

**CHARLES JEAN GOMES DE MESQUITA**

**DIMENSÃO FRACTAL E HISTOMETRIA DIGITAL NA AVALIAÇÃO DOS  
EFEITOS DO PROPRANOLOL SOBRE A REAÇÃO CAPSULAR AO  
IMPLANTE DE SILICONE**

**Fortaleza**

**2014**

**CHARLES JEAN GOMES DE MESQUITA**

**DIMENSÃO FRACTAL E HISTOMETRIA DIGITAL NA AVALIAÇÃO DOS  
EFEITOS DO PROPRANOLOL SOBRE A REAÇÃO CAPSULAR AO  
IMPLANTE DE SILICONE**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial à obtenção do Grau de Doutor em Cirurgia.

Orientador: Prof. Dr. José Alberto Dias Leite

**Fortaleza**

**2014**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências da Saúde

---

- M543d Mesquita, Charles Jean Gomes de.  
Dimensão fractal e histometria digital na avaliação dos efeitos do propranolol sobre a reação capsular ao implante de silicone/ Charles Jean Gomes de Mesquita. – 2014.  
234f. : il. color., enc. ; 30 cm.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Cirurgia, Fortaleza, 2014.  
Orientação: Prof. Dr. José Alberto Dias Leite.
1. Fractais. 2. Géis de Silicone. 3. Contratura Capsular em Implantes. 4. Colágeno. 5. Propranolol. I. Título.

---

CDD 617.9

CHARLES JEAN GOMES DE MESQUITA

Dimensão fractal e histometria digital na avaliação dos efeitos do propranolol sobre a reação capsular ao implante de silicone

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial à obtenção do Grau de Doutor em Cirurgia

Aprovada em 29/08/2014

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. José Alberto Dias Leite (orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Moacir Cymrot  
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

---

Prof. Dr. Antonio Ribeiro da Silva Filho  
Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

---

Prof. Dr. Lusmar Veras Rodrigues  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Maximiliano Aguiar Porto  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

## **À minha mãe, dona Janette**

Tão longe fisicamente por muitos anos de minha vida. Extremamente difícil falar de dona Janette sem me emocionar. Talvez por isso dela tão pouco fale.

Na ausência de um pai, que só vim a conhecer com dez anos de idade, mamãe se desdobrava nos dois papéis: sempre trabalhando atrás de uma máquina de costura, mais vezes na casa dos outros que na nossa. Nossa casa, que ela teve que reconstruir duas vezes. A primeira, de modo físico: a casa diminuta, piso de cimento vermelho alisado, um sofá, um pote, dois lampiões, várias redes, encravadas numa fileira de outras, numa pequena travessa (que já teve vários nomes, ao sabor da ditadura ou da redemocratização) não resistiu à enchente de meados dos anos 70 em Parnaíba que atingiu o precário alicerce e erodiu as paredes de taipa. Mesmo criança, também coloquei, literalmente, a mão na massa, ajudando dona Janette a fazer uma casa maior, mais bela e mais forte. A segunda vez em que tentou reconstruir, no sentido figurado, um lar que já não tinha mais como dar certo, dona Janette foi o amálgama que uniu nossa família, quando ganhei um novo irmão.

Durante meus tempos no curso de Medicina em Teresina, espelhei-me em seus esforços, dedicação ao trabalho e à família e às lições passadas por sua prática. Quando eu morava em Bordeaux, recordava-me de seu desejo de dar a melhor formação a seus filhos, batendo aquela saudade. A distância, às vezes, inesperadamente, reata esses sentimentos. Esta tese é para você, MAMÃE.

À minha esposa, **PAULA FABRÍCIA**

Minha vida, nos últimos 15 anos, vem sendo repleta de emoções e alegrias desde que Paula adentrou em minha existência. Abençoada é a pessoa que pode ter a seu lado uma pessoa como ela. Uma pessoa que, desde a época tumultuada do início de nosso namoro tem-me dedicado amor e carinho, superado barreiras, dando-me um norte a seguir, evitando descaminhos quando esses se encontravam próximos. Alegando-se comigo e vivenciando nossas vitórias (seu mestrado, meu mestrado, seu doutorado, meu doutorado) assim como me consolando e me forçando a seguir frente às frequentes derrotas que a vida inevitavelmente nos impõe. Uma mulher que, literalmente, corre com os lobos. Uma fera, guerreira, incansável na luta pelos que lhe são caros e, também, pelos injustiçados. Como se diz, uma pessoa vertical, porém uma guerreira de coração mole e leve, de uma sensibilidade única, amabilíssima e que me propiciou a alegria de um lindo, saudável e inteligentíssimo filho Enrico (do qual esta tese nos privou horas de convivência) e uma segunda família, da qual tenho recebido carinho e apoio.

A meu filho **Enrico**

Um bebê muito Inteligente, ativo e compreensivo, na medida do que é possível a uma criança de três anos, que tem muito a crescer. O brincar se faz brincando. O sonhar se faz sonhando. Ao trabalharmos naquilo de que gostamos, ao mesmo tempo, sonhamos e brincamos.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. **Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos**, Coordenador da Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, pelas inúmeras oportunidades, pela dedicação à Ciência e pelo exemplo de ética e determinação. Exemplos que levarei por toda a vida.

Ao Prof. Dr. **José Alberto Dias Leite**, minha gratidão por ter-me aceitado como orientado. Por transmitir conhecimentos, sempre com paciência e respeito. Suas atitudes me fazem acreditar no funcionalismo público desse país. Suas condutas sempre são muito corretas e o admiro por isso.

Ao Magnífico Reitor do Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS), Professor **José Lima de Carvalho Rocha**, exemplo de dedicação à Educação, pelo respeito e olhar fraterno que expressa a todas as pessoas de seu convívio e que proveu meios e recursos indispensáveis à consecução desta Tese de Doutorado.

Ao Prof. Dr. **Antonio Ribeiro da Silva Filho**, Coordenador do Curso de Medicina da UNICHRISTUS meu eterno agradecimento, por se colocar sempre à disposição em todas as ocasiões que necessitei de sua ajuda, e não foram poucas. A convivência com um ser humano como o senhor é uma dádiva.

Ao Prof. Dr. **Moacir Cymrot**, Coordenador do Curso de Medicina da Universidade Estadual do Ceará, exemplo de dedicação acadêmica, colega cirurgião plástico, por sua participação na defesa de doutorado.

Ao Prof. Dr. **Lusmar Veras Rodrigues**, pelo carinho, respeito e amizade que, desde o início sempre mantivemos e assim deverá ser para sempre. Tenho muita admiração por sua competência e humanismo.

Ao Prof. Dr. **Maximiliano Aguiar Porto**, sou grato pelo privilégio de sua participação na defesa da tese de doutorado; é algo que guardo com muito orgulho.

Ao Prof. Dr. **Miguel Ricardo Barbosa Moraes** pela participação na banca de Qualificação e pela contribuição técnica à finalização desta Tese.

Ao Prof. Dr **Carlos Eduardo Jucá**, colega professor da Unichristus, pela amizade e pela participação na banca de qualificação deste doutoramento.

Ao Prof. Dr. **Gilberto Santos Cerqueira** da Universidade Federal do Piauí pela participação na banca de Qualificação e pela contribuição na finalização desta Tese.

À doutora **Luciana Rocha**, que colocou o seu Laboratório Pathus à disposição e pela ajuda nesse trabalho. Tenho profunda admiração por sua dedicação e devoção ao trabalho.

Ao **Felipe Silva Maciel**, Biólogo e Coordenador do Biotério da Unichristus, pela participação em momentos fundamentais desta pesquisa, pela presteza, profissionalismo, dedicação, habilidade e respeito no trato com os animais utilizados neste trabalho em prol da Ciência.

Aos funcionários do Laboratório de Cirurgia experimental da Unichristus, aqui representados pelo **Erinaldo**, pela preciosa ajuda nos cortes histológicos aqui apresentados.

Aos funcionários da Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, **Luciene Oliveira** e **Magda Fontenele**, por toda a capacidade, humanismo e carinho dedicado aos pós-graduandos. Sempre de bom humor, estiveram sempre solícitas a resolver todos os problemas do auxílio e da bolsa CAPES.

Aos amigos e companheiros de pós-graduação, o meu muito obrigado pelo carinho e amizade.

A meus alunos da Unichristus, futuros colegas: foi muito importante conhecê-los, muito bom desfrutar de suas companhias, e o prazer de estar junto a vocês jamais se apagará de meu coração.



“Nessuna humana investigatione si può dimandare vera scienza s’essa non passa per le matematiche dimostrazioni”.

**Leonardo da Vinci**

"A natureza, ao fazer-nos crescer, não só nos favorece em forças e tamanho, mas, à medida que o tempo vai passando, dilata com ele o espaço interno da inteligência e da alma."

Shakespeare, **Hamlet**, Cena III, Ato I (Laertes)

## RESUMO

As mamoplastias com implante de silicone são as cirurgias plásticas mais realizadas no mundo. O organismo reage a qualquer implante, encapsulando-o. Por razões desconhecidas, algumas cápsulas tornam-se patologicamente ativas gerando uma contratatura capsular adversa (CCA), fibrose constrictiva que deforma a mama reduzindo o resultado estético. Esta afecção de difícil tratamento requer, em alguns casos, reintervenções cirúrgicas que não impedem a recidiva. Tratamentos adjuvantes com drogas e/ou métodos físicos apresentam respostas variáveis e frequentemente insatisfatórias. O propranolol, antagonista não seletivo de betadrenoceptores, vem sendo empregado em estudos pré-clínicos em que a resposta fibrótica é importante parâmetro de avaliação e prognóstico. A demanda por métodos quantitativos e a tradução dos dados de bancada à clínica é uma constante. Métodos tradicionais como a histo-morfometria e a picrosirius-polarização tem sua acurácia aumentada quando associados a técnicas computacionais. A análise da Dimensão Fractal ( $D_F$ ), metodologia não linear de mensuração, tem se mostrado útil na avaliação de imagens biológicas permitindo visualização e compreensão de detalhes imperceptíveis ao olhar humano. O objetivo desse trabalho foi associar essas tecnologias (ferramentas computacionais e recursos matemáticos) na avaliação quantitativa dos efeitos do propranolol na formação da cápsula fibrosa peri-implante. Foram implantadas no plano subcutâneo 36 minipróteses texturizadas, preenchidas com gel de silicone (20 mL), no dorso de cobaias (*Cavia porcellus*). Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos (n=18, cada) sendo tratados ou não com propranolol (10 mg/Kg dissolvido na água de beber diária (150 mL)). Os animais foram acompanhados e sacrificados após 7, 14 ou 21 dias. Após a retirada em bloco e explantação cuidadosa da prótese, a cápsula e o tecido do peri-implante foram preparados e corados pela hematoxilina-eosina (HE) ou picrosirius-red (PSR). A inflamação foi quantificada por atribuição de escores. Microfotografias digitais das amostras coradas pelo PSR foram obtidas sob polarização de forma padronizada para mensurar a espessura da cápsula, densidade do colágeno tipo I e tipo III, índice de fibrose (densidade do colágeno/espessura capsular) e cálculo da dimensão fractal pelo método de contagem de caixas. Foi utilizada análise estatística paramétrica ou não paramétrica conforme a natureza dos dados, considerando um nível de significância  $P < 0,05$ . Não ocorreram casos de infecção, seroma, hematoma ou deslocamento do implante. Todos os animais, independentemente do grupo e do momento do sacrifício exibiam uma cápsula fibrosa. As cápsulas dos animais tratados com propranolol exibiam significativamente menor intensidade de inflamação, cápsulas menos espessas, menor índice fibrótico e menores valores de dimensão fractal do que as do grupo controle. A  $D_F$  revelou correlação inversa com esses parâmetros. Em conjunto, estes achados são condizentes com a inibição da formação da cápsula pelo betabloqueio sistêmico não seletivo, sugerindo ação anti-inflamatória e antifibrogênica do Propranolol.

Palavras-Chave: Fractais. Géis de Silicone. Contratatura Capsular em Implantes. Colágeno. Propranolol.

## ABSTRACT

Despite their popular use in breast augmentation and reconstruction surgeries, the limited biocompatibility of silicone implants can induce severe side effects, including adverse capsular contracture (ACC), an excessive foreign body reaction that forms, by unknown reason, a tight and hard fibrous capsule around the implant. A non-surgical treatment for ACC will be desirable as revision surgery for capsulotomy or capsulectomy with implant exchange are associated with a high risk of recurrence and complications. Recently it has been shown that sympathetic denervation accelerates wound contraction and delays reepithelialization in rats. Another study demonstrated that beta-adrenoceptor blockade has antifibrotic effects in a murine model of nonsinusoidal liver fibrosis. This study examines the effects of using propranolol, a non-selective beta-adrenoceptor antagonist, to prevent capsular formation around texturized silicone prosthesis implanted in the dorsum of male guinea-pigs. Animals (n=36) were randomly distributed into two equal groups, untreated or orally treated with propranolol (10 mg/kg dissolved in daily water). Capsules and implants were removed and examined for inflammation, thickness, fibrosis progression, density of type I and III collagen and fractal dimension by histological scoring using hematoxylin-eosin stained samples, digital histometry for measuring capsular thickness, picrosirius-polarization and digital image analysis for type I and type III collagen density and fractal dimension calculation by box-counting after 7, 14 or 21 days. Propranolol significantly reduced inflammation scores in the capsular tissue as compared to untreated group. Also, the capsular content of type I and type III collagen showed a statistical difference among the groups at different time points ( $p < 0,0001$ , Kruskal-Wallis test). The type I collagen density observed at 1, 2 or 3 weeks decreased significantly compared with that found in the control group. Conversely, the density of type III collagen increased in propranolol-treated group along the time. The capsule thickness in propranolol-treated cavies was significantly thinner and exhibited higher collagen type III/type I ratios and more irregular collagen fiber alignments than control animals. The observed decrease in fractal dimension of collagen also supported the alleviation of capsular formation by propranolol usage. Taken together, these data show that propranolol efficiently delays formation (antiproliferative or cytotoxicity effects) and maturation (antifibrogenic effect) of capsule around textured implants. Therefore, the blockade of beta-adrenoceptors is a promising option to support future therapeutic strategies in the treatment/prevention of capsular contracture.

Key-words: Fractals. Silicone Gels. Implant Capsular Contracture. Collagen. Propranolol.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química do polidimetilsiloxano, principal tipo de silicone empregado na confecção do envoltório e do gel de preenchimento de próteses mamárias.	33
Figura 2 – Representação artística da molécula do polidimetilsiloxano, principal tipo de silicone empregado na confecção do envoltório e do gel de preenchimento de próteses mamárias.	34
Figura 3 – As cinco gerações dos implantes mamários de silicone.	37
Figura 4 – Eventos extracelulares que levam à formação do colágeno.	50
Figura 5 – Estrutura hierárquica do colágeno: cadeias alfa, moléculas de colágeno organizadas em tripla hélice, fibrilas de colágeno agrupadas formando fibras colagenas.	53
Figura 6 – Aplicação do método de caixa(s) para calcular a dimensão de capacidade em figuras planas.	59
Figura 7 – Demonstração da Dimensão Hausdorff-Besicovitch por meio da divisão de figuras unidimensionais (reta), bidimensional (quadrado) e tridimensional (cubo) em partes semelhantes.	62
Figura 8 – Exemplo da Dimensão Hausdorff Besicovitch de uma reta, de um quadrado e da curva de Koch.	62
Figura 9 – Cinco primeiros níveis de construção do conjunto de Cantor (Poeira de Cantor) cuja dimensão fractal $D = \log 2 / \log 3 \sim 0,630$ .	63
Figura 10 – Crescimento não proporcional do ser humano.	64
Figura 11 – Exemplo de correlação <i>log-log</i> para estimativa da dimensão fractal pelo <i>Box-counting</i> executada no ImageJ (Rasband, 1997-2010).	65
Figura 12 – Sequência da geração iterativa do Triângulo de Sierpinski	66
Figura 13 – Rotação anti-horária do Triângulo de Sierpinski	67

Figura 14 – Demonstração do Box-Counting aplicado ao Triângulo de Sierbinski.	68
Figura 15 – Ramificação brônquica e vascular pulmonar. Um exemplo de objeto fractal natural.	70
Figura 16 – Aspecto do interior das gaiolas individuais	77
Figura 17 – Posicionamento das gaiolas no ambiente de experimentação	78
Figura 18 – Anestésicos utilizados.	79
Figura 19 – Soluções para degermação e antissepsia	79
Figura 20 – Embalagem estéril da miniprótese.	82
Figura 21 – Imagem da miniprótese texturizada	83
Figura 22 – Imagem demonstrando o perfil da miniprótese de silicone.	83
Figura 23 – Distribuição de grupos e subgrupos conforme o momento de avaliação.	85
Figura 24 – Animal no pré-operatório imediato com a demarcação das áreas planejadas para incisão cirúrgica, do túnel subcutâneo e loja do implante, devidamente anestesiado e fixado à prancha cirúrgica.	89
Figura 25 – Aspecto do pós-operatório imediato evidenciando o correto posicionamento da miniprótese no dorso do animal.	90
Figura 26 – Aspecto final do posicionamento do miniimplante e curativo	91
Figura 27 – Animal no pós-operatório imediato no Laboratório de Cirurgia Experimental (LABCEX) do Centro Universitário Christus – Unichristus, Fortaleza- Ceará	91
Figura 28 – Preparação para a retirada em bloco da peça	92
Figura 29 – Início da retirada em bloco do material para estudo histológico.	93
Figura 30 – Aspecto da retirada da peça	94

Figura 31 – Aspecto da retirada em bloco da peça	95
Figura 32 – Aspecto do material pós-explantação da prótese.	95
Figura 33 – Esquema dos planos de secção da amostra	96
Figura 34 – Imagem ilustrativa da seleção dos três pontos de mensuração (A, B e C) da espessura da cápsula periimplante (HE, 100x)	100
Figura 35 – Sistema para captura da imagem microscópica	101
Figura 36 – Imagem digitalizada de lâmina corada pelo picrossirius red (PSR) antes da polarização (100x). Nota-se claramente a presença de fibras colágenas dispersas no parênquima da cápsula	103
Figura 37 - Imagem digitalizada de lâmina corada pelo picrossirius red (PSR) sob luz polarizada (100x)	103
Figura 38 – Imagem representativa da primeira etapa de análise automatizada do Colágeno tipo I (vermelho).	105
Figura 39 – Imagem representativa da segunda etapa da análise automatizada do Colágeno tipo I (vermelho + amarelo).	105
Figura 40 – Imagem representativa da terceira etapa da análise automatizada do colágeno tipo III (verde).	106
Figura 41 – Aquisição da imagem pelo ImageJ.	107
Figura 42 - Seleção da ferramenta “Make Binary” para binarização da imagem pelo ImageJ	108
Figura 43 – Imagem binarizada e otimizada em preparação para esqueletização pelo ImageJ	108
Figura 44 – Esqueletização da imagem finalizada pelo ImageJ	109
Figura 45 – Preparo do cálculo da Dimensão Fractal pelo Box Counting no ImageJ	109
Figura 46 – Finalização do Box Counting com cálculo da Dimensão Fractal pelo ImageJ, plotada e já coletada em tabela	110
Figura 47 – Imagem de corte histológico corado pelo picrossirius sob polarização (100 x).	112
Figura 48 – Imagem de corte histológico corado pelo picrossirius sob polarização convertida em escala de cinza (100 x).	112

Figura 49 – Imagem de corte histológico corado pelo picrossirius sob polarização binarizada . Barra = 10 micra (100 x).	113
Figura 50 – Região de interesse da imagem (768 X 512 pixels) de corte histológico corado pelo picrossirius sob polarização (400 x).	113
Figura 51 – Imagem demonstrativa da delimitação das bordas de fibras colágenas encontradas em região de interesse da imagem (768 X 512 pixels) de corte histológico corado pelo picrossirius sob polarização (400 x).	114
Figura 52 – Captura de tela do processamento de imagem pelo ImageJ.	114
Figura 53 – Animal no d7 PO demonstrando o correto posicionamento da miniprótese no seu dorso.	118
Figura 54 – Animal no 21º dia de PO evidenciando protuberância no local correspondente ao local da implantação da miniprótese. Nota-se também o restabelecimento quase completo da pelagem.	119
Figura 55 – Imagem demonstrando que não ocorreu deslocamento da miniprótese. Observar a repilificação parcial (d14, controle).	119
Figura 56 – Imagem da retirada em monobloco da peça. Visualiza-se por transparência a miniprótese encapsulada.	120
Figura 57 – Imagem da peça de necropsia retirada em bloco. A elasticidade da pele encontrava-se preservada. Visualiza-se facilmente a miniprótese através da cápsula, não obstante a abundante neovascularização (d14, grupo controle).	121
Figura 58 – Demonstração do plano de clivagem entre a cápsula e a miniprótese (d21, grupo propranolol).	121
Figura 59 – Imagem do interior da cápsula após explantação da miniprótese (d7, propranolol).	122
Figura 60 – Microfotografia da interface cápsula-implante (prótese já explantada) evidenciando a neoformação vascular, com os microvasos de lúmen compactado projetando-se da camada mais externa para a mais interna da cápsula.	123
Figura 61 – Imagem representativa da estrutura trilaminar da cápsula periprotética	124
Figura 62 – Fibrose capsular evidenciando o aspecto trilaminar, com fibras colágenas arrançadas em paralelo. Pode-se notar a metaplasia sinovial na camada mais interna.	125
Figura 63 – Metaplasia sinovial. Notar a hiperplasia vilosa se projetando na interface cápsula-implante.	125

Figura 64 – Fotomicrografia (HE 400x) evidenciando a fáscia e fibras musculares separadas do tecido conjuntivo neoformado por um tecido conjuntivo frouxo.	126
Figura 65 – Avaliação histológica (HE 200x). Observam-se células polimorfonucleares esparsamente distribuídas, fibrócitos e fibras colágenas, além de vasos no tecido conjuntivo periimplante.	127
Figura 66 – Aspecto da ordenação das fibras colágenas da camada intermediária da cápsula periimplante. Notar o adensamento e o arranjo em paralelo das fibras e o discreto infiltrado inflamatório na região mais central.	128
Figura 67 – Espessura da cápsula periimplante (micra) nos diversos momentos de acordo com o tipo de tratamento. Diferença significativa entre os grupos Controle e Propranolol no 7º e 21º PO ( $p < 0,0001$ , one-way ANOVA).	131
Figura 68 – Comparação intergrupos Controle e Propranolol da densidade do colágeno tipo I. A análise global demonstrou diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,0001$ ) (Kruskal-Wallis).	134
Figura 69 – Comparação intergrupos Controle e Propranolol da densidade do colágeno tipo I no d7 PO. Não ocorreu diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,2781$ ) (Mann-Whitney).	135
Figura 70 – Comparação intergrupos Controle e Propranolol da densidade do colágeno tipo I no d14 PO. Diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,0014$ ) (Mann-Whitney).	135
Figura 71 – Comparação intergrupos Controle e Propranolol da densidade do colágeno tipo I no d21 PO. Diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,0001$ ) (Mann-Whitney).	136
Figura 72 – Evolução temporal da densidade do colágeno tipo I no Grupo Controle. Quantificação utilizando o método PSP (picrossirius polarização) em associação com a análise automatizada do colágeno pelo Sistema de Análise Morfométrica em cobaias submetidos à implantação de miniprótese de silicone não tratados com propranolol. Ocorreu diferença estatisticamente significativa entre d7 e d14 e entre d14 e d21 ( $p < 0,005$ ). Não houve diferença significativa entre d7 e d21 (Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn).	137
Figura 73 – Evolução temporal da densidade do colágeno tipo I no Grupo Propranolol. Quantificação utilizando o método PSP (picrossirius polarização) em associação com a análise automatizada do colágeno pelo Sistema de Análise Morfométrica em cobaias submetidos a implantação de miniprótese de silicone tratados com propranolol. Ocorreu diferença estatisticamente	



- significativa entre d7 e d21 e entre d14 e d21 ( $p < 0,0001$ ) (Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn). 138
- Figura 74 – Comparação intergrupos Controle e Propranolol da densidade do colágeno tipo III. A análise global demonstrou diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,0001$ ) (Kruskal-Wallis). 140
- Figura 75 – Comparação intergrupos Controle e Propranolol da densidade do colágeno tipo III no d7 PO. Ocorreu diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,0232$ ) (Mann-Whitney). 141
- Figura 76 – Comparação intergrupos Controle e Propranolol da densidade do colágeno tipo III no d14 PO. Ocorreu diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,0001$ ) (Mann-Whitney). 141
- Figura 77 – Comparação intergrupos Controle e Propranolol da densidade do colágeno tipo III no d21 PO. Houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,0001$ ) (Mann-Whitney). 142
- Figura 78 – Evolução temporal da densidade do colágeno tipo III do grupo Controle. Quantificação utilizando o método PSR em associação com a análise automatizada do colágeno em amostras (número de observações por grupo = 162) obtidas de animais submetidos a implantação de minipróteses de silicone no dorso não tratados com propranolol. Houve diferença estatisticamente significativa dentro do grupo entre d7 e d14 e entre d7 e d21 ( $p < 0,05$ ) (Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn). 143
- Figura 79 – Evolução temporal da densidade do colágeno tipo III do grupo Propranolol. Quantificação utilizando o método PSP em associação com a análise automatizada do colágeno. Amostras obtidas de animais submetidos a implantação de miniprótese de silicone no dorso tratados com propranolol (número de observações por grupo = 162). Não houve diferença estatisticamente significativa dentro do grupo em nenhum momento (Teste de Kruskal-Wallis). 144
- Figura 80 – Razão entre as medianas da densidade do colágeno tipo III e as do colágeno tipo I nas cápsulas que envolviam o implante de silicone. Ocorreu uma tendência à elevação progressiva da curva desta relação no grupo controle no decorrer do tempo. No grupo tratado com o propranolol ocorreu uma diminuição entre d7 e d14 seguido por um aumento entre d14 e d21. A diferença foi significativa ( $p < 0,05$ ) em todos os momentos. 146
- Figura 81 – Análise da dimensão fractal ( $D$ ) do colágeno nos grupos controle e propranolol nos diferentes tempos.  $D$  mostrou-se menor nos animais do grupo propranolol, quando comparados a  $D$  nos do grupo controle. A diferença foi

bastante significativa ( $P < 0,001$ ) no 7º PO e significativa no 21º PO ( $P < 0,05$ ) (Kruskal-Wallis).	147
Figura 82 – Curva ROC para diferenciação pela Dimensão Fractal entre os grupos controle (CTRL) e Propranolol (PROP) em diferentes momentos (CTRL vs PROP 7 dias; CTRL vs PROP 14 dias e CTRL vs PROP 21 dias).	150
Figura 83 – Análise da dimensão fractal ( $D$ ) do colágeno tipo I nos grupos controle e propranolol nos diferentes tempos. $D$ mostrou-se menor nos animais do grupo propranolol, quando comparados a $D$ nos do grupo controle. A diferença foi bastante significativa ( $p < 0,0001$ ) no d7 (Kruskal-Wallis).	151
Figura 84 – Análise da dimensão fractal ( $D$ ) do colágeno tipo I nos grupos controle e propranolol nos diferentes tempos. $D$ mostrou-se menor nas cápsulas do grupo propranolol, quando comparados a $D$ nas do grupo controle. A diferença foi bastante significativa ( $p < 0,0001$ ) no d7, no d14 ( $p = 0,0027$ ) e no d21 ( $p = 0,0012$ ) (Kruskal-Wallis).	151
Figura 85 – Correlação da espessura da cápsula com a análise fractal no d7 do grupo controle (gráfico superior) e propranolol (gráfico inferior). Forte correlação no grupo controle ( $r = 0,2555$ ; $p = 0,0311$ ). No grupo propranolol não houve forte correlação neste ponto ( $r = 0,1193$ ; $p = 0,1195$ ).	152
Figura 86 – Correlação da espessura da cápsula com a análise fractal no d14 do grupo controle (gráfico superior) e propranolol (gráfico inferior). Correlação positiva no grupo controle ( $r = 0,2035$ ; $p = 0,14$ ). No grupo propranolol houve correlação negativa neste momento ( $r = -0,06653$ ; $p = 0,6378$ ).	153
Figura 87 – Correlação da espessura da cápsula com a análise fractal no d21 do grupo controle (gráfico superior) e propranolol (gráfico inferior). Forte correlação no grupo controle ( $r = 0,2685$ ; $p < 0,05$ ). No grupo propranolol houve correlação positiva neste ponto ( $r = 0,1653$ ; $p = 0,2322$ ).	154
Figura 88 – Correlação da análise fractal com a deposição do Col 1 e Col 3 no d7 do grupo controle (gráfico superior e inferior respectivamente). Forte correlação para Col 1 ( $r = 0,2061$ ; $p = 0,0674$ ). No Col 3 houve correlação negativa neste ponto ( $r = 0,06266$ ; $p = 0,3263$ ).	155
Figura 89 – Correlação da análise fractal com a deposição do Col 1 e Col 3 no d7 do grupo propranolol (gráfico superior e inferior respectivamente). Forte correlação negativa para Col 1 ( $r = -0,3032$ ; $p = 0,0084$ ). No Col 3 também houve correlação negativa neste ponto ( $r = 0,06021$ ; $p = 0,3263$ ).	156

- Figura 90 – Correlação da análise fractal com a deposição do Col 1 e Col 3 no d14 do grupo controle (gráfico superior e inferior respectivamente). Correlação negativa para Col 1 ( $r = -0,04383$ ;  $p = 0,3765$ ). No Col 3 também houve correlação negativa neste ponto ( $r = -0,1985$ ;  $p = 0,0751$ ). 157
- Figura 91 – Correlação da análise fractal com a deposição do Col 1 e Col 3 no d14 do grupo propranolol (gráfico superior e inferior respectivamente). Forte correlação negativa para Col 1 ( $r = -0,0039$ ;  $p = 0,753$ ). No Col 3 também houve correlação negativa neste ponto ( $r = 0,2065$ ;  $p = 0,06042$ ). 158
- Figura 92 – Correlação da análise fractal com a deposição do Col 1 e Col 3 no d21 do grupo controle (gráfico superior e inferior respectivamente). Correlação negativa para Col 1 ( $r = -0,05617$ ;  $p = 0,3433$ ). No Col 3 houve correlação positiva neste ponto ( $r = -0,1985$ ;  $p = 0,0751$ ). 159
- Figura 93 – Correlação da análise fractal com a deposição do Col 1 e Col 3 no d14 do grupo propranolol (gráfico superior e inferior respectivamente). Forte correlação negativa para Col 1 ( $r = -0,1484$ ;  $p = 0,1437$ ). No Col 3 também houve correlação negativa neste ponto ( $r = -0,2843$ ;  $p = 0,00186$ ). 160
- Figura 94 – Imagens representativas das fibras colágenas no d7 (painel superior), d14 (painel intermediário) e d21 (painel inferior) nos grupos controle (à esquerda) e propranolol (à direita). Picrosirius 100x.

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 – Escalas de avaliação da contratura capsular adversa.	43
Quadro 2 – Fatores de risco associados a uma maior incidência de contratura capsular adversa.	43
Quadro 3 – Fluxograma do estudo.	85
Quadro 4 – Quadro-resumo do nível de significância (p-valor) na comparação intragrupo e intergrupos da medida da espessura (micra) da cápsula fibrosa nos animais do grupo Controle (CTRL) e Propranolol (PROP) com sete, quatorze e vinte e um dias de observação (áreas hachuradas com p-valor <0,05). Ns=não significativo.	132
Tabela 1 – Classificação e atribuição de índices aos achados histológicos (HE)	98
Tabela 2 – Tipo de processo inflamatório conforme o escore final de cada grupo	98
Tabela 3 – Variação da média de peso dos animais do grupo controle (CTRL) e do grupo propranolol (PROP) entre a cirurgia e o sacrifício.	117
Tabela 4 – Inflamação aguda nos diversos momentos de pós-operatório, comparando-se os grupos controle e propranolol.	129
Tabela 5 – Inflamação crônica nos diversos momentos de pós-operatório, comparando-se os grupos controle e propranolol.	129
Tabela 6 – Estatística descritiva da medida da espessura (micra) da cápsula fibrosa nos animais do grupo Controle e Propranolol com sete, quatorze e vinte e um dias de observação.	132
Tabela 7 – Estatística descritiva da deposição do colágeno tipo I nos grupos controle (CTRL) e propranolol (PROP) nos diversos tempos.	139
Tabela 8 – Estatística descritiva da deposição do colágeno tipo III nos grupos controle (CTRL) e propranolol (PROP) nos diversos tempos.	145

Tabela 9 – Estatística descritiva dos valores da Dimensão Fractal ( <i>D</i> ) global do colágeno nos diferentes tempos (dias = <i>d</i> ) entre os grupos controle (CTRL) e propranolol (PROP).	148
Tabela 10– Níveis de corte da Dimensão Fractal, especificidade e sensibilidade para as diferentes comparações entre CTRL VS PROP nos diversos momentos.	149
Tabela 11 – Índices de alinhamento das fibras colágenas de acordo com o momento do experimento e o grupo de tratamento	161

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ANOVA	<i>Analysis Of Variance</i> (Análise De Variância)
°C	Graus Celsius
cc	Centímetro Cúbico
cm	Centímetro
DP	Desvio Padrão
e.g.	Exempli Gratia (Por Exemplo)
et al.	E Outros
g	Grama
HCL	Hidrocloreto
i.e.	Id Est (Isto É)
mg	Miligrama
mL	Mililitro
µm	Micrometro
β	Beta
PO	Pós-Operatório
HE	Hematoxilina-Eosina
PSR	Picrossirius Red
IP	Intraperitoneal
VO	Via Oral
®	Marca Registrada
CRA	Comprimento Rostro-Anal
ASC	Área de Superfície Corporal
IMC	Índice de Massa Corpórea
CCA	Contratura Capsular Adversa
BMP	Bit Map
px	Pixel
MP	Megapixel

EGF	Fator de Crescimento Epidérmico
FGF	Fator de Crescimento De Fibroblastos
GM-CSF Macrófagos	Fator de Estimulação De Colônias De Granulócitos E
KGF	Fator de Crescimento De Queratinócitos
Lt	Leucotrienos
PDGF	Fator de Crescimento Derivado De Plaquetas
VEGF	Fator de Crescimento Do Endotélio Vascular
IL	Interleucina
RGB Green (Verde) Blue (Azul)	Sistema de Segmentação de Cores Red (Vermelho)
SAMM	Sistema De Análise Morfométrica
TNF	Fator De Necrose Tumoral
SBCAL Laboratório	Sociedade Brasileira de Ciências em Animais de
SBCP	Sociedade Brasileira de Cirurgia Plástica

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>24</b>
1.1	Justificativa.....	27
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>28</b>
2.1	Aspectos históricos.....	28
2.2	Implantes mamários de silicone.....	29
2.3	Fisiopatologia da contratura capsular adversa (CCA).....	40
2.4	Colágeno.....	48
2.4.1	Métodos de avaliação do colágeno.....	53
2.4.1.1	<i>Picrosirius polarização (PSP).....</i>	<i>53</i>
2.4.1.2	<i>Análise quantitativa do colágeno.....</i>	<i>56</i>
2.5	Dimensão fractal.....	57
2.5.1	Quantificação de imagens.....	71
2.6	Abordagem da contratura capsular.....	72
2.7	Propranolol.....	73
<b>3</b>	<b>OBJETIVO.....</b>	<b>75</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>76</b>
4.1	Caracterização do estudo.....	76
4.2	Material.....	76
4.2.1	Amostra.....	76
4.2.2	Ambiente de experimentação.....	77
4.2.3	Drogas e soluções.....	78
4.2.4	Droga moduladora.....	80
4.2.5	Outros materiais.....	80
4.2.6	Implante de silicone.....	81
4.3	Método.....	84
4.3.1	Delineamento experimental.....	84
4.3.2	Pesagem e procedimento anestésico.....	86
4.3.3	Procedimento operatório.....	86
4.3.4	Coleta de material.....	92



<b>4.4</b>	<b>Processamento histológico e avaliação microscópica.....</b>	<b>96</b>
4.4.1	Preparo das amostras teciduais.....	96
4.4.1.1	<i>Análise pela coloração hematoxilina-eosina (HE).....</i>	<i>97</i>
4.4.1.1.1	<i>Medida de espessura da cápsula.....</i>	<i>99</i>
4.4.1.2	<i>Análise do colágeno pelo método da picrosirius polarização (PSP)....</i>	<i>101</i>
<b>4.5</b>	<b>Análise da Dimensão Fractal.....</b>	<b>106</b>
<b>4.6</b>	<b>Análise quantitativa do alinhamento das fibras colágenas.....</b>	<b>110</b>
<b>4.7</b>	<b>Análise estatística.....</b>	<b>115</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>116</b>
<b>5.1</b>	<b>Procedimento operatório e anestesia.....</b>	<b>116</b>
<b>5.2</b>	<b>Peso dos animais.....</b>	<b>116</b>
<b>5.3</b>	<b>Avaliação macroscópica.....</b>	<b>117</b>
<b>5.4</b>	<b>Microscopia convencional.....</b>	<b>122</b>
<b>5.5</b>	<b>Análise histométrica.....</b>	<b>130</b>
<b>5.6</b>	<b>Densidade do colágeno tipo I e tipo III.....</b>	<b>133</b>
<b>5.7</b>	<b>Análise da Dimensão Fractal (<i>D</i>) do colágeno.....</b>	<b>146</b>
<b>5.8</b>	<b>Correlação histometria e dimensão fractal.....</b>	<b>152</b>
<b>5.9</b>	<b>Correlação dimensão fractal e colágeno.....</b>	<b>155</b>
<b>5.10</b>	<b>Alinhamento das fibras colágenas.....</b>	<b>161</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>163</b>
<b>6.1</b>	<b>A propósito da escolha do tema.....</b>	<b>163</b>
<b>6.2</b>	<b>A propósito do modelo experimental.....</b>	<b>166</b>
<b>6.3</b>	<b>A propósito da técnica operatória.....</b>	<b>171</b>
<b>6.4</b>	<b>A propósito do tipo de implante.....</b>	<b>172</b>
<b>6.5</b>	<b>A propósito dos tempos de observação.....</b>	<b>174</b>
<b>6.6</b>	<b>A propósito da droga testada.....</b>	<b>178</b>
<b>6.7</b>	<b>A propósito da avaliação histológica.....</b>	<b>183</b>
<b>6.8</b>	<b>A propósito dos tipos de colágeno.....</b>	<b>192</b>
<b>6.9</b>	<b>A propósito da dimensão fractal do colágeno.....</b>	<b>195</b>
<b>6.10</b>	<b>Perspectivas.....</b>	<b>207</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>208</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>209</b>