RODRIGO ITOCAZO ROCHA

**Avaliação histomorfométrica da pele da região abdominal de
pacientes com obesidade mórbida antes e após perda
acentuada de peso pós-cirurgia bariátrica**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de: Clínica Cirúrgica

Orientador: Prof. Dr. Rolf Gemperli

São Paulo

2016

RODRIGO ITOCAZO ROCHA

**Avaliação histomorfométrica da pele da região abdominal de
pacientes com obesidade mórbida antes e após perda
acentuada de peso pós-cirurgia bariátrica**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de: Clínica Cirúrgica

Orientador: Prof. Dr. Rolf Gemperli

São Paulo

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Rocha, Rodrigo Itocazo

Avaliação histomorfométrica da pele da região abdominal de pacientes com obesidade mórbida antes e após perda acentuada de peso pós-cirurgia bariátrica / Rodrigo Itocazo Rocha. -- São Paulo, 2016.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Clínica Cirúrgica.

Orientador: Rolf Gemperli.

Descritores: 1.Obesidade 2.Obesidade mórbida 3.Cirurgia bariátrica 4.Perda de peso 5.Abdome 6.Pele 7.Derme 8.Histologia 9.Histologia comparada 10.Matriz extracelular 11.Colágeno 12.Elastina 13.Cirurgia plástica

USP/FM/DBD-373/16

À minha querida esposa Elaine, que soube incentivar e apoiar esse meu sonho; e aos nossos filhos Felipe e Luiza, pelo amor demonstrado mesmo nos momentos subtraídos de convivência.

Aos meus pais Milton (*in memoriam*) e Matilde, pelo esforço empenhado na transmissão de seus valores; e às minhas irmãs Patrícia e Andrea, e às suas famílias.

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer, inicialmente, ao grande responsável por possibilitar a realização dessa tese, Prof. Dr. Rolf Gemperli, orientador e incentivador desse trabalho, e que, com paciência e maestria, apontou o caminho a ser seguido.

À Profa. Dra. Elia Tamaso Espin Garcia Caldini, que abriu as portas de seu laboratório para o desenvolvimento dessa pesquisa. Compartilhou seu complexo conhecimento técnico, com ideias acompanhadas dos conceitos adequados.

À Dra. Nilsa Regina Damaceno-Rodrigues e ao Dr. Marcelo Alves Ferreira, e demais profissionais do Laboratório de Biologia Celular da FMUSP, pelo apoio técnico inestimável.

Ao amigo Dr. Miguel Luiz Antonio Modolin, pelo estímulo ao meu desenvolvimento acadêmico, compartilhando sua grande experiência profissional e seus valores de vida.

Ao amigo Prof. Dr. Wilson Cintra Junior, responsável por trazer-me de volta à luz da vida acadêmica.

Ao Prof. Dr. Marco Aurélio Santo, pelo entusiasmo e apoio desde a minha graduação até a elaboração e execução dessa tese.

Aos Professores Doutores Alexandre Mendonça Munhoz, Dov Charles Goldenberg, Fábio de Freitas Busnardo, Henri Friedhofer, José Carlos Marques de Faria e Nivaldo Alonso, pelos conhecimentos compartilhados e pela convivência desde a minha residência médica.

Aos Doutores Alessandra Grassi Sales, Araldo Ayres Monteiro Junior, Carlos Fontana, Dimas André Milcheski, Endrigo Bastos, Hugo Alberto Nakamoto e Júlio Moraes Besteiro, pela amizade e pelos ensinamentos em cirurgia plástica.

Ao Dr. Ênio Cesar Giacchetto Junior e à acadêmica Giulia Godoy Takahashi, pela ajuda na logística de coleta e preparação dos espécimes analisados.

Aos meus amigos, de cujo convívio fui privado, em virtude desse meu objetivo.

“Ame as suas visões e os seus sonhos como se eles fossem as crianças da sua alma; os planos de suas maiores realizações.”

Napoleon Hill

Esta tese está de acordo com as seguintes normas em vigor:

Referências bibliográficas: adaptado de “*International Committee of Medical Journals Editors*” (Vancouver).

Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias / elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria Fazanelli Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. – São Paulo : Divisão de Biblioteca e Documentação - DBD/FMUSP, 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com o *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas

Lista de siglas

Lista de símbolos

Resumo

Abstract

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	7
2.1 Obesidade	8
2.2 Cirurgia bariátrica	10
2.3 Reparação do contorno corporal após perda acentuada de peso	12
2.4 A pele	13
2.4.1 O sistema colagênico	14
2.4.2 O sistema elástico	20
2.4.3 Os elementos fibrilares da pele e a perda acentuada de peso	23
3 OBJETIVOS	25
4 MÉTODOS	27
4.1 Detalhamento dos métodos de coloração	31
4.1.1 Hematoxilina-eosina	31
4.1.2 Picrossírius-hematoxilina	31
4.1.3 Resorcina-fucsina de Weigert	32
4.2 Análise microscópica	33
4.3 Histomorfometria	33
4.3.1 Avaliação do sistema colagênico	34
4.3.2 Avaliação do sistema elástico	36
4.4 Análise estatística	37
5 RESULTADOS	38
6 DISCUSSÃO	53
7 CONCLUSÕES	66
8 ANEXOS	68
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE ABREVIATURAS

Dr.	doutor
Dra.	doutora
Dels	média da densidade de comprimento de fibras elásticas
ed	edição
Fcol	média de frações de volume de fibras totais de colágeno
Ffin	média de frações de volume de fibras finas de colágeno
Fgros	média de frações de volume de fibras grossas de colágeno
pág	página
p.	página
Pfe	pontos sobre fundo escuro
Pfin	pontos sobre fibras finas
Pgros	pontos sobre fibras grossas
Prof.	professor
Profa.	professora
4x	objetiva microscópica de quatro vezes de aumento
20x	objetiva microscópica de 20 vezes de aumento

LISTA DE SIGLAS

LISTA DE SIGLAS

CAPPesq	Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
<i>et al.</i>	e outros
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IMC	Índice de massa corpórea
JPEG	Acrônimo de “ <i>Joint Photographics Experts Group</i> ”, método de compressão de imagens fotográficas digitais
NIH	<i>National Institutes of Health</i> - Estados Unidos da América
OMS	Organização Mundial da Saúde

LISTA DE SÍMBOLOS

LISTA DE SÍMBOLOS

kg	quilograma
m	metro
m ²	metro quadrado
kg/m ²	quilograma por metro quadrado
mm	milímetro
μm	micrômetro
μm ²	micrômetro quadrado
nm	nanômetro
p	nível descritivo estatístico
α	nível de significância estatística
%	por cento
n	tamanho amostral
<	menor que
>	maior que
=	igual a

RESUMO

Rocha RI. *Avaliação histomorfométrica da pele da região abdominal de pacientes com obesidade mórbida antes e após perda acentuada de peso pós-cirurgia bariátrica* [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2016.

Pacientes submetidos ao tratamento cirúrgico da obesidade mórbida apresentam perda ponderal acentuada e dismorfismo corporal e, com frequência, solicitam cirurgias plásticas visando um contorno corporal mais adequado. Os resultados dessas cirurgias plásticas são, em parte, limitados pela qualidade da pele resultante do grande emagrecimento. O presente estudo observacional teve como objetivo comparar fragmentos de pele da região epigástrica de 20 pacientes após perda ponderal acentuada consequente à cirurgia bariátrica com 20 pacientes portadores de obesidade mórbida, no sentido de analisar as alterações estruturais da pele como consequência do emagrecimento. A análise histomorfométrica foi realizada sobre o sistema colagênico através da metodologia Picrossírius/luz polarizada, e sobre o sistema elástico através da metodologia resorcina-fucsina de Weigert. Foram observados, a redução das fibras colagênicas grossas ($p=0,048$); o aumento das fibras colagênicas finas ($p=0,0085$); e o aumento da densidade das fibras elásticas ($p=0,0000009033$) no grupo de pacientes emagrecidas. Não houve diferença entre os grupos quanto à média de idades ($p=0,917$) e quantidade total de fibras colágenas ($p=0,3619$). Os resultados evidenciaram as alterações estruturais da derme decorrentes do emagrecimento acentuado, demonstradas por meio do remodelamento colagênico, com a consequente redução das fibras espessas, organizadas, estruturadas e direcionadas em prol do aumento de fibras finas, desalinhadas e frouxamente dispostas, isso em associação ao aumento da elasticidade da pele. Isto explica cientificamente a já estabelecida percepção clínica das alterações cutâneas dos pacientes emagrecidos após cirurgias bariátricas, apresentando menor resistência e maior flacidez, quando comparadas ao período anterior ao emagrecimento.

Descritores: 1.Obesidade 2.Obesidade mórbida 3.Cirurgia Bariátrica 4.Perda de peso 5.Abdome 6.Pele 7.Derme 8.Histologia 9.Histologia Comparada 10.Matriz Extracelular 11.Colágeno 12.Elastina 13.Cirurgia Plástica

ABSTRACT

Rocha RI. *Skin changes due to massive weight-loss: analysis of collagen and elastic fibers* [Thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2016.

Post-bariatric patients develop body contour deformities and need plastic surgery procedures for reduction of excess skin and subcutaneous tissue. The results of these contouring procedures are typically limited by the poor quality of the skin. This observational study compared the epigastric skin of 20 post-bariatric with massive weight loss women with 20 women with morbid obesity through histomorphometric analysis of collagen fibers (picrosirius-polarization) and elastic fibers (Weigert's resorcin-fuchsin). A reduction of thick collagen fibers ($p=0.048$), increase of thin collagen fibers ($p=0.0085$) and increase of the density of elastic fibers ($p=0.0000009$) were observed in the group of post-bariatric patients. There was no difference between the groups for mean age ($p=0.917$) and the total amount of collagen fibers ($p=0.3619$). These results represent structural changes in the dermis due to the massive weight loss once it demonstrates collagen modifications with reduction of thickness, organized and structured fibers, increase of thin, misaligned and disarranged fibers, and augmentation of the density of elastic fibers. This brings the scientific explanation for the established clinical perception that the skins of post-bariatric patients are less resistant and with more laxity when compared with what they were before the bariatric surgery.

Descriptors: 1.Obesity 2.Obesity, Morbid 3.Bariatric Surgery 4.Weight Loss 5.Abdomen 6.Skin 7.Dermis 8.Histology 9.Histology, Comparative 10.Extracellular Matrix 11.Collagen 12.Elastin 13.Surgery, Plastic

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define obesidade e sobrepeso como o acúmulo anormal ou excessivo de tecido gorduroso que possa comprometer a saúde. Em termos objetivos, utiliza o Índice de Massa Corpórea (IMC), que correlaciona o peso em quilogramas dividido pela estatura em metros ao quadrado. Quando o IMC for maior ou igual a 30kg/m^2 , caracteriza-se a obesidade (OMS, 1995, 2012).

A prevalência mundial da obesidade praticamente dobrou desde 1980, passando a representar uma epidemia global. Inicialmente considerados como problemas de países desenvolvidos (Kaila, 2008; Ogden et al., 2006), o sobrepeso e a obesidade apresentaram recente aumento também em países em desenvolvimento e subdesenvolvidos, principalmente em áreas urbanas.

No Brasil, em levantamento publicado pelo Ministério da Saúde em 2012 (Secretaria de Vigilância em Saúde - Vigitel, 2010), 51% da população acima de 18 anos estava acima do peso ideal. Em 2006, esse índice era de 43%.

O aumento da prevalência da obesidade é multifatorial e, apesar de existir uma influência genética, diversos outros fatores estão envolvidos e levam ao desequilíbrio entre consumo e gasto calóricos, tais como: consumo de alimentos industrializados e em porções maiores e mais calóricas, sedentarismo e estilo de vida moderno (Young et al., 2002).

A obesidade está associada ao maior risco para diversas afecções, incluindo hipertensão arterial sistêmica, diabetes, apneia do sono, eventos tromboembólicos, doenças coronarianas, hipercolesterolemia, além de

representar fator de risco independente para o aumento da mortalidade (Birmingham et al., 1999).

Apesar de ser caracterizada como método bastante utilizado para perda de peso, a associação do controle da dieta com a prática de exercícios físicos apresenta baixas taxas de sucesso no longo prazo (Phelan et al., 2010), principalmente na situação extrema da obesidade mórbida, representada por IMC maior ou igual a 40kg/m^2 ou acima de 35kg/m^2 com a presença de comorbidades significativas (National Institutes of Health - NIH, 1998, 2000). Nesse cenário, a cirurgia bariátrica é o único tratamento considerado eficaz (Buchwald et al., 2004), com taxa de mortalidade peri-operatória abaixo de 1% em alguns centros especializados (Shekelle et al., 2004). A difusão das cirurgias minimamente invasivas, videolaparoscópicas, associada à criação de diretrizes para o tratamento cirúrgico da obesidade mórbida propiciaram um aumento significativo desses procedimentos nos últimos anos (Noria et al., 2013; NIH, 1991).

Para efeito de classificação, as cirurgias indicadas visando a perda de peso podem ser: restritivas, disabsortivas ou a combinação dessas técnicas, com resultados que podem variar de 47,5% a 70,1% de perda do excesso de peso (Buchwald et al., 2004). Além da grande redução de peso, as cirurgias bariátricas culminam com o controle das comorbidades associadas à obesidade mórbida, com maior redução dos níveis de triglicérides, taxas maiores de remissão do diabetes e da síndrome metabólica, quando comparadas aos tratamentos não cirúrgicos. Além disso, permitem melhora na qualidade de vida e redução no uso de medicamentos.

As complicações mais frequentemente associadas a esses procedimentos cirúrgicos incluem anemia ferropriva e reoperações (Gloy et al., 2013). A absorção nutricional será necessariamente afetada pelo procedimento cirúrgico, o que reforça a necessidade de reposição de vitaminas e minerais na evolução pós-operatória dos pacientes. A deficiência proteica pode ocorrer nos meses iniciais pós-cirúrgicos e é mais difícil de prevenir quando comparada à deficiência de micronutrientes, podendo necessitar atenção especial (Elder et al., 2007).

A perda de peso ocorre progressiva e rapidamente, até atingir a estabilização. Nesse ponto, ocorre redução do tecido gorduroso, resultando em flacidez cutânea, concorrendo para a formação de dobras dermogordurosas (Sacks et al., 2006), sendo o abdome, as mamas, os braços e as coxas os segmentos corpóreos mais afetados (Chandawarkar, 2006; Gurunluoglu, 2008; Shermak et al., 2012). Para a correção destas deformidades, estão indicados tratamentos reparadores em cirurgia plástica, para melhora do contorno corporal.

Esses pacientes, apesar de apresentarem melhor controle das comorbidades antes presentes com a obesidade mórbida, evoluem frequentemente com deficiências nutricionais que interferem no processo cicatricial, demandando controle nutricional (Vastien et al., 1999; Agha-Mohammadi, 2010; Coon et al. 2009) associado à estabilização do peso, através de atendimento multidisciplinar. As complicações desses pacientes relacionadas ao processo cicatricial das cirurgias plásticas realizadas após o emagrecimento, como as deiscências, atingem taxas acima de 30%, sendo

comparáveis àquelas apresentadas em quadros de neoplasia maligna, queimaduras, transplantes e obesidade (Albino et al., 2009).

Consensualmente, há a percepção de que os resultados das cirurgias plásticas para readequação do contorno corporal em pacientes após cirurgias bariátricas apresentam limitações em relação àqueles obtidos em pacientes que não sofreram grande perda de peso, existindo diferenças nos níveis de satisfação entre essas populações (Young et al., 1991; Cintra Junior, 2014, 2016; Modolin et al., 2015).

Torna-se importante a análise das características estruturais e funcionais da pele, não apenas para estabelecer quais as alterações do tegumento de indivíduos emagrecidos, mas também correlacioná-las com os efeitos da perda acentuada de peso após a cirurgia bariátrica e, conseqüentemente, com os resultados obtidos das cirurgias de reconstrução do contorno corporal.

Diversos estudos foram conduzidos recentemente visando elucidar as alterações teciduais tegumentares que ocorrem após as cirurgias bariátricas (Rasmussen et al., 1995; Migliori et al., 2008; Orpheu et al., 2010; Light et al., 2010; Xing et al., 2011; Veiga et al., 2011), no intuito de esclarecer os mecanismos fisiopatológicos e as alterações envolvidas no sentido de desenvolver estratégias para melhorar os resultados do tratamento reparador do contorno corporal desses pacientes.

Para tanto, a quantificação dos elementos colagênicos e do sistema elástico tem papel importante, uma vez que são responsáveis pela integridade estrutural da pele, conforme observado por Orpheu et al. (2010).

Além disso, a análise morfológica da distribuição e organizacional desses elementos é fundamental para correlacionar as características histológicas com a qualidade tecidual e, consequentemente, com os efeitos disso sobre a prática clínica nesses pacientes.

Assim, a presença de fibras colágenas espessas preferencialmente orientadas e direcionadas, formando feixes mais compactados e ordenados, confere ao tecido maior resistência e capacidade de manutenção da integridade estrutural. Por outro lado, a degradação do colágeno em fibras mais finas e frouxamente organizadas é associada a uma menor resistência tecidual.

Desta forma, o estudo das diferenças da pele entre pacientes emagrecidos após cirurgia bariátrica e da pele daqueles que ainda sofrem de obesidade mórbida busca acrescentar conhecimento sobre as alterações estruturais da pele decorrentes desse período de emagrecimento e correlacioná-las às limitações de resultado das cirurgias reconstrutivas do contorno corporal.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Obesidade

A obesidade é um problema de saúde pública importante mundialmente, apresentando rápido aumento da prevalência em países industrializados. No biênio 2009-2010, a prevalência de obesidade em homens e mulheres norte-americanos era de quase 36% (Flegal et al., 2012). O custo anual para tratamento da obesidade isoladamente nos Estados Unidos já ultrapassou os 190 bilhões de dólares, ou 20% dos gastos em saúde naquele país (Cawley et al., 2012).

No Brasil, a queda dos níveis de desnutrição que se verificou a partir de 1990 ocorreu associada ao aumento da prevalência de excesso de peso em todas as regiões do país, atingindo até 50% em populações masculinas de áreas urbanas (IBGE, 2003).

A definição de obesidade e sobrepeso pela OMS é o acúmulo anormal ou excessivo de tecido gorduroso que possa comprometer a saúde. O índice de massa corpórea, ou índice de Quetelet, é o mais utilizado para definir os limites da obesidade. É calculado através da divisão do peso em quilogramas pelo quadrado da altura em metros, levando ao índice com unidades em kg/m^2 . De acordo com a OMS, a obesidade está na faixa de IMC igual ou superior a 30kg/m^2 (OMS, 1995, 2011).

A obesidade está associada a diversas comorbidades que aumentam significativamente a morbimortalidade. Apesar de não existir comprovação de relação causa-efeito diretamente demonstrada entre obesidade e essas comorbidades, a melhora dessas condições após a perda acentuada de peso sugere que esta desempenha importante papel no comprometimento

da saúde. Pessoas com sobrepeso e obesidade têm risco aumentado para: síndrome metabólica, diabetes tipo II, hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia, coronariopatias, osteoartrite, acidente vascular cerebral, depressão, esteatose hepática, infertilidade feminina, disfunção erétil, colelitíase, apneia do sono, refluxo gastro-esofágico, neoplasias, asma e infecções (Neter et al., 2003; Aucott et al., 2005; Phelan et al., 2010; Losina et al., 2011).

Diversos fatores estão relacionados ao desenvolvimento da obesidade, havendo muito mais elementos contribuintes do que apenas desbalanço entre ingesta e gasto calórico ou sedentarismo. São também associados à obesidade: distúrbios metabólicos, fatores genéticos, fatores endocrinológicos, condição sócio-econômica, interrupção de tabagismo, fatores psicológicos, étnicos e culturais (Bouchard et al., 1990).

A abordagem terapêutica da obesidade inicia-se pelo controle e da modificação em aspectos do estilo de vida, com redução da quantidade de calorias ingeridas, melhora na qualidade dos alimentos e realização de atividades físicas. Estudos demonstraram haver perda de peso em alguns meses, com redução de algumas comorbidades como o diabetes tipo II. Apesar disso, em dez anos, esses pacientes mostraram recuperação do peso inicial, em que pese o fato de terem apresentado ainda alguma melhora do diabetes em relação ao início da terapêutica (Wadden et al., 2012).

O tratamento medicamentoso da obesidade é dividido entre o uso de drogas inibidoras do apetite (como sibutramina, fluoxetina, sertralina e

topiramato) e aquelas inibidoras da lipase, como o orlistat (Shekelle et al., 2004). Esse tipo de tratamento, quando associado à reeducação alimentar, demonstra perda de peso limitada a 5kg ao ano, o que pode representar alguma melhora, contudo, com efeitos colaterais descritos para todas as medicações utilizadas para esse fim.

Em condições extremas, como na obesidade mórbida - quando o IMC atinge 35kg/m² em associação a comorbidades, ou quando simplesmente atinge 40kg/m² ou mais - os tratamentos não cirúrgicos deixam de ser opção terapêutica definitiva para o controle de peso, uma vez que a perda de peso não se mantém, principalmente no longo prazo (Buchwald et al., 2004).

2.2 Cirurgia bariátrica

Para pacientes com obesidade mórbida, considera-se o tratamento cirúrgico como a única modalidade terapêutica associada à perda de peso clinicamente significativa e sustentada. Existem estudos apontando melhora ou resolução de comorbidades associadas à obesidade mórbida após a realização de cirurgia bariátrica e consequente perda de peso, como apneia do sono, diabetes melito, hipertensão arterial sistêmica, insuficiência cardíaca, edema periférico, dislipidemia e asma (Buchwald et al., 2004; Noria et al., 2013; Sjöström et al., 2012; Li et al. 2014).

Primariamente descritas por acesso através de laparotomias, as cirurgias para perda de peso desenvolveram-se também por acesso videolaparoscópico, com morbidade cirúrgica comparativamente reduzida.

Diversas técnicas cirúrgicas foram descritas e são divididas em

procedimentos restritivos, disabsortivos ou mistos. A taxa de mortalidade média relacionada a esses procedimentos, até trinta dias após a cirurgia, é de 0,08% observada em meta-análise, com mortalidade pós-operatória total de 0,35%. As complicações cirúrgicas, com taxas entre 10% a 17%, incluem: sangramento, refluxo gastro-esofágico, vômitos, estenoses anastomóticas, fistulizações, sintomas gastrointestinais inespecíficos como cólicas, anormalidades nutricionais e eletrolíticas (Chang et al., 2014). A perda média do excesso de peso é de 62,1% (Buchwald et al., 2004).

Esse sucesso terapêutico no tratamento cirúrgico da obesidade mórbida (Coughlin et al., 1983; Chang et al., 2014) vem associado à flacidez cutânea consequente à grande perda de peso, com a formação de excessos cutâneos e de dismorfia do contorno corporal (Song et al., 2005), surgindo a necessidade reparadora através de procedimentos de cirurgia plástica.

Cabe ainda ressaltar que, de acordo com Coughlin et al., a ingesta calórica nos primeiros três meses pós-operatórios é de 500 kcal/dia com menos de 20 g diários de proteína. Ocorre aumento gradual, atingindo ingesta diária de 1000 kcal e 60g de proteína diariamente, um ano após a cirurgia bariátrica. Assim, diversas deficiências de macro e micronutrientes relacionadas aos diferentes tipos de cirurgias para perda de peso foram descritas (Agha-Mohammadi et al., 2008a, 2008b). Isso caracteriza a reparação do contorno corporal através de cirurgias plásticas como uma área de atuação complexa, com necessidade de abordagem multidisciplinar e com as peculiaridades descritas acima envolvendo o tratamento desses pacientes (Sacks et al. 2006; Agha-Mohammadi, 2008a).

2.3 Reparação do contorno corporal após perda acentuada de peso

O recente aumento da prevalência da obesidade e a popularização das cirurgias bariátricas resultaram numa grande quantidade de pacientes em busca da adequação do contorno corporal após grande perda de peso, impulsionando esta área de atuação dentro da cirurgia plástica.

A equipe multidisciplinar e multiprofissional envolvida no tratamento cirúrgico da obesidade com cirurgiões do aparelho digestivo, endoscopistas, nutricionistas, endocrinologistas, psicólogos e psiquiatras deve considerar também a inclusão do cirurgião plástico, uma vez que o emagrecimento levará à flacidez cutânea e consequente formação de dobras dermogordurosas em diversos segmentos corpóreos (Abela et al., 2011). Geralmente são afetadas as áreas do abdome, flancos, mamas, braços e coxas (Chandawarkar, 2006; Gurunluoglu, 2008; Shermak et al., 2012), sendo a abdominoplastia o procedimento mais frequentemente realizado nesses pacientes, seguida de mastopexia (Modolin et al., 2003; Cintra Junior et al., 2008; Reiffel et al., 2013; American Society of Plastic Surgeons, 2014). Esses segmentos tegumentares redundantes podem levar a problemas e dificuldades para deambulação e uso de roupas, infecções de pele, ulcerações e necroses cutâneas, prejuízo na interação social, no desempenho sexual e na autoimagem (Gurunluoglu et al., 2009; Warner et al., 2009), dada a distensão continuada da fáscia superficial pelo acúmulo gorduroso e pela ação da gravidade (Lokwood, 1995).

Em particular na região abdominal, geralmente ocorre sobra dermogordurosa num padrão diferente daquela devido à gestação. O tecido

é redundante difusamente, ao invés de se concentrar na região inferior do abdome (Leahy et al., 2008).

De maneira peculiar, os procedimentos cirúrgicos de readequação do contorno corporal após grande perda de peso têm taxas de complicações cicatriciais elevadas, sendo comparáveis aos índices verificados em pacientes com obesidade, diabetes melito, distúrbios endocrinológicos, neoplasias malignas, queimaduras e naqueles submetidos aos transplantes (Davison et al., 2008; Albino et al., 2009; Shermak et al., 2012).

Há ainda uma percepção, tanto por cirurgiões plásticos quanto pelos pacientes, de que essas cirurgias apresentam limitações de resultados, frequentemente decido à flacidez residual nas topografias manipuladas (Young et al., 1991; Leahy et al., 2008; Cintra Junior et al., 2016). Busca-se correlacionar essas características clínicas como resultado de possíveis desarranjos tegumentares ocorridos no período de obesidade/perda de peso (Migliori et al., 2008; Orpheu et al., 2010; Light et al., 2010; Veiga et al., 2011).

2.4 A pele

O tegumento é o maior órgão do corpo, constituído por dois componentes: a pele propriamente dita e os derivados epidérmicos, como as unhas, os pelos e as glândulas. São diversas as funções da pele: proteção mecânica, regulação da temperatura corporal e do controle hídrico, barreira contra microrganismos, excreção de sais, síntese de vitamina D, órgão sensorial e órgão de sinalização sexual.

A pele apresenta duas camadas firmemente aderidas umas às outras. A mais superficial é a epiderme, derivada do ectoderma; e a derme, mais profunda, derivada do mesoderma.

A epiderme é um epitélio estratificado pavimentoso queratinizado que apresenta quatro tipos celulares: queratinócitos, melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel.

A derme consiste de duas camadas: a papilar, constituída de tecido conjuntivo frouxo com fibras de colágeno e fibras elásticas delgadas; e a camada reticular constituída de tecido conjuntivo denso com feixes de fibras colágenas e fibras elásticas grossas.

Os tecidos conjuntivos são aqueles que fornecem uma estrutura de suporte e de ligação, sendo formados por células e pela matriz extracelular.

A matriz extracelular representa uma combinação de colágenos, elastina, glicoproteínas não-colagênicas e proteoglicanos, ocupando o espaço entre as células do tecido conjuntivo. Na derme, é caracterizada por fibras colágenas orientadas em todas as direções, como é característico do tecido conjuntivo denso não-modelado.

De maneira geral, nos vertebrados, os diferentes tipos de colágenos fibrilares são responsáveis pelo suporte mecânico e resistência aos tecidos, enquanto que a elastina e os proteoglicanos, pela resiliência tecidual.

2.4.1 O sistema colagênico

A molécula de colágeno é formada por três cadeias peptídicas que se enovelam como os fios de uma corda, formando uma organização molecular

em tripla hélice, sendo esta proteína portadora de considerável força tênsil. De acordo com sua polimerização, são divididos em duas categorias: colágenos fibrilares, cujas moléculas formam fibrilas com um característico padrão de estriações transversais, características dos colágenos tipo I, II, III e V; e colágenos não fibrilares, como o colágeno do tipo IV.

Após a secreção para o meio extra-celular, ocorre a auto-agregação das moléculas de colágeno em um processo de superposição, levando à formação das fibrilas colágenas, que são estruturas delgadas com comprimento de várias centenas de micrômetros em tecidos maduros, claramente visíveis em micrografias eletrônicas (Figura 1). Essas fibrilas de colágeno normalmente agregam-se em conjuntos maiores, através da ligação cruzada das moléculas de colágeno, catalizada pela lisil-oxidase, dando origem às fibras colágenas, que podem ser vistas ao microscópio de luz, com vários micrômetros de diâmetro. Grupos de fibras colágenas orientam-se paralelamente ao longo do mesmo eixo e formam os feixes de colágeno, guiadas por proteoglicanos e outras glicoproteínas (Swet et al., 1964; Constantine et al., 1968; Junqueira et al., 1978, 1991, 2013; Martinez-Hernandez et al., 1988; Kierszenbaum, 2008).

Figura 1 - Esquema da formação da estrutura colagênica em tripla hélice, formação da molécula de colágeno, da fibrila colagênica e da fibra de colágeno

A variabilidade da estrutura primária das cadeias alfa polipeptídicas e sua constituição em moléculas de colágeno permitiu a identificação de cerca de 20 tipos de colágeno diferentes geneticamente, numerados de I a XX. Há diferenças em sua estrutura modular, organização supramolecular e função.

Cada tipo de colágeno é caracterizado pela sua estrutura química, morfologia, distribuição, propriedades funcionais, interação com componentes não fibrilares e doenças associadas.

Dentre os diferentes tipos de colágeno, o tipo I é o mais abundante e é encontrado em todos os tecidos conjuntivos, exceto em membranas basais e na cartilagem hialina. Suas moléculas são constituídas por duas cadeias alfa-1 tipo I e uma cadeia alfa-2 tipo I, formando fibrilas com 70 a 100nm de

diâmetro, com estriação transversal evidente. As fibrilas formam fibras que correspondem às fibras colágenas visíveis à microscopia de luz.

Em relação ao colágeno tipo III, ele tem uma distribuição similar à do colágeno tipo I, à exceção dos ossos e da cartilagem hialina; sendo encontrado nas artérias, no endométrio e em outros órgãos parenquimatosos com arcabouço estrutural flexível, ou seja, o pequeno diâmetro e a disposição frouxa das fibras reticulares criam uma rede flexível em órgãos que são sujeitos à mudanças fisiológicas de forma ou volume (Junqueira et al., 2013). É constituído por cadeias alfa-1 tipo III e forma fibrilas de 35 a 55nm de diâmetro (Martinez-Hernandez et al., 1988), e que correspondem às clássicas fibras reticulares referidas na Histologia. Sua função é formar uma rede de sustentação para as células estromais (Montes, 1996; Amenta, 1988).

Há agregação dos colágenos tipos I e III na pele e nos tendões, com a formação de fibrilas heterotípicas, onde há ligação covalente de resíduos de lisina entre estes dois tipos de colágenos.

Os colágenos dos tipos I e III são predominantes na pele, motivo pelo qual são objeto dos estudos sobre os processos patológicos desse tecido.

Importante ressaltar que os colágenos dos tipos I e III diferem entre si no diâmetro das fibras, no alinhamento espacial e no grau de entrelaçamento. Isso fornece características de maior resistência à tração ao tecido que contiver mais fibras constituídas por colágeno tipo I, com maior diâmetro, formadas por fibrilas mais grossas, em relação ao tecido com

maior concentração fibras de menor diâmetro constituídas por colágeno do tipo III formadas por fibrilas finas (Figura 2) (Montes, 1996).

Figura 2 - Micrografia eletrônica de cortes transversais de fibra reticular (esquerda) e fibra colágena (direita). Cada tipo de fibra é composto por fibrilas delgadas de colágeno. As fibrilas reticulares (R) têm um diâmetro menor do que as fibrilas das fibras de colágeno (C), conforme mostra o histograma (Junqueira e Carneiro, 2013)

A degradação fisiológica do colágeno é mais lenta do que a da maioria das proteínas. Há um equilíbrio estreito entre síntese e degradação, uma vez que a relação do colágeno e elementos parenquimatosos permanece constante durante toda a vida dos organismos. Há situações em que ocorre um desequilíbrio na equação síntese/degradação, resultando em aumento da deposição ou da degradação do colágeno (Perez-Tamayo, 1982).

Assim, a remodelação da matriz extracelular envolve uma complexa interação entre células do tecido conjuntivo, células inflamatórias e a matriz

extracelular; e que depende da produção de fatores estimulantes e inibitórios, citocinas, hormônios e proteinases (Reynolds et al., 1997).

Uma vez que, para a formação de fibrilas, as moléculas de colágeno são organizadas com orientação paralela entre si, há uma birrefringência característica das fibras colagênicas, quando examinadas sob luz polarizada.

O método de coloração por Picrossírius dispõe moléculas do corante *Sirius Red*, alongadas e ácidas, paralelamente às moléculas do colágeno. Isso resulta no aumento da birrefringência das fibras de colágeno quando observadas com luz polarizada. Apesar da inespecificidade de ligação do *Sirius Red* com componentes de caráter básico, o aumento da birrefringência ocorre apenas com o colágeno. Dessa forma, o método de coloração por Picrossírius associado à microscopia com luz polarizada é específico para a observação de estruturas compostas de moléculas orientadas de colágeno (Junqueira et al., 1979).

Junqueira et al. (1979) demonstraram que as diferentes cores e intensidades de birrefringência resultantes da coloração por Picrossírius ocorrem devido aos diversos padrões de agregação física do corante ao colágeno. Evidenciaram a intensa birrefringência com coloração amarela ou avermelhada que ocorre com fibrilas colagênicas grossas e densamente agrupadas, caracteristicamente do colágeno do tipo I; e ainda fraca birrefringência de coloração esverdeada das fibras finas e frouxamente dispostas, características do colágeno do tipo III. Apesar disso, em 1982, Junqueira et al. observaram que havia influência nesse padrão de coloração

devido à espessura dos cortes histológicos, por ocorrer interferência no padrão de agregação do corante. Por esse motivo, não foi estabelecida uma correlação específica entre a coloração Picrossírius e os diferentes tipos de colágeno, mas sim de que a cor e a intensidade da birrefringência são correlacionadas à espessura do colágeno.

Assim, esse método de identificação histoquímica do colágeno deve ser utilizado com ciência dessas características, principalmente em tecidos sob efeito de processos fisiopatológicos, limitando-se a distinguir entre fibrilas grossas e finas e, com a análise sendo feita à luz do mecanismo atuante sobre as fibras colagênicas.

2.4.2 O sistema elástico

As fibras elásticas têm função biomecânica e são responsáveis pela elasticidade e resiliência dos tecidos (Mahoney et al., 2009). Além disso, estudos têm demonstrado evidências de outras funções das fibras elásticas, como a modulação da sinalização, adesão e proliferação das células (Dietz et al., 2000).

O sistema elástico é formado por fibras elásticas, elaunínicas e oxitalânicas (Ross et al., 1969; Montes, 1996; Arribas et al., 2006).

De forma similar ao sistema colagênico, a síntese de fibras elásticas inicia-se no retículo endoplasmático granular. Uma vez no meio extracelular, a tropoelastina interage com moléculas de fibrilina, constituindo as fibras elásticas. Assim, inicialmente, um feixe contendo somente microfibrilas é formado, ocorrendo deposição posterior da elastina por entre as

microfibrilas, até que a fibra elástica atinja sua completa maturação. Entretanto, em indivíduos adultos é possível verificar a existência de feixes de microfibrilas sem elastina, denominadas fibras oxitalânicas, ou ainda feixes de microfibrilas com aglomerados esparsos de elastina, denominadas fibras elaunínicas; demonstrando que as unidades microfibrilares são destinadas tanto a servirem de guia para depósito da elastina, quanto a atuarem de maneira independente no tecido conjuntivo (Brooke et al., 2003).

A elastina contém dois aminoácidos incomuns, a desmosina e a isodesmosina, responsáveis pelas ligações cruzadas nas fibras elásticas maduras e por permitir seu estiramento e encurtamento, mecanismo que confere a propriedade mecânica de resiliência tecidual (Figura 3).

Assim, uma vez que é a elastina que confere elasticidade, as fibras elásticas, que apresentam maior quantidade relativa de elastina, têm propriedades elastométricas mais pronunciadas, enquanto as fibras oxitalânicas são mais resistentes à tensão, limitando o estiramento no tecido onde ocorrem, evidenciando um papel estrutural de ancoragem. As fibras elaunínicas têm um grau intermediário de elasticidade (Cotta-Pereira et al., 1984).

Figura 3 - Esquema mostrando as moléculas de elastina unidas por ligações covalentes, formando uma rede interconectada e extensível. Uma vez que cada molécula de elastina pode se expandir, toda a rede pode esticar e retornar ao seu formato original (Alberts et al., 1983 * apud Junqueira e Carneiro, 2013)

Em situações fisiológicas da pele, as fibras elastínicas são encontradas na interface da derme reticular com a papilar e as fibras colágenas, onde há atuação de forças de tensão mecânica, como na junção dermoepidérmica (Cotta-Pereira et al., 1976). De acordo com Pasquali-Ronchetti et al. (1997), a densidade das fibras elásticas aumenta desde o nascimento até atingir um patamar aos 20 anos nas mulheres e aos 40 anos nos homens. Esses autores descreveram também um aumento de densidade de elastina em indivíduos idosos.

Segundo Braverman et al. (1982) foram observadas evidências morfológicas de síntese contínua de fibras elásticas durante a vida dos indivíduos estudados, ainda que os aspectos de degradação destas fibras predominem no envelhecimento.

---

* Alberts B, Bray D. Molecular biology of the cell. 1983; Garland Publishing.

Recentemente, Ortolan et al. (2013) verificaram alterações na qualidade das fibras elásticas e aumento na densidade de material elástico associados ao envelhecimento. No mesmo sentido, Wulf et al. (2004) já haviam observado que as consequências das alterações na organização e qualidade das fibras elásticas, apesar do aumento da densidade, incluem mudanças mecânicas superficiais da pele, como o enrugamento e a flacidez.

Para o estudo das fibras do sistema elástico, o método de coloração resorcina-fuscina de Weigert é consagrado por diversas pesquisas e permite identificar as fibras do sistema elástico pela coloração púrpura (Rosenquist, 1981; Junqueira et al., 2013; Kierszenbaum, 2008).

2.4.3 Os elementos fibrilares da pele e a perda acentuada de peso

O comportamento da pele de pacientes emagrecidos após cirurgias bariátricas, conforme descrito previamente, induz ao raciocínio de que ocorre um remodelamento estrutural na matriz extracelular durante o processo de perda ponderal, culminando num sistema tegumentar alterado, responsável pelo maior índice de complicações nas cirurgias plásticas e pela limitação dos resultados de reconstrução de contorno corporal.

Orpheu et al. (2010) demonstraram diferenças na composição da pele do abdome de pacientes que emagreceram após tratamento cirúrgico da obesidade mórbida quando comparada à pele de pacientes que nunca haviam sido obesos, observando diferenças quantitativas de colágeno e fibras elásticas, consignando importante passo inicial para estabelecer as alterações que ocorrem na matriz extracelular da pele do abdome, como

consequência da perda de peso após cirurgia bariátrica. Entretanto, o estudo foi restrito à quantificação de proteínas do sistema conjuntivo da pele, limitando assim a análise do impacto das alterações encontradas com as características clínicas.

Além disso, não há estudos na literatura mundial que evidenciem as eventuais alterações estruturais de diferenciação das fibras colagênicas e que se correlacionem com as alterações de qualidade da pele durante o processo de grande perda de peso que ocorre após as cirurgias bariátricas.

Desta forma, levando-se em consideração que a derme é constituída por tecido conjuntivo, este trabalho busca estudar a organização das fibras colagênicas e elásticas da matriz extracelular, comparando-se a pele de pacientes emagrecidas após a cirurgia bariátrica e de pacientes que ainda sofrem de obesidade mórbida, visando acrescentar conhecimento sobre as alterações estruturais da pele decorrentes desse período de emagrecimento e correlacioná-las com as limitações de resultado das cirurgias reconstrutivas do contorno corporal.

- I. Avaliar as características histomorfométricas das fibras colagênicas e elásticas da pele da região epigástrica do abdome de pacientes com grande perda ponderal após tratamento cirúrgico da obesidade mórbida e compará-las com as características da pele de pacientes com obesidade mórbida.

O projeto de pesquisa foi aprovado sob registro número 8666 pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq - do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP). As pacientes foram orientadas sobre as características da pesquisa, sendo-lhes apresentado termo de consentimento livre e esclarecido. Ressaltou-se a possibilidade de desistência da participação na pesquisa a qualquer tempo e sem qualquer ônus ao tratamento médico.

Trata-se de estudo prospectivo realizado no período de Julho de 2012 a Julho de 2016.

Foram selecionados dois grupos de pacientes do sexo feminino com idade variando entre 20 e 60 anos, com 20 pacientes em cada grupo.

Grupo I - Casos - foi formado por pacientes submetidas previamente à cirurgia bariátrica na Unidade de Cirurgia Bariátrica e Metabólica do Serviço de Cirurgia do Aparelho Digestivo do HCFMUSP, com consequente perda e estabilização de peso por período mínimo de doze meses, levando à dismorfia corporal e à indicação de abdominoplastia em âncora, conforme protocolo cirúrgico do Grupo de Contorno Corporal da Divisão de Cirurgia Plástica do HCFMUSP. Durante o período intra-operatório da abdominoplastia, foi coletado fragmento de pele da região epigástrica da peça cirúrgica em vias de ser descartada, com dimensões aproximadas de três por cinco milímetros, interessando epiderme, derme e parte do tecido celular subcutâneo.

Os critérios de inclusão para o Grupo I foram: a) Emagrecimento exclusivamente através de tratamento cirúrgico (cirurgia bariátrica) pela técnica de gastroplastia redutora com derivação em Y de Roux, b) Estabilidade do peso corporal após emagrecimento por período mínimo de doze meses, c) Indicação cirúrgica de abdominoplastia em âncora.

Os critérios de exclusão foram: a) Tabagismo, b) Índice de massa corpórea (IMC) abaixo de 20kg/m^2 ou acima de 35kg/m^2 , c) Perda ponderal menor do que 40% do excesso de peso corporal pré-cirurgia bariátrica, d) Presença de doenças que demandassem uso crônico de corticosteroides, anti-inflamatórios ou imunossupressores, e) Diabetes melito persistente ao emagrecimento.

Grupo II - Controles - foi formado por pacientes com obesidade mórbida, em seguimento na Unidade de Cirurgia Bariátrica e Metabólica do Serviço de Cirurgia do Aparelho Digestivo do HCFMUSP e com indicação para a cirurgia bariátrica. Durante o período intra-operatório da gastroplastia redutora, realizada por acesso convencional, ou seja, através de laparotomia longitudinal mediana supra-umbilical, foi obtido fragmento de pele da região epigástrica, em região justa incisional, com dimensões aproximadas de três por cinco milímetros, interessando epiderme, derme e parte do tecido celular subcutâneo.

Os critérios de exclusão no Grupo II foram: a) Indicação de cirurgia bariátrica através da técnica diversa da gastroplastia redutora com derivação em Y de Roux, b) Tabagismo, c) Presença de doenças que demandassem uso crônico de corticosteroides, anti-inflamatórios ou imunossupressores.

As idades e os IMC das pacientes dois grupos foram armazenados em planilha computadorizada Excel 2007[†].

As amostras de pele dos dois grupos foram submetidas à mesma metodologia de preparo histológico: fixação iniciada no momento da obtenção do tecido em sala cirúrgica, mantida por 24 horas em paraformaldeído a 4% em solução salina tamponada ao pH 7,0. O processamento subsequente das amostras foi realizado no Laboratório de Biologia Celular do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP) conforme padronização estabelecida naquela unidade e descrita a seguir.

Após o tempo de fixação, as amostras foram colocadas em álcool 70° e processadas para microscopia óptica através de desidratação em gradiente crescente de álcool 96° e 100°, e diafanizadas em xilol. Após impregnação em dois banhos de parafina fundida a 60°C, os tecidos foram incluídos em parafina.

Foram obtidos cortes histológicos de 4µm de espessura em micrótomo LEICA® RM2245[‡] que foram colocados em lâminas de vidro. Os cortes foram corados pelo método de hematoxilina-eosina para estudo da estrutura histológica geral.

Para o estudo das fibras do sistema colágeno, foi utilizado o método Picrossírius-polarização, que mostra as fibras colagênicas brilhantes contra um fundo escuro.

[†] Microsoft® Office Excel® 2007.

[‡] Leica Biosystems, Germany.

Para revelar a presença e distribuição das fibras do sistema elástico foi utilizada a técnica da resorcina-fucsina de Weigert com oxidação prévia, possibilitando corar simultaneamente todos os tipos de fibras do sistema elástico.

4.1 Detalhamento dos métodos de coloração:

4.1.1 Hematoxilina-eosina

Os cortes foram desparafinados em xilol, hidratados em gradiente alcoólico (100°, 95° e 70°) e lavados em água corrente. Foi realizada a coloração pela hematoxilina de Harris por um minuto e 30 segundos à temperatura ambiente e lavagem em água corrente. Em seguida, os fragmentos foram corados em eosina alcoólica[§] por 12 segundos e lavados em água corrente. Após a coloração, os cortes foram desidratados em gradiente alcoólico (70°, 95° e 100°), diafanizados em xilol e montados para análise microscópica.

4.1.2 Picrossírius-hematoxilina

Os cortes histológicos foram desparafinados em xilol, hidratados em gradiente alcoólico (100° a 70°) e água, e corados durante uma hora em solução 0,2% de *Sirius Red*^{**} dissolvido em solução aquosa saturada de ácido pícrico. Os cortes foram lavados em água corrente e contra-corados com

---

[§] Eosin Y – Merck Certistain, Germany.

^{**} Sirius Red F3B 200, Mobay Chemical Company, Union, New Jersey, USA.

hematoxilina de Harris fresca durante dois minutos; a seguir, foram lavados em água corrente, desidratados em gradiente alcoólico (70° a 100°), diafanizados em xilol e montados para análise microscópica.

4.1.3 Resorcina-fucsina de Weigert

As lâminas foram desparafinadas em xilol, hidratadas em gradiente decrescente de álcool até lavagem em água. Os cortes foram oxidados com uma solução de oxona^{††} a 10% por 40 minutos. Após a oxidação, os cortes foram lavados em água corrente por cinco minutos e em álcool 70° e 95°, por dois minutos cada; a seguir corados por uma hora na solução corante de Resorcina-fucsina^{‡‡},^{§§} de Weigert. Após a coloração, foi feita a diferenciação em álcool 70°. Para a montagem das lâminas, os cortes foram desidratados em gradiente crescente de álcool, diafanizados em xilol e montados.

---

^{††} Oxone Monopersulfate – Sigma-Aldrich Co., USA.

^{‡‡} Resorcinum pa – Merck Reagenzien - Germany

^{§§} Fucsina básica – Caal Ltda.

4.2 Análise microscópica

Foi utilizado microscópio de luz Nikon Optiphot® ***. Foram obtidas imagens digitalizadas através de câmera fotográfica Digital Sight DS-5M *** - conjunta ao microscópio, utilizando programa de computador de análise de imagens NIS-Elements Imaging Software® ***. Foram inseridas escalas de 100 µm para referência nas imagens examinadas com objetiva de 20x.

Nos dois grupos de estudo, foram obtidas dez imagens por paciente dos cortes histológicos corados por Picrossírius-hematoxilina observados sob luz polarizada e dos cortes corados pela Resorcina-fucsina de Weigert. Todas as imagens digitalizadas seguiram o padrão de formatação JPEG.

4.3 Histomorfometria

Cada imagem foi analisada através do programa de computador ImageJ^{†††} para obtenção dos dados sobre a área ocupada pelas fibras do sistema colágeno e comprimento das fibras do sistema elástico nas amostras de pele das pacientes de cada grupo avaliado. Foi realizada calibragem das imagens através de escala em micrômetros, permitindo correlacionar a unidade elementar da imagem digitalizada, *pixel*, com a medida em micrômetro.

*** Nikon Corporation, Japan.

††† ImageJ® versão 1.48 - National Institutes of Health (NIH), USA.

4.3.1 Avaliação do sistema colagênico

Foram medidas as áreas de fibras grossas e finas de colágeno através de retículo quadriculado de três mil micrômetros quadrados por ponto na cor azul (Figura 4). O posicionamento da grade foi gerado aleatoriamente a cada leitura. A contagem de pontos foi realizada pela coincidência dos cruzamentos da grade com estruturas de interesse, e foi composta por três possibilidades:

- Ponto sobre fundo escuro (Pfe), representando áreas sem colágeno.
- Ponto sobre fibra de colágeno fina (Pfin).
- Ponto sobre fibra de colágeno grossa (Pgros).

As fibras finas foram consideradas aquelas de menor diâmetro e frouxamente organizadas enquanto que as fibras grossas corresponderam àquelas de maior diâmetro e dispostas sob a forma de feixes de fibras.

Cada ponto contabilizado representou uma área de $3000 \mu\text{m}^2$. Em cada imagem, para quantificação do sistema colágeno, foram calculadas as frações de volume tecidual ocupadas por fibras finas e por fibras grossas, através da razão entre a quantidade de pontos que incidiam em cada tipo de fibra e a quantidade total de que incidiam naquela imagem, da seguinte maneira:

- Fração de volume de fibras finas = $\frac{P_{\text{fin}} (\text{Pontos sobre fibras finas})}{P_{\text{fin}} + P_{\text{gros}} + P_{\text{fe}}}$ e,
- Fração de volume de fibras grossas = $\frac{P_{\text{gros}} (\text{Pontos sobre fibras grossas})}{P_{\text{fin}} + P_{\text{gros}} + P_{\text{fe}}}$

Figura 4 – À esquerda, esquema de tecido a ser analisado (seta superior) e da estrutura de interesse em vermelho (seta inferior). À direita, grade quadriculada azul para contagem de pontos onde há coincidência de ponto de cruzamento da grade com a estrutura de interesse (seta)

Considerando que cada paciente de cada um dos grupos foi representada com dez imagens digitalizadas para avaliação do sistema colágeno, foram obtidos dez cálculos de fração de volume para fibras finas e dez cálculos de fração de volume para fibras grossas para cada indivíduo.

Posteriormente, obteve-se o valor médio das dez medidas de fração de volume de fibras finas e das dez medidas de fração de volume de fibras grossas, de cada paciente, dos dois grupos, resultando nas médias de frações de volume para fibras finas e para fibras grossas, representadas pelas abreviaturas F_{fin} e F_{gros} , respectivamente.

A soma das médias de fração de volume de fibras finas e de fibras grossas representou a fração média de volume de colágeno total de cada indivíduo (F_{col}):

- $F_{col} = F_{fin} + F_{gros}$

As informações foram armazenadas em planilha Excel 2007®.

4.3.2 Avaliação das fibras do sistema elástico

As imagens das lâminas coradas pelo método resorcina-fucsina de Weigert também foram analisadas através do programa ImageJ® para quantificação da densidade das fibras do sistema elástico.

Dado que uma fibra elástica tem seu diâmetro desprezível em termos de microscopia de luz, a variável analisada foi o comprimento da fibra. Para tal, foi utilizada grade em semicírculos do tipo Merz na cor vermelha, para quantificação de fibras do sistema elástico (Figura 5).

Figura 5 – À esquerda, esquema de tecido a ser analisado (seta superior) e da estrutura de interesse em azul (seta inferior). À direita, grade Merz vermelha para contagem de pontos onde há coincidência da grade com a estrutura de interesse (seta)

Através da contagem de interceptos das fibras elásticas com as linhas semicirculares da grade, foi calculada a medida de comprimento, em micrômetros. O cálculo da densidade de comprimento das fibras foi feito através da divisão dessa medida de comprimento pela área da imagem analisada (que era dada em micrômetros quadrados), com o resultado dado em micrômetro dividido por micrômetro quadrado ($\mu\text{m}/\mu\text{m}^2$). A média das medidas e cálculos feitos nas dez imagens que cada indivíduo possuía

resultou na média da densidade de comprimento de fibras elásticas, representada pela abreviatura Dels.

Os dados obtidos foram arquivados em planilha Microsoft Excel®.

4.4 Análise estatística

Com os dados histomorfométricos obtidos sobre as médias de frações de volume de fibras colágenas finas (Ffin), médias de frações de volume de fibras colágenas grossas (Fgros), médias de frações de volume de fibras totais de colágeno (Fcol) e médias das densidades de comprimento das fibras do sistema elástico (Dels), foi possível analisar descritivamente a média, desvio padrão, valores mínimo e máximo. Essa análise também foi realizada para a idade e o IMC das pacientes.

Para estudar as diferenças entre os grupos nas diversas variáveis, foi feita a verificação de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk.

Foi aplicado o teste de equivalência de variâncias pelo teste F.

As hipóteses nulas correlacionando os Grupos I e II quanto às variáveis de interesse foram testadas através de teste t de Student para médias de duas amostras não pareadas.

O nível de significância (alfa) dos testes estatísticos assumido foi de 5%.

A análise estatística foi realizada através do programa de computador SPSS® for Windows®^{†††}.

---

^{†††} IBM®, SPSS® Inc. Chicago, Illinois, USA.

5 RESULTADOS

As idades e os índices de massa corpórea (IMC) dos dois grupos estão listados no Quadro 1.

Quadro 1 - Idade e IMC dos grupos I e II, n=20 em cada grupo

Grupo I Casos	Nº	Idade (anos)	IMC (kg/m ²)	Grupo II Controles	Nº	Idade (anos)	IMC (kg/m ²)
	1	28	28,3		1	38	42,1
	2	58	29,3		2	45	40,8
	3	32	32,2		3	48	41,2
	4	45	29,9		4	55	40,9
	5	48	30,6		5	49	42,3
	6	44	32,1		6	58	39,8
	7	40	31,6		7	52	38,8
	8	55	27,3		8	28	43,3
	9	54	26,6		9	37	40,1
	10	58	29,8		10	57	37,7
	11	38	30,2		11	42	43,8
	12	42	29,3		12	41	42,8
	13	47	31,1		13	47	43,7
	14	59	30,8		14	37	41,1
	15	42	31,4		15	54	40,9
	16	39	29,7		16	25	44,5
	17	37	28,8		17	48	39,2
	18	48	31,1		18	44	46,5
	19	53	31,9		19	52	44,1
	20	35	32,9		20	39	39,4

A retirada para processamento histológico de fragmento de pele no grupo I foi realizada após ressecção da peça cirúrgica da abdominoplastia em âncora (Figura 6).

Figura 6 - Peça cirúrgica retirada durante a abdominoplastia em âncora de paciente do Grupo I, com fragmento de pele (seta amarela) obtido da região correspondente ao epigástrio (seta preta) para processamento histológico

As amostras de pele do grupo II também foram retiradas da região epigástrica para processamento histológico, junto à incisão da laparotomia realizada para a gastroplastia redutora.

As Figuras 7 e 8 correspondem a corte histológico corado com Picrossírius, mostrando que as fibras colagênicas aparecem coradas em vermelho profundo (Figura 7) sob luz convencional. Ao se examinar o mesmo corte sob luz polarizada (Figura 8), as fibras colagênicas aparecem fortemente brilhantes contra um fundo escuro.

Figura 7 - Corte histológico de indivíduo do Grupo II corado com Picrosirius-hematoxilina e observado sob luz convencional (escala de 1000μm) - Objetiva 4x

Figura 8 - Mesmo corte ilustrado na Figura 7 observado sob luz polarizada (escala de 1000μm) - Objetiva 4x

A Figura 9 corresponde a corte histológico corado com Picrossírius-hematoxilina e observado sob luz polarizada e com objetiva de 4x, contendo representação esquemática da distribuição das regiões posteriormente visualizadas com objetiva de 20x para obtenção das imagens para análise morfométrica, de acordo com a Figura 10.

Figura 9 - Corte histológico de indivíduo do Grupo II corado com Picrossírius-hematoxilina e observado sob luz polarizada com representação esquemática (retângulos brancos) das dez áreas em que foram obtidas as imagens em maior aumento (escala de 1000μm) - Objetiva 4x

Figura 10 - Corte histológico de indivíduo do Grupo II corado com Picrosirius-hematoxilina e observado sob luz polarizada e em maior aumento (escala de 100μm), ilustrando o aumento em que foram realizadas as medidas histomorfométricas - Objetiva 20x

Após a digitalização das imagens, as medidas do sistema colagênico foram realizadas com a inserção de grade quadriculada com o programa de computador ImageJ® para contagem de pontos que incidiam sobre cada tipo de fibra ou sobre o fundo escuro (Figuras 11 e 12).

Figura 11 - Corte histológico de indivíduo do Grupo II corado com Picrosirius-hematoxilina e observado sob luz polarizada, sem grade - Objetiva 20x

Figura 12 - Mesma imagem da Figura 11, mas com grade azul com retículos de $3000 \mu\text{m}^2$. A seta amarela indica ponto sobre fundo escuro (Pfe), a seta branca indica ponto sobre fibra fina (Pfin) e a seta verde indica ponto sobre fibra grossa (Pgros) - Objetiva 20x

As Figuras 13 e 14 correspondem a corte histológico corado com Resorcina-fucsina de Weigert, mostrando que as fibras elásticas aparecem coradas em roxo. Após a digitalização da imagem (Figura 13) e inserção de grade do tipo Merz, foi realizada a contagem de interceptos das fibras elásticas com as linhas semicirculares (Figura 14).

Figura 13 - Corte histológico de indivíduo do Grupo I corado com Resorcina-fucsina de Weigert, sem grade - Objetiva 20x

Figura 14 - Mesma imagem da Figura 13, mas com grade do tipo Merz em vermelho. As setas pretas indicam alguns dos pontos de interceptação da grade com as fibras elásticas - Objetiva 20x

Após a contagem de pontos e cálculos das médias de frações de volume para fibras finas de colágeno (F_{fin}), médias de frações de volume para fibras grossas de colágeno (F_{gros}), médias de frações de volume do total de fibras colágenas (F_{col}) e médias de densidades de comprimento de fibras elásticas (D_{els}) no Grupo I, os dados foram armazenados e estão listados no Quadro 2.

Quadro 2 - Pacientes do Grupo I - Casos, n=20

Nº	Ffin	Fgros	Fcol	Dels($\mu\text{m}/\mu\text{m}^2$)
1	0,4002	0,4499	0,8501	0,013464
2	0,5057	0,1902	0,6959	0,010589
3	0,4689	0,3100	0,7788	0,015077
4	0,3270	0,4486	0,7756	0,009064
5	0,5817	0,2432	0,8249	0,013141
6	0,4796	0,2737	0,7533	0,008683
7	0,5760	0,2422	0,8182	0,013317
8	0,6456	0,1597	0,8053	0,013523
9	0,5693	0,1704	0,7397	0,010589
10	0,4719	0,1378	0,6097	0,011528
11	0,3098	0,5067	0,8165	0,019243
12	0,5065	0,2487	0,7551	0,013405
13	0,3051	0,3770	0,6821	0,011176
14	0,5195	0,1786	0,6980	0,011557
15	0,2891	0,4219	0,7110	0,014491
16	0,2894	0,5596	0,8490	0,016691
17	0,3552	0,4435	0,7987	0,014168
18	0,4128	0,3845	0,7973	0,014755
19	0,6341	0,1571	0,7912	0,010061
20	0,3425	0,4296	0,7721	0,010560

As médias de frações de volume para fibras finas de colágeno (Ffin), médias de frações de volume para fibras grossas de colágeno (Fgros), médias de frações de volume do total de fibras colágenas (Fcol) e médias de densidades de comprimento de fibras elásticas (Dels) no Grupo II, os dados foram armazenados e estão listados no Quadro 3.

Quadro 3 - Pacientes do Grupo II - Controles, n=20

Nº	Ffin	Fgros	Fcol	Dels($\mu\text{m}/\mu\text{m}^2$)
1	0,3282	0,4191	0,7473	0,001613
2	0,2931	0,4721	0,7651	0,006219
3	0,2789	0,3416	0,6206	0,008888
4	0,4959	0,2223	0,7182	0,006101
5	0,2502	0,4312	0,6814	0,011117
6	0,5034	0,2818	0,7852	0,007539
7	0,4375	0,2403	0,6778	0,005515
8	0,2998	0,3504	0,6501	0,012789
9	0,4841	0,3254	0,8095	0,004781
10	0,3834	0,2439	0,6273	0,007157
11	0,2113	0,6258	0,8371	0,007627
12	0,2760	0,5244	0,8004	0,008507
13	0,3141	0,4719	0,7859	0,006571
14	0,1252	0,7283	0,8535	0,007949
15	0,5240	0,2529	0,7768	0,006864
16	0,4488	0,3308	0,7795	0,010355
17	0,2440	0,4430	0,6869	0,010061
18	0,1720	0,6071	0,7792	0,010003
19	0,5551	0,2748	0,8299	0,010237
20	0,1944	0,5316	0,7260	0,009445

Análise estatística descritiva

Na Tabela 1 são apresentadas as medidas-resumo das variáveis coletadas.

Tabela 1 - Medidas descritivas das variáveis de interesse em cada grupo, representadas pelo valor médio

Grupo		Idade ^a	IMC ^b	Ffin	Fgros	Fcol	Dels ^c
I - Casos (n=20)	Média	45,10	30,25	0,45	0,32	0,77	0,01275
	DP	9,04	1,62	0,11	0,13	0,06	0,00263
	Mínimo	28	26,6	0,29	0,14	0,61	0,01924
	Máximo	59	32,9	0,65	0,56	0,85	0,00868
II - Controles (n=20)	Média	44,80	41,65	0,34	0,41	0,75	0,00797
	DP	9,05	2,17	0,13	0,14	0,07	0,00255
	Mínimo	25	37,7	0,13	0,22	0,62	0,01279
	Máximo	58	46,5	0,56	0,73	0,85	0,00161

a: em anos

b: em kg/m^2 c: em $\mu\text{m}/\mu\text{m}^2$

A distribuição das médias de frações de volume das fibras de colágeno finas dos dois grupos está representada no Gráfico 1.

Gráfico 1 - Distribuição das médias de frações de volume das fibras de colágeno finas (Ffin) em cada grupo, em percentagem

A distribuição das médias de frações de volume das fibras grossas de colágeno dos dois grupos está representada no Gráfico 2.

Gráfico 2 - Distribuição das médias de frações de volume das fibras grossas de colágeno (Fgros) em cada grupo, em porcentagem

A distribuição das médias de densidades de comprimento de fibras elásticas, Dels, nos dois grupos, está representada no Gráfico 3.

A distribuição da frequência de indivíduos por intervalo de densidade de comprimento de fibras elásticas em cada grupo está representada no Gráfico 4.

Gráfico 3 - Distribuição das médias de densidades de fibras elásticas (Dels) em cada grupo, em $\mu\text{m}/\mu\text{m}^2$

Gráfico 4 - Distribuição da frequência de indivíduos por intervalo de densidade de comprimento de fibras elásticas (Dels) em cada grupo, em $\mu\text{m}/\mu\text{m}^2$

Análise inferencial

O teste de Shapiro-Wilk foi positivo para a verificação de normalidade e o teste F foi positivo para a equivalência de variâncias para as variáveis de interesse dos dois grupos.

Foi aplicado o teste t de Student para amostras não-relacionadas, obtendo-se os resultados presentes na Tabela 2.

Tabela 2 - Comparação entre os grupos I e II com relação às variáveis de interesse ($p < 0,05$)

Variável	p
Ffin	0,0085
Fgros	0,0488
Fcol	0,3619
Dels	0,0000009033
Idade (em anos)	0,917

Através dos critérios estatísticos estabelecidos, esses resultados representam que:

- O **Grupo I** apresentou maior fração de volume de fibras colagênicas finas do que o **Grupo II**.
- O **Grupo II** apresentou maior fração de volume de fibras colagênicas grossas do que o **Grupo I**.
- Os dois grupos não diferem quanto ao volume total de fibras do sistema colagênico.
- O **Grupo I** tem maior densidade de comprimento de fibras elásticas do que o **Grupo II**.
- Os dois grupos não diferem quanto à variável idade.

O aumento da prevalência da obesidade e a recente popularização das cirurgias bariátricas e das cirurgias plásticas para reparação do contorno corporal dos pacientes emagrecidos têm estimulado amplamente o desenvolvimento de estudos para análise das consequências tanto da obesidade mórbida, quanto da perda acentuada de peso.

Como consequência disso, grandes avanços científicos têm sido atingidos para a compreensão e o tratamento da obesidade mórbida.

Considerando a cirurgia plástica e seu papel nesse tipo de tratamento, pode-se observar crescente evolução concentrada nos últimos anos (Cintra Junior et al., 2009; Rocha et al., 2012). Conforme ressaltado por Cintra Junior (2014), houve desenvolvimento de classificações de dismorfias corporais decorrentes da perda acentuada de peso, sistematização de atendimento aos pacientes, desenvolvimento de novas técnicas cirúrgicas e/ou popularização de técnicas previamente descritas e que tinham aplicabilidade limitada, regulamentações e normatizações para atendimento tanto no âmbito da saúde pública como no da saúde suplementar.

Apesar de toda essa conjuntura, ainda há poucos estudos com objetivo de esclarecer os índices aumentados de complicações cicatriciais e tanto a limitação quanto a fugacidade dos resultados das cirurgias plásticas para reconstrução do contorno corporal após grande perda de peso (Young et al., 1991; Leahy et al., 2008; Migliori et al., 2008; Orpheu et al., 2010; Light et al., 2010; Veiga et al., 2011; Cintra Junior et al., 2016).

O presente estudo, através da histomorfometria, evidenciou que uma das consequências das cirurgias bariátricas é a redução de fibras

colagênicas estruturadas, organizadas e com maior espessura na pele. Outra alteração foi o aumento de fibras colagênicas finas e menos alinhadas. Houve também evidência de aumento significativo da densidade de comprimento das fibras do sistema elástico na pele após a gastropastia redutora.

Considerando as características clínicas da pele dos pacientes emagrecidos após cirurgias bariátricas observadas através da limitação de resultados das cirurgias plásticas para reparação do contorno corporal, o presente estudo comprovou haver redução da qualidade da pele durante o processo de perda de peso, permitindo inferir que as fibras mais organizadas e estruturadas de colágeno, representadas aqui pela fração de fibras grossas, sofrem degradação durante a perda acentuada de peso, configurando uma pele com quantidade menor de fibras grossas e maior de fibras finas, sem prejuízo na quantidade total de fibras do sistema colagênico. Assim como ocorre no envelhecimento (Wulf et al., 2004; Ortolan et al., 2013), houve aumento da densidade de fibras elásticas na pele das pacientes emagrecidas.

Em relação à metodologia utilizada nessa tese, é importante ressaltar que as alterações estruturais e funcionais das fibras de colágeno da pele decorrentes do processo de envelhecimento e da ação de agentes ambientais foram pioneiramente demonstradas através de Reologia por Vezar (1964). Posteriormente, Lavker et al. (1977, 1987) evidenciaram essas alterações utilizando microscopia óptica e eletrônica.

Branchet et al. (1991) evidenciaram as mudanças do colágeno cutâneo através de análise morfométrica da pele normal em função da idade.

No presente estudo, a metodologia utilizada foi capaz de comparar alterações estruturais da pele de um grupo de pacientes emagrecidas após cirurgia bariátrica (Grupo I) com outro grupo de pacientes com obesidade mórbida (Grupo II), quando foi evidenciado que não houve diferença, em média, nas idades das pacientes ($p=0,917$).

Considerando a interferência que o envelhecimento tem sobre os elementos fibrilares da pele demonstrada por diversos autores, esse importante e potencial fator de confusão pôde ser afastado através da análise estatística inferencial aplicada (Verzar, 1964).

Quanto à ampla faixa etária definida nesta tese como critério de inclusão das pacientes para os dois grupos, ou seja, entre 20 e 60 anos, é importante observar que isso permitiu a formação dos dois grupos de pacientes em tempo hábil dentro do cronograma estipulado, uma vez que foi criada uma dependência com a programação cirúrgica terapêutica, conforme descrito anteriormente.

Pelo mesmo motivo foram selecionados dois grupos de pacientes em detrimento da obtenção de amostras de pele das mesmas pacientes em momentos diferentes, ou seja, na realização da cirurgia bariátrica e, após perda e estabilização do peso, no momento da cirurgia plástica abdominal.

Em relação ao sexo e à interferência hormonal sobre a pele, Bolognia et al. (1989) documentaram os efeitos da menopausa sobre a espessura da

pele. Com objetivo de reduzir a possível interferência dessa diferença de comportamento entre os sexos, no presente trabalho, a constituição dos dois grupos analisados foi limitada a pacientes do sexo feminino, e sem diferença entre as médias de idade conforme demonstrado.

Chang et al. (2014), em recente revisão sobre a eficácia e os riscos das cirurgias bariátricas, evidenciaram diferenças na mortalidade, morbidade, taxas de reoperação e velocidade de perda de peso entre três diferentes técnicas. Some-se a isso a grande variedade de alterações cutâneas decorrentes de desbalanço nutricional descritos por Manzoni et al. (2015). Isso evidencia a importância de uniformização da amostra analisada nessa tese, no que tange à restrição das pacientes do Grupo I àquelas que emagreceram através de um tipo de técnica: gastroplastia redutora com derivação em Y de Roux. Dessa maneira foi afastada a possível interferência nutricional diferenciada entre as pacientes analisadas, que estaria presente como consequência da aplicação de técnicas cirúrgicas diversas para a perda de peso, potencialmente interferindo de maneira maior ou menor nas estruturas fibrilares cutâneas.

De forma similar, nos dois grupos analisados, foram utilizados critérios de exclusão para impedir a análise enviesada dos efeitos do emagrecimento nos elementos fibrilares da matriz extracelular, retirando pacientes tabagistas ou em uso crônico de corticosteroides, anti-inflamatórios e imunossupressores, e ainda aquelas com diabetes melito persistente ao emagrecimento.

Quanto à escolha do local para retirada de amostra cutânea, cabe esclarecer que foi considerada como ideal a retirada de amostras de pele da mesma região anatômica nos dois grupos, procurando assim obter espécimes submetidos ao mesmo tipo de ações mecânicas sob o ponto de vista biodinâmico. Diante disso e frente ao fato de que as cirurgias bariátricas realizadas pela Unidade de Cirurgia Bariátrica e Metabólica do Serviço de Cirurgia do Aparelho Digestivo do HCFMUSP são executadas através de laparotomia longitudinal mediana supra-umbilical, coube estabelecer que o outro grupo fosse composto por pacientes já emagrecidas com indicação de reconstrução do controno abdominal através da abdominoplastia em âncora, conforme protocolo já estabelecido do Grupo de Contorno Corporal da Divisão de Cirurgia Plástica do HCFMUSP. Assim, a região epigástrica foi definida como comum para a retirada de amostra de pele nos dois grupos de pacientes, local onde já seria realizada incisão cirúrgica tanto no Grupo I, para a abdominoplastia am âncora, quanto no Grupo II, para a gastroplastia redutora; e oportunamente, no mesmo tempo cirúrgico da realização daqueles procedimentos. Nessas condições, houve redução máxima da morbidade decorrente da obtenção das amostras de pele.

Importante observar que, para proceder a análise das diferenças encontradas entre os dois grupos de pacientes nesta pesquisa, é preciso levar em consideração que o Grupo II foi composto de indivíduos com obesidade mórbida. Essa condição é descrita na literatura como alvo de um quadro patológico cutâneo (Vastine et al., 1999). Apesar do estudo de Black

et al. (1971), (que não evidenciou diferenças da espessura da derme e do conteúdo de fibras do sistema colagênico de indivíduos obesos em relação à população não obesa) em diversas outras fontes científicas posteriores, ficou demonstrado o quadro inflamatório crônico atuante sobre a pele em decorrência da obesidade e suas comorbidades (Brown et al., 2004; Gil et al., 2007; Xing et al., 2011; Gómez et al., 2014).

Considerando as alterações evidenciadas no presente estudo, é importante ressaltar que as estruturas colagênicas desempenham papel fundamental na manutenção da integridade estrutural, mas também na determinação da função tecidual. Em decorrência disso, a identificação precisa de elementos fibrilares colagênicos é essencial para correlacionar adequadamente alterações estruturais com a patologia funcional do tecido analisado (Rich et al., 2005).

Observando os dois tipos de colágeno mais presentes na derme, é fundamental ressaltar que o colágeno tipo I forma fibrilas grossas que se associam, formando fibras grossas conhecidas como “fibras colágenas” em Histologia clássica e tem como principal função a resistência à tensão (Parry et al., 1988). Já o colágeno tipo III forma fibrilas finas que, associadas, dão origem a fibras finas e que correspondem às chamadas “fibras reticulares” da Histologia clássica e que têm a função de formar uma rede de sustentação para as células estromais (Montes, 1996; Alberts et al., 2002).

Essa diferença de diâmetro de fibras, grau de entrelaçamento e disposição espacial entre as fibras de colágeno tipo I e tipo III permite

considerar que tecidos com maior quantidade de colágeno do tipo I serão mais resistentes à tração (Montes, 1996; Pérez-Tamayo, 1982).

A descrição da utilização do *Sirius Red* para identificar fibras de colágeno sob luz polarizada foi feita por Sweat & Puchtler (1964). Estudos subsequentes de Junqueira et al., em 1978, sobre esse método de coloração descreveram sua capacidade de diferenciação entre tipos de colágeno I, II e III. Entretanto, em 1982, Junqueira et al. apontaram para a possibilidade de interferência mecânica à coloração, como, por exemplo, a variação de disposição de moléculas de *Sirius Red* decorrente da espessura do corte histológico submetido à análise.

Dessa forma, o conceito de diferenciação entre tipos de colágeno pelo método picrossírus-polarização deve ser utilizado com critério, uma vez que aqueles autores e estudos posteriores evidenciaram que essa correlação deve ser aplicada a tecidos normais e de organismos adultos, ou seja, que não estejam em processo de síntese ou degradação destas fibras (Junqueira et al., 1991).

Então, o colágeno do tipo I, que reconhecidamente é o único capaz de atingir um grau elevado de polimerização, formando fibras grossas a partir de fibrilas grossas; ao mesmo tempo é o único que mostra birrefringência vermelho-amarelada quando analisado pelo método Picrossírus-polarização. Entretanto, durante o processo de síntese ou de degradação desse tipo de colágeno existirão fibras de diversas espessuras, respectivamente pelo processo de formação de fibrilas e polimerização para a formação de fibras, ou o contrário, pelo processo de degradação das fibras

grossas em fibras mais finas. Essas fibras mais finas, embora sejam de colágeno do tipo I, aparecem com birrefringência esverdeada pelo método Picrossírius-polarização, podendo ser confundidas com “fibrilas reticulares” do colágeno do tipo III. No entanto, não importa o tipo de colágeno presente, as fibras mais finas conferem menor força tênsil ao tecido.

Por esse motivo é que, em tecidos que estejam em processo de remodelamento, não se pode aplicar o conceito de que fibras finas e esverdeadas observadas pelo método Picrossírius-polarização são somente de colágeno do tipo III, pois podem ser fibrilas de colágeno do tipo I em processo de síntese ou de degradação (Junqueira et al., 1991).

Nessas situações, de remodelamento do tecido analisado, as afirmações quanto à utilização do método Picrossírius-polarização devem ser limitadas à predominância de fibras colagênicas finas ou grossas, procurando observar pela estruturação, direcionamento e confluência das fibras, para poder correlacionar as características do tecido com diferentes propriedades biomecânicas.

Considerando os recentes estudos sobre os efeitos da obesidade e da perda de peso sobre o sistema colagênico da pele, Xing et al. (2011) evidenciaram o aumento de colágeno do tipo III imaturo em cicatrizes de laparotomias de ratos obesos, quando comparados com ratos de peso normal.

Orpheu et al. (2010) evidenciaram diferenças nas quantidades de colágeno e fibras do sistema elástico comparando pacientes emagrecidas e pacientes que nunca haviam sido obesas.

Migliori et al. (2008) fizeram estudo piloto com pequena série de indivíduos, observando espessamento fibroso, uma rede vascular hipertrófica e aspectos compatíveis com deterioração do sistema elástico da derme de pacientes emagrecidas após cirurgia bariátrica.

Posteriormente, Light et al. (2010) demonstraram as características da pele de indivíduos com grande perda de peso, evidenciando alteração da organização das fibras do sistema colagênico, degradação da elastina e regiões de formação de cicatriz dentro de áreas macroscopicamente normais.

Veiga et al. (2011) sinalizaram expressão aumentada de colágeno do tipo III, observada por imunofluorescência na pele abdominal de pacientes após cirurgias bariátricas. Além disso, documentou concentração reduzida de heparan sulfato na pele daqueles pacientes, um glicosaminoglicano que é ligado a diferentes proteínas do núcleo celular e também é encontrado na superfície celular e nas matrizes extracelulares, e que pode interagir com várias proteínas que levam às atividades biológicas, como proliferação celular, inflamação, hemostasia e angiogênese.

Nesse contexto e corroborando estes recentes estudos, a presente pesquisa evidencia a degradação do sistema colagênico, principalmente à custa de redução de fibras mais estruturadas, organizadas e entrelaçadas e consequente aumento de fibras finas, desorganizadas e frouxamente dispostas.

Em relação à metodologia utilizada para morfometria de fibras do sistema elástico, importante consignar a característica anisotrópica das

fibras elásticas, cabendo indicação de utilização de uma grade em semicírculos, conhecida como Merz, para permitir a medição sem necessidade da repetitiva rotação aleatória de grade quadriculada (Ounjian et al., 1991; Howard & Reed, 2005).

No tocante às alterações aqui evidenciadas no sistema elástico, como outra das consequências do grande emagrecimento, cabe observar que a maior densidade de fibras elásticas na pele das pacientes emagrecidas responde aos questionamentos da prática clínica sobre os motivos que levam à limitação de resultados das cirurgias de reparação do contorno abdominal. Esse tipo de limitação é representada principalmente pela flacidez residual que surge nos primeiros meses após o procedimento cirúrgico. Isso reflete no grau de insatisfação das pacientes quanto ao resultado final da cirurgia plástica.

A maior densidade de fibras elásticas representa, comparativamente, um tegumento mais flácido, elástico, e que mimetiza as alterações da pele frente ao envelhecimento. Confere também o aspecto da pele de pacientes envelhecidas, com enrugamento, devido à ação das próprias fibras elásticas.

Quando são realizadas as abdominoplastias para reparar o contorno corporal do paciente emagrecido após cirurgia bariátrica, habitualmente são utilizadas técnicas de pinçamento manual durante a ressecção do excedente tegumentar. O cirurgião vive o drama de fazer a retirada suficiente de tecido ao mesmo tempo em que deve evitar a tensão exagerada a que serão submetidos os tecidos para permitir o fechamento. Nesse cenário, o comportamento anormal do tecido do paciente emagrecido serve como fator

complicador, uma vez que ocorre um comportamento até então visto como inesperado aos tecidos remanescentes: uma flacidez residual e progressiva nos meses após a cirurgia plástica; e que resultam num aspecto desgracioso ao contorno abdominal, e muitas vezes tido pelo paciente como o resultado de uma ressecção insuficiente do excesso cutâneo. Isso leva à perda da qualidade do resultado e ao aumento da insatisfação do paciente.

Em que pese a experiência do cirurgião, sua expectativa sobre os resultados nesses pacientes passou, nos últimos anos, a ser tida como limitada. Isso levou, em muitas situações, a uma mudança na relação entre o médico e o paciente, com a comunicação prévia ao paciente para adequar suas expectativas às limitações que o tecido apresenta.

No presente estudo, ficou evidenciada a transformação estrutural da derme decorrente do processo de emagrecimento acelerado à custa da cirurgia bariátrica. O sistema colagênico sofre uma degradação organizacional ao mesmo tempo em que ocorre aumento da densidade das fibras elásticas, concorrendo para a nova configuração da pele, com menor resistência e maior elasticidade em relação ao período anterior ao emagrecimento acentuado. Isso através de estudo com significância estatística e que representa importante passo na compreensão científica sobre o tema, mas que não esgota as questões e expectativas. Traz, sim, uma explicação científica para aquilo que já era possível observar clinicamente, abrindo novos caminhos sobre este empolgante assunto, na busca pelo aprofundamento do conhecimento acerca dos efeitos do emagrecimento acentuado sobre a pele e dos mecanismos envolvidos,

visando melhor entendimento do assunto e possibilitando maior controle sobre os resultados das cirurgias plásticas nessa população. Essa busca depara-se com o objetivo maior, que é o de disponibilizar tratamentos cirúrgicos que possibilitem a melhora da qualidade de vida dos pacientes que foram submetidos a uma terapêutica complexa, longa e multidisciplinar.

7 CONCLUSÕES

A avaliação histomorfométrica da pele de pacientes emagrecidas comparadas com a pele de pacientes com obesidade mórbida permite concluir que:

- I. A pele das pacientes emagrecidas apresenta, com significância estatística, menor quantidade de fibras colagênicas grossas, maior quantidade de fibras colagênicas finas e maior densidade de fibras do sistema elástico;

Através da metodologia adotada, é possível afirmar que essas diferenças estruturais da pele ocorreram no período e como consequência da grande perda de peso;

As alterações evidenciadas no sistema colagênico permitem afirmar que ocorre um remodelamento estrutural da pele com prejuízo de fibras que conferem maior força tênsil ao tecido. O aumento da densidade das fibras do sistema elástico determinam maior elasticidade à pele. Essas duas características levam a um resultado bastante conhecido do cirurgião plástico que atua na reconstrução do contorno corporal de pacientes emagrecidas através de cirurgias bariátricas: a pele com menor resistência e maior flacidez.

Parecer - CAPPesq / Plataforma Brasil - 1 de 2

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO HISTOMORFOMÉTRICA DA PELE DA REGIÃO ABDOMINAL EM PACIENTES COM OBESIDADE MÓRBIDA ANTES E APÓS PERDA PONDERAL CONSEQUENTE A TRATAMENTO CIRÚRGICO

Pesquisador: ROLF GEMPERLI

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 06013112.4.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA U S P
FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 785.589

Data da Relatoria: 17/09/2014

Apresentação do Projeto:

O projeto pretende avaliar 40 pacientes do sexo feminino, divididas em 2 grupos, nas quais serão colhidos amostras de pele da região epigástrica para avaliação de colágeno e elastina, sendo que a coleta será realizada durante procedimento cirúrgico maior realizado pela cirurgia plástica e unidade de cirurgia bariátrica do HCFMUSP

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar e evidenciar diferenças histomorfométricas através do estudo de alterações de colágeno e elastina em pele retirada da região epigástrica em indivíduos obesos e ex-obesos

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há riscos envolvidos no que tange à coleta do material a ser avaliado

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Não apresenta questionamentos de natureza ética

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os autores pedem a modificação da finalidade acadêmica de trabalho de graduação para

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SÃO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Parecer - CAPPesq / Plataforma Brasil - 2 de 2

Continuação do Parecer: 785.589

Doutorado do Dr. Rodrigo Itocazo Rocha

Recomendações:

A pesquisa já havia sido aprovada anteriormente, tratando-se somente de mudança de finalidade acadêmica

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

aprovado e ciente

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

SAO PAULO, 10 de Setembro de 2014

Assinado por:
ALFREDO JOSE MANSUR
(Coordenador)

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Parecer da Comissão Ético-Científica do Departamento de Gastroenterologia
da FMUSP

São Paulo, 03 de agosto de 2012.

Ilmos. Srs.
Dr. Rolf Gemperli e Dr. Rodrigo Itcazo Rocha

Prezados Pesquisadores,

Atendendo à solicitação V.Sas., a Comissão Ético-Científica do Departamento de Gastroenterologia da FMUSP, em sua 174ª Reunião Ordinária de 02 de agosto de 2012, analisou o seu projeto de pesquisa, intitulado: AVALIAÇÃO HISTOMORFOMETRICA DA PELE DA REGIÃO ABDOMINAL EM PACIENTES COM OBESIDADE MÓRBIDA ANTES E APÓS PERDA PONDERAL CONSEQUENTE A TRATAMENTO CIRÚRGICO. Co-autor: Enio Cesar Giacchetto Junior.

Parecer: Trata-se de estudo relevante e de interesse para a área. O consentimento livre e esclarecido está extenso e incluiu os dados (morbidade-mortalidade) de responsabilidade de cada um dos procedimentos cirúrgicos primários (gastroplastia e abdominoplastia) o que pode confundir o paciente. **Sugestão:** deixar mais claro a justificativa e os objetivos do estudo e incluir somente os dados relativos às biópsias e informar que estes procedimentos não acarretam complicações relevantes no contexto das cirurgias de grande porte. Trata-se de estudo colaborativo, de responsabilidade da disciplina de cirurgia plástica com a colaboração essencial da Unidade de Cirurgia Bariátrica e Metabólica da Disciplina de Cirurgia do Aparelho Digestivo (HC-FMUSP) e do Laboratório de Biologia celular do Depto de Patologia (FMUSP). Os pesquisadores devem incluir as equipes em questão como co-autoras. Sugestões metodológicas: Inclusão de um grupo "controle", ou seja, pacientes submetidos à abdominoplastia que não tenham sido submetidos à gastroplastia, já que a diferença no resultado a longo prazo entre estes 2 grupos é a argumentação para justificar o estudo. Seguimento horizontal dos pacientes submetidos à gastroplastia: com avaliação da evolução da condição da pele e coleta de nova biópsia em caso de eventual abdominoplastia. Assim o paciente será seu próprio controle evolutivo.

Situação: Aprovado com recomendações.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Claudio Jose Caldas Bresciani
Presidente da Comissão Ético-Científica do
Departamento de Gastroenterologia da FMUSP

Parecer do Laboratório de Biologia Celular (LIM 59) do HCFMUSP

FACULDADE DE MEDICINA
DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

São Paulo, 26 de julho de 2012.

A
CAPPEsq

Venho por meio desta declarar que os procedimentos relativos à Microscopia de Luz e Eletrônica referentes ao Projeto "Avaliação histomorfométrica da pele de pacientes antes e após perda ponderal consequente a tratamento cirúrgico da obesidade mórbida" serão todos realizados no Laboratório de Biologia Celular (LIM 59) do HC-FMUSP, sob minha responsabilidade.

Atenciosamente,

Profa. Dra. Elia Garcia Caldini

Chefe do Laboratório de Biologia Celular

9 REFERÊNCIAS

Abela C, Stevens T, Reddy M, Soldin M. A multidisciplinary approach to post-bariatric plastic surgery. *Int J Surg*. 2011; 9(1): 29-35.

Agha-Mohammadi S, Hurwitz DJ. Nutritional deficiency of post-bariatric body contouring patients: What every plastic surgeon should know. *Plast Reconstr Surg*. 2008a; 122(2): 604-13.

Agha-Mohammadi S, Hurwitz DJ. Potential Impacts of Nutritional Deficiency of Postbariatric Patients on Body Contouring Surgery. *Plast Reconstr Surg*. 2008b; 122(6): 1901-14.

Agha-Mohammadi S, Hurwitz DJ. Enhanced Recovery After Body-Contouring Surgery: Reducing Surgical Complication Rates by Optimizing Nutrition. *Aesth Plast Surg*. 2010; 34(5): 617-25.

Alberts B, Julian Lewis AJ, Raff M, Roberts K, Walter P. *Molecular Biology of the Cell*. 4th ed. New York: Garland Science; 2002.

Albino FP, Koltz PF, Gusenoff JA. A Comparative Analysis and Systematic Review of the Wound-Healing Milieu: Implications for Body Contouring after Massive Weight Loss. *Plast Reconst Surg*. 2009; 124(5): 1675-82.

Amenta PS, Gil J, Martinez-Hernandez A. Connective tissue of rat lung. II: ultrastructural localization of collagen types III, IV, and VI. *J Histochem Cytochem*. 1988; 36(9): 1167-1173.

American Society of Plastic Surgeons - ASPS.
<http://www.plasticsurgery.org/Documents/news-resources/statistics/2012-Plastic-Surgery-Statistics/body-contouring-after-massive-weight-loss.pdf>
(acesso em Agosto 2014).

Arribas SM, Hinek A, González MC. Elastic fibers and vascular structure in hypertension. *Pharmacology & Therapeutics*. 2006; 111: p. 771-91.

Aucott L, Poobalan A, Smith WCS, Avenell A, Jung R, Broom J. Effects of Weight Loss in Overweight/Obese Individuals and Long-Term Hypertension Outcomes. A Systematic Review. *Hypertension*. 2005; 45(6): 1035-41.

Birmingham CL, Muller JL, Palepu A, Spinelli JJ, Anis AH. The cost of obesity in Canada. *CMAJ*. 1999; 160(4): 483-8.

Black MM, Bottoms E, Shuster S. Skin collagen and thickness in simple obesity. *Br Med J*. 1971; 4(5780): 149-50.

Bologna JL, Braverman JM, Rousseaus ME, Sarrel PM. Skin changes in menopause. *Maturitas*. 1989; 11(4): 295-304.

Bouchard C, Tremblay A, Després JP, Nadeau A, Lupien PJ, Thériault G, et al. The response to long-term overfeeding in identical twins. *N Engl J Med*. 1990; 322(21): 1477-82.

Branchet MC, Boisnic S, Frances C, Lesty C, Robert L. Morphometric analysis of dermal collagen fibers in normal human skin as a function of age. *Arch Gerontol Geriatr*. 1991; 13(1): 1-14.

Braverman IM, Fonferko E. Studies in cutaneous aging: I. The elastic fiber network. *J Invest Dermatol*. 1982; 78(5): 434-43.

Brooke BS, Bayes-Genis A, Li DY. New insights into elastin and vascular disease. *Trends Cardiovasc Med*. 2003; 13(5): 176-81.

Brown J, Wimpenny P, Maughan H. Skin problems in people with obesity. *Nurs Stand*. 2004; 18(35): 38-42.

Buchwald H, Avidor Y, Braunwald E, Jensen MD, Pories W, Fahrbach K, Schoelles K. Bariatric Surgery. A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA*. 2004; 292(14): 1724-37.

Cawley J, Meyerhoefer C. The medical care costs of obesity: an instrumental variables approach. *J Health Econ*. 2012; 31(1): 219-30.

Chandawarkar RY. Body contouring following massive weight loss resulting from bariatric surgery. *Adv Psychosom Med*. 2006; 27: 61-72.

Chang SH, Stoll CRT, Song J, Varela JE, Eagon CJ, Colditz GA. The Effectiveness and Risks of Bariatric Surgery. An Updated Systematic Review and Meta-analysis, 2003-2012. *JAMA. Surg.* 2014; 149(3): 275-87.

Cintra Junior W, Modolin ML, Gemperli R, et al. Quality of life after abdominoplasty in women after bariatric surgery. *Obes Surg.* 2008; 18(6):728-32.

Cintra Junior W, Modolin M, Gobbi CIC, Gemperli R, Ferreira MC. Abdominoplastia circunferencial em pacientes após cirurgia bariátrica: avaliação da qualidade de vida pelo critério adaptativo. *Rev Bras Cir Plást.* 2009; 24(1): 52-6.

Cintra Junior W. *Abdominoplastia circunferencial simples e composta : evolução técnica, experiência de 10 anos e análise das complicações*. Tese [Livre Docência em Clínica Cirúrgica] - Faculdade de Medicina da USP; 2014.

Cintra Junior W, Modolin MLA, Rocha RI, Gemperli R. Augmentation mastopexy after bariatric surgery: evaluation of patient satisfaction and surgical results. *Rev Col Bras Cir.* 2016; 43(3): 160-4.

Constantine VS, Mowry RW. Selective staining of human dermal collagen. *J Invest Dermatol.* 1968; 50(5): 419-23.

Coon D, Gusenhoff JA, Kannan N, et al. Body mass and surgical complications in the postbariatric reconstructive patient: Analysis of 511 cases. *Ann Surg*. 2009;249(3): 397-401.

Cotta-Pereira G, Guerra Rodrigo F, Bittencourt-Sampaio S. Oxytalan, elaunin, and elastic fibers in the human skin. *J Invest Dermatol*. 1976; 66(3): 143-8.

Cotta-Pereira G, Del-Caro LM, Montes GS. Distribution of elastic system fibers in hyaline and fibrous cartilages of the rat. *Acta Anat (Basel)*. 1984; 119(2): 80-5.

Coughlin K, Bell RM, Bivins BA, Wrobel S, Griffin Jr WO. Preoperative and postoperative assessment of nutrient intakes in patients who have undergone gastric bypass surgery. *Arch Surg*. 1983; 118(7): 813-6.

Davison SP, Clemens MW. Safety first: Precautions for the massive weight loss patient. *Clin Plast Surg*. 2008; 35(1):173-83.

Dietz HC, Mecham RP. Mouse models of genetic diseases resulting from mutations in elastic fiber proteins. *Matrix Biology*. 2000; 19(6): 481-8.

Elder KA, Wolfe BM. Bariatric Surgery: A Review of Procedures and Outcomes. *Gastroenterology*. 2007 May; 132(6): 2253-71.

Flegal KM, Carroll MD, Kit BK, Ogden CL. Prevalence of obesity and trends in the distribution of body mass index among US adults, 1999-2010. *JAMA*. 2012; 307(5): 491-7.

Gil Y, DeVore A, Dawn A. Obesity and the skin: Skin physiology and skin manifestations of obesity. *J Am Acad Dermatol*. 2007; 56(6): 901-16.

Gloy VL, Briel M, Bhatt DL, Kashyap SR, et al. Bariatric surgery versus non-surgical treatment for obesity: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ*. 2013 Oct.; 347: 1-16.

Gómez AP, Memije ME, Tamayo MT, Carreón AAR. Skin disorders in overweight and obese patients and their relationship with insulin. *Actas Dermosifiliogr*. 2014; 105(2): 178-185.

Gurunluoglu R. Panniculectomy and Redundant Skin Surgery in Massive Weight Loss Patients. Current Guidelines and Recommendations for Medical Necessity Determination. *Ann Plast Surg*. 2008; 61(6): 654-7.

Gurunluoglu R. Insurance coverage criteria for panniculectomy and redundant skin surgery after bariatric surgery: Why and when to discuss. *Obes Surg*. 2009; 19(4): 517-20.

Howard CV, Reed MG. *Unbiased stereology. Three-dimensional measurement in microscopy*. 2nd ed. Abingdon, Oxon: Garland Science/Bios Scientific. 2005. p. 187-9.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. *Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003. Análise da Disponibilidade Domiciliar de Alimentos e do Estado Nutricional no Brasil*. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão.

Junqueira LC, Bignolas G, Brentani RR. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochem J*. 1979; 11(4): 447-55.

Junqueira LCU, Cossermelli W, Brentani R. Differential staining of collagens type I, II and III by Sirius Red and polarization microscopy. *Arch Histol Jpn*. 1978; 41(3): 267.

Junqueira LCU, Montes GS, Sanchez EM. The influence of tissue section thickness on the study of collagen by the Picrosirius-polarization method. *Histochemistry*. 1982; 74(1): 153-6.

Junqueira LCU, Montes GS. The use of the picrosirius-polarization method for the study of the biopathology of collagen. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1991; 86, supl III: 1-11.

Junqueira LCU, Carneiro J. *Histologia Básica - texto e atlas*. 12a edição. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2013.

Kaila B, Raman M. Obesity: A review of pathogenesis and management strategies. *Can J Gastroenterol*. 2008 Jan; 22(1): 61-8.

Kierszenbaum AL. *Histologia e Biologia Celular: uma introdução à patologia*. 2ª edição. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2008.

Lavker RM. Structural alterations in exposed and unexposed aged skin. *J Invest Dermatol*. 1979; 73(1): 59-66.

Lavker RM, Zheng P, Dong G. Aged skin: a study by light, transmission electron, and scanning electron microscopy. *J Invest Dermatol*. 1987; 88(3 Suppl.): 44s-51s.

Leahy PJ, Shorten SM, Lawrence T. Maximizing the Aesthetic Result in Panniculectomy after Massive Weight Loss. *Plast Reconstr Surg*. 2008; 122(4): 1214-24.

Li JF, Lai DD, Lin ZH, Jiang TY, Zhang AM, Dai JF. Comparison of the Long-term Results of Roux-en-Y Gastric Bypass and Sleeve Gastrectomy for Morbid Obesity: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized and Nonrandomized Trials. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*. 2014; 24(1): 1-11.

Light D, Arvanitis GM, Abramson D, Glasberg SB. Effect of Weight Loss after Bariatric Surgery on Skin and the Extracellular Matrix. *Plast Reconstr Surg*. 2010; 125(1): 343-51.

Lokwood T. Brachioplasty with superficial fascial system suspension. *Plast Reconstr Surg*. 1995; 96(4): 912-20.

Losina E, Walensky RP, Reichmann WM, Holt HL, Gerlovin H, Solomon DH, et al. Impact of obesity and knee osteoarthritis on morbidity and mortality in older Americans. *Ann Intern Med*. 2011; 154(4): 217-26.

Mahoney MG, Brennan D, Starcher B, Faryniarz J, Ramirez J, Parr L, et al. Extracellular matrix in cutaneous ageing: the effects of 0.1% copper-zinc malonate-containing cream on elastin biosynthesis. *Exp Dermatol*. 2009; 18(3): 205-11.

Manzoni APD, Weber MB. Skin changes after bariatric surgery. *An Bras Dermatol*. 2015; 90(2): 157-66.

Migliori FC, Robello G, Ravetti JL, Marinari GM. Histological alterations following bariatric surgery: Pilot study. *Obes Surg*. 2008; 18(10): 1305-7.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Vigitel Brasil 2010: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sócio-demográfica de*

fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2010.

Modolin M, Cintra W Jr, Gobbi CI, Ferreira MC. Circunferencial abdominoplasty for sequential treatment after morbid obesity. *Obes Surg.* 2003; 13(1): 95-100.

Modolin M, Cintra W Jr, Rocha RI, Faintuch J, Camargo CP, Gemperli R. Quality of life after postbariatric abdominoplasty in females: interest of age, current weight and weight loss. *J Obes Weight Loss Ther.* 2015; 5(4): 272. Doi:10.4172/2165-7904.1000272.

Montes GS. Structural biology of the fibres of the collagenous and elastic systems. *Cell Biol Int.* 1996; 20(1): 15-27.

National Institutes of Health conference. Gastrointestinal surgery for severe obesity. Consensus Development Conference Panel. *Ann Intern Med.* 1991;115: 956-61.

National Institutes of Health; 1998. NIH publication 98-4083. North American Association for the Study of Obesity (NAASO) and the National Heart. Clinical Guide-lines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults: *The Evidence Report.*

National Institutes of Health; 2000. NIH publication 00-4084. North American Association for the Study of Obesity and the National Heart, Lung, and Blood Institute. *The Practical Guide: Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults*.

Neter JE, Stam BE, Kok FJ, Grobbee DE, Geleijnse JM. Influence of Weight Reduction on Blood Pressure A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Hypertension*. 2003; 42(5): 878-84.

Noria SF, Grantcharov T. Biological effects of bariatric surgery on obesity-related comorbidities. *Can J Surg*. 2013 Feb; 56(1): 47-57.

Ogden CL, Carroll MD, Curtin LR, McDowell MA, Tabak CJ, Flegal KM. Prevalence of Overweight and Obesity in the United States. 1999-2004. *JAMA*. 2006; 295(13):1549-55.

Organização Mundial da Saúde. *Physical status: the use and interpretation of anthropometry*. Report of a WHO Expert Committee. WHO Technical Report Series 854. Geneva: World Health Organization, 1995.

Organização Mundial da Saúde; March 2011. *Obesity and overweight*. Fact Sheet No 311 - Updated August 2014. Disponível em: www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/print.html (acessado em 03 de Outubro de 2012).

Orpheu SC, Coltro PS, Scopel GP, Gomez DS, Rodrigues CJ, Modolin MLA, Faintuch J, et al. Collagen and elastic content of abdominal skin after surgical weight loss. *Obes Surg*. 2010; 20(4): 480-6.

Ortolan MCAB, Biondo-Simões MLP, Baroni ERV, Auersvald LA, Montemor Neto MR, Biondo-Simões R. Influence of aging on the skin quality of white-skinned women: the role of collagen, elastic material density, and vascularization. *Rev Bras Cir Plast*. 2013; 28(1): 41-8.

Ounjian M, Roy RR, Eldred E, Garfinkel A, Payne JR, Armstrong A, et. al. Physiological and developmental implications of motor unit anatomy. *J Neurobiol*. 1991; 22(5): 547-59.

Parry DAD, Craig AS. *Collagen fibrils during development and maturation and their contribution to the mechanical attributes of connective tissue*. In: Nomni ME. Collagen. Vol II. Boca-Raton. 1988; CRC Press, p. 1-23.

Pasquali-Ronchetti I, Baccarani-Contri M. Elastic fiber during development and aging. *Microsc Res Tech*. 1997; 38(4): 428-35.

Pérez-Tamayo R. *Degradation of collagen: pathology*. In: Weiss JB, Jayson MIV (editors). Collagen in health and disease. 1982. Churchill Livingstone. Edimburgh, p. 135-59.

Phelan S, Wing RR, L CM, Kim Y, Lewis CE. Prevalence and Predictors of Weight-Loss. Maintenance in a Biracial Cohort Results from the Coronary Artery Risk Development in Young Adults Study. *Am J Prev Med.* 2010; 39(6): 546-54.

Rasmussen MH, Jensen LT, Andersen T, Breum L, Hilsted J. Collagen metabolism in obesity: The effect of weight loss. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1995; 19(9): 659-63.

Reiffel AJ, Jimenez N, Burrell WA, Millet YH, Dent BL, Pomp A, Dakin GF, Spector JA. Body Contouring After Bariatric Surgery: How Much is Really Being Done? *Ann Plast Surg.* 2013; 70(3): 350-3.

Reynolds JJ, Meikle MC. The functional balance of metalloproteinases and inhibitors in tissue degradation: relevance to oral pathologies. *J R Coll Surg Edinb.* 1997; 42(3): 154-60.

Rich L, Whittaker P. Collagen and picrosirius red staining: A polarized light assessment of fibrillar hue and spatial distribution. *Braz J Morphol Sci.* 2005; 22(2): 97-104.

Rocha RI, Gemperli R, Modolin MLA, Cintra Junior W, Velhote MCP, Ferreira MC. Plastic surgery for readjustment of body contours of patients who underwent bariatric surgery during adolescence. *Rev Bras Cir Plást.* 2012; 27(4): 588-93.

Rosenquist T. Improved visualization of oxytalan fibers with resorcin fuchsin. *Basic Appl Histochem*. 1981; 25(2): 129-32.

Ross R, Bornstein P. The elastic fiber. I. The separation and partial characterization of its macromolecular components. *J Cell Biol*. 1969; 40(2): 366-81.

Sacks BC, Mattar SG. What Plastic Surgeons Should Know about Bariatric Surgery. *Semin Plast Surg*. 2006; 20(1): 9-14.

Shekelle PG, Morton SC, Maglione MA, Suttorp M, Tu W, Li Z, Maggard M, et al. *Pharmacological and Surgical Treatment of Obesity*. Evidence Report/Technology Assessment No. 103. (Prepared by the Southern California-RAND Evidence-Based Practice Center, Santa Monica, CA, under contract Number 290-02-0003.) AHRQ Publication No. 04-E028-2. Rockville, MD: Agency for Healthcare Research and Quality. July 2004.

Shermak MA. Body Contouring. *Plast Reconstr Surg*. 2012; 129(6): 963e-978e.

Sjöström L, Peltonen M, Jacobson P, Sjöström CD, Karason K, Wedel H, et al. Bariatric surgery and long-term cardiovascular events. *JAMA*. 2012; 307(1): 56-65.

Song AY, Jean RD, Hurwitz DJ, Fernstrom MH, Scott JA, Rubin JP. A Classification of Contour Deformities after Bariatric Weight Loss: The Pittsburgh Rating Scale. *Plast Reconstr Surg*. 2005; 116(5): 1535-44.

Sweat F, Puchtler H, Rosenthal SI. Sirius red F3BA as a stain for connective tissue. *Arch Pathol*. 1964 Jul; 78: 69-72.

Vastine VL, Morgan RF, Williams GS, et al. Wound complications of abdominoplasty in obese patients. *Ann Plast Surg*. 1999; 42(1): 34-9.

Veiga DF, Bussolaro RA, Kobayashi EY, Medeiros VP, Martins JRM, Garcia EB, et. al. Glycosaminoglycans of abdominal skin after massive weight loss in post-bariatric female patients. *Obes Surg*. 2011; 21(6): 774-82.

Verzar F. *Aging of the collagen fiber*. In: Hall DA. Review of connective tissue research. New York: Academic Press; 1964. Vol. 2, p. 243-300.

Wadden TA, Webb VL, Moran CH, Bailer BA. Lifestyle modification for obesity: new developments in diet, physical activity, and behavior therapy. *Circulation*. 2012; 125(9): 1157-70.

Warner JP, Stacey DH, Sillah NM, Gould JC, Garren MJ, Gutowski KA. National Bariatric Surgery and Massive Weight Loss Body Contouring Survey. *Plast Reconstr Surg*. 2009; 124(3): 926-33.

Whittaker P, Boughner DR, Kloner RA. Role of collagen in acute myocardial infarct expansion. *Circulation*. 1991; 84(5): 2123-34.

Wulf HC, Sandby-Moller J, Kobayashi T, Gniadecki R. Skin aging and natural photoprotection. *Micron*. 2004; 35(3): 185-91.

Xing L, Culbertson EJ, Wen Y, Robson MC, Franz MG. Impaired laparotomy wound healing in obese rats. *Obes Surg*. 2011; 21(12): 1937-46.

Young LR, Nestle M. The contribution of expanding portion sizes to the US obesity epidemic. *Am J Public Health*. 2002; 92(2): 246-9.

Young SC, Freiberg A. A Critical Look at Abdominal Lipectomy Following Morbid Obesity Surgery. *Aesth Plast Surg*. 1991; 15(1): 81-4.