

POLIMETILMETACRILATO (LINNEA SAFE) PROVOCA RESPOSTA INFLAMATÓRIA LOCALIZADA APÓS IMPLANTE INTRAMUSCULAR EM CAMUNDONGOS BALB/C MAS NÃO É OBSERVADO EM ÓRGÃOS À DISTÂNCIA.

Eduardo Luiz Costa¹, Anália Cirqueira Milhomem², Vânia Beatriz Lopes², Ruy de Souza Lino Junior²

1. Clínica Santorini

2. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (UFG)

RESUMO

O polimetilmetacrilato (PMMA) foi sintetizado com êxito pela primeira vez em 1902. No Brasil, a mais de 12 anos os implantes infiltrativos de PMMA vêm sendo utilizados para reposição de volumes perdidos com processo de envelhecimento e preenchimento de sulcos e rugas. Este trabalho faz-se necessário uma vez que tenta eleger o melhor material de aplicação e o tamanho mais adequado de microesferas, o que facilita deduzir a possível reação inflamatória frente essa implantação e se há ou não a possibilidade de reações adversas a distância. Os objetivos do presente trabalho foram analisar o tamanho das microesferas de três formas comercializadas de PMMA e o processo inflamatório gerado pelo implante, além de avaliar a permanência das microesferas no tecido implantado. A análise microscópica das marcas Biossimeetric®, Meta Crill® e Linnea Saffe®, permitiu inferir o tamanho de suas microesferas, onde 4,1%, 7,6% e 87,1% respectivamente, apresentaram diâmetro entre 36-43 μm . Observou-se que a implantação de microesferas de PMMA Linnea Safe® em camundongos desencadeou um processo inflamatório agudo de 3 a 15 dias após o procedimento cirúrgico, evoluindo para inflamação crônica não granulomatosa com deposição de colágeno e reorganização do tecido após 30 dias de implantação de PMMA. Portanto o PMMA da marca Linnea Safe® comportou-se como um biomaterial seguro e estável, uma vez que 87,1% de suas microesferas apresentaram tamanho, entre 36-43 μm , impedindo sua fagocitose, o que caracteriza a inflamação gerada pela implantação do polímero como localizada e controlada, além disso, não foram observadas microesferas em órgãos à distância.

INTRODUÇÃO

O polimetilmetacrilato (PMMA) foi sintetizado com êxito pela primeira vez em 1902. Em 1994 suas microesferas foram vinculadas ao colágeno bovino, tornando o PMMA um veículo pastoso e facilmente implantável na subderme. A partir de então, com os compostos de colágeno misturados às microesferas de PMMA, ficou constatado uma maior permanência no local, despertando grandes e positivas expectativas nos pesquisadores e na comunidade médica. Desde 1945, esta resina acrílica é amplamente utilizada em odontologia para a preparação de próteses dentárias (HAZARI et al., 2015). Este produto tem sido progressivamente utilizado em diversas especialidades cirúrgicas e é reconhecido como um material excelente para estabilização de fraturas de ossos longos (CORDONA et al., 2011), reconstruções craniofaciais (ABDO FILHO et al., 2011), lentes intra-oculares (ORÍÁ et al., 2012), e preenchimento de tecidos moles (LEMPERLE, et al., 2010). O PMMA é classificado como bom material aloplástico graças à algumas de suas características como o fato de este ser permanente ou não absorvível e não degradável (PURICELLI et al., 2011). Este têm sido extensivamente estudado para suas numerosas e possíveis aplicações no domínio dos revestimentos, adesivos, sensores, dispositivos ópticos, biomaterial, dentre outras (PADILHA, MANSANARES, BARTOLI, 2013).

No Brasil, a mais de 12 anos os implantes infiltrativos de PMMA vêm sendo utilizados para reposição de volumes perdidos com processo de envelhecimento e preenchimento de sulcos e rugas (DE JESUS et al., 2015), uma vez que, comprovadamente, este é um polímero que estimula a neo colagênese, provoca uma reação inflamatório controlada, que estabiliza e fixa o material no local do implante. Reações tardias do tipo corpo estranho (granulomas) têm sido observadas com o uso do PMMA, e estão provavelmente relacionadas a má qualidade da matéria prima utilizada para a fabricação dos produtos, predisposição de cada indivíduo, colagenoses (DE JESUS et al., 2015), erro de procedimento de implantação (concentração alta em plano superficial), má distribuição do produto após implantação e má qualidade do PMMA utilizado (LEMPERLE, G. 2006)

Diversos fatores interferem no tipo e na intensidade da reação inflamatória do organismo frente a implantação de PMMA com a finalidade de preenchimento estético; dentre estes está o tamanho das microesferas do polímero, as quais devem medir entre 36-43 μm , uma vez que este parece ser o tamanho ideal para injeções dérmicas grandes o suficiente para evitar fagocitose e pequenas o suficiente para ser facilmente entregues através de uma agulha de 21G. Este valor é aceito sustentado por relatos da literatura que mostram que microesferas com diâmetro menor que 20 μm desencadeiam uma resposta inflamatória do tipo granulomatosa além de serem comprovadamente fagocitadas (Morhenn, Lemperle and Gallo, 2002) e maiores que 50 μm não

seriam implantados de forma eficiente (LEMPERLE, G. et al., 2004; LEMPERLE, G; GAUTHIER-HAZAN, N., 2009). Vinculado ao tamanho das microesferas injetadas, outro fator que interfere na estabilidade do PMMA implantado e conseqüentemente na reação inflamatória desencadeada, é a quantidade de deposição de colágeno ao redor das microesferas do polímero; esferas com diâmetro de 100 μm desencadeiam a produção de apenas 56% do tecido conjuntivo fibroso ao seu redor, enquanto esferas com diâmetro médio de 40 μm promovem o crescimento de cerca de 80% de fibras colágenas. Quanto maior a estabilidade do polímero, menor a probabilidade de dispersão e conseqüente resposta inflamatória exacerbada (LEMPERLE, G. et al., 2010a; LEMPERLE, G. et al., 2010b).

Lemperle, Morhenn e Charrier (2003) analisaram e compararam dez produtos comercializados e utilizados como preenchedores de tecidos moles, no que tange sua biocompatibilidade e durabilidade. Após 4 anos de experimento, os autores puderam constatar que todas as substâncias, reabsorvíveis ou não reabsorvíveis mostraram-se clinicamente e histologicamente seguras, mesmo descrevendo reação inflamatória leve tardia, além de reação granulomatosa, os autores não atribuíram tais alterações celulares ao implante dos polímeros.

Sousa et al., (2008) implantaram PMMA (Newplastic®) em camundongos BALB/c e analisaram a presença de resposta inflamatória frente à implantação e de que forma esta se manifestava, além de avaliar a deposição de colágeno. Os autores concluíram que a implantação intramuscular de Newplastic® promoveu a deposição de colágeno mas não induziu uma inflamação crônica, o que demonstra a biocompatibilidade desse material para fins de bioplastia, entretanto foi verificada a presença de infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear no local de implantação do polímero.

Diante da escassez de artigos científicos voltados para a descrição de materiais específicos em bioplastia, este trabalho faz-se necessário uma vez que tenta eleger o melhor material de aplicação e o tamanho mais adequado de microesferas, o que facilita deduzir a possível reação inflamatória frente essa implantação e se há ou não a possibilidade de reações adversas à distância.

Os objetivos do presente trabalho foram analisar o tamanho das microesferas de três formas comercializadas de PMMA e o processo inflamatório gerado pelo implante, além de avaliar a permanência das microesferas no tecido implantado.

MATERIAIS E MÉTODOS

Avaliação do tamanho das microesferas através de microscopia eletrônica de varredura

A análise das diferentes marcas de PMMA foi realizada por meio de Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) no Laboratório de Microscopia (LABMIC) da Universidade Federal de Goiás (UFG).

As marcas analisadas foram Biossimetric® 30%, Meta Crill® 30% e Linnea Safe® 30%. As mesmas estavam acondicionadas na forma comercial, em gel dentro de uma bisnaga. Para análise foi utilizado um porta amostras de alumínio (Stub), específico para o MEV, o qual foi previamente preparado através de limpeza por ultrassom e secagem em estufa. Aproximadamente 0,1ml da parte inicial da bisnaga da amostra foi descartado. Em seguida, sobre o Stub limpo e seco, uma alíquota da amostra foi espalhada utilizando espátulas descartáveis para formar um filme delgado. O Stub com a amostra de PMMA foi colocado para secagem em dessecador com sílica em gel à temperatura ambiente por aproximadamente 24 horas. Após secagem completa da amostra, ela foi recoberta com ouro, utilizando um sistema para deposição de filmes (Denton Vacuum, modelo Desk V), e analisada no MEV, marca Jeol, modelo JSM – 6610.

Para determinar a dispersão de tamanhos das partículas de PMMA foram realizadas imagens com aumento fixo de 200 vezes. O programa Scandium da Olympus Soft Imaging Solutions GmbH foi usado para analisar as imagens e determinar os tamanhos das partícula, para isso foram analisadas aproximadamente 1550 partículas de cada marca. Essa metodologia foi repetida, de forma padronizada pelo mesmo profissional, com as três marcas de PMMA a serem analisadas.

Análise in vivo

Esta pesquisa foi desenvolvida de acordo com os princípios éticos da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório. O estudo foi realizado em camundongos isogênicos BALB/c, fêmeas, com idade variando entre 4 e 8 semanas, criados e mantidos no biotério do IPTSP-UFG. Os 56 animais usados foram subdivididos em dois grupos: Grupo 1: 35 camundongos implantados com 1 µl de PMMA Linnea Safe® 30% no músculo gastrocnêmico do membro posterior esquerdo (5 animais por dia experimental); Grupo 2: 21 camundongos controle inoculados com 1 µl de solução salina (3 animais por dia experimental). As eutanásias foram realizadas após 3, 7, 15, 30, 60, 90 e 120 dias após o procedimento cirúrgico.

Os camundongos foram inicialmente imobilizado para possibilitar a tricotomia na região caudal do membro posterior esquerdo. Realizou-se um pertuito com agulha 40x12 perfurando epiderme e derme, para aplicação de 1 μ l de PMMA Linnea Safe® 30% ou solução salina por retroinjeção (evitando a implantação em vasos sanguíneos e linfáticos) com microcânula de ponta romba (21G X 25mm) e pistola de ácido cirúrgico o que proporcionou a formação de um tunelamento subdérmico e implantação intramuscular do PMMA. Para proporcionar melhor distribuição da solução fez-se uma leve massagem na região.

Análise histopatológica

Os animais foram eutanasiados nos tempos pré estabelecidos por deslocamento cervical. Foram retirados e fixados em formaldeído a 4% os membros posteriores esquerdos e as vísceras (fígado, linfonodos poplíteos, baço, rins e pulmões). As patas foram pesadas e posteriormente os músculos gastrocnêmicos foram removidos das mesmas com cortes no sentido longitudinal e desidratados em soluções alcoólicas de concentração crescente (80, 90 e 100%), diafanizados em xilol e incluídos em parafina de baixo ponto de fusão assim como as vísceras.

Os blocos foram cortados em fragmentos de 5 μ m de espessura e as lâminas coradas por hematoxilina e eosina (H&E), para as vísceras foram realizados 10 cortes seriados em topografia do hilo, afim de avaliar a possível migração das microesferas de PMMA Linnea Safe® 30% e as possíveis reações inflamatórias provocadas por ele no tecido; enquanto que para os músculos foram realizadas apenas em um corte do tecido. As imagens foram avaliadas, quanto a presença de infiltrado inflamatório e depósito de colágeno, de forma semiquantitativa em microscopia de luz.

RESULTADOS

Após análise morfométrica das esferas de PMMA de três diferentes marcas, verificou-se que da marca Biossimetric® (30%) a grande maioria das microesferas (37,8%) tinham diâmetro entre 1 e 8 μ m, apenas 4,1% delas apresentavam diâmetro entre 36 e 43 μ m, e 36,7% delas tinham diâmetro maior que 50 μ m. A análise da marca Metacrill® (30%) permitiu inferir que 76,1% das microesferas de PMMA tinham entre 1 e 36 μ m, 7,6% entre 36 e 43 μ m e 16,3% delas tinham mais que 43 μ m de diâmetro. Diferente das duas marcas anteriormente analisadas, Linnea Safe® (30%) apresentou-se com um aspecto mais homogêneo e microesferas concentradas, onde 8% delas tinham entre 1 a 8 μ m, 87,1% entre 36 e 43 μ m e apenas 0,3% mais que 43 μ m (Figura 1, Tabela 1).

A análise histopatológica da implantação de microesferas de PMMA Linnea Safe® em

camundongos desencadeou um processo inflamatório agudo de 3 a 15 dias após o procedimento cirúrgico ao redor das esferas implantadas, com a presença de importante infiltrado inflamatório predominantemente polimorfonuclear (PMN) além de dissociação das fibras musculares. Após 30 dias de implantação do polímero, a inflamação desencadeada diminuiu assumindo um perfil crônico não granulomatoso com reorganização do tecido; predomínio de infiltrado mononuclear (MN) e maior deposição de colágeno aderido às microesferas e às fibras musculares. Não foi observado necrose, granuloma e angiogênese no tecido adjacente. Não foram observadas alterações histopatológicas no grupo controle (Figura 2).

Não foram observadas microesferas de PMMA Linnea Safe® nos 10 cortes de vísceras (fígado, linfonodos poplíteos, baço, rins e pulmões), em todos os grupos, ao longo de todo período analisado. Não foram encontradas microesferas de PMMA nos linfonodos poplíteos, porém foi observado aspecto reacional deste órgão em fases iniciais do estudo. Não houve diferença entre os pesos das patas que receberam o implante e a outra contralateral dos mesmos animais ao longo do período analisado (Figura 3).

DISCUSSÃO

A análise das três marcas de PMMA através de MEV permitiu demonstrar de forma clara que o polímero Biossimeetric® apresenta a maior dispersão entre as microesferas e maior variabilidade de tamanho das mesmas, quando comparada com as outras duas marcas analisadas, sendo considerado um produto ineficiente uma vez que as esferas que apresentarem menor diâmetro estarão mais susceptíveis à migração e suas esferas maiores podem não ser implantadas de forma correta, impedindo ou dificultando sua fixação e melhor reorganização do tecido implantado. MetaCrill® também demonstrou importante variabilidade de tamanhos entre suas microesferas, e foi considerado um produto disperso quando os espaços entre as micropróteses foram evidenciados. De forma oposta às marcas analisadas e citadas acima, Linnea Safe® apresentou-se como um polímero homogêneo, uma vez que as suas microesferas apresentavam-se concentradas, ou seja, com mínima dispersão, e com tamanhos iguais ou próximos do ideal (36-43 µm).

Piacquadio, Smith e Anderson (2008), compararam também através de MEV diferentes formas comercializadas de polimetilmetacrilato para determinar se há diferenças significativas entre estes produtos, dentre eles o MetaCrill que também foi analisado neste estudo. Diferenças morfológicas expressivas foram reveladas, principalmente em relação ao tamanho das microesferas desses polímeros, levando os autores à conclusão de que a variabilidade observada

entre esses produtos pode resultar em diferentes perfis terapêuticos, especialmente no que diz respeito à segurança dos pacientes. Diante dessa realidade, os mesmos puderam inferir que médicos e profissionais de saúde devem estar cientes de que os produtos "comparáveis" que muitas vezes são considerados semelhantes podem não ser iguais.

Diante da variabilidade encontrada no tamanho das micropróteses e pensando na implantação de produtos como este em seres humanos para bioplastia, faz-se necessária a tomada de algumas medidas na tentativa de prevenir efeitos maléficos ao paciente que receberá implantes de PMMA, como por exemplo a conscientização da classe médica no que diz respeito à qualidade dos produtos que estão sendo colocados à venda para uso em seres humanos e as consequências da falta de controle de qualidade dos mesmos; faz-se necessário também maior envolvimento dos médicos na cobrança por mais investimentos por parte dos laboratórios na compra de matéria prima de qualidade para ser utilizada na fabricação dos produtos, além da implementação de uma política de controle e fiscalização nos laboratórios para que os produtos tenham um padrão de qualidade de acordo com as evidências científicas, ou seja, que os mesmos padronizem o tamanho ideal das microesferas visando impedir ou dificultar a migração das mesmas.

A instauração de um perfil inflamatório agudo frente às microesferas implantadas via intramuscular em camundongos isogênicos BALB/c fêmeas é muito bem caracterizado, com o predomínio de células polimorfonucleares no infiltrado, evidenciando que o sistema imune do animal foi ativado; o infiltrado limitou-se ao redor das microesferas, na tentativa de contê-las. Por volta de 15 dias após a implantação observou-se uma dissociação das fibras musculares e consequente depósito de tecido conjuntivo do hospedeiro entre as microesferas, havendo então uma substituição do veículo do PMMA, que é reabsorvível, por colágeno. Este achado corrobora com Sousa et al., (2008) que descreveram esta deposição a partir do primeiro mês de implante, seguida por completa substituição até 3 meses após implantação.

Após 30 dias implantação de PMMA a inflamação assume um perfil crônico não granulomatoso com o predomínio de células MN no infiltrado inflamatório, reorganização do tecido muscular e avançada deposição de colágeno entre as microesferas implantadas como descrito por Lemperle, Morhenn e Charrier (2003) após análise de Artecoll.

Mesmo tendo sido provado por Morhenn, Lemperle and Gallo (2002) que partículas menores que 20µm são fagocitadas por células como queratinócitos e células de Langrhans, nosso estudo não evidenciou esse fato após análise dos 10 cortes em topografia de hilo de vísceras (fígado, linfonodos poplíteos, baço, rins e pulmões), em todos os grupos, ao longo de todo período analisado, provando que o PMMA Linnea Safe® não sofre migração, o que evidencia que a

inflamação desencadeada por ele é localizada e controlada; fato que está diretamente relacionado à homogeneidade do diâmetro de suas microesferas, uma vez que, como descrito por Lemperle et al em 2004, partículas maiores que 20 μm são encapsuladas por tecido conjuntivo, a maioria das microesferas de Linnea Safe[®] implantadas sofrem essa estabilização por colágeno. Apesar de não terem sido encontradas microesferas de PMMA Linnea Safe[®] nos linfonodos poplíteos, foi observado aspecto reacional em fases iniciais do estudo, o que evidencia a ativação do sistema imune do hospedeiro frente àquele corpo estranho.

CONCLUSÃO

Portanto com base nas análises do presente estudo pode-se concluir que o PMMA da marca Linea Saffe[®] comportou-se como um biomaterial seguro e estável, uma vez que suas microesferas obedecem uma homogeneidade de tamanho, entre 36-45 μm , impedindo sua fagocitose, o que caracteriza a inflamação gerada pela implantação do polímero como localizada e controlada, e impede sua migração.

REFERÊNCIAS

1. ABDO FILHO, Ruy C. C; OLIVEIRA, Thais M.; NETO, Natalino Lourenço; GURGEL, Carla; ABDO, Ruy C.C. Reconstruction of bony facial contour deficiencies with polymethylmethacrylate implants: case report. **J. Appl. Oral Sci.**, v. 19, n. 4, p. 426-430, 2011.
2. CARDONA R., Leonel; BROUSSE, Mariana; MIERES, Marcelo; ARIAS, Sérgio; GUTIÉRREZ, Édgar. Evaluación de la resistencia de un prototipo de placa de compresión dinámica (PCD) fabricada de polimetilmetacrilato (PMMA) probada en fémur canino osteotomizado. **Rev. Med. Vet.**, n.21, p. 13-24, 2011.
3. JESUS, Luciano Henrique; HILDEBRAND, Laura de Campos; MARTINS, Manoela Domingues; ROSA, Francinne Miranda; DANILEVICZ, Chris Krebs; Sant'Ana Filho, Manoel. Location of injected polymethylmethacrylate microspheres influences the onset of late adverse effects: an experimental and histopathologic study. **Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.**, v. 8, p. 431–436, 2015.
4. LEMPERLE, Gottfried; MORHENN, Vera; CHARRIER, Ulrich. Human Histology and Persistence of Various Injectable Filler Substances for Soft Tissue Augmentation. **Aesthetic Plast. Surg.** v. 27, p. 354-366, 2003.
5. LEMPERLE, Gottfried; MORHENN, Vera; PESTONJAMASP, Vasumati; GALLO, Richard. Migration Studies and Histology of Injectable Microspheres of Different Sizes in Mice. *Plast Reconstr Surg.*, v.113., p. 1380-1390, 2004.
6. LEMPERLE, Gottfried; GAUTHIER-HAZAN, Nelly; Wolters, M. Komplikationen nach Faltenunterspritzung und ihre Behandlung. **Handchir. Mikrochir. Plast. Chir.**, v. 38, p. 354-369, 2006.
7. LEMPERLE, Gottfried; GAUTHIER-HAZAN, Nelly. Foreign Body Granulomas after All Injectable Dermal Fillers: Part 2. Treatment Options. **Plast Reconstr Surg.** v. 123, p. 1864-1873, 2009.
8. LEMPERLE, Gottfried; KNAPP, Terry; SADICK, Neil; LEMPERLE, Stefan. ArteFill® Permanent Injectable for Soft Tissue Augmentation: I. Mechanism of Action and Injection Techniques. **Aesthetic Plast Surg.**, v. 34, p. 264–272, 2015.
9. MORHENN, Vera; LEMPERLE, Gottfried; GALLO, Richard. Phagocytosis of different particulate dermal filler substances by human macrophages and skin cells. **Dermatol. Surg.** v. 28, p. 484- 490, 2002.
10. ORIÁ, Arianne Pontes; NETO, Francisco de Assis Dórea; SANTOS, Luís Alberto; PIZA, Evandro de Toledo; BRUNNELLI, Adriana Torrecilhas Jorge; NISHIMORI, Celina Tie; SOUZA, Ana Letícia Groszewicz; Deusdete Conceição GOMES JUNIOR, Deusdete Conceição; LAUS, José Luiz. Evaluation of polymethylmethacrylate as ocular implant in rabbits subjected to evisceration. **Rev. Ceres**, v. 59, n. 4, p. 452-457, 2012.
11. PADILHA, Giovana da Silva; MANSANARES, Virginia; BARTOLI, Julio Roberto. Effect of plasma fluorination variables on the deposition and growth of partially fluorinated polymer over PMMA films. **Polímeros**, v. 23, p. 585-589, 2013.
12. PIACQUADIO, Daniel; SMITH, Stacy; ANDERSON, Russel. A Comparison of Commercially Available Polymethylmethacrylate-Based Soft Tissue Fillers. **Dermatol. Surg.** v. 34, p. 48–52, 2008.
13. PURICELLI, Edela; NÁCUL, Almir Moojen; PONZONI, Deise; CORSETTI, Adriana; HILDEBRAND, Laura de Campos; VALENTE, Denis Souto. Intramuscular 30% polymethylmethacrylate (PMMA) implants in a non-protein vehicle: an experimental study in rats. **Rev. Bras. Cir. Plást.**, v. 26, p. 385-389, 2011.
14. SOUSA, Eduardo Martins; COSTA, Eduardo Luís; SILVA, Ediane Batista; FILHO, João Alves Araújo; LINO-JÚNIOR, Ruy de Souza; JUNQUEIRA-KIPNIS, Ana Paula. Resposta inflamatória e deposição de colágeno após implante intramuscular após implante intramuscular com polimetilmetacrilato em camundongos Balb/c. **Acta Sci Vet.** v. 36, p. 13-19, 2008.

Figura 1: Microscopia Eletrônica de Varredura das três marcas comercializadas de PMMA, Biossimeetric®, Meta Crill® e Linnea Saffe®.

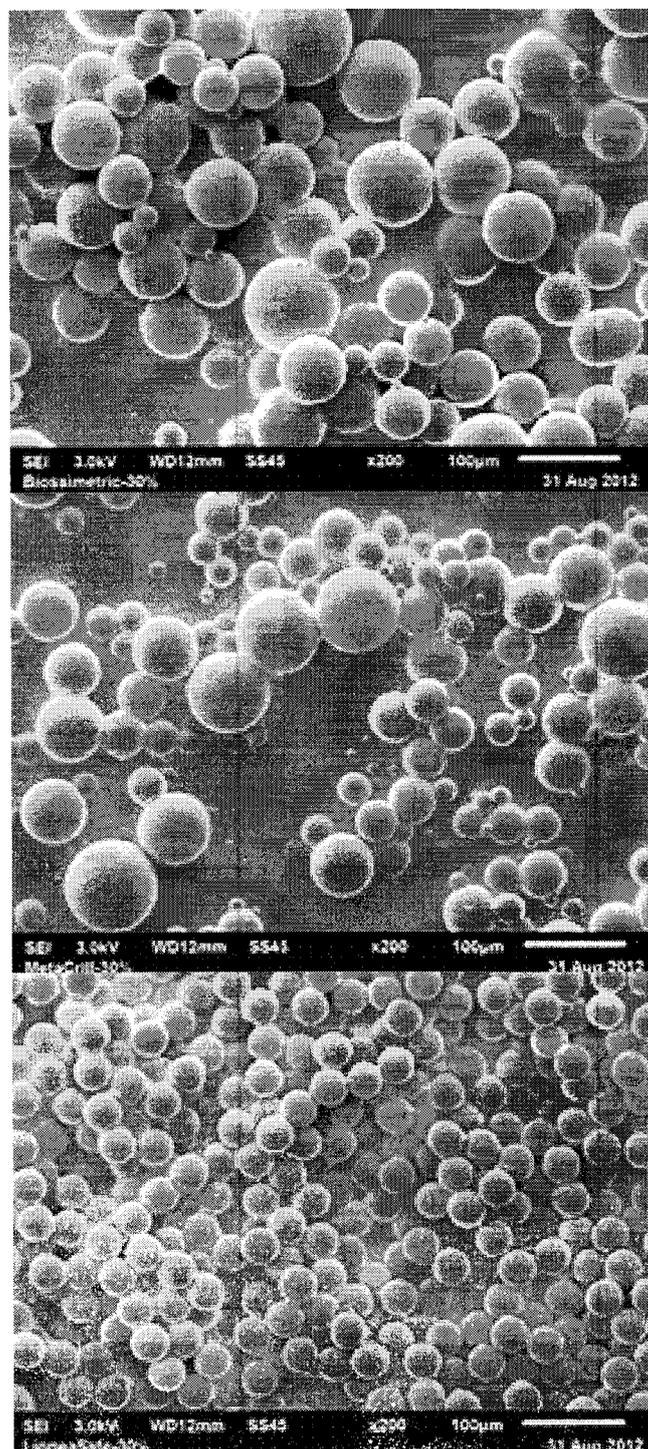
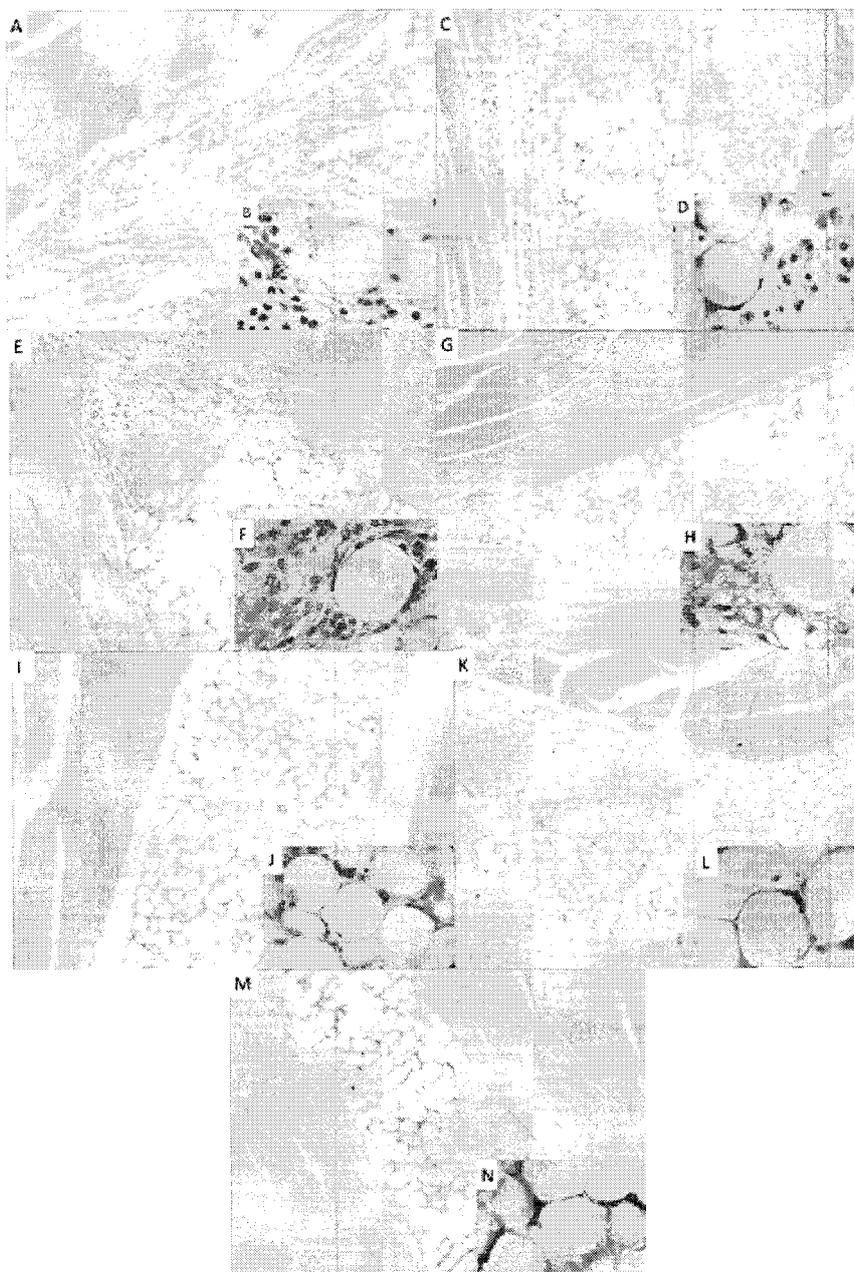


Tabela 1: Distribuição das microesferas das três marcas de PMMA por intervalo de tamanho através de contagem após MEV

Intervalo de tamanhos (μm)	Biossimetric 30%		Meta Crill 30%		Linnea Safe 30%	
	Número de partículas	Percentage m	Número de partículas	Percentage m	Número de partículas	Percentage m
1-8	601	37,8	305	19,1	137	8,7
8-15	77	4,8	348	21,8	25	1,6
15-22	36	2,3	239	14,9	3	0,2
22-29	36	2,3	202	12,6	4	0,3
29-36	62	3,9	125	7,8	29	1,9
36-43	66	4,1	121	7,6	1365	87,1
43-50	124	7,8	80	5,0	2	0,1
50-57	162	10,2	67	4,2	1	0,1
57-64	156	9,8	38	2,4	0	0
64-71	129	8,1	36	2,3	1	0,1
71-78	59	3,7	16	1,0	0	0
78-85	45	2,8	8	0,5	0	0
85-92	22	1,4	8	0,5	0	0
92-99	8	0,5	2	0,1	0	0
99-106	3	0,2	3	0,2	0	0
106-113	2	0,1	0	0	0	0
113-120	3	0,2	1	0,1	0	0

Figura 2: Microscopia óptica da análise histopatológica nos 7 dias experimentais após implante de Linnea Safe® em camundongos BALB/c.



Menor aumento: objetiva de 10X; Maior aumento: objetiva de 100 X; 7 dias experimentais: 3 (A/B), 7 (C/D), 15 (E/F), 30 (G/H), 60 (I/J), 90 (K/L), 120 (M/N) DAI.

Figura 3: Distribuição do peso das patas do membro posterior esquerdo, por dia experimental, de camundongos BALB/c após implante de Lennea Safe®.

