

Mayumi Shirota Kanamura

Estudo Comparativo entre as Esferas de Silicone Gelatinosas e Rígidas em Cavidade Eviscerada de Coelho

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Bases Gerais da Cirurgia da Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do Título de Mestre.

Orientadora: Prof^a. Dra. Silvana A. Schellini

Botucatu
2011



Mayumi Shirota Kanamura

**ESTUDO COMPARATIVO ENTRE AS ESFERAS DE
SILICONE GELATINOSAS E RÍGIDAS EM CAVIDADE
EVISCERADA DE COELHO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Bases gerais da Cirurgia da Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do Título de Mestre.

Orientadora: Prof. Dra. SILVANA ARTIOLI SCHELLINI

Botucatu - 2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO DE AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: *ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE*

Kanamura, Mayumi Shiota.

Estudo comparativo entre as esferas de silicone gelatinosas e rígidas em cavidade eviscerada de coelho / Mayumi Shiota Kanamura. – Botucatu : [s.n.], 2011

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

Orientador: Silvana Artioli Schellini

Capes: 40102009

1. Cirurgia. 2. Silicones – Biocompatibilidade. 3. Coelho.

Palavras-chave: Biocompatibilidade; Cavidade anoftálmica; Enucleação; Evisceração; Silicone.

Dedicatória

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais Shoji e Miyoko Shirota que foram exemplos de determinação, disciplina e caráter. Ninguém acreditou mais em mim, e eles têm minha gratidão e minha admiração mais profundas.

Aos meus filhos, Vincenzo e Sofie, a maior fonte de felicidade, orgulho e alegria da minha vida, pela paciência e compreensão. Eles foram e sempre serão a minha maior fonte de inspiração e estímulo de todo o meu esforço. Agradeço aos dois pela oportunidade de fazer-me experimentar o amor incondicional.

Ao meu tio Hiroshi Akama (*in memoriam*) pelo exemplo de força e generosidade. A minha tia Dra. Tioko Akama e meu tio Dr. Nagahiro Yamaguti (*in memoriam*) pela dedicação e amor conosco.

Às minhas queridas e extraordinárias irmãs, Megumi, pelo exemplo de sabedoria, à feliz Motomi, pelo companheirismo e à minha irmãzinha Mutsumi, pela sua eterna bondade.

A todos os meus sobrinhos, pela renovação da esperança em nossas vidas.

E acima de tudo ao meu esposo, Marcelo Massao Kanamura, que sempre esteve ao meu lado me apoiando em todos os meus projetos e inclusive neste. Tenho a sorte incrível de ser a beneficiária de seu amor e de sua grandeza de alma.

Por fim, à minha brilhante Orientadora Dra. Silvana Artioli Schellini que conheço há quase 20 anos. É uma pessoa forte, prática, inteligente e sábia. Uma das pessoas mais dedicadas à Oftalmologia. Tem sido durante todos esses anos minha referência, tanto na vida profissional, como na vida pessoal.

Agradecimientos

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela minha vida e por todas as bênçãos e direcionamentos que recebi.

À Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São Paulo, pela minha formação e pela possibilidade da realização deste Curso de Mestrado numa Instituição de reconhecido prestígio na área médica.

Aos funcionários do Departamento de Oftalmologia, em especial à Flavia de Oliveira por toda ajuda e todo tempo dedicado ao meu projeto.

À secretária da Diretoria da Unesp de Botucatu, Marli Scarmim, meu agradecimento especial pela imensurável ajuda.

À Professora Elenize Jamas Pereira e sua orientanda Fernanda pela ajuda inestimável no exame morfométrico e pelo auxílio na escolha das melhores imagens e avaliação histológica. Obrigada pelo apoio.

À Professora Maria Jaqueline Mamprim da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP que disponibilizou o Ultrassom do seu serviço e me ensinou sobre o exame.

À Professora Noeme Sousa Rocha pelos ensinamentos sobre Patologia e interpretação histopatológica e por ter participado de meu exame de qualificação com valiosas sugestões.

Ao Professor Dr. Carlos Roberto Padovani pelo auxílio na avaliação estatística do experimento e orientação.

Ao Bruno e Alex Sandler, funcionários da Silimed, que acreditaram em mim, atendendo com presteza a minha solicitação, cedendo gratuitamente as esferas de silicone e esperando pacientemente pelo término desta pesquisa.

À funcionária Sueli Aparecida Garcia, Secretária dos Laboratórios Experimentais, pela orientação e apoio.

Aos funcionários da Cirurgia experimental, Marta Regina Russo Sarzi e Carlos Alberto Martins, pelo tempo dedicado a minha pesquisa, pelo cuidado no manejo do experimento e pela orientação. Meu muito obrigado por acompanhar também nos exames de ultrassom dos coelhos e trabalharem na confecção das lâminas histológicas em conjunto com os funcionários Florian e Vitor.

Ao Silvio Garcia Manoel e Silvio Geraldo dos Santos Junior, pelas belas fotografias, durante todo o experimento que constam nesta dissertação.

Aos funcionários da Pós-graduação: Regina Célia Spadin, Nathanael Pinehiro Sales, Janete e Andrea pelo excelente trabalho na orientação dos alunos.

À funcionária Simone Barroso Corvino Camargo e Luana Amaral, do Departamento de Cirurgia e Ortopedia e secretárias da Pós-Graduação em Bases Gerais da Cirurgia, pelas orientações recebidas.

Aos residentes de Oftalmologia, pela troca de experiências, em especial, Silvia Narikawa e Roberta Lilian Fernandes de Sousa.

Aos meus colegas de pós graduação João Soranz, Cristiano Abreu e Maila Karina Mattos de Brito, pela troca de experiências.

À Michelle Sako Omodei, aluna de iniciação científica e que neste projeto auxiliou no acompanhamento e exame clínico dos animais.

À funcionária Diva Aparecida Luvizuto Gasperini Rodrigues, do serviço de Biblioteca do Campus de Botucatu pelo trabalho de editoração.

À funcionária Marluci Betini, Selma Maria de Jesus, do serviço de Biblioteca do Campus de Botucatu e Valquiria de Cássia Tavares, do Centro de Estudos do Hospital Unimed Bauru, pela ajuda na revisão bibliográfica.

Às funcionárias Rosemeire Cristina da Silva e Luciana Pizzani, do Serviço de Biblioteca do Campus de Botucatu pela correção das referências.

Às minhas funcionárias, Valdicélia Gusto Machado e Wanda Torres Monteiro da Silva (anteriormente) que cuidaram, e Antonia dos Santos e Angela Pereira Mendes (atualmente) cuidam da minha família como se fossem delas, com muito carinho e dedicação. Sem a ajuda de vocês seria impossível a realização deste estudo. Serei eternamente grata.

Às minhas secretárias Vanuza de Melo Pereira Zanatti, Paula Torres Monteiro da Silva e Shirley Aparecida Montanari Mendes, que possibilitaram minha ausência em alguns dias para poder realizar esta pesquisa.

À minha sogra Mikiko Mizokoshi Kanamura, pelo exemplo de determinação e perfeccionismo e meu sogro Setsuo Kanamura pelo exemplo de alegria e amor à família.

Aos meus tios postigos Tia Neide (Kuniko Anzai) e Tio Yoshitaka Anzai, meus sinceros agradecimentos pela amizade de tantos anos e pelos importantes ensinamentos que absorvi nos primeiros anos da minha vida e continuo utilizando ao longo dela.

Ao Eliton Martins meus profundos agradecimentos pela rapidez e eficiente serviço prestado.

À Ana Amélia da Silva Santos, meus agradecimentos pelo belo trabalho de impressão.

À todos os meus pacientes, pela compreensão na minha ausência.

À todos que indiretamente contribuíram para a realização deste projeto.

Resumo

RESUMO

Introdução: apesar da existência de inúmeros tipos de implantes para reposição de volume em cavidades anoftálmicas, até o momento, nenhum deles pode ser considerado ideal, o que faz com que seja necessário continuar buscando novas soluções.

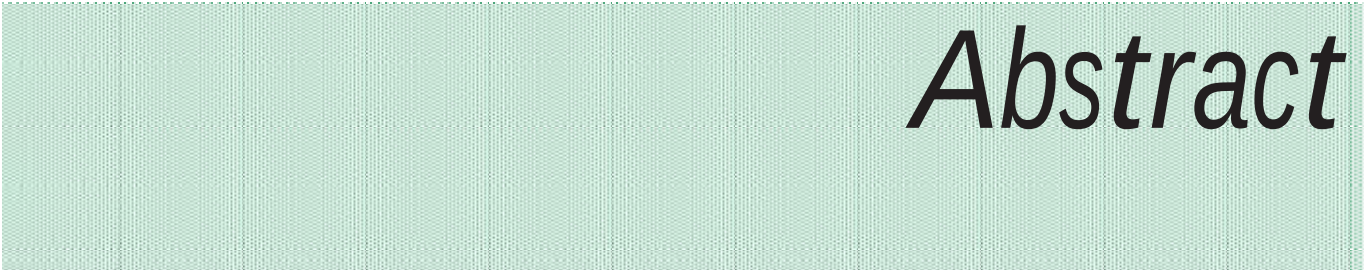
Objetivo: avaliar a biocompatibilidade de esferas de silicone gelatinosas e rígidas, quando colocadas em cavidades evisceradas de coelhos, comparando-as.

Método: estudo prospectivo e experimental, no qual foram utilizados 30 coelhos albinos, espécie *Oryctolagus cuniculus*, submetidos à cirurgia de evisceração do olho direito, sendo feita a colocação de esferas de silicone gelatinosas ou rígidas na cavidade escleral. Os animais foram sacrificados sete, 30 e 90 dias após a colocação das esferas. Os parâmetros avaliados foram: avaliação clínica diária, ultrassonografia da cavidade eviscerada 15 dias após o procedimento, análise histológica do conteúdo orbitário sete, 30 e 90 dias após a cirurgia, com análise morfométrica da pseudocápsula que se formou ao redor das esferas. Os resultados obtidos foram submetidos à avaliação estatística para comparação dos resultados entre e dentro dos grupos experimentais.

Resultados: Durante o seguimento, ocorreram três extrusões de esferas, duas das quais pertencentes ao grupo das esferas rígidas e uma, do grupo das esferas gelatinosas. O exame ultrassonográfico mostrou ausência de coleções ou processo inflamatório ao redor das esferas e boa integração das mesmas com os tecidos orbitários. Ao exame histológico observou-se semelhança de resposta tecidual com ambas as esferas. O exame morfométrico apontou para superioridade das esferas gelatinosas no tocante a espessura da pseudocápsula, que foi menos espessa, principalmente na avaliação feita no setor posterior da cavidade escleral.

Conclusões: todos os parâmetros estudados mostraram que as esferas de silicone rígidas e gelatinosas tiveram boa evolução quando implantadas em cavidades evisceradas de coelhos, com superioridade das esferas gelatinosas sobre as rígidas. Baseados nos bons resultados obtidos, os autores acreditam que as esferas gelatinosas possam ser úteis para a reparação de cavidades anoftálmicas e sugerem que novas pesquisas sejam feitas para confirmar esta hipótese.

Palavras-chave: evisceração, enucleação, cavidade anoftálmica, silicone, biocompatibilidade.



Abstract

ABSTRACT

Introduction: despite the existence of many types of implants for volume replacement in anophthalmic sockets, so far, none can be considered ideal implant, which makes it necessary to continue searching for new solutions.

Purpose: to evaluate the biocompatibility of soft and rigid silicone spheres placed in scleral cavities of eviscerated rabbits, comparing them.

Method: prospective and experimental study using 30 rabbits, specie *Oryctolagus cuniculus*, underwent evisceration surgery of the right eye and replacement of orbital volume with spheres composed by gelatinous (soft) or rigid silicone. The animals were sacrificed seven, 30 and 90 days after surgery. The studies parameters were: daily clinical assessment, ultrasound of the orbit 15 days after the procedure, histological analysis of the orbital contents seven, 30 and 90 days after surgery and morphometric evaluation in the pseudocapsule in all the animals. Statistical analysis for comparison between and within groups was done.

Results: during follow-up occurred three spheres extrusions, two of which belonging to the group of rigid spheres and one from gelatinous sphere group. Ultrasound examination showed no inflammation or collections around spheres and good integration with the orbital tissues. The histological evaluation proved both materials had similar response and the morphometric evaluation showed thinner pseudocapsule formation around the gelatinous sphere, mainly in the posterior scleral region.

Conclusions: All the parameters evaluated showed both spheres had good tecidual integration to the orbital tissue in rabbit eviscerated eyes. Therefore, gelatinous silicone sphere induced thinner psedudocapsule formation. The authors agree the gelatinous silicone spheres might be helpful to be used in the anophthalmic cavity reconstruction and suggest new research have to be done to prove it.

Keywords: evisceration, enucleation, anophthalmic socket, silicone biocompatibility.

Sumário

SUMÁRIO

	Página
Resumo	
Abstract	
1 Introdução	21
1.1 A órbita e a necessidade de reconstrução da cavidade anoftálmica	21
1.2 Volume orbitário e a reparação após enucleação ou evisceração	24
1.3 A busca pelo implante ideal e os biomateriais	25
1.4 O silicone	30
1.5 Justificativa da proposta de estudo	32
2 Objetivo	34
3 Material e Método	36
3.1 Delineamento experimental	36
3.2 Aprovação pelo Comitê de Ética	36
3.3 Animais e grupos experimentais	36
3.4 Momentos experimentais	36
3.5 Variáveis estudadas	37
3.6 Técnica ultrassonográfica empregada	38
3.7 Preparo do material para análise histológica e detalhamento do exame morfométrico	39
3.8 Sequência dos tempos experimentais	41
3.9 Implantes que foram utilizados	42
3.10 Técnica cirúrgica empregada para o implante da esfera e detalhamento da sequência experimental	44
3.11 Manutenção dos animais	48
3.12 Eutanásia	48
3.13 Avaliação Estatística	49
4 Resultados	51
4.1 Exame clínico	51
4.2 Avaliação ultrassonográfica	52
4.3 Descrição dos exames ultrassonográficos	52
4.4 Avaliação histológica	57

4.5	Observações histológicas feitas em M1	57
4.6	Observações histológicas feitas em M2	61
4.7	Observações histológicas feitas em M3	64
4.8	Avaliação estatística	66
5	Discussão	69
5.1	Escolha do tema e modelo experimental	69
5.2	Esferas de silicone	70
5.3	Avaliação clínica dos animais e análise da Biocompatibilidade	71
5.4	Avaliação do exame de Ultrassonografia	72
5.5	Técnica cirúrgica	73
5.6	Preparo do material para análise histológica	74
5.7	Avaliação da resposta cicatricial ao redor das esferas	74
5.8	Análise do exame morfométrico da pseudocápsula formada Ao redor das esferas	76
5.9	Considerações finais e perspectivas	77
6	Conclusão	80
7	Referências	82
8	Apêndice	92
8.1.	Comitê de Ética	92

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Imagem obtida de crânio seco humano, com detalhe da cavidade óssea orbitária.	21
2. Representação esquemática do conteúdo da cavidade orbitária, mostrando os músculos oculares extrínsecos, gordura e bulbo ocular (TYERS, 2001).	22
3. Preparação anatômica do conteúdo da cavidade orbitária, realçando os músculos oculares extrínsecos, nervos, artérias e veias, em corte coronal (ZIDE, 2006).	22
4. Figura esquemática do globo ocular envoltos de musculatura ocular extrínseca em cavidade óssea (TYERS, 2001).	23
5. Vista transversa do olho e do nervo óptico, mostrando o volume do globo ocular e sua relação com o volume orbitário (Rootman <i>et al.</i> , 1995).	25
6. Figura contendo uma esfera esquemática, com a identificação das regiões padronizadas para análise na lâmina histológica.	40
7. a) Demonstração da região de análise da espessura da pseudocápsula, realizada na coloração de Hematoxilina-Eosina, em três locais (L1, L2 e L3) de cada uma das regiões apontadas na Figura 6, usando a lupa e no aumento 40 X.	41
8. Apresentação das embalagens lacradas das esferas utilizadas no experimento. À esquerda esfera de silicone no estado gelatinoso (gel de silicone). À direita esfera de silicone no estado rígido (Elastômero macio) (Silimed, Ind. e Com.-Brasil).	43
9. Esferas de silicone (A) gelatinosa e (B) rígida	44
10. Figura 10a e 10b Sequência do procedimento cirúrgico de evisceração realizada nos coelhos seguida de colocação das esferas de silicone. A) Posicionamento do coelho em decúbito lateral esquerdo, de forma que o olho direito permanecesse voltado para cima. B) Antissepsia usando PVPI. C) Instilação de colírio anestésico. D) Colocação de Blefostato Barraquer. E) Início da paracentese com bisturi lâmina 11. F) Paracentese com bisturi lâmina 11. G) Abertura córneo-escleral com tesoura tipo Westcott. H) Separação da córnea e esclera. I) Evisceração com remoção das estruturas intraoculares. J) Retirada da córnea e identificação do vítreo. K) Remoção de tecido uveal. L) Limpeza da capa escleral, usando cotonete. M) Apresentação da capa escleral após remoção das estruturas intraoculares. N) Sutura escleral e conjuntival com fio Mersilene 6-0. O) Aspecto final do fim do procedimento.	46-47
11. Documentação fotográfica dos medicamentos usados no procedimento cirúrgico.	48

12.	Aspecto clínico do olho direito eviscerado do coelho e com a esfera de silicone em M3. Observar a boa manutenção do volume e a ausência de sinais inflamatórios	52
13.	Imagem ultrassonográfica do olho normal de um coelho (olho esquerdo) em corte sagital, mostrando o olho do coelho de formato arredondado, contendo o cristalino normal na região médio-anterior do olho. O vítreo e o humor aquoso são vistos como imagem anecóica.	53
14.	Imagem ultrassonográfica em corte sagital de cavidade anoftálmica contendo esfera de silicone gelatinosa, mostrando espessamento ecogênico da parede anterior da esfera.	54
15.	Imagem ultrassonográfica mostrando ecogenicidade da esfera em corte coronal (a) e transversal (b)	54
16.	Imagem ultrassonográfica do olho direito de um coelho, mostrando a imagem da esfera rígida com 10 mm, que foi identificado devido a um ponto ecogênico. Esta esfera de silicone, no caso, rígida, apresenta reverberação posterior. Corte Sagital.	55
17.	Fotomicrografia no 7º dia após cirurgia de evisceração. Observa-se grande quantidade de hemácias e fibroblastos jovens característicos de regeneração do tecido conjuntivo (Hematoxilina-eosina, 40X).	57
18.	Fotomicrografia no 7º dia após cirurgia de evisceração. Presença de grande quantidade de hemácias, fibroblastos jovens e acúmulo de células contendo núcleos picnóticos, semelhantes a leucócitos. (Hematoxilina-eosina, 40X).	58
19.	Presença de grande quantidade de hemácias e células inflamatórias, como os leucócitos, em especial neutrófilos (Hematoxilina-Eosina, 40X).	59
20.	Eventos demonstrando reparação tecidual e inflamação aguda (Hematoxilina-Eosina, 40X).	59
21.	Presença de hemácias e processo inflamatório, dispostas de forma circunferencial e circunscrevendo a esclera pela sua face interna (Hematoxilina-eosina, 40X).	60
22.	Presença de hemácias e processo inflamatório semelhantes ao observado na figura anterior (Hematoxilina-eosina, 40X).	60
23.	Aglomerado de células inflamatórias e hemácias, em meio à rede de fibrina (Hematoxilina-eosina, 40X).	61
24.	Presença de neovasos, com hemácias no seu interior (Hematoxilina-Eosina, 40X).	62

25. Fotomicrografia no 30º dia após cirurgia de evisceração. A pseudocápsula é composta por acúmulo de fibroblastos e células inflamatórias e se dispõe de maneira circular na face interna da esclera (Hematoxilina-eosina, 40X). 63
26. Pseudocápsula mais organizada, composta basicamente por fibroblastos maduros (Hematoxilina eosina, 40X). 63
27. Fotomicrografia no 90º dia após cirurgia de evisceração e colocação de esfera de silicone rígida. Pseudocápsula organizada, contendo poucas células e fibroblastos e pequenos vasos, denotando inflamação crônica. (Hematoxilina-eosina, 40X). 64
28. Fotomicrografia no 90º dia após cirurgia de evisceração, mostrando aspecto de pseudocápsula composta por tecido conjuntivo maduro, com escassa reação inflamatória (Hematoxilina-eosina, 40X). 65

LISTA DE QUADROS

1.	Distribuição dos animais nos grupos e respectivos Momentos (M) experimentais – UNESP, 2011.	37
2.	Resultado dos exames ultrassonográficos, quanto ao posicionamento da esfera na órbita (migração das esferas) e pesquisa da presença de coleção ou processos inflamatórios ao redor ou dentro das esferas.	56
3.	Quadro representando a espessura da pseudocápsula que se formou ao redor das esferas.	66

LISTA DE ORGANOGRAMA

Organograma I: Apresentação sumarizada da metodologia empregada no estudo.	42
---	----

Introdução

1- INTRODUÇÃO

1.1 A órbita e a necessidade de reconstrução da cavidade anoftálmica

O bulbo ocular apresenta formato esferóide, estando contido dentro de uma cavidade óssea – a órbita, que tem a função de proteger o mesmo (Figura 1).



Figura 1: Imagem obtida de crânio seco humano, com detalhe da cavidade óssea orbitária.

O conteúdo da cavidade orbitária está representado pelos músculos oculares extrínsecos, vasos, nervos, gordura e pelo bulbo ocular (DI DIO, 2002; KIERSZENBAUM, 2004) (Figuras 2 e 3).

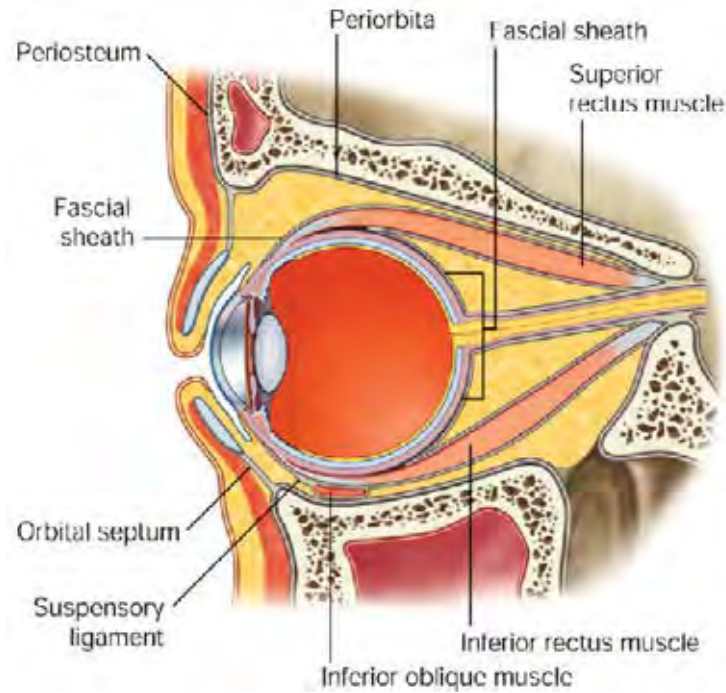


Figura 2: Representação esquemática do conteúdo da cavidade orbitária, mostrando os músculos oculares extrínsecos, gordura e bulbo ocular (TYERS, 2001).

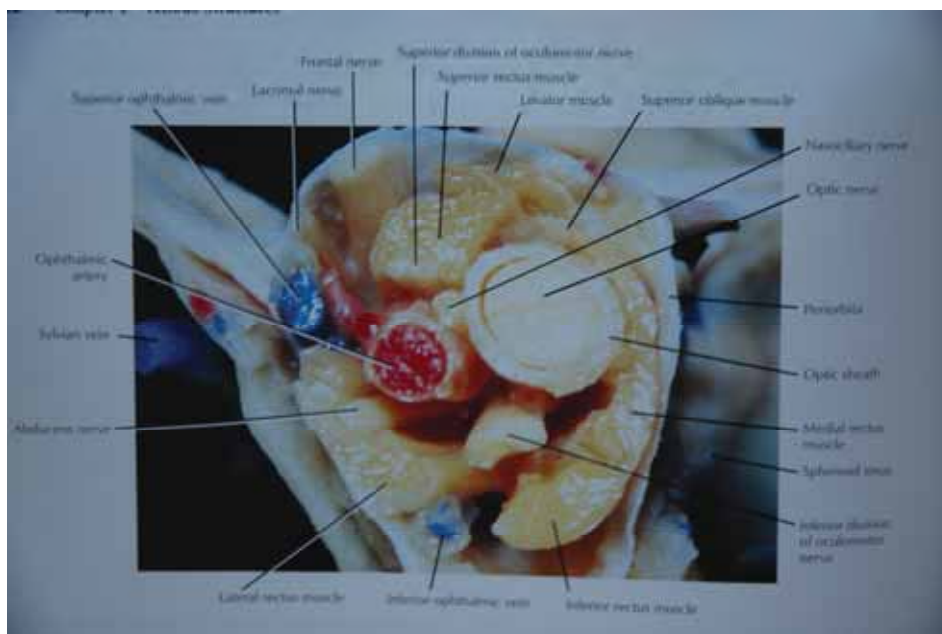


Figura 3: Preparação anatômica do conteúdo da cavidade orbitária, realçando os músculos oculares extrínsecos, nervos, artérias e veias, em corte coronal (ZIDE, 2006).

A ausência do olho ou de seu conteúdo modificam a anatomia e a fisiologia da órbita. Assim como os anexos, o bulbo está diretamente relacionado com o volume orbitário (Figura 4).

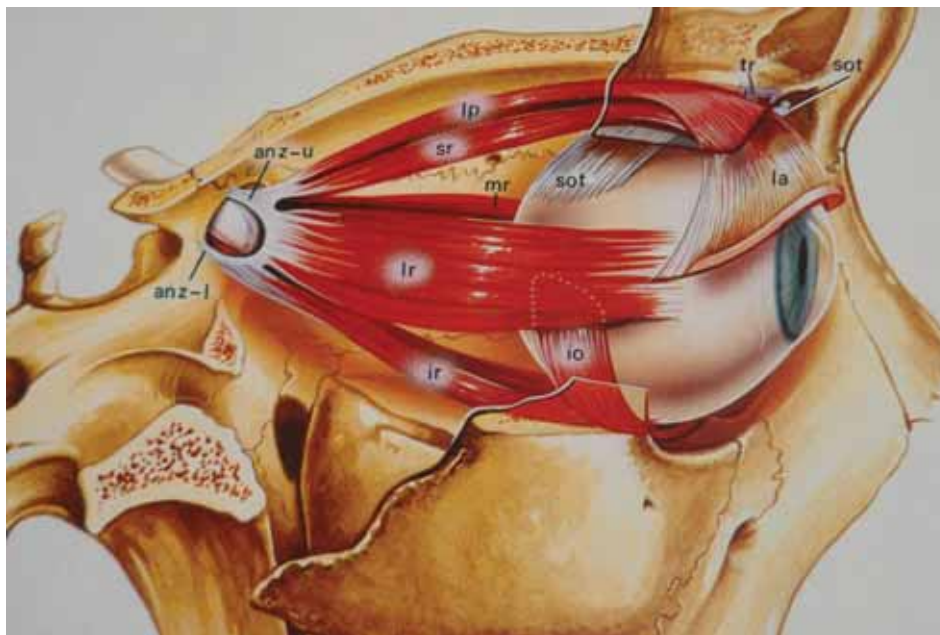


Figura 4: Figura esquemática do globo ocular envoltos de musculatura ocular extrínseca em cavidade óssea (TYERS, 2001).

Cavidade anoftálmica é definida como ausência de globo ocular na órbita que pode ocorrer por um defeito congênito ou algumas situações especiais podem levar a sua perda.

Cavidade anoftálmica congênita é decorrente de um defeito precoce no desenvolvimento da vesícula óptica. A ausência completa de tecido ocular, definida como anoftalmia congênita verdadeira, é bastante rara, sendo mais comum a microftalmia na qual existe um globo ocular hipodesenvolvido ou pelo menos algum remanescente ocular que pode ser detectado radiologicamente (CHEN & HEHER, 2004).

Cavidade anoftálmica adquirida significa que o olho está ausente por uma condição que foi adquirida, decorrente de algumas situações que podem levar a sua perda. Algumas doenças oftalmológicas, como o glaucoma, o trauma ocular, a endoftalmite, ou a condição de olho cego e doloroso (*Phthisis bulbi*) podem levar a necessidade remoção cirúrgica do olho como um todo (enucleação) ou de seu conteúdo (evisceração), no sentido de minimizar o sofrimento que possam causar (MIGLIORI, 2002; SU&YEN, 2004).

Tanto a enucleação, quanto à evisceração, podem ocasionar déficit de volume orbitário, havendo necessidade de reposição do mesmo para que se tenha aspecto estético aceitável, o que já é conhecido e feito há muitos anos (MULES *apud* Tonkelaar *et al.*, 1991, MIGLIORI, 2002; PERRY *et al.*, 2009).

Quando se trata da enucleação, a perda de volume orbitário parece ser mais acentuada, além de que o trauma para as estruturas orbitárias é maior. Desta forma, muitos cirurgiões preferem eviscerar ao invés de enuclear, inclusive porque a irrigação sanguínea que fica ainda mais deficiente nas enucleações parece acentuar a atrofia da gordura orbitária, o que tem reflexos na perda de volume orbitário. Este é um conceito clássico. Entretanto, estudo comparativo entre o aspecto morfológico da gordura orbitária de coelhos submetidos à enucleação ou a evisceração, apontaram que a contração cicatricial da gordura orbitária é semelhante com as duas técnicas (SHIRATORI *et al.*, 2005).

É certo que a reposição de volume no tratamento da cavidade orbitária é importante, pois isto minimiza a contração dos tecidos e a mobilização de estruturas que podem levar, inclusive, a alterações secundárias para a sustentação das pálpebras.

Na ausência da reposição de volume orbitário, a cavidade anoftálmica sofre transformações importantes como a contratura dos músculos extrínsecos, a diminuição dos fórnices conjuntivais e reposicionamento da gordura orbitária, resultando frequentemente em enoftalmia, arqueamento da pálpebra inferior e blefaroptose (SOARES *et al.*, 1997).

A devolução do volume permite melhor adaptação de próteses externas, o que vai garantir melhoria da estética facial (KARESH, 1998).

1.2 Volume orbitário e a reparação após enucleação ou evisceração

O olho humano apresenta formato esferóide, com volume de $7 \pm 2 \text{ cm}^3$ e diâmetro de 24 mm. Ele se encontra dentro da cavidade orbitária que possui volume total de $32 \pm 2 \text{ cm}^3$, composto pelo volume do bulbo ocular e pelos músculos intrínsecos, vasos sanguíneos, nervos e gordura (HABAL, 1987) (Figura 5).

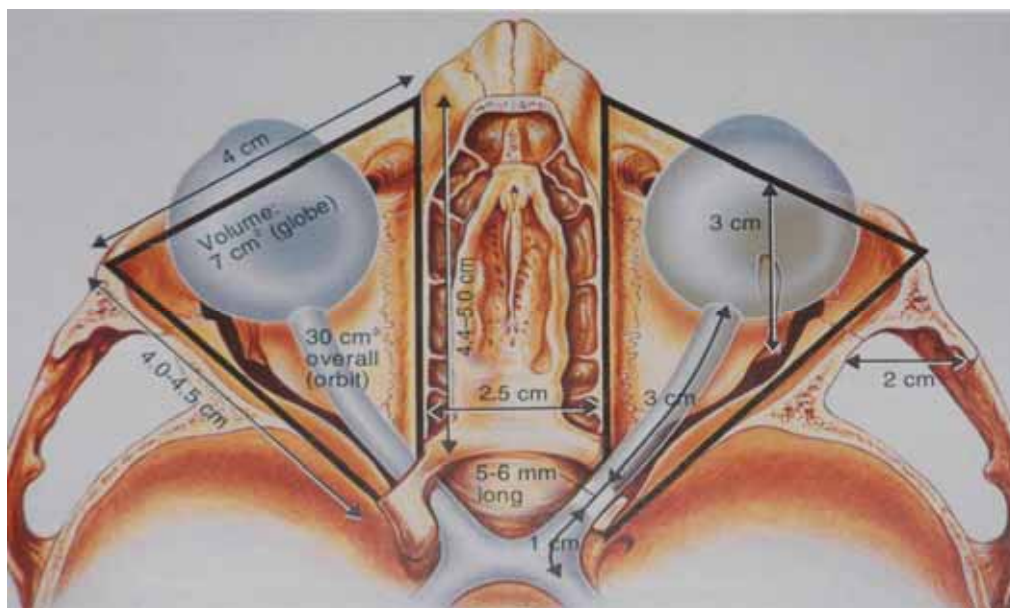


Figura 5: Vista transversa do olho e do nervo óptico, mostrando o volume do globo ocular e sua relação com o volume orbitário (Rootman *et al.*, 1995).

A devolução de volume para a cavidade orbitária pode ser feita no mesmo ato em que ocorre a perda (primária) ou feita tardiamente (secundária). Quando a devolução de volume é primária, 90 % das pessoas tratadas apresentam bons resultados (HABAL, 1987) e este tipo de reconstrução deve sempre ser feita, mesmo no caso de perda do olho por tumores (KRASTINOVA *et al.*, 2000).

De qualquer maneira, é importante frisar que a estética fica comprometida após a evisceração ou a enucleação, sendo muito necessária a reposição do volume perdido. A devolução do volume orbitário tem como objetivo principal evitar o prejuízo estético para o paciente (SU & YEN, 2004), assim como recompor a fisiologia da cavidade anoftálmica.

1.3 A busca pelo implante ideal e os biomateriais

Biomateriais são os vários materiais, naturais ou sintéticos, utilizados na confecção de implantes, para reparar estruturas lesadas ou auxiliar na sua recuperação, preservando ao mesmo tempo, a estética (PARK, 1979).

O implante orbitário ideal seria aquele que fosse biocompatível, tivesse baixos índices de exposição, extrusão, infecção ou migração, permitindo uma reposição adequada do volume orbitário, proporcionando uma boa mobilidade da prótese externa e que fosse bem tolerado e de baixo custo (HORNBLASS *et al.*, 1995).

O volume perdido pode ser devolvido para a cavidade orbitária usando materiais autólogos, heterólogos ou aloplásticos. Cada um desses materiais apresentam vantagens e desvantagens quanto ao seu uso.

Os tecidos autólogos, por serem obtidos do próprio hospedeiro, não necessitam de triagem especial. Porém, se faz necessário um segundo sítio cirúrgico, com possibilidade de aumento do tempo operatório, com todas as suas implicações. Os tecidos que poderiam ser usados para este fim seriam: cartilagem, osso, fáscia lata, gordura (GOUGELMAN, 1976).

Os materiais homólogos necessitam de uma triagem minuciosa, a fim de que não ocorra a transmissão de doenças pelo uso dos mesmos, como a hepatite e a Síndrome da imunodeficiência adquirida.

Assim como os materiais homólogos, os materiais heterólogos dispensam a necessidade de um segundo sítio operatório. Entretanto, para ambos há que se prever a utilização de métodos de triagem de doadores, meios de conservação e preservação, acondicionamento e transportes adequados (BEAVER *et al.*, 1996).

Os materiais aloplásticos são os mais utilizados para a reparação da cavidade anoftálmica, devido a sua fácil obtenção, melhor programação e reprodutibilidade dos resultados, ausência de risco de transmissão de doenças, necessidade de apenas um procedimento operatório, além do que dispensam a preservação ou a conservação dos implantes, havendo possibilidade de desenho e produção personalizada e rapidez de fabricação.

Comparado ao material autólogo, o material aloplástico tem como desvantagem a possibilidade de rejeição e muitas vezes custo de produção elevado.

O fator custo é muito importante, devendo os novos implantes serem de manufatura simples e produção compatível com preços de mercado, possibilitando atender a demanda do Sistema Único de Saúde.

Os implantes aloplásticos têm sido utilizados para reposição de volume nas cavidades anoftálmicas há muitos anos. Um breve histórico, baseado em Tonkelaar *et al.* (1991) merece ser citado. Os implantes orbitários foram descritos no início do século XX, na época confeccionados em um tipo de vidro muito fino. As esferas de vidro foram sugeridas para uso após evisceração e, em seguida, após as enucleações. Na fase inicial, o vidro foi o principal material utilizado, tendo sido empregado até os anos 40 do século passado (PERRY, 1990), época em que a fábrica de esferas de vidro foi destruída na Grande Guerra. A falta desta fábrica fez com que os profissionais passassem a usar esferas confeccionadas usando materiais autólogos, dentre as quais as bolas de ossos e cartilagem (SU & YEN, 2004).

Por volta do ano de 1940, surgiram novos materiais, como o silicone e o polimetilmetacrilato (PMMA) que, por serem leves, inertes, não induzirem rejeição e não interagirem com os tecidos receptores, foram chamados de implantes não integrados.

O uso do PMMA se difundiu pelo mundo todo, podendo-se afirmar que este é o material mais utilizado até os dias de hoje, para a reparação de volume nas cavidades anoftálmicas.

O que era considerado uma característica positiva, a não integração com os tecidos do hospedeiro, passou a ser considerado como o responsável pela complicação mais temida pelos cirurgiões: a extrusão da prótese, já que o implante permanece sempre como algo que não se integra com o hospedeiro.

No ano de 1987, surge uma mudança de conceito sobre os implantes orbitários, quando Perry sugeriu o uso dos implantes porosos, confeccionados de hidroxiapatita coralina ou hidroxiapatita natural (PERRY, 1990; SIREN *et al.*, 1998).

Os implantes integrados possuem poros que permitem o crescimento fibrovascular no seu interior, havendo uma integração implante-hospedeiro. A hidroxiapatita natural é derivada do exoesqueleto de coral marinho, considerada como material biocompatível com o tecido orbital (ROSEN, 1991; MASSRY *et al.*, 1995, SIREN *et al.*, 1998; GEORGINALIS *et al.*, 1998, 1999; PERRY *et al.*, 2002). Entretanto, como a hidroxiapatita obtida da natureza é uma matéria prima que pode se extinguir e com dificuldade de manufatura, o preço das mesmas ficou muito alto, o que fez surgir as hidroxiapatitas sintéticas, que tem por base em sua fórmula química também o carbonato de cálcio e que demonstravam a mesma resposta fibrovascular, quando comparadas com a hidroxiapatita natural (CONSTANTINO *et al.*, 1992; JORDAN *et al.*, 2000a; SCHELLINI *et al.*, 2003; VITTORINO *et al.*, 2007).

Os implantes integrados surgiram como forte apelo para a melhora da mobilidade da prótese externa (LIN *et al.*, 2002). Estes implantes recebem a colonização dos tecidos do hospedeiro e podem ser perfurados, com acoplagem de parafuso tipo macho-fêmea que fixaria, através do sistema de pino, o implante presente na cavidade orbitária com a prótese externa, permitindo a transmissão dos movimentos dos músculos extrínsecos para o implante (PERRY, 1990; ASHWORTH *et al.*, 1998;).

Além da melhor motilidade, a presença de tecido fibrovascular no interior dos implantes porosos possibilitaria uma maior retenção do implante a longo prazo. A adaptação do pino seria feita através de um segundo procedimento, a ser feito alguns meses após a implantação ou, de acordo com relatos mais recentes, no mesmo ato cirúrgico (ANDERSON *et al.*, 2002; THAKKER *et al.*, 2004).

A possibilidade da colocação de pinos no implante, vista na época como uma vantagem a mais para permitir uma maior mobilidade da prótese (HORNBLASS *et al.*, 1995; GUILLINTA *et al.*, 2003), muito rapidamente foi associada com inúmeras complicações deles decorrentes, como infecção, inflamação crônica e eventual extrusão do pino (EDELSTEIN *et al.*, 1997; DOLPHIN, 1998; JORDAN *et al.*, 2006). Além das complicações não se observou melhora expressiva da mobilidade da prótese externa através do sistema de pino (SOARES *et al.*, 1995), fatos que levaram ao desuso dos mesmos.

Outro material sugerido para a reconstrução da cavidade anoftálmica foi o polietileno poroso (Medpor®, Porex Technologies Corporation, Fairburn, GA, USA) que está disponível para uso em cavidades anoftálmicas desde o ano de 1991 (KARESH & DRESNER, 1994; CHEN *et al.*, 2006). Este material já era utilizado em outras áreas da Medicina e mostrou ser um material inerte e que permanece no local de implantação (GOLDBERG *et al.*, 1994, KARESH, 1998; HSU *et al.*, 2000; JORDAN *et al.*, 2000 a; PERRY *et al.*, 2002; JORDAN *et al.*, 2002; ANDERSON *et al.*, 2002; SCHELLINI *et al.*, 2003; FERRAZ *et al.*, 2006; CUSTER & TRINKAUS, 2007).

A comparação da hidroxiapatita sintética com polietileno poroso mostrou que este último provoca menor reação tecidual, além de sofrer vascularização progressiva e melhor manter o volume implantado, já que a hidroxiapatita pode sofrer uma reação tecidual, com atração de células gigantes que fagocitam partes do material, além de ser possível ocorrer metaplasia óssea após período longo da implantação (RANZANI *et al.*, 1997; SCHELLINI *et al.*, 2003). Portanto, o polietileno mostrou-se superior a hidroxiapatita sintética na reconstrução da cavidade anoftálmica (SCHELLINI *et al.*, 2003).

O polietileno utilizado em cavidade anoftálmica é do tipo sólido. Um tipo de polietileno na forma gelatinosa, chamado de polietileno gel, já foi testado experimentalmente no subcutâneo de animais, revelando a mesma compatibilidade que havia sido observada com o material no estado sólido (SCHELLINI *et al.*, 2002).

Entretanto, avaliando-se todos os relatos feitos sobre implantes integrados e não integrados, é possível observar que ainda se tem a possibilidade de desenvolver complicações, como deiscência de sutura, exposição do implante e extrusão (SCHELLINI *et al.*, 2000).

O risco de haver complicações relacionadas com o material utilizado e a técnica cirúrgica aplicada, como deiscência de suturas e extrusão do implante (RODRIGUES *et al.*, 1997; GUPTA *et al.*, 2001; KLAPPER *et al.*, 2003; SCHELLINI *et al.*, 2007), trauma mecânico da esclera e processos inflamatórios exacerbados (KARESH, 1998; SU & YEN,

2004), também são motivos que tem impulsionado o estudo de novos materiais (FRANÇA *et al.*, 2005; BRITO, 2009).

Apesar de que o apelo para o desenvolvimento de novos materiais estivesse centrado na melhoria da mobilidade da prótese externa, o interesse da comunidade médica parece estar voltado para a redução das complicações. Índices inaceitáveis de deiscências conjuntivo/esclerais e a possibilidade de extrusão dos implantes levam a situações absolutamente constrangedoras para os oftalmologistas e sofrimento extra para o paciente que já perdeu a visão e o olho.

É muito necessário conhecer e contornar fatores que possam concorrer para a existência das complicações (JORDAN & BROWNSTEIN, 2004; SCHELLINI *et al.*, 2007).

Na Faculdade de Medicina de Botucatu há um grupo de estudos que trabalha com novas propostas para reconstrução de cavidades anoftálmicas e que já testou experimentalmente vários tipos de materiais na cavidade orbitária de animais, visando desenvolver tecnologia nacional, que possa ser utilizada para a reparação da cavidade anoftálmica. Dentre os biomateriais avaliados pode-se citar o polímero vegetal (SCHELLINI *et al.*, 1997), as hidroxiapatitas sintéticas, o polietileno poroso (SCHELLINI *et al.*, 2002; 2003; FERRAZ *et al.*, 2006), a quitosana (BRITO, 2009), o biovidro e a biocerâmica (BRANDÃO, 2010).

Apesar das diversas soluções apontadas pelos pesquisadores, resultados desfavoráveis ainda são muito frequentes com todos os tipos de materiais disponíveis. Pode-se dizer que o implante ideal é aquele que possui integração implante-hospedeiro, com baixo risco de complicações e que estamos longe de conhecê-lo. Até há autores que já consideram melhor utilizar os implantes não integrados, falando que as complicações são menores com os mesmos (NUNERY *et al.*, 1993).

As causas para o desenvolvimento de complicações podem ser inúmeras. Em relação à prótese externa, já se postulou que, tanto a presença, como a ausência da prótese externa poderiam causar alterações na cavidade. O uso da prótese externa pode provocar quadros de conjuntivite crônica, pela própria presença da prótese, conjuntivite alérgica, por substâncias que podem impregnar a superfície da prótese externa e mesmo por produtos que são utilizados para limpeza das mesmas, a exemplo do que ocorre nas conjuntivites relacionadas ao uso de lentes de contato. O aumento de secreção pode predispor a infecções e cicatrizes, resultando em maior contração da cavidade. Também o contato da prótese com o filme lacrimal poderia causar acúmulo de fibrina, resultando em contração da cavidade (HABAL, 1987).

Analisando a dinâmica da órbita e anexos, é fácil verificar que o movimento constante dos músculos extrínsecos e das pálpebras pode fazer com que a prótese externa que é rígida tenha contatos diversos com o implante orbitário. Desta forma, pontos de fragilidade na porção anterior da conjuntiva e esclera podem ocasionar deiscências com exposição do implante, que poderão evoluir para a extrusão do mesmo. Esta é uma hipótese que necessita de confirmação e que foi uma das razões para o desenvolvimento do presente estudo. Ainda teorizando, implantes orbitários que não fossem rígidos poderiam ter melhor contato com a prótese externa, minimizando as complicações.

Esta ideia tem sido perseguida pelo nosso grupo de estudos. Assim, a hidroxiapatita sintética foi testada primeiramente no subcutâneo de cobaias (XAVIER *et al.*, 2002) e também na cavidade orbitária de ratos (RANZANI *et al.*, 1997), com resultados ruins pela grande resposta inflamatória e redução do volume implantado.

O foco passou a ser, então, o polietileno em sua forma em gel, testado primeiramente no subcutâneo de cobaias (SCHELLINI *et al.*, 2008) com bons resultados. As pesquisas passaram ser feitas em cavidades evisceradas de coelhos, quando foram utilizadas esferas de polietileno gel pequenas e que poderiam se hidratar, o que poderia ser outro avanço, já que as dimensões da incisão cirúrgica pela qual seria introduzido o implante poderiam ser menores. Entretanto, as esferas utilizadas eram revestidas por uma membrana semipermeável que permitia a hidratação e o aumento não controlado de volume, prejudicando os resultados, uma vez que o material de volume excessivo extruía espontaneamente, mostrando que o uso de substâncias no estado gel deve levar em consideração o fato de se conhecer o volume final do implante antes de sua utilização (FERRAZ *et al.* 2006).

O presente estudo visa apresentar uma nova proposta, construída com a utilização do silicone no estado gelatinoso e usando o conceito de que a maleabilidade dos implantes de cavidade podem reduzir as complicações.

1.4. O silicone

Conhecido desde o final do século XIX, o silicone foi longamente estudado por Kipping, que alguns chamavam de “pai da química do silicone”. Este autor publicou entre 1989 e 1944 cerca de 54 artigos sobre o silicone para uso médico, quando se tentou utilizá-lo na reconstrução da uretra, com várias aplicações posteriores em cirurgia plástica (GLICENSTEIN, 1993).

Em 1953, Brown *et al.* fizeram um relato preliminar do uso do silicone em cirurgia plástica, apontando várias aplicações para o produto, porém nenhuma delas ligadas a implantes (GLICENSTEIN, 1993).

Por sugestão de Gerow e Cronin, a empresa Dow Corning, iniciou o desenvolvimento dos implantes mamários de silicone. Em 1962, Gerow fez a primeira inclusão de uma bolsa de silicone repleta de soro, sem conseguir bom resultado. Uma semana depois, utilizou implante mamário contendo silicone gel, obtendo sucesso que se manteve por 11 anos (GLICENSTEIN, 1993).

Em 1963, Cronin e Gerow fizeram a primeira apresentação sobre os implantes mamários de silicone e durante os anos que se seguiram foram escritos numerosos artigos que aprovavam seu uso. Os inconvenientes dos primeiros implantes seriam: o tamanho, uma vez que havia a necessidade de ampla abertura para introdução do implante, reação fibrosa aos fixadores de dácron que ligavam a prótese à musculatura peitoral da paciente, as alterações na consistência das mamas, dentre outras (GLICENSTEIN, 1993). Logo surgiram variações desta prótese.

Em 1965, Arion apresentou um modelo de implante inflável, que permitia a inclusão por uma pequena incisão. Na proposta original este implante era colocado vazio e, por um tubo, procedia-se o enchimento com dextran ou polivinilpirrolidona a 40% (GLICENSTEIN, 1993). A prótese era introduzida por incisões pequenas, podendo ser utilizadas as vias peri-areolares, trans-areolares e axilares.

Ashey, em 1969, apresentou outro modelo de prótese, em forma de “Y” e recoberta por uma camada de poliuretano. O autor afirmava que estas modificações permitiriam que todo o tecido vizinho se fixasse à prótese, impedindo a ptose do tecido mamário por sobre o implante (GLICENSTEIN, 1993).

Apesar da ampla aceitação e do grande avanço que estes novos implantes representaram, não tardaram a surgir relatos mostrando complicações. As extrusões eram bastante raras, mas formava-se ao redor do implante uma cápsula fibrosa que, ao contrair, tornava os implantes mamários endurecidos e provocava dobras no implante (LA TRENTA, 1994). Neste período, alguns autores atribuíam ao polietileno propriedades que reduziam a formação de cápsula ao redor dos implantes (HAKELIUS, 1997).

Foram introduzidas modificações que tinham por objetivo reduzir a formação destas cápsulas. Primeiramente os fixadores de dácron foram retirados, depois foram introduzidas modificações na parede dos implantes, a fim de reduzir o vazamento que era observado, e por fim, a própria viscosidade do gel de silicone foi alterada com a mesma

finalidade. O implante que apresentava todas estas modificações foi chamado de “Silastic II” e tinha paredes mais finas que os primeiros implantes e com menor vazamento de silicone gel de seu interior (LA TRENTA, 1994).

Nos dias atuais, o silicone é muito utilizado em cirurgias reparadoras, principalmente como implantes mamários, havendo vários tipos deles, com alterações quanto a forma, consistência e revestimento. Estudo realizado pelo nosso grupo demonstrou que a pseudocápsula ao redor de implantes de silicone no estado gelatinoso, colocados na região dorsal de ratos, pode sofrer redução ainda maior da pseudocápsula com a aplicação de métodos físicos, como o laser de baixa frequência (PALHARES *et al.*, 2007).

No entanto, o uso de silicone no estado gelatinoso nunca foi testado para reparação da cavidade anofálmica.

1.5 Justificativa da proposta do estudo

Todos os implantes disponíveis para preenchimento de cavidades anoftálmicas são de superfície rígida. Os implantes que não são rígidos, a exemplo dos implantes mamários, feitos de silicone no estado gelatinoso e envoltos por uma cápsula, poderiam proporcionar uma interface entre o implante e a prótese externa muito menos traumática, reduzindo o risco da principal e mais temida complicação: a deiscência da conjuntiva e esclera, com exposição, seguida da extrusão do implante. Isto está baseado na hipótese dos autores de que o contato do implante rígido com a prótese externa favoreceria a isquemia tecidual, levando a deiscência e extrusão.

A intenção deste estudo é justamente trabalhar com um implante não rígido, composto por um material mais flexível, “amoldável” à cavidade, mais maleável e adaptável à prótese externa, verificando nesta fase inicial a resposta implante-hospedeiro e a integração tecidual.

Este tipo de implante ainda não foi utilizado em cavidades orbitárias, o que justifica a realização do presente estudo.



Objetivo

2- OBJETIVO

O objetivo deste estudo é demonstrar experimentalmente em coelhos se esferas de silicone no estado gelatinoso podem ser úteis para a reparação de cavidades anoftálmicas, comparando-os com esferas rígidas de silicone por meio de exame clínico, ultrassonográfico, histológico e morfométrico.

Material e Método

3- MATERIAL E MÉTODO

3.1 Delineamento experimental

O presente estudo foi delineado como experimental, prospectivo e aleatorizado. Foi realizado nos Laboratórios Experimentais da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP.

3.2 Aprovação pelo Comitê de Ética

Esse trabalho encontra-se de acordo com os princípios éticos utilizados na experimentação animal, adotados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Botucatu UNESP-São Paulo, tendo sido aprovado para execução em 30 de outubro de 2008 (protocolo número 701).

3.3 Animais e grupos experimentais

Trinta coelhos não isogênicos, espécie *Oryctolagus cuniculus*, provenientes do Biotério Central da UNESP que é um biotério do tipo convencional, localizado no Campus de Botucatu, fizeram parte desta pesquisa. O número de animais foi determinado pelo estudo do tamanho amostral.

Todos os animais foram submetidos à evisceração do olho direito, recebendo, em seguida, esfera de silicone no estado gelatinoso (gel de silicone) ou rígido (elastômero macio).

Os animais foram divididos por sorteio em dois grupos experimentais que diferiam de acordo com o tipo de esfera utilizada, compostos por 15 coelhos cada:

- Grupo I (GI) – animais que tiveram o olho direito eviscerado e receberam esfera de silicone no estado gelatinoso para reposição do volume orbitário.
- Grupo II (GII)– animais que tiveram o olho direito eviscerado e receberam esfera de silicone no estado rígido para reposição do volume orbitário.

Todos os animais que evoluíram para óbito ou apresentaram extrusão durante o período de seguimento foram substituídos, permanecendo o estudo com o mesmo número de coelhos, idealizado no projeto de pesquisa inicial.

3.4 Momentos experimentais

O Quadro I sumariza a distribuição dos animais nos grupos e momentos.

Cinco animais de cada grupo foram sacrificados sequencialmente, nos seguintes momentos experimentais:

- **Momento 1 (M1):** 10 animais, cinco de cada grupo, permaneceram sete dias com as esferas de silicone na cavidade eviscerada após o que, foi realizada a eutanásia.

- **Momento 2 (M2):** 10 animais, cinco de cada grupo, permaneceram 30 dias com as esferas de silicone na cavidade eviscerada após o que, foi realizada a eutanásia.

- **Momento 3 (M3):** 10 animais, cinco de cada grupo, permaneceram 90 dias com as esferas de silicone na cavidade eviscerada após o que, foi realizada a eutanásia.

Portanto, seguindo o que se delineou, a eutanásia dos animais ocorreu sete, 30 e 90 dias após o procedimento cirúrgico, com o intuito de observar a reação tecidual aguda e crônica na interface implante/hospedeiro.

Quadro 1: Distribuição dos animais nos grupos e respectivos Momentos (M) experimentais – UNESP, 2011.

Momentos do sacrifício	M1 (7 dias)	M2 (30 dias)	M3 (90 dias)
GI (Gelatinosas)	5 coelhos	5 coelhos	5 coelhos
GII (Rígidas)	5 coelhos	5 coelhos	5 coelhos

Após a eutanásia, as esferas foram retiradas em conjunto com os tecidos que se encontravam ao redor das mesmas, sendo imediatamente imersas em formalina 10% e preparadas para exame histológico e morfométrico.

3.5 Variáveis estudadas

A biocompatibilidade das esferas de silicone foi estudada por meio de:

Exame Clínico: os animais foram avaliados diariamente, por observação, feita sob luz ambiente. O exame visou avaliar sinais que denotassem alterações comportamentais, sistêmicas ou no sítio operatório. A saúde geral do animal foi estimada pela atividade, apetite e atitude na gaiola. Atenção especial foi dada aos sinais locais na região orbitária direita, avaliando-se a presença de sinais inflamatórios e/ou possível infecção, traduzida por secreção, deiscência de sutura conjuntival ou escleral, ou outros sinais possíveis e presentes na face, além da observação da presença da esfera, deiscências ou sinais de extrusão. Todos os dias, pela manhã, os coelhos foram observados, sendo feita a higiene das suas pálpebras e conjuntiva, utilizando soro fisiológico 0,9% e gaze. Primeiramente removiam-se as secreções que se encontravam acoladas aos pelos, seguida da remoção das secreções do saco conjuntival e das crostas aderidas às margens palpebrais usando cotonetes. Esta tarefa foi realizada pela graduanda que participou da equipe.

Ultra-sonografia: foi realizada nos coelhos dos dois grupos (GII e GIII), aos 15 dias após a colocação das esferas. Este exame teve como objetivo a pesquisa do posicionamento da esfera na órbita (se houve migração ou não), assim como a pesquisa de coleção ou processos inflamatórios ao redor ou dentro das esferas. O exame ultrassonográfico foi feito na cavidade anoftálmica e também no olho normal (contralateral), a fim de se ter um parâmetro de normalidade.

Exame histológico: avaliou-se a reparação tecidual inflamatória (tipo, localização e intensidade da inflamação) encontrada nos tecidos ao redor da esfera, procurando conhecer a sua integração com os tecidos do hospedeiro.

Avaliação quantitativa dos fenômenos observados ao exame histológico (morfometria da celularidade e espessura da pseudocápsula): foram avaliados quantitativamente a espessura e a celularidade da reparação tecidual que ocorreu ao redor da esfera, ou seja, da pseudocápsula.

3.6 Técnica ultrassonográfica empregada

Para realização dos exames, os animais foram contidos apenas fisicamente, em decúbito esternal, sem que houvesse necessidade de anestesia geral. O probe foi colocado sobre a cavidade escleral, após afastar as pálpebras, com aplicação de grande quantidade de substância gel (ULTRA-GEL Multigel Ltda, São Paulo – SP) para melhor contato do transdutor com a área a ser analisada.

Num primeiro momento foi realizado exame ultrassonográfico no bulbo ocular esquerdo, ou seja, no olho normal, nos planos dorsal e sagital (SPAULDING, 2008) para se obter referencial de normalidade. Num segundo momento, efetuou-se o exame da cavidade anoftálmica, onde estava alojada a esfera.

Posteriormente ao exame, as imagens ultrassonográficas foram analisadas segundo a posição da esfera, investigando se havia migração ou presença de coleção líquida ao redor da mesma. Caso houvesse secreção, a quantidade desta foi classificada subjetivamente em graus: grau 0 ausência de líquido, grau + presença discreta, grau ++ presença moderada, grau +++ grande quantidade de líquido. Quanto ao implante observou-se também se havia alteração na imagem do mesmo, comparando-o com imagens ultrassonográficas das esferas que se encontravam fora da cavidade.

O exame ultrassonográfico foi realizado utilizando equipamento ultrassonográfico *Duplex scan* Marca GE, modelo Logic 3-GE Healthcare, São Paulo - SP com transdutor microlinear de 10MHz.

Para a documentação do estudo, as imagens foram gravadas no aparelho de ultrassom e posteriormente armazenadas em disco compacto para análise.

3.7 Preparo do material para análise histológica e detalhamento do exame morfométrico

As esferas envoltas por esclera foram fixadas no formol diluído e tamponado a 10%. Após três dias de fixação, iniciou-se a preparação para o exame histológico.

Foram desidratadas em série crescente de álcoois, distribuídos em seis cubas (80-100%), diafanizadas em três cubas de Xylol, e por fim, em três cubas de parafina (temperatura entre 50 e 60°C), permanecendo por uma hora em cada uma dessas cubas, e, em seguida, processadas no auto-técnico (*Leica TP 1020, Alemanha*).

Em seguida, foram incluídas em blocos de parafina, no inclusor automático (*Leica EG 1160, Alemanha*), cortadas em espessura de quatro μm , para coloração com Hematoxilina-Eosina (HE).

Os melhores cortes foram selecionados e separados. Estes foram colocados em álcool 30%, seguido de banho-maria em temperatura a 50°C para estirar, sendo colocados de dois a quatro cortes em lâminas (*Knittel, Alemanha*), levado a estufa a 60°C, por aproximadamente uma hora para desparafinizar.

As lâminas histológicas destinadas à coloração de Hematoxilina-Eosina foram, finalmente, colocadas no aparelho *Auto-Stainer XL*, para receberem a coloração pela técnica de Hematoxilina (*QEEL - Química especializada Erich Ltda, SP*) e Eosina (*Merck - Alemanha*) (HE), sendo montadas no aparelho *Leica CV 5000* com lamínulas (*Knittel, Alemanha*).

Durante toda a análise histológica e morfométrica, as lâminas permaneceram identificadas com o número do preparo, sem revelação do grupo e nem momento do estudo.

A análise histológica do material foi feita por uma profissional especialista em Patologia Clínica (Noeme Sousa Rocha), sob cegamento, ou seja, o examinador não conhecia o grupo ou momento que estava sendo analisado.

O exame morfométrico foi feito avaliando-se as lâminas histológicas em microscópio *Leica DM LS* acoplado à câmara de vídeo que envia imagens digitais a computador do tipo desktop, dotado de programa de análise de imagens *Image Pro-plus* (*Media Cybernetics, Silver Spring, Maryland- USA*).

As avaliações foram realizadas adotando-se a padronização de análise de cortes em quatro posições: anterior, posterior, três horas e nove horas, conforme a disposição do corte sobre a lâmina histológica (Figura 6).

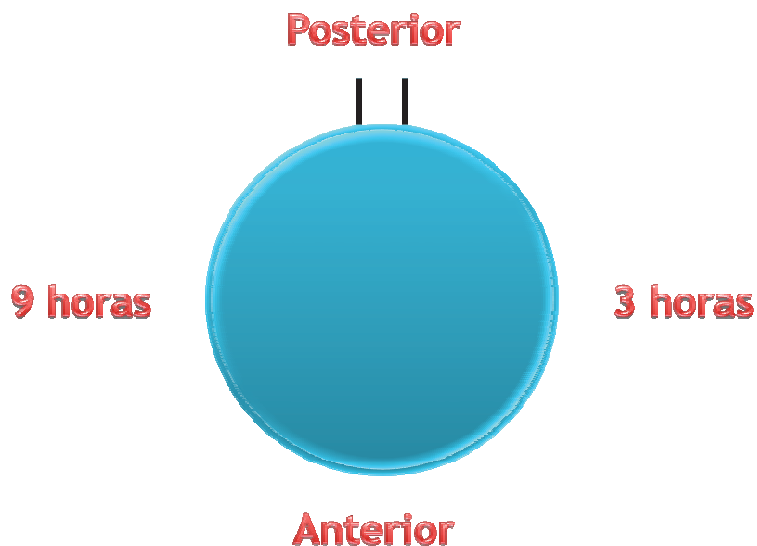


Figura 6: Figura contendo uma esfera esquemática, com a identificação das regiões padronizadas para análise na lâmina histológica.

O exame morfométrico foi feito utilizando as lâminas histológicas coradas pelo método de Hematoxilina Eosina (HE), sendo quantificada a espessura da pseudocápsula formada entre o tecido escleral e a esfera, nos quatro locais referidos na Figura 6, efetuando-se a medição em três pontos diferentes e adjacentes, em cada uma das posições, para cálculo dos valores médios. Os valores obtidos foram transferidos para a planilha Excel e submetidos à análise estatística.

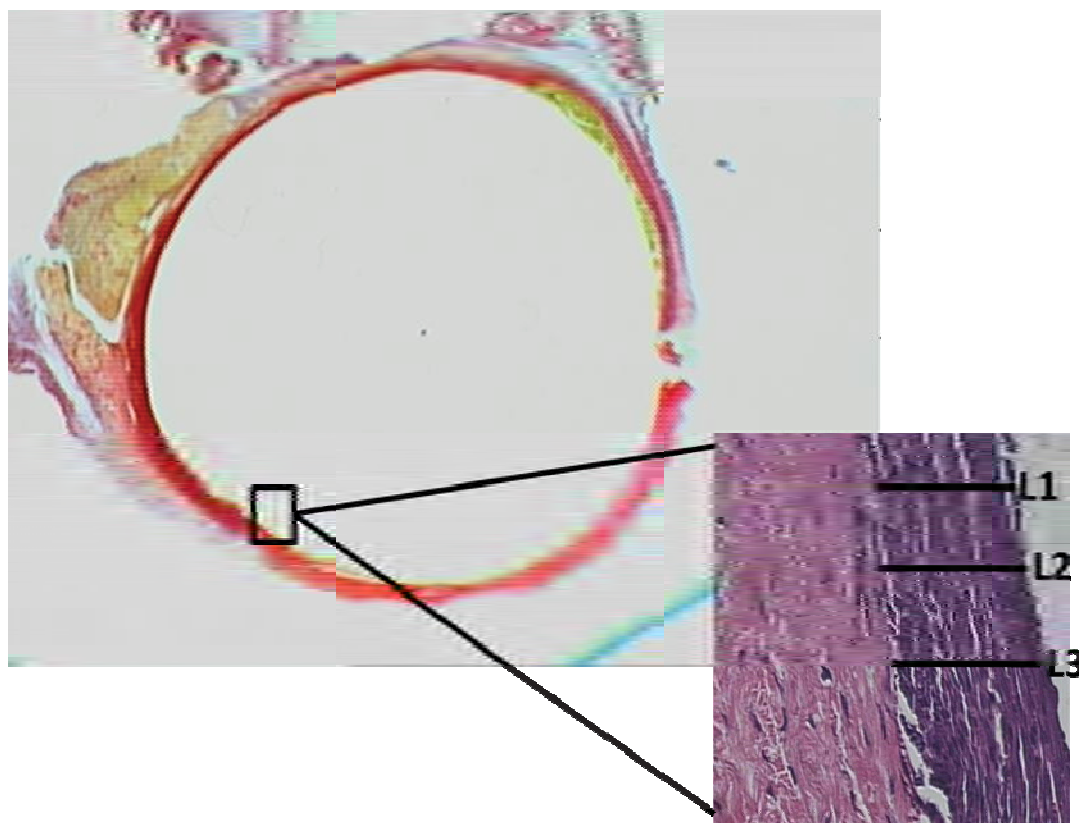


Figura 7: a) Demonstração da região de análise da espessura da pseudocápsula, realizada na coloração de Hematoxilina-Eosina, em três locais (L1, L2 e L3) de cada uma das regiões apontadas na Figura 6, usando a lupa e no aumento 40 X.

3.8 Sequência dos tempos experimentais

Os animais foram transferidos do Biotério Central para as dependências dos Laboratórios Experimentais, local onde foram realizados os procedimentos operatórios e mantidos os animais.

Após a ambientação, os animais foram anestesiados.

Os olhos direitos dos coelhos foram eviscerados, com reposição do volume perdido usando esferas de silicone, gelatinosas e rígidas (Grupo I e II, respectivamente).

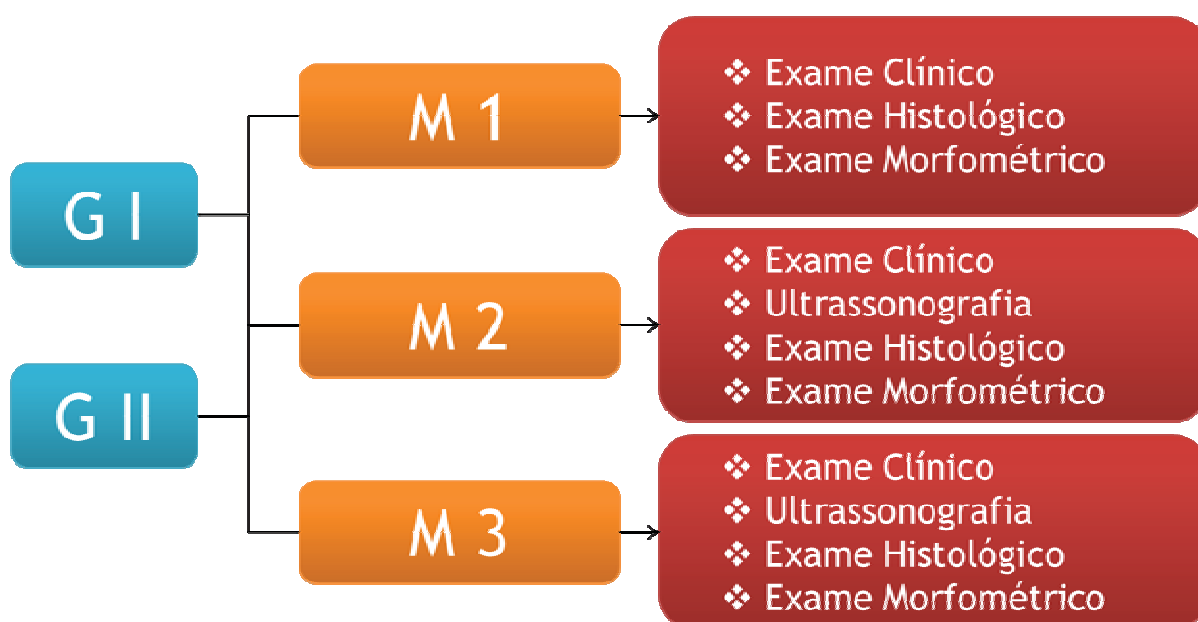
Os coelhos permaneceram em observação segundo o tempo estipulado para o experimento.

Nos animais de M2 e M3, após 15 dias do procedimento cirúrgico, foi realizado exame ultrassonográfico.

Transcorridos os dias previstos, os animais foram anestesiados, coletando-se novamente sangue para os exames bioquímicos, após o que, procedeu-se imediatamente a eutanásia, sendo o conteúdo da órbita removido e preparado para exame morfológico.

O organograma I, apresentado a seguir, sumariza a distribuição dos animais nos grupos, momentos e métodos de avaliação empregados.

Organograma I: Apresentação sumarizada da metodologia empregada no estudo.



3.9 Implantes que foram utilizados

Ambos os implantes utilizados eram de formato esférico e foram confeccionados especialmente para este experimento, tendo sido gratuitamente fornecidos, estéreis e acondicionados individualmente pelo próprio fabricante, a empresa SILIMED Indústria e Comércio Ltda. (Rio de Janeiro, Brasil). Esta empresa tem sua produção regida pelas normas CGMP, ISSO 9001 e EM 46001, que orientam os melhores padrões de tecnologia e qualidade, exigidos para a confecção de implantes mamários que são utilizados em seres humanos.

As esferas de silicone utilizadas foram divididas em 15 esferas de silicone no estado gelatinoso (compostas por gel de silicone, recobertas por uma membrana de superfície lisa também de silicone) e 15 esferas de silicone no estado rígido (compostas por elastômero de silicone). O fabricante providenciou a esterilização dos implantes esféricos, que foi feita por métodos físicos (Figura 8).



Figura 8: Apresentação das embalagens lacradas das esferas utilizadas no experimento. À esquerda esfera de silicone no estado gelatinoso (gel de silicone). À direita esfera de silicone no estado rígido (Elastômero macio) (Silimed, Ind. e Com.- Brasil).

As esferas possuíam 10 mm de diâmetro (Figura 9).

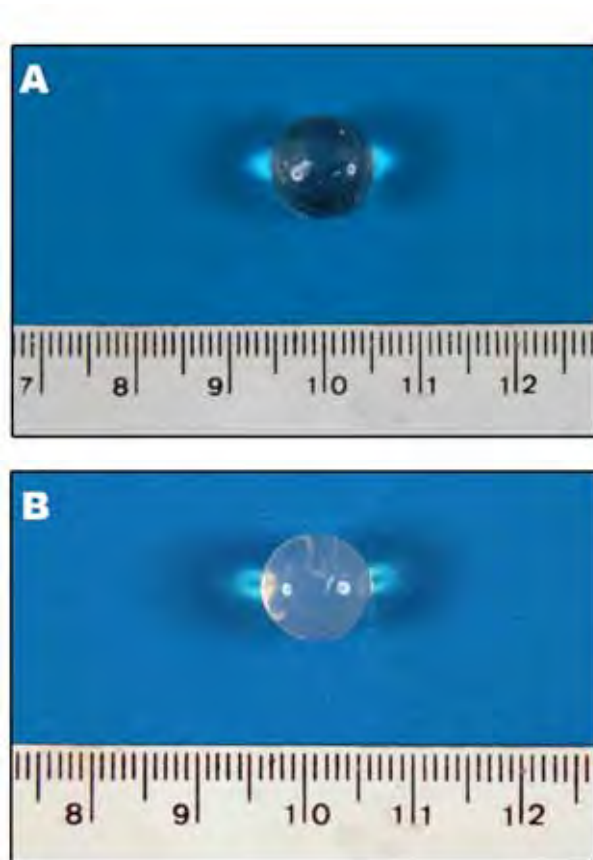


Figura 9: Esferas de silicone (A) gelatinosa e (B) rígida

3.10 Técnica cirúrgica empregada para o implante da esfera e detalhamento da sequência experimental

Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados, no Laboratório Experimental do Departamento de Oftalmologia/Otorrinolaringologia/Cirurgia de Cabeça e Pescoço, da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, todos eles executados pela autora, descritos a seguir e documentados na sequência, na Figura 10.

1. Anestesia geral utilizando Zoletil® 50 com Anasedan, na dose de 15mg/kg, por meio da injeção intra-venosa (veia marginal auricular)
2. Posicionamento do coelho sobre a mesa cirúrgica, em decúbito lateral esquerdo, de forma que o olho direito permanecesse voltado para cima
3. Instilação de 1 gota de colírio anestésico Oxinest (Latinofarma, Brasil) no olho a ser operado, para complementação da analgesia

4. Antissepsia do olho direito com Polivinilpirrolidona-iodo (PVPI) 1%
5. Colocação de campo oftalmológico estéril e uso de blefarostato para abertura palpebral
6. Aplicação peribulbar e subconjuntival de 1,0 ml de cloridrato de lidocaína com epinefrina (Xylestesin 2%) para complementação da analgesia
7. Abertura córneo-escleral com bisturi lâmina 11 (*Two Arrows, fabricação da RPC, Shanghai Med SN, China*), aproximadamente à 1mm do limbo, sendo feita a paracentese, com complementação da abertura de 360°, usando tesoura tipo Westcott, para separação da córnea em relação a esclera, sendo a córnea removida e desprezada
8. Evisceração do conteúdo do olho direito, utilizando cureta pequena e pinça de conjuntiva, com auxílio de uma espátula delicada para separar a esclera do tecido uveal
9. Com o auxílio de compressas de gaze (*Plascalep – Produtos Cirúrgicos Ltda, BA*) e cotonetes (*Johnson & Johnson, SP*), foi feita a remoção dos restos uveais da esclera
10. A hemostasia dos vasos sangrantes foi feita com auxílio de compressas de gaze e cotonetes, colocados na cavidade escleral
11. Após a hemostasia, procedeu-se a colocação dos implantes esféricos de silicone na cavidade escleral
12. Fechamento da incisão por meio de sutura contínua, usando fio inabsorvível trançado 6-0 (*Mersilene 6-0 – Ethicon, Johnson & Johnson, SP*), nos planos da esclera e conjuntiva. Estes fios de sutura foram mantidos por todo o experimento, não tendo sido removidos
13. Instilação de 0,1 ml de solução oftálmica de colírio antibiótico de Ciprofloxacino 0,3% (*Alcon Laboratórios do Brasil, SP*)
14. Os animais receberam antibiótico sistêmico injetável Flotril 10% (*Enrofloxacino 10%- Vitalfarma Ltda, MG*), na dose de 0,025 ml/kg de peso do animal no final do experimento
15. Após 15 dias do procedimento, os animais de M2 e M3 foram submetidos ao exame ultrassonográfico
16. Eutanásia dos animais
17. Remoção do conteúdo orbitário e preparo para o exame histológico e morfométrico

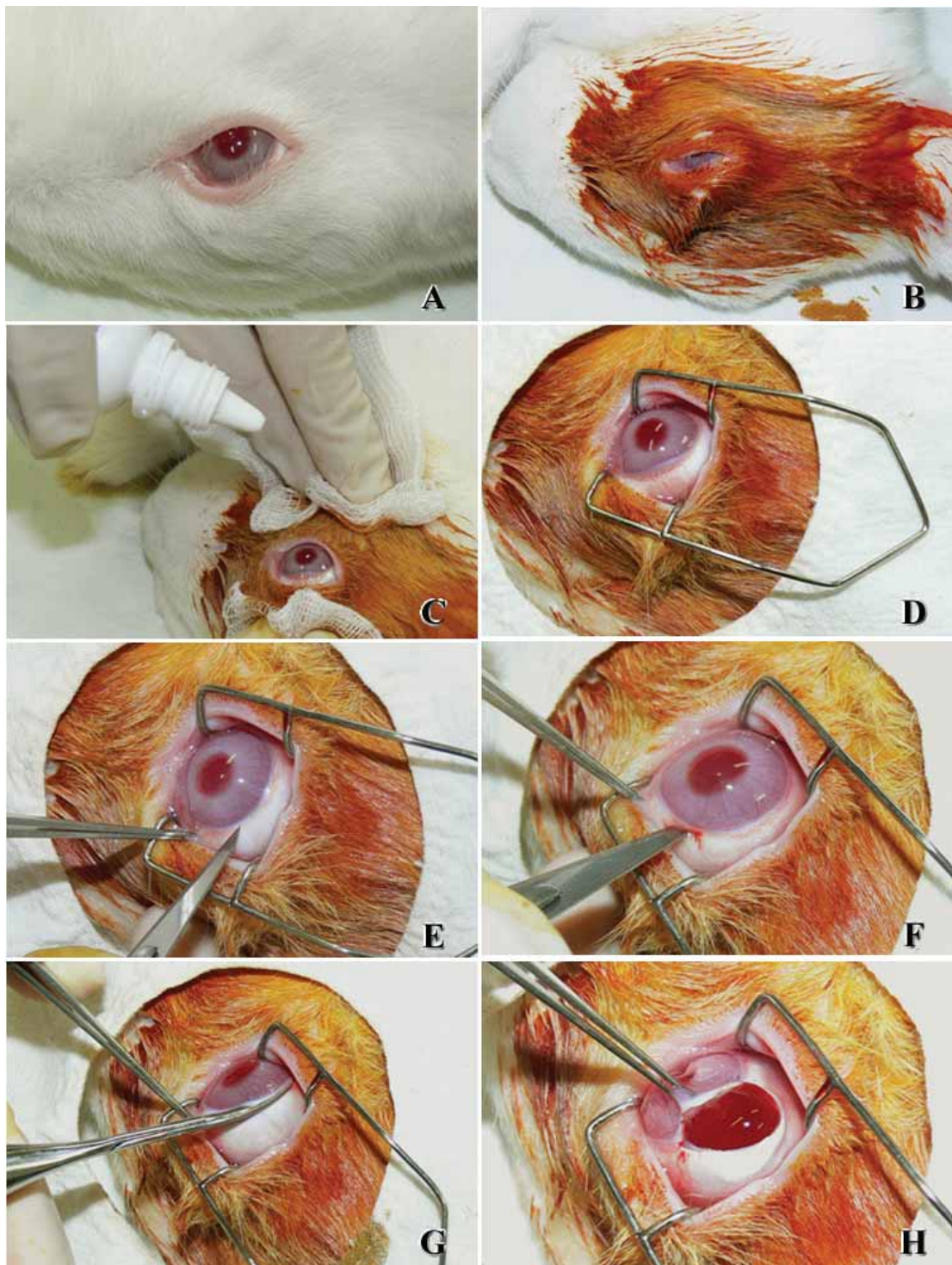


Figura 10a: Sequência do procedimento cirúrgico de evisceração realizada nos coelhos seguida de colocação das esferas de silicone. A) Posicionamento do coelho em decúbito lateral esquerdo, de forma que o olho direito permanecesse voltado para cima. B) Antissepsia usando PVPI. C) Instilação de colírio anestésico. D) Colocação de Blefostato Barraquer. E) Início da paracentese com bisturi lâmina 11. F) Paracentese com bisturi lâmina 11. G) Abertura córneo-escleral com tesoura tipo Westcott. H) Separação da córnea e esclera.

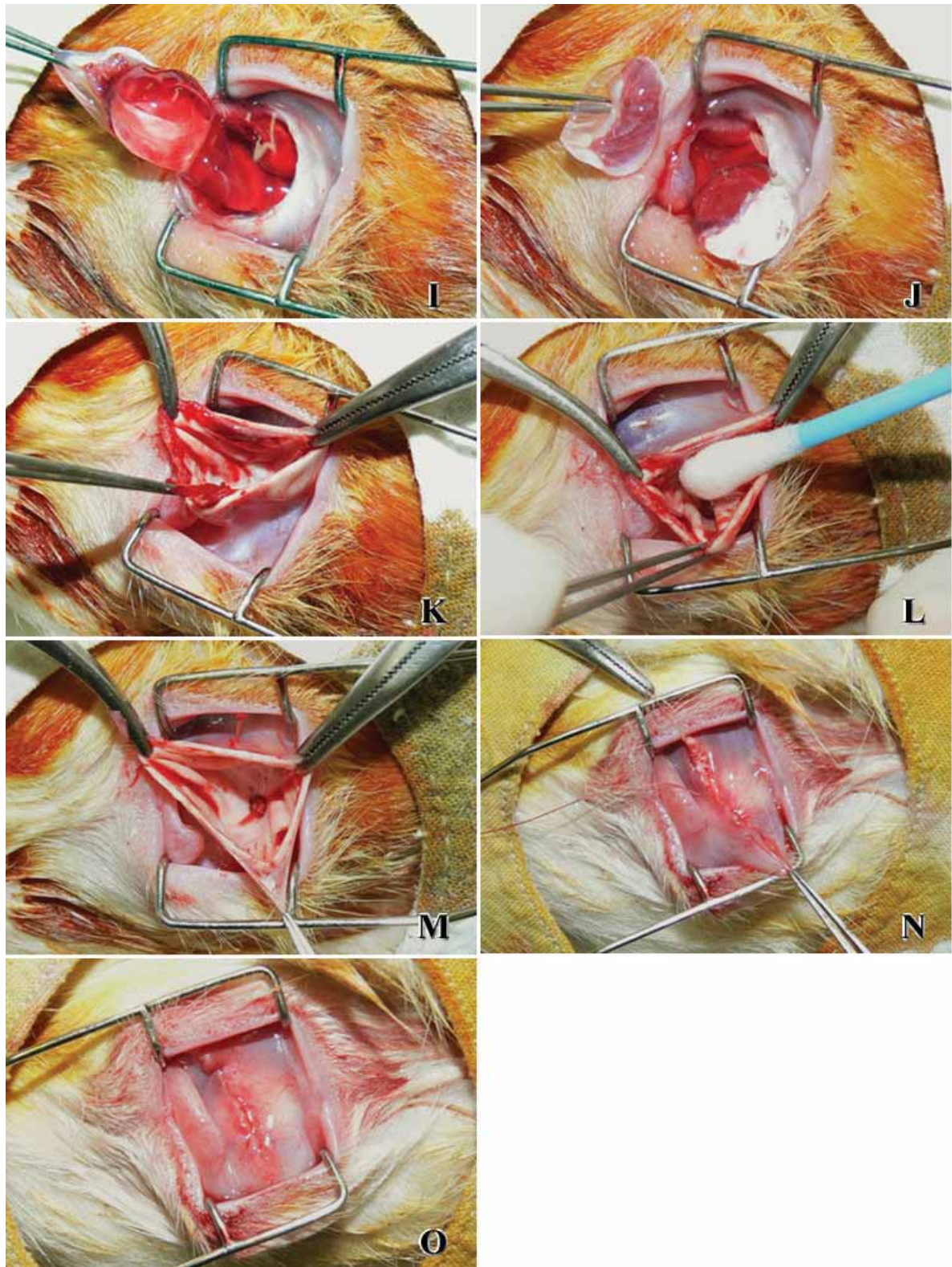


Figura 10b: I) Evisceração com remoção das estruturas intraoculares. J) Retirada da córnea e identificação do vítreo. K) Remoção de tecido uveal. L) Limpeza da capa escleral, usando cotonete. M) Apresentação da capa escleral após remoção das estruturas intraoculares. N) Sutura escleral e conjuntival com fio Mersilene 6-0. O) Aspecto final do fim do procedimento.

A documentação fotográfica dos medicamentos utilizados nos procedimentos encontra-se na Figura 11.



Figura 11: Documentação fotográfica dos medicamentos usados no procedimento cirúrgico.

3.11 Manutenção dos animais

Os animais foram acondicionados em gaiolas individuais, em ambiente com temperatura e iluminação controladas, recebendo alimentação a base de ração para a espécie e água *ad libitum*.

3.12. Eutanásia

Os animais foram sacrificados usando-se dose excessiva de Cetamin 10%, (Cloridrato Cetamina 10%), Rhobifarma Indústria Farmacêutica Ltda, Syntec do Brasil) pela via endovenosa, e em seguida, submetidos à decapitação, após decorrido o tempo idealizado para a pesquisa.

Após o sacrifício, foi removida a esfera juntamente com a capa escleral e o tecido orbitário adjacente, usando tesoura de argola e pinça de conjuntiva, para preparo para o exame histológico e morfométrico.

3.13. Avaliação Estatística

Todos os valores encontrados nos exames morfométricos foram transferidos para planilhas Excel e submetidos à análise estatística, utilizando-se a técnica de análise de variância multivariada para o modelo de medidas repetidas no esquema de dois fatores independentes, complementada com o teste de comparações múltiplas de Bonferrari, considerando o nível de significância 5% ($P < 0,05$) (JOHNSON & WICHERN, 2002).

Resultados

4- RESULTADOS

4.1 Exame Clínico

A maioria dos animais evoluiu bem, alimentando-se normalmente e com atividade normal na gaiola.

Na maioria dos animais houve grande produção de secreção de aspecto mucóide nas cavidades evisceradas, mas sem sinais de inflamação ou infecção.

Todos os animais que evoluíram para óbito ou apresentaram extrusão durante o período de seguimento foram substituídos, permanecendo o estudo com o mesmo número de coelhos idealizados no projeto de pesquisa inicial.

MOMENTO 1

- Não foram observados eventos sistêmicos nos animais deste momento, em ambos os grupos. Os animais permaneceram com boa saúde geral.
- A secreção observada na cavidade era amarelo-esbranquiçada, mucoide e não tinha aspecto purulento que sugerisse infecção. Nenhum animal apresentou deiscência ou extrusão da esfera implantada.

MOMENTO 2

Grupo I

- Ocorreu extrusão de uma esfera gelatinosa no 16º dia de pós-operatório, sendo este coelho substituído por outro.

Grupo II

- Ocorreu extrusão de uma esfera rígida no 12º dia de pós-operatório, sendo este coelho substituído por outro.

MOMENTO 3

Grupo I

- Ocorreu uma deiscência de sutura com evolução para extrusão da esfera gelatinosa no 20º dia após a evisceração e colocação do implante.

Grupo II

- Um animal do Grupo II apresentou hipoatividade no 2º dia de pós-operatório e recusou alimentação, teve diarreia, evoluindo para o óbito no 5º dia de pós-operatório, não tendo sido identificada a causa do óbito.

Este animal foi substituído restituindo-se o número de cinco animais no grupo.

- Não foram observados outros eventos sistêmicos ou locais em qualquer outro animal deste grupo.



Figura 12: Aspecto clínico do olho direito eviscerado do coelho e com a esfera de silicone em M3. Observar a boa manutenção do volume e a ausência de sinais inflamatórios.

4.2 Avaliação Ultrassonográfica

A ultrassonografia foi realizada nos coelhos 15 dias após cirurgia de evisceração e colocação das esferas, incluindo todos os animais dos momentos M2 e M3.

As imagens ultrassonográficas foram avaliadas individualmente. Não foram encontradas imagens sugestivas de coleção purulenta, de deslocamento ou ausência das esferas nas cavidades orbitárias de todos os coelhos analisados. A esfera era vista como uma estrutura anecóica, apenas com um ponto de reverberação na face posterior da mesma.

4.3 Descrição dos exames ultrassonográficos

Foi realizado ultrassom do olho esquerdo dos coelhos para ter como parâmetro o que consideramos como exame de um olho normal (Figura 13).



Figura 13: Imagem ultrassonográfica do olho normal de um coelho (olho esquerdo) em corte sagital, mostrando o olho do coelho de formato arredondado, contendo o cristalino normal na região médio-anterior do olho. O vítreo e o humor aquoso são vistos como imagem anecóica.

Na análise das imagens ultrassonográficas das cavidades anoftálmicas dos coelhos não se detectou deslocamento da esfera cranial/caudal ou látero-lateral em nenhum dos animais analisados.

As esferas apresentaram imagem ecogênica na porção anterior da cavidade escleral (Figura 14) e às vezes, ecogenicidade homogênea e reduzida em toda a superfície correspondente a esfera (Figura 15a e 15b) e uma imagem linear dupla na região posterior da órbita, provavelmente em decorrência de reverberação (Figura 15). A esfera não pode ser delimitada na sua totalidade, já que a superfície posterior da mesma não é detectada com facilidade, o que faz com que seja representada apenas pelo ponto ecogênico, confirmado ser a porção posterior da esfera pelo comprimento antero- posterior que é dado pelo próprio aparelho.

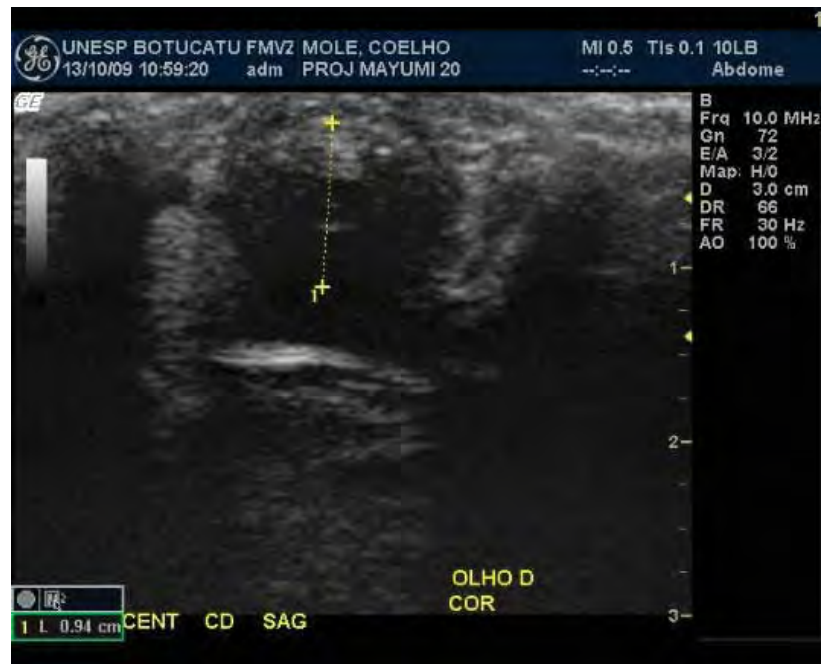


Figura 14: Imagem ultrassonográfica em corte sagital de cavidade anoftálmica contendo esfera de silicone gelatinosa, mostrando espessamento ecogênico da parede anterior da esfera.

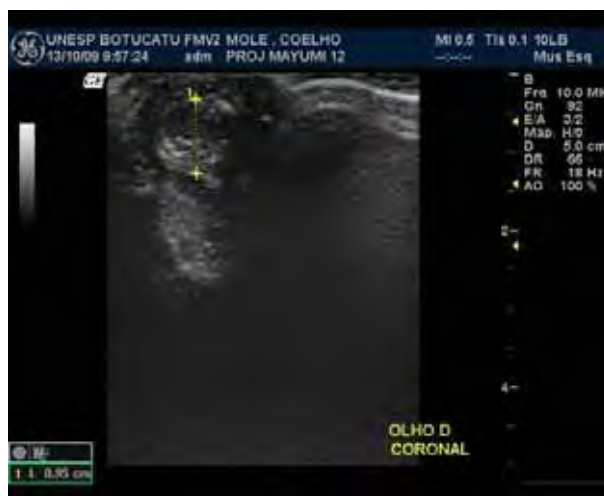


Figura 15a



Figura 15b

Figura 15: Imagem ultrassonográfica mostrando ecogenicidade da esfera em corte coronal (a) e transversal (b)

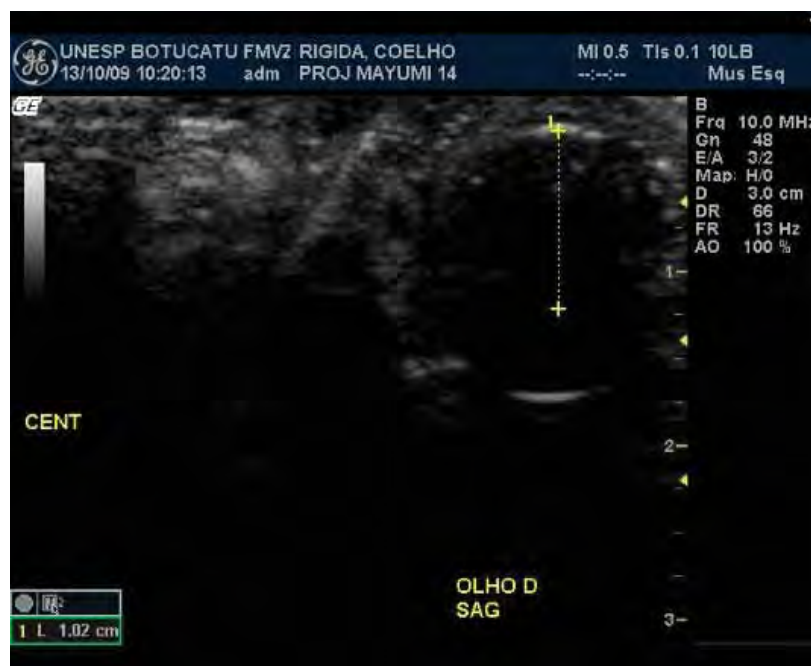


Figura 16: Imagem ultrassonográfica do olho direito de um coelho, mostrando a imagem da esfera rígida com 10 mm, que foi identificado devido a um ponto ecogênico. Esta esfera de silicone, no caso, rígida, apresenta reverberação posterior. Corte Sagital.

Ao redor de algumas esferas se observou conteúdo líquido em pequena e até moderada quantidade, e em alguns, não se detectou a presença de líquido. A quantidade de líquido ao redor das esferas foi quantificada subjetivamente, estando as classificações apresentadas no Quadro 2.

Quadro 2: Resultado dos exames ultrassonográficos, quanto ao posicionamento da esfera na órbita (migração das esferas) e pesquisa da presença de coleção ou processos inflamatórios ao redor ou dentro das esferas.

Animais do GI	Migração da esfera	Coleção líquida /inflamação	Animais do GII	Migração da esfera	Coleção líquida /inflamação
Coelho 21(M2GI)	N	+	Coelho 11(GIIM2)	N	+
Coelho 17(GIM2)	N	+	Coelho 27(GIIM2)	N	++
Coelho 18(GIM2)	N	0	Coelho 13(GIIM2)	N	+
Coelho 19(GIM2)	N	0	Coelho 14(GIIM2)	N	+
Coelho 20(GI-M2)	N	0	Coelho 16(GIIM2)	N	+
Coelho 5 (GIM3)	N	+	Coelho 27 (GIIM3)	N	++
Coelho 6(GIM3)	N	+	Coelho 2 (GIIM3)	N	++
Coelho 7 (GIM3)	N	+	Coelho 3 (GIIM3)	N	+
Coelho 8 (GIM3)	N	++	Coelho 4(GIIM3)	N	0
Coelho 33 (GIM3)	N	+	Coelho 10 (GIIM3)	N	+

N*=não

N*=não

4.4 Avaliação Histológica

Ao exame macroscópico, observou-se que o implante manteve as características anteriores à implantação, inclusive mantendo a forma esférica.

A análise microscópica dos espécimes mostrou que em todos os animais dos dois grupos a evolução temporal dos eventos observados deu-se de maneira similar.

As observações foram feitas em todos os animais que compuseram a amostra e estão descritas separadamente por momento do estudo, destacando as poucas diferenças que distinguiram os dois grupos.

4.5 Observações Histológicas feitas em M1

Grupo I

Após sete dias do procedimento de evisceração com a colocação da esfera de silicone na cavidade anoftálmica (M1), na interface entre a parte interna da esclera e a externa do material estudado, observou-se tecido necrótico e a formação de tecido regenerativo, composto por edema, frouxa rede de fibrina e por grande quantidade de células alongadas, com formato fusiforme, contendo núcleo arredondado e longos processos citoplasmáticos, compatível com a morfologia de fibroblastos jovens (Figura 17 e 18).

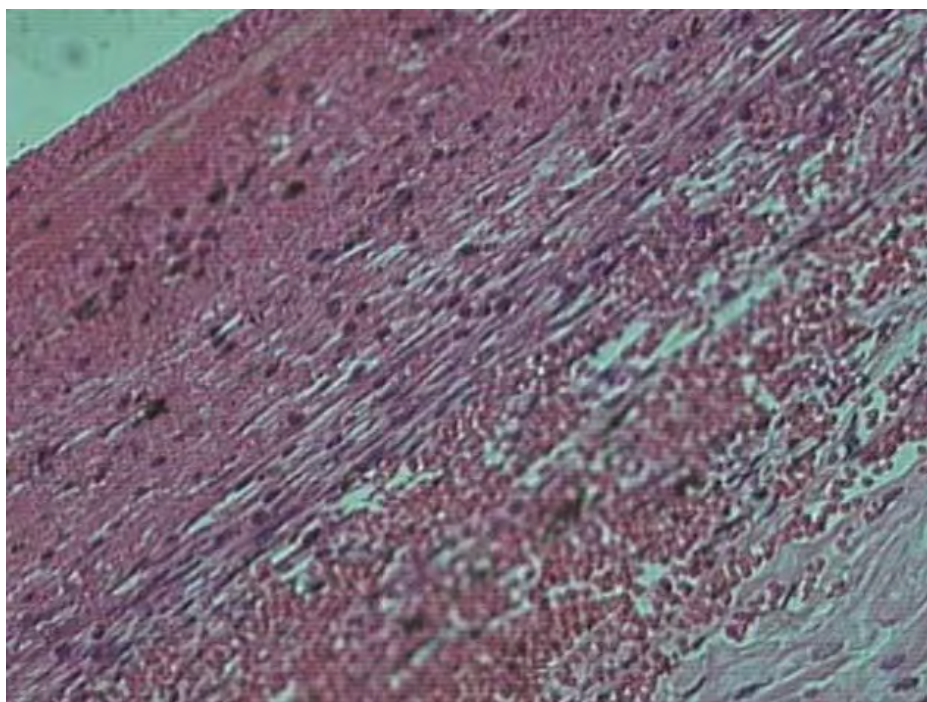


Figura 17: Fotomicrografia no 7º dia após cirurgia de evisceração. Observa-se grande quantidade de hemácias e fibroblastos jovens característicos de regeneração do tecido conjuntivo (Hematoxilina-eosina, 40X).

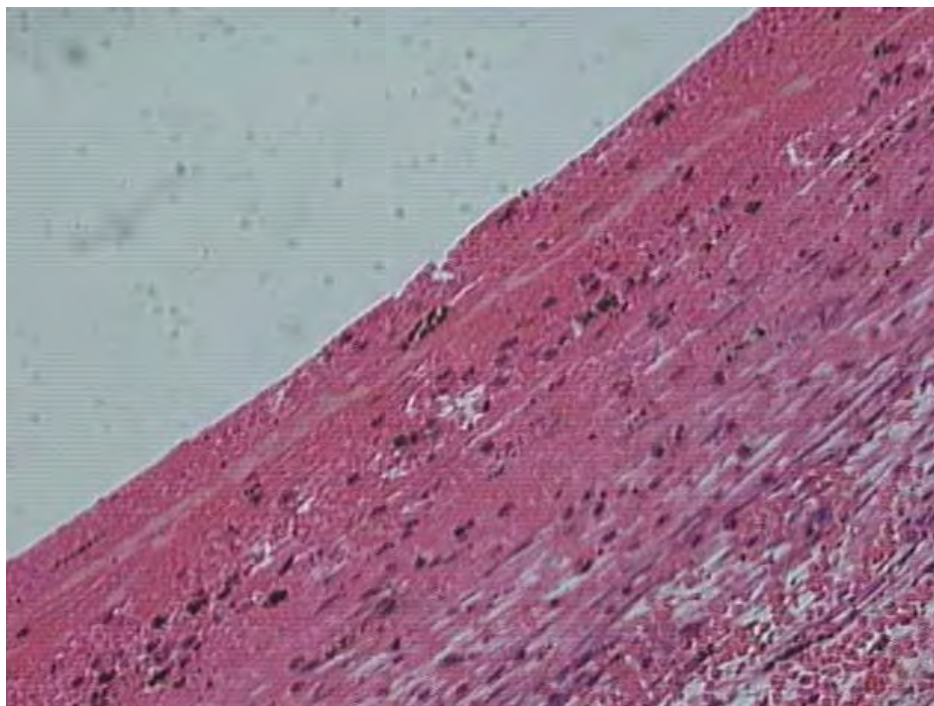


Figura 18: Fotomicrografia no 7º dia após cirurgia de evisceração. Presença de grande quantidade de hemácias, fibroblastos jovens e acúmulo de células contendo núcleos picnóticos, semelhantes a leucócitos. (Hematoxilina-eosina, 40X).

Também foram encontradas hemácias em grande quantidade, permeando a rede de fibrina e emigração de células inflamatórias, principalmente células polimorfonucleares, predominantemente os neutrófilos. Presença de alguns eosinófilos, reconhecidos pela birrefringência ao micrometrar o material, destacando material granulado no seu interior. Esse quadro é compatível com reparação tecidual por tecido conectivo do tipo aguda. Observa-se nessa fase uma desorganização do tecido, refletindo a importante e recente agressão decorrente da evisceração, com reposição dos tecidos oculares por tecido de reparação do tipo fibrótico (Figura 19 e 20).

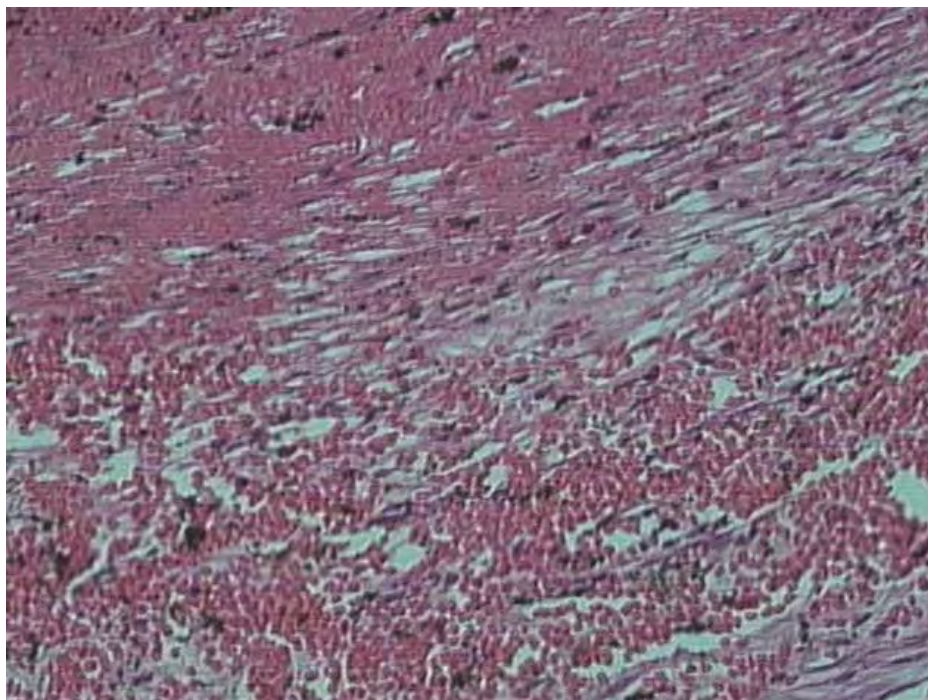


Figura 19: Presença de grande quantidade de hemácias e células inflamatórias, como os leucócitos, em especial neutrófilos (Hematoxilina-Eosina, 40X).

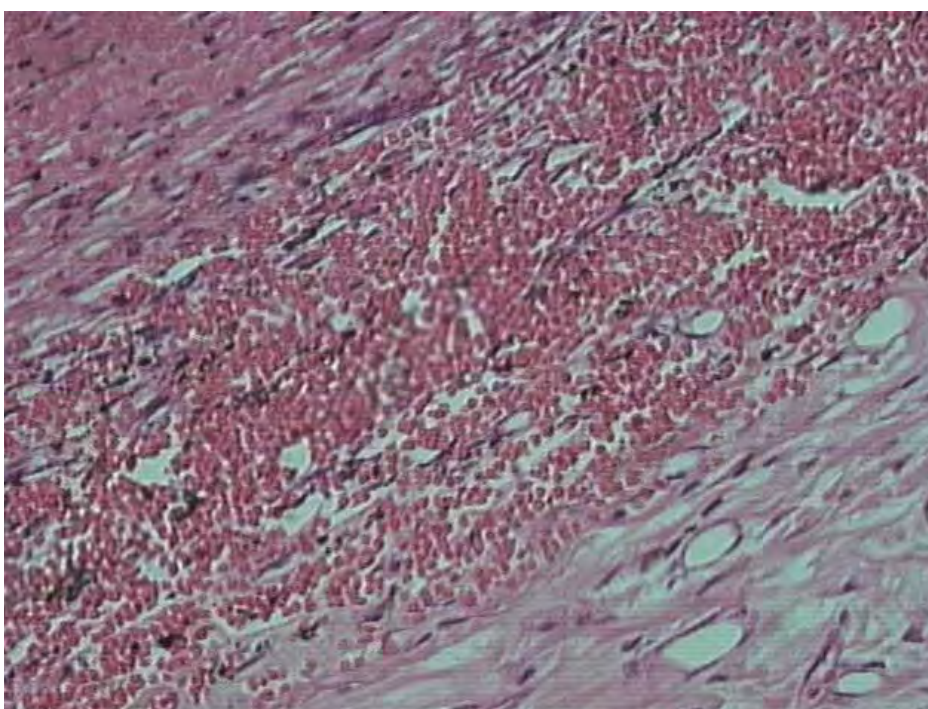


Figura 20: Eventos demonstrando reparação tecidual e inflamação aguda (Hematoxilina-Eosina, 40X).

Foi possível visibilizar a esclera edemaciada e reação inflamatória mais intensa ao redor dos fios de sutura, quando presentes. Neste momento, não se observa ainda a formação da pseudocápsula bem definida ao redor da esfera, mas apenas o acúmulo de fibroblastos e células sanguíneas (Figura 21 e 22).

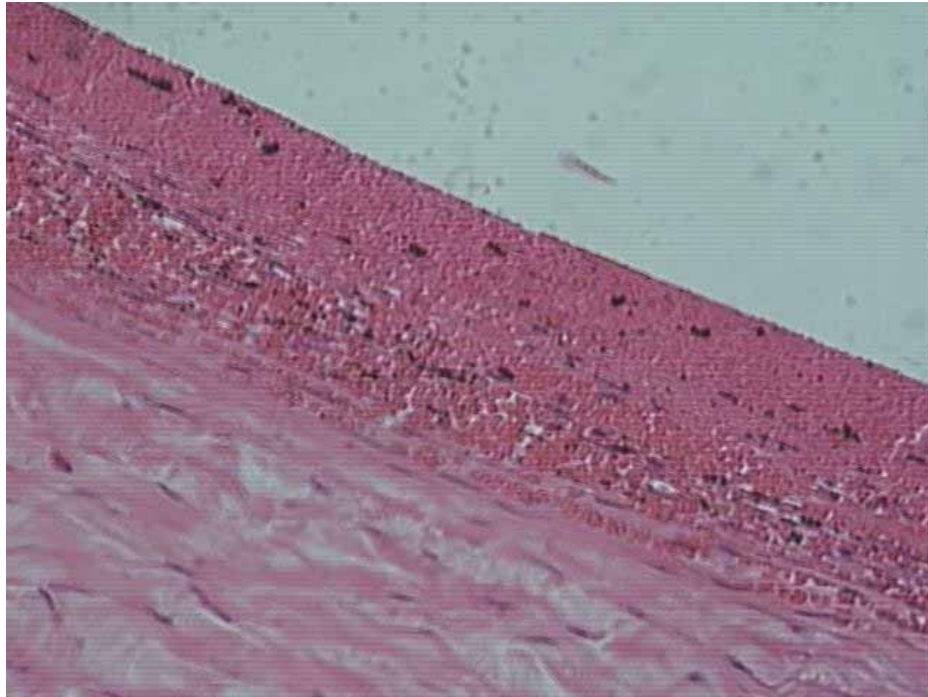


Figura 21: Presença de hemácias e processo inflamatório, dispostas de forma circunferencial e circunscrevendo a esclera pela sua face interna (Hematoxilina-eosina, 40X).

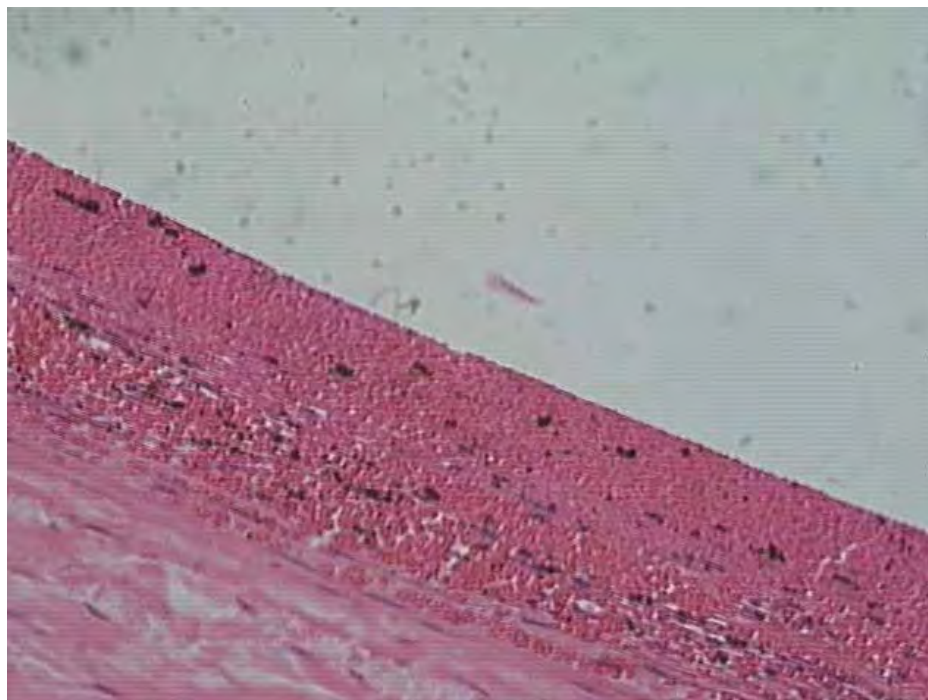


Figura 22: Presença de hemácias e processo inflamatório semelhantes ao observado na figura anterior (Hematoxilina-eosina, 40X).

O processo inflamatório é bastante semelhante ao existente no GII. Trata-se de um processo agudo, organizado e com reação inflamatória bastante tênue, aparentemente com menor quantidade de edema e hemácias nos animais do GI quando comparados com GII.

Grupo II

A resposta regenerativa tecidual presente neste momento foi semelhante ao que se observou no Grupo I, ou seja, revestindo a face interna da capa escleral foi observado aglomerado de células inflamatórias e hemácias, em meio à rede de fibrina (Figura 23).

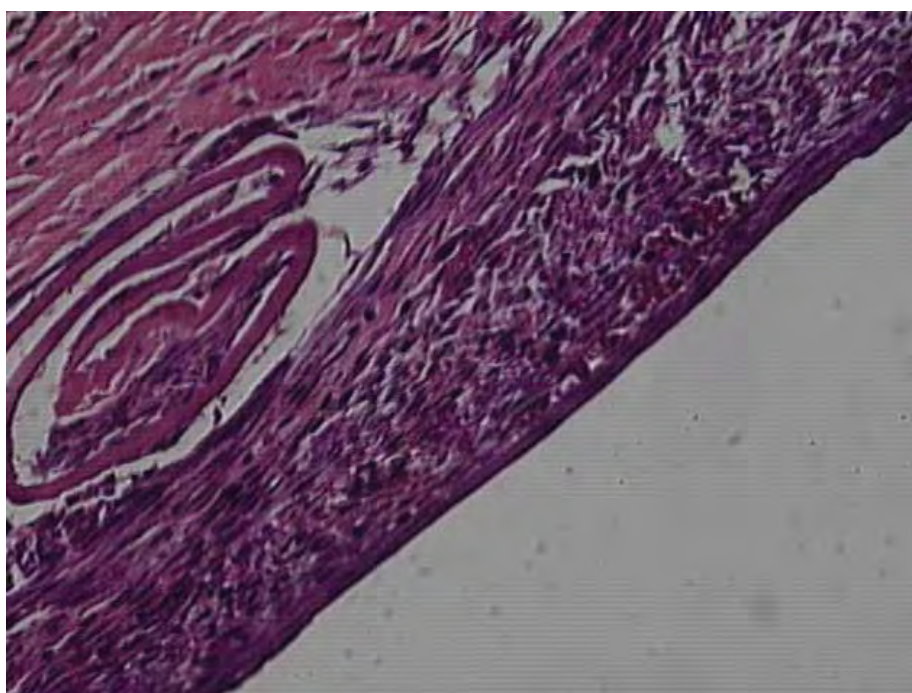


Figura 23: Aglomerado de células inflamatórias e hemácias, em meio à rede de fibrina (Hematoxilina-eosina, 40X).

4.6 Observações Histológicas feitas em M2

Grupo I

Após 30 dias do procedimento de evisceração com a colocação dos implantes na cavidade anoftálmica (M2), na interface entre a parte interna da esclera e a externa do material estudado houve redução da quantidade de células inflamatórias e hemácias.

A reação tecidual se dá por meio da formação de tecido conjuntivo frouxo. Além dos fibroblastos, encontraram-se no tecido conjuntivo em formação, diversas células da série

leucocitária. Observa-se tecido de granulação que se apresenta como um tecido frouxo, com reparação por tecido do tipo mixóide, com neovasos ativos, contendo hemácias (Figura 24).

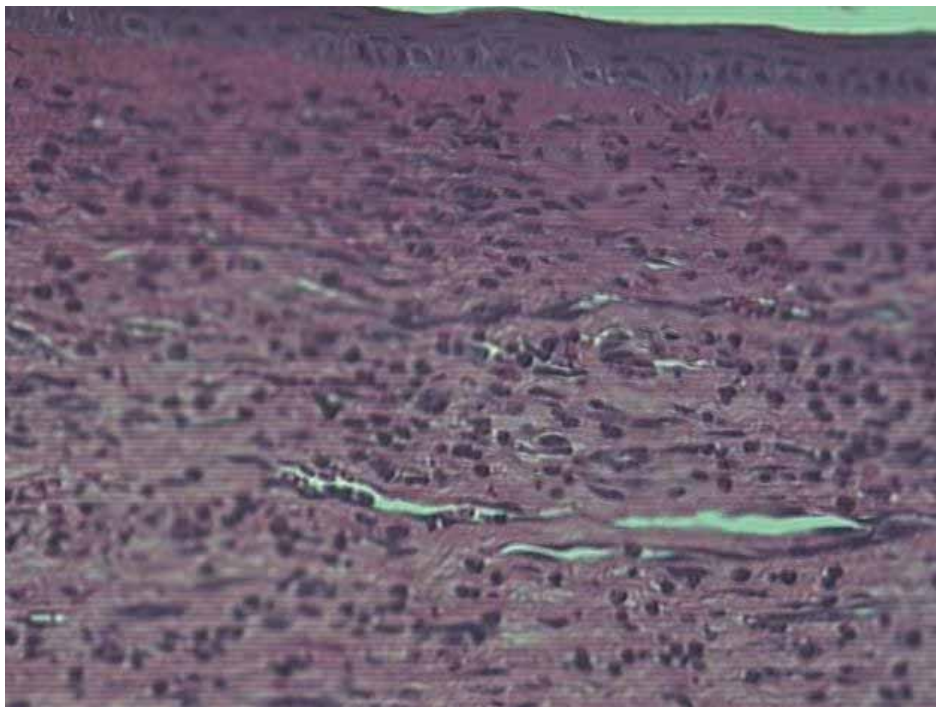


Figura 24: Presença de neovasos, com hemácias no seu interior (Hematoxilina-Eosina, 40X).

Há presença de células fusiformes, cujos núcleos são mais alongados que os observados em MI e grande quantidade de células inflamatórias, agora principalmente do tipo mononucleares, principalmente linfócitos. Há presença ainda de macrófagos, plasmócitos (reconhecidos pelos característicos núcleos excêntricos), poucos neutrófilos e eosinófilos. Pode-se observar a saída de células linfóides do vaso para o tecido, confirmando a presença do processo de quimiotaxia.

Resumidamente poderia ser dito que ao redor das esferas, nesta fase, há presença de uma pseudocápsula mais densa, composta por fibroblastos maduros, vasos longitudinais, hemácias e menor edema tecidual (Figura 25).

Esta pseudocápsula composta por acúmulo de fibroblastos e células inflamatórias é disposta de maneira circular e a envolver toda a extensão da parte interna da esclera, na interface com a esfera, sendo aparentemente mais espessa na região anterior e próximo ao local da sutura.

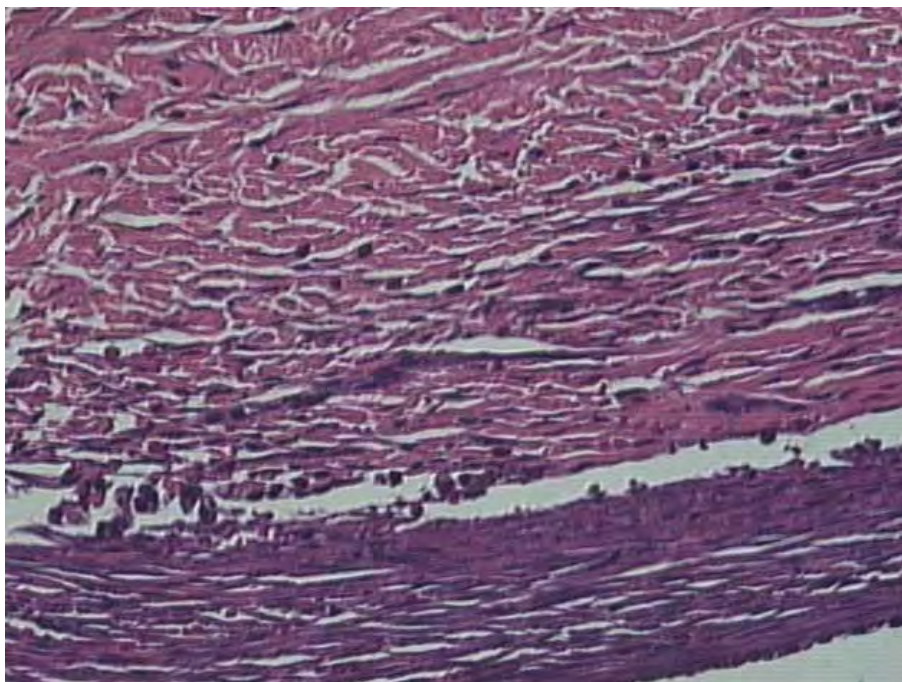


Figura 25: Fotomicrografia no 30º dia após cirurgia de evisceração. A pseudocápsula é composta por acúmulo de fibroblastos e células inflamatórias e se dispõe de maneira circular na face interna da esclera (Hematoxilina-eosina, 40X).

A formação da pseudocápsula se apresenta mais organizada, com escassa reação inflamatória (Figura 26).

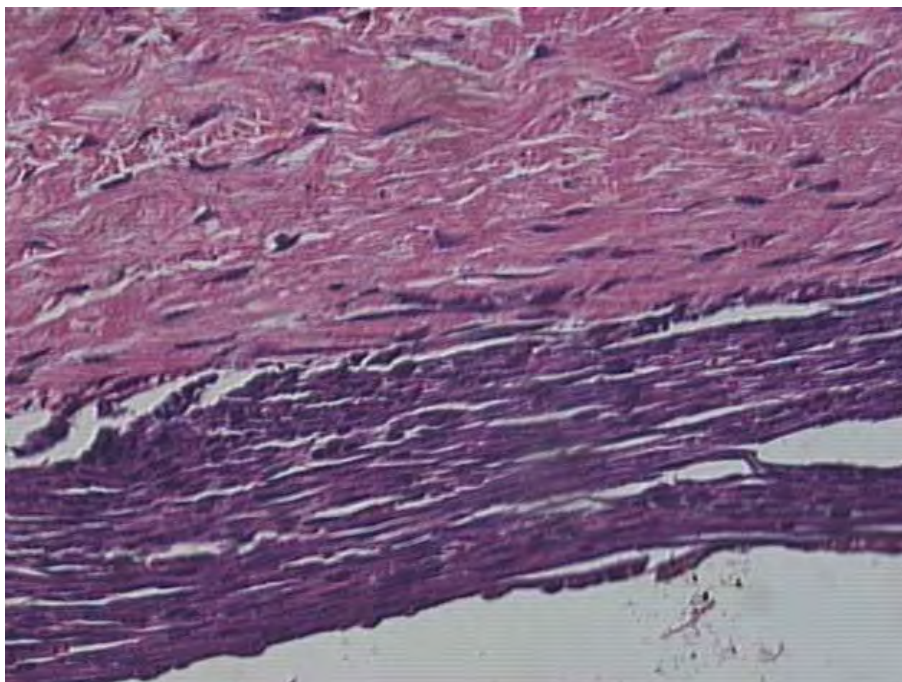


Figura 26: Pseudocápsula mais organizada, composta basicamente por fibroblastos maduros (Hematoxilina eosina, 40X).

Grupo II

As características descritas para o Grupo I se repetiram no Grupo II.

4.7 Observações Histológicas feitas em M3

Grupo I

Após 90 dias do procedimento de evisceração com a colocação das esferas na cavidade anoftálmica (M3), na interface entre a parte interna da esclera e a externa do material estudado existe uma reação inflamatória ao redor de toda esfera, com células inflamatórias escassas. Há presença de linfócitos e poucos macrófagos, com proliferação de pequenos vasos sanguíneos contendo hemácias e tecido conectivo, denotando inflamação crônica.

Observou-se então, um tecido conjuntivo completamente organizado e maduro, bastante denso e vascularizado, com escassas células inflamatórias.

Grupo II

Pseudocápsula organizada, contendo escassa reação inflamatória e com características muito semelhantes ao Grupo II (Figuras 27 e 28).

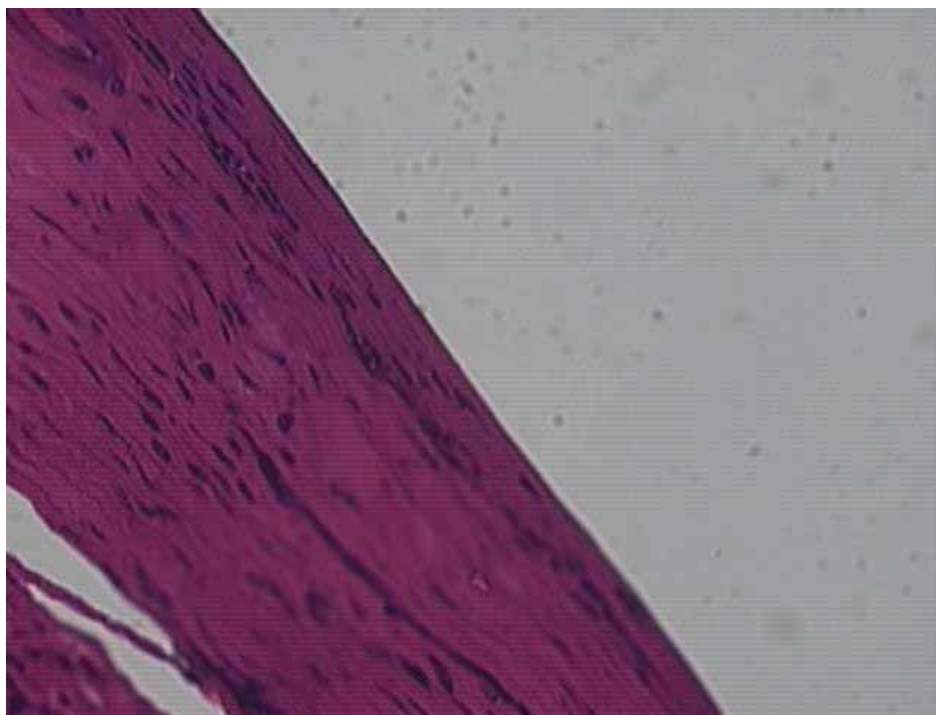


Figura 27: Fotomicrografia no 90º dia após cirurgia de evisceração e colocação de esfera de silicone rígida. Pseudocápsula organizada, contendo poucas células e fibroblastos e pequenos vasos, denotando inflamação crônica. (Hematoxilina-eosina, 40X).

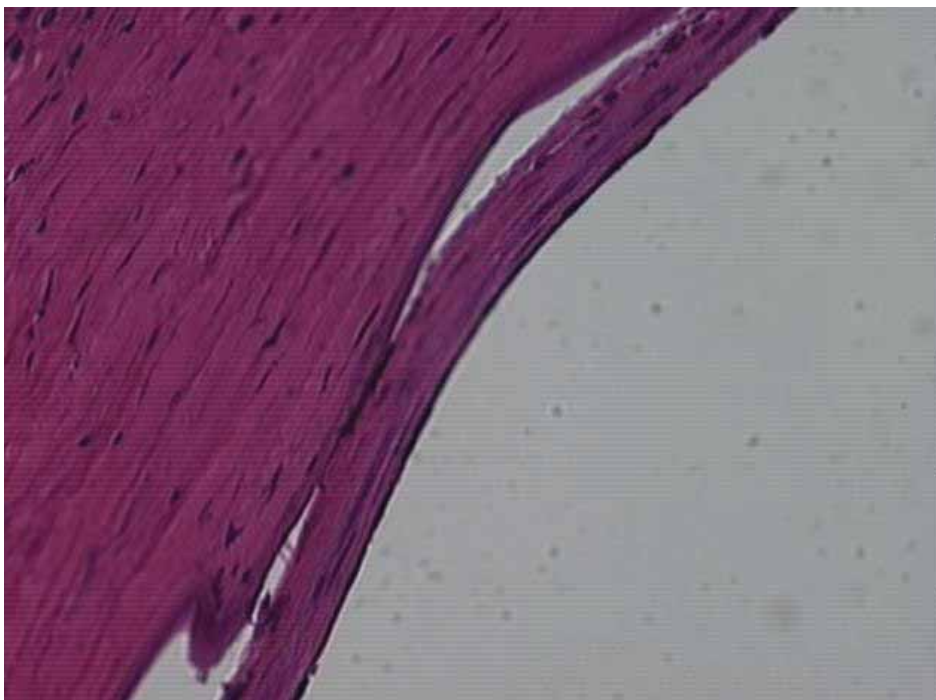


Figura 28: Fotomicrografia no 90º dia após cirurgia de evisceração, mostrando aspecto de pseudocápsula composta por tecido conjuntivo maduro, com escassa reação inflamatória (Hematoxilina-eosina, 40X).

4.8 Avaliação Estatística

Resultado do exame morfométrico

- Avaliação da espessura da pseudocápsula

A avaliação da espessura da pseudocápsula que se formou ao redor das esferas foi feita nas quatro regiões: anterior, posterior, 3 e 9 horas, em três locais em cada uma das quatro regiões, considerando-se a média das medidas para o cálculo estatístico.

As análises constam do Quadro 3.

Quadro 3: Quadro representando a espessura da pseudocápsula que se formou ao redor das esferas.

Tipo de esfera	Momentos Sacrifício	Anterior	Posterior	3 horas	9 horas
GI	M1	43,8 ± 27,5 <i>b</i> B <i>a</i>	34,6 ± 15,5 <i>a</i> A <i>a</i>	44,3 ± 24,3 <i>a</i> A <i>a</i>	40,8 ± 26,2 <i>a</i> A <i>a</i>
	M2	18,3 ± 7,1 <i>a</i> A <i>a</i>	16,2 ± 7,8 <i>a</i> A <i>a</i>	42,6 ± 27,5 <i>a</i> A <i>a</i>	24,3 ± 16,3 <i>a</i> A <i>a</i>
	M3	25,0 ± 14,2 <i>ab</i> A <i>a</i>	14,6 ± 3,5 <i>a</i> A <i>a</i>	36,7 ± 15,0 <i>a</i> A <i>a</i>	20,9 ± 6,6 <i>a</i> A <i>a</i>
GII	M1	17,4 ± 4,5 <i>ab</i> A <i>a</i>	50,4 ± 30,5 <i>a</i> A <i>β</i>	35,9 ± 21,5 <i>a</i> A <i>αβ</i>	44,1 ± 20,3 <i>b</i> A <i>αβ</i>
	M2	42,3 ± 3,0 <i>b</i> B <i>a</i>	39,6 ± 22,2 <i>a</i> A <i>a</i>	31,1 ± 8,7 <i>a</i> A <i>a</i>	38,3 ± 22,7 <i>ab</i> A <i>a</i>
	M3	15,6 ± 3,3 <i>a</i> A <i>a</i>	38,3 ± 18,2 <i>a</i> B <i>β</i>	30,3 ± 13,7 <i>a</i> A <i>αβ</i>	16,4 ± 3,9 <i>a</i> A <i>a</i>

- (1) Duas médias seguidas de uma mesma letra minúscula indicam semelhança ($P > 0,05$) entre si quanto aos respectivos momentos de sacrifício, fixados o local e o momento de avaliação.
- (2) Duas médias seguidas de uma mesma letra maiúscula, não diferem ($P > 0,05$) entre si quanto aos respectivos tipos de materiais avaliados, fixados os momentos de sacrifício e grupo.
- (3) Duas médias seguidas de uma mesma letra grega, não diferem ($P > 0,05$) entre si quanto aos respectivos momentos de avaliação, fixados o tipo de material avaliado e momento de sacrifício.

- a) A interpretação baseada nas letras minúsculas em vermelho (*a* e *b*), permite a comparação da espessura da pseudocápsula nos vários momentos experimentais e em ambos os grupos, fixando as posições onde a avaliação foi feita: anterior, posterior, 3 e 9 horas. Esta avaliação mostrou que a espessura da pseudocápsula apresentou

tendência de redução da espessura ao longo do experimento, com valores em geral superiores no início e decaindo em direção ao M3 (90 dias após a cirurgia). Avaliando-se as particularidades é possível dizer que em todos os momentos de avaliação e nos dois grupos o teste estatístico mostrou valores semelhantes principalmente quando se avaliou a pseudocápsula das posições posterior e 3 horas. Entretanto, na porção anterior da cavidade e às 9 horas, esta última, medida que coincidia com a esfera que se encontrava no fundo-de-saco inferior, houve variação de espessura.

- Na posição anterior a espessura da pseudocápsula foi maior no grupo I (GI) e no momento 1 (M1) e no GII, no momento 2 (M2).

- Na posição de 9 horas, os dois grupos (GI e GII) tiveram medidas superiores em M1, decaindo ao longo do experimento, com diferença significativa apenas no GII.

b) Baseado nas letras maiúsculas, transcritas na cor preta (**A** e **B**), foi feita a comparação da espessura das pseudocápsulas, nas diferentes posições estudadas e fixando o momento experimental.

- No caso do GI, a espessura da pseudocápsula foi maior na posição anterior em M1 (sete dias), sem outras alterações estatísticas nos demais locais, em todos os momentos avaliados.

- Com relação ao GII, em M2 (30 dias) a espessura foi maior no setor anterior e em M3(90 dias) a espessura foi maior na porção posterior, sem outras alterações significativas, em comparação aos demais locais.

c) Baseado nas letras gregas (α e β), foram feitas comparações das medidas de espessura das pseudocápsulas de animais do GI contra animais de GII, fixado os momentos e as posições.

- Comparando os grupos GI e GII, só foi possível observar diferença significativa na posição posterior quando os animais do Grupo II apresentaram espessura da pseudocápsula superior ao observado no GI, em especial nos momentos M1 e M3. Ou seja, os animais que receberam esferas rígidas (GII) apresentaram pseudocápsula mais espessa que os que receberam esferas gelatinosas (GI), com diferença significativa no setor posterior da cavidade escleral.

Discussão

5 DISCUSSÃO

5.1 Escolha do tema e modelo experimental

A proposta do presente estudo foi avaliar a resposta clínica e tecidual, com análise do comportamento dos animais, avaliação histológica e morfométrica, à presença das esferas de silicone gelatinosas e rígidas, após a evisceração dos olhos direitos de coelhos.

A intenção de avaliar a biocompatibilidade das esferas de silicone gelatinosas em cavidades evisceradas de coelhos, comparando-as com esferas rígidas, já disponíveis e bastante aceitas pelo mercado que seriam o padrão-ouro da comparação, se deve a hipótese de que as esferas de superfície “mole” poderiam ter melhor interface com as próteses externas e consequente melhor resultado que as rígidas no reparo das cavidades anoftálmicas. Ou seja, o presente estudo foi realizado com o intuito de decidir se este material e, principalmente, sua variação quanto à maleabilidade podem significar um avanço na reparação das cavidades anoftálmicas, na medida que poderia indicar qual delas concederia o melhor resultado.

No presente estudo, foram utilizados coelhos como animais de experimentação, dada as suas vantagens comparativamente às outras espécies animais, quanto à sua obtenção, manipulação e manutenção, baixo custo e por se ter este tipo de animal disponível em biotério especializado para criação e manutenção de nossa Instituição, com amplo domínio da equipe executora deste modelo experimental e deste tipo de pesquisa, bem como por seus reconhecidos valores como animais de experimentação para pesquisas em oftalmologia (ANDRADE, 2003).

Esse trabalho foi conduzido seguindo-se os princípios internacionais orientados para pesquisa médica envolvendo animais, bem como a aprovação da Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Botucatu UNESP-SP, tendo sido aprovado para execução no dia 30 de outubro de 2008 (protocolo número 701).

Ressalte-se que cada animal foi mantido em gaiolas individuais, receberam água e ração *ad libitum*, tiveram o asseio diário das gaiolas, temperatura e iluminação no ambiente em que estiveram controlados e favoráveis ao bem estar dos animais. As boas condições de manutenção dos animais também favoreceram o não desenvolvimento de infecções ou outros eventos desfavoráveis ao estudo.

Optou-se no presente estudo pela evisceração do olho direito com a implantação da esfera, técnica muito utilizada em experimentos realizados pelo grupo de estudos da Faculdade de Medicina de Botucatu e também em humanos (SCHELLINI *et al.*, 2003; MOURA & VIEIRA, 2007).

Para isso, foi utilizado um modelo experimental já estabelecido, empregado em diversas outras pesquisas feitas nesta mesma Instituição, seguindo dentro consagrada linha de pesquisa. O presente estudo foi delineado como experimental, prospectivo e aleatorizado.

A aleatorização foi seguida para a escolha da esfera a ser colocada nos animais, sendo os animais divididos por sorteio nos dois grupos experimentais: grupo que receberia esferas gelatinosas ou rígidas. Foi garantido o cegamento nas avaliações diárias que foi feita por aluna de iniciação científica que desconhecia qual a esfera que havia sido implantada em cada um dos grupos e também quando realizados os exames ultrassonográficos e a avaliação histológica e morfométrica, realizadas com auxílio de especialistas que não sabiam quais as esferas que estavam avaliando.

A adoção de estudos clínicos e morfológicos, segundo os períodos admitidos para tal, se deu respeitando-se as fases clássicas da reparação cicatricial, com a tríade exsudação, proliferação e maturação. Neste sentido é que foram escolhidos sete, 30 e 90 dias para a avaliação histológica do tecido formado ao redor das esferas dos coelhos eviscerados. Considera-se pelo ciclo curto de vida dos coelhos que a observação de 90 dias seja suficiente para se adotar as observações como representativas da fase crônica da reparação tecidual.

5.2 Esferas de silicone

Os coelhos receberam dois tipos de esferas, ambas produzidas com a mesma substância química, o silicone, e foi realizada comparação desse mesmo material, mas com maleabilidades diferentes (rígidas e gelatinosas), no sentido de testar em cavidade anoftálmica se existe diferença entre ambas.

O silicone é um material que tem sido amplamente utilizado em muitas áreas da Medicina, em especial consagrado como implantes utilizado em mastoplastias de aumento de volume.

Em cavidades anoftálmicas, foi utilizado na forma rígida por muitos anos e em muitos países. Entretanto, relatos a respeito desta utilização não são encontrados na literatura.

A aquisição das esferas de silicone é fácil, já que os implantes de silicone mamários estão sendo muito utilizados ultimamente como próteses mamárias nas cirurgias plásticas de mama e nas suas reconstruções. Caso a proposta alcance o mercado, o método de fabricação já é conhecido, já existe sua produção em escala industrial para outros fins e provavelmente extrapolar para a confecção de esferas para uso em cavidade anoftálmica não seria difícil. Acredita-se ainda que o preço possa ser melhor que os existentes no mercado,

uma vez que a quantidade de silicone utilizada para confecção da esfera para reparo de volume orbitário seja pequena.

A empresa Silimed, responsável pela confecção das esferas empregadas nesta pesquisa, se prontificou rapidamente e as produziu, de acordo como solicitado, gratuitamente. Os implantes foram produzidos com formato esférico, respeitando a anatomia do olho. Entretanto, para outra pesquisa do nosso grupo, a mesma firma produziu material de formato arredondado e achatado, semelhante a uma prótese mamária, também composto de silicone gelatinoso (PALHARES *et al.*, 2007).

As esferas de silicone no estado gelatinoso foram compostas por gel de silicone, recoberta por uma membrana de superfície lisa, também de silicone, com aspecto externo muito parecido com o implante mamário. Outra variação também possível e que foi empregada em outra pesquisa do nosso grupo é a modificação da membrana envoltória, o que pode ter reflexo na espessura da pseudocápsula, já que teoricamente esta seria mais espessa quando a superfície fosse mais lisa (ABREU, np).

As esferas de silicone no estado rígido foram compostas por elastômero de silicone, que pode ter graus variáveis de rigidez, sendo o aqui empregado bastante resistente a pressão.

O tamanho da esfera usado neste trabalho foi de 10 mm, compatível com a restituição do volume perdido após a retirada do bulbo ocular de coelhos jovens, o mesmo utilizado em outros estudos de cavidade anoftálmica em que o coelho foi empregado como modelo animal, em estudos estrangeiros, assim como de nosso grupo. (JORDAN *et al.*, 2000c; SCHELLINI *et al.*, 2003; JORDAN *et al.*, 2004b).

5.3 Avaliação clínica dos animais e análises da biocompatibilidade

Para análise da biocompatibilidade dos materiais utilizados, procedeu-se a avaliações clínicas diárias quanto à saúde geral e alterações locais da área cirúrgica, exame de ultrassonografia no período de 15 dias após o início do experimento e avaliações morfológicas, realizadas ao final do período experimental idealizado como composto de três momentos, que permitiram conhecer a evolução da resposta inflamatória ao material implantado.

A evolução clínica dos animais demonstrou que não houve interferência dos procedimentos realizados com a homeostase, com curso normal de crescimento dos animais e manutenção do bom estado geral dos mesmos. Não houve alteração de comportamento, perda

de peso ou qualquer situação que pudesse sugerir indução de alterações decorrentes do uso da esfera. O único óbito observado seguramente não decorreu do uso da esfera, estando claramente associado com fenômenos gastrointestinais, presentes naquele animal.

O aspecto clínico geral da cavidade anoftálmica após a colocação da esfera foi muito bom, mostrando que o tecido que circundava a esfera não apresentava reação inflamatória na grande maioria dos animais. A pequena quantidade de secreção evidenciada na cavidade de muitos dos animais ou na totalidade deles, corresponde ao mesmo fenômeno que se observa em humanos, quando o contato da pálpebra com a cavidade não é o mesmo que quando o olho está presente, levando a ingurgitamento crônico das glândulas palpebrais e piscar incompleto, além dos fios de sutura que funcionam como corpo estranho na tênue superfície conjuntival.

Ocorreram três extrusões: duas esferas de animal do GI no 16º e 20º dia após a cirurgia e uma do GII no 12º dia após a cirurgia, totalizando 10% de extrusão em todos os coelhos. As causas de extrusão de implantes colocados em cavidades anoftálmicas são bastante variadas, podendo as mais precoces terem origem nos problemas próprios do ato operatório ou decorrentes da técnica cirúrgica empregada. Todas as extrusões ocorreram em período próximo ao ato cirúrgico e poderiam estar relacionados com defeitos na sutura conjuntival ou escleral, ou mesmo com infecções. As extrusões tardias, em geral decorrem de contrações cicatriciais, de utilização de implantes demasiado grandes, uso de implantes de superfície áspera, implantes demasiadamente grandes, presença de doenças sistêmicas, cavidades já com contração importante da mucosa, dentre outras. O mais importante é deixar claro que as extrusões ocorrem devido a inúmeras causas e que podem ocorrer com qualquer material que se utilize para correção das cavidades anoftálmicas (SCHELLINI *et al.*, 2007). No presente estudo, os pesquisadores não acreditam que as extrusões decorreram dos materiais usados para reposição de volume nas cavidades anoftálmicas, uma vez que não houve em nenhum deles a presença de sinais sugestivos de rejeição ou inflamação excessiva.

5.4 Avaliação do exame de ultrassonografia

Através do exame de ultrassonografia observou-se bom posicionamento das esferas na órbita dos coelhos, não havendo presença de migração, ausência e nem deslocamento das esferas dos coelhos dos grupos I e II. Foi observado também presença de pequenas coleções de líquido ao redor da esfera de pouca a moderada quantidade.

O exame demonstrou espessamento de tecido na superfície anterior da esfera e algumas vezes observou-se ecogenicidade interna na esfera, o que poderia significar

crescimento de vasos para dentro das mesmas, fato possível em implantes que possuem poros ou espaços entre grânulos que compõem o biomaterial. Entretanto, estas esferas eram revestidas por material liso, provavelmente não permeável. Não foi possível correlacionar este achado com o exame histológico devido ao fato de que empregamos uma técnica para aquele exame que leva a destruição das esferas, já que o Xilol é um agente que promove a desintegração de materiais do tipo do silicone e do polietileno. Portanto, não se pode concluir nada a respeito da ecogenicidade observada nas esferas de alguns animais.

O exame ultrassonográfico foi introduzido nesta pesquisa como mais método para avaliação de implantes em cavidades anoftálmicas de animais. Os modelos que se baseiam em exames morfológicos implicam em sacrifício dos animais em determinado momento, dificultando que os animais sejam utilizados como controles deles mesmos, ficando restritos a um único momento de observação dentro do experimento. Este exame, conforme aqui demonstrado, pode ser feito *in vivo*, permitindo que se use o mesmo animal para diversas avaliações temporais, reduzindo custos.

O exame ultrassonográfico demonstrou ser um excelente método diagnóstico para avaliação do material implantado na cavidade anoftálmica de coelhos, por ser um exame relativamente fácil de ser executado, feito com equipamento que não tem custo elevado, não havendo necessidade de utilização de anestesia geral. Os animais foram contidos apenas fisicamente evitando-se assim, a contenção química e a possível interferência dos tranquilizantes nos resultados ou mesmo provocando a morte do animal.

O estudo de Yamamoto *et al.* (2001) já havia indicado que o exame ultrassonográfico é um bom exame para avaliação da cavidade anoftálmica de humanos. Agora, pode-se afirmar que também em cavidades de animais este método pode ter utilidade.

5.5 Técnica cirúrgica

O fechamento da ferida cirúrgica conforme realizado seguiu os padrões estabelecidos em estudos prévios do grupo que estuda cavidade anoftálmica na Instituição. A cápsula de Tenon foi suturada com pontos simples isolados e para o fechamento conjuntival foi realizado com sutura contínua simples. Para ambas as suturas foram utilizadas fios inabsorvíveis trançados, o fio de Mersilene. A utilização de fio absorvível para esse tipo de sutura já foi realizada em outras pesquisas com segurança (SCHELLINI *et al.*, 2003; JORDAN *et al.*, 2004b; THAKKER *et al.*, 2004), embora fio inabsorvível também possa ser empregado (SCHELLINI *et al.*, 2003; SHIRATORI *et al.*, 2005). Não existem dados na literatura correlacionando o tipo de fio utilizado, absorvível ou inabsorvível, em cirurgias de

cavidade anoftálmica e maior taxa de extrusão de implantes. O fato de se utilizar fios absorvíveis pode estar associado à inflamação exacerbada até o período de 21 dias, quando deve se dar a sua absorção na maioria dos casos. Entretanto, também os fios inabsorvíveis podem levar a cronicidade do processo inflamatório, fato deve ser lembrado na análise dos animais que se encontravam no momento M2(30 dias), os que apresentaram maior taxa de inflamação.

5.6 Preparo do material para análise histológica

As esferas de silicone não estavam presentes nas lâminas estudadas, uma vez que estas foram dissolvidas no preparo das mesmas, pelo efeito do Xylol, substância pela qual o material foi submetido para a fixação nas lâminas, conforme referido anteriormente neste mesmo capítulo. Este fato poderia ser evitado se fossem empregados meios que não dissolvem o silicone, como a inclusão em resina.

Entretanto, levando em conta que o material de estudo não é do tipo integrável, ou seja, não tem poros, o que seria encontrado dentro da esfera seria apenas silicone e não acrescentaria nada ao estudo. Alguns animais tiveram esse tipo de preparação na fase de estudos “piloto”, confirmando que os cortes histológicos não demonstravam claramente se existia reação inflamatória no interior das esferas.

Além do mais, o preparo em resina é muito mais dispendioso que a inclusão em parafina. Desta forma, optou-se por examinar a reação tecidual que se desenvolveu ao redor das esferas, local em que havia relação direta da esclera com a esfera, expressa pela pseudocápsula.

Portanto, a esfera não foi avaliada em decorrência deste fato que já era do conhecimento do pesquisador, uma vez que todos os estudos do grupo que já foram feitos utilizando materiais que dissolvem frente ao Xylol seguiram a mesma rotina. O processo de confecção das lâminas histológicas não é fácil, tendo sido possível apenas pela expertise dos técnicos frente às outras pesquisas já aqui realizadas.

5.7 Avaliação da resposta cicatricial ao redor das esferas

O procedimento da evisceração dos tecidos oculares traz como consequência a formação de tecido conectivo, já que não é possível repor os tecidos oculares especializados que existem dentro da capa escleral. Caso nada seja colocado dentro da esclera, ocorrerá fibrose, com contração cicatricial do tecido escleral e redução drástica de volume. Este

processo é conhecido classicamente, o que nos fez não considerar necessário ter um grupo controle onde estes passos fossem demonstrados.

A colocação das esferas reduz a chance de contração cicatricial.

Como acontece com qualquer material estranho que é implantado em um organismo vivo, a resposta do hospedeiro se dá com inflamação local e crescimento de tecido conectivo. Esta é definida como uma reação local do tecido vascularizado às agressões e a resposta inflamatória está intimamente ligada ao processo de reparo. A resposta é mais ou menos estereotipada, seja qual for a natureza do agente lesivo (COTRAN *et al.*, 1994).

O estudo histológico revelou uma reação inflamatória aguda desde o início (sete dias), com formação de uma pseudocápsula ao redor das esferas, composta inicialmente por uma rede de fibrina, que dará origem aos fibroblastos jovens, e presença de células leucocitárias, hemácias e neovasos, denotando o processo de reparação tecidual. Esta pseudocápsula formada era composta por tecido conjuntivo frouxo no início e que foi se tornando mais denso a medida que avançou o tempo de experimento.

A pseudocápsula é um tecido conjuntivo formado ao redor de qualquer corpo estranho ou processo inflamatório que ocorra no sítio de lesão, dessa forma tentando deter a inflamação que ocorre no local.

As células inflamatórias se modificam no sítio de reparação com o passar do tempo. Inicialmente é comum o acúmulo de leucócitos, principalmente neutrófilos e monócitos – assim se constitui a característica mais importante da reação inflamatória. Os leucócitos servem para aprisionar e degradar bactérias, corpos estranhos e os detritos de células necróticas, provocando uma resposta defensiva; mas, ao mesmo tempo, liberam também mediadores químicos e radicais tóxicos que, por si só, podem prolongar a inflamação e aumentar o dano tecidual. Aliados a celularidade que se estabelece no sítio de lesão, há crescimento de neovasos. Com o passar do tempo, as características da resposta inflamatória aguda passam para a fase crônica, com o aparecimento de outros tipos de células, como mastócitos, linfócitos ocasionais e macrófagos, associados com a proliferação de pequenos vasos sanguíneos e tecido conectivo, composto por fibroblastos maduros. Estas mudanças caracterizam o processo de cicatrização (COTRAN *et al.*, 1994), com substituição do tecido lesado por tecido conjuntivo (KIERSZENBAUM, 2004; KUMAR *et al.*, 2005).

A resposta inflamatória no sítio de implantação das esferas diminuiu gradativamente ao longo do período experimental e a resposta tecidual pode ser considerada semelhante a que ocorre quando se utilizam outros materiais em cavidades (SCHELLINI *et al.*, 2003; FERRAZ *et al.*, 2006; BRITTO, 2009).

Conforme já referido anteriormente, o material histológico foi visto cegamente, ou seja, as lâminas foram avaliadas juntamente com uma patologista que desconhecia a qual grupo o material examinado pertencia, o que reforça os nossos achados de que a reação inflamatória das pseudocápsulas do Grupo I (das esferas gelatinosas) se apresentou com comportamento menos agressivo, ou seja, havia reação inflamatória de forma mais organizada, o que foi confirmado pelo exame morfométrico.

5.8 Análise do exame morfométrico da pseudocápsula formada ao redor das esferas

O exame morfométrico foi feito utilizando técnicas modernas de avaliação de lâminas histológicas, em sistema computadorizado, o que garantiu segurança aos resultados observados. Outro ponto forte foi a avaliação feita em quatro locais, dando a possibilidade de comparar a reação tecidual que ocorre em todos os locais da cavidade orbitária.

A análise estatística permitiu comparações dentro de grupos, dentro de momentos e nos diferentes locais de observação, trazendo também informações valiosas para a pesquisa.

A pseudocápsula, após a implantação das esferas de silicone, foi mais espessa no início do período experimental, com os dois tipos de esferas utilizadas. Isso porque logo após a implantação existem os fenômenos inflamatórios da fase aguda, com grande exsudação de líquidos e afluxo de células para o sítio cirúrgico (sete dias-M1). Com o passar do tempo, houve redução da espessura da pseudocápsula, sendo a espessura menor nos momentos M2 (30 dias) e M3(90 dias), quando comparados ao momento M1 (sete dias). Os fenômenos que explicam esta redução podem ser: a redução do edema, das hemácias e a diminuição da quantidade de células inflamatórias. O exame morfométrico confirmou a redução da espessura da pseudocápsula, com valores estatisticamente significativos. Os fenômenos cicatriciais (COTRAN *et al.*, 1994) combinam exatamente com o que foi observado no exame morfométrico, no tocante a este ponto.

Houve uma tendência da espessura da pseudocápsula ser mais espessa na posição denominada anterior e de 9 horas, nos dois grupos, em relação à posterior e 3 horas, principalmente nos momentos iniciais (M1 e M2). Este fato é devido ao setor anterior estar mais exposto ao meio externo, com maior risco de contaminação e em contato com os fios de sutura. Esta diferença havia sido observada ao exame macroscópico da lâmina em HE e foi confirmada pela avaliação morfométrica.

A pseudocápsula foi mais espessa também no setor de 9 horas, medida que coincidia com a parte da esfera que se encontrava no fundo-de-saco inferior, sendo uma explicação plausível o fato do fundo-de-saco inferior ser costumeiramente o mais contaminado.

A maior exposição faria com que houvesse mais células inflamatórias e edema nas regiões anterior e 9 horas e, conseqüentemente, pseudocápsula mais espessa nestas regiões.

E finalmente, procurando-se diferenças entre os materiais, a espessura da pseudocápsula ao redor das esferas de silicone rígidas foi superior a que se formou ao redor de esferas de silicone gelatinosas, principalmente nos momentos M1 e M3, na posição posterior, que consideramos ser uma posição “neutra” e a mais confiável, diferentemente da posição anterior, que sofre a interferência de fatores externos, como contaminação e presença de fios ou da posição 9 horas, que por ser fundo-de-saco inferior, é mais contaminada. Portanto, isto significa que a esfera de silicone rígida causou reação inflamatória que, apesar de discreta, foi significativamente maior do ponto de vista estatístico, do que a esfera de silicone gelatinosa.

5.9 Considerações finais e perspectivas

Os implantes atuais – integráveis e não integráveis – são construídos com materiais rígidos. Há alguns anos estamos perseguindo a idéia de que implantes não rígidos teriam melhor interface com as próteses externas, todas elas rígidas.

Vários estudos foram desenvolvidos neste sentido, utilizando hidroxapatita sintética e polietileno na forma gel, injetados no subcutâneo de cobaias (XAVIER *et al.*, 2002; SCHELLINI *et al.*, 2008) ou esferas de polietileno gel em cavidades anoftálmicas (FERRAZ *et al.*, 2006). A hidroxapatita induz muita reação inflamatória, diferentemente do polietileno que apresenta boa resposta tecidual. Entretanto, na cavidade orbitária, o polietileno gel se hidratou demais e extruiu, sendo abandonado (FERRAZ *et al.*, 2006).

Implantes não rígidos, a exemplo dos implantes mamários, feitos de silicone na forma gel e envoltos por uma cápsula que pode ser de diversos tipos de materiais, além de promover volume, por ser mais flexível e maleável, promoveria uma interface entre a esfera e a prótese externa muito menos traumática, o que diminuiria o risco de extrusão. Este material já foi largamente estudado e aprovado para uso em outros locais e não na cavidade orbitária.

A resposta dos tecidos orbitários ao silicone gelatinoso nunca havia sido antes testada, o que justificou a realização do presente estudo que mostrou a boa integração tecidual do mesmo.

Resta agora buscar avaliar como se dá exatamente a relação da esfera gelatinosa com a prótese externa. A colocação de prótese externa nos animais dificilmente poderá ser feita nos mesmos moldes que ocorre em humanos.

Desta forma, pretendemos avançar para a colocação das esferas de silicone gelatinoso em humanos, com a posterior adaptação de próteses externas. A nossa intenção foi fortalecida pelos resultados obtidos com o presente estudo, onde se pode observar pelo estudo morfométrico que a resposta foi melhor quando se utilizou as esferas gelatinosas.

Outro fator que se pode levantar são os estudos a longo prazo. Embora a grande maioria de estudos que são desenvolvidos envolvendo animais sejam feitos no prazo de 90 dias, estudos que envolvam períodos mais longos de observação devem ser providenciados, a fim de que se constate, mais a longo prazo, como se dá a resposta tecidual, uma vez que estas esferas deverão permanecer nas cavidades humanas por muitos anos.

Ou seja, o presente estudo abre novas oportunidades de pesquisas que terão como foco definir de forma incontestável se esferas compostas por silicone no estado gelatinoso devem substituir os materiais rígidos para reparação da cavidade anoftálmica.

Conclusão

6 CONCLUSÃO

Frente às condições experimentais empregadas e após os resultados obtidos e análises realizadas, foi possível concluir que esferas de silicone implantadas em cavidade orbitária eviscerada de coelhos resultam em boa resposta clínica, não interferindo com a saúde geral dos animais receptores, assim como com ausência de sinais desfavoráveis no local de implantação.

1. o exame ultrassonográfico mostrou ser um bom método diagnóstico para avaliação do material implantado na cavidade anoftálmica, sendo possível observar a posição das esferas, assim como formação de coleções ou processo inflamatório ao redor dos mesmos;

2. a análise histológica dos espécimes mostrou que as esferas de silicone promovem reparação cicatricial por tecido conectivo, com formação de pseudocápsula ao seu redor;

3. a análise morfométrica apontou para a superioridade das esferas de silicone gelatinosas, as quais apresentaram menor reação inflamatória e menor formação de pseudocápsula que as esferas de silicone em estado rígido.

Sendo assim, os autores concluem que as esferas de silicone gelatinosas podem ser úteis para a reparação de cavidades anoftálmicas.

Referências

7 REFERÊNCIAS*

Anderson RL, Yen MT, Lucci LM, Caruso RT. The quasi-integrated porous polyethylene orbital implant. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2002;18:50-5.

Andrade AL. Efeitos da membrana amniótica humana sobre a cicatrização de córneas de coelhos submetidos a traumas mecânica e química: aspectos clínicos, morfológicos e bioquímicos [tese]. Botucatu: Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista; 2003.

Ashworth J, Brammar R, Inkster C, Leatherbarrow B. A study of the hydroxyapatite orbital implant drilling procedure. *Eye*. 1998;12 Pt 1:37-42.

Beaver HA, Patrinely JR, Holds JB, Soper MP. Periocular autografts in socket reconstruction. *Ophthalmology*. 1996;103:1498-502.

Brandão SM. Análise da biocompatibilidade de cones de biovidro e biocerâmico em cavidade eviscerada de Coelho [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista; 2010.

Brito MKM. Análise da biocompatibilidade da esfera de quitosana porosa em cavidade eviscerada de Coelho. Estudo comparativo com polietileno poroso [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista; 2009.

Chen D, Heher K. Management of the anophthalmic socket in pediatric patients. *Curr Opin Ophthalmol*. 2004;15:449-53.

Chen YH, Cui HG. High density porous polyethylene material (Medpor) as an unwrapped orbital implant. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2006;7:679-82.

* International Committee of Medical Journal Editors. Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journal: sample references [Internet]. Bethesda: U.S. National Library of Medicine; 2003[last updated 2009 August 28; cited 2011 April 16]. Available from:http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html
National Library of Medicine. List of journals indexed in Index Medicus. Washington, 2008. 337p.

Constantino PD, Friedman CD, Jones K, Chow LC, Sisson GA. Experimental hydroxyapatite cement cranioplasty. *Plast Reconstr Surg*. 1992;90:174-91.

Cotran RS, Kumar V, Robbins SL, Shoen FJ. Robbins pathologic basis of disease. In: *Patologia estrutural e funcional*. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1994. Cap. 3, p. 45-83.

Custer PL, Trinkaus KM. Porous implant exposure: incidence, management, and morbidity. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2007;23:1-7.

Di Dio LJA. Tratado de anatomia sistêmica aplicada. In: *Sistema sensorial*. São Paulo: Atheneu; 2002. p.871-902.

Dolphin KW. Complications of post enucleation/evisceration implants. *Curr Opin Ophthalmol*. 1998;9:75-7.

Edelstein C, Shields CL, De Potter P, Shieldsd JA. Complications of motility peg placement for the hydroxyapatite orbital implant. *Ophthalmology*. 1997;104:1616-21. Comment in: *Ophthalmology*. 1998;105:1128-9.

Ferraz LCB, Schellini SA, Wludarski SL, Padovani CR. Implantes de polietileno gel e poroso em cavidade anoftálmica de coelhos. *Arq Bras Oftalmol*. 2006;69:305-8.

França VP, Figueiredo ARP, Vasconcelos AC, Oréface RL. Estudo comparativo experimental de compósito bioativo de matriz polimérica para aplicação em cirurgia plástica ocular na substituição tecidual. *Arq Bras Oftalmol*. 2005;68:425-31.

Gayre GS, Debacker C, Lipham W, Tawfik HA, Holck D, Dutton JJ. Bovine pericardium as a Wrapping for orbital implants. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2001;17:381-7.

Georgiadis NS, Terzidou CD, Dimitriadis AS. Restoration of the anophthalmic socket with secondary implantation of a coralline hydroxyapatite sphere. *Ophthal Surg Lasers*. 1998;29:808-14.

Georgiadis NS, Terzidou CD, Dimitriadis AS. Coralline hydroxyapatite sphere in orbit restoration. *Eur J Ophthalmol*. 1999;9(4):2-8.

Glicenstein J. Histoire de l'augmentation mammaire. *Chir Plast Esth*. 1993;38:647-55.

Goldberg RA, Dresner SC, Braslow RA, Kossobsky N, Legmann A. Animal model of porous polyethylene orbital implants. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 1994;10:104-9.

Gougelman HP. The evolution of the ocular mobility implant. *Int Ophthalmol Clin*. 1976;10:689-711.

Guillinta P, Vasani SN, Granet DB, Kikkawa DO. Prosthetic motility in pegged versus unpegged integrated porous orbital implants. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2003;19:119-22.

Gupta BK, Edward D, Duffy MT. 2-Octyl cyanoacrylate tissue adhesive and muscle attachment to porous anophthalmic orbital implants. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2001;17:264-9.

Habal MB. Aesthetic considerations in the reconstruction of the anophthalmic orbit. *Aesth Plast Surg*. 1987;11:229-39.

Hakelius L, Ohlson L. Tendency to capsular contracture around smooth and textured gel-filled silicone mammary implants: a five-year follow-up. *Plast Reconstr Surg*. 1997;100:1566-9.

Hornblass A, Biesman BS, Eviatar JA. Current techniques of enucleation: a survey of 5,439 intraorbital implants and a review of the literature. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 1995;11(2):77-86; discussion 87-8.

Hsu WC, Green JP, Spilker MH, Rubin PA. Primary placement of a titanium motility post in a porous polyethylene orbital implant: animal model with quantitative assessment of fibrovascular ingrowth and vascular density. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2000;16:370-9.

Johnson RA, Wichern DW. Applied multivariate statistical analysis. 5th ed. New Jersey: Prentice-Hall; 2002.

Jordan DR, Hwang I, McEachren T, Brownstein S, Gilberg SM, Hill B, et al. Brazilian Hydroxyapatite implant. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2000a;16:363-9.

Jordan DR, Mawn LA, Brownstein S, McEachren TM, Gilberg SM, Hill V, et al. The bioceramic orbital implant: a new generation of porous implants. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2000b;16:347-55.

Jordan DR, Hwang I, Brownstein S, McEachren T, Gilberg S, Grahovac S, et al. The Molteno M-sphere. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2000c;16:356-62.

Jordan DR, Brownstein S, Gilberg S, Matthew B, Mawn L, Khouri L. Investigation of a bioresorbable orbital implant. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2002;18:342-8.

Jordan DR, Brownstein S, Faraji H. Clinicopathologic analysis of 15 explanted hydroxyapatite implants. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2004a;20:285-90.

Jordan DR, Brownstein S, Dorey M, Yuen V, Gilberg S. Fibrovascularization of porous polyethylene (Medpor) orbital implant in a rabbit model. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2004b;20:136-43.

Jordan DR, Klapper SR. The role of various types of implants and the efficacy of pegged and nonpegged approaches. *Int Ophthalmol Clin*. 2006;46:109-32.

Karesh JW, Dresner SC. High density porous polyethylene (Medpor) as a successful anophthalmic socket implant. *Ophthalmology*. 1994;101:1688-96.

Karesh JW. Biomaterials in ophthalmic plastic and reconstructive surgery. *Curr Opin Ophthalmol*. 1998;9:66-74.

Klapper SR, Jordan DR, Ellis A, Grahovac S. Hydroxyapatite orbital implant vascularization assessed by magnetic resonance imaging. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2003;19:46-52.

Kierszenbaum AL. Histologia e biologia celular: uma introdução à Patologia. Rio de Janeiro: Elsevier; 2004. p.103-243.

Krastinova D, Mihaylova M, Kelly MB. Surgical management of the anophthalmic orbit, part 2: post-tumoral. *Plast Reconstr Surg*. 2000;108:827-37.

Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins & Cotran bases patológicas das doenças. 7th ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005.

La Trenta GS. Breast augmentation. *Aesthetic plastic surgery*. 2nd ed. Philadelphia: Saunders; 1994. p.1003-49.

Lee BJ, Lewis CD, Perry JD. Exposed porous orbital implants treated with simultaneous secondary implant and dermis fat graft. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2010;26:273-6.

Lin CJ, Liao SL, Jou JR, Kao SC, Hou PK, Chen MS. Complications of motility peg placement for porous hydroxyapatite orbital implants. *Br J Ophthalmol*. 2002;86:394-6.

Massry GG, Holds JB. Coralline hydroxyapatite spheres as secondary orbital implants in anophthalmos. *Ophthalmology*. 1995;102:161-6.

Migliori ME. Enucleation versus evisceration. *Open Ophthalmol*. 2002;13:298-302.

Moura EM, Vieira GSS. Uso do implante esférico Medpor ®: análise de 61 cirurgias orbitárias. *Arq Bras Oftalmol*. 2007;70:7-12.

Mules PH. Evisceration of the globe, with artificial vitreous: 1884-1895. *Adv Ophthal Plast Reconstr Surg*. 1990;69-72.

Nunery WR, Cepela MA, Heinz GW, Zale D, Martin RT. Extrusion rate of silicone spherical anophthalmic socket implants. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 1993;9:90-5.

Nunez Sanches A, Reche Sainz JA, Sanz Lopez A, Mateos Sanchez E, Garcia Llanes G, San Miguel Fraile P, et al. Integration of orbitary polyethylene implants (MEDPOR). Histologic study. Arch Soc Esp Oftalmol. 2001;76:25-9.

Palhares AA. Avaliação da ação do Laser de Baixa Intensidade sobre a cápsula de implantes mamários de silicone: estudo experimental em ratos [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista; 2007.

Park JB. Biomaterials: an introduction. New York: Plenum Press; 1979.

Perry AC. Integrated orbital implants. Adv Ophthalmic Plast Reconstr Surg. 1990;8:75-81.

Perry JD, Goldberg RA, Mccann JD, Shorr N, Engstrom R, Tong J. Bovine hydroxyapatite orbital implant: a preliminar report. Ophthal Plast Reconstr Surg. 2002;18:268-74.

Perry JD, Lewis CD, Levine M. Evisceration after complete evaluation an acceptable option. Arch Ophthalmol. 2009;127:1227-8.

Ranzani JJ, Rahal SC, Schellini SA, Marques MEA, Taga EM. Repair of the anophthalmic cavity of rats with synthetic hydroxyapatite. Braz J Med Biol Res. 1997;30:1181-6.

Rodrigues AC, Schellini SA, Moraes-Silva MRB, Padovani CR. Fatores relacionados a extrusão do implante de cavidade. Rev Bras Oftalmol. 1997;56:259-64.

Rosen HM. The response of porous hydroxyapatite to contiguous tissue infection. Plast Reconstr Surg. 1991;88:1076-80.

Rootman J, Stewart B, Goldberg RA. Orbital anatomy. In: Orbital surgery: a conceptual approach. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1995. p.79-146.

Sales-Sanz M, Sanz-Lopez A. Four-petal evisceration: a new technique. Ophthal Plast Reconstr Surg. 2007;23:389-92.

Schellini SA, Marques MEA, Rahal SC, Ranzani JJT, Padovani CR. Vegetal polymer in the anophthalmic socket reconstruction. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1996;37 Suppl:502.

Schellini SA, Silva MRBM, Hata MM. Uso da malha tubular de polyester como envoltório do implante de cavidade. *Rev Bras Oftalmol*. 1998;57:207-10.

Schellini SA, Hoyama E, Padovani CR, Ferreira VL, Roça R. Complicações com uso de esferas não integráveis e integráveis na reconstrução da cavidade anoftálmica. *Arq Bras Oftalmol*. 2000;63:175-8.

Schellini SA, Xavier AP, Hoyama E, Rossa R, Pellizzon CH, Marques MEA, et al. Gelatinous polyethylene in the treatment of the anophthalmic cavity. *Orbit*. 2002;3:189-93.

Schellini SA, Padovani CR, Taga EM, Marques ME, Rossa R. Comparison of synthetic hydroxyapatite and porous polyethylene implants in eviscerated rabbit eyes. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2003;19:136-9.

Schellini SA, Ichida FK, Padovani CR. Extrusão dos implantes em portadores de cavidade anoftálmica. *Arq Bras Oftalmol*. 2007;5:70-5.

Schellini AS, Zimmerman GP, Hoyama E, Pellizon CH, Padovani CR, Selva D. Polyethylene gel in the subcutaneous tissue of rats: histopathologic and systemic evaluation. *Orbit*. 2008;27:153-6.

Sebastiá R, Lessa S, Flores EE. Reconstrução da cavidade anoftálmica com implante esférico revestido de enxerto autólogo de fascia lata. *Rev Bras Oftalmol*. 2000;59:132-43.

Shiratori CA, Schellini AS, Marques MEA, Padovani CR, Padovani CRP. Avaliação da gordura orbitária de coelhos após enucleação e evisceração. *Arq Bras Oftalmol*. 2005;68:631-3.

Sires BS, Holds JB, Archer CR. Postimplantation density changes in coralline hydroxyapatite orbital implants. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 1998;14:318-22.

Soares EJC, França VP, Wykrota L, Stumps S. Clinical evaluation of a new Bioceramic ophthalmic implant. *Orbit*. 1995;14:137-46.

Soares EJC, Moura EM, Gonçalves JOR. *Cirurgia plástica ocular*. São Paulo: Roca; 1997.

Spauding K. Eye and orbit. In: Pennick D, Anjo MA. *Atlas of small animal ultrasonography*. Iowa: Blackwell Publishing; 2008. Chap. 2, p.49-90.

Stewart B, Rootman J, Goldberg RA. Orbital anatomy. In: Rootman J, Stewart B, Goldberg RA. *Orbital surgery: a conceptual approach*. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1995. p.79-146.

Su GW, Yen MT. Current trends in managing the anophthalmic socket after primary enucleation and evisceration. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2004;20:274-80.

Thakker MM, Fay A, Pieroth L, Rubin, P. Fibrovascular ingrowth into hydroxyapatite and porous polyethylene orbital implants wrapped with acellular dermis. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2004;20:368-73.

Tonkelaar J, Henkes HE, Leersun GK. Herman Snellen (1834-1908) and Muller "reform-augé". A short story of the artificial eye. *Doc Ophtalmol*. 1991;77:349-54.

Tyers AG, Collin JRO. *Colours Atlas of Ophthalmic Plastic Surgery*. 2nd ed. Boston: Butterworth-Heinemann; 2001.

Vittorino M, Serrano F, Suárez F. Enucleation and evisceration: 370 cases review. Results and complications. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2007;82:495-99.

Xavier AP, Schellini SA, Aragon FF, Padovani CR, Taga EM. Short term evaluation of non-absorbable microgranular hydroxyapatite infiltration in the *Guinea Pig* subepidermal abdominal region. *Braz J Med Biol Res*. 2002;35:69-73.

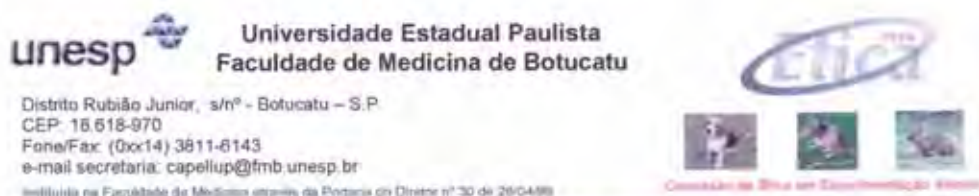
Yamamoto ES, Hoyama E, Schellini AS, Padovani CR. Avaliação ultrassonográfica do implante orbitário em cavidade anoftálmica. *Rev Bras Oftalmol*. 2001;60:637-42.

Zide BM. Surgical anatomy around the orbit – the system of zones. Rio de Janeiro:Di Livros Editora; 2006. p.1-17.

Apêndice

8 APÊNDICE

8.1. Comitê de Ética

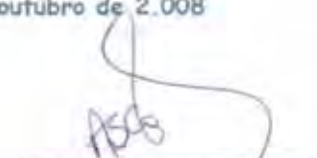


CERTIFICADO

CERTIFICAMOS que o Protocolo n.º 701 sobre o Projeto de Pesquisa "Estudo comparativo entre as esferas de silicone gelatinosas e rígidas em cavidade eviscerada de coelho", a ser conduzido por Mayumi S. Kanamura, orientada pela Prof.ª. Dr.ª. Silvana Artioli Schellini, com a colaboração dos Drs. Claudia Helena Pellizon e Carlos Roberto Padovani, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), com a ressalva que os "coelhos" são provenientes de Biotério convencional, sem condições de certificar a sanidade dos mesmos.

Projeto de Pesquisa Aprovado em 30 de outubro de 2.008


Prof. Dr.ª Regina Helena G. Martins
Presidente da CEEA


Alberto Santos Capelluppi
Secretário da CEEA

Recomendação:

- Definir a dose de pentobarbital sódico na anestesia em 20-30mg/Kg EV;
- Recomendamos analgesia pós operatória (piroxicam 0,2mg/Kg VO 8/8hs).