

MARCELLO ALBERTON HERDT

**POSSÍVEL MIGRAÇÃO E ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA
DE INJEÇÕES DE POLIMETILMETACRILATO EM RATOS
WISTAR**

**Trabalho apresentado à Universidade Federal
de Santa Catarina, como requisito para a
conclusão do Curso de Graduação em
Medicina.**

**Florianópolis
Universidade Federal de Santa Catarina**

2007

MARCELLO ALBERTON HERDT

**POSSÍVEL MIGRAÇÃO E ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA
DE INJEÇÕES DE POLIMETILMETACRILATO EM RATOS
WISTAR**

**Trabalho apresentado à Universidade Federal
de Santa Catarina, como requisito para a
conclusão do Curso de Graduação em
Medicina.**

Presidente do Colegiado: Prof. Maurício J. L. Pereima, MD., PhD.

Orientador: Prof. Rodrigo d'Eça Neves, MD.

Co-Orientadores: Prof. Jorge Bins-Ely, MD., PhD.

Prof. Zulmar Antônio Accioli de Vasconcellos, MD., PhD.

Florianópolis

Universidade Federal de Santa Catarina

2007

Dedicatória

A Deus.

Aos meus queridos pais Tarcísio Jaime Herdt e Dulce Alberton Herdt – por toda a educação,
amparo e carinho.

Ao meu irmão e amigo Charles Alberton Herdt – a quem eu devo boa parte do meu
conhecimento em informática e tecnologia.

A minha namorada Patrícia Lemos Jucá – uma linda companheira na minha vida.

Ao Dr. Alexandre Alberton, pelo exemplo de ética e profissionalismo.

A todos os professores, profissionais da saúde, pacientes e amigos que contribuem de alguma
forma para minha formação médica.

Agradecimentos

Ao Dr. Armando José d'Acampora – um grande amigo que mais do que me ensinar, me instiga sempre a novos desafios. Obrigado por toda a ajuda prestada neste trabalho. Agradeço também sua esposa, Dra. Karin Elisa Schemes, e família que por muitas vezes me recebem com paciência e carinho.

Ao Dr. Rodrigo d'Eça Neves – por compartilhar seus anos de experiência em cirurgia e confiar-me parte de seu trabalho sobre PMMA.

Ao Dr. José Caldeira Bastos - por toda a contribuição em anatomia patológica.

Aos amigos Luiz Henrique Prazeres e Maico de Oliveira Buss, técnicos da TOCE, pela disponibilidade e ajuda prestada, não só durante este trabalho, mas durante todo o curso de Medicina.

Ao Dr. Geraldo Bernardes – médico veterinário, profissional indispensável para o sucesso desta pesquisa.

Ao Dr. Felipe Barbieri, Dr. Fabrício Ferreira, aos acadêmicos Aurélio Lazzaroni e Myrian Macdonald - pela grande contribuição.

Resumo

Introdução: O uso de Polimetilmetacrilato (PMMA) como preenchimento dérmico vêm crescendo significativamente no Brasil e no mundo bem como o número de complicações descritas inerentes ao seu uso. Apesar de ser uma substância utilizada em medicina desde a década de 40, há ainda carência de estudos sobre migração, biocompatibilidade e resposta inflamatória das substâncias contendo PMMA fabricadas e comercializadas no Brasil para este fim. **Objetivo:** Avaliar a possível migração do Polimetilmetacrilato após injeções em diversos compartimentos corporais de ratos Wistar. **Métodos:** O trabalho experimental consistiu na injeção de PMMA em diversos compartimentos corporais para posterior análise histopatológica do local de implante e de órgãos filtradores à distância. A substância de PMMA utilizada - Metacrill® (Nutricel®-RJ) é composta por microesferas de Polimetilmetacrilato com diâmetro aproximado de 40 µm. A dose aplicada em cada implante foi de 0,2 ml utilizando-se seringas de polipropileno de três ml e agulhas hipodérmicas de 25/7 G. Os animais do grupo experimento (n = 16) foram distribuídos em quatro sub-grupos de acordo com o local de implante realizado: Sub-Grupo GB com injeções intradérmicas na glabella. Sub-Grupo SD com injeções subdérmicas no dorso. Sub-Grupo IP com injeções intraperitoneais no abdome. Sub-Grupo MPD com injeções intramusculares no *membrum pelvinum* direito. Os ratos então foram sacrificados com 30 dias após a realização dos implantes e amostras teciduais de pulmão, fígado, baço, rim e do local de implantação foram retiradas para análise histopatológica. **Resultados:** Não foram observadas microesferas características compatíveis com a presença de PMMA em nenhuma das lâminas histológicas analisadas. No sub-grupo SD, um animal apresentou substância exógena, amorfa, com reação histiocitária. Doze dos dezesseis pulmões analisados apresentaram focos de hemorragia intraalveolar. Dois animais do sub-grupo IP apresentaram alterações esplênicas inespecíficas. **Conclusão:** Na análise histopatológica deste trabalho, não foram encontradas microesferas de PMMA em nenhum dos tecidos estudados.

Abstract

Introduction: The use of Polymethylmethacrylate (PMMA) as a dermal filler has increased considerably in the past years; in parallel with its popularization the number of complications related has also raised significantly. Even though PMMA has been in use since the 1940s, the number of studies concerning the possible migration, biocompatibility and inflammatory reaction of substances containing PMMA made and commercialized in Brazil has not kept up with its widespread use. **Objective:** Evaluate the possible distance migration of Polymethylmethacrylate to distant filter organs, after injections at different body compartments of Wistar rats. **Methods:** This experiment consisted in injection of PMMA at different body compartments objecting the post histopathological analysis of both local injection area and distance filter organs. The PMMA substance used - Metacrill® (Nutricel®-RJ), its composed by 40µm microspheres of Polymethylmethacrylate. Each of the implants received a 0,2ml dose, applied with hypodermic needles of 25/7 G. The animals from experiment group (n = 16) were distributed in four different subgroups according to were the implants occurred: the GB subgroup with intra dermal injections in the glabella; the SD subgroup with sub dermal injections; the IP subgroup with intraperitoneal injections at the abdomen; finally, the MPD subgroup with intramuscular injections at right rear leg. The mice were sacrificed 30 days after the implants were made. Then, samples of its lungs, liver, spleen, kidney and particular local implants areas were collected for histopathological analysis. **Results:** None of the histological cuts analyzed showed microspheres compatible characteristics of PMMA implants. At the SD subgroup one of the animals presented amorphous exogenous substance with moderate inflammatory reaction. Twelve of the sixteen lungs analyzed showed focus of intraalveolar hemorrhage. **Conclusion:** None of the particular tissues analyzed in this histological study presented Polymethylmethacrylate.

Lista de Figuras

Figura 1 - Fotos de PMMA em microscopia eletrônica.....	pág. 02
Figura 2 - Biotério da TOCE/UFSC com os animais do experimento.....	pág. 06
Figura 3 - Metacrill® utilizado no estudo / Injeção glabellar intradérmica.....	pág. 07
Figura 4 - Aplicação de PMMA subdérmica, intraperitoneal e intramuscular.....	pág. 08
Figura 5 - Órgãos retirados para análise histopatológica.....	pág. 09
Figura 6 - Peças cirúrgicas referentes à análise local dos implantes do PMMA.....	pág. 10
Figura 7 - Imagens microscópicas: globo ocular e tecido esplênico.....	pág. 12
Figura 8 - Imagens microscópicas: tecido renal e hepático.....	pág. 13
Figura 9 - Imagens microscópicas com focos de hemorragia intraalveolar.....	pág. 13
Figura 10 - Imagens microscópicas: Pele + TCSC.....	pág. 14
Figura 11 - Imagens microscópicas: diafragma e musculatura de MP.....	pág. 15

Lista de siglas e abreviaturas

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Brasil
CCS	Centro de Ciências da Saúde
FDA	Food and Drug Administration – EUA
GB	Glabela
IDAP	Instituto de Diagnóstico Anátomo Patológico da cidade de Florianópolis
IP	Intraperitoneal
MP	<i>Membrum pelvinum</i>
MPD	<i>Membrum pelvinum</i> Direito
PMMA	Polimetilmetacrilato
PV	Peso vivo
SUS	Sistem Único de Saúde - Brasil
TCSC	Tecido Celular Subcutâneo
TOCE	Técnica Operatória e Cirurgia Experimental
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina

SUMÁRIO

FALSA FOLHA DE ROSTO.....	i
FOLHA DE ROSTO.....	ii
DEDICATÓRIA.....	iii
AGRADECIMENTOS.....	iv
RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	viii
SUMÁRIO.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. OBJETIVO.....	04
3. MÉTODOS.....	05
3.1 Amostra.....	05
3.1.1 Sub-Grupo Glabela.....	06
3.1.2 Sub-Grupo Subdérmico.....	07
3.1.3 Sub-Grupo Intraperitoneal.....	07
3.1.4 Sub-Grupo <i>Membro Pelvinum</i> Direito.....	08
3.2 Procedimentos.....	08
3.2.1 Anestésico.....	08
3.2.2 Inoculação dos Implantes de PMMA.....	09
3.2.3 Anatomopatológico.....	09
4. RESULTADOS.....	12
4.1 Sub-Grupo GB.....	12
4.2 Sub-Grupo SD.....	13
4.3 Sub-Grupo IP.....	14
4.4 Sub-Grupo MPD.....	14
5. DISCUSSÃO.....	17
6. CONCLUSÃO.....	22
5. REFERÊNCIAS.....	23

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, na tentativa de corrigir e preencher sulcos, rugas e cicatrizes, seja por razões estéticas ou reconstrutivas, uma diversidade de materiais têm sido utilizados como preenchedores dérmicos. O objetivo é elevar a área tratada diminuindo a espessura da pele nessa região e melhorando seu aspecto.¹

Apesar do grande número de publicações sobre este tema, a substância ideal para preenchimento ainda não foi encontrada. De acordo com a literatura revisada, a substância deve ser segura, permanente, de fácil aplicação, apresentar boa relação custo-benefício e ainda, ter uma taxa reduzida de complicações.²⁻⁶

Dentre os materiais inertes testados para microimplantes injetáveis, podemos citar o silicone polimerizado, utilizado desde 1940,⁴ hoje proibido em diversos lugares devido aos elevados riscos de complicações. Outras como o ácido hialurônico, gordura autóloga e colágeno, substâncias bastante utilizadas atualmente, mas que apresentam duração limitada dos resultados.⁷

Em 1991, Gottfried Lemperle começou a estudar o uso do Polimetilmetacrilato (PMMA) como preenchedor para correções de pequenas deformidades na pele. O PMMA foi descoberto e sintetizado em 1902, por um químico alemão, Otto Röhm, e foi patenteado com o nome Plexiglass®, em 1928. É utilizado na medicina desde 1945 e hoje, acumula uma variedade de funções como: cimento ósseo, lentes intra-oculares, próteses dentárias, reparos de cirurgia craniofacial, entre outras.²

Nos estudos histológicos experimentais iniciais, Lemperle mostrou que o PMMA era biocompatível e não gerava resposta inflamatória quando implantado sob a pele.⁸ Assim surgiu Artecoll®, uma substância destinada a preenchimento dérmico produzido pela Rofil Medical International® que consistia em microesferas de PMMA, com diâmetros entre 30-40µm, em veículo colóide bovino. Pensava-se que era a solução para o preenchimento dérmico, com raros efeitos colaterais e ótimos resultados duradouros.⁹ Contudo, com a popularização do seu uso, houve um aumento no número de complicações publicadas.

De acordo com Gottfried Lemperle, tais complicações eram devidas a impurezas aderidas às microesferas. E, em 1994, as microesferas do Artecoll® foram modificadas para que tivessem superfícies absolutamente lisas e esféricas (Fig.1).¹⁰ Na tentativa de diminuir

ainda mais as complicações, novas técnicas para a retirada de impurezas foram utilizadas. Esta nova versão do Artecoll® foi comercializada em diversos países, por todo o mundo. Em 2003, a Rofil Medical International apresentou uma taxa de complicação, por formação de granuloma de corpo estranho, em apenas 0,01% dos mais de 200.000 pacientes já tratados com Artecoll®.¹¹

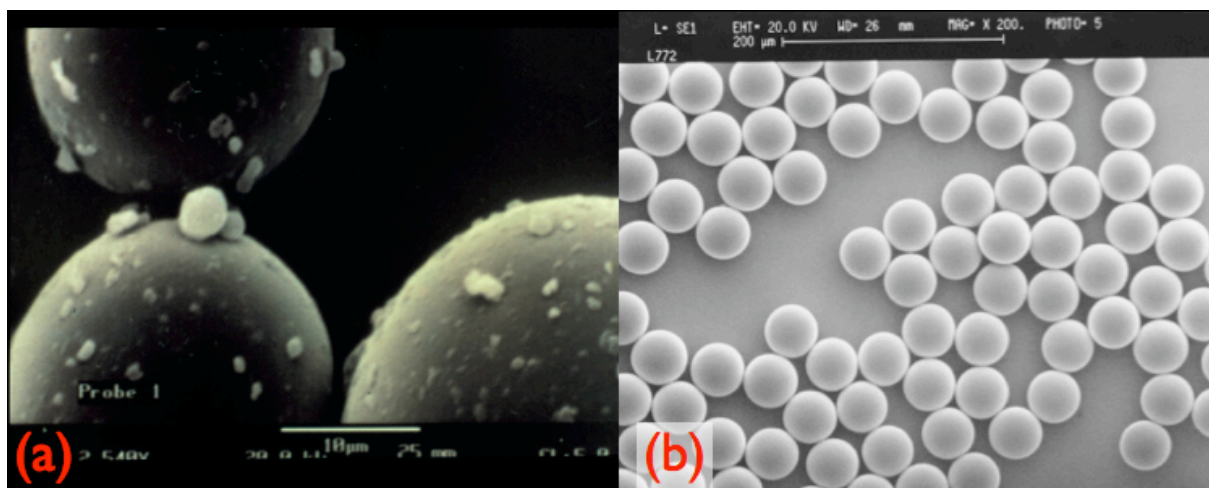


Figura 1 - Fotos de PMMA em microscopia eletrônica (x800): a) Microesferas de PMMA de diferentes tamanhos com impurezas em cimento ósseo. b) Artefill® após processos de lavagem e purificação das microesferas de PMMA.

FONTE: Lemperle, 2003

Desde 1999, o Artecoll® é aprovado para preenchimento dérmico na Europa, México e Canadá.¹¹ Em 2006, foi apresentada a terceira geração, denominada Artefill®, com controle mais rigoroso na purificação das microesferas agora com diâmetros de 30 a 50 micrômetros (μm).¹² Com isso, a substância foi aprovada, em Outubro de 2006, de acordo com *Food and Drug Administration* (FDA - Estados Unidos).

Os implantes dérmicos de PMMA estão sendo popularizados com o nome de bioplastia, como procedimentos simples e isentos de grandes riscos. A cada dia, um número maior de médicos das mais diversas especialidades estão se tornando treinados e oferecendo a bioplastia como parte dos serviços prestados em seus consultórios particulares.⁴ Entretanto, os procedimentos não são isentos de riscos e há uma série de complicações relacionadas com a injeção de PMMA.

No Brasil, há diversos produtos injetáveis disponíveis contendo PMMA. Um dos mais conhecidos é o Metacrill® (Nutricel® – RJ), usado há mais de 8 anos, composto por 30% de microesferas de PMMA com diâmetros entre 40 e 60 μm .¹³

Um outro produto brasileiro disponível é o Bioplasty® (BioMedical® - PO - Brasil) que possui microesferas de PMMA, com diâmetros entre 30 e 103 μm , em veículo de

hialuronato de sódio. É usado desde 1991, e junto com o Metacrill®, são os únicos aprovados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para preenchimento dérmico. No Brasil, o PMMA ainda é produzido em farmácias de manipulação onde a substância pode ser encomendada com formulação específica e variada.

Uma portaria do Ministério da Saúde, em 2004, incluiu na tabela de serviços prestados pelo Sistema Único de Saúde (SUS) o preenchimento facial com PMMA para pacientes portadores do vírus HIV. Segundo Gonella e cols., o PMMA mostrou-se eficaz no tratamento da lipodistrofia causada pelo uso de terapias anti-retrovirais com altos índices de satisfação dos pacientes.¹⁴

Entretanto, há uma carência muito grande de estudos sobre as substâncias contendo PMMA comercializadas no Brasil. A literatura disponível com estudos experimentais sobre migração, resposta inflamatória, composição e segurança é relacionada à substância holandesa - Artecoll®, com diferente composição.

Este trabalho faz parte de um estudo maior, sobre Polimetilmetacrilato, do Núcleo de Cirurgia Plástica do HU/UFSC, coordenado pelo Prof. Rodrigo d'Eça Neves, que visa contribuir para o aprimoramento e segurança do uso desta substância como preenchedor dérmico.

2. OBJETIVO

Observar, através de estudo histopatológico, a possibilidade de migração do Polimetilmetacrilato, após injeções em diversos compartimentos corporais em ratos Wistar.

3. Métodos

3.1 Amostra (n=16)

Este estudo foi submetido (20/06/2007) e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), no dia 15/08/2007, segundo o protocolo PP00126.

Foram utilizados no experimento 16 ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mamalia*), adultos, fêmeas, procedentes do Biotério Central da UFSC, com idade aproximada de 180 dias e peso estimado de 300 gramas.

O estudo experimental teve como sede o Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal de Santa Catarina (TOCE – UFSC).

Os animais foram mantidos individualmente em caixas de poliuretano (gaiolas) de dimensões: 40 x 32 x 16 centímetros; sob temperatura ambiente, luz solar em ciclo dia/noite, e acesso à ração e água *ad libitum*.

Os ratos foram distribuídos de acordo com a localização da inoculação da substância implantada (Fig. 2).

A cada 48 horas, era realizada a higiene das gaiolas bem como a troca de água e ração;

Os ratos foram observados quanto à presença de comportamento estranho, sinais de infecção ou ferimentos mutilantes, durante todo o experimento, em intervalos de seis horas, durante o dia.



Figura 2 - Biotério da TOCE/UFSC com os animais do experimento devidamente identificados.

Todos os procedimentos foram realizados no centro cirúrgico da TOCE – UFSC, na presença de um médico veterinário responsável pelo procedimento anestésico.

O grupo experimento (n=16) foi distribuído, de acordo com a localização dos implantes, em 4 sub-grupos, cada um contendo 4 animais, que foram individualmente selecionados através de sorteio simples.

3.1.1 Sub-Grupo Glabela (Sub-grupo GB n=4)

O sub-grupo GB era formado por quatro animais, que após permanecerem em plano anestésico, receberam injeções de 0,2 mililitros (ml) de PMMA na região da glabela no plano intradérmico (Fig. 3b). Esses animais foram sacrificados 30 dias após a injeção de PMMA. Para o procedimento histopatológico deste sub-grupo, foi retirado o globo ocular direito de cada animal.

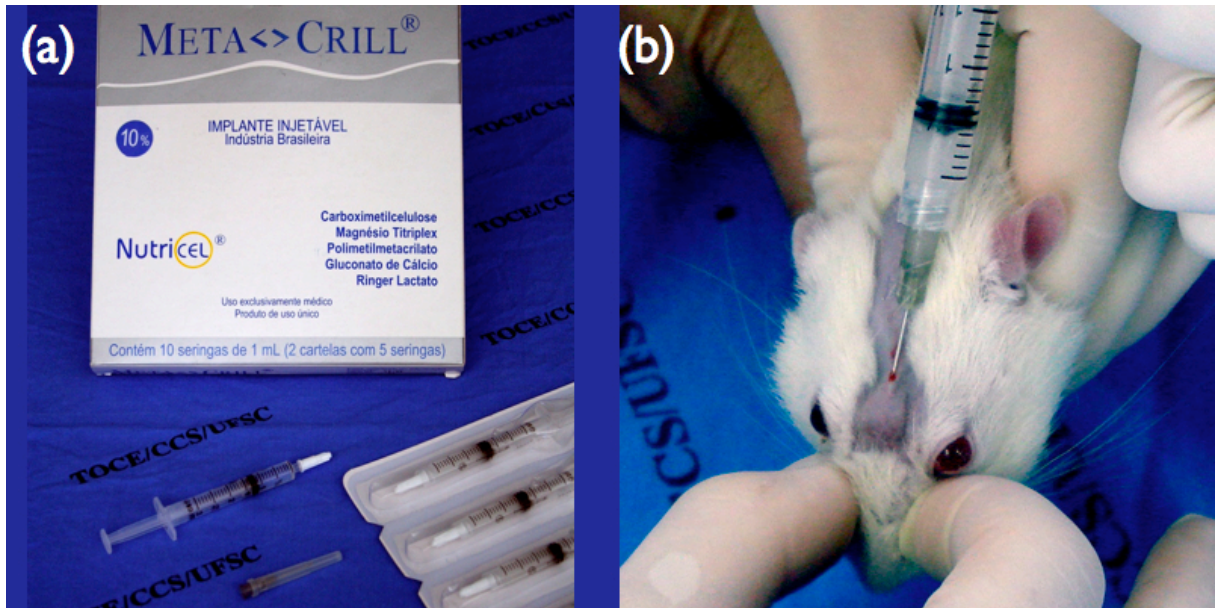


Figura 3 - Metacrill® a) Material utilizado no estudo. b) Injeção de 0,2ml de Polimetilmetacrilato intradérmica na região da glabella.

3.1.2 Sub-Grupo Subdérmico (Sub-grupo SD n=4)

O sub-grupo SD era formado por quatro animais, que após permanecerem em plano anestésico, receberam injeções de 0,2 ml de PMMA na região dorsal cervical no plano subdérmico (Fig. 4a). Esses animais foram sacrificados 30 dias após a injeção de PMMA. Para o procedimento histopatológico deste sub-grupo, foi retirado a pele e o tecido celular subcutâneo da área implantada de cada animal.

3.1.3 Sub-Grupo Intraperitoneal (Sub-grupo IP n=4)

O sub-grupo IP era formado por quatro animais, que após permanecerem em plano anestésico, receberam injeções de 0,2 ml de PMMA no hemi-abdome direito no plano intraperitoneal (Fig. 4b). Esses animais foram sacrificados 30 dias após a injeção de PMMA. Para o procedimento histopatológico deste sub-grupo, foi retirado o músculo diafragma de cada animal.

3.1.4 Sub-Grupo *Membrum Pelvinum* Direito (Sub-grupo MPD n=4)

O sub-grupo GB era formado por quatro animais, que após permanecerem em plano anestésico, receberam injeções de 0,2 ml de PMMA no membro pélvico direito, no plano intramuscular (Fig. 4c). Esses animais foram sacrificados 30 dias após a injeção de PMMA. Para o procedimento histopatológico deste sub-grupo, foi retirada a musculatura do *Membrum pelvinum* direito de cada animal.

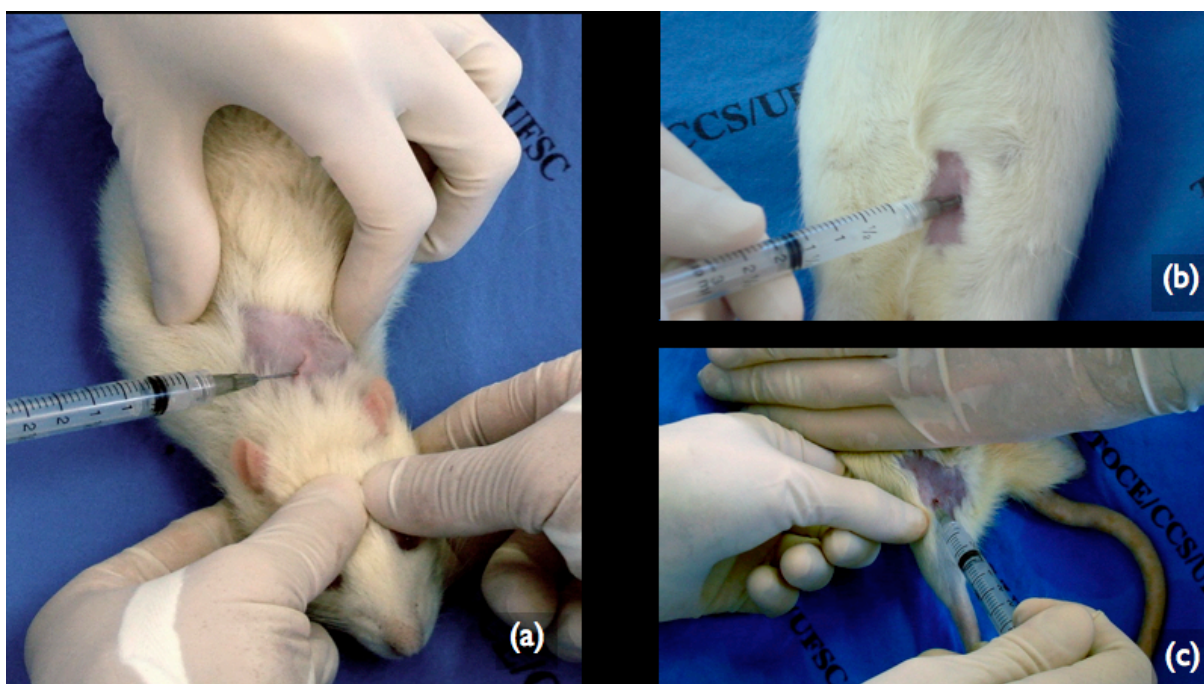


Figura 4 - Aplicação de PMMA subdérmica no dorso (a), intraperitoneal no hemi-abdome direito (b), e intramuscular no *membrum pelvinum* direito (c).

3.2 Procedimentos

3.2.1 Anestésico

Os ratos após serem pesados, individualmente, foram submetidos à injeção intramuscular de atropina, na dose de 0,044 miligramas por quilo de peso vivo (PV). Transcorridos dez minutos, a anestesia foi realizada com o uso de cloridrato de xilazina na dose de cinco mg/kg de PV e cloridrato de ketamina na dose de dez mg/kg de PV, ambas na mesma seringa e aplicadas por via intramuscular, na face interna da coxa do membro pélvico esquerdo. A ausência de movimentação reflexa, em resposta à preensão do coxim adiposo de um *membrum pelvinum*, foi o método utilizado para avaliação da efetividade anestésica. Após

confirmação do plano anestésico adequado e epilação dos locais referentes, os animais foram submetidos aos procedimentos de injeção de polimetilmetacrilato (PMMA).

3.2.2 Inoculação dos Implantes de PMMA

Todos os animais receberam implantes de PMMA de nome comercial Metacrill® - produzido por Nutricel®-RJ (Fig. 3a). Conforme informações do fabricante, é composto de microesferas de Polimetilmetacrilato, com diâmetro aproximado de 40 μm , em meio colóide de carboxi-gliconato hidro-lático de magnésio.

A dose utilizada, em todas as vias, foi de 0,2 ml de Metacrill® por animal, utilizando-se seringa de poliuretano de 3 ml e agulha hipodérmica de 25/7 G.

3.2.3 Anatomopatológico

Todos os animais foram novamente anestesiados, com técnica já descrita e sacrificados através da inalação de éter etílico em câmara fechada.

Após o sacrifício, foram retirados os seguintes órgãos de todos os animais: rim direito, pulmões, fígado e baço (Fig. 5).

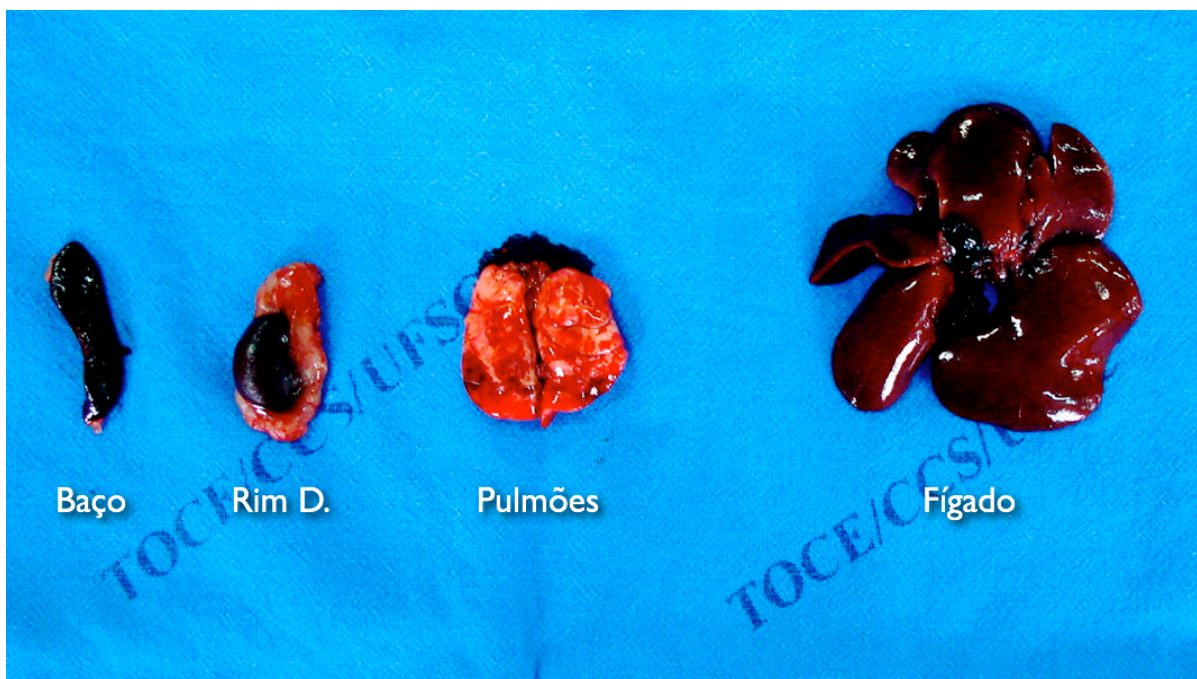


Figura 5 – Órgãos filtradores retirados para análise histopatológica.

Para a análise de migração local, foram retirados órgãos específicos de acordo com o local de injeção.

No sub-grupo GB, retirou-se o globo ocular inteiro com parte de músculos e nervo óptico anexos (Fig. 6).

Nos animais do sub-grupo SD, a pele com o tecido celular subcutâneo da área de implante.

Nos sub-grupos IP e MPD foram retirados, respectivamente, diafragma e musculatura do *membrum pelvinum* direito (Fig. 6).

As peças foram, então, fixadas em formaldeído e colocadas em recipientes identificados por números correspondentes a cada rato e sub-grupo respectivo.

A análise histopatológica foi realizada no Instituto de Diagnóstico Anátomo Patológico, na cidade de Florianópolis (IDAP), por um único patologista.

No IDAP, como não foram encontradas nodulações ou qualquer alteração na macroscopia das peças, foi realizada a redução das mesmas através da escolha aleatória de uma área menor que posteriormente foi incluída em parafina. Assim, os blocos formados foram cortados utilizando-se micrótomo manual na espessura de quatro micra.

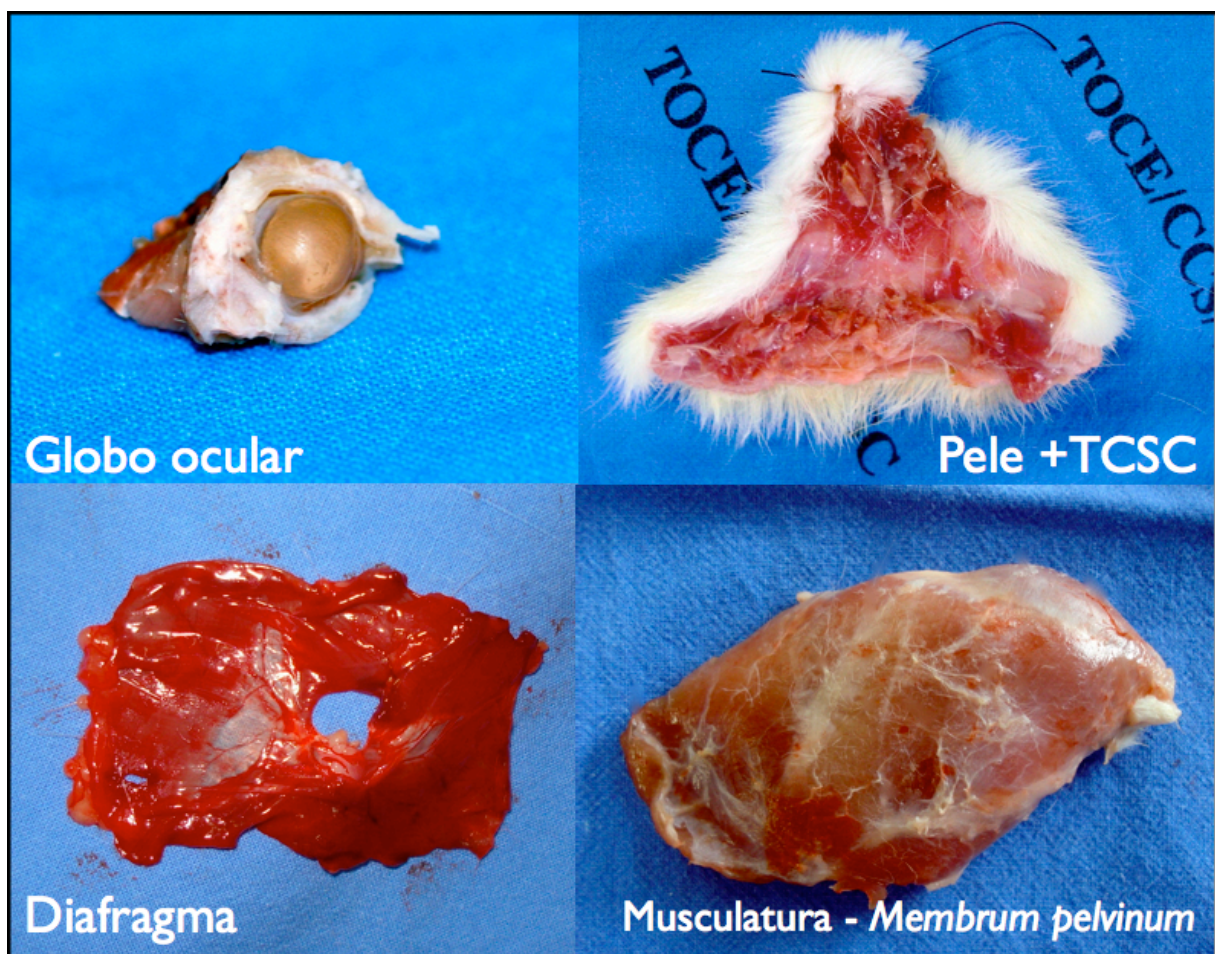


Figura 6 - Peças cirúrgicas referentes à análise local dos implantes de PMMA.

Em cada corte foi feita análise microscópica morfométrica e anátomo-patológica verificando a possível presença de material compatível com microesferas de PMMA injetadas. Buscou-se analisar os seguintes tipos celulares:

- Polimorfonucleares (PMN)
- Mononucleares (MO)
- Células Gigantes de Corpo Estranho (CGC)
- Presença ou não de macrófagos
- Presença ou ausência de outros tipos celulares
- Presença de microesferas

Foram observados, por um médico patologista, um total de 80 cortes histológicos corados com hematoxilina/eosina, utilizando-se microscópio.

4. Resultados

Todas as lâminas histológicas apresentaram qualidade satisfatória durante a análise de todos os tecidos estudados.

4.1 Sub-Grupo GB

Não foram encontradas alterações significativas em nenhum dos cortes histológicos do globo ocular dos quatro animais estudados. Todas as estruturas visualizadas: nervo óptico, esclera, retina, córnea e cristalino não apresentaram qualquer modificação no padrão morfológico ou infiltrado inflamatório (Fig. 7a).

Os cortes de baço analisados apresentaram padrões histológicos normais com polpa branca e vermelha sem alterações significativas (Fig. 7b).

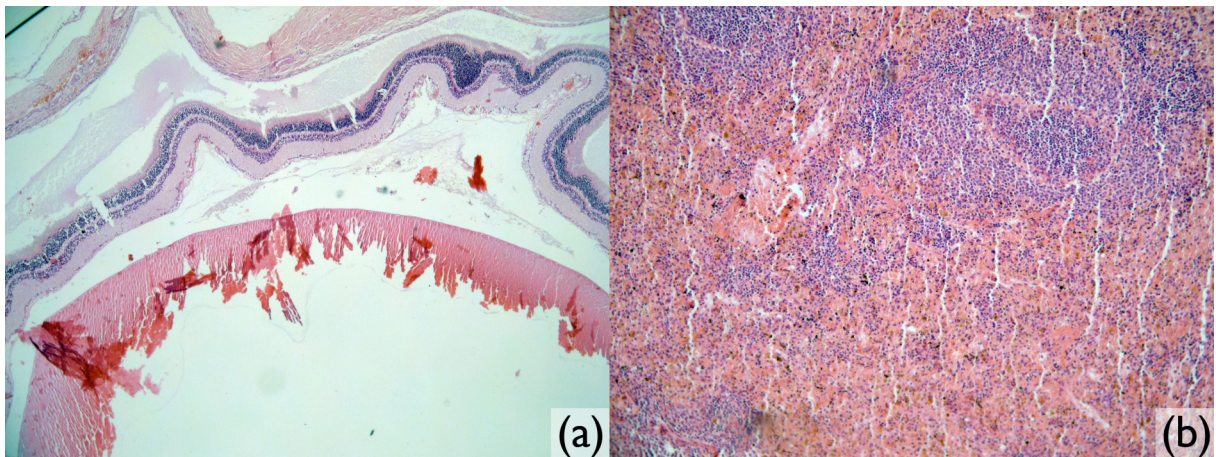


Figura 7 – Imagens microscópicas observadas no estudo: a) Globo ocular direito (aumento de 4x). b) Tecido esplênico (aumento de 4x).

Os cortes histológicos de tecido renal apresentaram vasos, glomérulos, tubos e interstício sem alterações significativas (Fig. 8a).

O fígado apresentava morfologia normal, com parênquima de lóbulos tróficos e ausência de infiltrado inflamatório (Fig. 8b).

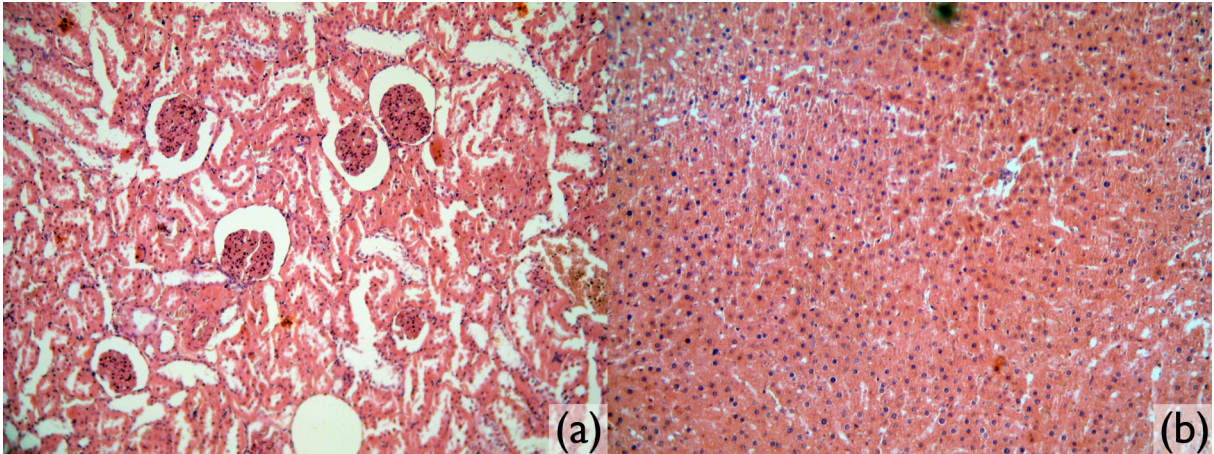


Figura 8 – Imagens microscópicas: a) Tecido renal analisado (aumento de 10x). b) Tecido hepático (aumento de 10x).

Em nenhum dos cortes foi encontrado material com características parecidas com microesferas ou macrófagos gigantes.

Nos cortes de pulmão (Fig. 9) foram encontrados pequenos focos de hemorragia intraalveolar em três animais do sub-grupo GB. O restante do tecido pulmonar apresentou padrão histológico normal. Endotélio capilar, membrana basal, interstício, epitélio alveolar e macrófagos alveolares sem alterações.

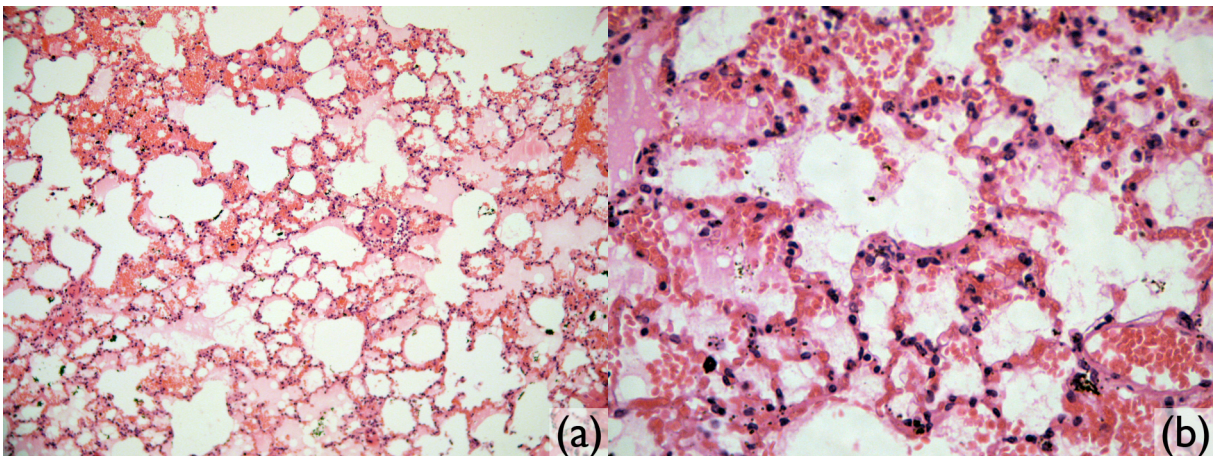


Figura 9 - Imagens microscópicas: a) Tecido pulmonar (aumento de 10x). b) Foco do hemorragia intraalveolar (aumento de 40x).

4.2 Sub-Grupo SD

Todas as peças analisadas referentes a fígado, baço e rim, deste sub-grupo, não apresentaram nenhuma alteração significativa.

Foi identificado material acinzentado na lâmina de tecido celular subcutâneo em um dos animais. O local continha material exógeno envolto por reação histiocitária. A substância

apresentou característica fibrilar e localizava-se no interstício e interior dos macrófagos (Fig. 10). Não foram encontrados microesferas ou sinais de fibrose, característicos de implantes de PMMA já descritos na literatura.(5, 6, 8, 10, 15, 16)

Nos pulmões, foram encontrados focos pulmonares com histiócitos espumosos em alvéolos e hemorragia intraalveolar. Não foi observada reação inflamatória importante ou sinais de infarto pulmonar nas áreas alteradas.

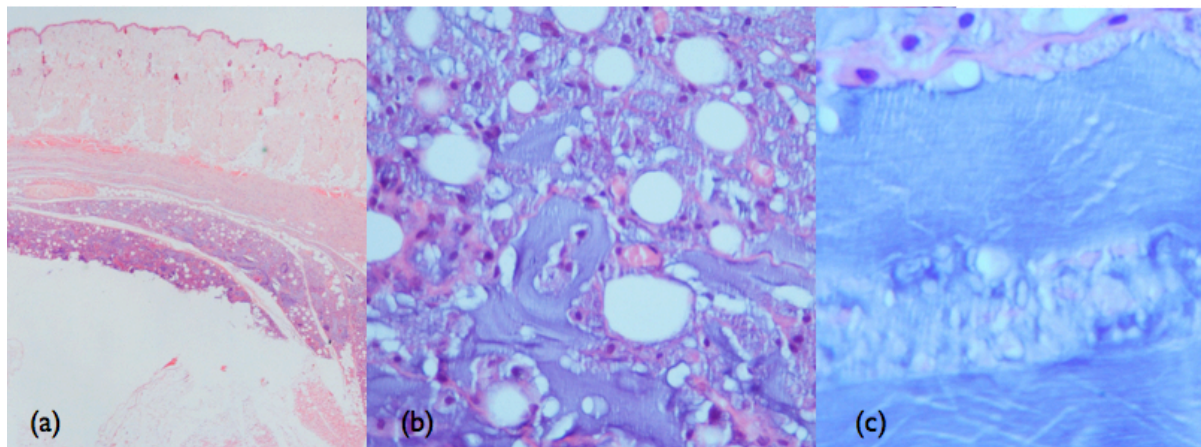


Figura 10 – Corte histológico contendo material amorfo encontrado no subcutâneo de um dos animais do sub-grupo SD. a) Depósito de material exógeno envolto por reação histiocitária. (aumento de 2x) b) Material fibrilar amorfo no interstício e interior de macrófagos. (aumento de 40x) c) Aspecto fibrilar de material exógeno. (aumento de 100x)

4.3 Sub-Grupo IP

Nenhuma alteração foi encontrada nos cortes histológicos dos diafragmas (Fig. 11a), fígado, rim e baço analisados.

Em dois animais observou-se congestão na análise histológica do baço, ainda que material compatível com microesferas não tenha sido encontrado nestes órgãos.

Em todos os cortes contendo tecido pulmonar dos animais deste sub-grupo, observou-se focos de hemorragia intraalveolar. Em um destes animais, tais alterações mostraram-se extensas e importantes (Tab. 1).

4.4 Sub-Grupo MPD

Todos os cortes histológicos de fígado, rim e baço não apresentaram alterações significantes.

Na análise macroscópica da musculatura, não foram encontradas nodulações ou sinais do implante de PMMA. O mesmo aconteceu na microscopia, onde a musculatura apresentou aspecto normal (Fig. 11b) e as microesferas não foram localizadas.

Neste sub-grupo, foram observadas alterações pulmonares em três dos animais estudados (Tab. 1). As alterações encontradas em animais distintos foram:

- hemorragia intraalveolar;
- hemorragia intraalveolar com histiócitos espumosos;
- foco de broncopneumonia.

Todos sem sinais de infarto ou atividade inflamatória significativa.

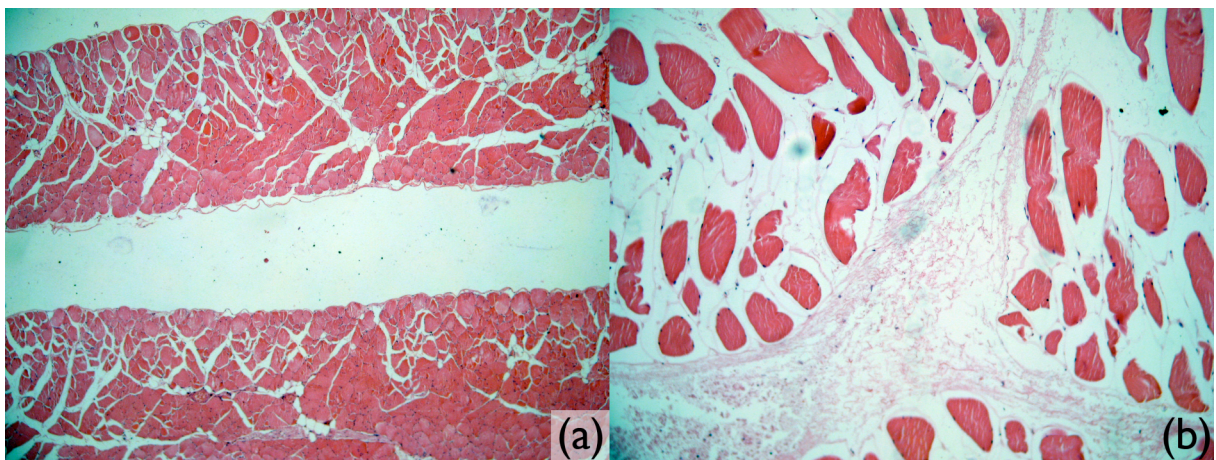


Figura 11 – Imagem microscópica de tecido muscular sem alterações significativas: a) Diafragma (aumento de 4x) b) *Membrum pelvinum* direito (aumento de 10x).

Tabela 1 – Resultados encontrados após análise histopatológica.

Sub-Grupo	Nº Animal	Órgão local	Pulmão	Fígado	Rim	Baço
GB	1	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	2	Normal	Hem. IA [†]	Normal	Normal	Normal
	3	Normal	Hem. IA [†]	Normal	Normal	Normal
	4	Normal	Hem. IA [†]	Normal	Normal	Normal
SD	5	Normal	Alt. Alveol. [‡]	Normal	Normal	Normal
	6	Mat. Exóg.*	Normal	Normal	Normal	Normal
	7	Normal	Hem. IA [†]	Normal	Normal	Normal
	8	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
IP	9	Normal	Hem. IA ext. [§]	Normal	Normal	Normal
	10	Normal	Hem. IA [†]	Normal	Normal	Congestão [¶]
	11	Normal	Hem. IA [†]	Normal	Normal	Normal
	12	Normal	Hem. IA [†]	Normal	Normal	Congestão [¶]
MPD	13	Normal	Hem. IA [†]	Normal	Normal	Normal
	14	Normal	Alt. Alveol. [‡]	Normal	Normal	Normal
	15	Normal	Hem. IA+BPN	Normal	Normal	Normal
	16	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal

Mat. Exóg.*: Presença de material exógeno, fibrilar, acinzentado, envolto por reação histiocitária; **Hem. IA[†]**: Pequenos focos de hemorragia intraalveolar; **Alt. Alveol.[‡]**: Focos com histiócitos espumosos em alvéolo; **Hem. IA ext.[§]**: Hemorragia intraalveolar extensa e importante; **Hem. IA+BPN^{||}**: Focos de hemorragia intraalveolar, áreas contendo histiócitos espumosos em alvéolos e foco de broncopneumonia; **Congestão[¶]**: Baço congesto.

5. Discussão

O uso de PMMA para preenchimentos dérmicos vem crescendo significativamente no Brasil bem como o número das complicações descritas inerentes ao seu uso.

Por sua vez, a quantidade de estudos e publicações desta substância, como preenchedor dérmico, não acompanhou a velocidade de sua popularização, não só no Brasil.

Ao ser injetado sob a pele, o PMMA provoca uma reação tissular com formação de tecido colágeno e neovascularização ao redor das microesferas.^{8,12,13,15-17}

Segundo estudo experimental em ratos Wistar, o processo teria início duas semanas após a realização dos implantes, prolongando-se por meses.¹³

Em outros estudos, analisando-se a fagocitose¹⁷ e a permanência⁵ de implantes subdérmicos de Artecoll®, o sítio de implante contendo PMMA foi sempre facilmente localizado.

Em outro estudo histológico, onde um dos autores aplicou diferentes preenchedores no próprio braço, os implantes de Artefill® não apresentaram alteração no volume inicial, mesmo após nove meses de evolução, o que sugere baixa ou ausência de degradação ou migração do produto.⁵

Lemperle e cols.⁶, descreveram três mecanismos pelos quais as microesferas de PMMA podem migrar:

- Via hematogênica - injeção inadvertida em algum vaso de maior calibre, pode deslocar microesferas por toda a circulação. O local mais provável do destino final são os capilares pulmonares.

- Via linfática - através da injeção dentro de vasos linfáticos espessos. Os linfonodos locais e os pulmões seriam os destinos finais mais prováveis.

Essas duas vias, quando atingidas diretamente pelo produto, podem servir de argumento para a presença de microesferas nos linfáticos e em vísceras como o pulmão ou qualquer dos órgãos que possuam a função de filtração sanguínea ou linfática.

- Via fagocitose - microesferas fagocitadas pelos macrófagos podem ser absorvidas no local de implante, migrando depois para linfonodos locais.

Com base na literatura, consultada na fase de projeto deste estudo, criou-se a expectativa de encontrar PMMA nos cortes histológicos do local de injeção dos sub-grupos

SD e MPD, onde a pele com tecido celular subcutâneo e a musculatura do membro pélvico, respectivamente, foram analisados.

Imediatamente procedeu-se o raciocínio de que a substância injetada no peritônio livre e sendo conhecido o mecanismo de absorção diafragmática, foi aventada a possibilidade do encontro dessas esferas nas janelas diafragmáticas.

McClelland e cols.¹⁸, em estudo comparativo entre Zyderm® (colágeno) e Artecoll® aplicados em cobaias, mostraram que o produto é passível de fagocitose e degradação, além de provocar resposta inflamatória local aumentada e sinais de imunogenicidade das partículas de PMMA. Nesse estudo, as cobaias apresentaram ainda eliminação transepitelial do produto, após aplicação intradérmica.

Capella e cols.¹⁵, em estudo experimental com injeções intramusculares de Metacrill® em membro posterior direito de ratos Wistar, observaram alterações em linfonodos locais com histiócitos contendo material granular basófilo em citoplasma. Nesse estudo, o PMMA foi identificado nos cortes histológicos em todos os 16 ratos analisados.

Embora todas estas possibilidades de migração tenham sido estudadas durante a realização do projeto, após o experimento, não se conseguiu comprovar essa expectativa, pois em nenhum dos locais inoculados e estudados por histopatologia foram encontradas microesferas de PMMA. Resultado o qual não confere com a literatura estudada.

Considerando estas informações, pode-se aventar quatro possibilidades para explicar o fato de não terem sido observadas microesferas de PMMA nos locais de injeção dos sub-grupos SD e MPD:

- O local escolhido na macroscopia para a montagem das lâminas histológicas poderia não conter o sítio de injeção do material. Um evento pouco provável, haja vista a experiência do patologista e a facilidade em encontrar-se os nódulos formados pela injeção de 0,2 ml da substância; o que revela a necessidade da realização de novo bloco de parafina com o restante do material e o estudo seriado em cortes de 4 µm do mesmo;
- O material pode ter sido absorvido por fagocitose e degradação enzimática;
- O material pode ter migrado para outros compartimentos corporais mesmo não sendo encontrado nos órgãos filtradores;
- Os implantes continham apenas o veículo do produto, deixando as microesferas na seringa de aplicação.

O PMMA poderia ter ficado decantado na seringa. A agitação do material não é preconizada pelo fabricante e não foi realizada antes das injeções.

Torna-se relevante o fato de que dois animais do sub-grupo MPD apresentaram alterações esplênicas, o que pode inferir indícios de migração do PMMA, por via linfática.

Mesmo assim, somente a constatação única de alterações esplênicas inespecíficas, sem microesferas de PMMA, não é evidência suficiente para a defesa da hipótese de migração da substância inoculada.

Quanto às alterações pulmonares encontradas: a hemorragia intra alveolar, observada em doze dos dezesseis animais, é compatível com alterações *post mortem* uma vez que os animais foram sacrificados antes de terem os órgãos retirados para análise.

Isso pode revelar alteração do parênquima pulmonar até mesmo pela inalação super-saturada de éter etílico. O fato de animais de todos os sub-grupos apresentarem tais alterações, reforça a teoria de que as mesmas foram provocadas durante o óbito dos mesmos.

Outras alterações, como focos de broncopneumonia e histiócitos espumosos, observadas em dois animais, são alterações inespecíficas e podem não estar relacionadas com a aplicação de PMMA e também com a inalação de éter.

Grande parte dos casos de complicações com injeções faciais de PMMA publicadas relacionam-se a reações dérmicas como eritema e telangiectasias que caracterizam-se como conseqüências de erros técnicos durante a aplicação, quando os implantes atingem planos superficiais da epiderme. Há também registros de formação de granulomas de corpo estranho com vacúolos e células gigantes, onde a fisiopatologia ainda não é totalmente explicada. No entanto, sabe-se que há relação com a 2^a/3^a aplicação do produto, infecção severa ou trauma facial.¹¹

Entretanto essas alterações dérmicas não podem ser observadas nos roedores, pois são desprovidos de tecido celular sub-cutâneo.

A injeção inadvertida na luz de vasos sanguíneos também aparece como uma importante complicação. Ainda que com poucos casos publicados, a morbidade das conseqüências causadas por tal fato é bastante grande. Há relato de um caso de oftalmoplegia e amaurose total após injeção de PMMA, na região glabellar de uma paciente previamente hígida.¹⁹

Embora em todas as inoculações tenha sido testada a punção com a presença de retorno de sangue na seringa, em ratos desprovidos de sub-cutâneo, certamente a rede vascular é diminuída com uma menor probabilidade de ser puncionado uma dessas estruturas. Além disso, o volume vascular dos roedores com esse peso é muito restrito.

A maioria dos implantes faciais estéticos de PMMA acontece na derme reticular profunda e junção derme/subderme, onde há uma intensa rede venosa e linfática.

O diâmetro dos vasos desta região varia de 35 a 120 μm (veias) e 30 a 100 μm (linfáticos), suficientes para carrear as microesferas de PMMA.

Na pele, especialmente da face, há uma rede de vasos tão densa que, teoricamente, toda punção realizada neste local acaba atingindo um destes vasos.⁶

Objetivando evitar lesões vasculares, existem autores que defendem o uso de microcânulas ao invés de agulhas com pontas cortantes.²⁰

No presente estudo, foram utilizadas agulhas hipodérmicas de pontas cortantes e nenhum sinal de necrose ou dano vascular foi encontrado nos cortes de globo ocular e demais cortes analisados.

Também não foram observados sinais de rejeição ou processo inflamatório extenso em nenhum dos implantes do estudo.

Na bibliografia pesquisada não foram encontrados estudos que detalhem a exata composição e o tamanho real das microesferas contidas nas opções de preenchimento estético facial comercializadas no Brasil. É importante que se tenha um controle de qualidade das substâncias de PMMA, já que estudos anteriores mostram que microesferas com diâmetros menores que 15 μm são passíveis de fagocitose e as impurezas estão relacionadas a reações inflamatórias exacerbadas.^{6,7,21}

Na Europa, publicações como a de McClelland e cols.,¹⁸ que demonstraram irregularidades na composição do PMMA produzido pela Artes Medical®, contribuíram para que a substância fosse aprimorada com novos processos de purificação. Hoje, o Artefill® (última versão do PMMA produzido pela Artes Medical®) é aprovado pelo FDA e possui uma composição diferente de suas primeiras versões.

Existem diversos trabalhos que mostram a biocompatibilidade do PMMA. A perfeita forma esférica, a pureza do produto e a neutralidade de carga elétrica são características que fazem com que as microesferas resistam à fagocitose.¹⁷

Não foram encontradas microesferas em nenhum dos cortes realizados nos órgãos filtradores em nenhum dos animais estudados. A análise de apenas um corte, o que abrange uma área pequena de cada órgão, dificulta a detecção de pequenas microesferas com aproximadamente 40 μm de diâmetro.

Os resultados encontrados foram distoantes dos citados na literatura. Não foram observados sinais de PMMA em nenhum dos animais estudados. Apenas um dos cortes de pele e TCSC apresentou material amorfo não identificado e não compatível com as características já bem descritas dos implantes de PMMA.

Sendo essa a primeira etapa de uma pesquisa realizada pelo Núcleo de Cirurgia Plástica do Hospital Universitário da UFSC, e ciente de que o assunto é o início de uma linha de pesquisa em nosso meio, o que se espera, é que esse trabalho contribua para instigar a curiosidade daqueles que utilizam o produto, contribuindo para o entendimento científico do comportamento *em vivo* dos implantes de Polimetilmetacrilato disponíveis no Brasil.

6. Conclusão

Na análise histopatológica deste trabalho, não foram encontradas microesferas de PMMA em nenhum dos tecidos estudados.

5. Referências

1. Aids.gov.br [Homepage na internet]. Vidda/SP GP. Lipodistrofia: saiba como prevenir e tratar. 1999-2007. [acesso em 1/10/2007]. Disponível em www.aids.gov.br/lipodistrofia.asp/.
2. Robinson JK, Hanke WC, Sengelmann R. Surgery of the Skin. Cap. 3. Boston: Mosby; 2005. p. 1-20.
3. Broder KW, Cohen SR. An overview of permanent and semipermanent fillers. *Plast Reconstr Surg*. 2006 Sep;118(Suppl 3):7-14.
4. Klein AW, Elson ML. The history of substances for soft tissue augmentation. *Dermatol Surg*. 2000 Dec;26(12):1096-105.
5. Lemperle G, Morhenn V, Charrier U. Human histology and persistence of various injectable filler substances for soft tissue augmentation. *Aesthetic Plast Surg*. 2003 Sep-Oct;27(5):354-66; discussion 67.
6. Lemperle G, Morhenn VB, Pestonjamas V, Gallo RL. Migration studies and histology of injectable microspheres of different sizes in mice. *Plast Reconstr Surg*. 2004 Apr 15;113(5):1380-90.
7. Requena C, Izquierdo MJ, Navarro M, Martinez A, Vilata JJ, Botella R, et al. Adverse reactions to injectable aesthetic microimplants. *Am J Dermatopathol*. 2001 Jun;23(3):197-202.
8. Lemperle G, Ott H, Charrier U, Hecker J, Lemperle M. PMMA microspheres for intradermal implantation: Part I. Animal research. *Ann Plast Surg*. 1991 Jan;26(1):57-63.
9. Alster TS, West TB. Human-derived and new synthetic injectable materials for soft-tissue augmentation: current status and role in cosmetic surgery. *Plast Reconstr Surg*. 2000 Jun;105(7):2515-25; discussion 26-8.
10. Alcalay J, Alcalay R, Gat A, Yorav S. Late-onset granulomatous reaction to Artecoll. *Dermatol Surg*. 2003 Aug;29(8):859-62.
11. Lemperle G, Romano JJ, Busso M. Soft tissue augmentation with artecoll: 10-year history, indications, techniques, and complications. *Dermatol Surg*. 2003 Jun;29(6):573-87; discussion 87.
12. Lemperle G, de Fazio S, Nicolau P. ArteFill: a third-generation permanent dermal filler and tissue stimulator. *Clin Plast Surg*. 2006 Oct;33(4):551-65.

13. Metacrill.com.br [Homepage na Internet]. Nutricel Ind. e Com Ltda.; 1999. [acesso em 1/10/2007]. Disponível em: <http://www.metacrill.com.br/>.
14. Gonella HA. Avaliação da Utilização do Polimetilmetacrilato na Correção das Lipodistrofias Faciais Associadas à Terapia Anti-Retroviral em Pacientes HIV Positivos. *Revista da Sociedade Brasileira de Cirurgia Plástica*. 2007 Jan/Mar 2007;22(1):24-9.
15. Capella NM. Aplicação de Polimetilmetacrilato em Prega Vocal de Cão: Pesquisa Experimental. XXIII Congresso Brasileiro de Cirurgia; 1999; Rio de Janeiro - RJ.
16. Lemperle G, Kind P. Biocompatibility of Artecoll. *Plast Reconstr Surg*. 1999 Jan;103(1):338-40.
17. Morhenn VB, Lemperle G, Gallo RL. Phagocytosis of different particulate dermal filler substances by human macrophages and skin cells. *Dermatol Surg*. 2002 Jun;28(6):484-90.
18. McClelland M, Egbert B, Hanko V, Berg RA, DeLustro F. Evaluation of artecoll polymethylmethacrylate implant for soft-tissue augmentation: biocompatibility and chemical characterization. *Plast Reconstr Surg*. 1997 Nov;100(6):1466-74.
19. Silva MT, Curi AL. Blindness and total ophthalmoplegia after aesthetic polymethylmethacrylate injection: case report. *Arq Neuropsiquiatr*. 2004 Sep;62(3B):873-4.
20. Nacul AM. Contour of the lower third of the face using an intramuscular injectable implant. *Aesthetic Plast Surg*. 2005 Jul-Aug;29(4):222-9.
21. Rudolph CM, Soyer HP, Schuller-Petrovic S, Kerl H. Foreign body granulomas due to injectable aesthetic microimplants. *Am J Surg Pathol*. 1999 Jan;23(1):113-7.
22. Cohen SR, Berner CF, Busso M, Gleason MC, Hamilton D, Holmes RE, et al. ArteFill: a long-lasting injectable wrinkle filler material--summary of the U.S. Food and Drug Administration trials and a progress report on 4- to 5-year outcomes. *Plast Reconstr Surg*. 2006 Sep;118(Suppl 3):64-76.
23. Cohen SR, Holmes RE. Artecoll: a long-lasting injectable wrinkle filler material: Report of a controlled, randomized, multicenter clinical trial of 251 subjects. *Plast Reconstr Surg*. 2004 Sep;114(4):964-76; discussion 77-9.
24. Hoffmann C, Schuller-Petrovic S, Soyer HP, Kerl H. Adverse reactions after cosmetic lip augmentation with permanent biologically inert implant materials. *J Am Acad Dermatol*. 1999 Jan;40(1):100-2.
25. Krauss MC. Recent advances in soft tissue augmentation. *Semin Cutan Med Surg*. 1999 Jun;18(2):119-28.
26. Lemperle G, al Soufi A. [Treatment of wrinkles by Artecoll implant and resurfacing with the CO2 laser]. *Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd*. 1996;113:1128-34.

27. Lemperle G, Gauthier-Hazan N, Lemperle M. PMMA-Microspheres (Artecoll) for long-lasting correction of wrinkles: refinements and statistical results. *Aesthetic Plast Surg.* 1998 Sep-Oct;22(5):356-65.
28. Lemperle G, Hazan-Gauthier N, Lemperle M. PMMA microspheres (Artecoll) for skin and soft-tissue augmentation. Part II: Clinical investigations. *Plast Reconstr Surg.* 1995 Sep;96(3):627-34.
29. Niechajev I. Lip enhancement: surgical alternatives and histologic aspects. *Plast Reconstr Surg.* 2000 Mar;105(3):1173-83; discussion 84-7.
30. Redbrake C, Salla S, Becker J, Biermann H, Reim M. Immunological reactions against PMMA lens material? *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1993 Apr;231(4):238-41.
31. Simons G, Mazaleyrat P, Masurel T. Utilization of injectable microimplants in aesthetic facial surgery. *Aesthetic Plast Surg.* 1992 Winter;16(1):77-82.