

Relatório Final RL10239/2010 - 5.1 (90d)
07 de Abril de 2011

Título do Estudo

Teste de Implante Subcutâneo em Ratos e Toxicidade Subcrônica para Ratos (90 dias) para o produto Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001

Metodologia de Referência

“A Practical Guide to ISO 10993-6: Implant Effects” (ISO 10993, 2000)
OECD Guidelines for testing of chemicals - “Guidance Notes for Analysis and Evaluation of Repeat-Dose Toxicity Studies. 32, (2000)”

Patrocinador

Lebon Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda
Av. Ricardo Leonidas Ribas, 439; Distrito Industrial
Cep: 91.790-005
Porto Alegre - RS

Laboratório contratado

TECAM Tecnologia Ambiental São Roque Ltda.
Estrada do Carmo, 3001.
Caixa Postal nº 312 – Cep.: 18130-970
São Roque, SP.

ÍNDICE

DECLARAÇÃO DE CONFORMIDADE DO ESTUDO	6
RESUMO	7
1. INTRODUÇÃO	9
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	9
2.1. Dados da substância-teste	9
2.2. Datas do estudo	9
2.3. Dados do sistema-teste.....	10
2.4. Condições do estudo	12
2.5. Procedimentos.....	12
3. RESULTADOS.....	14
3.1 Parâmetros clínicos e peso	14
3.2 Necropsia e achados histopatológicos	16
3.3 Histopatologia de pele	17
4. CONCLUSÃO	18
5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	18
6. LISTA DE TABELAS	

Tabela 1 – Pesos corpóreos semanais e peso final (g), com média e desvio padrão (dp), dos animais (machos) do primeiro grupo experimental (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001) (30 dias)..... 19

Tabela 2 – Pesos corpóreos semanais e peso final (g), com média e desvio padrão (dp), dos animais (machos) do segundo grupo experimental (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001) (60 dias)..... 19

Tabela 3 – Pesos corpóreos semanais e peso final (g), com média e desvio padrão (dp), dos animais (machos e fêmeas) dos grupos controle e experimental (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para

plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001) (90 dias).....	20
Tabela 4 – Ganho de peso total (g), média e desvio padrão dos machos do primeiro (30 dias) e segundo grupo experimental (60 dias) (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001)..	24
Tabela 5 – Ganho de peso total (g), média e desvio padrão, dos machos e fêmeas dos grupos controle e experimental (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001) (90 dias).....	24
Tabela 6 – Acompanhamento clínico dos animais do grupo controle (machos e fêmeas) (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001) (90 dias)	25
Tabela 7 – Acompanhamento clínico dos animais (machos) do primeiro grupo experimental (30 dias) (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001).	26
Tabela 8 – Acompanhamento clínico dos animais (machos) do segundo grupo experimental (60 dias) (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001).	26
Tabela 9 – Acompanhamento clínico dos animais (machos) do terceiro grupo experimental (90 dias) (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001).	26

Tabela 10 - Parâmetros de bioquímica sérica: uréia e alanina aminotransferase (ALT) nos machos e fêmeas do grupo controle e terceiro grupo experimental (90 dias) (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001)..... 28

Tabela 11 - Parâmetros hematológicos: quantidade de eritrócitos (milhões/mm³), quantidade de hemoglobina (g/dL), % de hematócrito e quantidade de leucócitos (mil/mm³) nos machos e fêmeas do grupo controle e grupo experimental (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001) (90 dias).....30

Tabela 12 – Necropsias individuais dos machos e fêmeas do grupo controle (90 dias).32

Tabela 13 – Necropsias individuais dos machos do primeiro grupo experimental (30 dias) (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001).....33

Tabela 14 – Necropsias individuais dos machos do segundo grupo experimental (60 dias) (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001).....34

Tabela 15 – Necropsias individuais dos machos e fêmeas do terceiro grupo experimental (90 dias) (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001).....35

Tabela 16 – Resultado das análises histopatológicas dos órgãos dos machos e fêmeas do grupo controle (90 dias).....37

Tabela 17 – Resultado das análises histopatológicas dos órgãos dos machos e fêmeas do terceiro grupo experimental (90 dias) (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora.


Registro	na	Anvisa	nº
80256510001)			38

7. LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Retirada do implante e processamento das amostras 14

DECLARAÇÃO DE CONFORMIDADE DO ESTUDO

O presente estudo com o produto **Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA)** utilizado para a reconstrução de **deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001**, requerido pela empresa **Lebon Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda** foi conduzido dentro dos preceitos estabelecidos pelo Sistema de Qualidade do Tecam. O relatório interim representa um registro preciso e verdadeiro dos resultados obtidos e contém informações estritamente confidenciais. Os dados brutos do estudo encontram-se à disposição da empresa solicitante no endereço do **TECAM – Tecnologia Ambiental Ltda**, à Rua Fábria, 59, São Paulo – SP.


LUIS FERNANDO NEGRO SILVA (MSc)
Médico Veterinário
CRMV-SP 21.810

07 de Abril de 2011

PESSOAL TÉCNICO

Luis Fernando Negro Silva (MSc)
Claudia K. de Oliveira Alves (Farmacêutica)
Aline de Amorim Rossi (Bióloga)
Renata Gemio dos Reis (MSc)
Priscila Maria Fagundes (Bióloga)
Rodrigo Aparecido de Souza (Suporte Técnico)
Virginia Mendes Gonçalves (Suporte Técnico)
Danielle dos Santos Pereira (Suporte Técnico)
Josani S. Batista (Suporte Técnico)
Roberto M. da Rosa (Suporte Técnico)
Everaldo Roberto da Rosa (Suporte Técnico)
Marina Pinheiro Guerreiro (Suporte Técnico)
Felipe A. Ruiz Sueiro (Médico Veterinário Patologista)

RESUMO

O objetivo deste estudo foi obter informações sobre as reações locais na zona de implante subcutâneo do produto **Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001** em ratos após um período de 30, 60 e 90 dias; assim como obter informações sobre os efeitos adversos causados após a exposição repetida ao produto após 90 dias.

Três grupos de animais (grupo experimental) receberam implantes por meio de injeção subcutânea de 0,2 mL do material (**Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001**) na região do flanco esquerdo. Os animais implantados foram divididos em três grupos: primeiro grupo experimental – composto por 5 animais machos implantados por um período de 30 dias; segundo grupo experimental - composto por 5 animais machos implantados por um período de 60 dias e; terceiro grupo experimental - composto por 10 animais (5 machos e 5 fêmeas) implantados por um período de 90 dias. Outros dez animais (5 machos e 5 fêmeas) passaram pelo mesmo procedimento, mas não receberam o implante e foram utilizados como grupo controle.

Durante um período de 30, 60 e 90 dias, os animais foram observados individualmente pelo menos uma vez ao dia, 5 dias por semana para a presença de sinais clínicos de toxicidade e 7 dias por semana para a presença de animais mortos/moribundos. Foi avaliado semanalmente o peso corpóreo nos animais implantados e no grupo controle. Ao final do estudo (30, 60 e 90 dias), todos os animais foram eutanasiados e necropsiados. As zonas de implante dos três grupos experimentais foram coletadas, fixadas em formol 10%, processadas e analisadas histopatologicamente.

Nos animais com 90 dias de teste (terceiro grupo experimental e grupo controle) foram colhidas amostras de sangue para análises hematológicas e bioquímicas e de órgãos (baço, fígado e rim) para análise histopatológica.

Não foram observadas mortalidade ou alterações clínicas evidentes em todos os animais tratados durante os 30, 60 e 90 dias, assim como alterações no peso corpóreo ou perda de peso relacionada ao tratamento. As análises bioquímicas e hematológicas não

apresentaram alterações significativas dignas de nota. A análise microscópica dos fragmentos renais do grupo controle e experimental revelou conservação do padrão histológico normal. Observaram-se congestão e pequena quantidade de material amorfo eosinofílico nos túbulos renais. A avaliação do baço evidenciou congestão dos vasos e a presença de hemossiderina. O fígado encontrava-se congesto e com degeneração vacuolar em alguns animais. Os achados histopatológicos do grupo controle e experimental (90 dias) são inespecíficos e podem estar correlacionados à eutanásia e a variações fisiológicas da espécie.

Os fragmentos de pele dos três grupos experimentais (30, 60 e 90 dias) revelaram intenso infiltrado inflamatório granulomatoso ocupando extensa área junto a pânículo adiposo e derme, bem como extensa elastose e degeneração colágena junto à periferia da lesão. Esta lesão granulomatosa não se encontrava encapsulada. As reações encontradas na histopatologia estão relacionadas ao processo de implantação do **Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001**, sendo consideradas reações características a presença do corpo estranho. Cabe-se ressaltar que não ocorreu a absorção do material implantado durante o período de tempo estudado (30, 60 e 90 dias). Adicionalmente, os animais testados não apresentaram sinais clínicos de toxicidade ou alterações hematológicas, bioquímicas e histopatológicas consideradas significativas e sugestivas de toxicidade durante o período de 90 dias.

1. INTRODUÇÃO

O presente estudo teve como objetivo obter informações das reações locais na zona de implante subcutâneo do produto **Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001** em ratos através de exames histopatológicos comparativos, assim como obter informações sobre os efeitos adversos causados após a exposição repetida ao produto por um período de 90 dias.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia utilizada segue os procedimentos descritos no:

“A Practical Guide to ISO 10993-6: Implant Effects” (ISO 10993, 2000);

OECD Guidelines for testing of chemicals - “Guidance Notes for Analysis and Evaluation of Repeat-Dose Toxicity Studies. 32, (2000)”.

2.1. Dados da substância-teste

Nome Comercial:	Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001.
Lote:	1005-O
Protocolo nº:	10239/2010 – 5.0
Data de entrada:	16/10/2010
Data de fabricação:	28/05/2010
Validade:	28/05/2012
Nº Registro:	80256510001

2.2. Datas do estudo

Período da aclimação:	24 a 29 de julho de 2010 - primeiro, segundo e terceiro grupo experimental;
-----------------------	---

Período da fase experimental:

21 a 26 de julho de 2010 – grupo controle.

30 de julho a 28 de agosto de 2010 - primeiro grupo experimental;

30 de julho a 28 de setembro de 2010 - segundo grupo experimental;

30 de julho a 29 de outubro de 2010 - terceiro grupo experimental;

27 de julho a 25 de outubro de 2010 – grupo controle.

2.3. Dados do sistema-teste

Espécie:

Rattus norvegicus.

Linhagem:

Wistar (ratos albinos).

Nº animais e Sexo:

5 animais machos (primeiro grupo experimental); 5 animais machos (segundo grupo experimental), 10 animais (5 machos e 5 fêmeas – terceiro grupo experimental) e grupo controle (5 machos e 5 fêmeas).

Justificativa para a seleção do sistema-teste:

O rato albino é a espécie de escolha para o teste de toxicidade por várias agências regulatórias; o rato Wistar mostrou-se sensível aos efeitos tóxicos de variadas substâncias; historicamente há diversas referências sobre ratos Wistar disponíveis em literatura.

Procedência:

TECAM São Roque.

Nascimento:

11 de maio de 2010 - primeiro e terceiro grupo experimental e grupo controle;

14 de maio de 2010 - segundo grupo experimental.

Peso corpóreo e idade:

Adultos jovens com 11 semanas no início do tratamento; a variação de peso de cada animal não excedeu 20% da média de cada sexo.

Aclimação:

Os animais foram aclimatados às condições de laboratório por 5 dias antes do início do teste e foram examinados durante esse período; animais com quaisquer sinais de anormalidade não foram utilizados no estudo.

Alojamento:

Caixas de polipropileno convencionais (41,0 x 34,0 x 16,0 cm) para a espécie contendo no máximo 3 animais por caixa.

Alimentação:

Nos períodos de aclimação e teste foi fornecida ração para a espécie Biobase Biotec *ad libitum*; a ração fornecida é analisada periodicamente pelo TECAM/SP para verificar a presença de contaminantes microbiológicos.

Água:

Nos períodos de aclimação e teste foi fornecida água filtrada *ad libitum*; a água é analisada periodicamente para verificar a presença de contaminantes químicos e microbiológicos.

Identificação:

As caixas com os animais foram identificadas com número da caixa, número de animais, sexo, data de nascimento, número do protocolo e as datas do teste. Os animais foram pesados e identificados com canetas coloridas de forma a permitir a avaliação individual.

2.5. Condições de estudo

Temperatura:	19 a 22°C (primeiro grupo experimental); 19 a 25°C (segundo grupo experimental); 19 a 24 °C (terceiro grupo experimental) 19 a 24 °C (grupo controle).
Umidade relativa média (teste):	43 % (primeiro grupo experimental); 48 % (segundo grupo experimental); 60 % (terceiro grupo experimental); 49 % (grupo controle).
Fotoperíodo:	12h luz e 12h de escuro (7:00h as 19:00h).
Duração do teste:	90 dias.
Via de exposição:	Subcutânea.

2.6. Procedimentos

Foram utilizados três grupos experimentais (dois grupos com 5 machos cada e um grupo com 5 machos e 5 fêmeas) que receberam o implante e um grupo controle (5 machos e 5 fêmeas) que não recebeu o implante subcutâneo **Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001.**

Para a realização do implante do material nos grupos experimentais, injetou -se no flanco esquerdo previamente tricotomizado de cada animal 0,2 mL do produto puro (**Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001**) entre a pele e a musculatura. Para compararmos a histologia da pele dos animais tratados com o implante subcutâneo utilizamos como base nosso controle histórico e a características histológicas que constituem uma pele normal.

Todos os animais foram pesados no início de cada semana de teste por quatro, oito e treze semanas consecutivas, respectivamente, para acompanhamento de ganho de peso. Os animais foram individualmente observados por um período de 30, 60 e 90 dias, cinco

dias por semana para avaliação de sinais clínicos de toxicidade e sete dias por semana para a presença de animais mortos/moribundos. Uma vez por semana, no momento da pesagem dos animais, foi realizada nova tricotomia e remarcação das áreas do implante. Após 30, 60 e 90 dias todos os animais foram eutanasiados com associação de ketamina 100 mg/kg pc (peso corpóreo) + xilazina 50 mg/kg pc, por via intraperitoneal, e necropsiados. Durante a necropsia foram colhidos os locais de pele contendo o implante nos três grupos experimentais (**Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001**) e fragmentos de órgãos (baço, fígado e rins) nos animais com 90 dias (terceiro grupo experimental).

A região de implante nos grupos experimentais foi retirada com 2 mm de área adjacente (Figura 1) e o material fixado em formol 10%. Após a retirada do material, os fragmentos de pele foram encaminhados para o processamento histopatológico e realizados as colorações de Hematoxilina-Eosina (HE), Von Kossa e Tricrômio de Masson para observação de inflamação, calcificação e fibrose.

Paralelamente aos grupos experimentais foi realizado um grupo controle composto por 10 animais (5 machos e 5 fêmeas). Estes animais foram pesados no início de cada semana de teste, por treze semanas consecutivas, para o acompanhamento de ganho de peso e avaliação de sinais clínicos de toxicidade (cinco dias por semana) e; sete dias por semana para a presença de animais mortos/moribundos. Após o período de 90 dias, os animais também foram eutanasiados, necropsiados e colhidas amostras de órgãos (baço, fígado e rins).

Adicionalmente foram colhidas amostras para avaliações hematológica (contagem total de hemácias, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio, concentração de hemoglobina celular hemácia e leucócitos), bioquímica (uréia e aspartatoalanino transferase - ALT) e histopatológica (baço, fígado e rins) nos animais do terceiro grupo experimental (90 dias) e nos controle.

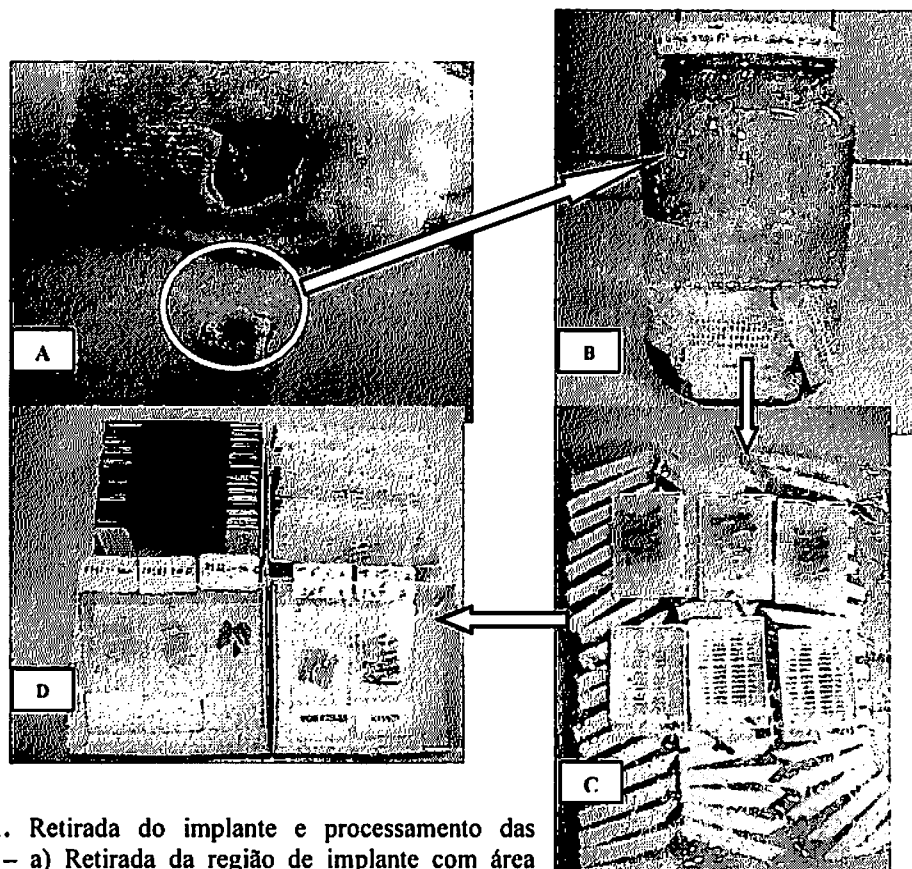


Figura 1. Retirada do implante e processamento das amostras – a) Retirada da região de implante com área adjacente; b) Fixação em formol a 10%; c) Materiais incluídos em blocos de parafina; d) Lâminas de histopatologia coradas por HE, Von Kossa e Tricrômico de

3. RESULTADOS

3.1 Parâmetros clínicos e peso

Na avaliação dos pesos corpóreos semanais e finais entre os animais do primeiro grupo experimental, no período de 30 dias, observaram um aumento de peso, exceto no peso aos 21 dias no qual nota-se uma perda de peso na média do grupo. Entretanto, esta variação do peso não possui relevância biológica, pois os animais não manifestaram sinais clínicos (Tabela 1).

Na avaliação dos pesos corpóreos semanais e finais entre os animais do segundo grupo experimental, no período de 60 dias, observaram um aumento de peso gradual (Tabela 2).

Na avaliação dos pesos corpóreos semanais e finais entre os animais dos grupos controle e experimental (terceiro grupo), no período de 90 dias, não se observaram diferenças significativas ($p < 0,05$) nos machos e fêmeas (Tabela 3).

Com relação à análise dos ganhos de peso corpóreo total dos animais do primeiro (30 dias) e segundo experimental (60 dias) também foram observados aumento dos mesmos (Tabela 4). Já com relação à comparação dos ganhos de peso corpóreo total dos animais de dos grupos controle e terceiro grupo experimental (90 dias) não foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) em ambos os sexos (machos e fêmeas) (Tabela 5).

Durante todo o período de teste não foram observados sinais clínicos nos animais dos grupos controle e experimental (primeiro, segundo e terceiro grupo) (Tabelas 6, 7, 8 e 9).

Não foram observadas diferenças estatísticas nas análises bioquímicas entre os animais dos grupos controle e experimental (terceiro grupo), no período de 90 dias, nos machos e fêmeas (Tabela 10). Apesar de creatinina apresentar um discreto aumento nos machos e fêmeas dos grupos controle e experimental, este não representa sinal de toxicidade, pois os animais não apresentavam sinais clínicos nem alterações no peso corporal. Também se observou uma discreta diminuição nos níveis séricos de proteína total que também não representa um sinal de toxicidade pelas mesmas razões descritas para os níveis de creatinina.

Na avaliação dos parâmetros hematológicos não foram observadas diferenças estatísticas no número de hemácias, dosagem de hemoglobina, hematócrito e número de leucócitos (Tabela 11). Ao avaliarmos o número de hemácias nos machos do grupo experimental e controle observamos que estes estavam ligeiramente aumentados, entretanto não possuíam um significado, pois os animais não apresentaram sinais clínicos. O mesmo ocorreu para hemoglobina nos machos do grupo controle e experimental e para as fêmeas do grupo experimental. Com relação ao hematócrito observou-se um discreto aumento nos machos do grupo experimental, não representando um efeito de toxicidade pelo implante **Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001.** O número de leucócitos encontrava-se dentro dos valores de referência considerados normais.

3.2 Necropsia e achados histopatológicos

Após os 30, 60 e 90 dias, avaliação macroscópica foi realizada em todos os animais implantados (3 grupos experimentais) e no grupo controle. Os achados individuais de todos os animais necropsiados estão apresentados nas Tabelas 12, 13, 14 e 15. A análise histopatológica foi realizada em todos os animais do terceiro grupo experimental (90 dias) e do grupo controle e está apresentada nas Tabelas 16 e 17.

Não foi observada nenhuma alteração macroscópica nos grupos controle e terceiro grupo experimental (90 dias). Os animais do primeiro (30 dias) e terceiro (60 dias) grupo experimental apresentaram congestão discreta (um animal) e moderada (oito animais), áreas pálidas multifocais discretas (três animais) e moderadas (um animal) e aumento de volume (um animal) no fígado; congestão pulmonar discreta (cinco animais), moderada (três animais) e severa (um animal). Achados macroscópicos como congestão hepática e pulmonar e áreas pálidas multifocais no fígado são considerados inespecíficos e podem estar relacionados à eutanásia e alterações hemodinâmicas após a morte.

A análise microscópica dos fragmentos renais do grupo controle revelou conservação do padrão histológico normal. A avaliação do baço evidenciou a conservação do padrão histológico normal, com a presença de hemossiderina (10 animais). O fígado apresentou congestão dos vasos (2 animais) e degeneração vacuolar (1 animal).

A análise microscópica do grupo experimental (90 dias), a histopatologia dos fragmentos renais também revelou a conservação do padrão histológico normal. Observaram-se a presença de congestão (10 animais) e pequena quantidade de material amorfo eosinofílico nos túbulos renais (4 animais). A avaliação do baço também evidenciou a conservação do padrão histológico normal, com congestão dos vasos (10 animais) e a presença de hemossiderina (4 animais). O fígado também apresentou congestão dos vasos (9 animais) e degeneração vacuolar (3 animais).

Os achados histopatológicos do grupo controle e experimental (90 dias) são inespecíficos e podem estar correlacionados à eutanásia e a variações fisiológicas da espécie. Estas alterações não são sugestivas de etiologia toxicológica e não apresentam, portanto, nenhuma correlação com a toxicidade para o implante **Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a**

reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001.

3.3 Histopatologia de pele

De acordo com o nosso banco histórico de dados, a análise microscópica dos fragmentos de pele no grupo controle (sem implante) revelam um padrão histológico normal do tecido. A coloração de Tricrômio de Masson revela fibras colágenas típicas dispostas em padrão histológico normal e a coloração de Von Kossa não evidencia deposição de cálcio.

Os fragmentos de pele dos três grupos experimentais (30, 60 e 90 dias) revelaram intenso infiltrado inflamatório granulomatoso (macrófagos, mastócitos, células epitelióides e células gigantes) ocupando extensa área junto a pânículo adiposo e derme. Estas células inflamatórias delimitavam áreas vacuolizadas que, por sua vez, representam a imagem negativa (local de deposição) do implante. Esta imagem se forma durante o processamento histológico do material o qual utiliza reagentes que promovem a remoção da amostra implantanda. Ao avaliarmos a coloração especial de Tricromio de Masson observamos extensa elastose e degeneração colágena junto à periferia da lesão granulomatosa. Esta lesão granulomatosa não se encontrava encapsulada nos três grupos experimentais (30, 60 e 90 dias). Na análise da coloração de Von Kossa não se evidenciou deposição de cálcio.

As reações encontradas na histopatologia estão relacionadas ao processo de implantação do **Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001**, sendo consideradas reações características a presença do corpo estranho. Cabe-se ressaltar que não ocorreu a absorção do material implantado durante o período de tempo estudado (30, 60 e 90 dias).

4. CONCLUSÃO

De acordo com o laudo histopatológico, os animais do grupo experimental (**Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001**) apresentaram padrões reacionais intensos, sem o encapsulamento dos mesmos em sua avaliação geral. Esta reação foi evidenciada pela presença de intenso infiltrado inflamatório granulomatoso, extensa elastose e degeneração colágena ao redor do produto, sendo consideradas reações características a presença do corpo estranho. Adicionalmente, os animais testados não apresentaram sinais clínicos de toxicidade ou alterações hematológicas, bioquímicas e histopatológicas consideradas significativas e sugestivas de toxicidade durante o período de 90 dias.

5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ISO 10993-1. Biological evaluation of medical devices - Part 1: Evaluation and testing, 2009.

ISO 10993-6. Biological evaluation of medical devices - Part 6: Tests for local effects after implantation, 2007.

OECD Guidelines for testing of chemicals - "Guidance Notes for Analysis and Evaluation of Repeat-Dose Toxicity Studies. 32, (2000)".

Tabela 1 – Pesos corpóreos semanais e peso final (g), com média e desvio padrão (dp), dos animais (machos) do primeiro grupo experimental (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001) (30 dias).

Experimental	PI	P7	P14	P21	P28	PF
1 – Macho	360,9	382,7	400,0	404,9	442,4	446,5
2 – Macho	374,5	395,2	409,7	406,7	443,2	445,9
3 – Macho	355,9	390,9	409,3	403,1	438,1	444,6
4 – Macho	311,8	328,5	341,6	345,0	366,0	367,2
5 – Macho	332,2	348,8	356,4	350,3	379,0	386,7
Média ± dp	346,4±24,9	368,6±29,2	383,0±32,1	381,6±31,2	413,6±37,8	417,6±38,1

dp: desvio padrão; PI: peso inicial; P7: peso aos 7 dias; P14: peso aos 14 dias; P21: peso aos 21 dias; P28: peso aos 28 dias, PF: peso final.

.. ..

Tabela 2 – Pesos corpóreos semanais e peso final (g), com média e desvio padrão (dp), dos animais (machos) do segundo grupo experimental (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001) (60 dias).

Experimental	PI	P7	P14	P21	P28
1 – Macho	310,6	325,8	328,8	347,0	361,9
2 – Macho	307,7	328,7	337,9	360,9	372,3
3 – Macho	352,1	312,2	309,2	337,2	339,8
4 – Macho	310,9	372,3	385,6	408,6	422,1
5 – Macho	304,7	326,9	330,8	353,1	358,4
Média ± dp	317,2±14,0	333,2±15,6	338,5±18,9	361,4±18,9	370,9±21,0

dp: desvio padrão; PI: peso inicial; P7: peso aos 7 dias; P14: peso aos 14 dias; P21: peso aos 21 dias; P28: peso aos 28 dias.

Tabela 2 – (Continuação)

Experimental	P35	P42	P49	P56	PF
1 – Macho	364,3	376,4	384,8	389,7	405,2
2 – Macho	373,9	383,7	392,0	391,5	396,5
3 – Macho	339,7	354,8	362,1	370,0	380,7
4 – Macho	424,8	434,8	441,1	452,2	461,0
5 – Macho	366,9	377,9	392,4	386,7	397,4
Média ± dp	373,9±20,4	385,5±19,7	394,5±18,6	398,0±21,7	408,2±21,1

dp: desvio padrão; P35: peso aos 35 dias; P42: peso aos 42 dias; P49: peso aos 49 dias; P56: peso aos 56 dias; PF: peso final.

Tabela 3 – Pesos corpóreos semanais e peso final (g), com média e desvio padrão (dp), dos animais (machos e fêmeas) dos grupos controle e experimental (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001) (90 dias).

Controle	PI	P7	P14	P21	P28
1 – Macho	301,7	327,0	345,5	364,4	382,6
2 – Macho	335,8	323,1	337,0	346,8	357,1
3 – Macho	291,5	355,4	369,3	393,5	408,8
4 – Macho	383,1	336,7	351,3	366,8	381,7
5 – Macho	338,6	330,1	352,0	365,0	378,4
Média ± dp	330,1±36,1	334,5±12,7	351,0±11,8	367,3±16,7	381,7±18,4
Experimental	PI	P7	P14	P21	P28
1 – Macho	399,4	418,9	432,2	442,7	459,1
2 – Macho	345,0	368,7	376,1	388,9	415,8
3 – Macho	336,5	343,1	365,2	378,6	400,4
4 – Macho	310,4	335,9	337,1	354,2	369,4
5 – Macho	330,1	347,5	356,1	366,2	387,0
Média ± dp	344,3±33,3	362,8±33,6	373,3±35,9	386,1±34,2	406,3±34,1

dp: desvio padrão; PI: peso inicial; P7: peso aos 7 dias; P14: peso aos 14 dias; P21: peso aos 21 dias; P28: peso aos 28 dias, *p<0,05

Tabela 3 – (Continuação)

Controle	PI	P7	P14	P21	P28
1 – Fêmea	196,4	206,1	210,2	225,1	222,3
2 – Fêmea	209,3	213,6	216,4	221,8	226,0
3 – Fêmea	207,4	213,3	211,2	216,1	225,2
4 – Fêmea	205,0	211,3	212,4	215,8	221,7
5 - Fêmea	225,1	228,0	229,4	233,9	239,9
Média ± dp	208,6±10,4	214,5±8,1	215,9±7,9	222,5±7,5	227,0±7,4
Experimental	PI	P7	P14	P21	P28
1 – Fêmea	192,1	196,7	200,6	212,9	213,8
2 – Fêmea	252,9	257,1	256,3	269,5	269,8
3 – Fêmea	188,4	200,6	195,7	209,4	214,5
4 – Fêmea	206,5	214,5	214,1	226,1	227,8
5 - Fêmea	195,3	205,4	211,1	221,0	222,1
Média ± dp	207,0±26,5	214,7±24,5	215,6±24,0	227,8±24,2	229,6±23,2

dp: desvio padrão; PI: peso inicial; P7: peso aos 7 dias; P14: peso aos 14 dias; P21: peso aos 21 dias; P28: peso aos 28 dias, *p<0,05

Tabela 3 – (Continuação)

Controle	P35	P42	P49	P56	P63
1 – Macho	399,7	417,9	429,1	426,9	447,4
2 – Macho	370,1	393,3	403,6	397,6	400,0
3 – Macho	421,2	439,9	448,5	447,6	462,0
4 – Macho	398,7	421,4	430,0	437,1	444,3
5 – Macho	389,8	404,2	415,4	418,2	429,6
Média ± dp	395,9±18,5	415,3±17,7	425,3±7,6	425,5±19,1	436,6±23,5
Experimental	P35	P42	P49	P56	P63
1 – Macho	464,4	475,9	479,5	487,9	382,9
2 – Macho	424,8	438,8	443,1	458,2	371,3
3 – Macho	404,2	411,4	415,7	420,3	518,5
4 – Macho	374,8	380,3	385,6	399,1	445,6
5 – Macho	388,0	402,3	405,0	403,9	482,5
Média ± dp	411,2±35,1	421,7±36,8	425,8±36,5	433,9±38,1	440,2±63,2

dp: desvio padrão; P35: peso aos 35 dias; P42: peso aos 42 dias; P49: peso aos 49 dias; P56: peso aos 63 dias

Controle	P35	P42	P49	P56	P63
1 – Fêmea	223,9	229,5	238,3	235,6	239,8
2 – Fêmea	229,5	235,6	246,7	230,7	235,8
3 – Fêmea	228,9	234,7	240,2	236,4	242,0
4 – Fêmea	223,0	228,5	239,4	229,2	233,1
5 – Fêmea	243,9	257,0	266,6	250,7	257,6
Média ± dp	229,8±8,4	237,1±11,6	246,2±11,8	236,5±37,4	241,7±9,5
Experimental	P35	P42	P49	P56	P63
1 – Fêmea	210,9	214,0	217,6	217,0	224,0
2 – Fêmea	274,6	282,4	286,0	290,6	301,4
3 – Fêmea	208,3	208,9	215,8	212,8	221,2
4 – Fêmea	224,4	231,4	236,9	233,1	237,1
5 – Fêmea	223,9	230,9	236,0	233,7	244,3
Média ± dp	228,4±26,8	233,5±29,1	238,5±28,4	237,4±31,2	245,6±32,6

dp: desvio padrão; P35: peso aos 35 dias; P42: peso aos 42 dias; P49: peso aos 49 dias; P56: peso aos 63 dias.

Tabela 3 – (Continuação)

Controle	P70	P77	P84	PF
1 – Macho	455,8	398,0	468,6	473,1
2 – Macho	407,7	440,7	425,7	430,9
3 – Macho	471,8	383,0	481,9	483,6
4 – Macho	454,0	459,1	461,3	465,9
5 – Macho	430,1	455,8	446,1	450,0
Média ± dp	443,9±25,1	427,3±34,7	456,7±21,6	460,7±20,7

Experimental	P70	P77	P84	PF
1 – Macho	376,6	488,7	515,6	516,6
2 – Macho	474,6	483,6	512,6	524,7
3 – Macho	432,5	436,9	452,2	454,8
4 – Macho	407,2	409,8	417,5	419,2
5 – Macho	412,4	416,5	424,6	428,6
Média ± dp	420,7±36,2	447,1±37,1	464,5±47,1	468,8±49,2

dp.: desvio padrão, P70: peso aos 70 dias; P77: peso aos 77 dias; P84: peso aos 84 dias; PF: peso final.

Controle	P70	P77	P84	PF
1 – Fêmea	239,5	230,5	243,6	248,4
2 – Fêmea	239,7	226,2	236,9	240,5
3 – Fêmea	251,9	242,0	254,7	258,1
4 – Fêmea	251,0	231,8	235,1	239,8
5 – Fêmea	269,3	253,0	269,7	275,6
Média ± dp	250,3±12,2	236,7±10,8	248,0±14,3	252,5±14,9

Experimental	P70	P77	P84	PF
1 – Fêmea	223,6	224,7	226,9	225,6
2 – Fêmea	301,4	304,7	316,7	319,3
3 – Fêmea	215,9	216,2	218,3	220,6
4 – Fêmea	237,1	243,4	246,6	247,9
5 – Fêmea	246,3	245,4	249,6	250,5
Média ± dp	244,9±33,7	246,9±34,6	251,6±38,7	252,8±39,5

dp.: desvio padrão, P70: peso aos 70 dias; P77: peso aos 77 dias; P84: peso aos 84 dias; PF: peso final.

Tabela 4 – Ganho de peso total (g), média e desvio padrão dos machos do primeiro (30 dias) e segundo grupo experimental (60 dias) (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001).

Animal	Experimental (30 dias)	Experimental (60 dias)
1 – Macho	85,6	94,6
2 – Macho	71,4	88,8
3 – Macho	88,7	28,6
4 – Macho	55,4	150,1
5 – Macho	54,5	92,7
Média ± dp	71,1±12,9	91,0±25,8

dp: desvio padrão.

Tabela 5 – Ganho de peso total (g), média e desvio padrão, dos machos e fêmeas dos grupos controle e experimental (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001) (90 dias).

Animal	Controle	Experimental
1 – Macho	171,4	117,2
2 – Macho	95,1	179,7
3 – Macho	192,1	118,3
4 – Macho	82,8	108,8
5 – Macho	111,4	98,5
Média ± dp	130,6±48,4	124,5±31,7
1 – Fêmea	52,0	33,5
2 – Fêmea	31,2	66,4
3 – Fêmea	50,7	32,2
4 – Fêmea	34,8	41,4
5 – Fêmea	50,1	55,2
Média ± dp	43,8±9,9	45,7±14,7

dp: desvio padrão.

Tabela 6 – Acompanhamento clínico dos animais do grupo controle (machos e fêmeas) (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001) (90 dias).

Animais	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13
1 – Macho	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
2 – Macho	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
3 – Macho	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
4 – Macho	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
5 – Macho	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
1 – Fêmea	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
2 – Fêmea	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
3 – Fêmea	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
4 – Fêmea	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
5 – Fêmea	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

S1: sinal clínico na 1ª semana; S2: sinal clínico na 2ª semana; S3: sinal clínico na 3ª semana; S4: sinal clínico na 4ª semana; S5: sinal clínico na 5ª semana; S6: sinal clínico na 6ª semana; S7: sinal clínico na 7ª semana; S8: sinal clínico na 8ª semana; S9: sinal clínico na 9ª semana; S10: sinal clínico na 10ª semana; S11: sinal clínico na 11ª semana; S12: sinal clínico na 12ª semana; S13: sinal clínico na 13ª semana. NA- Nenhuma alteração.

Tabela 7 – Acompanhamento clínico dos animais (machos) do primeiro grupo experimental (30 dias) (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001).

Animais	S1	S2	S3	S4	S5
1 – Macho	NA	NA	NA	NA	NA
2 – Macho	NA	NA	NA	NA	NA
3 – Macho	NA	NA	NA	NA	NA
4 – Macho	NA	NA	NA	NA	NA
5 – Macho	NA	NA	NA	NA	NA

S1: sinal clínico na 1ª semana; S2: sinal clínico na 2ª semana; S3: sinal clínico na 3ª semana; S4: sinal clínico na 4ª semana; S5: sinal clínico na 5ª semana. NA- Nenhuma alteração.

Tabela 8 – Acompanhamento clínico dos animais (machos) do segundo grupo experimental (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001) (60 dias).

Animais	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
1 – Macho	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
2 – Macho	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
3 – Macho	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
4 – Macho	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
5 – Macho	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

S1: sinal clínico na 1ª semana; S2: sinal clínico na 2ª semana; S3: sinal clínico na 3ª semana; S4: sinal clínico na 4ª semana; S5: sinal clínico na 5ª semana; S6: sinal clínico na 6ª semana; S7: sinal clínico na 7ª semana; S8: sinal clínico na 8ª semana. NA- Nenhuma alteração.

Tabela 9 – Acompanhamento clínico dos animais (machos e fêmeas) do grupo terceiro experimental (90 dias) (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001).

Animais	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13
1 – Macho	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
2 – Macho	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
3 – Macho	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
4 – Macho	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
5 – Macho	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
1 – Fêmea	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
2 – Fêmea	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
3 – Fêmea	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
4 – Fêmea	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
5 - Fêmea	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

S1: sinal clínico na 1ª semana; S2: sinal clínico na 2ª semana; S3: sinal clínico na 3ª semana; S4: sinal clínico na 4ª semana; S5: sinal clínico na 5ª semana; S6: sinal clínico na 6ª semana; S7: sinal clínico na 7ª semana; S8: sinal clínico na 8ª semana; S9: sinal clínico na 9ª semana; S10: sinal clínico na 10ª semana; S11: sinal clínico na 11ª semana; S12: sinal clínico na 12ª semana; S13: sinal clínico na 13ª semana. NA- Nenhuma alteração.

Tabela 10 - Parâmetros de bioquímica sérica: uréia e alanina aminotransferase (ALT) nos machos e fêmeas do grupo controle e terceiro grupo experimental (90 dias) (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001).

Controle	CR (mg/dL)	ALT (U/L)	PT (g/dL)
1 – Macho	0,6	40,0	5,5
2 – Macho	0,5	30,1	6,7
3 – Macho	0,5	25,1	7,8
4 – Macho	0,4	24,6	4,3
5 – Macho	0,6	34,2	5,1
Média ± dp	0,5±0,1	30,8±6,5	5,9±1,4
Experimental	CR (mg/dL)	ALT (U/L)	PT (g/dL)
1 – Macho	0,5	30,1	6,6
2 – Macho	0,4	32,3	5,5
3 – Macho	0,5	25,6	5,6
4 – Macho	0,5	26,3	5,6
5 – Macho	0,5	37,3	5,1
Média ± dp	0,5±0,0	30,3±4,8	5,7±0,5

dp: desvio padrão; CR: creatinina; ALT: alanino aminotransferase; PT: proteína total.

Tabela 10 – (Continuação)

Controle	CR (mg/dL)	ALT (U/L)	PT (g/dL)
1 – Fêmea	0,6	25,1	4,3
2 – Fêmea	0,5	25,7	5,5
3 – Fêmea	0,5	32,1	4,8
4 – Fêmea	0,5	32,9	4,9
5 - Fêmea	0,6	24,1	5,8
Média ± dp	0,5±0,0	28,0±4,2	5,1±0,6
Experimental	CR (mg/dL)	ALT (U/L)	PT (g/dL)
1 – Fêmea	0,4	33,5	4,5
2 – Fêmea	0,5	37,8	4,8
3 – Fêmea	0,4	23,9	4,9
4 – Fêmea	0,4	24,7	5,2
5 - Fêmea	0,6	25,9	5,4
Média ± dp	0,5±0,1	29,2±6,1	5,0±0,3

dp: desvio padrão; CR: creatinina; ALT: alanino aminotransferase; PT: proteína total.

Tabela 11 - Parâmetros hematológicos: quantidade de eritrócitos (milhões/mm³), quantidade de hemoglobina (g/dL), % de hematócrito e quantidade de leucócitos (mil/mm³) nos machos e fêmeas do grupo controle e grupo experimental (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001) (90 dias).

Controle	He 10⁶/μL	Hb g/dL	Ht %	Leucócitos 10³/μL
1 – Macho	9,9	17,2	51	7,3
2 – Macho	9,2	16,5	49	6,9
3 – Macho	8,8	16,5	49	6,9
4 – Macho	9,1	16,5	47	6,6
5 – Macho	7,9	15,8	48	8,3
Média ± dp	9,0±0,7	16,6±0,5	48,8±1,5	7,2±0,7
Experimental	He 10⁶/μL	Hb g/dL	Ht %	Leucócitos 10³/μL
1 – Macho	8,8	17,2	51	7,3
2 – Macho	9,2	19,5	52	4,8
3 – Macho	9,1	18,2	52	5,6
4 – Macho	7,9	16,0	48	6,6
5 – Macho	8,1	16,6	48	6,5
Média ± dp	8,6±0,6	17,5±1,4	50,2±2,0	6,2±1,0

dp: desvio padrão; He: hemácias; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; *p<0,05

Tabela 11 – (Continuação)

Controle	He 10⁶/μL	Hb g/dL	Ht %	Leucócitos 10³/μL
1 – Fêmea	8,9	15,2	45	4,7
2 – Fêmea	8,7	15,1	42	7,5
3 – Fêmea	7,9	15,6	47	4,8
4 – Fêmea	8,0	15,5	43	5,0
5 - Fêmea	7,8	16,2	45	6,9
Média ± dp	8,3±0,5	15,5±0,4	44,4±1,9	5,8±1,3
Experimental	He 10⁶/μL	Hb g/dL	Ht %	Leucócitos 10³/μL
1 – Fêmea	7,8	16,1	48	5,0
2 – Fêmea	7,9	16,0	48	6,4
3 – Fêmea	8,2	16,6	47	5,5
4 – Fêmea	9,0	19,0	44	5,6
5 - Fêmea	8,3	16,0	49	6,0
Média ± dp	8,2±0,5	16,7±1,3	47,2±1,9	5,7±0,5

dp: desvio padrão; He: hemácias; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; *p<0,05

Tabela 12 – Necropsias individuais dos machos e fêmeas do grupo controle (90 dias).

Observações Macroscópicas	Animais (machos)				
	1	2	3	4	5
Esôfago	NA	NA	NA	NA	NA
Traquéia	NA	NA	NA	NA	NA
Tireóide	NA	NA	NA	NA	NA
Pulmões	NA	NA	NA	NA	NA
Brônquios	NA	NA	NA	NA	NA
Coração	NA	NA	NA	NA	NA
Diafragma	NA	NA	NA	NA	NA
Estômago	NA	NA	NA	NA	NA
Intestinos	NA	NA	NA	NA	NA
Baço	NA	NA	NA	NA	NA
Pâncreas	NA	NA	NA	NA	NA
Fígado	NA	NA	NA	ID	NA
Linfonodos	NA	NA	NA	NA	NA
Musculatura	NA	NA	NA	NA	NA
Rins	NA	NA	NA	NA	NA
Bexiga	NA	NA	NA	NA	NA
Testículos	NA	NA	NA	NA	NA

NA: nenhuma alteração; I: congestão; D: discreta.

Observações Macroscópicas	Animais (fêmeas)				
	1	2	3	4	5
Esôfago	NA	NA	NA	NA	NA
Traquéia	NA	NA	NA	NA	NA
Tireóide	NA	NA	NA	NA	NA
Pulmões	NA	NA	NA	NA	NA
Brônquios	NA	NA	NA	NA	NA
Coração	NA	NA	NA	NA	NA
Diafragma	NA	NA	NA	NA	NA
Estômago	NA	NA	NA	NA	NA
Intestinos	NA	NA	NA	NA	NA
Baço	NA	NA	NA	NA	NA
Pâncreas	NA	NA	NA	NA	NA
Fígado	NA	NA	NA	NA	NA
Linfonodos	NA	NA	NA	NA	NA
Musculatura	NA	NA	NA	NA	NA
Rins	NA	NA	NA	NA	NA
Bexiga	NA	NA	NA	NA	NA
Ovários	NA	NA	NA	NA	NA

NA: nenhuma alteração.

Tabela 13 – Necropsias individuais dos machos do primeiro grupo experimental (30 dias) (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001).

Observações Macroscópicas	Animais (machos)				
	1	2	3	4	5
Esôfago	NA	NA	NA	NA	NA
Traquéia	NA	NA	NA	NA	NA
Tireóide	NA	NA	NA	NA	NA
Pulmões	1M	1M	1S	1M	1D
Brônquios	NA	NA	NA	NA	NA
Coração	NA	NA	NA	NA	NA
Diafragma	NA	NA	NA	NA	NA
Estômago	NA	NA	NA	NA	NA
Intestinos	NA	NA	NA	NA	NA
Baço	NA	NA	NA	NA	NA
Pâncreas	NA	NA	NA	NA	NA
Fígado	1M, 2D	1M, 2M, 3	1M, 2M,3	1M, 2M,3	1D,2D
Linfonodos	NA	NA	NA	NA	NA
Musculatura	NA	NA	NA	NA	NA
Rins	NA	NA	NA	NA	NA
Bexiga	NA	NA	NA	NA	NA
Testículos	NA	NA	NA	NA	NA

NA: nenhuma alteração; 1: congestão; 2: áreas pálidas multifocais; 3: aumento de volume; D: discreto; M: moderado; S: severo.

Tabela 14 – Necropsias individuais dos machos do segundo grupo experimental (60 dias) (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001).

Observações Macroscópicas	Animais (machos)				
	1	2	3	4	5
Esôfago	NA	NA	NA	NA	NA
Traquéia	NA	NA	NA	NA	NA
Tireóide	NA	NA	NA	NA	NA
Pulmões	1D	1D	1D	1D	NA
Brônquios	NA	NA	NA	NA	NA
Coração	NA	NA	NA	NA	NA
Diafragma	NA	NA	NA	NA	NA
Estômago	NA	NA	NA	NA	NA
Intestinos	NA	NA	NA	NA	NA
Baço	NA	NA	NA	NA	NA
Pâncreas	NA	NA	NA	NA	NA
Fígado	1M	1M, 2D	1M	1M	NA
Linfonodos	NA	NA	NA	NA	NA
Musculatura	NA	NA	NA	NA	NA
Rins	NA	NA	NA	NA	NA
Bexiga	NA	NA	NA	NA	NA
Testículos	NA	NA	NA	NA	NA

Tabela 15 – Necropsias individuais dos machos e fêmeas do terceiro grupo experimental (90 dias) (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001).

Observações Macroscópicas	Animais (machos)				
	1	2	3	4	5
Esôfago	NA	NA	NA	NA	NA
Traquéia	NA	NA	NA	NA	NA
Tireóide	NA	NA	NA	NA	NA
Pulmões	NA	NA	NA	NA	NA
Brônquios	NA	NA	NA	NA	NA
Coração	NA	NA	NA	NA	NA
Diafragma	NA	NA	NA	NA	NA
Estômago	NA	NA	NA	NA	NA
Intestinos	NA	NA	NA	NA	NA
Baço	NA	NA	NA	NA	NA
Pâncreas	NA	NA	NA	NA	NA
Fígado	NA	NA	NA	NA	NA
Linfonodos	NA	NA	NA	NA	NA
Musculatura	NA	NA	NA	NA	NA
Rins	NA	NA	NA	NA	NA
Bexiga	NA	NA	NA	NA	NA
Testículos	NA	NA	NA	NA	NA

NA: nenhuma alteração

Tabela 15 – (continuação)

Observações Macroscópicas	Animais (fêmeas)				
	1	2	3	4	5
Esôfago	NA	NA	NA	NA	NA
Traquéia	NA	NA	NA	NA	NA
Tireóide	NA	NA	NA	NA	NA
Pulmões	NA	NA	NA	NA	NA
Brônquios	NA	NA	NA	NA	NA
Coração	NA	NA	NA	NA	NA
Diafragma	NA	NA	NA	NA	NA
Estômago	NA	NA	NA	NA	NA
Intestinos	NA	NA	NA	NA	NA
Baço	NA	NA	NA	NA	NA
Pâncreas	NA	NA	NA	NA	NA
Fígado	NA	NA	NA	NA	NA
Linfonodos	NA	NA	NA	NA	NA
Musculatura	NA	NA	NA	NA	NA
Rins	NA	NA	NA	NA	NA
Bexiga	NA	NA	NA	NA	NA
Ovários	NA	NA	NA	NA	NA

NA: nenhuma alteração

Tabela 16 – Resultado das análises histopatológicas dos órgãos dos machos e fêmeas do grupo controle (90 dias).

Órgãos	Lesões	Animais (machos)				
		1	2	3	4	5
Fígado	Infiltrado inflamatório	-	-	-	-	-
	Congestão	-	1	-	1	-
	Degeneração vacuolar	-	-	-	1	-
Rins	Infiltrado inflamatório	-	-	-	-	-
	Congestão	-	-	-	-	-
	Hemorragia	-	-	-	-	-
	Edema	-	-	-	-	-
	Necrose	-	-	-	-	-
	Material eosinofílico tubular	-	-	-	-	-
Baço	Infiltrado inflamatório	-	-	-	-	-
	Congestão	-	-	-	-	-
	Hemossiderina	P	P	P	P	P

* 1. Discreto; 2. Moderado; P. presente

Órgãos	Lesões	Animais (fêmeas)				
		1	2	3	4	5
Fígado	Infiltrado inflamatório	-	-	-	-	-
	Congestão	-	-	-	-	-
	Degeneração vacuolar	-	-	-	-	-
Rins	Infiltrado inflamatório	-	-	-	-	-
	Congestão	-	-	-	-	-
	Hemorragia	-	-	-	-	-
	Edema	-	-	-	-	-
	Necrose	-	-	-	-	-
	Material eosinofílico tubular	-	-	-	-	-
Baço	Infiltrado inflamatório	-	-	-	-	-
	Congestão	-	-	-	-	-
	Hemossiderina	P	P	P	P	P

* 1. Discreto; 2. Moderado; P. presente

Tabela 17 – Resultado das análises histopatológicas dos órgãos dos machos e fêmeas do terceiro grupo experimental (90 dias) (Implante Injetável PMMA 30% - Hidrogel contendo polimetilmetacrilato (PMMA) utilizado para a reconstrução de deficiência do tecido mole. Implante para plástica reparadora. Registro na Anvisa nº 80256510001).

Órgãos	Lesões	Animais (machos)				
		1	2	3	4	5
Fígado	Infiltrado inflamatório	-	-	-	-	-
	Congestão	1	1	2	2	1
	Degeneração vacuolar	-	-	-	1	-
Rins	Infiltrado inflamatório	-	-	-	-	-
	Congestão	1	2	2	1	1
	Hemorragia	-	-	-	-	-
	Edema	-	-	-	-	-
	Necrose	-	-	-	-	-
	Material eosinofílico tubular	-	1	-	-	1
Baço	Infiltrado inflamatório	-	-	-	-	-
	Congestão	1	2	2	1	2
	Hemossiderina	P	P	-	-	P

* 1. Discreto; 2. Moderado; P. presente

Órgãos	Lesões	Animais (fêmeas)				
		1	2	3	4	5
Fígado	Infiltrado inflamatório	-	-	-	-	-
	Congestão	1	-	2	1	2
	Degeneração vacuolar	1	-	-	1	-
Rins	Infiltrado inflamatório	-	-	-	-	-
	Congestão	1	1	1	2	2
	Hemorragia	-	-	-	-	-
	Edema	-	-	-	-	-
	Necrose	-	-	-	-	-
	Material eosinofílico tubular	-	-	-	1	1
Baço	Infiltrado inflamatório	-	-	-	-	-
	Congestão	1	2	2	1	1
	Hemossiderina	-	-	P	-	-

* 1. Discreto; 2. Moderado; P. presente