

João Edward Soranz Filho

O Uso de Implantes Orbitários no reparo de Cavidades Anoftálmicas

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Campus de
Botucatu, para obtenção do título de
Mestre em Bases Gerais da Cirurgia.

Orientadora: Profa. Dra. Cláudia Helena Pellizzon

Botucatu
2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE

Soranz Filho, João Edward.

O uso de implantes orbitários no reparo de cavidades anoftálmicas / João Edward Soranz Filho. - Botucatu, 2011

Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2011

Orientador: Cláudia Helena Pellizzon

Capes: 40101177

1. Implantes artificiais. 2. Polietileno. 3. Coelho. 4. Cavidades anoftálmicas.

Palavras-chave: Cavidade orbitária; Coelhos; Implantes.



Dedicatória

Sob os olhares do nosso criador; Deus, regente do nosso rumo, este trabalho é dedicado a todas as pessoas que se envolveram em uma luta incansável, para auxiliar nossos semelhantes que necessitam uma solução para suas deficiências físicas, auxiliando na sua trajetória nesta vida.

*Tudo tem seu **T**empo*



Agradecimento Especial

*À **Maria Beatriz**, minha esposa cuja dedicação incondicional a nossa família, somente tem uma definição, amor.*

*A os meus filhos **Fábio, Maria Silvia e Fernando**, a razão da nossa existência.*

*A o meu irmão, **José Francisco**, aonde encontrei apoio para realizar este projeto.*



Agradecimientos

No processo do desenvolvimento deste experimento, listei na ordem cronológica dos acontecimentos, as pessoas que foram as responsáveis pela realização deste trabalho o qual seria impossível sua finalização sem a ajuda de vocês.

Prof. Dr. João Alberto Holanda de Freitas, responsável por várias gerações de oftalmologistas, a quem devo a orientação e indicação para o início do mestrado

Prof^a. Dra Silvana Artioli Schellinni, pela prontidão em auxiliar e indicar os caminhos para viabilizar este projeto.

Sr. Fernando Soranz, meu primo irmão, cuja capacidade de concretizar idéias, tornou possível este trabalho; confeccionando os implantes através da *Cloud Tecnologia e Informação L tda.*

Prof^a. Dra Cláudia Helena Pellizzon, aonde não existem palavras que possam mostrar minha gratidão pela dedicação, conhecimento e simpatia, que viabilizaram a realização deste trabalho.

Gustavo Mendes, um jovem Físico Médico, cujo empenho no manejo do experimento, determinou a obtenção dos resultados e a finalização do mesmo uma tarefa agradável.

O **Sr. Marcio Ap. Nunes dos Santos**, coordenador do almoxarifado do Hospital Santa Lucinda, auxílio material rápido e preciso, não interrompendo o andamento do experimento.

Sr. Luiz Roberto Tinelli (in memoriam), com sua contribuição material para o experimento.

A **Acecil**, Central de Esterilização Comércio e Indústria Ltda., cuja colaboração sem hesitação em proceder a esterilização dos implantes, auxiliou no desenrolar do experimento.

As bibliotecárias da PUC-Sorocaba **Isabel Cristina Campos Feitosa, Vera Lúcia de Jesus Mescoki, Camila Palozzo**, que prontamente auxiliaram na pesquisa e busca dos trabalhos para a bibliografia.

Aos funcionários da Cirurgia Experimental, **Marta Regina Russo Sarzi, Carlos Alberto Martins, Florian José Fontana e Vitor Marcos de Souza**, pela dedicação incondicional ao experimento.

A **Maria Silvia**, minha filha, sua ajuda foi imprescindível para a confecção das aulas e manuseio do computador.

A **Maria Beatriz**, minha esposa, cujo auxílio na digitação dos textos, em muito simplificou o meu trabalho.

A s secretárias da Unesp, **Simone Barroso Corvino Camargo** e **Flávia Oliveira Gonçalves**, que sempre me orientaram pelos meandros administrativos.

A os funcionários da Pós Graduação, **Regina Célia Spadin**, **Nathanael Pinheiro Salles**, **Janete Aparecida Herculano Nunes Silva**, **Andrea Paula Longo Devidé**, **Lílian Cristina Nadal Bianchi Nunes** pelo trabalho na orientação dos alunos.

A **Profª. Dra Regina Kiomi Takahira** do Depto de Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Univ. Estadual Paulista e sua equipe, pela inestimável colaboração na finalização do experimento, realizando os exames bioquímicos.

À **Profª. Dra Cláudia Valéria Seullner Brandão**, do Depto. de Cirurgia e Anestesia FMVZ, pela colaboração neste trabalho.



Sumário

Resumo	13
Abstract.....	15
1. Introdução.....	17
2. Objetivos	233
3. Materiais e Métodos	255
3.1. Aprovação do comitê de ética.....	266
3.2. Implante	266
3.3. Interação implante com os tecidos biológicos- estudo preliminar	277
3.4. Animais	299
3.5. Delineamento experimental.....	299
3.6. Procedimento experimental.....	30
3.7. Exames Bioquímicos	32
3.8. Exames Morfológicos	33
3.8.1. Processamento do Material.....	33
3.8.2. Análise microscópica	33
3.8.3. Análise morfométrica	34
3.9. Análise Estatística.....	34
4. Resultados	36
4.1. Resultado de interação tecidual com os implantes- Resultados de estudos preliminares.....	36
4.2. Estudos em Cavidades Anoftálmicas	36
4.2.1. Peso dos animais após o implante	36
4.3. Análises bioquímicas	39
4.4. Análises morfológicas.....	42
4.5. Análises morfométricas	45
5. Discussão	46
6. Conclusão	53
7. Referências Bibliográficas	55
7. Anexos	60



Resumo

Alterações oculares, em especial a perda de volume nas cavidades evisceradas, promovem uma série de modificações ao paciente tanto funcional do órgão quanto psicológica e estética. Uma grande preocupação ao longo do tempo é a procura de um material que possa preencher o volume perdido de forma a dar um maior conforto no ponto de visto psicológico e estético ao paciente. Para contribuir nessa direção, esse trabalho teve como objetivo testar experimentalmente prótese de polietileno granulado de ultra-alto peso molecular, material de baixo custo, em órbitas de coelhos submetidos à evisceração cirúrgica em vários tempos experimentais, onde foram avaliados aspectos macroscópicos e microscópicos e de toxicidade sistêmica do material. Os resultados desse trabalho mostram que o material utilizado no implante de cavidade não apresenta alteração significativa nos parâmetros analisados quando comparados ao grupo controle. Sendo resultados bastante promissores indicando que o implante de polietileno poroso desenvolvido por uma indústria nacional tem alto potencial para se realizar testes em humanos.



Abstract

Ocular changes especially the loss of volume in eviscerated cavities promotes several modifications to patients – organ functioning and psychological and esthetical changes. A material that could replace the lost volume in order to guarantee to patients more psychological and esthetical comfort has long been worryingly searched. Contributing in this direction this work aimed at testing experimentally a prosthesis polyethylene granulate of ultra-high molecular weight made of a low cost material to be implanted in orbit of rabbits through surgical evisceration during several experimental times to assess macroscopic and microscopic aspects of systemic toxicity of the respective material. The results show that the material used for the implant of the prosthesis in the cavity does not present significant alteration in the analysed parameters when compared to the control group. Thus, we point with this study promising results indicating that the porous polyethylene implant developed by a national enterprise presents high potential to be tested in humans.



1. Introdução

A falta do globo ocular acarreta uma deformação progressiva, deformação da estética facial, que normalmente nos obriga a intervir cirurgicamente para restaurar a aparência do indivíduo que porventura perde seu olho. Perda essa que pode ser através de uma evisceração, ou seja, uma cirurgia no qual retiramos o “conteúdo” do globo ocular, preservando a esclera e em alguns casos, conserva-se também a córnea; portanto a capa fibrosa do globo ocular fica mantida e em qualquer dessas situações a atrofia da cavidade orbitária é iminente.

Apesar de toda a tecnologia dos dias de hoje, estamos distantes de uma solução prática, acessível economicamente e se possível definitiva para pacientes que necessitam de cirurgia de implantação de prótese orbitária.

Dentre as cirurgias realizadas na órbita, a enucleação é a mais agressiva, já que neste caso realizamos a retirada total do globo ocular, seccionando o nervo óptico e liberando os músculos que se inserem na parede escleral, sendo que esta cirurgia apresenta um resultado menos eficiente que a evisceração, cirurgia para a retirada somente do interior do globo ocular (Soares *et al.* , 1997).

A perda de um olho pode ser um evento traumático na vida de uma pessoa, resultando em problemas não somente clínicos, mas também emocionais. Pacientes com anoftalmia frequentemente apresentam transtornos psíquicos e ou funcionais que dificultam sua readaptação aos meios social, profissional e familiar (Cabral *et al.*, 2008) isso em função do grau de deformidade que pode se instalar, dependendo do tempo da realização da

cirurgia, do tipo do trauma e também do tipo de cirurgia (Anderson *et al.*, 2002; Custer & Trinkaus, 2007).

A reposição do volume da cavidade orbitária deve ser feita por preenchimento completo do volume e sempre que possível com um material que pode ser autólogo, onde um material obtido do próprio indivíduo, como por exemplo, fascia, gordura e osso; homólogo, onde o implante é de um indivíduo doador da mesma espécie; heterólogo, quando é implantado um tecido originário de animais de espécie diferente do indivíduo receptor; aloplástica, onde se implantam diferentes tipos de materiais como metais, elementos sintéticos que podem ser implantados sem rejeição pelo organismo. O tempo em que deve ser colocado o implante é o mais rápido possível; ou seja, de preferência no mesmo tempo cirúrgico da evisceração ou enucleação, procurando evitar a “síndrome da cavidade anoftálmica” (enofalmo, sulco palpebral superior profundo, ptose e flacidez da pálpebra inferior) (Samiet *al.*, 2007). Osborne *et al.* (1974) mostram a diferença entre indivíduos que foram enucleados antes dos 15 anos e não receberam próteses orbitárias, apresentando 15% a menos de desenvolvimento orbitário, comparado com os 8% de crescimento que apresentaram os que tiveram o implante, porém, não somente alterações em crianças levam a alteração da órbita, nos adultos com comprometimento do conteúdo orbitário, da mesma forma encontramos contração dos tecidos orbitários e periorbitários, agravados pelos casos em que encontramos infecção orbitária avançada (Habal, 1987).

As tentativas de recompor estética e fisiologicamente as cavidades orbitárias remontam 2000 A.C., onde egípcios cobriam cavidades orbitárias

com próteses orbitárias externas confeccionadas com prata e pedras preciosas (DenTonkelaar *et al.*,1991), da mesma forma gregos e após romanos utilizaram materiais diversos para confecção de olhos, das suas estátuas. A evolução destes artefatos, encontramos no Egito (283-247 DC), já com variações para ser usada sobre a pálpebra, e também sob a pálpebra. Em 1510, encontramos uma descrição mais sofisticada das antigas próteses, para serem adaptadas sobre as pálpebras, sendo que Hazard-Mirault (1755-1822) modificaram as próteses de Paré, as quais eram confeccionadas em couro por uma modelagem em gesso, sendo confeccionadas em metal, vidro, e colocadas sobre os olhos atróficos. (DenTonkelaar *et al.*,1991)

Com a evolução dos procedimentos da enucleação e evisceração a partir do século XIX, as próteses passaram a ser adaptadas dentro da cavidade orbitária, com um senão, o volume ainda era muito grande, devido à necessidade de preencher um volume grande, devido a enucleação ou evisceração, sem reposição do conteúdo.

Uma contribuição importante veio com as esferas de vidro de Mules preenchendo as cavidades evisceradas, o que melhorou significativamente as próteses e a estética das órbitas. Uma variação foi criada por Frost, com o implante da cápsula de Tenon (Soll, 1987).

Na cronologia da evolução dos implantes, aparecem com os irmãos Müller, com um tipo de esfera para preenchimento da cavidade muito leve para os padrões da época (DenTonkelaar *et al.*, 1991) passando a ser muito utilizada. Com o início da 2ª Guerra Mundial o trabalho da fábrica de implantes foi interrompido devido a bombardeios; em contrapartida o número de

mutilados aumentou, levando a procura de alternativas que vieram a minimizar o impacto da mutilação, apareceram os implantes metálicos (Ruedemann) o polimetilmetacrilato (PMMA), silicone (Hornblasset *et al.*, 1995).

O PMMA ainda muito usado é um material sintético, leve, barato e inerte, com baixo índice de rejeição, semelhante às esferas de vidro é classificado como um material biocompatível, sendo o implante mais utilizado no século passado, com variadas técnicas associadas às cirurgias, encontra grande quantidade de bons resultados quando associada a alguns materiais autólogos ou heterólogos utilizadas para revestir a esfera lisa de PMMA, o que diminui a possibilidade de extrusão com melhor aceitação pela cavidade receptora (Rubin *et al.*, 1994) .

Dentre os materiais para implante orbital o conceito de biointegráveis passou a ser bastante interessante, a hidroxiapatita (HA) natural utilizada amplamente pela odontologia e na ortopedia, em função da capacidade de integração ao organismo receptor, através de uma invasão fibrosa altamente vascularizada, diminuindo a possibilidade de extrusão, temida nos implantes lisos biocompatíveis (Perry, 1990). Entretanto, é um material que apresenta problemas em relação a esses implantes, em função de ser uma fonte esgotável e de custo elevado (Goiato *et al.*, 2010).

Com o desenvolvimento da hidroxiapatita sintética, com características química e funcionais semelhantes a hidroxiapatita natural. (Constantino *et al.*, 1992), Schellini *et al.*(1998) mostraram que o carbonato de cálcio presente na hidroxiapatita natural ou sintética podem provocar fagocitose e metaplasia

óssea nos receptor; porém, foram os implantes mais usados na década passada nos EUA, com boa integração e mobilidade.

O Biovidro, um material biocompatível, vem sendo discutido amplamente na literatura, com grandes avanços em implantes nas últimas décadas, sendo que a terceira geração de Bioglass® apresentou resultados importantes na regeneração e reparação dos tecidos nos locais onde foram utilizados, devido à ativação dos genes nos tecidos vivos (Brandão, 2010).

Outro material surge no cenário dos implantes, o polietileno poroso (PP); constituído de polietileno de ultra-alto peso molecular, descrito na literatura como não tóxico e inerte (Rubin, 1983; Warnen, 1990). O implante de PP é mais barato, feito de materiais que não causam dano ambiental e sua biocompatibilidade e complicações são comparáveis ao implante de HA (Goiato *et al.*, 2010)

Além disso, ao comparar ambos os implantes, Sadiq *et al.* (2008) mostram que o implante de PP possui melhor mobilidade pelo fato de que pode ser suturado junto ao músculo resultando em uma melhor transmissão da contração propiciando a movimentação da prótese. O implante de PP pode ser utilizado com sucesso como implante em cirurgia orbitária, em cavidades anoftálmicas, com o mínimo de complicações. O material, PP, é bem tolerado, tem excelente biocompatibilidade, baixa taxa de infecção e de migração (Chen & Cui, 2006; Goiato *et al.*, 2010).

2. Objetivos

Com objetivo de desenvolver um material de baixo custo, produzido com tecnologia nacional para próteses orbitárias usando um modelo experimental para demonstrar a viabilidade da utilização de um material biocompatível, para ser utilizado em reparação de cavidades anoftálmicas de coelhos, com avaliações em diferentes momentos após a implantação. Assim como avaliar a biocompatibilidade das esferas de polietileno granulado de ultra-alto peso molecular implantadas em cavidade orbitária eviscerada de coelhos, verificando possíveis alterações celulares e de toxicidade.



3. Materiais e Métodos

3.1. Aprovação do comitê de ética

Todos os procedimentos foram de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimental (COBEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEa), protocolo nº 77/08-CEEa/IBB UNESP.

3.2. Implante

Foram utilizados implantes esféricos de polietileno granulado de ultra-alto peso molecular. A empresa que forneceu e produziu as esferas foi a **Cloud Tecnologia Informação Ltda.**, localizada no município de Sorocaba, estado de São Paulo. Os implantes utilizados possuíam porosidade diferenciada com definição da empresa de 0 à 03. Os implantes apresentam as seguintes características físico-químicas, composto por um pó de polietileno linear de média densidade de ultra-alto peso molecular 2×10^6 g/mol, classificado como não tóxico e inerte, com ponto de fusão entre 125 a 135 °C, com densidade de 0,920- 0,935 g/cm³ e não solúvel.

3.3. Interação implante com os tecidos biológicos- estudo preliminar

Para o procedimento de verificação da interação do implante com os tecidos biológicos.

Para tanto foram utilizados ratos linhagem *Wistar* machos adultos que foram separados aleatoriamente em dois grupos de modo que um grupo permanecesse com implante no dorso por 7 e 14 dias, subdivido em 4 subgrupos com implantes com porosidades distintas variando de 00 a 03 conforme orientação do fabricante.

Em cada rato foram inseridos dois tipos de implante de maneira que todos os tipos permanecessem durante os períodos estipulados. O tipo de placa que apresentou melhores resultados foi então, a utilizada para este projeto.



Figura 1: Fotografias representativas de interação tecidual com os implantes nos estudos preliminares em ratos onde o material de diferentes porosidades permaneceu 14 dias. Em A região da implantação; em B porosidade 00; em C porosidade 01; em D porosidade 02; em E porosidade 03.

Quatro tipos de implantes foram utilizados nesse teste em que cada tipo possuía um grau de porosidade. Em cada rato foram inseridos dois tipos de implante de maneira que todos os tipos permanecessem durante os períodos estipulados. O tipo de placa que apresentou melhores resultados foi então, a utilizada para este projeto.

3.4. Animais

Foram utilizados 48 coelhos da espécie *Oryctolagus cuniculus*, de ambos os sexos e idade entre 3 (três) e 6 (seis) meses, provenientes do Biotério Central da UNESP, Campus de Botucatu.

Os coelhos foram subdivididos aleatoriamente em quatro grupos, conforme o momento de sacrifício. Cada grupo com 12 animais, dos quais 10 receberam o implante e dois, foram considerados como grupo controle, sendo eviscerados e não recebendo nenhum tipo de implante.

3.5. Delineamento experimental

Os animais foram divididos em grupos experimentais os quais foram sacrificados em diferentes tempos experimentais com 15, 30, 90 e 180 dias.

No momento do início do experimento todos os animais foram submetidos a retiradas de sangue para análise de toxicidade, esse período foi denominado de Momento P0.

Os coelhos com implante na cavidade eviscerada tiveram o sangue coletado para exames bioquímicos e após o que, foram sacrificados; estão classificados nos seguintes momentos:

- **Momento P₁:** onde os animais foram sacrificados com 15 dias pós implante;
- **Momento P₂:** onde os animais foram sacrificados com 30 dias pós implante;
- **Momento P₃:** onde os animais foram sacrificados com 90 dias pós implante;
- **Momento P₄:** onde os animais foram sacrificados com 180 dias pós implante.

Foram utilizados como controle, os animais que tiveram a cavidade orbitaria direita eviscerada no P0 e sacrificada nos mesmos períodos descritos anteriormente para cada grupo.

3.6. Procedimento experimental

Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados no Laboratório de Cirurgia Experimental do Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço, da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP sendo realizados sob condições de assepsia e antissepsia, conforme descrito a seguir.

Roteiro do procedimento cirúrgico:

- a)** Os animais previamente divididos nos diferentes tempos experimentais, foram anestesiados com Zoletil® na dose de 15mg/kg associada com Xilazina 0,015mg/kg;
 - b)** De todos os animais, foram retirados sangue da veia auricular para testes de toxicidades; e anestesiados.
 - c)** Os animais foram submetidos assepsia e antissepsia do olho direito, com colocação do campo oftálmico e blefarostato;
 - d)** Realizado incisão na conjuntiva bulbar superior e isolado o músculo reto superior.
 - e)** Foi realizada a abertura escleral feita com bisturi lâmina 15;
 - f)** Foi feita a evisceração do conteúdo do olho direito e colocação da esfera conforme grupo experimental e sutura da incisão foi feito com pontos de Mersilene 6-0;
 - g)** Os animais foram analisados diariamente por observação feita sob a luz ambiente analisando os sinais que denotassem alterações sistêmicas ou no sítio operatório. A saúde geral do animal foi estimada pela atividade, apetite, atitude na gaiola e pesagens semanais. Uma atenção especial foi dada nos locais da região orbitária direita, para avaliar se houve a presença de sinais inflamatórios e ou possível infecção, traduzida por secreção, deiscência de sutura conjuntival ou outros sinais possíveis e presentes na face, além da observação da presença da esfera implantada.
-

- h) Transcorrido o tempo experimental nos momentos P1, P2, P3 e P4, foram retirados sangue dos animais pela veia auricular para análise bioquímica e posteriormente submetidos a uma *overdose* de anestésicos de Xilazina 0,10mg/kg.
- i) Após a morte do animal, os olhos direitos foram enucleados e colocados em fixador histológico.

3.7. Exames Bioquímicos

As amostras de sangue coletadas imediatamente antes do início da cirurgia e do sacrifício foram processadas no Laboratório Clínico Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP de Botucatu/SP, Departamento de Clínica Veterinária.

Para cada amostra de sangue retirado antes dos experimentos e posterior ao tempo experimental, realizaram-se exames para verificação de possível repercussão sistêmica decorrente da implantação na cavidade orbitária. Foram feitos os seguintes exames para verificação da função hepática: AST (Aspartato Aminotransferase) e ALT (Alanina Aminotransferase), antigamente chamadas de TGO (Transaminase Glutâmica Oxalacética) e TGP (Transaminase Glutâmica Pirúvica), respectivamente; FA (Fosfatase Alcalina) – usado também para verificar função cardíaca - e GGT (Gama-glutamilttransferase). O exame de uréia e creatinina foi feito para verificação da função renal, sendo esta relação um bom indicador do catabolismo proteico (Fleury, Manual de Exames, 1999).

3.8. Exames Morfológicos

3.8.1. Processamento do Material

Os olhos enucleados foram previamente fixados em formol tamponado 10% por 24 horas a 4 °C, onde foram processados no auto técnico LEICA TP 1020 (Alemanha), onde as amostras foram colocadas em série crescente de álcool 80% a 100%, diafanizados em xilol em 3 banhos e por fim infusão de parafina a temperatura de 50 °C a 60 °C, cada um dos banhos estava programado para ter duração de 1 hora. Em seguida as amostras foram levadas ao inclusor LEICA EG 1160 (Alemanha) para inclusão em paraplast, posteriormente as amostras foram cortadas em micrótomo rotativo LEICA RM 2155 (Alemanha). As amostras foram cortadas com 5 µm em lâminas histológicas KNITTEL (Alemanha), deixando em estufa a 60 °C por aproximadamente por 1 hora, para aderência da amostra à lâmina.

As lâminas com as amostras foram coradas no Auto-Stainer XL LEICA (Alemanha) com a técnica de Hematoxilina e Eosina (Behmer *et al.*, 1976) e colocadas as lâminulas KNITTEL no aparelho LEICA CV 5000.

3.8.2. Análise microscópica

Com as lâminas histológicas previamente coradas foram avaliados em microscópio LMBD LEICA acoplado ao software LEICA Q-Win, onde foi analisada reparação tecidual inflamatória encontrada nos tecidos ao redor do implante.

3.8.3. Análise Morfométrica

Das amostras histológicas obtidas dos animais foram realizadas a quantificação de células totais, por meio de cinco fotomicrografias da esclera.

Para tanto, em cada 5 campos de cada animal foram fotomicrografados no Sistema de Fotomicrografia LEICA no microscópio DMLB LEICA acoplado ao programa Leica Q-Win, e posteriormente essas imagem foram analisadas com o software AVSoftBioview 4 – Seeker Module.

Todos os resultados foram submetidos a análise estatística.

3.9. Análise Estatística

O teste estatístico utilizado para a análise dos pesos dos animais foi de **WilcoxonRank Sum Test** (equivalente ao teste U de Mann-Whitney) utilizando o programa **R** (versão 2.11.1 (31/05/2010)). Para as análises bioquímicas e morfométricos foram utilizado o teste não paramétrico *t-Student* para comparar as médias de duas amostras independentes e aleatórias. (Corder & Foreman, 2009).



4. Resultados

4.1. Resultado de interação tecidual com os implantes- Resultados de estudos preliminares

No estudo preliminar da interação biológica com o implante foi realizado em ratos, nos quais foram implantados, com porosidade diferenciada, de maneira que todos os tipos permanecessem durante os períodos de 7 e 14 dias (fig. 1).

Os quatro implantes fornecidos pela empresa apresentam o mesmo tipo de comportamento quando implantado no subcutâneo de ratos. Em função desse resultado optamos pelo implante 00 para a continuidade dos experimentos.

4.2. Estudos em Cavidades Anoftálmicas

4.2.1. Peso dos animais após o implante

No **gráfico 1** observa-se a variação do peso dos coelhos do grupo de 15 dias ao longo do tempo, os animais apresentaram o mesmo padrão de ganho e peso.

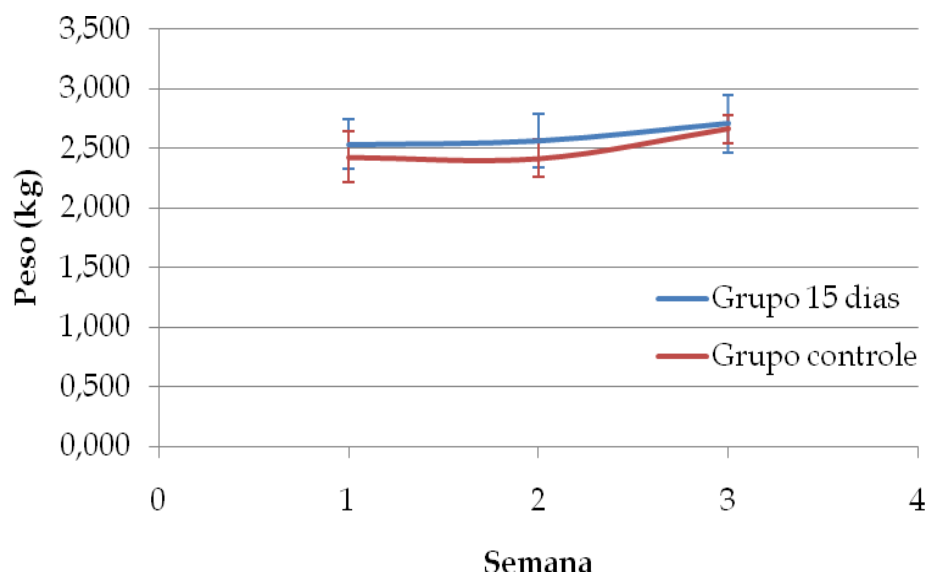


Gráfico 1: Comparação da variação média dos pesos dos coelhos do grupo de 15 dias com o grupo controle em relação ao tempo. Dados expressos em média e desvio padrão. WilcoxonRank Sum Test: $p = 0,6857$, $W = 10$.

Aos 30 dias de permanência com o implante, o padrão de ganho de peso foi muito semelhante ao grupo controle não havendo alterações, esses dados podem ser observados no **gráfico 2**.

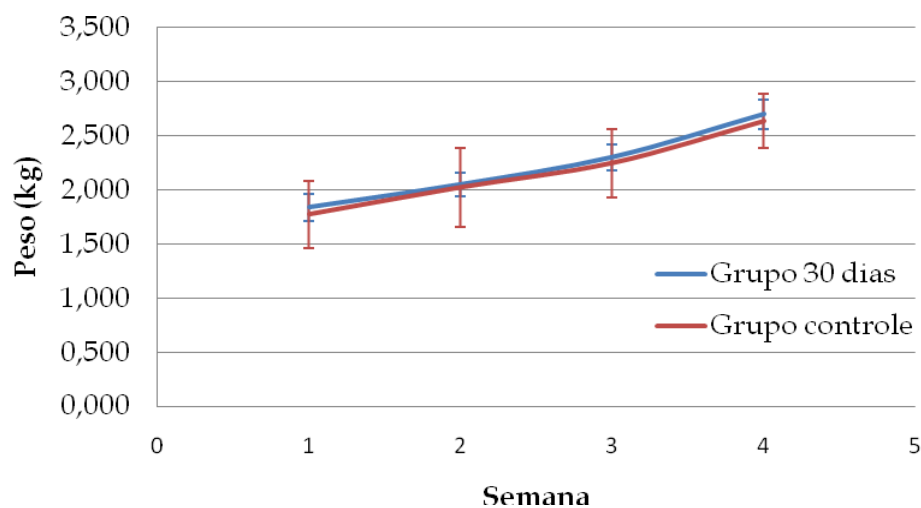


Gráfico 2: Comparação da variação média dos pesos dos coelhos do grupo de 30 dias com o grupo controle em relação ao tempo. Dados expressos em média e desvio padrão. WilcoxonRank Sum Test: $p = 0,6991$, $W = 21$.

O padrão de crescimento corporal apresentado pelo grupo de 90 dias não houve diferença estatística sobre o grupo controle (Gráfico 3).

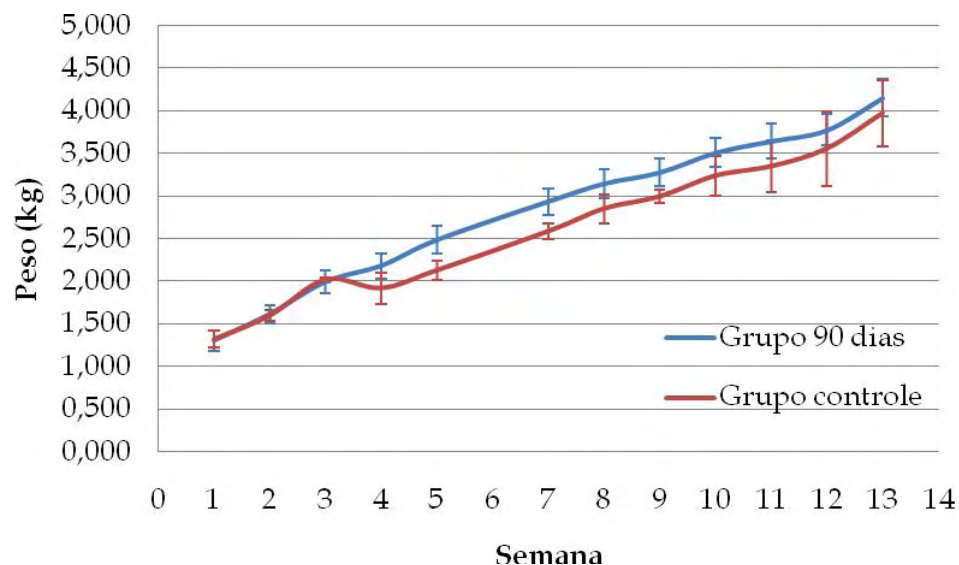


Gráfico 3: Comparação da variação média dos pesos dos coelhos do grupo de 90 dias com o grupo controle em relação ao tempo. Dados expressos em média e desvio padrão. WilcoxonRank Sum Test: $p = 0,5512$, $W = 83$.

Com 180 dias após a implantação, os animais submetidos ao implante e do grupo controle apresentaram um padrão de crescimento idêntico, dado esse corroborado pelo teste de hipótese realizado (*gráfico 4*).

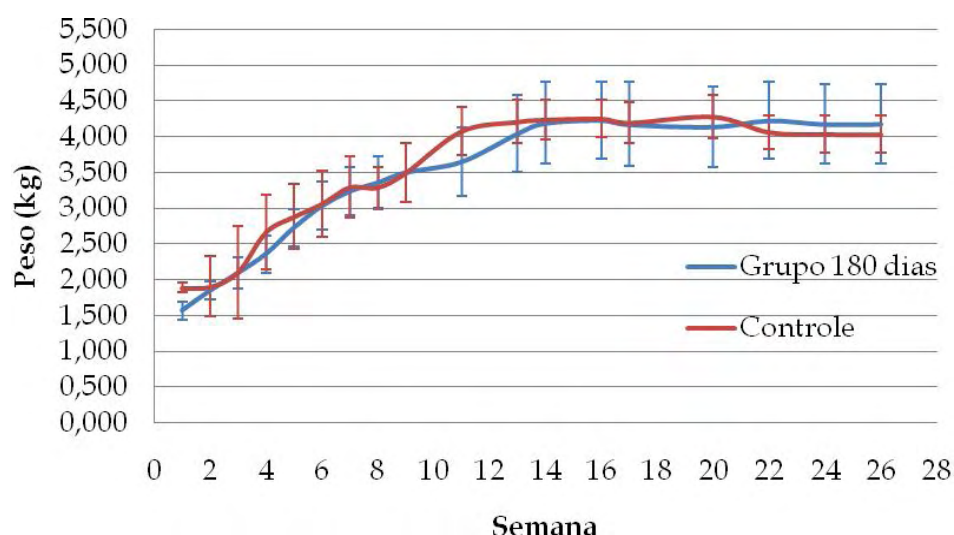


Gráfico 4: Comparação da variação média dos pesos dos coelhos do grupo de 180 dias com o grupo controle em relação ao tempo. Dados expressos em média e desvio padrão. WilcoxonRank Sum Test: $p = 0,4963$, $W = 140$.

Esse resultado permite inferir que o implante não altera o padrão de crescimento dos animais, indicativo clínico importante para esse modelo experimental.

4.3. Análises bioquímicas

Os resultados dos dados de toxicidade feitos por exames de sangue do grupo 15 dias estão contidos na tabela 1. Os dados não foram estatisticamente diferentes, sendo que para todo teste t realizado em cada exame, $p > 0,05$.

Tabela 1: Resultado do exame de sangue das amostras coletadas imediatamente antes da cirurgia (inicial) e no momento do sacrifício (final) para o grupo 15 dias. Dados expressos em média $\pm$ desvio padrão. Teste t, $p > 0,05$.

Exame	Inicial		Final	
	Grupo 15 dias	Controle	Grupo 15 dias	Controle
Ureia (mg/dl)	32,6 $\pm$ 5,5	31,8 $\pm$ 6,5	41,3 $\pm$ 16,2	43,6 $\pm$ 6,4
Creatinina (mg/dl)	0,9 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,1	1,3 $\pm$ 0,4	1,2 $\pm$ 0,1
ALT (U/l)	21,1 $\pm$ 12,0	21,7 $\pm$ 8,5	18,2 $\pm$ 13,5	14,0 $\pm$ 1,4
AST (U/l)	20,0 $\pm$ 13,4	17,7 $\pm$ 5,8	14,9 $\pm$ 5,2	18,0 $\pm$ 1,4
FA (U/l)	139,3 $\pm$ 34,1	172,7 $\pm$ 41,4	128,1 $\pm$ 22,1	149,5 $\pm$ 27,7
GGT (U/l)	8,6 $\pm$ 4,1	7,7 $\pm$ 0,6	13,2 $\pm$ 3,8	13,0 $\pm$ 1,4

Para o grupo de 30 dias, os resultados estão representados na tabela 2.

Pode ser observado que dentre os resultados do teste t, apenas os denotados por asterisco tiveram $p < 0,05$.

Tabela 2: Resultado do exame de sangue das amostras coletadas imediatamente antes da cirurgia (inicial) e no momento do sacrifício (final) para o grupo 30 dias. Dados expressos em média $\pm$ desvio padrão.

Exame	Inicial		Final	
	Grupo 30 dias	Controle	Grupo 30 dias	Controle
Ureia (mg/dl)	40,1 $\pm$ 4,1*	34,8 $\pm$ 0,1*	49,5 $\pm$ 9,5*	47,1 $\pm$ 0,8*
Creatinina (mg/dl)	1,0 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,1	1,4 $\pm$ 0,1	1,5 $\pm$ 0,2
ALT (U/l)	15,1 $\pm$ 3,9*	10,0 $\pm$ 0,1	19,8 $\pm$ 5,6	11,0 $\pm$ 1,4*
AST (U/l)	13,4 $\pm$ 4,8	15,0 $\pm$ 7,1	16,7 $\pm$ 5,1	13,5 $\pm$ 7,8
FA (U/l)	142,9 $\pm$ 35,9*	189,0 $\pm$ 8,5	140,1 $\pm$ 45,6	131,0 $\pm$ 33,9
GGT (U/l)	6,9 $\pm$ 1,1	7,5 $\pm$ 0,7	10,4 $\pm$ 3,4	12,0 $\pm$ 2,8

* Teste t-Student, $p < 0,05$, $t < 4,654$, GL < 9 .

Na tabela 3 observa-se os resultados dos exames de sangue dos coelhos do grupo 90 dias, nesse período experimental não houve diferença estatisticamente significativa para qualquer parâmetro analisado.

Tabela 3: Resultado do exame de sangue das amostras coletadas imediatamente antes da cirurgia (inicial) e no momento do sacrifício (final) para o grupo 90 dias. Dados expressos em média $\pm$ desvio padrão. Teste t, $p > 0,05$.

Exame	Inicial		Final	
	Grupo 90 dias	Controle	Grupo 90 dias	Controle
Ureia (mg/dl)	46,3 $\pm$ 6,6	40,9 $\pm$ 4,0	58,6 $\pm$ 15,5	59,4 $\pm$ 0,1
Creatinina (mg/dl)	1,0 $\pm$ 0,1	1,2 $\pm$ 0,2	1,3 $\pm$ 0,2	1,2 $\pm$ 0,1
ALT (U/l)	22,0 $\pm$ 13,2	15,5 $\pm$ 2,1	19,4 $\pm$ 17,9	16,0 $\pm$ 0,1
AST (U/l)	8,4 $\pm$ 5,9	21,0 $\pm$ 1,4	17,4 $\pm$ 8,4	26,0 $\pm$ 7,1
FA (U/l)	171,6 $\pm$ 51,2	230,0 $\pm$ 49,5	94,3 $\pm$ 39,9	123,0 $\pm$ 38,2
GGT (U/l)	6,6 $\pm$ 1,8	9,0 $\pm$ 2,8	9,2 $\pm$ 1,8	11,5 $\pm$ 4,9

Com 180 dias após o implante de polietileno poroso os animais não apresentaram alterações significativas dos parâmetros de ureia, creatinina, ALT, AST, FA e GGT (tabela 4).

Tabela 4: Resultado do exame de sangue das amostras coletadas imediatamente antes da cirurgia (inicial) e no momento do sacrifício (final) para o grupo 180 dias. Dados expressos em média $\pm$ desvio padrão. Teste t, $p > 0,05$.

Exame	Inicial		Final	
	Grupo 180 dias	Controle	Grupo 180 dias	Controle
Ureia (mg/dl)	30,3 $\pm$ 4,6	34,9 $\pm$ 5,4	50,9 $\pm$ 11,2	50,3 $\pm$ 10,3
Creatinina (mg/dl)	0,7 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,1	1,5 $\pm$ 0,2	1,7 $\pm$ 0,2
ALT (U/l)	9,7 $\pm$ 2,9	8,7 $\pm$ 4,7	26,8 $\pm$ 14,6	20,7 $\pm$ 9,2
AST (U/l)	10,8 $\pm$ 2,4	13,3 $\pm$ 5,5	31,5 $\pm$ 11,3	24,0 $\pm$ 8,2
FA (U/l)	151,3 $\pm$ 19,1	122,3 $\pm$ 27,6	41,9 $\pm$ 18,6	30,3 $\pm$ 5,8
GGT (U/l)	8,1 $\pm$ 0,8	6,3 $\pm$ 1,5	12,4 $\pm$ 7,7	11,7 $\pm$ 1,5

Os dados das tabelas 1 a 4 mostram que o material implantado não apresenta alterações bioquímicas importantes, indicando que pode apresentar um grande potencial para estudos futuros para utilização em humanos. Esses dados são compatíveis com as observações clínicas de ganho de peso descrito anteriormente.

4.4. Análises morfológicas

Os animais submetidos a enucleação da cavidade orbitária e implantados com a prótese de PP apresentaram um bom desenvolvimento clínico e com reposição de volume adequada em todo período experimental, como pode ser observado na Fig. 2. Quando analisada a interação da prótese com o tecido biológico do animal observa-se uma interação bastante satisfatória não sendo observados processos inflamatórios e alterações da esclera ao redor da cavidade. No interior do implante pode-se notar a presença de tecido biológico promovendo o preenchimento (fig. 3).

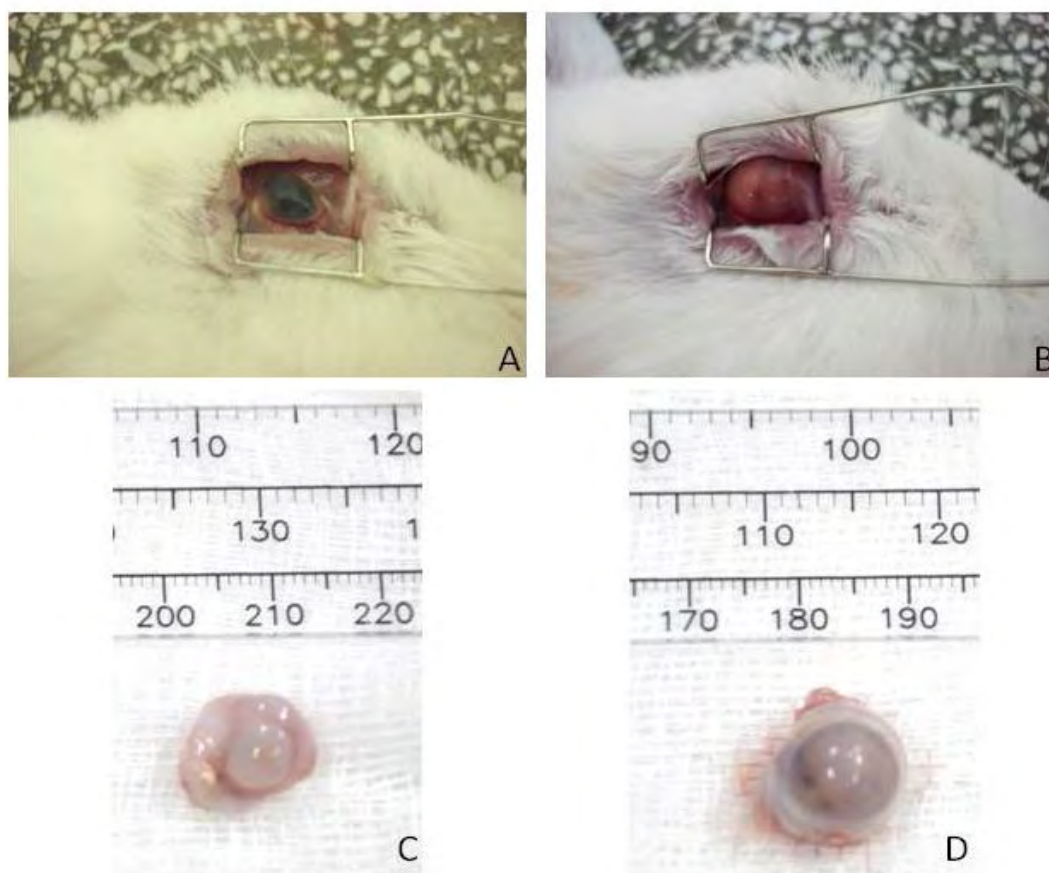


Figura 2: Fotografia dos olhos dos coelhos submetidos ao implante poroso após 180 dias da implantação. Em A, observa-se o olho do animal controle, sem a reparação do volume da cavidade após a enucleação, onde pode se notar uma alteração de volume da cavidade bastante significativa em C, quando comparada com a do animal submetido ao implante em B e D. Note que no animal submetido ao implante, B, tem um padrão de volume orbitário mantido.

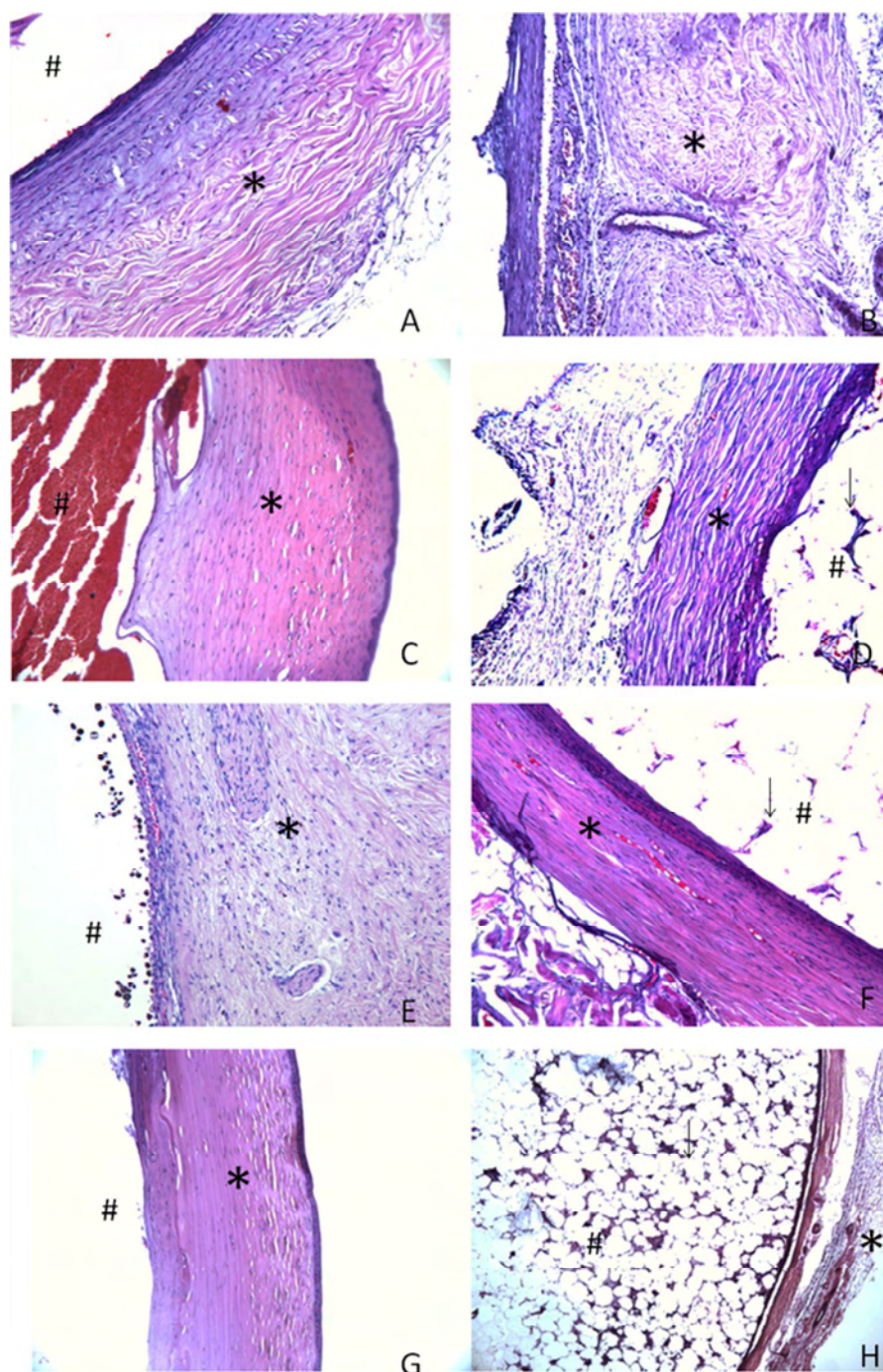


Figura 3: Fotomicrografia dos olhos de coelhos submetidos à evisceração. Fotomicrografias A,C, E e G são dos olhos do grupo controle que foram eviscerados mas não submetidos a reposição da cavidade orbital. Na fotomicrografias B,D, F e H observa-se o material dos olhos do grupo implantado. Onde * é a região da esclera e # é a região da cavidade eviscerada. Note que os grupos implantados apresentam a presença de infiltração tissular (seta),sendo que as fotomicrografias A e B são do grupo com 15 dias após o implante, C e D com 30 dias, E e F com 90 dias e G e H com 180 dias.

4.5. Análises morfométricas

Na tabela 5 estão representados os valores médios dos números de células para cada grupo.

Tabela 5: Contagem de Células Totais em diferentes tempos experimentais após o implante de Polietileno. Valores representados em valores médios dos números de células em cada grupo.

Número de Células Totais		
Grupo	Controle	Implantado
15 dias	1336,00 ± 94,48	1250,26 ± 299,96
30 dias	828,00 ± 310,42	975,94 ± 285,35
90 dias	972,17 ± 71,42	799,23 ± 255,36
180 dias	1267,80 ± 513,59	670,98 ± 241,74

* Testet-Student

Os resultados mostraram que não há diferença do número de células total nos animais dos grupos controle e implantado nos diferentes tempos experimentais.



5. Discussão

Este estudo foi desenvolvido para verificação da interação biológica ao implante de PP desenvolvido por uma indústria nacional para reposição de volume da cavidade orbitária, como alternativa ao uso de próteses importadas.

Estudos com novos biomateriais, sendo este definido como um implante que é colocado em contato com o tecido vivo com o objetivo de recompor alguma parte lesada, ou auxiliar a sua reparação (França *et. al.*, 2005), é fundamental para o uso em implantes oculares uma vez que esse processo é traumático resultando em problemas não somente clínicos, mas também emocionais. Pacientes com anoftalmia frequentemente apresentam transtornos psíquicos e/ou funcionais que dificultam sua readaptação aos meios social, profissional e familiar (Cabral *et al.*, 2008).

Nesse estudo utilizamos um implante produzido de polietileno de ultra-alto peso molecular, elaborado exclusivamente para ser implantado em coelhos. As esferas implantadas apresentavam 10 mm, tamanho considerado ideal para com isso, ser possível manter a córnea do animal (Shiratoriet *al.*, 2005).

A escolha de coelhos, como modelo experimental, foi decorrente do fato de ser um animal interessante para esse estudo de cavidade orbitária, pois apresenta rápido crescimento, órbita pequena, além de ser um animal de obtenção e manejo relativamente fáceis (Shiratoriet *al.*, 2005).

Nossas esferas de PP, que é um polietileno de ultra-alto peso molecular, apresentaram no processo cirúrgico do implante a possibilidade de sutura juntamente com o tecido muscular, fator importante para promover motilidade

da prótese (Chalasaniet *al.*, 2007; Sadiqet *al.* 2008). Com isso, é possível transmitir dessa forma, a movimentação ocular para a prótese e dar a aparência de ser um olho funcional podendo ajudar no aspecto psicológico ao paciente (Cabral *et al.*, 2008)

Os resultados obtidos nesse estudo corroboram a hipótese inicial elaborada sobre a utilização do polietileno granulado como um elemento de implante importante para órbita, em função de não haver alterações nos pesos dos animais, nas análises bioquímicas, de celularidade ao redor do material implantado.

A preocupação com o processo inflamatório e em especial com a extrusão da prótese implantada é bastante recorrente na literatura (para revisão Custer *et al.*, 2007).

Goldberg *et.al.* (1994) avaliando a resposta inflamatória em cavidades de coelhos utilizando esferas de hidroxiapatita natural e Medpor® - polietileno- obtiveram uma maior resposta inflamatória nos animais implantados com hidroxiapatita natural, esse dado indica que o polietileno tem uma reação mais simbiótica com o tecido biológico. Ranzani *et.al.* (1997) observaram células fagocítica, como células gigantes de corpo estranho utilizando hidroxiapatita sintética em cavidade anoftálmica em ratos. Neste trabalho o aspecto morfológico foi analisado de maneira qualitativa, e não foi observado qualquer tipo de alteração que permitisse a identificação de um processo inflamatório fato importante para interação do hospedeiro com o biomaterial utilizado.

O implante usado nesse estudo pode ser interessante para um uso clínico, uma vez que não foram observadas alterações celulares que indicariam processo inflamatório com esse material.

O processo inflamatório promove alteração no número de células, podendo ser altamente lesivo ao paciente, em função de aumento específico de células polimorfonucleares, não observado nesse estudo. Esse estudo apresenta o padrão de incorporação do material implantado pelos tecidos adjacentes com nenhuma reação inflamatória uma condição para que um implante seja considerado ideal, pois apresenta uma melhor biocompatibilidade com o hospedeiro, como descrito por Paulo *et al.* (2005) em implantes de látex abdominais.

A extrusão dos implantes é uma preocupação clínica bastante importante, Custer *et al.* (2007) descreveram em relatos de casuística de extrusão no caso do polietileno poroso sendo de 8,1% em pacientes. Outro material com alto índice de extrusão é a esfera de PMMA (polimetilmetacrilato). Entretanto, esta esfera é a mais utilizada no serviço de saúde e a que mais tempo de observação possui, uma vez que vem sendo empregada há cerca de seis décadas. Essa extrusão pode estar relacionada com alterações do tipo contração da capa escleral no setor posterior, constatada em alguns dos pacientes durante o procedimento cirúrgico, com afinamento da mesma e da conjuntiva no setor anterior, levando à exposição da esfera (Schellini *et al.*, 2007). O processo de extrusão é mais frequentemente observado ao longo do tempo, nos implantes não biointegráveis, no caso dos implantes biointegráveis, costumam ser mais precoce, nesse estudo avaliamos o implante no máximo de

180 dias pós-implante, não foi observado qualquer tipo de indicativo clínico de extrusão do material.

As análises bioquímicas realizadas avaliaram os níveis de Creatinina, uréia, ALT, AST, FA e GGT, todos os nossos dados mostraram que não há alterações significativas entre os grupos controle e implantado.

Órgãos com uma alta concentração de uma enzima têm o potencial para causar um grande aumento na atividade sérica da enzima devido à doença. Por exemplo, o gradiente de concentração intracelular para extracelular de alanina aminotransferase hepatocelular (ALT) é 100.000:1. Lesão dos hepatócitos, portanto, tem o potencial de causar acentuadamente maior da atividade de ALT no soro. Quanto maior gradiente da concentração da enzima ou proteína marcadora entre a célula e o espaço intersticial, mais rápido é a translocação de significativas quantidades da enzima para o espaço intersticial e, finalmente, para o sangue. Da mesma forma, o fígado tem uma grande massa, aumentando assim, o potencial da atividade da ALT (Kaneko *et al.*, 2008). Dentre os resultados obtidos, pode-se observar que para o grupo 30 dias houve uma alteração dos níveis dessa enzima no grupo experimental no início e no grupo controle no final. O uso da prótese não comprometeu essa variação uma vez que no início não havia sua implantação para ambos os grupos e muito menos para o grupo controle no final do período de estudo.

As determinações séricas AST fazem parte de muitos perfis bioquímicos devido à sua sensibilidade relativamente alta para a detecção de lesão hepatocelular, lesão do miócito e à sua estabilidade no soro (Kaneko *et al.*, 2008). Dentre os níveis de AST analisados, não houve alterações significantes

estatísticas quando comparados os grupos controle e experimental para todos os tempos de experimentação.

A localização das enzimas celulares relativas ao sangue, urina ou outros fluidos é um fator significativamente determinante. Especialmente se um aumento na atividade da enzima ocorre, sua liberação pode ser encontrada em fluidos. Um exemplo bem conhecido é o da gama-glutamilttransferas (GGT), localizada na superfície luminal de células epiteliais tubulares renais.

Da mesma forma, a fosfatase alcalina (FA), localizada na superfície luminal dos enterócitos, é perdida para o lúmen intestinal em vez do sangue quando há lesões do enterócito. FA hepatocelular, entretanto, com atividade sobre ambas as superfícies biliares canalicular e senoidal, pode ser aumentada tanto na bile como no sangue.

Entretanto, a FA e GGT, quando ligadas à superfície externa das membranas celulares, são liberadas a partir de células do sangue por mecanismos distintos de enzimas derivadas de citoplasma (Kaneko *et al.*, 2008). Dentre essas enzimas, houve uma alteração apenas da FA para o grupo experimental de 30 dias no início antes da cirurgia, cuja causa claramente não pode ser atribuída ao uso da prótese, uma vez que o metabolismo de FA tem uma origem importante na medula óssea, além da hepática, especialmente em animais jovens (Takahira comunicação pessoal).

A creatinina sérica é o marcador mais usado para o rastreamento da “disfunção renal” (Lessa, 2004). Ela é aumentada em insuficiência renal crônica e aguda, e também em algumas condições que não envolvem diretamente o

rim. É o teste mais utilizado para diagnóstico e monitoramento da doença renal em humanos e animais de patologia clínica. Em coelhos implantados com quitosona porosa com cavidade eviscerada houve uma alteração dos níveis dessa no 7º dia após a cirurgia (Brito *et al.*, 2009). Nesse estudo não houve alteração dos níveis de creatinina durante o tempo experimental.

A ureia é também utilizada frequentemente para a determinação da função renal, mas está sujeita aos mais numerosos fatores extrarrenais de variação. Estas moléculas são quase totalmente eliminadas por filtração glomerular, mas no caso de insuficiência renal sua concentração plasmática aumenta (Kaneko *et al.*, 2008). Nos testes realizados houve alteração na ureia inicial dos grupos experimentais e controle. Entretanto certamente a causa não foi a prótese, uma vez que o sangue foi retirado antes mesmo da cirurgia.



6. Conclusão

Aspectos importantes, tais como, o peso corporal dos animais submetidos ao implante, análises bioquímicas, morfológicas e morfométricas da celularidade dos animais eviscerados e implantados com as nossas esferas testes foi muito semelhante. Indicando que o implante nacional de polietileno de ultra-alto peso molecular é candidato interessante para futuros estudos clínico.



7. Referências Bibliográficas

Anderson RL, Yen MT, Lucci LM, Caruso, RT. The Quasi-integrated porous polyethylene orbital implant. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2002;18:1:50–5.

Behmer AO, Tolosa EMC, Freitas Neto AG. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. São Paulo: Edart; 1976. 241 p.

Brandão SM. Análise de Biocompatibilidade de Cones de Biovidro e Biovitrocerâmico em Cavidade Eviscerada de Coelho. Dissertação. Botucatu. Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho. 2010.

Brito MKM, Schellini SA, Padovani CR, Pellizzon CH, Trindade Neto C. Inclusões de quitosana no subcutâneo de ratos - avaliação clínica, histológica e morfométrica. *An Bras Dermatol*. 2009; 84:1-6.

Cabral LGM, Martelli Júnior H, Leite DM, Sabatini Júnior DS, De Freitas ABDA, Miranda RT, et al. Perfil biopsicossocial de portadores de anofthalmia no sul de Minas Gerais – Brasil. *Arq Bras Oftalmol*. 2008; 71:6:. 855-9.

Chalasani R, Poole-Warren L, Conway RM, Ben-Nissan B. Porous orbital implants in enucleation: asystematic review. *Surv Ophthalmol*. 2007;52:145-55.

Chen Y, Cui H. High density porous polyethylene material (Medpor) as an unwrapped orbital implant. *J Zhejiang*. 2006;7:679-82.

Constantino PD, Friedman CD, Jones K, Chow LC, Sisson GA. Experimental hydroxyapatite cement cranioplasty. *Plast Reconstr Surg*. 1998;90:174-91.

Corder GW, Forman DI. Nonparametric statistics for non-statisticians: a step-by-step approach. New Jersey: Wiley; 2009. 247p.

Custer PL, Trinkaus KM. Porous Implant Exposure: Incidence, Management and Morbidity. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2007;23:1–7.

Den Tonkelaar J, Henkes HE, Leersum GK. Herman Snellen (1834-1908) and Muller “reform-auge”. A short history of the artificial eye. *Doc Ophthalmol*. 1991;77:349-54.

França VP, Figueiredo ARP, Vasconcelos AC, Oréfice 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

Goiato MC, Haddad MF, Dos Santos DM, Pesqueira AA, Ribeiro PP, Moreno A. Orbital implants insertion to improve ocular prostheses motility. *J Craniofac Surg*. 2010; 21:870-5.

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

Habal MB. Aesthetic considerations in the reconstruction of the anophthalmic orbit. *Aesthetic Plast Surg* .1987; 11:4: 229-39.

Hornblass A, Biesman BS, Eviatar JA. Current techniques of enucleation: a survey of 5439 intraorbital implants and a review of the literature. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 1995;11:77-88.

Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical biochemistry of domestic animals. 6th ed. California: Academic Press; 2008. 916p.

Lessa I. Níveis séricos de creatinina: hipercreatininemia em segmento da população adulta de Salvador, Brasil Rev Bras Epidemiol. 2004;176:176-86.

Osborne D, Hadden OB, Deeming LW. Orbital growth after childhood enucleation. Am J Ophthalmol. 1974; 77: 756-9.

Paulo NM, Lima FG, Júnior JTS, Fleury LFF, Santana FJF, Borges AC, et al. Membrana de látex da seringueira (*Hevea brasiliensis*), com e sem polilisina a 0,1% e tela de marlex na reconstrução de defeitos iatrogênicos da parede abdominal de ratos. Acta Cir Bras. 2005;20:305-10.

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

Rubin LR. Polyethylene as a bone and Cartilage substitute: a 32-year retrospective experience. In: Rubin LR. Biomaterial reconstructive surgery St. Louis: Mosby; 1983. p. 474-93.

Rubin PAD, Popham JK, Bilyk JR, Shore JW. Comparison of fibrovascular ingrowth into hydroxyapatite and porous polyethylene orbital implants. Ophthalm Plast Reconstr Surg. 1994; 10:96-103.

Rubin PAD, Popham JK, Bilyk JR, Shore JW. Comparison of fibrovascular ingrowth into hydroxyapatite and porous polyethylene orbital implants. Ophthalm Plast Reconstr Surg. 1994;10:96-103.

Sadiq SA, Mengher LS, Lowry J, Downer R. Integrated orbital implants: a comparison of hydroxyapatite and porous polyethylene implants. Orbit. 2008; 27:37-40.

Sami D, Young S, Petersen R. Perspective on orbital enucleation Implants. *Surv Ophthalmol*. 2007;52:244-65.

Schellini SA, Ichida FK, Padovani CR. Extrusão dos implantes em portadores de cavidade anoftálmica. *Arq Bras Oftalmol*. 2007;70:752-5.

Schellini SA, Marques MEA, Ranzanin JJT, Taga EM. Synthetic hydroxyapatite in anophthalmic socket reconstructive. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998;39:502.

Shiratori CA, Schellini SA, Yamashita S, Padovani CR, Rossa R. Avaliação das dimensões orbitárias de coelhos após enucleação e evisceração *Arq Bras Oftalmol*. 2005;68:2:235-9

Soares EJC, Dantas RRA, MArback R, Matayoshi S, França VP. Cavidades Anoftálmicas. In: Soares EJC, Moura EM, Gonçalves JOP. *Plástica ocular*. São Paulo: Roca; 1997. 372 p.

Soll DB. Evolution and current concepts in the treatment of the anophthalmic orbit. In: Smith BC, Della-Rocca RC, Nesi FA, Lisman RD. *Ophthalmic plastic and reconstructive surgery*. St. Louis: Mosby; 1987. 1328 p.

Warren NP. A short history of total hip replacement. In: Cooms R, Cristina A, Hyngerford D. *Joint replacement: state of art*. St. Louis: Mosby; 1990. 42p.

8. Anexa



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº **77/08-CEEA**, sobre "*Uso de próteses oculares de polietileno granuladocomo biomaterial em cavidades anoftálmicas*", sob a responsabilidade de **CLÁUDIA HELENA PELLIZZON**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado em 11/11/2008 "*Ad referendum*" da **COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL** (CEEA).

Botucatu, 27 de novembro de 2008.


Prof. Dr. MARCELO RAZERA BARUFFI
Presidente - CEEA


NADIA JOVENCIO COTRIM
Secretária - CEEA