolvendo o contorno adequado para regiões onde existam sulcos de expressão.

Outro fim para as substâncias injetáveis seria a reposição de volume na órbita, pois para se tratar adequadamente a cavidade anoftálmica é necessária a reposição do volume perdido após a realização de uma enucleação ou uma evisceração, o que pode ser obtido com a utilização de esferas aloplásticas ou enxertos autólogos.

Porém, muitas vezes persiste, ainda, déficit de volume pela inadequada escolha do tamanho do implante ou por retração cicatricial da cavidade. Para reposição de pequenas deficiências de volume, substâncias injetáveis teriam seu lugar.

Ao escolher-se o implante subcutâneo apropriado há que se entender perfeitamente as características dos diversos materiais disponíveis. Nenhum deles possui tudo o que se espera do material de preenchimento ideal (Duranti et als., 1998).

O material ideal a ser utilizado para devolver volume para os tecidos moles deve ter algumas características, tais como: possuir textura, distensibilidade e cor semelhante aos tecidos vizinhos, ser inerte, persistir no local de implantação, não transmitir ou causar doenças e se integrar com o hospedeiro (Sclafani et al., 2000).

Além disso, o material ideal deve ser estável, resistente e biocompatível, de forma que haja espaços virtuais que possam ser preenchidos pelo rápido crescimento fibrovascular, o que vai propiciar o transporte de células de defesa que combaterão infecções dentro do implante (Sclafani et al., 1997a).

O aumento dos tecidos moles para correção do déficit de volume ou alterações do contorno pode ser obtido com quatro classes de materiais:

- autólogos,
- homólogos,
- xenogênicos,
- aloplásticos.

1.1: MATERIAIS AUTÓLOGOS:

Os materiais autólogos para o aumento dos tecidos moles podem ser, dentre outros, pele ou gordura. Os tecidos autólogos são viáveis, compatíveis, possuem rápida vascularização e pouca inflamação (Beaver et al., 1996). Porém, requerem incisão e duplo procedimento: um para remoção do tecido no sítio doador e outro no sítio receptor, aumentando o tempo cirúrgico.

A gordura autóloga tem sido sugerida há muitos anos para ser utilizada como implante, sob a forma de enxerto cirúrgico ou injetada. A gordura a ser injetada é obtida por lipoaspiração e já foi utilizada para correção de deficiência de volume na prega nasolabial, rugas periorais, contorno labial, rugas periorbitais e glabella (Chajchir et al., 1989).

Estudos comparativos entre a gordura na forma de enxertos e a gordura injetável apontam esta última como a pior em termos de manutenção de volume, pois ocorre redução gradativa do volume injetado com o passar do tempo (Wetmore, 1989).

Demonstrou-se, através de avaliação histológica, que os adipócitos podem não permanecer viáveis, sendo substituídos por fibrose, o que resultará em perda do volume injetado (Kononas et al., 1993).

Já foi observado que a injeção de gordura não é um procedimento isento de complicações, as quais podem ser, inclusive, graves. Um exemplo importante é a embolia gordurosa para o cérebro ou para o olho, como já foi possível observar (Fleinendegen et al., 1998).

Os enxertos dermoadiposos podem ser úteis para reposição do volume na cavidade anoftálmica (Smith & Petrelli, 1982). O enxerto dermoadiposo pode ser facilmente removido, recortado do tamanho desejado e, inclusive, fixado aos músculos, o que pode lhe conferir mobilidade (Bosniak et al., 1989).

Fibroblastos autólogos da derme, propagados em cultura de tecidos, também foram sugeridos para promover o aumento dos tecidos moles (Keller et al., 2000).

Outros materiais autólogos que podem ser utilizados são: cartilagem, osso, fascia lata e o colágeno (Gougelmann, 1976).

O colágeno é a substância mais utilizada atualmente para preenchimento ou para corrigir defeitos em tecidos moles.

Existe o colágeno autólogo, o homólogo e o xenogênico.

O colágeno autólogo pode ser apresentado sob a forma injetável, sendo derivado de proteínas dérmicas humanas (*Autologen* e *Dermalogen*; Collagenesis In, Beverly). O colágeno autólogo é extraído do próprio paciente, em cirurgia eletiva prévia.

A forma solúvel do colágeno é obtida por processo de hidrólise enzimática seletiva e controlada; após a injeção, o colágeno que se encontra na forma fluida sofre polimerização espontânea no espaço subcutâneo (Knapp et al., 1977).

1.2: MATERIAIS HOMÓLOGOS

Tecidos homólogos também podem ser utilizados. Eles não requerem uma segunda incisão, mas necessitam ter características tais como: serem inertes; proverem apenas uma matriz colágena e provocarem pouca reação tipo corpo estranho, com inflamação e reabsorção pequenas (Beaver et al., 1996).

Alguns tecidos homólogos sugeridos são a duramáter irradiada (Nordstrom et al., 1993) e o âmnio (Spira et al., 1994). Ambos resultam em pouca reação implante-hospedeiro, podendo ser utilizados com sucesso.

Também podem ser utilizados cartilagem, gordura e osso homólogos e estes tecidos foram sugeridos para a reconstrução da cavidade anoftálmica (Perry, 1990)

O *Dermalogex* é um colágeno homólogo injetável, derivado de pele de doadores obtida em bancos de pele processada. É uma substância tida como "fisiológica", segura e efetiva para uso como repositora de déficit de volume (Fagien, 2000).

Por serem derivados de tecidos humanos, tanto o *Autologen* (colágeno autólogo), como o *Dermalogen*, o *Dermaplant*, ou o *Dermalox* (colágeno homólogo), não provocam reação imune. Porém, o primeiro necessita de 3 a 4 semanas para processamento e o segundo possui, teoricamente, o risco de transmissão de doenças (Beran & Rohrich, 1997).

Experimentos em ratos demonstraram que o colágeno permanece por mais de um ano no local da injeção, apesar de ocorrer alteração em sua estrutura, com alteração do colágeno III que se transforma em colágeno I (Xu et al., 1995).

A longevidade ou a persistência do efeito depende da região que recebe o material, da técnica e do volume injetado (Fagien & Elson, 2001).

Uma variação do colágeno homólogo que se apresenta como combinação de colágeno e fibroblastos, apresentada na forma injetável, conhecido comercialmente como *Fascian*, tem sido também utilizada para correção de deficiência de volume em partes moles.

Um tipo de tecido acelular, ou seja, um tecido derivado de pele homóloga processada da qual se removem todas as células e fatores antigênicos, proveniente de doadores submetidos a rigorosa triagem para doenças infecciosas, é o *Alloderm*, (Life Cell Corp, The Woodlands, TX.). O *Alloderm* está sendo bastante

utilizado com fins cosméticos e reparadores nos Estados Unidos da América (Terino, 2001) e também pode ser utilizado para aumento de partes moles.

Mais recentemente, a forma injetável do Alloderm, o *Micronized Alloderm*, está sendo estudada. O produto é composto por partículas de Alloderm cortadas em pequenas e finas faixas que conseguem passar por uma agulha fina, possibilitando a injeção da substância para aumento de tecidos moles (Sclafani et al., 2000).

O inconveniente do uso de tecidos homólogos é a necessidade de triagem ou seleção rigorosa a que devem ser submetidos os doadores, para que doenças infecto-contagiosas, tais como a hepatite, a AIDS e outras enfermidades, não sejam transmitidas.

Além disso, os tecidos homólogos, em geral, necessitam de conservação muitas vezes em condições especiais, podendo haver dificuldades nessa conservação e transporte do material.

1.3: MATERIAIS XENOGÊNICOS

Quanto às substâncias xenogênicas, essas são evitadas pelo receio de reação tipo rejeição. Porém, existem várias dessas substâncias, tais como o colágeno bovino e tecidos fetais, que são utilizados para tratamento de deficiência de volume (Hinderer & Escalona, 1990).

O colágeno bovino tipo I processado (*Zyderm*; Collagen Corp, Palo Alto) é usado, com sucesso, desde a década de 70, mas pode sofrer reabsorção com o passar do tempo.

Na tentativa de evitar-se a reabsorção do colágeno bovino, foi-lhe adicionado glutaraldeído (*Zyplast Collagen*), o que não impediu que a mesma ocorresse (Cooperman et al., 1985).

Estudos mostraram que tanto o *Zyderm*, como o *Zyplast*, tendem a migrar para partes mais profundas da área de implantação, às vezes levando à perda da correção, o que ocorre 6 a 9 meses após o seu uso (Stegman et al., 1987).

O colágeno bovino pode levar ao desenvolvimento de reações alérgicas, que ocorrem em 3% dos pacientes (Cooperman et al., 1985).

Uma das substâncias mais promissoras para restaurar deficiência de volume é o ácido hialurônico (Streit et al., 1999) que pode ser derivado de aves (*Hylaform Viscoelastic Gel-Hylan B*) ou obtido da fermentação de bactérias, como os *Streptococos* (*Restylane*, Q-Med, Uppsala, Sweden) (Manna et al., 1999). O *Hylaform* é apontado como superior e mais seguro que o *Restylane* por ser este último derivado de bactérias. Porém, outros estudos reportam a superioridade do *Restylane* como substância estável, de origem não animal, bem tolerada e efetiva em manter o volume aplicado na face (Duranti et al., 1998).

Comparando-se o *Hylan B* gel, um tipo de ácido hialurônico associado com colágeno, os resultados foram melhores com o *Hylan B* (Piacquadio et al., 1997).

1.4: MATERIAIS ALOPLÁSTICOS

Uma modalidade muito promissora de materiais para preenchimento de partes moles e aumento de volume inclui as substâncias aloplásticas ou sintéticas e a grande maioria dos estudos atualmente está voltada para elas.

A vantagem de se utilizar materiais sintéticos está na não necessidade de triagem de doadores, na dispensa de conservação especial e muitas vezes no preço que é, em geral, inferior ao preço dos tecidos processados.

Outro interesse pelas substâncias aloplásticas está na facilidade de sua obtenção, não havendo necessidade de procedimentos especiais para retirada e na ausência de maiores problemas para sua obtenção e preservação, como o exigem as substâncias autólogas ou homólogas.

Na área da cirurgia cosmética, assim como da reparadora, várias são atualmente as substâncias aloplásticas que podem ser utilizadas e, nos últimos anos, o foco esteve sobre a biocompatibilidade de vários materiais e a tolerância dos tecidos ao material dos implantes.

As substâncias aloplásticas podem ser naturais ou sintéticas, sendo as sintéticas as de preço mais acessível. Uma substância aloplástica natural é a hidroxiapatita natural, um material derivado do coral marinho, utilizado desde a década de 80 para

confeção de esferas para reconstrução da cavidade anoftálmica (Perry, 1987).

Outra substância aloplástica bastante utilizada é o silicone líquido, o qual tem sido o material preferido para as injeções dérmicas. Esta é uma substância que vem sendo há muitos anos utilizada como material para confecção de próteses e também para uso como infiltração para correção de defeitos em partes moles.

Por ser droga de vasta utilização, muitos dos seus efeitos colaterais e complicações são conhecidos como, por exemplo, a capacidade de promover aumento de volume maior que o desejado pela deposição de colágeno sobre a prótese, migração, extrusão, embolia, hipo ou hipercorreção, dentre outras (Webster et al., 1986).

Para tratamento de rugas e sulcos, a quantidade de silicone a ser injetada é muito pequena, tornando mínima a chance de complicações (Hinderer & Escalona, 1990).

Materiais aloplásticos na forma de micropartículas podem ser utilizados com sucesso para correção de deficiências de volume na área de cirurgia de cabeça e pescoço (Mak & Toriumi, 1994).

O polimetilmetacrilato (PMMA) na forma de microesferas é um material sintético sugerido para uso em tecidos moles. Microesferas de PMMA de 30 a 40 micra, suspensas em colágeno (*Artecoll*), têm se mostrado uma boa opção, uma vez que a associação dos dois materiais proporciona incorporação tecidual por crescimento de tecido conectivo estimulado pelo colágeno (Lemperle et al., 1995). Os resultados são duradouros, continuando-

se com boa correção por período de cerca de 5 anos (Lemperle et al, 1995).

Complicações como a extrusão ou a visualização do Artecoll através da pele já foram relatadas, mas são atribuídas à implantação muito superficial desta substância (Lemperle et al., 1995).

O tamanho das partículas e a textura das mesmas são importantes para o bom resultado do emprego do material.

Partículas de copolímeros podem ser usadas em associação com materiais que facilitem a integração das mesmas com os tecidos. Assim, sugeriu-se a associação de alginato de cálcio com fibroblastos como sendo útil para correção de deficiência de volume em partes moles (Ersek & Beisang, 1992).

Mais recentemente, um polímero sintético, o hidrogel, está sendo testado em estudos experimentais associado a 3 tipos de alginato de cálcio, injetados para aumento de tecidos moles, e os resultados têm sido animadores (Marler et al., 2000).

1.5: O POLIETILENO:

O polietileno é outra importante substância e que possui vários tipos de aplicação.

O histórico apresentado a seguir (Rossa, 1999) destina-se a mostrar o surgimento e o desenvolvimento de alguns materiais sintéticos, com enfoque no polietileno.

A descoberta da primeira substância sintética ocorreu em Paris, em 1891, quando Louis Marie Hilaire Bernigaut, tentando encontrar uma maneira de produzir uma espécie de seda artificial, criou o *Rayon*, o qual é uma celulose modificada.

O *Celofane* foi desenvolvido em 1900 pelo engenheiro têxtil suíço Jacques Brandenberger.

Em 1907, Leo Baekeland criou uma resina líquida chamada *Bakelite*. Baekeland desenvolveu um novo líquido (*bakelite resin*) que era duro, porém, passível de ser moldado.

O *Nylon* foi descoberto em 1920, por DuPont.

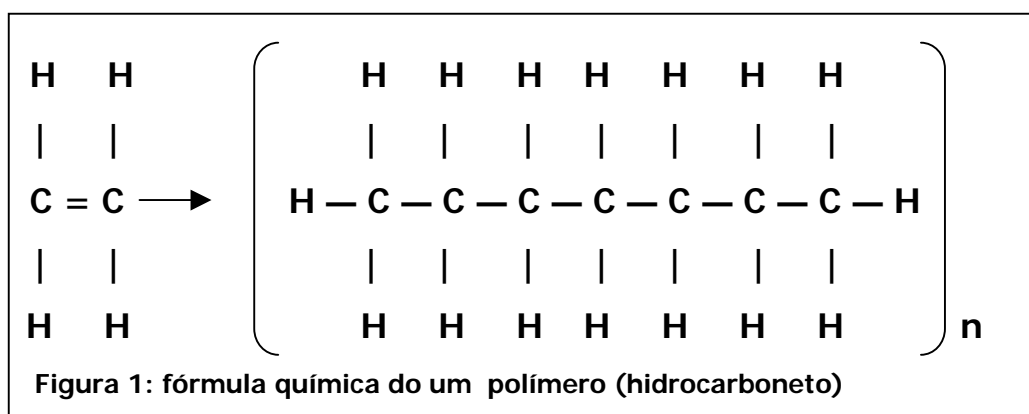
H. Staudinger foi o primeiro a reconhecer a estrutura natural dos plásticos. Mas foi Carothers, um químico de Harvard University, quem descreveu sua teoria de formação de novos materiais por substituição de elementos em sua cadeia química.

1.5.1: A descoberta do polietileno:

Em 1933, dois químicos orgânicos, Fawcett e Gibson, trabalhando nos laboratórios das indústrias Imperial Chemical Industries, testando vários produtos químicos sob condições de alta pressurização, descobriram o polietileno. O polietileno foi obtido quando se misturou etileno e benzaldeído à temperatura de 170°C, sob pressão de 1700 atmosferas, ocorrendo a combinação destas duas substâncias. Na época, eles não faziam idéia de quão útil este produto poderia ser.

O polietileno foi utilizado em muitos artefatos usados na Segunda Guerra Mundial, como armas e aeronaves. Mas, foi depois desta guerra que o seu uso realmente aumentou, sendo usado para fabricação de recipientes para alimentos, filmes para embalagens, tubos, fibras, etc., além do uso médico em diversas situações nas cirurgias reparadoras.

Basicamente, trata-se de um polímero, ou seja, uma substância que contém um grande número de unidades chamadas monômeros, no caso, o etileno, unidas entre si por meio do mesmo tipo de ligação, através de uma reação em cadeia (polimerização). O polietileno tem uma estrutura química muito simples, constando de uma longa cadeia de átomos de carbono, com dois átomos de hidrogênio ligados a cada carbono.



Às vezes, alguns dos átomos de carbono, ao invés de terem átomos de hidrogênio unidos a si, estão ligados a outras longas cadeias de polietileno. Tem-se, então, o que se chama de polietileno ramificado ou polietileno de baixa densidade. Quando não há ramificação, tem-se o polietileno linear ou polietileno de alta densidade.

Segundo Rossa (1999), a variação do catalisador, da pressão, da temperatura e do tempo de polimerização permitem obter características físico-químicas diferentes do produto, de acordo com sua densidade.

O polietileno pode ter o peso molecular controlado por meio do processo de polimerização (Rubin, 1983). A variação do peso molecular pode levar a diferentes viscosidades deste material, podendo o polietileno ser encontrado desde a forma sólida até a líquida.

Polietileno de baixo peso molecular é usado como lubrificante e os de alto peso molecular possuem a forma sólida e podem ser “moldados” para fabricação de brinquedos, recipientes, etc.

O polietileno é uma substância branca, inodora, flexível e, estruturalmente, constitui-se de uma parte amorfa e uma parte cristalina. É possível obter polietileno com 80 a 90% de substância cristalina, havendo necessidade desse polietileno estar distribuído em lamelas cristalizadas de polímeros.

Por processo de sinterização, pode-se obter poros de diferentes tamanhos dentro do material (Karcioglu et al., 1998).

Podem, também, ser obtidos copolímeros, os quais que são produtos da mistura de monômeros diferentes, como o etileno e o acetato de vinila (Rossa, 1999).

Na área médica, o polietileno tem sido implantado em humanos desde 1967 (Warren, 1990), tendo sido a biocompatibilidade do polietileno e o seu uso como material para

implantação cirúrgica estabelecidos há cerca de 50 anos (Rubin, 1983).

Em 1985, o polietileno poroso recebeu a aprovação do FDA para uso em cirurgia reconstrutiva e tornou-se disponível comercialmente, usado como enxerto em cirurgias crâniofaciais (Berghaus, 1985), implantes orbitários (Bylik et al., 1992), reconstrução de pavilhão auricular (Wellisz, 1993), reconstrução orbitária (Rubin et al., 1994a) e cranioplastias (Couldwell et al., 1994).

Muitos foram os estudos experimentais que comprovaram a biocompatibilidade do polietileno, empregado nas diferentes partes do corpo. Rossa (1999) fornece na parte introdutória de seu trabalho um ótimo resumo dos estudos realizados.

1.5.2: O polietileno na cirurgia oftalmológica:

Dentro da Oftalmologia, este material foi comparado experimentalmente a outros materiais sintéticos ou naturais utilizados para confecção de esferas para reconstrução da cavidade anoftálmica (Rubin et al., 1994b; Goldberg et al., 1994; Rubin et al., 1997; Choi et al., 1999; Schellini, 2000). Todos os trabalhos atestaram a superioridade do polietileno.

Atualmente, as principais substâncias aloplásticas utilizadas para a confecção das esferas para reposição de volume na cavidade orbitária são o polimetilmetacrilato, as hidroxiapatitas (natural e sintética) e o polietileno poroso.

As esferas de polietileno poroso (Medpor, Porex Technologies Corporation, Fairburn, GA, USA) estão disponíveis para uso na cavidade anoftálmica, desde meados de 1991 e estão ganhando terreno com as boas observações clínicas efetuadas (Karesh & Dressner, 1994).

Rossa desenvolveu um tipo de polietileno, também a partir da polimerização de moléculas de etileno, semelhante ao polietileno desenvolvido pela Porex; utilizou este polietileno poroso como implante colocado no subcutâneo de ratos e observou que ocorreu penetração de tecido conjuntivo neoformado para o interior dos poros, com boa tolerância tecidual (Rossa, 1999). Esferas desse mesmo polietileno poroso foram utilizadas em cavidades evisceradas de coelhos, com boa integração tecidual e sem sinais de rejeição (Schellini, 2000).

Usadas em cavidades anoftálmicas de humanos, as esferas de polietileno foram as que melhores resultados trouxeram, quando comparadas com esferas de polimetilmetacrilato e hidroxiapatita sintética (Schellini, 2000).

O polietileno poroso de alta densidade pode também ser usado com sucesso no reparo de fraturas de órbita e para tratamento cosmético e corretivo de deformidades faciais pós-trauma (Karesh & Dresner, 1994; Purdy, 1997; Choi et al., 1999).

Comparado com silastic, silicone, supramide e politetrafluoroetileno, o polietileno poroso possui a melhor estabilidade tecidual (Maas et al., 1990). Além disso, provoca mínima resposta inflamatória e intenso crescimento fibrovascular (Karesh & Dresner, 1994).

Conforme já comentado, muitas vezes é difícil calcular qual seria o tamanho exato da esfera a ser colocada em cavidades anoftálmicas para a devolução do volume de forma semelhante ao que existe do lado contra-lateral, restando déficit de volume que pode levar a importantes implicações de ordem estética, funcional e/ou psíquica. Daí surge a necessidade de nova cirurgia para troca da esfera por outra maior ou da reposição desta pequena falta de volume usando-se uma substância que esteja sob forma líquida ou gelatinosa e que possa ser injetada na cavidade orbitária..

A primeira tentativa neste sentido foi feita com a injeção de hidroxiapatita sintética microgranular na cavidade eviscerada de ratos. Como os grânulos desta hidroxiapatita sintética eram muito pequenos, a mesma não permaneceu no local da implantação, havendo perda de volume no decorrer do experimento (Ranzani et al., 1997).

Nova tentativa foi feita usando-se uma hidroxiapatita sintética com grânulos de maior tamanho, chamada hidroxiapatita não reabsorvível, que foi injetada no subcutâneo de cobaias, seguidas a intervalos regulares de tempo, sendo o material estudado histopatologicamente (Xavier et al., 2000).

Porém, esta hidroxiapatita produziu intensa reação tecidual e houve déficit de volume nos tempos de observação mais avançados, muito provavelmente por ser a mesma fagocitada, como pôde ser observado na avaliação histopatológica, e eliminada do local de aplicação.

Portanto, além da biocompatibilidade, há necessidade de que o material seja inerte e que permaneça no local da aplicação.

Rossa (np) desenvolveu um novo tipo de polietileno na forma de gel (Polietileno gel – Makron Biopolímeros Ltda. – Mogi das Cruzes– SP – Brasil). Schellini et al. (2001) injetaram esse polietileno gel em cavidades evisceradas de coelhos, dentro do saco escleral. Observaram que a substância induz pouca reação tecidual, com o mesmo tipo de reação histopatológica que ocorreu com a utilização de esferas do polietileno na forma sólida (Schellini, 2000). O material permanecia no local da implantação, não havendo muita reação inflamatória ou redução de volume. Além disso, o polietileno é conhecido como substância bem tolerada, resistente à infecção, não antigênico e passível de crescimento de tecido de granulação em seu interior (Karesh & Dresner, 1994).

Porém, a dúvida quanto à possibilidade de injeção do polietileno gel livre na cavidade ou no subcutâneo para reposição de pequenos volumes, persistia. Havia a necessidade de se estabelecer se o PG injetado em uma região permaneceria no local que o recebeu, se migraria ou se seria fagocitado e também qual seria a reação tecidual que ele induziria.

Pensando em responder a todas estas questões, propusemo-nos a realizar o presente estudo.

2: OBJETIVOS

Os **objetivos** do presente estudo são:

- 1) avaliar clinicamente a resposta à injeção do polietileno na forma gel (PG) realizada no subcutâneo de ratos;
- 2) avaliar a reação histológica à injeção do PG no subcutâneo do rato;
- 3) observar se o PG injetado no subcutâneo de ratos se mantém presente ao longo de todo o período experimental.

3: MATERIAL E MÉTODO

3.1: ANIMAIS UTILIZADOS:

Foram utilizados 24 ratos brancos, da raça Wistar, adultos, machos, sadios ao exame clínico, pesando cerca de 200 gramas (gr).

Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central do Campus de Botucatu, UNESP.

3.2: GRUPOS EXPERIMENTAIS:

Todos os animais receberam injeção de polietileno gel (PG) na região mediana dorsal. Foram, então, divididos por sorteio em 8 grupos experimentais, cada um deles contendo 3 animais. Os grupos diferiram entre si, pelo momento de sacrifício:

- ❖ Grupo 1 (G1): sacrifício após 07 dias da injeção do PG.
- ❖ Grupo2 (G2): sacrifício após 15 dias da injeção do PG.
- ❖ Grupo 3 (G3): sacrifício após 30 dias da injeção do PG.
- ❖ Grupo 4 (G4): sacrifício após 45 dias da injeção do PG.
- ❖ Grupo5 (G5): sacrifício após 60 dias da injeção do PG.
- ❖ Grupo 6 (G6): sacrifício após 90 dias da injeção do PG.
- ❖ Grupo 7 (G7): sacrifício após 180 dias da injeção do PG.
- ❖ Grupo 8 (G8): sacrifício após 365 dias da injeção do PG.

3.3: PARÂMETROS AVALIADOS:

3.3.1- Avaliação Clínica:

Os animais foram avaliados semanalmente, atentando-se para sinais de reação inflamatória, extrusão ou infecção no local da injeção.

3.3.2- Avaliação Histopatológica:

A avaliação histopatológica foi feita sem o conhecimento prévio de que a qual grupo pertenciam os animais e foi efetuada em microscópio óptico Zeiss.

Foram avaliados os seguintes parâmetros:

- reparação tecidual inflamatória – tipo, localização e intensidade da reação encontrada ;
- avaliação do material implantado quanto à sua integração, permanência e resposta do hospedeiro.

3.3.3- Avaliação Morfométrica:

Avaliou-se a interação implante-hospedeiro, por meio da análise quantitativa da resposta inflamatória do hospedeiro no material infiltrado.

3.4: POLIETILENO UTILIZADO:

Foi utilizado o PG fabricado e fornecido pela Makron Biopolímeros Ltda. – Mogi das Cruzes – São Paulo, o qual possui peso molecular de, aproximadamente, 8.000.000, apresentado sob a forma de gel, em seringas de 3 ml, acopladas à agulha BD calibre 30x7 (Fig. 2).



Fig. 2: O polietileno gel é apresentado em seringas de 3 ml, com agulha 30x7. Por tratar-se de substância flexível, note-se que a mesma amoldou-se à seringa.

3.5: PROCEDIMENTO PARA A INJEÇÃO DO PG:

Os animais receberam anestesia geral por meio da injeção intra-peritoneal de pentobarbital sódico 3% na dose de 1 ml/kg de peso.

Foi realizada tricotomia dos pêlos da região dorsal dos animais usando-se gilete montada.

Após assepsia, foi feita a injeção de um centímetro cúbico de PG no subcutâneo, na região mediana dorsal dos animais (fig. 3).



Figura 3: as setas indicam o local da injeção nos animais.

3.6: MANUTENÇÃO DOS ANIMAIS:

Os animais foram mantidos em gaiolas, separados por grupos, ou seja, permanecendo três animais em cada gaiola, sob condições estáveis de iluminação, temperatura e umidade.

Receberam água e ração própria para a espécie *ad libitum*.

Não foram administradas drogas sistêmicas ou tópicas durante o seguimento.

3.7: SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS:

Os animais foram sacrificados usando-se sobredose de Hipnol a 3% intra - peritoneal.

3.8: OBTENÇÃO DOS ESPÉCIMES PARA ESTUDO

Após o sacrifício do animal, de acordo com o tempo previsto, foi removido um retângulo que contivesse a pele, o subcutâneo e a derme juntamente com o material previamente injetado.

Em seguida, o material foi colocado sobre papel de filtro, com a superfície da pele voltada para cima e a derme (face cruenta) voltada para o papel de filtro.

O papel de filtro e o material de estudo foram colocados em um frasco contendo formol a 10%, permanecendo neste frasco por cerca de 24 horas.

3.9: PREPARO DO MATERIAL PARA ESTUDO:

Após a fixação em formol, o material foi removido do papel de filtro e separado dos tecidos adjacentes à área que recebeu o PG com uso de pinça de conjuntiva e tesoura de argola de ponta curva. Em seguida, os cortes foram colocados dentro de continente plástico, identificados e processados no Laboratório de Morfologia do Instituto de Biociências – UNESP, conforme técnica descrita a seguir:

3.9.1:

- **Desidratação e diafanização:**

os fragmentos foram lavados em água corrente por 3 horas e depois mergulhados por uma hora em 6 soluções de álcool – 70%, 85%, 95% e três de álcool absoluto – PA (Nuclear), respectivamente;

3.9.2:

- **Emblocagem:**

foi feita a inclusão do material em matriz de resina, em técnica descrita adiante;

3.9.3:

- **Fixação:**

a) solução fixadora de Karnovsky:

100 ml de Paraformaldeído 8%

16,8 ml de Glutaraldeído 25%

83,8 ml de solução-tampão fosfato Sorensen 0,2 M

b) Solução tampão 0,2M pH 7,2:

5,52 g de fosfato de sódio monobásico

22,72 g de fosfato de sódio dibásico anidro

1000 g H₂O q.s.p.

c) Paraformaldeído

08 g de Paraformaldeído

92 ml de H₂O destilada.

A H₂O destilada foi aquecida até 60°C (controlando-se constantemente com termômetro). Adicionou-se lentamente o paraformaldeído até dissolução completa. Acrescentou-se à solução algumas gotas de NaOH (1 lentilha de NaOH para 6 a 8 ml de H₂O destilada), agitando-se até a solução ficar completamente transparente;

3.9.4:

- **Desidratação:**

- a) álcool 70%;
- b) álcool 96% (pelo menos 4 horas);

3.9.5:

- **Pré-infiltração:**

25 ml de álcool 96% e 25 ml de líquido base Technovit por aproximadamente 4 horas;

3.9.6:

- **Infiltração:**

- a) resina básica por aproximadamente 8 horas
- b) resina básica: 100ml da resina + 1gr do ativador
- c) Dissolução completa do pó e conservação em geladeira, com retirada 30 minutos antes do uso;

3.9.7:

- **Inclusão:**

15 ml da resina básica + 1 ml do catalisador;

3.9.8:

colocação em moldes apropriados para inclusão (tacos de madeira) e cola Araldite para montagem dos blocos;

3.9.9:

secagem em estufa;

3.9.10:

corte do bloco de resina com navalha de vidro.

Após emblocagem, foram feitos cortes laminares de 3 micrômetros e as lâminas foram colocadas em estufa a 60° C por 20 minutos, para secagem, antes da coloração específica, descrita a seguir:

3.9.11: Coloração de hematoxilina / eosina (HE):

- a) Álcool absoluto
- b) Álcool 90%
- c) Água destilada
- d) 15 ml de Hematoxilina Harris
- e) Lavagem em água corrente por 10 minutos
- f) Álcool 90%
- g) Mergulhado 10 minutos em Eosina
- h) Lavagem em água corrente
- i) Secagem na estufa ou placa aquecedora
- j) Montagem da lâmina com meio sintético.

A montagem das lâminas foi concluída com uma gota de meio de montagem Permount (Fischer), colocando-se o corte entre lâmina (Knittel Clöser) e lamínula (Corning).

Foi realizada secção seriada do material em cortes de 3 micrômetros, desprezando-se de forma sistemática os primeiros 5 cortes e utilizando-se o 6°. Este método foi utilizado para a posterior realização do exame morfométrico.

As lâminas foram, então, avaliadas em microscópio óptico e fotografadas utilizando-se o filme Fuji Reala 100 ASA, em fotomicroscópio Vanox AHBS3 Olympus.

3.10: METODOLOGIA PARA O EXAME MORFOMÉTRICO

Foram feitos 5 cortes seriados de cada animal, colocados sobre uma mesma lâmina histológica (fig. 4). A análise morfométrica foi realizada em todos os 5 cortes, medindo-se 4 diferentes quadrantes em cada um dos cortes, num total de 20 regiões analisadas por animal. Em todos os cortes, as análises foram feitas em quadrantes topograficamente coincidentes, quais foram: quadrante superior direito, quadrante inferior direito, quadrante inferior esquerdo e quadrante superior esquerdo.



Figura 4: cada lâmina contém cinco cortes seriados de um mesmo animal.

As imagens microscópicas obtidas das lâminas preparadas para exame histopatológico foram captadas por filmadora fixada a uma estativa e o programa analisador de imagens empregado foi o Image Pro-Plus (IpWin 32).

Através do "mouse" foram tomadas 480 medidas e em cada uma delas analisou-se a área da pseudocápsula (a que se chamou "A1") e a área da zona de integração (a que se chamou "A2" – ver Apêndice 1) e de posse das medidas supracitadas, calculou-se a média de A1 e de A2 , por animal (Apêndice 2).

O exame morfométrico foi realizado utilizando-se o microscópio Leica DMLB, com ocular de 10 aumentos e a unidade de medida utilizada foi o micrômetro.

3.11: AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

Após calcular-se a média de A1 e de A2 por animal e por cada grupo (Apêndice 2), lançando-se mão das medidas obtidas conforme descrito no item anterior, procedeu-se à análise estatística destes dados por meio de comparação entre os grupos e o método utilizado foi a estatística não paramétrica de Kruskal-Wallis (Streiner & Norman, 1994).

Os resultados foram discutidos no nível de 5% de significância.

Para interpretação dos resultados estatísticos, usou-se letras minúsculas para comparação dos grupos. Duas letras

iguais indicaram não haver diferença significativa entre as medidas; a significância foi apontada por letras que diferiram entre si.

4: RESULTADOS

4.1: AVALIAÇÃO GERAL DA PROPOSTA:

O rato, animal utilizado neste experimento, serviu adequadamente para o propósito do estudo por ser um animal pequeno, resistente e de fácil manutenção. Além disso, é animal de preço acessível, o que também favoreceu a sua utilização.

O material estudado, o polietileno, é um material muito utilizado atualmente, tanto na indústria em geral, como para fins médicos. Sob a forma utilizada neste trabalho, ou seja, na forma de gel, é ainda pouco conhecido.

Para a injeção do PG, as seringas e agulhas comuns permitiram bom fluxo do material, possibilitando que a quantidade injetada correspondesse exatamente ao volume pretendido. Para maior comodidade na aplicação, o calibre da agulha não deve ser inferior a 30 x 7.

4.2: AVALIAÇÃO CLÍNICA E EVOLUÇÃO DOS ANIMAIS:

Após a injeção do PG, os animais mantiveram-se em bom estado geral, apresentando boa atividade física e alimentando-se normalmente.

Todos os animais evoluíram de forma satisfatória, não tendo sido observada extrusão do material ou infecção em nenhum deles.

Também não ocorreram alterações na pele localizada sobre o local da injeção e clinicamente não foi observada redução significativa de volume nem houve mudança no formato da área que recebeu o PG, desde sua aplicação até o momento do sacrifício dos animais, em nenhum dos grupos de estudo.

4.3: AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA:

A avaliação histopatológica foi feita de modo sistemático, avaliando-se a área ao redor do material, a reação inflamatória decorrente da substância injetada e as características do PG. Assim:

4.3.1: G1 (figuras 5,6)

- Pseudocápsula ao redor do material, contendo poucas células inflamatórias.
- Reação inflamatória discreta ocupou a região mais periférica do PG, sendo composta de escassas células inflamatórias, hemácias, fibrina e fibroblastos jovens, invadindo os

espaços por entre os grânulos de polietileno. Esta reação ocorreu principalmente na periferia do material com sentido de orientação de crescimento entre os grânulos, em direção ao centro do material.

- Ausência de células gigantes.
- O PG esteve presente em grânulos poligonais, multi-septados.

4.3.2. G2 (figuras 7, 8)

- Pseudocápsula se tornou mais espessa e mais densa, às custas de proliferação fibroblástica, contendo fibroblastos mais maduros que em G1.
- Houve aumento aparente da área de integração, com aumento da quantidade de fibroblastos em direção ao centro do material. A reação tecidual ocorreu com fibroblastos maduros, poucas células inflamatórias e colágeno. Neovasos foram vistos na periferia do material.
- Presença de poucas células macrofágicas e, por vezes, macrófagos multinucleados.
 - PG presente.

4.3.3: G3 (figuras 9, 10)

- Pseudocápsula composta por fibroblastos maduros.
- A área de integração, aparentemente, é maior que no G2. Reação tecidual com fibroblastos maduros e poucas células inflamatórias. Os blocos de PG estiveram rodeados por fino envoltório de células e fibroblastos, até próximo da região

central do material. Neovasos contendo hemácias, presentes e abundantes. Em alguns locais, a integração se deu mais em direção ao centro, porém de forma focal. A reação inflamatória observada no centro do material esteve representada por colágeno e fibrose, envolvendo grandes porções de PG.

- PG presente.

4.3.4: G4 (figuras 11, 12)

- Pseudocápsula composta por fibroblastos maduros.
- Integração aconteceu até o centro do material, com características de tecido de granulação maduro na periferia e jovem na região mais central. A reação tecidual foi semelhante à observada no G3. Pequena quantidade de células inflamatórias e presença moderada de células gigantes.
- PG presente.

4.3.5: G5 (figuras 13, 14)

- Pseudocápsula estreita.
- Reação inflamatória semelhante à observada em G3, com moderada presença de células gigantes. Os grânulos de polietileno são menores na periferia e maiores na região central do material.
- PG presente.

4.3.6: G6 (figuras 15, 16)

- Pseudocápsula estreita e densa.
- Pouca reação inflamatória, com moderado número de linfócitos. As células gigantes estiveram envolvendo a periferia do material. Afluxo de moderado número de linfócitos.
- PG presente.

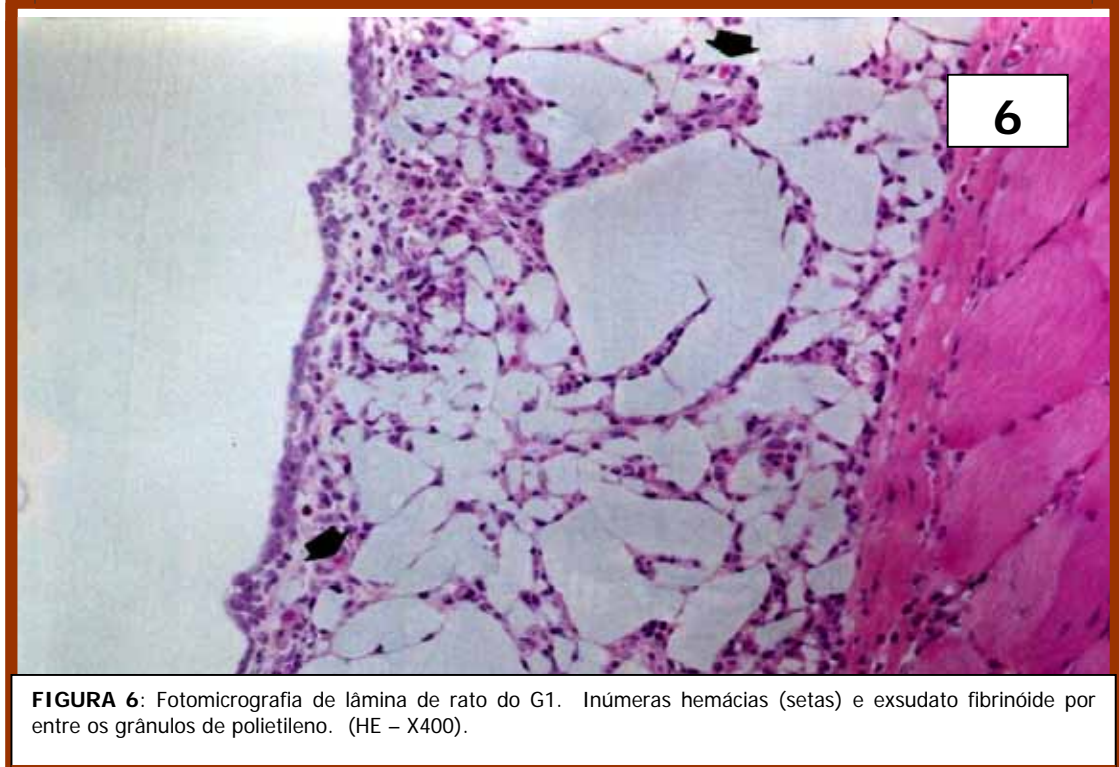
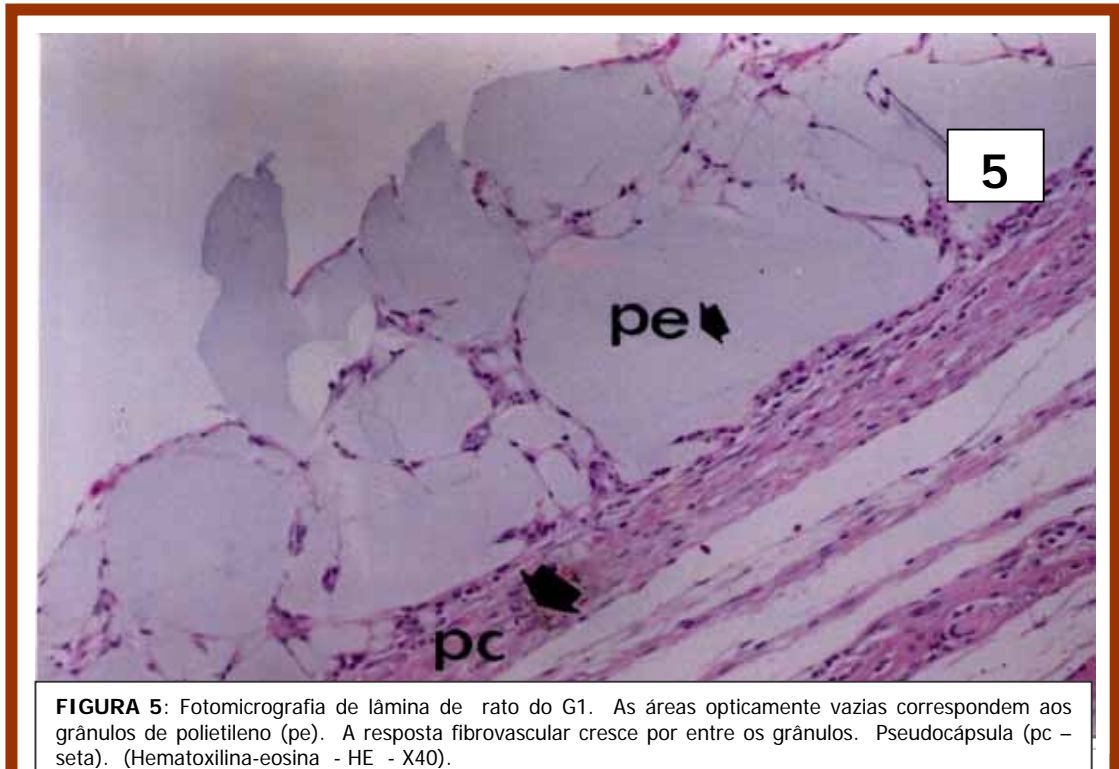
4.3.7: G7 (figuras 17, 18)

- Pseudocápsula semelhante à observada em G6.
- Periferia contendo colágeno. Até o centro do material, áreas com características de fibrose madura, com fibroblastos maduros e colágeno. Redução significativa do número de células inflamatórias.
- PG presente.

4.3.8: G8 (figuras 19, 20, 21)

- Pseudocápsula estreita e densa.
- Integração maior na periferia; na área central, densa reação tecidual, contendo mais colágeno que nos grupos anteriores. Reação celular praticamente ausente.
- Material presente e inerte.

FOTOMICROGRAFIAS



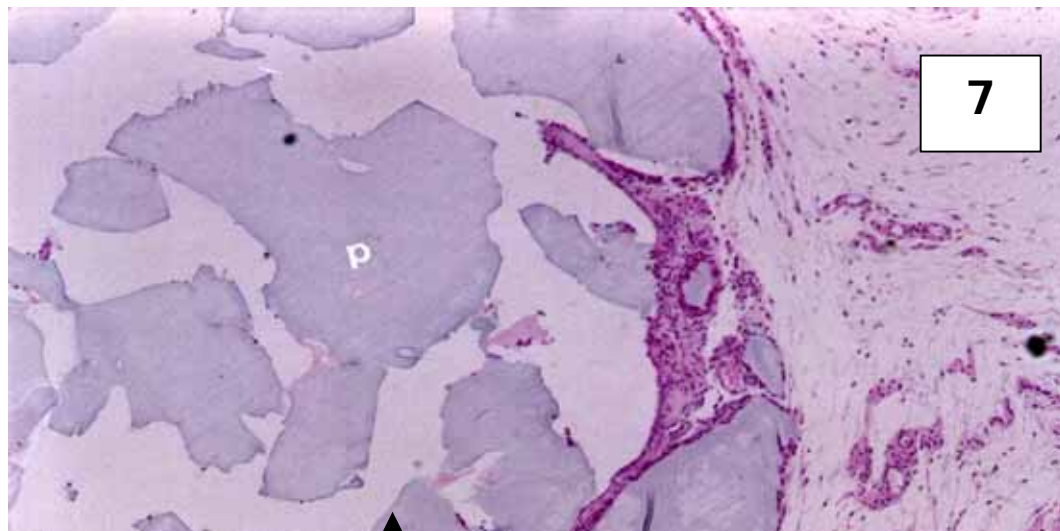


FIGURA 7: Fotomicrografia lâmina de rato do G2. Espaços preenchidos por reação fibrovascular e poucas células inflamatórias na periferia do material. Polietileno (P). (HE – X 40)

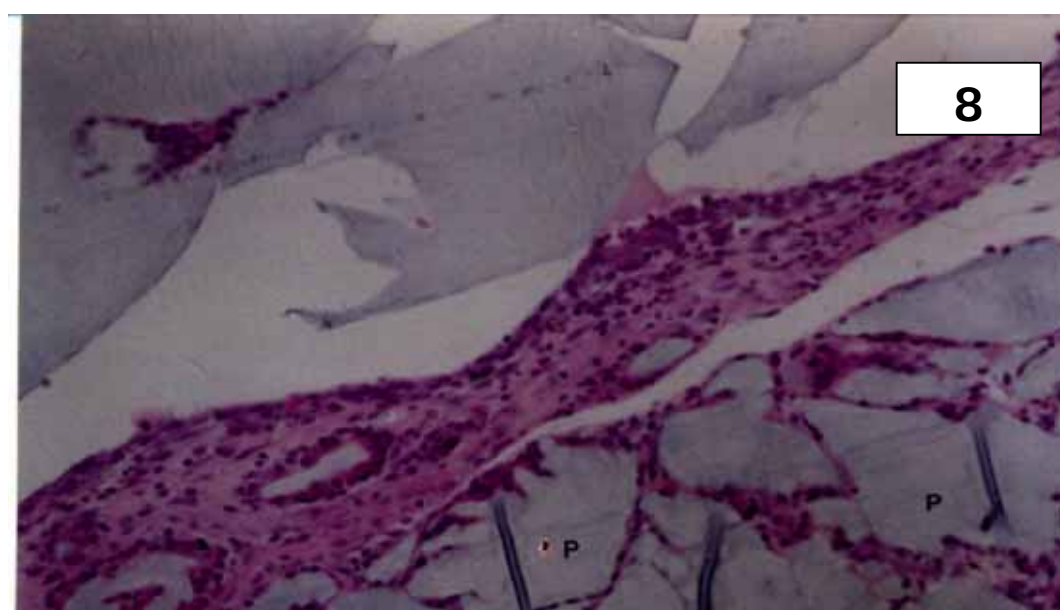


FIGURA 8: Fotomicrografia de lâmina do rato do G2. Observar a reação fibrovascular com poucas células inflamatórias entre os grânulos de polietileno (P) e hemácias. (HE – X 40).

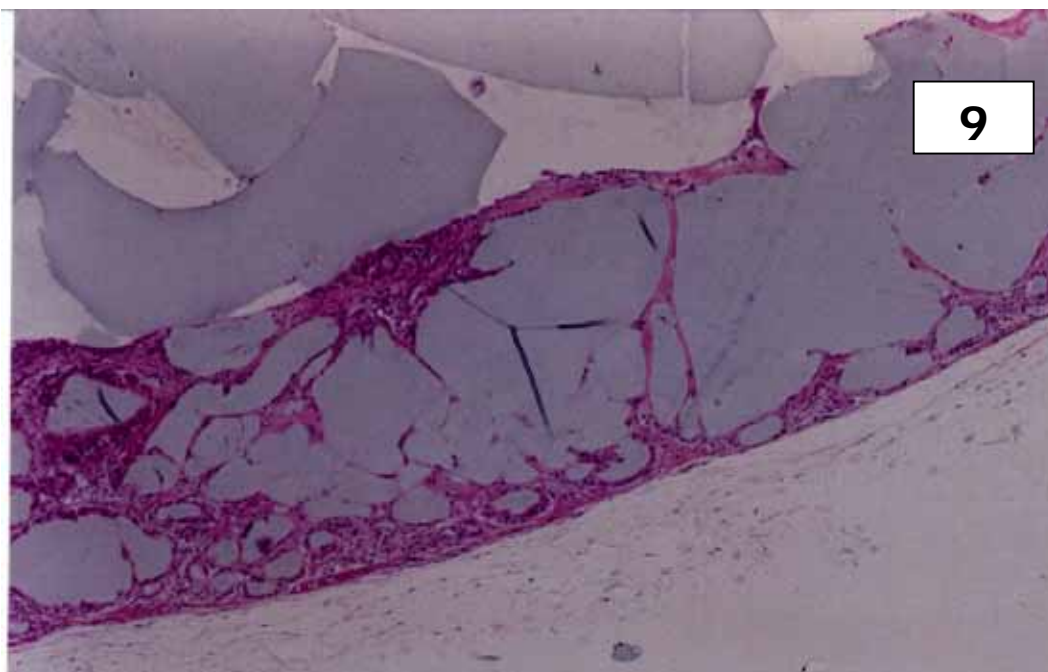


FIGURA 9: Fotomicrografia de lâmina de rato do G3. Área da periferia do material com resposta fibrovascular (seta) mais densa que nos grupos anteriores. (HE – X 10).

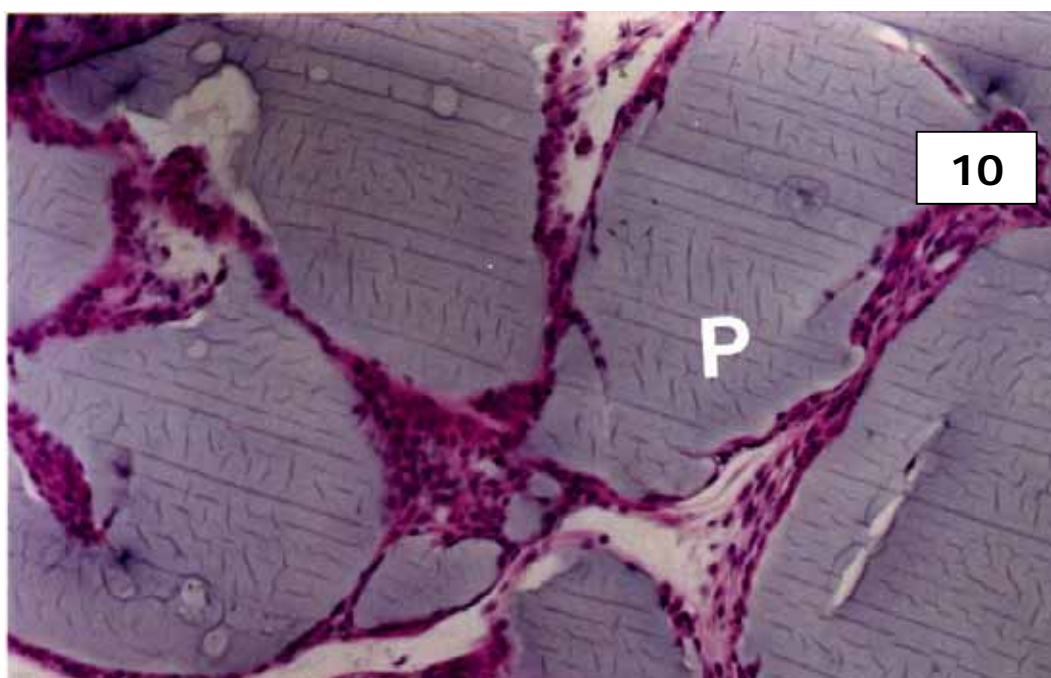


FIGURA 10: Fotomicrografia de lâmina de rato do G3. Região central do material com presença de tecido de granulação. Polietileno (P). (HE – X 100).

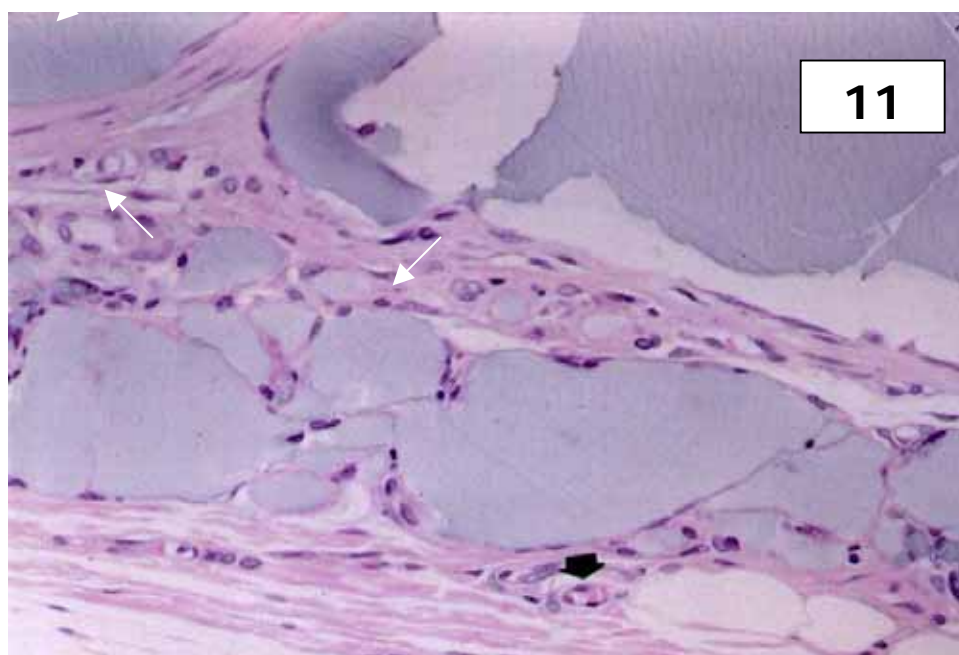


FIGURA 11: Fotomicrografia de lâmina de rato do G4. Pseudocápsula. A reação fibrovascular contendo escassas células inflamatórias já avança em direção ao centro do material. Os neovasos contém hemácias. (HE – X 100).

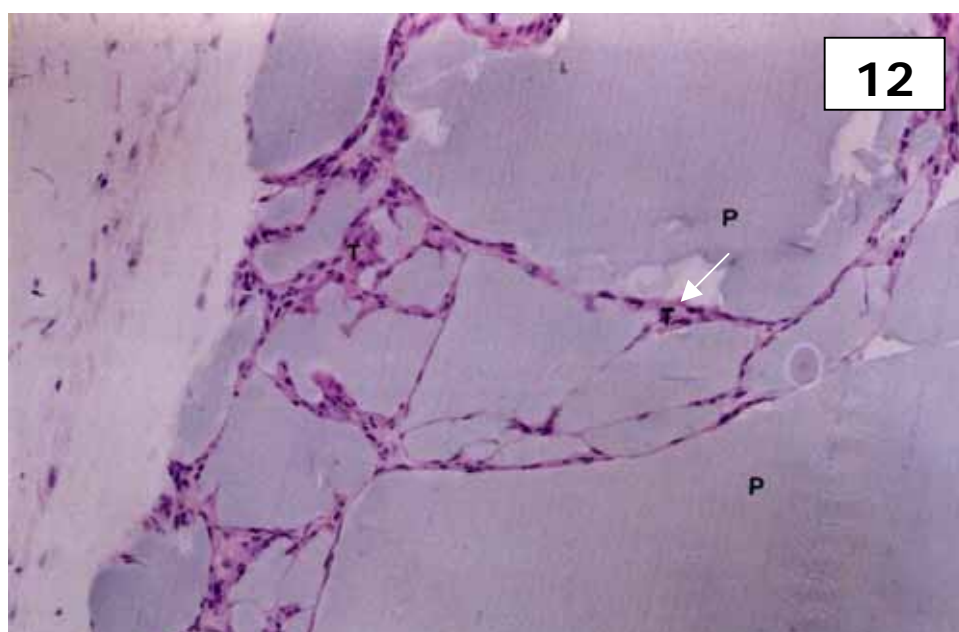


FIGURA 12: Fotomicrografia de lâmina de rato do G4. A reação tecidual (seta) preenche os espaços entre os grânulos de polietileno (p).

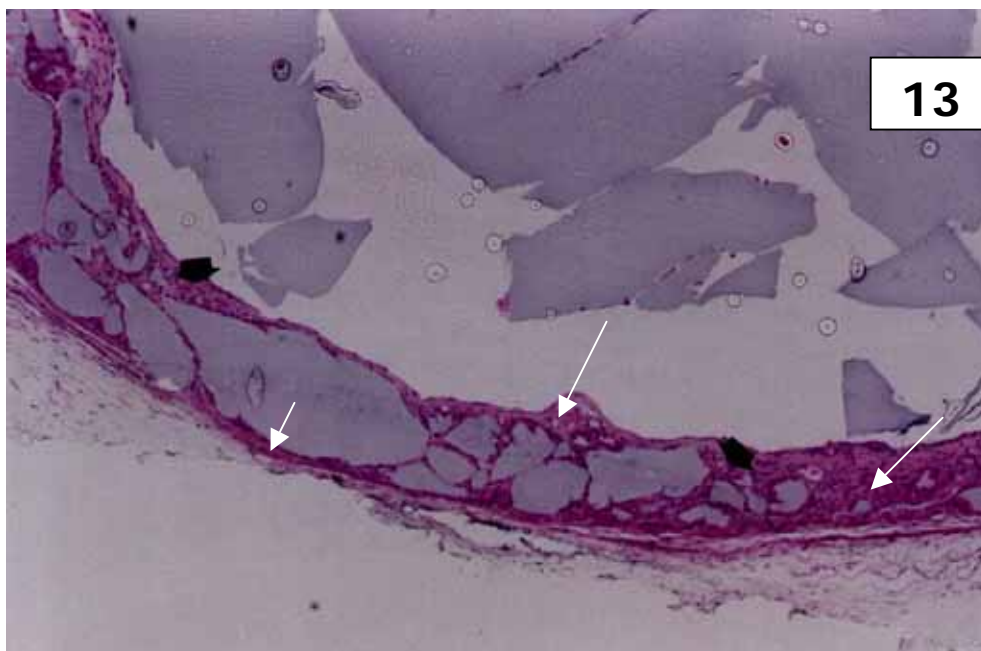


FIGURA 13: Fotomicrografia de lâmina de rato do G5. Observar o tecido de granulação envolvendo os grânulos de polietileno, principalmente na periferia do material (setas) (HE – X 10).

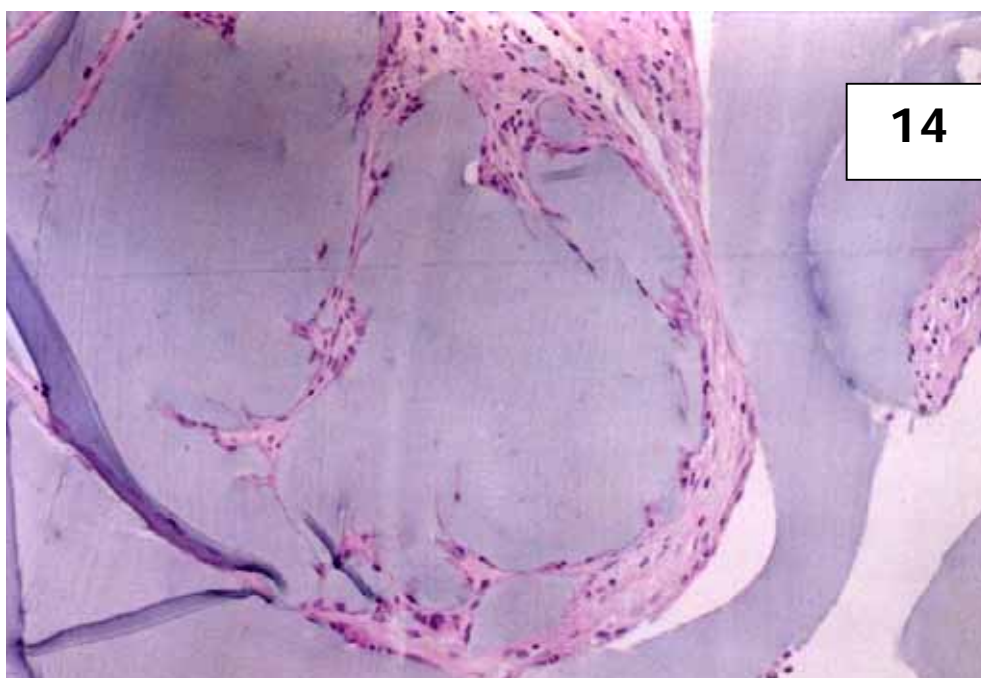


FIGURA 14: Fotomicrografia de lâmina de rato do G5. A reação tecidual é pobre em células inflamatórias (HE – X 100).

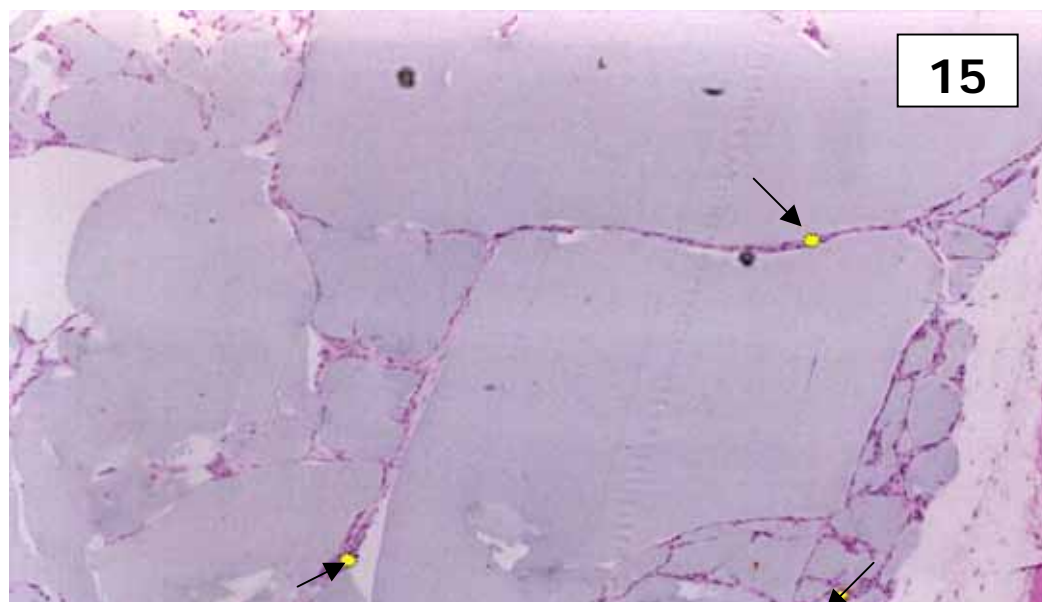


FIGURA 15: Fotomicrografia de lâmina de rato do G6. Observar que os espaços entre os grânulos de polietileno estão preenchidos por tecido de granulação (setas) (HE - X 40).

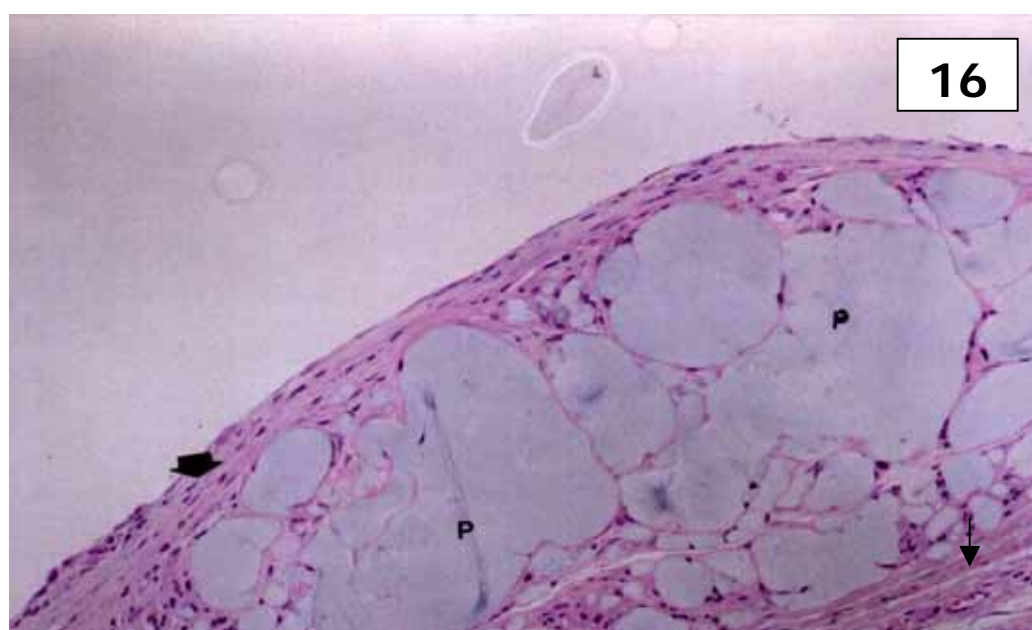


FIGURA 16: Fotomicrografia de lâmina de rato do G6. Ao redor do material, pseudocápsula (seta). Grânulos de polietileno (P) envoltos por tecido de granulação (HE - X 100).

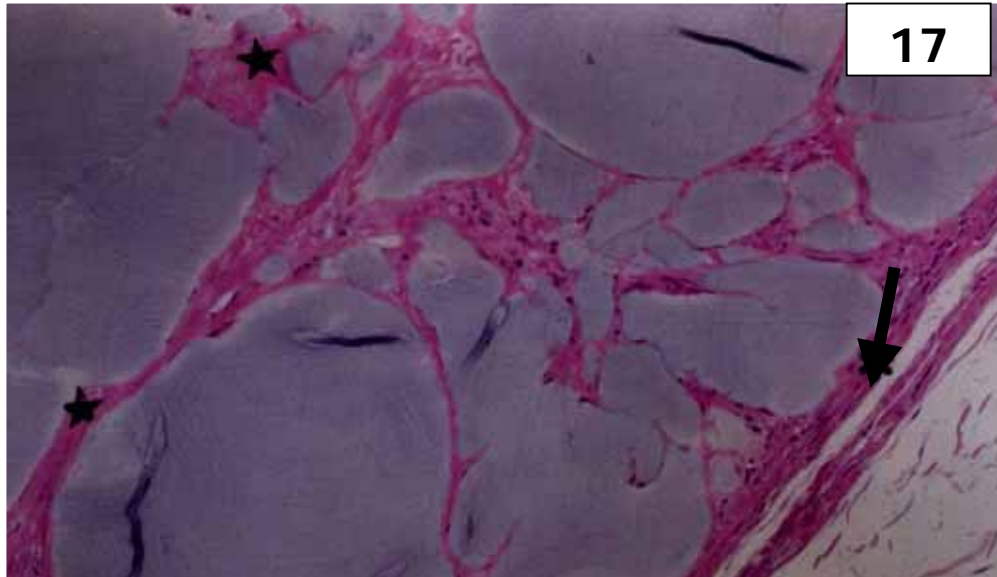


FIGURA 17: Fotomicrografia de lâmina de rato do G7. A pseudocápsula (seta) tornou-se estreita e densa. Observar que as características do tecido de granulação que envolve o polietileno são de tecido maduro, com aspecto de colágeno (estrelas) (HE - X 40).

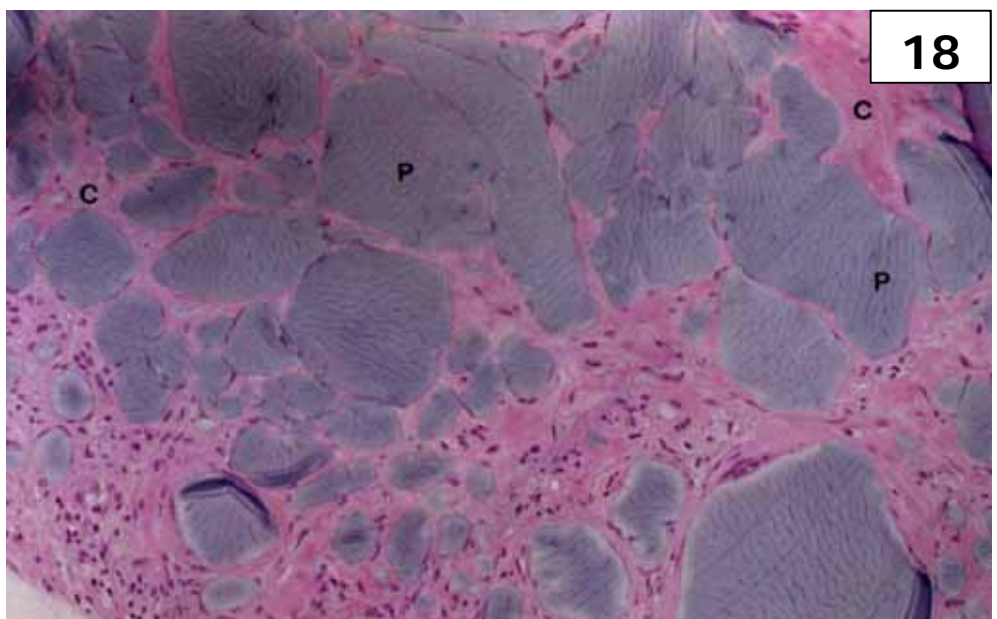


FIGURA 18: Fotomicrografia de lâmina de rato do G7. Densa fibrose com escassas células inflamatórias permeiam os grânulos de polietileno (HE - X 40).

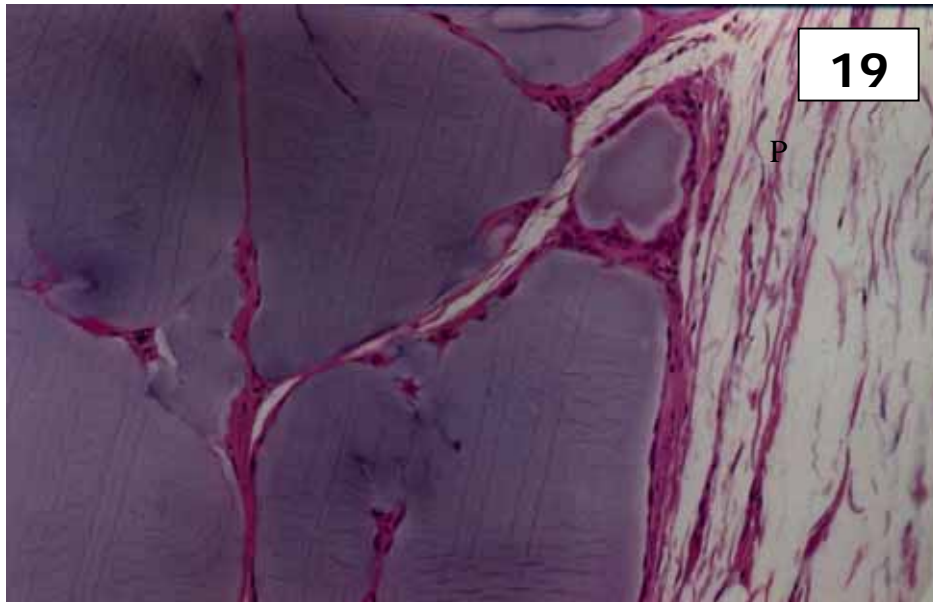


FIGURA 19: Fotomicrografia de lâmina de rato do G8. Pseudocápsula (seta) estreita e densa. Fibrose e pouca reação inflamatória (HE – X 40).

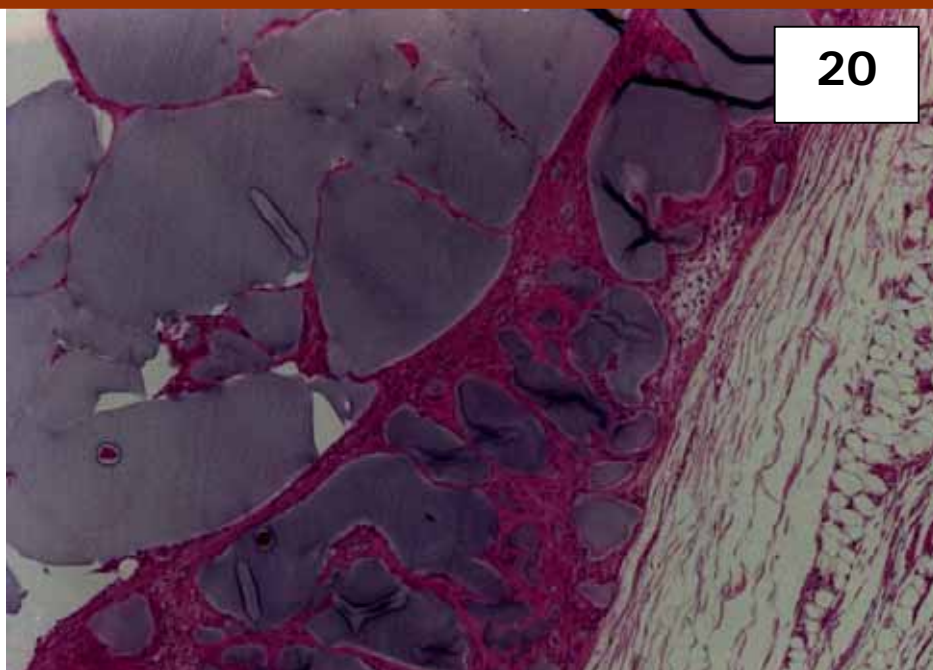
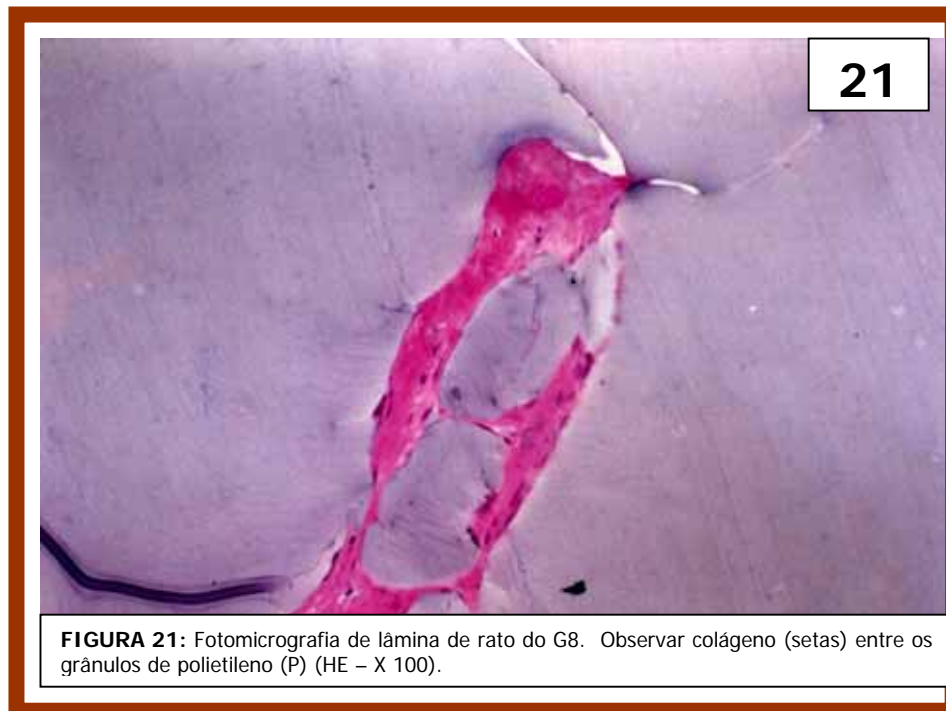


FIGURA 20: Fotomicrografia de lâmina de rato do G8. A integração com o hospedeiro ocorreu com a formação de densa fibrose e com pouca reação inflamatória (setas) (HE – X 40).



4.4: AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA

A avaliação morfométrica das medianas, valores mínimo e máximo, referentes à área da pseudocápsula e da zona de integração, está apresentada na Tabela 1. As medidas detalhadas podem ser observadas no Apêndice 1.

A área da pseudocápsula foi maior no grupo G1, com redução estatisticamente significativa em direção ao G8.

A área da zona de integração apresentou aumento progressivo de G1 em direção ao G8.

Tabela 1: Mediana e valores mínimo e máximo das áreas da pseudocápsula e da zona de integração com respectivos resultados do teste estatístico de comparação dos grupos.

Análise de variância não-paramétrica (Teste de Kruskal-Wallis).

Grupo	Área da Pseudocápsula A1	Área da Zona de Integração A2
G1	100066,288 (66715,928; 124724,784) c	54127,072 (46339,432; 60194,812) a
G2	72341,200 (68084,944; 86960,432) bc	79744,856 (62292,248; 85643,520) ab
G3	63004,016 (41869,280; 78505,920) abc	93445,320 (84882,968; 93547,280) ab
G4	51638,096 (39766,372; 52663,772) ab	111124,152 (995970,160; 114416,400) ab
G5	55591,588 (40922,822; 58009,733) ab	116747,376 (104282,616; 134996,560) abc
G6	36920,640 (33261,378; 44087,716) ab	126855,568 (123333464; 248812,000) abc
G7	32129,720 (28215,736; 33308,108) a	158606,944 (115511,200; 165354,752) bc
G8	24444,398 (922785,106; 28505,376) a	200128,880 (101712,840; 201568,800) c
Resultado do teste estatístico	20,16 (P<0,01)	19,35 (p<0,01)

5. DISCUSSÃO

A procura do material ideal para promover aumento dos tecidos moles, assim como para a reconstrução da cavidade anoftálmica, tem sido uma constante.

Sabe-se que o material ideal para ser usado é aquele que é bem tolerado pelo hospedeiro, pode ser moldável, não é degradável, não produz cápsula espessa e se incorpora aos tecidos vizinhos (Sclafani et al., 1997b).

Deve, ainda, provocar pouca reação inflamatória, permanecer no local da implantação e possuir baixo custo.

Segundo pesquisas realizadas, para a reconstrução da cavidade anoftálmica, estas características, na atualidade, são melhor preenchidas pelo polietileno (Soares et al., 1995; Ranzani et al., 1997; Schellini et al., 1996; 1998a; 1999; Schellini, 2000).

Porém, nem sempre é fácil se definir previamente à cirurgia qual é o tamanho ideal da esfera a ser implantada, devendo o cirurgião contar com várias esferas no momento da cirurgia e, muitas vezes, sendo necessária ainda nova cirurgia para troca da esfera, com o intuito de melhor adequar o volume da cavidade.

Foi assim que surgiu a idéia de pesquisarmos uma substância que fosse biocompatível, que pudesse ter “dosada” sua quantidade a ser utilizada no momento do ato cirúrgico e que persistisse no local de implantação.

Esta mesma substância poderia ser utilizada para devolver volume para tecidos moles.

Escolheu-se o rato como animal para o presente estudo experimental. Esta escolha se mostrou adequada, principalmente pelas facilidades de preço para aquisição e manutenção e pelo fato de que este animal já foi utilizado como modelo experimental para avaliação da biocompatibilidade de materiais em outros estudos (Rossa & Carvalho, 1994; Xu et al., 1995; Rossa, 1999; Marler et al., 2000).

Também as cobaias são utilizadas para este fim (Piacquadio et al., 1997; Urry et al., 1998).

Outro animal que tem sido utilizado como modelo experimental para estudo de diversos biomateriais é o coelho, particularmente tendo a injeção sendo feita na região do pavilhão auricular (Ersek & Beisang, 1992; Kononas et al., 1993).

Estudos observacionais clínicos ou incluindo biópsias também são feitos em humanos (Webster et al., 1986; Chajchir & Benzaquen, 1989; Constantino, 1994; Lemperle et al., 1995; Duranti et al., 1998; Manna et al., 1999).

Xavier et al. (2000) avaliaram a resposta tecidual à infiltração de hidroxiapatita sintética, líquida ou em estado semi-sólido, no subcutâneo da região abdominal de cobaias, tendo sido

possível avaliar a reação tecidual e a manutenção do volume com aquela substância.

Uma diferença fundamental entre os dois estudos foi sentida já no momento da injeção das substâncias: com a hidroxiapatita líquida houve muita dificuldade para a injeção do material; muitas vezes, mesmo usando agulhas muito calibrosas, não era possível a injeção de todo volume pretendido por solidificação do material a ser infundido, havendo freqüentemente necessidade de novas diluições do material.

Este fato não se repetiu com o PG que se mostrou substância estável fisicamente, não sofrendo processo de solidificação ou precipitação; a injeção foi possível com a utilização de agulhas comuns, não havendo maiores dificuldades para realizá-la.

A observação clínica dos nossos animais permitiu verificar que o polietileno é uma substância que não induz reação inflamatória. Além disso, não extravasou ou não extruiu do local de implantação, assim como também não provocou necrose da pele sobrejacente ao local de injeção.

Usando o Artecoll, uma combinação de colágeno bovino com polimetilmetacrilato, observou-se eliminação transepitelial da substância injetada 3 dias após a administração (McClelland et al., 1997).

Schellini et al. (2001) utilizaram o PG dentro do saco escleral, após evisceração do conteúdo ocular; observaram bons resultados, havendo infecção pós-operatória somente em dois animais.

A infecção da ferida cirúrgica é um fenômeno que pode ser encontrada universalmente no período pós-operatório. Ainda assim, no presente estudo, nenhum animal apresentou clinicamente sinais de infecção ou qualquer outro sinal inflamatório.

A avaliação histopatológica dos animais trouxe informações muito importantes sobre o PG.

Ao redor do material injetado, observou-se a formação de uma pseudocápsula, composta por fibroblastos que se tornaram mais maduros, havendo redução da espessura da mesma principalmente depois de G5, como comprovado pela avaliação morfométrica da A1 (Tabela 1 e Apêndices 1 e 2).

Não só o PG pode suscitar o surgimento de pseudocápsula. Qualquer substância estranha, introduzida no organismo pode resultar na formação de uma cápsula ou, mais propriamente, uma pseudocápsula ao seu redor. Assim, também observaram a presença de pseudocápsula Ranzani et al. (1997), Rossa (1999), Xavier et al (1999), Schellini (2000), Schellini et al. (2001), usando hidroxiapatita sintética ou polietileno poroso na forma sólida. Scaflani (1997b) também relata a presença de uma pseudocápsula fina e flexível ao redor de implantes de polietileno poroso no subcutâneo de ratos.

Este é um encontro comum, verificado sempre que existe um material estranho e que suscite reação tecidual do hospedeiro.

Também com o emprego de alginato de cálcio associado a fibroblastos, injetado no subcutâneo de ratos, foi

observada a presença de cápsula ao redor do material (Marler et al., 2000).

Dependendo do tipo de material utilizado, a pseudocápsula pode ser mais espessa. Com materiais como a resina acrílica e a hidroxiapatita, a cápsula que se forma ao redor do material é mais espessa do que quando se utilizam substâncias que suscitam menor resposta inflamatória do hospedeiro (Rossa & Carvalho, 1994).

Com relação à resposta tecidual observada, sabe-se que os diferentes tecidos reagem de forma variada à agressão.

O tecido conjuntivo quando lesado é repostado pelo próprio tecido conjuntivo, dada a grande capacidade regenerativa deste tecido. Porém outros tecidos, ou porque possuem menor capacidade regenerativa ou porque a intensidade da destruição tecidual é muito intensa, serão repostos por tecidos outros que não os do sítio original, caracterizando a ocorrência de processo cicatricial (Junqueira & Carneiro, 1990).

A cicatrização é um processo fisiológico que tem por finalidade a reparação dos tecidos agredidos. Sinteticamente, este mecanismo desdobra-se em três fases: inflamatória, de fibroplasia e de maturação.

A **fase inflamatória** ocorre durante 24 a 48 horas após a lesão tecidual, sendo quando ocorre a contração dos vasos e são desencadeadas as cascatas de coagulação e do complemento. Com isto, ocorre a liberação de citocinas, prostaglandinas e componentes do complemento, que provocam a dilatação dos vasos e a penetração dos neutrófilos e proteínas

plasmáticas no local da ferida, além do recolhimento dos restos celulares e das bactérias. Os neutrófilos são também responsáveis pela proliferação das células basais e epiteliais, propiciando a formação de camada epitelial delgada e contínua (Cotran et al., 1999).

Portanto, no início do processo cicatricial, há abundante exsudato fibrinoso que leva ao crescimento do tecido conjuntivo, também chamado de tecido conectivo ou fibrovascular.

Assim, na fase inicial (G1), a resposta à injeção do PG se deu com formação de tecido de granulação frouxo, composto por fibroblastos jovens em meio a algumas células inflamatórias.

A resposta tecidual ocorreu, então, por meio da proliferação de tecido conjuntivo ou tecido fibrovascular.

Esta reação foi inicialmente mais acentuada na periferia do material e, continuamente, avançou para o centro do PG. O exame morfométrico mostrou exatamente esta integração implante-hospedeiro quando a zona de integração demonstrou aumento progressivo da área ocupada pelo tecido de granulação (A2 - Tabela 1 e Apêndices 1 e 2).

A reação é mais acentuada na periferia do material provavelmente por haver maior área tecidual nesta região, havendo diminuição da vascularização local em direção ao centro do material implantado (Rossa, 1999).

O crescimento deste tecido se fez por entre os grânulos do polietileno, o que pode ser nitidamente visualizado no exame histopatológico.

Este tipo de resposta já foi observada com implantes esféricos de polietileno poroso (Rubin et al., 1994a; Schellini, 2000), assim como em placas deste mesmo material (Kinoshita et al., 1993; Wellisz 1993; Rossa, 1999) e também com o uso de colágeno injetado em ratos (Xu et al., 1995).

O tecido de granulação contém numerosos neovasos altamente permeáveis e que levarão à deposição de proteínas plasmáticas, promovendo formação de estroma para crescimento de fibroblastos e células endoteliais (Cotran et al., 1999).

O afluxo de células inflamatórias para o sítio da lesão, com a chegada de fibronectina e de ácido hialurônico, além de uma densa infiltração de macrófagos, fibroblastos e células endoteliais capilares (angiogênese), leva a formação de uma nova matriz extracelular.

A angiogênese promove neovascularização, surgindo os vasos a partir dos vasos preexistentes; os neovasos possuem alta permeabilidade e trarão para a área lesada, os responsáveis pelo processo de fibrose, havendo emigração e proliferação fibroblástica, seguida da deposição de matriz extracelular (Cotran et al., 1999). Este processo ocorre até por volta da segunda semana, sendo mais intenso na primeira (Cotran et al., 1999).

Após a segunda semana, tem-se o acúmulo continuado de colágeno e proliferação de fibroblastos. Em grande parte, já desapareceram o infiltrado leucocitário, o edema e o aumento da vascularização.

Nesta fase, começa o longo processo final da cicatrização, caracterizado pelo acúmulo maior de colágeno dentro da cicatriz incisional, acompanhado de regressão dos canais vasculares (processos de epitelização e fibroplasia).

No final do primeiro mês a cicatriz resume-se em um tecido conjuntivo celular sem infiltrado inflamatório, fato que pode ser observado também nos animais deste estudo.

Usando Hylaform ou Restylane, injetados subcutaneamente em orelhas de coelhos, observou-se processo semelhante ao encontrado nos animais aqui estudados, também com o aparecimento de fibrina, colágeno e, por fim, tecido fibrótico (Manna et al., 1999).

Os fibroblastos observados na fase inicial do processo cicatricial possuem características diferentes; são ditos jovens e possuem intensa capacidade de sintetizar proteínas, sendo identificados histologicamente como células com grande quantidade de citoplasma basófilo ao redor dos núcleos (Ham & Leeson, 1961).

Com o passar do tempo, tornam-se maduros, chegando a "colagenização", principalmente depois de 6 meses da injeção, como esteve evidente no presente estudo.

As células inflamatórias observadas neste estudo fazem parte do processo de reparação tecidual.

Como já referido anteriormente, os neutrófilos são geralmente observados nos estágios iniciais da reparação, ainda na fase inflamatória.

O processo inflamatório inicialmente ocorre nas porções mais periféricas do PG. Com o passar do tempo, seguindo

pelos espaços entre os grânulos do PG, a reação inflamatória avança para a região mais central. Assim, o tecido de granulação juntamente com as células inflamatórias "colonizam" o PG. A existência de vascularização e de células de defesa dentro do material poderia levar a redução de infecções no implante (Merritt et al., 1979).

Segundo Hanson et al.(1994), superfícies rugosas e hidrofílicas facilitam a aderência bacteriana, havendo maior chance de infecção. A superfície do polietileno é lisa e hidrofóbica, o que deve diminuir a chance de infecção. Implantes de cerâmica são mais susceptíveis a infecção que os de polietileno poroso (Merritt et al., 1979), provavelmente devido a rugosidade do material.

Foi possível também observar alguns macrófagos, principalmente próximo aos grânulos de polietileno. Apesar de em humanos ter sido relatada a ausência de células gigantes em esferas de polietileno, implantadas na cavidade orbitária (Karesh & Dresner, 1994), vários outros estudos relataram a sua presença, como nos pacientes acompanhados por Remulla et al.(1995) e Karcioğlu et al.(1998) e em animais de experimentação que receberam implante no subcutâneo (Kinoshita et al., 1993; Rossa, 1999), na orelha, na face (Brown et al., 1979) e na cavidade orbitária (Goldberg et al, 1994).

Com material semelhante a este utilizado no presente estudo, porém em estado sólido, Schellini (2000) também observou células macrofágicas, principalmente próximo ao polietileno, tendo sido, naquele estudo, observado com microscopia eletrônica que há pequenas micropartículas de polietileno sobre os

grânulos, levantando-se a hipótese de que os macrófagos visam englobar estas micro-partículas, resultando na resposta gigante-celular tipicamente observada.

Maas et al. (1990) também sugerem que a presença de células gigantes pode estar relacionada com a presença de micropartículas de polietileno adsorvidas na superfície dos implantes.

Observando implantes de hidroxiapatita sintética, Rossa & Carvalho (1994) também notaram a presença de células gigantes envolvendo cristais de hidroxiapatita.

O macrófago é um tipo celular que se distingue dos demais pela sua grande capacidade de pinocitose e de fagocitose; sua capacidade fagocitária pode ser evidenciada ao microscópio óptico, pela presença de grânulos no interior de seu citoplasma; quando encontram corpos estranhos de grandes dimensões, os macrófagos fundem-se uns com os outros, constituindo células grandes, contendo vários núcleos – as células gigantes ou multinucleadas (Junqueira & Carneiro, 1990).

O crescimento do tecido fibrovascular por entre os grânulos do polietileno permite dizer que este material suporta o tecido neoformado, o que lhe confere estabilidade e aumenta a chance do material permanecer no local, assim como foi observado também com o Alloderm micronizado (Scaflani et al., 2000).

Com o *Bioplastique*, um tipo de copolímero bifásico micronizado, também houve pouca reação tecidual quando realizada injeção no pavilhão auricular de coelhos e nas observações feitas em

pacientes que receberam o material nas mamas ou na face (Ersek & Beisang, 1991).

A reação que ocorreu com o Bioplastique e como o Alloderm micronizado (Sclafani et. al, 2000) foi muito semelhante à que ocorreu no presente estudo, quando se usou o PG, ou seja, inicialmente fibrina e colágeno revestem o material e, no final, o colágeno se converte em fibrose.

Comparativamente, o PG resultou em reação tecidual muito menor do que a obtida com o emprego do Artecoll, considerado por McClelland et al.(1997), material de pobre biocompatibilidade, provavelmente por conter colágeno bovino, apesar de Lemperle et al.(1995) terem relatado bons resultados com o mesmo material.

A intensidade da inflamação foi maior nos momentos iniciais de nossas observações, ocorrendo redução da intensidade da resposta inflamatória em direção ao G4 e demais grupos. É importante que o material implantado provoque apenas pequena reação inflamatória, uma vez que inflamação excessiva leva a aumento de miofibroblastos e contração da cicatriz, com risco aumentado de exposição ou extrusão do material implantado (Goldberg et al., 1994).

Apesar de existir a hipótese de degradação do polietileno (Kurtz et al., 1997), no presente experimento e dentro do período de observação realizado, o PG permaneceu no local de injeção. Este fato é muito importante, pois há necessidade de se trabalhar com substância que permaneça no local de implantação.

Em estudos anteriores, envolvendo hidroxiapatita microgranular (Ranzani et. al, 1997) ou hidroxiapatita não absorvível (Xavier et al., 1999), foi possível observar que o volume não se mantinha durante o período experimental e que a reação inflamatória com a hidroxiapatita sintética é muito mais acentuada. Portanto, o PG pode ser considerado superior àquelas substâncias para o reparo de déficit de volume.

Em 1994, Constantino previa que nos próximos 10 a 15 anos os biomateriais provavelmente iriam se desenvolver muito; biomateriais modificados por engenharia genética, contendo proteínas morfogenéticas capazes de direcionar e controlar o crescimento do tecido de reparação, bioinertes, iriam mimetizar os tecidos vivos e não trariam malefícios para o paciente (Constantino, 1994).

O desenvolvimento de uma nova geração de materiais que combinam componentes sintéticos com proteínas bioativas está sendo iniciado e a associação de biomateriais com substâncias que facilitam a integração dos mesmos já tem sido empregada.

Um bom exemplo desta associação é o Bioplastique, anteriormente mencionado, o qual é um composto que contém partículas micronizadas associadas a algum veículo na forma de gel, além de ser bioexcretável, o que facilita a sua integração com os tecidos.

A adição de fibroblastos singênicos também pode facilitar a integração dos biomateriais (Marler et al., 2000).

Usando-se DNA recombinante e fibroblastos sintetizadores de elastina associados a polímeros, pode-se obter a formação de elastina com meia vida de 70 anos (Urry et al., 1998), o que garante o sucesso e a estabilidade do procedimento.

Está-se vivendo esta fase de novas descobertas, muitas das quais serão utilizadas com sucesso por muitos anos.

Porém, os efeitos em longo prazo, não só da manutenção do volume e da persistência do material no local da implantação, mas também o potencial para indução e tumores ou problemas outros para a saúde do hospedeiro, devem ser pensados quando se utiliza uma substância estranha ao organismo.

Os resultados obtidos neste estudo nos estimulam a continuar investigando o PG como uma substância útil em Oculoplástica.

Pela facilidade de utilização, pequena reação tecidual, por suportar o crescimento de tecido fibroblástico e a deposição de colágeno, além de permanecer no local da implantação, este material poderia ser uma alternativa para reposição de volume resultante de perda de partes moles na região periorbitária, diretamente na órbita ou para amenização de rugas periorais e periorbitais.

6: CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo e nas condições experimentais presentes permitem concluir que:

- Ao exame clínico, o PG mostrou ser substância bem tolerada, não tendo ocorrido inflamação, extrusão ou alterações da pele sobrejacente ao local de injeção do material em nenhum animal;
- O exame histológico revelou que o PG induz ao processo de reparação tecidual do tipo fibrovascular, com pouca reação inflamatória e sem sinais de rejeição do material;
- O PG injetado permaneceu no local da injeção durante todo o período de observação.

Todos estes parâmetros permitem considerar o PG como um bom material para ser utilizado para reposição de volume em cavidades e aumento de partes moles.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS *

BEAVER, H.A., PATRINELY, J.R., HOLDS, J.B., SOPER, M.P.
Perivascular autografts in socket reconstruction.
Ophthalmology, v.103, p.1498-502, 1996.

BERAN, S.J., ROHRICH R.J. The role of subcutaneous infiltration in
suction-assisted lipoplasty: a review. **Plast. Reconstr. Surg.**,
v.99, p.514-9, 1997.

BERGHAUS, A. Porous polyethylene in reconstructive head and neck
surgery. **Arch. Otolaryngol.**, v.111, p.154-60, 1985.

BILYK, J.R, RUBIN, P.A.D., SHORE, J.W. Correction of enophthalmos
with porous polyethylene implants. **Int. Ophthalmol. Clin.**,
v.32, p.151-6, 1992.

* UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Coordenadoria Geral de Bibliotecas. **Normas para publicações da UNESP**. São Paulo: Editora UNESP, 1994. v.2: Referências Bibliográficas. NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. **List of journals indexed in Index Medicus**. Washington, 1997. 240p.

BOSNIAK, S., NESI, F., SMITH, B.C., SCHECHTER, R., COTE, R. A comparison of motility: autogenous dermis-fat versus synthetic spherical implants. **Ophthalmic Surg.**, v.20, p.889-91, 1989.

BROWN, B.L., NEEL, H.B., KERN, E.B. Implants of supramid, proplast, plastipore and silastic. **Arch. Otolaryngol.**, v.105, p.605-9, 1979.

CHACHJIR A., BENZAQUEN, J. Fat-graft injection for soft-tissue augmentation. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 86, p.921-34. 1989.

CHOI J.C., FLEMING J.C., AITKEN P.A., SHORE J.W., Porous polyethylene channel implants: a modified porous polyethylene sheet implant designed for repairs of large and complex orbital wall fractures. **Ophthalm. Plast. Resonstr. Surg.** v.15, p. 56-66, 1999.

CONSTANTINO, P.D., FRIEDMAN, C.D., JONES, K., CHOW, L.C., SISSON, G. A. Experimental hydroxyapatite cement cranioplasty. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 90, p. 174-91,1992.

COOPERMAN L.S., MACKINNON V., BECHLER G., PHARRISS B.B. Injectable collagen: a six-year clinical investigation. **Aesthetic Plast. Surg.**, v.9, p.140-145, 1985.

COTRAN, R.C., KUMAR, V., COLLINS, T. **Robbins pathologic basis of disease.** 6.ed. Philadelphia: Saunders, 1999. p.31-112.

COULDWELL, W.T., CHEN, T.C., WEISS, M.H., FUKUSHIMA, T., DOUGHERTY, W. Cranioplasty with the Medpor porous polyethylene flexblock implant. **J. Neurosurg.**, v.81, p.483-6, 1994.

DURANTI F., SALTI G., BOVANI B., CALANDRA M., ROSATI M.L. Injectable hyaluronic acid gel for soft-tissue augmentation. A clinical and histological study. **Dermatol. Surg.**, v.24, p. 1317-25, 1998.

ELLIS S.G., SHARMA P., HARRIS I.R. Case report: aesthetic management of a localized periodontal defect with a gingival veneer prosthesis. **Eur. J. Prosthodont. Rest. Dent.**, v. 8, p. 23—6, 2000.

ELSON M.L. Soft-tissue augmentation: a review. **Dermatol. Surg.**, v. 21. p.491-500, 1995.

ERSEK, R.A., BEISANG A.A. Bioplastique: a new textured copolymer microparticle promises permanence in soft-tissue augmentation. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 87, p. 693-792, 1991.

FAGIEN S. Facial soft-tissue augmentation with injectable autologous and allogeneic human tissue collagen matrix (autologen and dermalogen). **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 105, p. 362-73, 2000.

FAGIEN S., ELSON M.L. Facial soft-tissue augmentation with allogenic tissue collagen matrix (Dermalogen and Dermaplant). **Clin. Plast.Surg.** v.28, p.63-81,2001

FEINENDEGEN D.L., BAUMGARTNER R.W., VUADENS P., MATTLE H.P., REGLI F., TSCHOPP H. Autologous fat injection for soft-tissue augmentation in the face: a safe procedure? **Aesthetic Plast. Surg.**, v. 22, p.163-7, 1998.

FLEINENDEGEN D.L., BAUMGARTNER R.W., VUADENS P., MATTLE H.P., REGLI F., TSCHOPP H. Autologous fat injection for soft-tissue augmentation in the face: a safe procedure? **Aesthetic Plast. Surg.**, v.22, p.163-7, 1998.

GOLDBERG, R.A., DRESNER, S.C., BRASLOW, R.A., KOSSOVSKY, N., LEGMANN, A. Animal model of porous polyethylene orbital implants. **Ophthal. Plast. Reconstr. Surg.**, v.10, p.104-9, 1994.

GOUGELMAN, H.P. The evolution of the ocular motility implant. **Int. Ophthalmol. Clin.**, v.10, p.689-711, 1976.

HAM, A.W., LEESON, T.S. **Tratado de histologia**. 4 ed. México: Interamericana, 1961. 916p.

HANSON L.J., DONOVAN M.G., HELLSTEIN J.W., DICKERSON N.C.
Experimental evaluation of expanded polytetrafluoroethylene for reconstruction of orbital floor defects. **J.Oral Maxillofac. Surg.**, v.52, p. 1050-5, 1994.

HINDERER U.T., ESCALONA J. Dermal and subdermal tissue filling with fetal connective tissue and cartilage, collagen and silicone: experimental study in the pig compared with clinical results: a new technique of dermis mini-autograft injectons. **Aesthetic Plast. Surg.**, v. 14, p. 239-48, 1990.

JUNQUEIRA, L.C., CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1990. 388p.

KARCIOGLU, Z.A., MULLANEY, P.B., MILLAR, L.C. Extrusion of porous polyethylene orbital implant in recurrent retinoblastoma. **Ophthal. Plast. Reconstr. Surg.**, v.14, p.37-44, 1998.

KARESH, J.W., DRESNER, S.C. High density porous polyethylene (Medpor) as a successful anophthalmic socket implant. **Ophthalmology**, v.101, p.1688-96, 1994.

KELLER J.C. Physical and biological characteristics of implant materials. **Adv.Dent.Res.**, v.13, p.5-7, 1999.

KINOSHITA, Y., KUZUHARA, T., KRIGAKUBO, M. Soft tissue reaction to collagen – immobilized porous polyethylene subcutaneous implantation in rats for 20 weeks. **Biomaterials**, v.14, p.209-15, 1993.

KNAPP T.R., KAPLAN E.N., DANIELS J.R. Injectable collagen for soft-tissue augmentation. **Plast. Reconstr. Surg.**, v.60, p.398-405, 1977

KONONAS T.C., BUCKY L.P., HURLEY C., MAY J.W. The fate of suctioned and surgically removed fat after reimplantation for soft-tissue augmentation: a volumetric and histologic study in the rabbit. **Plast. Reconstr. Surg.**, v.91, p. 763-8,1993.

KURTZ,S.M., RIMNAC,C.M., BARTEL,D.L. Degradation rate of ultra-high molecular weight polyethylene. **J. Orthop. Res.**,v.15,p.57-61,1997.

LEMPERLE, G., HAZAN-GAUTHIER, N., LEMPERLE M. PMMA microspheres (Artecoll) for skin and soft-tissue augmentation. Part II: Clinical investigations. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 96, p. 627-34, 1995.

MAAS, C.S., MERWIN, G.E., WILSON, J., FREY, M.D., MAVES, M.D. Comparison of biomaterials for facial bone augmentation. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v.116, p.551-6, 1990.

MAK K., TORIUMI D.M. Injectable filler materials for soft-tissue augmentation. **Otolaryngol. Clin. N. Am.**, v. 27, p. 211-22, 1994.

MANNA F., DENTINI M., DESIDERI P., DE PITA O., MORTILLA E., MARAS B. Comparative chemical evaluation of two commercially available derivatives of hyaluronic acid (hylaform from rooster combs and restylane from streptococcus) used for soft-tissue augmentation. **J. Eur. Acad. Dermatolol. Venereology.** v.13, p.183-92,1999.

McCLELLAND, M., EGBERT B., HANKO V., BERG R.A., DE LUSTRO, F. Evaluation of artecoll polymethylmetacrylate implant for soft-tissue augmentation biocompability and chemical characterization. **Plast. Reconstr. Surg.**, v 100, p.1466-74, 1997.

MARLER, J.J., GUHA A., ROWLEY, J., KOKA R., MOONEY D., UPTON J., VACANTI J.P. Soft-tissue augmentation wirh injectable alginate and syngeneic fibroblasts. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 105, p. 2049-58, 2000.

MACCLELAND M. EGBERT B., HANKO V., BERG R.A., DE LUSTRO F., Evaluation of artecoll polymethylmetacrylate implant for soft-tissue augmentation biocompatibility and chemical characterization. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 100, p. 1466-74, 1997.

MERRITT, K., SHAFER, J.W., BROWN, S.A. Implant site infection rates with porous and dense material. **J. Biomed. Mater. Res.**, v.13, p.101-8, 1979.

NORDSTROM, D.,SANTAVIRTA S., METSATINNE K., KONTINNEN Y.T. Biocompatibility of polyethylene and host response to loosening of cementless total hip replacement. **Clin. Orthop.**, v.297, p.100-10, 1993.

PERRY, A.C. Integrated orbital implants. **Adv. Ophthalmic Plast. Reconstr. Surg.**, v.8, p.75-81, 1990.

PERRY, A.C. Perry motility implant. In: ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY OF OPHTHALMIC PLASTIC AND RECONSTRUCTIVE SURGERY AND AMERICAN SOCIETY OF OCULARISTS ,Dallas. **Proceedings**,Dallas, 1987.

PIACQUADIO D., JARCHO M., GOLTZ R. Evaluation of hylan b gel as a soft-tissue augmentation implant material. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 36, p. 544-9, 1997.

PURDY E.P. Oculoplastic and orbital applications of porous high-density polyethylene implants. **Curr. Opin. Ophthalmol.**, v. 8, p.57-63,1997.

OZGENTAS H.E., PINDUR A., SPIRA M., LIU B., SHENAO S. A comparison of soft-tissue augmentation. **Ann. Plast. Surg.**, v.100, p. 1466-74, 1997.

RANZANI, J.J., RAHAL, S.C., SCHELLINI, S.A., MARQUES, M.E.A., TAGA, E.M. Repair of the anophthalmic cavity of rats with synthetic hydroxyapatite. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.30, p.1181-6, 1997.

REMULLA, H.D., RUBIN, P.A.D., SHORE, J.W. Complications of porous spherical orbital implants. **Ophthalmology**, v.102, p.586-93, 1995.

ROSSA, R. **Polietileno poroso: avaliação das reações teciduais nas inclusões subcutâneas**. São Paulo, 1999. 90p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo.

ROSSA, R., CARVALHO J.C. Hidroxiapatita e resina acrílica: estudo comparativo das suas reações teciduais / Hydroxyapatite and acrylic resins: a comparative study of tissular reactions. **Rev. Paul. Odont.**, v 16, p.6-7,10, 1994.

RUBIN, L.R. Polyethylene as a bone and cartilage substitute: a 32-year retrospective experience. In: RUBIN, L.R. **Biomaterials reconstructive surgery**. St. Louis: Mosby, 1983. p.474-93.

RUBIN, P.A.D., BILYK, J.R., SHORE, J.W. Orbital reconstruction using porous polyethylene sheets. **Ophthalmology**, v.101, p.1697-708, 1994a.

RUBIN, P.A.D., POPHAM, J.K., BILYK, J.R., SHORE, J.W. Comparison of fibrovascular ingrowth into hydroxyapatite and porous polyethylene orbital implants. **Ophthal. Plast. Reconstr. Surg.**, v.10, p.96-103, 1994b.

SCHELLINI, S.A. **Avaliação da integração de esferas de hidroxiapatita sintética e de polietileno poroso em cavidades evisceradas de coelhos.** Botucatu, 2000. 147 p. Tese (Livre Docência), Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista.

SCHELLINI, S.A., HOYAMA, E., PADOVANI, C.R., FERREIRA, V.L.R., ROSSA, R. Complicações com o uso de esferas não integráveis e integráveis na reconstrução da cavidade anoftálmica. **Arq. Bras. Oftalmol.**, v.62,p.382,1999.

SCHELLINI, S.A., MARQUES, M.E.A., RANZANI, J.J., TAGA, E.M. Synthetic hydroxyapatite in anophthalmic socket reconstructive. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.**, v.39, supl., p.502, 1998.

SCHELLINI, S.A., MARQUES, M.E.A., RAHAL, S.C., RANZANI, J.J., PADOVANI, C.R. Vegetal polymer in anophthalmic socket reconstruction. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.**, v.37, supl., p.502, 1996.

SCHELLINI, S.A., XAVIER A.P., ROSSA R., PELLIZON C., MARQUES M.E.A, PADOVANI C.R., PASHAUS A. Liquid polyethylene in the anophthalmic cavity treatment. **Invest. Ophtalmol. Vis. Sci.**, v.42, supl., p. 341, 2001

SCLAFANI, A.P., ROMO,T., SILVER,L. Clinical and histologic behavior of exposed porous high density polyethylene implants. **Plast. reconstr. surg.**, v.99, p.41-50, 1997a.

SCLAFANI, A.P., THOMAS, R., COX, A.J., COOPER, M.H. Clinical and histologic response of subcutaneous expanded polytetrafluoroethylene (Gore-tex) and porous high-density polyethylene (Medpor) implants to acute and early infection. **Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v.123, p.328-36, 1997b.

SCLAFANI A.P., ROMO T., PARKER A., McCORMICK S.A., COCKER R., JACONO A. Autologous collagen dispersion (Autologen) as a dermal filler: clinical observations and histology findings. **Arch. Facial Plast. Surg.** v. 2, p. 48-52, 2000.

SMITH B., PETRELLI R. Dermis fat graft as a movable implant within the muscle cone. **Am. J. Ophthalmol.** , v. 85, p. 62-6m, 1978.

SOARES, E.J.C., FRANÇA, V.J.C., WYKROTA, L., STUMPF, S. Clinical evaluation of a new bioceramic ophthalmic implant. **Orbit**, v.14, p.137-46, 1995.

STEGMAN S.J. CHU S., BENSCH K., ARMSTRONG R. A light and electron microscopic evaluation of Zyderm and Zypplast implants in aging human facial skin. A pilot study. **Arch. Dermatol.** , v. 123, p. 1644-9, 1987.

STREINER, D.L. & NORMAN, G.R. **Bioestatics-the bare essentials**. Mosby-Year Book, St. Louis, 1994. 260p.

STREIT M., BRAND C.U., BRAATHEN L.R. Soft-tissue augmentation for treatment of wrinkles and scars of the face. **Therap. Umschau**, v. 56, p. 212-8, 1999.

TERINO, E. Alloderm acellular dermal graft: applications in aesthetic soft-tissue augmentation. **Clin. Plast. Surg.**, v. 28, p.82-99, 2001.

URRY D.W., PATTANAIK A., XU J., WOODS T.C., McPHERSON D.T., PARKER T.M. Elastic protein based polymers in soft-tissue augmentation and generation. **J. Biomaterials Sci.**, v.9, p.1015-48, 1998.

WARREN, N.P. A short history of total hip replacement. In: COOMS, R., CRISTINA A., HYNGERFORD D. **Joint replacement**: state of the art. St. Louis Mosby, 1990, p.41-2.

WEBSTER, R.C., GAUNT. J.M., HAMDAN U.S., FULEIHAN N.S., SMITH R.C. Injetctable silicone for soft-tissue augmentation. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 112, p.290-6, 1986.

WELLISZ, T. Reconstruction of the burned external ear using Medpor porous polyethylene pivoting helix framework. **Plast. Reconstr. Surg.**, v.91, p.811-8, 1993.

WEST T.B., ALSTER T.S. Autologous human collagen and dermal fibroblasts for soft-tissue augmentation. **Dermatol. Surg.**, v.24, p.410-2, 1998.

XAVIER, A.P., SCHELINI, S.A., ARAGON F.F., PADOVANI C.R., TAGA, E.M. Efeito da infiltração subepidérmica de hidroxiapatita microgranular não reabsorvível na região abdominal de cobaias. **Arq. Bras. Oftalmol.**, v. 63, p. 57, 2000.

XU Z., LIU B., YOU B., LIU Y., MIAO Q. mechanism of medical collagen for soft-tissue augmentation. **Acta Academiae Medicinae Sinicae**, v. 17, p. 188-91, 1995.



APÊNDICE 1

RELAÇÃO DAS MEDIDAS DE ÁREA

OBSERVAÇÕES SOBRE A ANÁLISE MORFOMÉTRICA

Microscópio utilizado: Leica DMLB

Programa Analisador de Imagens: Image Pro-Plus (IpWin 32)

Cada lâmina apresenta 05 (cinco) cortes seriados de 1 mesmo animal. Cada grupo experimental tem 03 (três) animais, representados por 03 lâminas e o total estudado foi de 24 animais (24 lâminas).

Em cada lâmina foi feita a análise morfométrica dos 5 cortes, medindo-se 4 (quatro) diferentes pontos em cada corte, num total de 20 pontos analisados por lâmina (4 medidas x 5 cortes).

Total de medidas: $20 \times 24 = 480$ medidas.

Em cada medida, analisou-se a área da pseudocápsula (a que chamou-se "A1") e a área da zona de integração (a que chamou-se "A2").

Em todos os cortes foram feitas análises em pontos aproximadamente coincidentes, topograficamente, sempre que isto foi possível (quadrantes superior direito, inferior direito, inferior esquerdo e superior esquerdo).

Ao microscópio, a ocular utilizada para o trabalho foi a de 10 aumentos.

A unidade de medida utilizada foi o micrômetro.

Número de pixels por unidade:

X= .750 pixels

Y= .750 pixels (valor fornecido automaticamente pelo programa Image Pro-Plus ao fazer-se a análise de área utilizando-se a ocular de 10x).

Notação Utilizada:

Lâmina = L (de 1 a 24)

Corte = C (de 1 a 5)

Medida = M (de 1 a 4)

Lâminas por Grupo Experimental:

Grupo 1 (G1 – 07 dias) = Lâminas 1, 2 e 3

Grupo 2 (G2 – 15 dias) = Lâminas 4, 5 e 6

Grupo 3 (G3 – 30 dias) = Lâminas 7, 8 e 9)

Grupo 4 (G4 - 45 dias) = Lâminas 10, 11 e 12

Grupo 5 (G5 – 60 dias) = Lâminas 13, 14 e 15

Grupo 6 (G6 – 90 dias) = Lâminas 16, 17 e 18

Grupo 7 (G7 – 180 dias) = Lâminas 19, 20 e 21

Grupo 8 (G8 – 365 dias) = Lâminas 22, 23 e 24.

Exemplo de Notação:

L1C1M2 = **Segunda medida** (ou medida de um segundo ponto) no **primeiro corte** da **lâmina n. 1** (a qual representa **um** animal do **grupo experimental 1**, que é o que foi sacrificado **07** dias após a injeção de polietileno).

L5C3M4 = **Quarta medida** (ou medida de um quarto ponto) no **terceiro corte** da lâmina **n. 5** (a qual representa um animal do **grupo experimental 2**, que é o que foi sacrificado **15** dias após a injeção de polietileno).

L17C1M3 = **Terceira medida** (ou medida de um terceiro ponto) no **primeiro corte** da lâmina **n. 17** (a qual representa um animal do **grupo experimental 6**, que é o que foi sacrificado **90** dias após a injeção de polietileno).

RELAÇÃO DAS MEDIDAS DE ÁREA

Grupo 1 (7 dias) – 3 animais – Lâminas 1, 2 e 3

**A1 = área da pseudocápsula
A2 = área da zona de integração**

Lâmina 1

	A1	A2
L1C1M1	98691.556	43994.503
L1C1M2	94437.503	40953.222
L1C1M3	82995.556	32039.111
L1C1M4	93783.111	36943.537
L1C2M1	66193.778	53530.950
L1C2M2	89582.222	63593.904
L1C2M3	73219.556	44902.390
L1C2M4	86773.333	43409.111
L1C3M1	64958.222	63395.093
L1C3M2	69859.556	65039.221
L1C3M3	72154.667	48663.008
L1C3M4	78776.889	53039.503
L1C4M1	48202.667	64094.039
L1C4M2	60355.556	69595.039
L1C4M3	70935.111	53103.365
L1C4M4	72065.778	54334.033
L1C5M1	25557.333	74372.911
L1C5M2	46467.556	82901.662
L1C5M3	21940.395	63503.940
L1C5M4	17368.226	63433.353

Lâmina 2

	A1	A2
L2C1M1	153797.33	30495.903
L2C1M2	150135.11	73500.303
L2C1M3	156055.11	39409.593
L2C1M4	112867.56	31049.033
L2C2M1	117800.89	30955.335
L2C2M2	141354.67	63090.493

L2C2M3	151372.44	40604.904
L2C2M4	111086.22	35493.945
L2C3M1	104667.33	38204.032
L2C3M2	129102.22	43504.903
L2C3M3	132476.44	50203.940
L2C3M4	98858.667	35993.095
L2C4M1	135870.22	35390.593
L2C4M2	116392.89	41009.402
L2C4M3	122286.22	50490.459
L2C4M4	98149.333	65909.093
L2C5M1	111861.33	50405.392
L2C5M2	107749.33	35305.039
L2C5M3	110136.89	52940.222
L2C5M4	84158.222	82932.389

Lâmina 3

	A1	A2
L3C1M1	67690.667	32339.222
L3C1M2	156179.56	44453.222
L3C1M3	120124.44	37020.111
L3C1M4	126851.56	35843.053
L3C2M1	108314.67	64989.389
L3C2M2	165841.78	45660.490
L3C2M3	107918.22	43090.390
L3C2M4	119335.11	39403.802
L3C3M1	118177.78	79094.094
L3C3M2	124753.78	59430.953
L3C3M3	158529.78	43095.039
L3C3M4	142812.44	53509.630
L3C4M1	64085.333	79590.222
L3C4M2	53093.333	70309.320
L3C4M3	93731.556	53920.111
L3C4M4	97722.667	63095.430
L3C5M1	57815.111	155389.53
L3C5M2	51251.556	79009.409
L3C5M3	104933.33	60493.111
L3C5M4	102663.11	65509.705

Grupo 2

(Grupo experimental 15 dias – lâminas 4, 5 e 6)

Lâmina 4

	A1	A2
L4C1M1	118232.89	34909.504
L4C1M2	100860.44	44950.350
L4C1M3	127.383.11	38847.222
L4C1M4	87934.222	54593.030
L4C2M1	86014.222	45894.043
L4C2M2	101939.56	60945.950
L4C2M3	106392.89	45049.503
L4C2M4	74472.889	59406.940
L4C3M1	78302.222	53593.593
L4C3M2	101159.11	66090.640
L4C3M3	95324.444	49893.111
L4C3M4	72978.489	63959.353
L4C4M1	78831.111	59390.530
L4C4M2	74707.556	84892.849
L4C4M3	89365.333	60493.050
L4C4M4	69719.111	72920.402
L4C5M1	76997.333	94492.111
L4C5M2	63258.667	89939.593
L4C5M3	78302.222	85939.222
L4C5M4	57077.333	79596.004

Lâmina 5

	A1	A2
L5C1M1	94147.556	74375.234
L5C1M2	90147.556	63449.859
L5C1M3	83907.556	69349.694
L5C1M4	75996.444	65394.593
L5C2M1	92942.222	74848.560
L5C2M2	88163.556	63495.384
L5C2M3	76035.556	75924.538
L5C2M4	65557.333	75737.538
L5C3M1	80522.667	93994.953
L5C3M2	64332.444	87547.538

L5C3M3	68522.667	83694.568
L5C3M4	59054.222	85272.394
L5C4M1	73662.222	95236.839
L5C4M2	63427.756	89468.490
L5C4M3	62538.667	92952.395
L5C4M4	50424.889	85775.445
L5C5M1	54771.556	102649.56
L5C5M2	32508.444	144869.45
L5C5M3	34455.111	94598.593
L5C5M4	49580.444	94234.859

Lâmina 6

	A1	A2
L6C1M1	87381.333	52684.743
L6C1M2	97683.556	62395.839
L6C1M3	87450.667	55385.783
L6C1M4	80217.778	63243.355
L6C2M1	77886.222	68453.985
L6C2M2	88885.333	68958.934
L6C2M3	86085.333	74593.845
L6C2M4	69386.667	69345.834
L6C3M1	75834.667	83434.958
L6C3M2	82398.222	88239.458
L6C3M3	77644.444	84758.783
L6C3M4	66028.444	73428.453
L6C4M1	55882.667	88488.283
L6C4M2	79148.444	92357.583
L6C4M3	75560.889	97432.485
L6C4M4	59480.889	84579.238
L6C5M1	55031.111	100283.45
L6C5M2	48983.111	103985.89
L6C5M3	48286.222	97856.924
L6C5M4	47498.667	84989.234

GRUPO 3**30 dias****Lâminas 7, 8 e 9****Lâmina 7**

	A1	A2
L7C1M1	78968.889	60534950
L7C1M2	74655.111	46393.459
L7C1M3	77687.111	75893.495
L7C1M4	80398.222	81494.569
L7C2M1	72163.556	82434.950
L7C2M2	67175.111	80959.443
L7C2M3	71059.556	83045.093
L7C2M4	75272.889	65993.493
L7C3M1	66730.667	94545.839
L7C3M2	60732.444	95893.485
L7C3M3	58270.222	88458.948
L7C3M4	67619.556	92484.593
L7C4M1	61221.333	99485.934
L7C4M2	53356.444	99359.452
L7C4M3	57639.111	98548.593
L7C4M4	43256.889	49849.289
L7C5M1	49095.111	104324.95
L7C5M2	46995.556	133434.85
L7C5M3	56728289	104534.66
L7C5M4	41054.222	59989.284

Lâmina 8

	A1	A2
L8C1M1	60995.556	63224.892
L8C1M2	50462.222	83938593
L8C1M3	50874.667	89892.347
L8C1M4	58120.889	85034.950
L8C2M1	52968.689	69735.534
L8C2M2	37505.778	88498.924

L8C2M3	46369.778	92582.395
L8C2M4	50439.111	94259.249
L8C3M1	47221.333	93493.439
L8C3M2	34949.333	89792.834
L8C3M3	43857.778	99785.239
L8C3M4	40026.667	94573.270
L8C4M1	43307.556	101485.39
L8C4M2	31100.444	96958.395
L8C4M3	34849.778	101449.49
L8C4M4	33624.889	96928.593
L8C5M1	29491.556	103449.43
L8C5M2	28337.778	103429.92
L8C5M3	34499.556	105958.94
L8C5M4	27982.222	99435932

Lâmina 9

	A1	A2
L9C1M1	127948.44	80217.111
L9C1M2	82920.889	83503.540
L9C1M3	138922.67	80467.398
L9C1M4	146549.33	86222.665
L9C2M1	81347.556	86109.111
L9C2M2	74430.222	89355.412
L9C2M3	87073.778	90228.122
L9C2M4	83955.556	88542.930
L9C3M1	73656.189	91034.558
L9C3M2	72595.556	98982.365
L9C3M3	81.493.333	94574.833
L9C3M4	66962.889	93293.865
L9C4M1	49045.333	93558.584
L9C4M2	60657.778	100444.34
L9C4M3	76046.222	98275.198
L9C4M4	63755.378	98365.888
L9C5M1	44264889	115356.44
L9C5M2	48817.778	124444.44
L9C5M3	49125.333	156334.87
L9C5M4	60549.333	111633.99

Grupo 4

45 dias

Lâminas 10, 11 e 12

Lâmina 10

	A1	A2
L10C1M1	94339556	87018.354
L10C1M2	92172.444	85021.455
L10C1M3	48487.111	98622.898
L10C1M4	97525.333	97234.981
L10C2M1	61997.333	97900.934
L10C2M2	69157.333	86819.456
L10C2M3	44440.889	100316.88
L10C2M4	51176.889	101222.76
L10C3M1	48005.333	105577.45
L10C3M2	47125.333	104444.89
L10C3M3	43991.111	110110.67
L10C3M4	42343.111	111898.22
L10C4M1	39806.222	106382.47
L10C4M2	42433.778	107139.20
L10C4M3	41674.667	117998.34
L10C4M4	40442.667	132553.87
L10C5M1	34309.333	121993.22
L10C5M2	41287.111	165989.33
L10C5M3	36730.667	141824.44
L10C5M4	34830.222	146913.22

Lâmina 11

	A1	A2
L11C1M1	44099.681	99456.331
L11C1M2	46928.132	87666.099
L11C1M3	40802.443	106877.33
L11C1M4	81063.446	118623.55
L11C2M1	43660.049	99888.371
L11C2M2	40182.331	98647.120
L11C2M3	39027.257	110342.90

L11C2M4	38844.463	119775.87
L11C3M1	42119.111	121556.44
L11C3M2	37664.862	105323.22
L11C3M3	35820.260	132989.22
L11C3M4	37588.968	110345.22
L11C4M1	36747.651	122545.11
L11C4M2	34968.030	171332.79
L11C4M3	33187.098	122989.55
L11C4M4	36361.238	143656.11
L11C5M1	35863.298	187954.34
L11C5M2	30046.740	177753.99
L11C5M3	31224.027	129434.75
L11C5M4	30131.889	158309.62

Lâmina 12

	A1	A2
L12C1M1	62789.133	41792.111
L12C1M2	60339.378	70210.307
L12C1M3	66908.444	59034.898
L12C1M4	64216.889	82345.910
L12C2M1	53001.144	91565.608
L12C2M2	57276.019	88644.342
L12C2M3	54663.111	78009.344
L12C2M4	53448.178	93020.744
L12C3M1	51660.444	98353.502
L12C3M2	57173.333	92667.331
L12C3M3	53455.111	90218.245
L12C3M4	52871.169	99966.311
L12C4M1	48821.837	100344.11
L12C4M2	51844.161	105787.22
L12C4M3	49774.186	101846.55
L12C4M4	47224.551	107835.11
L12C5M1	48630.180	146998.22
L12C5M2	39225.222	121090.33
L12C5M3	40849.553	111438.50
L12C5M4	38590.222	138234.54

Grupo 5**60 dias****Lâminas 13, 14 e 15****Lâmina 13**

	A1	A2
L13C1M1	5 8203.111	102170.11
L13C1M2	44472.989	99532.888
L13C1M3	60212.147	114774.18
L13C1M4	49887.882	84727.111
L13C2M1	49747.072	102439.11
L13C2M2	43999.122	134165.22
L13C2M3	44398.109	131244.08
L13C2M4	40244.111	98441.166
L13C3M1	38888.243	120144.11
L13C3M2	40171.728	177019.11
L13C3M3	40887.222	141187.56
L13C3M4	37991.222	112887.93
L13C4M1	36998.231	134667.22
L13C4M2	37920.144	180055.11
L13C4M3	40830.337	151553.78
L13C4M4	36365.902	120785.06
L13C5M1	18991.123	150535.11
L13C5M2	35095.332	187735.11
L13C5M3	40232.322	159186.24
L13C5M4	22919.105	186680.89

Lâmina 14

	A1	A2
L14C1M1	49167.111	53000.602
L14C1M2	78702.222	95622.194
L14C1M3	57002.266	65220.510
L14C1M4	683332.176	67893.008
L14C2M1	55162.445	71778.426
L14C2M2	58918.345	135446.46
L14C2M3	55989.222	67805.544
L14C2M4	62666.234	91861.724

L14C3M1	59191.922	97982.222
L14C3M2	56939.222	141543.33
L14C3M4	61389.667	69726.040
L14C3M3	55747.992	109709.84
L14C4M1	60191.945	146910.47
L14C4M2	48013.665	141567.16
L14C4M3	50886.344	84898.885
L14C4M4	61345.287	122784.25
L14C5M1	64649.378	144074.69
L14C5M2	43090.554	149114.25
L14C5M3	50708.455	101.409.35
L14C5M4	61199.233	127303.38

Lâmina 15

	A1	A2
L15C1M1	64958.667	85331556
L15C1M2	66843.633	70643556
L15C1M3	61992.767	70785.778
L15C1M4	67102.242	87681.778
L15C2M1	57424.182	94408.889
L15C2M2	60376.287	101790.22
L15C2M3	61647.556	73467.556
L15C2M4	55090.932	95937.111
L15C3M1	49664.332	94718.222
L15C3M2	60361.244	119107.56
L15C3M3	58999.414	109530.67
L15C3M4	58339.111	102771.56
L15C4M1	49292.997	102227.42
L15C4M2	44217.453	168529.78
L15C4M3	53547.290	116263.11
L15C4M4	54416.111	109662.22
L15C5M1	49033.824	210942.22
L15C5M2	40898.336	212727.11
L15C5M3	49489.733	169834.67
L15C5M4	48135.667	138.586.66

Grupo 6**90 dias****Lâminas 16, 17 e 18****Lâmina 16**

	A1	A2
L16C1M1	54455.111	156.881.78
L16C1M2	58403.556	99448.889
L16C1M3	59715.556	179080.89
L16C1M4	51882.667	162405.33
L16C2M1	48744.889	184460.44
L16C2M2	48062.222	200915.56
L16C2M3	47122.223	228579.56
L16C2M4	44887.323	192787.56
L16C3M1	40354.220	212492.44
L16C3M2	42119.878	215717.33
L16C3M3	45989.454	277422.22
L16C3M4	38916.223	225013.33
L16C4M1	39200.001	255303.11
L16C4M2	40222.811	266023.11
L16C4M3	41825.829	292.298.67
L16C4M4	36539.043	256439.11
L16C5M1	31988.444	330844.44
L16C5M2	35024.975	336200.89
L16C5M3	40287.097	316766.22
L16C5M4	36012.774	302398.22

Lâmina 17

	A1	A2
L17C1M1	41878.579	99761.778
L17C1M2	42587.538	79326.222
L17C1M3	47947.593	104328.89
L17C1M4	48395.893	69660.444
L17C2M1	35759.387	106225.78
L17C2M2	38348.593	112348.44

L17C2M3	45947.853	114042.67
L17C2M4	41737.344	93587.556
L17C3M1	32739.732	112999.11
L17C3M2	33499.557	130805.33
L17C3M3	42347.583	122334.22
L17C3M4	39823.958	103806.22
L17C4M1	29594.583	115242.67
L17C4M2	33398.594	130600.89
L17C4M3	38893.439	170942.22
L17C4M4	34853.953	102177.78
L17C5M1	27582.947	170849.78
L17C5M2	30435.345	246417.78
L17C5M3	35455.385	191623.11
L17C5M4	33375.357	127619.56

Lâmina 18

	A1	A2
L18C1M1	42847.528	100380.44
L18C1M2	62745.289	85128.889
L18C1M3	35558.298	82451.556
L18C1M4	34848.348	71233.778
L18C2M1	34825.285	106300.44
L18C2M2	32524.752	128481.78
L18C2M3	33745.892	120297.78
L18C2M4	28245.928	102796.44
L18C3M1	33359.284	116307.56
L18C3M2	31424.859	136298.67
L18C3M3	31945.825	129242.67
L18C3M4	48148.284	103525.33
L18C4M1	30594.592	139351.11
L18C4M2	30498.294	154590.22
L18C4M3	31284.592	159998.22
L18C4M4	28592.859	103532.44
L18C5M1	28842.475	163852.44
L18C5M2	14341.748	174327.11
L18C5M3	30429.485	164581.33
L18C5M4	20423.950	135208.89

Grupo 7**180 dias****Lâminas 19, 20 e 21****Lâmina 19**

	A1	A2
L19C1M1	48294.589	114549.33
L19C1M2	44434.985	125425.78
L19C1M3	48429.458	127191.11
L19C1M4	38958.924	107157.33
L19C2M1	34385.923	121034.67
L19C2M2	32452.459	140149.33
L19C2M3	42594.589	153036.44
L19C2M4	38925.934	108094.22
L19C3M1	33659.489	183189.33
L19C3M2	32249.589	156407.11
L19C3M3	31384.752	160030.22
L19C3M4	31949.384	130522.67
L19C4M1	25289.342	204645.33
L19C4M2	28247.582	184453.33
L19C4M3	26582.934	174652.44
L19C4M4	27424.752	163080.97
L19C5M1	22242.348	213336.89
L19C5M2	20493.458	185813.33
L19C5M3	24572.345	183902.22
L19C5M4	23489.348	235466.67

Lâmina 20

	A1	A2
L20C1M1	42743.095	62625.778
L20C1M2	64452.948	97562.667
L20C1M3	42845.874	84245.333
L20C1M4	39762.475	72284.444
L20C2M1	35485.923	95777.778
L20C2M2	32484.728	100661.33
L20C2M3	32524.759	98023.111
L20C2M4	29592.958	106711.11

L20C3M1	33488.234	119105.78
L20C3M2	24857.283	108833.78
L20C3M3	29842.374	119064.89
L20C3M4	28482.893	110387.56
L20C4M1	28947.593	142259.56
L20C4M2	25822.384	118531.56
L20C4M3	29829.204	125895.11
L20C4M4	24456.935	112551.11
L20C5M1	22488.475	171219.56
L20C5M2	25298.395	138435.56
L20C5M3	24934.859	157004.44
L20C5M4	24252.942	169043.56

Lâmina 21

	A1	A2
L21C1M1	44903.230	124003.56
L21C1M2	33289.282	150204.44
L21C1M3	42730.204	162005.33
L21C1M4	39533.503	134679.11
L21C2M1	32789.242	152721.78
L21C2M2	29292.049	165249.78
L21C2M3	39292.893	167669.33
L21C2M4	23459.923	144874.67
L21C3M1	24829.429	153781.33
L21C3M2	23349.249	173093.33
L21C3M3	25928.592	172933.33
L21C3M4	22983.934	156177.78
L21C4M1	22499.292	202183.11
L21C4M2	22029.402	173032.89
L21C4M3	14492.892	176478.22
L21C4M4	22499.829	174163.56
L21C5M1	21948.938	228314.67
L21C5M2	18239.429	201626.67
L21C5M3	13449.293	188469.33
L21C5M4	22420.111	1966817.78

Grupo 8**365 dias****Lâminas 22, 23 e 24****Lâmina 22**

	A1	A2
L22C1M1	74093.090	37239.111
L22C1M2	43940.390	53057.778
L22C1M3	25949.384	55961.405
L22C1M4	34988.938	39089.731
L22C2M1	32090.490	69084.444
L22C2M2	35993.092	75447.111
L22C2M3	25490.594	99379.556
L22C2M4	26995.968	85806.222
L22C3M1	29849.339	71187.556
L22C3M2	35405.904	80008.889
L22C3M3	24034.902	125320.89
L22C3M4	24094.029	103118. 22
L22C4M1	25309.450	97246.222
L22C4M2	22495.090	163434.67
L22C4M3	20402.394	104481.78
L22C4M4	21020.292	161932.44
L22C5M1	14548.594	220769.78
L22C5M2	21919.392	16357.536
L22C5M3	11989.353	118647.11
L22C5M4	19596.859	256.696.89

Lâmina 23

	A1	A2
L23C1M1	25945.490	130259.56
L23C1M2	32922.322	186446.22
L23C1M3	32303.029	125703.11
L23C1M4	39209.302	164497.78
L23C2M1	23403.940	207363.56
L23C2M2	32329.302	201489.78
L23C2M3	33020.392	138945.78
L23C2M4	24343.940	180700.44

L23C3M1	24034.930	211948.44
L23C3M2	29405.904	246860.44
L23C3M3	23940.340	197496.88
L23C3M4	14095.409	182376.89
L23C4M1	15490.490	292883.56
L23C4M2	17409.540	234691.56
L23C4M3	18903.490	197706.67
L23C4M4	13940.930	222997.33
L23C5M1	14994.039	250682.67
L23C5M2	13909.403	308071.11
L23C5M3	13094.039	262577.78
L23C5M4	14005.904	290956.44

Lâmina 24

	A1	A2
L24C1M1	39304.903	206033.78
L24C1M2	34309.403	247115.33
L24C1M3	35409.403	206113.78
L24C1M4	24330.493	157176.89
L24C2M1	24943.093	141116.44
L24C2M2	29493.094	198629.33
L24C2M3	24304.903	235537.78
L24C2M4	23430.227	260241.78
L24C3M1	23493.094	139388.44
L24C3M2	23489.384	220037.33
L24C3M3	23930.160	172908.44
L24C3M4	23229.032	276438.22
L24C4M1	24430.940	208215.11
L24C4M2	24093.883	141436.44
L24C4M3	23403.940	248791.11
L24C4M4	15409.409	99685.333
L24C5M1	23494.222	145729.78
L24C5M2	14040.390	218172.44
L24C5M3	19948.594	266824.89
L24C5M4	14309.403	212935.11

APÊNDICE 2

Relação de valores referentes à média das medidas da área da pseudocápsula (A1) e da área da zona de integração (A2), em cada animal e nos diferentes grupos experimentais:

Grupo/animal	A1	A2
1/1	66715928,25	54127070,50
1/2	124724782,00	46339431,25
1/3	10066288,75	60194811,25
2/4	86960435,00	62292249,50
2/5	68084943,00	85643523,75
2/6	72341199,75	79744852,25
3/7	63004014,00	84882965,25
3/8	41869278,75	93445317,75
3/9	78505922,25	93547282,50
4/10	52663771,75	111124151,50
4/11	39766373,50	114416397,50
4/12	51638094,50	95970161,25
5/13	40922822,50	134496554,50
5/14	58009733,75	104282616,50
5/15	55591588,50	116747376,50
6/16	44087714,50	248811996,00
6/17	36920640,25	126855572,00
6/18	33261378,25	123333465,25
7/19	33308108,75	158606936,00
7/20	32129720,00	115511200,50
7/21	28215735,75	116534756,00
8/22	28505376,75	118553021,25
8/23	24665194,33	201568801,50
8/24	22785106,50	200128887,50

ABSTRACT

EVALUATION OF THE INJECTION OF GEL POLYETHYLENE INTO THE SUBCUTANEOUS OF RATS

This research was performed in order to evaluate the effects of gel polyethylene as a material to be used for reposition of lack of volume or soft-tissue augmentation and to study the tissue reactions following the injection of this substance into the dorsum subcutaneous region of rats. **Material and methods:** an injection of 1 cc of gel polyethylene (Makron Biopolímeros Ltda.– Mogi das Cruzes – SP – Brasil) was performed into the dorsal subcutaneous region of 24 white male rats, weighting about 200 grams each one, under general anesthesia, skin shaving and asepsis. The animals were separated into eight groups and they were sacrificed 7 (G1), 15 (G2), 30 (G3), 45 (G4), 60 (G5), 90 (G6), 180 (G7) and 365 (G8) days after the injection of the substance to be studied. The specimens were removed and they were prepared for the histopatologic examination, under optical microscopy. It was also

performed the morphometric analysis of the observed data. The results were submitted to the statistic analysis (Kruskal-Wallis). **Results:** the comparison among the groups revealed that the maintenance of the presence of the gel polyethylene occurs throughout the experimental period, provoking a slack tissue reaction, with few inflammatory cells, mainly at the beginning of the experience. Later, the tissue reaction became denser, advancing to the center of the material, with also few inflammatory cells. The integration with the host was progressive and no sign of infection was observed throughout the experimental period. **Conclusions:** the injected gel polyethylene was present throughout the complete study, provoking a very slight inflammatory reaction and with a good integration with the host, taking us to consider that material as a good option for soft-tissue augmentation and lack of volume replacement.

Key-words: biomaterials; gel polyethylene; soft-tissue augmentation; volume replacement; implants.