JORGE HENRIQUE REINA NETO

Hiatoplastia com utilização de prótese de polipropileno revestida pelo grande omento: estudo experimental em coelhos

Tese apresentada a Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Clínica Cirúrgica

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Bueno Pereira

SÃO PAULO
2008

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Reina Neto, Jorge Henrique

Hiatoplastia com utilização de prótese de polipropileno revestida
pelo grande omento: estudo experimental em coelhos/Jorge Henrique
Reina Neto. -- São Paulo, 2008.

Tese (doutorado) -- Faculdade de Medicina da Universidade de São
Paulo. Departamento de Cirurgia.

Área de concentração: Clínica Cirúrgica.

Orientador: Paulo Roberto Bueno Pereira.

Descritores: 1. Hérnia hiatal/Cirurgia 2. Telas cirúrgicas 3.
Polipropilenos 4. Omento/cirurgia 5. Coelhos

USP/FM/SBD – 149/08

Dedicatória

*A meus pais (in memoriam)
Jorge Henrique Reina Filho e Ephigenia de Freitas Reina,
pela dedicação em tudo que sempre fizeram por mim.*

A um grande amigo e irmão Carlos Fernando Reina.

Dedicatória

*Aos motivos maiores da minha vida:
Sueli esposa amada e compreensiva,
apoio de todos os momentos e,*

*Jorge Henrique, Renata e Carolina
filhos queridos que abriram mão do nosso
convívio para que eu pudesse fazer
este trabalho.*

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Erasmo Magalhães Castro de Tolosa pelo exemplo de liderança e de vida, transmitido a nós desde o início da nossa carreira de cirurgião no Hospital do Servidor Público Estadual e por nos abrir as portas da sua Disciplina de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental para que fizessemos o nosso trabalho.
- Ao Prof. Dr. Alfredo Martins Paiva Filho pela forte amizade e pelo incentivo constante. Sua trajetória acadêmica foi nossa orientadora desde o início.
- Ao Prof. Dr. Paulo Roberto Bueno Pereira que sempre prestimoso não nos deixou abater, mesmo nas fases mais difíceis, acompanhando de perto a execução de toda a tese.
- Ao Prof. Dr. Il-Sei Watanabe Prof. Titular de Anatomia Humana do Departamento de Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas da USP que, com dedicação extrema, nos acompanhou à Faculdade de Medicina para realização dos atos cirúrgicos e colheita do material “in loco”, fazendo cortes especiais, padronizados, para os estudos microscópicos. Cientista dedicado nos estimulou, corrigiu enfim, foi nosso co-orientador na realização durante todo o estudo além do grande amigo que é.
- Ao Prof. Dr. Moacyr Novelli, pelos estudos morfométricos realizados no Laboratório de Investigação Dedicado a Odontologia (LIDO), sob sua responsabilidade na Faculdade de Odontologia da USP e pela transmissão de conhecimentos, experiência e amizade.
- Ao corpo Docente da Disciplina de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia-FMUSP, que agora encabeçado pelo Prof. Dr. Luiz Francisco Poli de Figueiredo, sempre nos aceitou de braços abertos, principalmente na figura do Prof. Dr. Roberto Souza Camargo, responsável pelo Laboratório de Investigação Médica, o Prof. Dr. Luiz Marcelo Cirino, o Prof. Dr. Paulo S. Goffi Júnior e o meu bom amigo Prof. Dr. José Pinhata Otoch que, sempre nos alertou sobre pontos importantes durante o transcorrer da realização do estudo.
- Aos colegas de plantão do Hospital Universitário da USP Drs. Antonio Escamilla Garcia e Marcos S. Mentem a quem, com certeza acabei em alguns momentos, sobrecarregando no serviço, pelo estímulo e compreensão.

- Meus agradecimentos aos Técnicos do Laboratório de Investigação Médica (LIM26) da Disciplina de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental Claudio Vidotti, Dulcinea Mariano, Ourisval Santana Santis, Vanda de Almeida Moraes, Marina Takeda Milani e em especial ao Elias Aparecido Marcelino, que pacientemente nos ajudou a cuidar de todos os animais usados no experimento fornecidos pela sua chefia, a amiga Junko Takano Osaka que programou a cronologia da experimentação.
- As secretárias de Pós-Grauação Fátima (in memoriam) e Eliane Gazetto pela dedicação, preocupação constante e interesse no nosso trabalho.
- Aos Técnicos de Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto de Ciências Biomédicas da USP-ICB Sebastião Aparecido Boleta, Marta Maria Silva Righetti e Sônia Regina Yokonito Almeida.
- Ao Prof. Gilberto Alvarenga de Paula, Prof. Titular do Instituto de Matemática e Estatística da USP pelo estudo inicial da amostra necessária e, pelo estudo estatístico final.
- A Maria Alice Rebello, Diretora Técnica do Serviço de Biblioteca e Documentação Científica (SBDC) e, à Roseli B. C. Mariam do SBDC do HU-USP, pelos levantamentos bibliográficos e orientação técnica da tese.
- Por último e por isso muito importante, pois iniciaram, e finalizaram o trabalho junto comigo minha gratidão aos amigos Julio Costa Gonzalez e Teresa Cristina dos Reis Gonzalez pela compreensão dos meus horários, pelos conselhos experientes e sem os quais não finalizaríamos essa tese.

ÍNDICE

RESUMO	1
1. INTRODUÇÃO	2
2. LITERATURA	11
3. Material e Método	17
3.1. O animal e a aprovação do estudo	17
3.2. Preparo do animal	17
3.3. Técnica Cirúrgica	18
3.4. Tempo de observação	24
3.5. Sacrifício dos Animais	25
3.6. Preparação de peças para a microscopia de luz	30
3.7. Preparação de peças para a microscopia eletrônica de varredura	30
3.8. Preparação de peças para análise ao microscópio eletrônico de transmissão	31
3.9. Estudo morfométrico	31
3.9.1. Captação da imagem	
3.9.2. Leitura das lâminas	32
4. RESULTADOS	34
4.1. Descrição e Análise dos Achados Cirúrgicos (Macroscópicos). 34	
4.1.1. Peso no Pré e Pós Operatório	35
4.1.2. Aspecto da Incisão	38
4.1.3. Esgarçamento da Sutura dos Braços do Músculo Pilar Medial	39
4.1.4. Lesões em Órgãos Vizinhos	39
4.1.5. Presença de Coleções	39
4.1.6. Formação de Aderências	40

4.2. Resultados microscópicos.....	41
4.2.1. Obtenção de peças estudo histológico	41
4.2.2. Observações Microscópicas	44
4.2.2.1. Microscopia de luz - Grupo 1	45
4.2.2.2. Microscopia de luz - Grupo 2 – Controle	64
4.2.3. Observações ao Microscópio Eletrônico	83
4.2.3.1. Microscopia Eletrônica de Transmissão – Grupo 1	83
4.2.3.2. Microscopia Eletrônica de Transmissão – Grupo 2	100
4.2.3.3. Microscopia Eletrônica de Varredura no Grupo 1	105
4.2.3.4. Microscopia Eletrônica de varredura no Grupo 2	110
4.3. Estudo morfométrico	117
5. DISCUSSÃO	122
6. CONCLUSÃO	130
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	131

R E S U M O

É polêmica a utilização de próteses de qualquer natureza no hiato esofágico. Para estudar esse assunto realizamos este trabalho científico. Foram operados 24 coelhos da raça Nova Zelândia, machos, durante o período médio de 32,08 dias, que foram divididos em 2 grupos. No grupo 1 utilizou-se tela de polipropileno fixada aos braços do pilar medial do diafragma, sem a aproximação destes, usando-se como método de barreira o Omento maior. No grupo 2 foi somente colocada a prótese fixada ao pilar diafragmático, obedecendo-se o princípio da livre tensão sem anteparo algum.

Estudos macroscópicos e microscópicos com vários métodos de coloração e com microscopia eletrônica de transmissão e varredura avaliaram a superfície de integração da tela de polipropileno ao tecido conjuntivo da região do hiato esofágico. Houve envolvimento total da tela de polipropileno por tecido conjuntivo nos dois grupos e o tecido adiposo permaneceu viável como método de barreira, durante o período estudado. Não houve esgarçamento da sutura da tela nem lesões em órgãos vizinhos. As aderências foram todas de grau II nos animais do grupo I (experimento) e mais firmes, grau III no grupo 2 (controle) segundo classificação de Shimanuki.

Concluimos que, no presente estudo a utilização da tela foi possível nos 2 grupos, com e sem omento. A presença do Omento maior envolvendo a tela não alterou os parâmetros estudados o que permite supor que a técnica proposta tem resolução biológica semelhante a da utilização de prótese sem barreira.

1. INTRODUÇÃO

A passagem dos alimentos do esôfago para o estômago deve ser livre. No entanto, quando isto não ocorre, é porque há falhas nas barreiras anatômicas e funcionais presentes, principalmente, na região da transição esofagogástrica. Admite-se que o esôfago deva ter sua parte distal dentro da cavidade abdominal assim como a câmara gástrica também deve estar ali contida. Esse fato fica evidente quando se analisam os elementos que, fazendo parte dessa região, dentro do abdome, impedem a migração desses órgãos para o tórax em condições habituais. São esses elementos, os nervos vagos anterior e posterior, o ângulo de Hiss, a membrana frenoesofágica, a foice da artéria gástrica esquerda junto à pequena curvatura do estômago, assim como os vasos breves na curvatura maior, o omento menor e principalmente os braços D e E do músculo pilar medial do diafragma que compõem o hiato diafragmático. São citados ainda a disposição circular da mucosa gástrica ao redor da cardia formando a denominada Roseta de Magendie ou prega de Gubaroff e a inserção, nesta região, externamente, da terceira camada muscular do estômago como que abraçando as duas camadas do esôfago e gerando uma

zona de maior pressão (gravata suíça ou de Helvécius). Por outro lado admite-se também que ocorram aspectos funcionais mais simples, que participam do mecanismo de remoção do refluxo do conteúdo do estômago para o esôfago, como o peristaltismo do órgão, a abundante e constante secreção salivar e o próprio efeito

da gravidade no indivíduo ereto. Há também mecanismos mais complexos, constituídos pela atividade fisiológica do esfíncter inferior do esôfago (EIE), que é uma região conhecida como barreira anti-refluxo, demonstrável através de estudos da pressão local pela manometria. Por meio da medida das pressões intra-luminare esofágicas é possível caracterizar um segmento de pressão elevada na transição esofagogástrica, com características funcionais de esfíncter. Com base em estudos manométricos, farmacológicos e radiológicos realizados em pacientes antes e depois da reparação cirúrgica da hérnia hiatal, Edwards, 1982, propõe a existência de um componente fisiológico e mecânico para a garantia do mecanismo anti-refluxo. Afirma que quando há aumento da pressão abdominal o diafragma sofre contração de modo a promover uma reação constritiva do hiato no sentido pósterio-anterior, garantindo a manutenção da pressão do EIE, após o mecanismo de remoção do refluxo. Tal fato corrobora a afirmação de que exista como fator de proteção uma barreira anti-refluxo representada pela atividade fisiológica do EIE, potencializada pelo diafragma crural, importante fator de incremento da pressão do EIE durante a inspiração (Mittal *et al.*, 1993). A Tabela 1 mostra os elementos que participam na fisiologia do refluxo gastroesofágico.

A importância dada ao EIE na contenção do RGE não deve ser portanto, restrita à análise do seu tônus pressórico. De Meester (1986) estudando em pacientes com DRGE outros parâmetros, como o comprimento total e do segmento abdominal do esfíncter, além do seu tônus pressórico, observou que, apesar da ocorrência de hipotonia isolada ser a alteração mais encontrada, a redução ou a ausência de esfíncter em nível abdominal, associada ou não a hipotonia, também foi freqüentemente observada. Existe uma tendência nos exames de manometria de valorizar-se além dos tônus pressórico, a simetria radial e o comprimento total chamado “Vetor Volume” do EIE a essa barreira anti-refluxo.

Tabela 1. Elementos participantes do mecanismo anti-refluxo.

1. Mecanismo de remoção do refluxo	- peristaltismo - gravidade - secreção salivar
2. Barreira anti-refluxo	- esfíncter interior do esôfago - diafragma crural (hiato esofageano) - membrana frenoesofágico
3. Resistência do próprio tecido	- pré epitelial - epitelial - pós epitelial

Quanto à resistência tecidual local, há trabalhos experimentais e clínicos (Orlando, 1994 e Bernstein *et al.*, 1958) que, com infusão contínua de ácidos, tentam reproduzir as lesões e a sintomatologia das esofagites. Essas investigações, por usarem o ácido clorídrico a 0,1 N, e por serem contínuas, não permitem que os mecanismos de proteção, caracterizadas pelo peristaltismo, secreção salivar e capacidade de remoção, possam ter tempo de agir, e tenham sua devida eficácia. A não constatação de efeitos lesivos nestas experiências leva a concepção da existência de outros mecanismos de defesa, inerentes ao próprio tecido e que o transformam em mais uma barreira contra o refluxo gastro-esofágico. Essa defesa ocorreria em três níveis distintos em relação ao epitélio do esôfago:

- 1 – barreira tecidual pré-epitelial
- 2 – barreira tecidual epitelial
- 3 – barreira tecidual pós-epitelial

A **barreira tecidual pré-epitelial** é representada por um material de alta viscosidade constituído por mucina, água, proteínas, bicarbonato, prostaglandina E₂ e fator de crescimento epidérmico (FCE) (Sarosiek *et al.*, 1993), que são substâncias segregadas pelas glândulas submucosas. As células do epitélio do esôfago são do tipo **escamoso estratificado**, incapazes de produzir muco, sendo sua produção limitada às glândulas submucosas localizadas próximas ao EIE. Neste local há células gástricas do tipo colunar, produtoras de muco, ficando essa região (transição esofagogástrica) protegida superficialmente por essa secreção. A resposta inflamatória proliferativa parece ser estimulada pela síntese de DNA das células esofágicas induzidas pelo fator de crescimento epidérmico, que é um polipeptídeo capaz de, através de propriedades mitogênicas, agir sobre a proliferação e diferenciação de tecidos epiteliais (Sarosiek *et al.*, 1993 e Goldstein *et al.*, 1990). Na DRGE a produção de FCE é intensa, de forma a atender não só funções de reparo do epitélio lesado como a prevenir danos à mucosa.

O segundo nível de defesa, ou seja, a **barreira tecidual do próprio epitélio**, tem dois aspectos: estrutural e funcional. A disposição das células do epitélio escamoso estratificado do esôfago confere a essa estrutura histológica características especiais de impermeabilidade aos íons H⁺ provenientes do refluxo gastroesofágico. Isto se deve principalmente às células mais superficiais do epitélio

escamoso (extrato córneo) serem ricas em lípídeos e as junções intercelulares (zona occludens) representarem importante componente estrutural de defesa contra a livre difusão de íons e substâncias de desequilíbrio da homeostase (Orlando, 1994). A entrada de íons H^+ nas células do epitélio esofágico ocasiona aumento do transporte de Na^+ e as alterações daí decorrentes provocam o acúmulo de íons Na^+ no interior da célula, acarretando distúrbio osmolar grave, alteração volumétrica da célula e posterior necrose. Por último a **barreira tecidual pós-epitelial**, que é mediada pela circulação tecidual local. Através do fluxo sanguíneo se consuma o aporte de nutrientes e oxigênio em nível celular, assim como a excreção de eletrólitos e catabólitos como o CO_2 e ácidos com ação deletéria sobre o epitélio local.

Portanto, de todos esses mecanismos, representados pelo mecanismo de remoção do refluxo, barreira antirefluxo e a resistência do próprio tecido, o que vem sendo melhor compreendido através de estudos fisiológicos, é o papel preponderante do EIE na contenção do RGE, associado aos movimentos do diafragma que, quando em sincronismo, permitem pressões adequadas na região da transição esofagogástrica, impedindo o refluxo o que então, nos despertou o interesse pela reconstrução do Hiato Esofágico mesmo em situações adversas.

Os processos patológicos que interferem na integridade destes três mecanismos expõem os doentes às conseqüências do refluxo gastroesofágico causando pirose e regurgitação (Acquarone, 1967). Entre esses processos patológicos que atingem a região do hiato esofágico, além dos funcionais já descritos, estão freqüentemente as hérnias que se formam através dessa abertura. Ganham capital importância pois, além de serem favorecedoras do RGE por alterações anatômicas locais, ainda apresentam outras complicações próprias como encarceramento, obstrução parcial ou total ao trânsito alimentar e fenômenos isquêmicos por compressão ou rotação organo-axial, sendo também responsáveis por quadros de dor torácica, arritmia e desconforto respiratório.

Estudos radiológicos demonstraram que 90% dos pacientes com DRGE concomitantemente apresentam hérnia hiatal e que, raramente, pacientes não portadores de hérnia do hiato exibem formas graves de esofagite (Ott *et al.*, 1994), sugerindo a participação direta desta patologia na gênese do RGE.

Por outro lado, os sintomas decorrentes de afecções tanto do esôfago e do estômago quanto do duodeno muitas vezes se manifestam de maneira inespecífica.

Queixas vagas de dores na região do epigástrio e retroesternal e, mesmo clássicas, como as que tem íntima relação com a alimentação, outrora foram atribuídas às lesões ulceradas gástricas ou duodenais e nem sempre houve encontro de substrato orgânico que as justificassem. Apesar de considerarmos como manifestações típicas da DRGE somente a pirose e a regurgitação, vale salientar que outros sintomas como dor torácica não coronariana, sensação de globus faríngeo, tosse e asma brônquica, além de disfonia e pigarro, na área otorrinolaringológica, também podem compor o quadro ou apresentar-se isoladamente, decorrente do refluxo patológico. Há ainda casos sem sintomas e que só vieram a ser considerados devido ao grande desenvolvimento no setor de diagnóstico, através não só da endoscopia digestiva e da radiologia mas principalmente através do monitoramento contínuo do esôfago demonstrando que durante 24 horas do dia indivíduos normais têm vários episódios de refluxo do conteúdo gástrico para o esôfago (Nasi *et al.*, 2001). À manometria esofágica, que bem estudou os aspectos funcionais, principalmente quanto ao peristaltismo do corpo do esôfago e à fisiologia do EIE, à pH metria, que quantificou e caracterizou o refluxo ácido, veio somar-se recentemente a impedanciometria intra-luminal, que é um método que possibilita o acompanhamento do movimento anterógrado, correspondente ao transporte das substâncias ingeridas, e do movimento retrógrado representado pelo refluxo do conteúdo intraluminal do esôfago propriamente dito. Associando-se a impedanciometria à phmetria (impedanciopHmetria esofágica), pode-se analisar o movimento retrógrado do material refluído, caracterizar sua natureza física, se líquido gasoso ou misto e química, se ácido, não ácido ou levemente ácido. Torquati *et al.* (2004), avaliaram treze pacientes em uso de inibidores de bomba de prótons em dose dupla (80 mg) para tratamento do RGE. Verificaram que sete tinham refluxo: 1 ácido e 6 levemente ácidos. Seis por serem não ácidos não foram diagnosticados pela pHmetria convencional. Dez foram submetidos a cirurgia e houve desaparecimento dos sintomas o que demonstra que o tratamento cirúrgico também atua sobre o refluxo não ácido. Portanto, desde a descrição de Wilkenstein (1935), que foi o primeiro a descrever a esofagite péptica, a patogenia da DRGE vem sofrendo modificações quanto à predominância ou validade dos fatores envolvidos na sua determinação e, adquirindo cada vez mais importância médico social, sendo considerada uma das afecções digestivas mais comuns no Ocidente (Moraes-Filho *et al.*, 2002). A

prevalência é estimada em 20% nos EUA e é similar na Europa (Sonnenberg *et al.*, 1999). No Brasil, estudo com 13.959 indivíduos mostrou que 4,6% das pessoas tinham pirose uma vez por semana e 7,3% duas ou mais (Moraes-Filho *et al.*, *op. cit.*) estimando-se a prevalência em nosso meio ao redor de 12% (Nasi *et al.*, 2006).

Somando-se a melhora no entendimento da doença e portanto um melhor diagnóstico, à grande evolução cirúrgica do final do século XX, principalmente no que tange às cirurgias minimamente invasivas, houve um grande aumento nas indicações do tratamento operatório da DRGE com ou sem Hérnia do Hiato visando, com a restituição da anatomia (Hiatoplastia) e com o aumento da pressão ao nível do EIE, (Gastropexias) a cura completa da doença. Todavia, acompanhando esse entusiasmo, advindo das primeiras cirurgias laparoscópicas executadas por Dallemagne *et al.* (1996) sobre a região do hiato diafragmático, começaram a surgir complicações não só do ato operatório como do resultado final das operações.

Entre estas complicações, além do índice de conversão (cirurgia iniciada por videolaparoscopia e convertida em cirurgia aberta, i.é., convencional por problemas técnicos) que é inversamente proporcional à experiência do cirurgião com o método, e que gira em torno de 14,2%, há a migração da fundoplicatura para o tórax no pós-operatório imediato ou tardio, com incidência descrita de 0,2 a 6% (Grenderath *et al.*, 2002 e Malafaia *et al.*, 2004). Outra ocorrência comum, chegando a 3% dos casos, é a disfagia persistente, às vezes necessitando de reintervenção cirúrgica. Felizmente a forma da disfagia mais comum é a transitória podendo no entanto acometer 39% dos casos operados (Cairschner *et al.*, 1963).

Nos pacientes com recidiva por falha do mecanismo antirefluxo, a migração da válvula para o tórax é a responsável em 15 a 20% dos casos (Richardson *et al.*, 1982); é considerada a causa morfológica mais comum de recorrência dos sintomas após fundoplicatura laparoscópica primária e ocorre principalmente por fechamento inadequado dos pilares diafragmáticos ou pelo rompimento pós-operatório do fechamento diafragmático (Grenderath *et al.*, 2002 e 2003 e Zilberstein *et al.*, 2005).

Essa participação da musculatura diafragmática da região do hiato torna-se importante pois tem função mecânica de contenção e fisiológica de auxílio à manutenção dos níveis pressóricos ao nível do EIE. Há que ser citado que é uma região que tem uma dinâmica própria como um fole, participando das incursões

respiratórias, em torno de 20 vezes por minuto e, por contigüidade dos 80 a 120 batimentos por minuto do coração.

Portanto a colocação de próteses nessa região, principalmente nas grandes aberturas do hiato diafragmático, pode diminuir a taxa de re-herniação (Frantizides *et al.*, 2002) mas está sujeita a alguns riscos. Os autores advogam o reparo da hérnia hiatal, livre de tensão, usando tela de politetrafluoretileno sem complicações locais e sem recidiva. É descrita a aposição da tela sobre a cruroplastia prévia realizada com pontos separados de algodão 2-0 em pacientes com defeitos herniários com 8 cm ou mais de abertura do hiato diafragmático. Alguns autores no entanto têm demonstrado erosão e estenose esofagianas com uso de tela de polipropileno (Edelman, 1955; Trus *et al.*, 1997). O uso de polipropileno tem sido associado com reparos seguros e com boa formação de fibrose porém com migração da tela, erosão de alças intestinais, fístulas digestivas e infecção da parede, além de provocar aderências a estruturas vizinhas, pois seu uso é mais comum e com ampla variedade de aplicações (Bauer & Salky, 1987).

A cirurgia das grandes aberturas do hiato diafragmático tem sido então alvo de diversos tipos de tentativas de correção com ou sem o uso de telas, a maioria sendo colocada como reforço sobre a cruroplastia realizada previamente. Para evitar a excessiva tensão é lógico que se tente colocar uma prótese entre os braços do músculo pilar diafragmático sem tensão. Porém, baseado em relatos de erosão, tanto gástrica como esofagianas em operações para obesidade (Curly *et al.*, 1987 e Subramanyan & Robbins, 1989) e também nas cirurgias anti-refluxo, como com o uso da prótese de silicone de Angelchik (Lilly *et al.*, 1984 e Benjamin *et al.*, 1984) e, no nosso, meio citado por Zilberstein *et al.* (2005), utilizando Dacron, vêm surgindo novas alternativas técnicas, como a de Huntington (1977). Esse autor aproxima os braços do músculo pilar diafragmático e faz uma incisão relaxadora 1,5 a 2 cm à direita do hiato, onde a seguir é colocada uma prótese de polipropileno fixada com pontos separados de algodão 2-0. Dessa maneira o braço direito do músculo fica interposto entre o esôfago e a prótese, ficando esta também afastada do pericárdio e da pleura mediastinal (Figs 1A, B e C).

Figuras 1A, B e C. Ilustração da técnica de Huntington para fechamento do hiato esofágiano.

Há portanto dados consistentes de que a colocação de telas, no hiato esofágiano, é seguro e previne a recidiva. Mas, por outro lado, está sujeita a vários tipos de complicações. Além disso não existe informação objetiva para saber qual é o melhor material disponível. A maioria dos autores recomenda o uso de material de textura suave e com resposta fibrótica menos intensa em comparação com o polipropileno, como o politetrafluoretileno (PTFE), porém não existem estudos comparativos entre ambos e tanto um como o outro apresentam complicações semelhantes (Targarana *et al.*, 2004). A experiência com outros tipos de material (composta, Bard, origem biológica como Surgisis®Cook) é escassa e com segmento curto. Baseado nestas afirmações resolvemos estudar a tela de polipropileno que, sendo mais rígida e provocando maior fibrose, seria melhor para tratar o hiato diafragmático, que é uma estrutura anatômica com dinâmica própria e com função ímpar na manutenção da higidez da transição esofogástrica. Por outro lado, observando métodos de revestimento de próteses usadas para proteção de vísceras abdominais, como carboximetil celulose associada ao hialuronato de sódio,

ou mesmo o fechamento do peritônio sobre a tela na correção das hérnias incisionais (Dinsmone *et al.*, 1999, 2000), resolvemos usar a omentoplastia como método de barreira. O omento vem sendo utilizado na prática cirúrgica desde o reconhecimento de sua função no século XIX. Em 1906, Morison afirmou: “não há dúvida de que o funcionamento do omento no abdome com considerável rapidez e eficiência se deve a uma série de informações vindas da vizinhança dos locais onde está ocorrendo um dano”. Esse autor verificou que o omento poderia ser usado para reforço em orifícios herniários nas herniorrafias e como protetor de anastomoses intestinais, prevenindo deiscência e infecção. Graças à sua capacidade de bloquear os processos inflamatórios intra-abdominais, devido à riqueza de suas células mesoteliais, de sua mobilidade e de sua propriedade absorviva, o omento ficou conhecido como o “guardião abdominal” (Morison, 1906).

Há estudos clínicos e experimentais que demonstram a capacidade do omento em estimular uma neovascularização, permitir uma nova drenagem linfática e potencializar o processo cicatricial, mesmo na presença de infecção (Adams *et al.*, 1992; Carter *et al.*, 1972; Amid *et al.*, 1994 e Greca *et al.*, 1998).

Todos esses fatores e controvérsias nos motivaram a estudar a viabilidade dos reparos com tela nas grandes aberturas do diafragma, usando prótese de polipropileno com proteção de omento maior.

O objetivo deste trabalho portanto é estudar de forma inédita os resultados cirúrgicos da utilização da tela nesses reparos quanto ao esgarçamento junto ao tecido muscular, lesões de órgãos vizinhos, presença de infecção e formação de aderências, após 4 semanas de pós-operatório com e sem barreira de omento. Quanto à cicatrização nos propusemos a analisar o comportamento e proliferação do tecido conjuntivo frente à presença de prótese de polipropileno com e sem proteção do omento, empregando os métodos de microscopia de luz e microscopia eletrônicas de varredura e transmissão visando o aspecto qualitativo. Quanto ao aspecto quantitativo usamos a análise morfométrica de cortes histológicos segmentares de imagem usando o microscópio Laboval IV com uma câmara digital Sony acoplada a um computador HP Pavilion através de Software denominado ImageLab 2000.

2. LITERATURA

As doenças que acometem o diafragma podem ser congênitas ou adquiridas, havendo nítida predominância destas últimas. Do ponto de vista cirúrgico, são representadas pelas hérnias diafragmáticas que consistem na passagem para o tórax de uma víscera abdominal, através de orifício normal do diafragma, ou por meio de aberturas anormais produzidas por traumatismos ou por defeitos do desenvolvimento embrionário (Acquarone, 1974).

Essas aberturas eram conhecidas desde a época de Hipócrates, porém coube a Ambroise Paré em 1579 a descrição da síndrome da hérnia diafragmática, observada em um oficial francês que faleceu por motivos obscuros, após um ferimento penetrante no tórax, do qual o mesmo parecia curado. A necrópsia mostrou uma abertura do diafragma à esquerda, através da qual havia penetrado no hemitórax esquerdo grande parte do intestino grosso (Kirschner *et al.*, 1963). Outras descrições se seguiram como de Hildanus (1608), Steheliuns (1724), Morgagni (1761), Cooper (1798), Lacher (1888) com 276 casos e Griffin (Acquarone, *op. cit.*), com revisão de 650 casos na literatura, a maioria relatando a ausência de sinais exteriores e a dificuldade no diagnóstico. Coube a Morgagni, 1761 a observação de que “em alguns casos o diafragma pode ser perfurado aparentemente por malformações e o estômago encontrado dentro da cavidade torácica, verificando-se a morte por circunstâncias que não conduzem a nenhuma suspeita de uma forma de hérnia” (Acquarone, *op. cit.*). Portanto para uma melhor sistematização podemos classificar as hérnias diafragmáticas da seguinte maneira (Fig. 2):

A) Hérnias diafragmáticas congênitas

- 1) Do forame de Bochdalek
- 2) Do forame de Morgagni
- 3) Da cúpula diafragmática

B) Hérnias diafragmáticas adquiridas:

- 1) Traumáticas
- 2) Não traumáticas
 - 2.a. Hérnias do hiato esofágico
 - 2.a.1. Esôfago curto
 - 2.a.2. Paraesofágica
 - 2.a.3. Por deslizamento,

Figura 2. Segundo S.W. Harrington (1955): a) Hernia Hiatal, b) Defeito congênito do diafragma, c) Hernia lombocostal (Bochdalek), d) Hernia de Larrey e Morgagni, e) Ruptura traumática e f) Perfuração inflamatória.

além das secundárias a processos inflamatórios como abscessos subfrênicos e empiemas pleurais que podem acabar levando à necrose do músculo e à transposição de vísceras para o tórax.

A Figura 3 mostra as diversas situações ou apresentações das hérnias diafragmáticas através de visão da face abdominal do diafragma.

Figura 3. Visão da porção inferior (abdominal do diafragma).

As hérnias diafragmáticas congênitas, raras no adulto, são conseqüentes à fusão incompleta dos componentes embrionários do diafragma, enquanto as adquiridas são constituídas por dois grupos: as traumáticas e as do hiato esofágiano. Estas, além de serem muito mais comuns, podem se manifestar de três formas: as hérnias de deslizamento, as paraesofagianas e as do chamado esôfago curto, sendo que o órgão transposto é constituído principalmente pelo estômago, mas não raramente também por outros elementos como o colon, quando a abertura do hiato esofágico é ampla. Essas hérnias têm sido objeto de estudos há muitos anos e inicialmente a cirurgia visava à correção dos componentes anatômicos, reduzindo o conteúdo herniário para o abdome, fixando o órgão transposto e corrigindo a abertura do hiato esofágico através do seu fechamento.

Essas descrições foram feitas inicialmente por via abdominal (Harrington, 1933), pela via torácica (Sweet, 1948 e Allison, 1951) ou ainda pela via combinada (Boyd, 1959), porém não foram suficientes para o controle das manifestações clínicas que se deviam na grande maioria das vezes ao RGE.

Visando à correção do RGE, foram idealizadas as gastropexias e as funduplicaturas, inicialmente propostas por Nissen (1937 e 1956), Hiebert & Belsey

(1961), Lortat-Jacob (1962), Toupet (1963), Lind *et al.* (1965) e Hill *et al.* (1966), com resultados animadores.

Tais cirurgias foram então associadas ao fechamento do hiato esofágico pela grande maioria dos cirurgiões como complemento ideal para o tratamento das hérnias do hiato. Esse fato porém não foi aceito unanimemente, sendo contestado por Nissen & Rossetti (1962), bem como por Shirazi *et al.* (1974) que propunham somente a funduplicatura, enquanto Madden (1977) não acreditava que houvesse cicatrização eficaz no local da sutura dos braços do músculo pilar medial do diafragma e portanto também não o recomendava.

Por outro lado, em nosso meio, Felix (1982) demonstrou que a aproximação dos braços musculares do pilar diafragmático medial com pontos separados de nylon, determinou a formação de cicatrização local e por medidas de resistência dessas estruturas sugeriu a eficácia da sutura.

O diagnóstico mais acurado, através do melhor entendimento da fisiopatologia do refluxo gastroesofágico, devido principalmente à dosagem de 24 horas do pH esofágico (pHmetria de 24 h), à manometria com estudo motor do órgão e à impedânciopHmetria, veio incrementar o número de doentes submetidos à intervenção cirúrgica. Além disso, o melhor suporte pós-operatório e o advento da correção não só das grandes hérnias hiatais como do RGE por videolaparoscopia realizado pela primeira vez por Dallemagne *et al.* (1991, 1996), fizeram com que a aceitação da terapêutica cirúrgica aumentasse. Como em toda técnica cirúrgica, entretanto complicações têm ocorrido, como a disfagia persistente, vista em 3% dos casos (DeMeester, 1992), e mesmo a disfagia temporária, que acontece em 39% dos casos (DeMeester, 1992).

Outras complicações, como persistência dos sintomas, distensão gasosa ("gasbloat") ou diarreia (Zilberstein *et al.*, 2005) também têm sido descritas, porém nada é mais temido que a migração da válvula para o tórax ("slipped Nissen fundoplication"), que é a mais comum complicação após cirurgia antirefluxo por via laparoscópica, ocorrendo em 0,2 a 6% dos casos (Granderath *et al.*, 2002) e que é devida ao inadequado fechamento da crura diafragmática ou ruptura da hiatoplastia (Granderath *et al.*, 2002; Zilberstein *et al.*, 2005 e Granderath *et al.*, 2003), deixando o órgão transposto sujeito a compressões e aderências a órgãos vizinhos, além de

estar sujeito a torções órgão-axiais, causando isquemias graves e eventual necrose.

Esses fatores associados à morfologia do hiato esofágico, podem favorecer ou dificultar tanto o isolamento do esôfago distal quanto a hiatoplastia, e então permitir ou não a abordagem técnica adequada.

Assim, pessoas acima da sexta década de vida, notadamente os obesos, têm freqüentemente uma musculatura do hiato menos consistente e mais frágil, o que nos obriga a uma dissecação mais cuidadosa, bem como maior delicadeza na aplicação dos pontos na hiatoplastia. Também em pessoas com cifoescoliose o hiato se deforma e a musculatura, já debilitada e com os braços do pilar diafragmático afastados, torna a hiatoplastia bastante difícil e por vezes passível de esgarçamento ao serem dados os pontos (Rocha *et al.*, 2003).

O alto índice de recidiva das hiatoplastias por via convencional ou laparoscópica, as complicações, como transposições às vezes fatais de vários órgãos através do hiato, em especial a migração freqüente da válvula para o tórax ou ainda o surgimento de novos sintomas como disfagia, distensão gasosa ou diarreia (Zilberstein *et al.*, 2005), não contando os acidentes operatórios como a abertura acidental da pleura, pericárdio ou mesmo esgarçamento da veia cava, provocando sangramentos abundantes, nos fizeram procurar soluções que contemplassem a correção anatômica, colaborassem com os mecanismos anti-refluxo, impedissem a migração de órgãos abdominais acima do diafragma e não provocassem danos aos órgãos circunvizinhos como a pleura, o pericárdio, os grandes vasos e mesmo o esôfago e o estômago. Este é o grande objetivo deste trabalho.

Revedo a técnica cirúrgica de correção de grandes falhas do hiato, proposta por Raia *et al.* (1974), que utilizava um implante de dura-máter de 6 a 8 cm, em forma de “V”, aposto sobre a hiatoplastia realizada com pontos separados de seda nº 2, principalmente nos casos em que existia fragilidade da arquitetura muscular, e associando as idéias propostas por Liechtenstein sobre as correções “livres de tensão” de hérnias inguinais, com o uso de próteses de polipropileno (Liechtenstein *et al.*, 1966, 1986 e 1989) é que iniciamos então o nosso trabalho objetivando reconstruir o hiato esofágico com esse material sintético.

A descrição de erosões, migração da tela para a luz do esôfago e da câmara gástrica, além de formação intensa de aderências, vêm sendo relatadas em cirurgias de obesidade mórbida (Curley *et al.*, 1987 e Subramangan *et al.*, 1989) em que se usam banda gástrica ou anéis de contenção e, em telas colocadas junto ao esôfago como os anéis de Angelchik (Subramangan *et al.*, 1989 e Lilly *et al.*, 1984), ou outros reforços como Dacron, citadas por Zilberstein *et al.*, (2005) em 01 de 07 casos e após seguimento de 18 meses. Em trabalho de revisão, Dally & Folk (2004) mostraram 11 casos de migração da tela em 1175 pacientes operados com Teflon® para reforço de funduplicatura.

O omento é desde o antigo Egito citado por seus sacerdotes como indicador de maus presságios, quando notavam suas variações durante o embalsamamento. Foi Morison (1906) que adotou o termo de “policeman” para o omento, notando a sua proximidade e aderência aos processos inflamatórios.

Nas hiatoplastias ao associar o uso de tela de polipropileno revestida por omento maior obedecemos aos princípios da livre tensão, justapondo a prótese a uma proteção que, rapidamente recoberta por colágeno, seria inócua aos órgãos vizinhos, podendo acomodar os órgãos em suas cavidades naturais sem lesá-los, sem esgarçamento das suturas, sem efeitos deletérios para a dinâmica respiratória, inclusive ampliando o tamanho do músculo pilar medial, muitas vezes friável e fibrótico, permitindo a manutenção do esôfago intra abdominal mesmo no esôfago curto, mantendo assim a válvula anti-refluxo abaixo do diafragma e evitando o deslizamento da mesma para o tórax.

3. Material e Método

3.1. O animal e a aprovação do estudo

Foram utilizados 24 coelhos albinos da linhagem Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*), machos com peso mínimo de 2,300 g e no máximo de 3,700 g, todos com características normais cedidos pela Disciplina de Técnica Cirúrgica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FMUSP, sendo o trabalho realizado através do LIM26 (Laboratório de Investigação Médica) dessa mesma Disciplina. A razão da utilização desses animais prendeu-se ao fato de que a região do hiato diafragmático apresenta-se bem definida, a semelhança dos seres humanos, motivo pelo qual tem sido utilizados para estudos experimentais dessa localização anatômica.

Divididos em 2 Grupos de 12, os animais foram submetidos a Hiatoplastia Diafragmática com utilização de tela de polipropileno revestida de omento maior no 1º Grupo (Grupo Experimental) e Hiatoplastia só com tela de polipropileno no 2º Grupo (Grupo Controle), fixadas com pontos separados de fios de prolene 4-0, de cor azul.

Os procedimentos cirúrgicos obedeceram aos critérios, normas técnicas e direitos internacionais de pesquisas em animais do Comitê de Ética do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

O estudo teve início em 01 de abril de 2004 (Projeto 113/031), foi renovado em 31 de dezembro de 2005 e foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisas - CAPpesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo em Sessão de 08 de fevereiro de 2006 sob o nº 1214/05, apresentado pelo Departamento de Cirurgia.

3.2. Preparo do animal

O coelho por ter o tempo de esvaziamento gástrico longo chegando a até 5 dias não foi submetido ao jejum. Alimentou-se normalmente com fornecimento principalmente de água até momentos antes da cirurgia. Limitou-se o stress pré-operatório com aplicação de cloridrato de 2,6 xilídico – 5,6 dihidro 44 – 1,3 tiatina,

(Rompum 2% Bayer) na dose de 5 mg/kg de peso corpóreo ou Coopazine 2% (coopers) que corresponde a xilazina. A xilazina é um potente hipnótico, não narcótico, tranqüilizante, agonista – adrenérgico, de ação central com propriedades analgésicas e de relaxamento muscular, por inibir os impulsos de transmissão intraneural. Porém não é indicada para ser utilizada isoladamente como agente anestésico no coelho, por promover hipotensão arterial importante e arritmias cardíacas (Schanaider & Silva, 2004 e Fonseca *et al.*, 1996).

A seguir, então, os coelhos foram anestesiados com pentobarbital sódico (Nembutal – Abbott do Brasil) na dose de 0,3 mg/kg de peso corpóreo, administrado por via endovenosa, em dose única através de vaso puncionado no pavilhão auricular. Às vezes foi necessária a complementação, no decorrer do ato cirúrgico, de uma dose de 1 mg/kg de peso de Ketamina (Ketalar Cristalia). Essa associação xilazina e ketamina via intramuscular foi muito bem tolerada pelo animal proporcionando cerca de 40 a 60 minutos de anestesia com respiração espontânea e com despertar suave (Fonseca *et al.*, 1996).

3.3. Técnica Cirúrgica

A seguir foram fixados à mesa cirúrgica (Figs. 4A e 4B), submetidos à tricotomia, assepsia e antissepsia com polivinil pirrolidona, iodo e a colocação de campos cirúrgicos fenestrados (Figs. 4C e 4D).

A seguir todos foram submetidos a laparotomia mediana xifo-umbilical (Fig. 4E), aproximação dos campos as margens da ferida operatória e colocação de um afastador de Balfour (Fig. 4F) que permitiu um rápido inventário da cavidade. Após colocado o afastador, deslocou-se o lobo esquerdo do fígado para cima e para a direita, realizou uma leve tração do estômago para baixo, expondo-se o esôfago recoberto pela membrana freno esofágica.

Figura 4A. Coelho fixado à mesa cirúrgica após a anestesia geral.

Figura 4B. Tricotomia pré operatória realizada com o animal anestesiado.

Figura 4C. Antissepsia com polivinil pirrolidona.

Figura 4D. Colocação de campos estéreis.

Figura 4E. Incisão mediana realizada por planos, sem campo fenestrado, para avaliação do tamanho da incisão em relação ao tamanho do animal nesta Figura.

Figura 4F. Colocação do afastador após abertura da cavidade abdominal e presença da tela antes de recortada do tamanho do Hiato Diafragmático (Forma de triângulo com ápice voltado para baixo).

Após abertura da mesma, isolamos o esôfago, visualizamos o hiato esofágico e identificamos os braços direito e esquerdo do músculo pilar medial do diafragma, dissecando-os em toda sua extensão. Fixamos então aos braços do músculo pilar medial, sem aproximá-los, uma tela de polipropileno cortada com o formato de um triângulo de ápice voltado para baixo e com a base voltada para o esôfago, estreitando a sua passagem. Essa fixação foi feita ora com sutura contínua tela de polipropileno-músculo e ora com pontos separados do mesmo polipropileno 4-0 só que de cor azul para diferenciarmos da tela, permanecendo então essa musculatura sem tensão alguma e com o hiato parcialmente obliterado (Fig. 5).

Figura 5. Tela fixada ao Hiato Diafragmático.

No Grupo 2 (Grupo Controle) era essa a operação principal. No Grupo 1 escolheu-se uma porção de omento maior que foi fixado envolvendo a tela e,

promovendo a formação de um coxim que tem função de barreira impedindo o contato direto dos órgãos circunvizinhos com o material sintético (polipropileno) (Fig. 6). Esse passo cirúrgico se fez promovendo um pequeno pertuíto junto ao ápice do triângulo, passando um pequeno Mixter ou uma pinça de Halsted (mosquito) e transpassando o feixe de omento maior que, vindo por trás do estômago foi introduzido no mediastino entre o esôfago e a tela fixada aos braços do músculo pilar medial do diafragma (Fig. 7) com fios de prolene 4-0.

Terminado o ato cirúrgico principal, nos 2 grupos fechou-se a cavidade abdominal com sutura contínua músculo aponeurótica de polipropileno 4.0 e da pele da mesma maneira.

O período pós-operatório:

Todos os coelhos receberam ração apropriada e líquidos com freqüência, sendo mantidos em gaiolas apropriadas no Laboratório da Disciplina de Técnica Cirúrgica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - FMUSP, seguindo normas recomendadas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal até o dia do sacrifício.

Figura 6. Tela fixada e parte do Omento sendo escolhido antes de ser fixado à tela.

Figura 7. Tela fixada ao Hiato e recoberta por Omento como método de Barreira.

3.4. Tempo de observação

O projeto, apresentado à Disciplina de Técnica Cirúrgica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - FMUSP, teve início em 04/04/04 e término em 26/12/05, sendo liberados 2 animais por semana, para cirurgia, geralmente realizadas às sextas-feiras e a partir do tempo de pós-operatório estipulado como mínimo de 04 semanas, realizados os sacrifícios às segundas-feiras perfazendo na maioria das vezes o tempo de pós-operatório de 31 dias. Foi com 28 dias o menor tempo de pós-operatório antes do sacrifício e o maior de 42 dias sendo a média de 32,08 dias.

3.5. Sacrifício dos Animais

Os animais foram submetidos à re-operação obedecendo os mesmos princípios da primeira cirurgia, com sedação prévia e anestesia, conforme descrito anteriormente. Foram fixados à mesa feita nova tricotomia, assepsia e antissepsia (Fig. 8).

Figura 8. Preparo do sacrifício idêntico ao da cirurgia do experimento.

A incisão porém foi maior abrangendo o tórax e o abdome abaixo da cicatriz umbilical (Fig. 9). Nesse instante era feito o sacrifício dos animais com dose única de 1,8 mg de Pentobarbital Sódico (Nembutal-Abbott do Brasil) via endovenosa.

Com a visão ampla do tórax e abdome abertos (Figs. 10 e 11) iniciou-se a retirada da peça para estudo, interessando o diafragma (Fig. 12), que foi seccionado radialmente até suas bordas laterais e, respeitando a sua porção central, onde se encontrava a tela fixada ao Hiato Diafragmático. Para estudo e posterior dissecação em mesa auxiliar retiramos também o esôfago torácico, o fígado e o estômago (Figs. 13 e 14), em monobloco com o diafragma, ligando os grandes vasos que atravessam esse músculo.

Durante o exame da cavidade abdominal no animal do grupo experimento, notou-se presença de aderências frouxas conforme Figura 15. Por outro lado no grupo só com tela de propileno fixada no pilar encontramos aderências firmes (Fig. 16).

Figura 9. Nota-se uma incisão ampla tóraco abdominal .

Figura 10. Exposição ampla do abdome e tórax

Figura 11. Secção radial do diafragma sem manipulação do Hiato que após retirada da peça foi dissecado em mesa auxiliar.

Figura 12. Visão ampla do diafragma. Início da retirada da peça em monobloco.
(Diafragma radialmente, esôfago torácico e abdominal junto com o estômago e o fígado).

Figura 13. Secção Radial do Diafragma.

Figura 14. Retirada em monobloco com dissecação radiada do diafragma e interessando o fígado, esôfago torácico e abdominal e o estômago. Nesta foto aparece o omento levado por trás do estômago.

Figura 15. Deslocamento fácil do bloqueio produzido pela fixação do omento maior envolvendo a tela de polipropileno (Grupo Experimento I – tela envolta pelo Omento maior).

Figura 16. Aderência firme da tela polipropileno fixada no músculo pilar medial do diafragma por trás do esôfago. A tração provocou esgarçamento do fígado (Grupo Controle II – somente tela fixada ao pilar medial).

3.6. Preparação de peças para a microscopia de luz

As peças foram fixadas em solução de Bouin e/ou solução de formalina a 10% por 24 horas e lavadas por 12 horas em água corrente. Foram desidratadas em série crescente de álcoois a partir de 60% até o absoluto, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina rotineiramente. Os cortes foram realizados em micrótomo Young obtendo cortes de 6 micrometros de espessura.

Os cortes foram corados com os métodos de Hematoxilina-Eosina, Azo-Carmim, para evidenciação das estruturas. Foi utilizado o método de Picro-sirius segundo a metodologia empregada por Junqueira et al. (1979) para a evidenciação e classificação das fibras colágenas em tipos I com a coloração vermelho alaranjada e tipo III, esverdeada.

As lâminas foram observadas em microscópio de luz e fotomicroscópio Zeiss no Laboratório de Microscopia Eletrônica do Departamento de Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

3.7. Preparação de peças para a microscopia eletrônica de varredura

Foram utilizadas peças fixadas por imersão em solução de Karnovsky modificada, contendo 2,5% de glutaraldeído e 2% de paraformaldeído em solução tampão de fosfato de sódio a 0,1 M e pH 7,3 (Watanabe et al., 1983). As peças foram fixadas nessa solução durante 24 horas à temperatura de 4°C. Em seguida realizou-se a lavagem em água destilada. As peças foram fraturadas mediante a congelação em nitrogênio líquido e pós-fixadas em solução aquosa de tetróxido de ósmio a 1 % durante 2 horas, à temperatura de 4°C. Após nova lavagem em água destilada durante 5 horas procedeu-se a imersão em solução aquosa de ácido tânico a 1 % durante 1 hora (Murakami, 1974) e realizou-se a lavagem em água destilada durante 3 horas. A desidratação das amostras foi feita em série crescente de álcoois, desde 70° até o absoluto. As peças foram secas em aparelho de ponto crítico Balzers, CPD-030 com a utilização de CO₂ líquido. Estas foram montadas em bases metálicas e cobertas com íons de ouro em aparelho "bns Sputter", Balzers SCD-040 e examinadas e fotografadas com o filme Neopan-SS, asa 120, ao

microscópio eletrônico de varredura JEOL, JMS - 6100 do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

3.8. Preparação de peças para análise ao microscópio eletrônico de transmissão

Foram utilizadas peças fixadas em solução de Karnovsky modificada contendo 2,5% de glutaraldeído, 2% de paraformaldeído em solução tampão fosfato de sódio a 0,1 M (pH 7,4) durante 12 horas a 4°C (Watanabe et al., 1983). A seguir foram lavadas em solução tampão fosfato de sódio e pós-fixadas em solução de tetróxido de ósmio a 1 % durante 2 horas a 4°C.

As peças foram desidratadas em série crescente de etanol de 60% até o absoluto. Em seguida foi feita a imersão em solução de óxido de propileno por 30 minutos por duas vezes consecutivas e em uma mistura na proporção de 1:1 de óxido de propileno e resina Spurr, durante 12 horas à temperatura ambiente.

As peças foram embebidas em resina Spurr por 1 hora a 37°C, em seguida colocadas em moldes de silicone e polimerizadas em estufa a 60°C durante 36 horas. Os blocos foram trimados sob lupa estereoscópica e os cortes espessos de 0,4 a 1 micrometro foram obtidos com a faca de vidro, em ultramicrotomo Reichert Ultra Cut, e corados com solução de azul de toluidina. Os cortes foram lavados em água destilada e observados ao microscópio de luz. As estruturas de interesse ao estudo foram localizadas e os cortes ultrafinos foram obtidos com a faca de diamante, no mesmo ultramicrotomo com espessura aproximada de 90 nm. Estes foram coletados em telas de 200 "mesh" cobertas por uma película de "Formvar" e contrastadas com a solução alcólica de acetato de uranila a 4% (Watson, 1958) e 0,4% de citrato de chumbo (Reynolds, 1963). As telas foram analisadas ao microscópio de transmissão Jeol, JEM-1010.

3.9. Estudo morfométrico

O estudo histopatológico quantitativo das lâminas coradas em H.E., Picrosirius e Azo Carmin foi processado usando um método de análise de imagem auxiliado por computador (Novelli, 1992 e 2002) no intuito de averiguar a distribuição

do colágeno neoformado junto aos fios da tela de polipropileno. Foi usado o microscópio Laboval IV com uma câmara Sony digital acoplados a um computador (HP Pavilion, através de um programa denominado ImageLab 2000, desenvolvido no Laboratório de Informática dedicado à Odontologia (LIDO).

3.9.1. Captação da imagem

As lâminas levadas a estudo morfométrico foram obtidas de oito animais (quatro do grupo 1 e quatro do grupo 2) na tentativa de quantificar o colágeno gerado durante o período estudado, ao redor das telas de polipropileno com e sem a presença do omento.

A imagem observada na lâmina à microscopia de luz foi transmitida a tela do computador que, através de um software que promove a subtração de outras estruturas, deixa evidente só a área escolhida e portanto, passível de quantificação conforme a cor (Sistema RGB i.e. vermelho, verde e azul).

3.9.2. Leitura das lâminas

É gerado no monitor do computador uma tela, conforme figura abaixo onde se tem separadas as estruturas da imagem da lâmina escolhida nos espectros do

Tela do computador com as imagens da lâmina e o gráfico que é gerado.

vermelho, do verde e do azul num total de 276 tons para cada espectro. O quadro histológico superior, no centro da figura corresponde a lâmina a ser analisada e o

quadrado demarcado no meio, a área a ser submetida ao estudo morfométrico. Essa região foi escolhida padronizando-se sempre a mesma distância do fio em direção ao centro da lâmina. Para esse tipo de análise focamos no espectro verde para os tons de 80 a 190 (número do tom da cor). Fizemos uma outra medição de 100 a 190 em paralelo para comparação obtendo então duas medidas. Delimitou-se nesses intervalos (80 a 190 e 100 a 190) uma área em gráfico da distribuição que na Figura aparece em branco. O gráfico mostra a área central, em branco, correspondente a estrutura escolhida e, dessas outras áreas laterais, sendo a da esquerda a que representa os tons fortes podendo corresponder às estruturas sugestivas de serem o núcleo da células e outra área, a da direita, representando os tons fracos, podendo ser os espaços intersticiais, luzes de vasos e imagens negativas de gordura. Essas áreas são convertidas em percentuais e permitem quantificar as diferenças entre estruturas conforme a figura sendo que o branco corresponde a imagem subtraída apresentada em preto no quadro histológico inferior (correspondente ao percentual de colágeno).

4. RESULTADOS

4.1. Descrição e Análise dos Achados Cirúrgicos (Macroscópicos)

(Grupo Experimento 1)
Desenho 1 mostrando o Omento maior pediculado, envolvendo a tela de polipropileno fixada aos braços do músculo pilar medial do diafragma.

(Grupo Controle 2)
Desenho 2 mostrando o esôfago rebatido lateralmente e a tela fixada ao músculo pilar medial.

4.1.1. Peso no Pré e Pós Operatório

ANIMAL	PESO PRÉ	TEMPO DE PÓS-OPERATÓRIO	PESO NO DIA/SACRIFÍCIO	Δ ALTA
H ₁ Experimento	2.900 g	38 dias	2.200 g	-700 g
H ₂ Experimento	3.000 g	28 dias	3.800 g	+800 g
H ₃ Experimento	3.700 g	38 dias	2.700 g	-1.000 g
H ₄ Experimento	3.600 g	31 dias	3.300 g	-300g
H ₅ Experimento	3.400 g	31 dias	2.700 g	-700 g
H ₆ Experimento	3.500 g	31 dias	3.800 g	-300 g
H ₇ Experimento	2.400 g	31 dias	1.300 g	-900 g
H ₈ Experimento	2.800 g	31 dias	3.000 g	-200 g
H ₉ Experimento	2.600 g	31 dias	2.900 g	+300 g
H ₁₀ Experimento	2.900 g	31 dias	3.200 g	+300 g
H ₁₁ Experimento	2.200 g	31 dias	3.100 g	+900 g
H ₁₂ Experimento	2.300 g	31 dias	3.200 g	+900 g
3.200 g – 3.900 g $\Rightarrow \Delta = -700$ g Média de -58.3 g/coelho				
CH ₁ Controle	2.500 g	42 dias	2.500 g	0
CH ₂ Controle	2.900 g	28 dias	2.700 g	-200 g
CH ₃ Controle	3.500 g	38 dias	3.300 g	-200 g
CH ₄ Controle	2.900 g	31 dias	2.700 g	-200 g
CH ₅ Controle	3.000 g	31 dias	2.500 g	-500 g
CH ₆ Controle	2.600 g	31 dias	2.900 g	+300 g
CH ₇ Controle	2.400 g	31 dias	3.000 g	+600 g
CH ₈ Controle	2.400 g	31 dias	2.000 g	-400 g
CH ₉ Controle	2.500 g	31 dias	2.800 g	+300 g
CH ₁₀ Controle	2.700 g	31 dias	3.000 g	+300 g
CH ₁₁ Controle	2.900 g	31 dias	3.200 g	+300 g
CH ₁₂ Controle	2.800 g	31 dias	3.300 g	+500 h
2.300 g – 1.500 g $\Rightarrow \Delta = +800$ g (média de + 66,6 g/coelho)				
Obs.: •Experimento = Hiatoplastia com tela de polipropileno protegida pelo omento (grupo 1) •Controle = Hiatoplastia com tela de propileno sem proteção (grupo 2)				

Analisando esta variável houve uma média de perda de peso de 58,3 g por coelho no Grupo 1 (tela com proteção de Omento maior) e um ganho de 66,6 g em média no Grupo 2 (tela sem proteção), durante o período. Considerando que os coelhos ficaram todos, no biotério da FMUSP e receberam ração e água em condições idênticas e que também não foram detectados, clinicamente, fatores que os pudessem levar ao emagrecimento podemos inferir que os animais do Grupo 1 tiveram dificuldade em deglutir ou assimilar os alimentos.

No entanto submetendo esses valores adversos testes paramétricos e não paramétricos para avaliar se o ganho médio de peso foi significativo (diferente de 0)

em cada grupo, e se houve ganho médio de peso entre os dois grupos, nenhum deles se mostrou significativo do ponto de vista estatístico.

Peso no Pré Operatório

Grupo	Média	D. Padrão	E. Padrão	Mínimo	Máximo	Quartil 1	Mediana	Quartil 3
C	2758,3	314,7	90,8	2400	3500	2500	2750	2900
H	2942,0	516,0	149,0	2200	3700	2450	2900	3475

Peso no Pós Operatório

Grupo	Média	D. Padrão	E. Padrão	Mínimo	Máximo	Quartil 1	Mediana	Quartil 3
C	2825	379	109	2000	3300	2550	2850	3150
H	2933	683	197	1300	3800	2700	3050	3275

Aumento de Peso

Grupo	Média	D. Padrão	E. Padrão	Mínimo	Máximo	Quartil 1	Mediana	Quartil 3
C	66,70	363	105	-500	600	-200	150	300
H	-833	729	211	-1100	900	-700	250	675

Os animais do grupo C apresentaram no pré operatório peso médio de 2758,3g com desvio padrão de 314,7g, enquanto os animais do grupo H apresentaram peso médio de 2942g com desvio padrão de 516g. Essa variabilidade maior entre os animais do grupo H pode ser observada pelos Box-plots do Gráfico 1.

No pós-operatório o peso médio dos animais do grupo C foi de 2825g com desvio padrão de 379g, enquanto o peso médio dos animais do grupo H foi de 2933g com desvio padrão de 683g. Note pelo Gráfico 2 que a variabilidade entre os dois grupos diminuiu, embora no grupo C um animal teve um peso muito baixo com relação aos animais do mesmo grupo.

O aumento de peso dos animais do grupo C foi de 66,7g com desvio padrão de 363g, enquanto o aumento de peso dos animais do grupo H foi de -8,33g, com desvio padrão de 729. Essa variabilidade maior notada no ganho de peso dos animais do grupo H pode ser observada pelo Gráfico 3.

Foram aplicados diversos testes paramétricos e não paramétricos para avaliar se o ganho médio de peso foi significativo (diferente de zero) em cada grupo, e se houve diferença no ganho médio de peso entre os dois grupos. Nenhum dos testes detectou diferença significativa do ponto de vista estatístico. Isso quer dizer, que não se pode afirmar que houve ganho médio de peso em cada um dos grupos, bem como não se pode afirmar que existe diferença entre os ganhos médios de peso nos dois grupos.

4.1.2. Aspecto da Incisão

Todos os animais tiveram evolução satisfatória no que diz respeito à cicatrização da incisão cirúrgica. A pele foi fechada, assim como a aponeurose, com nylon 4-0, sutura contínua. Nenhuma complicação foi encontrada na reabertura da parede abdominal (Fig. 17).

Figura 17. Cicatriz cirúrgica após tricotomia antes do sacrifício.

4.1.3. Esgarçamento da Sutura dos Braços do Músculo Pilar Medial

Não houve em nenhum dos animais estudados, o esgarçamento da sutura da tela de polipropileno aos braços do músculo pilar medial do diafragma tanto no Grupo 1 (tela protegida com omento maior) quanto no Grupo 2 (tela sem proteção) portanto, a migração da tela para vísceras ôcas ou outros locais também não foi encontrada. A dissecação cuidadosa do hiato diafragmático levou a identificação dos fios azuis de polipropileno, da tela e do músculo unidos e envolvidos pela fibrose em todos os casos o que nos permite afirmar que não houve deiscência ou esgarçamento da sutura ao músculo (tela-músculo).

4.1.4. Lesões em Órgãos Vizinhos

As lesões ocorreram somente durante as dissecções pela firmeza das aderências encontradas junto ao fígado e ao esôfago portanto foram iatrogênicas.

Como a tela nos 2 Grupos permaneceu conforme a fixação inicial, não houve migração para órgãos vizinhos. Os órgãos que por contigüidade ficaram expostos a corrosão pela tela de polipropileno foram o esôfago, que intensamente pesquisado não mostrou lesão alguma, o fundo gástrico que também estava intacto em 100% dos casos e o fígado cujo lobo esquerdo formou aderência firme à região do hiato diafragmático no Grupo 2 mas, que só mostrou lesões pela dissecação na tentativa de isolamento dos 2 segmentos anatômicos (lobo E e hiato com tela).

4.1.5. Presença de Coleções

As coleções intracavitárias como hematomas, seromas, abscessos e outros sinais de infecção, além de fístulas também não fizeram parte dos achados cirúrgicos presentes neste material.

	Tela com Barreira	Tela sem Barreira
Hematomas	0	0
Seromas	0	0
Abscesso	0	0
Fistulas	0	0
Outros (secreção entérica, bile, etc.)	0	0

4.1.6. Formação de Aderências

Houve formação de aderências em 100% dos casos estudados. Essas ligações estabelecidas através de formação de fibrose diferiram quanto aos aspectos macroscópicos, tendo como parâmetros utilizados a classificação de Shimanuki (1987). Nos casos do Grupo 1 as aderências foram provocadas pela fixação do omento, tinham caráter frouxo, eram vascularizadas pois o omento maior foi levado ao hiato do diafragma, envolvendo a tela; com pedículo vascular para manter sua viabilidade. Em nenhum caso o omento maior apresentou sinais de isquemia. Já no Grupo 2 houve formação de aderências firmes que à simples dissecação a procura do local de fixação da tela havia lesões dos tecidos, esgarçamento e sangramento fácil.

ANIMAL	FORMAÇÃO DE ADERÊNCIAS	CLASSIFICAÇÃO DE SHIMANUKI
G1		
H ₁ Experimento	provocada	Grau II
H ₂ Experimento	provocada	Grau II
H ₃ Experimento	provocada	Grau II
H ₄ Experimento	provocada	Grau II
H ₅ Experimento	provocada	Grau II
H ₆ Experimento	provocada	Grau II
H ₇ Experimento	provocada	Grau II
H ₈ Experimento	provocada	Grau II
H ₉ Experimento	provocada	Grau II
H ₁₀ Experimento	provocada	Grau II
H ₁₁ Experimento	provocada	Grau II
H ₁₂ Experimento	provocada	Grau II
G2		
CH ₁ Controle	espontânea	Grau III
CH ₂ Controle	espontânea	Grau III
CH ₃ Controle	espontânea	Grau III
CH ₄ Controle	espontânea	Grau III
CH ₅ Controle	espontânea	Grau III
CH ₆ Controle	espontânea	Grau III
CH ₇ Controle	espontânea	Grau III
CH ₈ Controle	espontânea	Grau III
CH ₉ Controle	espontânea	Grau III
CH ₁₀ Controle	espontânea	Grau III
CH ₁₁ Controle	espontânea	Grau III
CH ₁₂ Controle	espontânea	Grau III
Escala de Shimanuki: Grau 0: Ausências de Aderências Grau I: Aderências Avasculares com facilidade de lise Grau II: Aderências Vascularizadas, com facilidade de lise, com discreto sangramento após a lise Grau III: Aderências Firmes.		

Resumo dos resultados macroscópicos

	Grupo 1	Grupo 2
Peso	Perda (-58,3 g/animal)	Ganho (+66,6 g/animal)
Aspecto incisão	Bom	Bom
Esgarçamento da sutura migração da tela	Não houve	Não houve
Lesões em órgãos vizinhos	Não houve	Não houve
Coleções	Não houve	Não houve
Aderências	Grau II (100%)	Grau III (100%)

Resumo de observações macroscópicas

	Grupo 1	Grupo 2
Peso	Perda (-58,3 g/animal)	Ganho (+66,6 g/animal)
Aspecto incisão	Bom	Bom
Esgarçamento da sutura migração da tela	Não houve	Não houve
Lesões em órgãos vizinhos	Não houve	Não houve
Coleções	Não houve	Não houve
Aderências	Grau II (100%)	Grau III (100%)

4.2. Resultados microscópicos

4.2.1. Obtenção de peças estudo histológico

Após a descrição dos achados cirúrgicos, sacrifício do animal e retirada da peça em monobloco, esta foi levada à uma mesa auxiliar, onde se fez a dissecação da transição esôfago gástrica e do músculo pilar medial do diafragma, à procura da tela aí fixada (Fig. 18).

Figura 18. Dissecação da pequena curvatura gástrica em direção ao hiato esofágico.

No Grupo 1 as aderências mais frouxas eram desfeitas digitalmente e a tela palpada, envolta pelo omento (Fig. 19). Por outro lado no grupo 2 (só tela suturada no diafragma) havia palpatoriamente, e pela fixação aos órgãos vizinhos, a sensação de formação de aderências mais firmes (Fig. 20). A seguir seccionávamos o esôfago 2 cm acima do diafragma, na região do hiato com a tela (igualmente nos Grupos 1 e 2) e 2 cm de esôfago abdominal (Fig. 21), seguida ainda da abertura longitudinal do esôfago na porção anterior, livre do contato com a tela, à procura de lesões ou migrações intraluminares da prótese.

Figura 19. Imagem correspondente de animal sacrificado do Grupo I onde a moldura hepática mostra aderências frouxas ao Omento.

Foram escolhidos cortes padronizados de esôfago torácico, transição esôfago gástrica, englobando o hiato com a tela (Grupo 2) e hiato com a tela + omento (Grupo 1), e o esôfago abdominal (Fig. 22).

Figura 20. Peça retirada de animal do Grupo II mostrando aderências firmes na pequena curvatura provocadas pela presença da tela de polipropileno.

Figura 21. Esôfago péreo demonstrado pelo Kelly transpassando a sua luz.

Figura 22. Mostra todo o bloco retirado: da direita para esquerda esôfago torácico, hiato com tela mais omento e mucosa íntegra perto da ranhura do Kelly.

Esses cortes padronizados foram imediatamente colocados, após limpeza com soro fisiológico a 0,9%, nas soluções de Bouin e em formol a 10% para que se procedesse a fixação, durante um período que variou de 06 a 24 horas.

Levados em temperatura constante, em caixa de isopor, ao Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo – ICB III, essas peças foram preparadas e submetidas aos seguintes métodos de análise microscópica.

4.2.2. Observações Microscópicas

Ao contrário das observações macroscópicas em que os achados cirúrgicos se constituíram no principal fato analisado, na microscopia houve uma subdivisão, sendo formados outros três sub grupos que foram submetidos a estudos qualitativos e quantitativos. Assim oito animais (quatro do grupo experimento e quatro do grupo controle submeteram-se a estudo com microscopia de luz e com luz polarizada preparadas por colorações com Azo Carmin e com picrosirius além da Hematoxilina-

Eosina e com aumentos variáveis. Outros oito animais (quatro do grupo I e quatro do grupo II) submeteram-se às observações com microscopia eletrônica de transmissão e de varredura com aumentos de até 80.000 vezes que puderam mostrar a distribuição das fibras colágenas e dos fibroblastos na sua intimidade, junto à tela identificando-se até fibras nervosas com e sem bainha de mielina.

Um terceiro subgrupo de oito coelhos com quatro de cada grupo (experimental e controle) foram submetidos a análise morfométrica qualitativa dos cortes histológicos utilizando-se método idealizado por Novelli (2000) através do microscópio Laboval IV com uma câmara Sony Digital acoplada a um computador HP Parilion através de Software denominado imagem Lot 2000.

Dessa maneira o estudo da reação local no hiato do diafragma à presença da tela de polipropileno (Surgipro Mesh® - U.S. Surg Corp. Norwalk. Connecticut, USA) baseou-se através de vários métodos a analisar a superfície de integração da mesma com o tecido conjuntivo aí formado tanto do grupo I (tela com barreira de Omento) quanto do grupo II (tela sem proteção) com a finalidade de propor a utilização do omento como método de barreira à controvertida utilização de telas no hiato esofageano.

4.2.2.1. Microscopia de luz - Grupo 1

Houve no período estudado um completo envolvimento da prótese por tecido conjuntivo neoformado assim como do fio azul de polipropileno 4-0 usado para a fixação à musculatura do hiato devido a evidente formação desse tecido envolvendo os fios (Figs. 23 e 24).

Figura 23. Grupo 1 - Fotomicrografia mostrando os cortes transversais, oblíquos e longitudinais dos fios de polipropileno e tecido conjuntivo neoformado. Coloração: Azo-Carmin. 25X

Figura 24. Grupo 1 Fotomicrografia evidenciando a formação de tecido conjuntivo ao redor do fio (seta). Coloração: Azo-Carmin. 25X

A disposição do tecido conjuntivo ao redor do fio mostra-se em forma de condensação de fibras colágenas como mostra as Figuras 25 e 26 . Nota-se que o

tecido adiposo representado pelo omento maior encontra-se nas áreas adjacentes a localização de tela de polipropileno, tecido conjuntivo neoformado e sem nenhuma reação tecidual local.

As Figuras 27 e 28 mostram a presença de tecido conjuntivo que proliferou envolvendo todos os espaços entre os fios da tela e numerosos fibroblastos. A disposição das células ao redor dos fios componentes da tela de polipropileno é identificada nas Figuras 28, 29, 30. A aderência de tecido conjuntivo à superfície do fio de polipropileno seccionado longitudinalmente é verificada na Figura 29.

O estudo da mucosa do esôfago e da musculatura própria não mostrou reação alguma, afastando reação tecidual local pela presença da prótese (Fig. 31).

As lâminas coradas pelo método de Picrosirius permitem confirmar a formação do tecido conjuntivo envolvendo a tela, assim como o fio de polipropileno. A coloração vermelho e alaranjada correspondeu ao colágeno do tipo I ou maduro que se apresentou preferencialmente envolvendo o polipropileno tanto do fio de sutura como da tela ao passo que a cor esverdeada correspondeu ao colágeno tipo III que pareceu completar esta malha ocupando os espaços adjacentes.

Figura 25. Grupo 1 Fotomicrografia mostrando uma extensa área de omento maior (*), tecido conjuntivo e numerosos fios de polipropileno seccionados transversalmente (setas). Coloração: Azo-Carmin. 25X

Figura 26. Grupo 1 Fotomicrografia mostrando numerosos fios de polipropileno seccionados transversalmente (setas), área de omento maior (*) e tecido conjuntivo neoformado. Coloração: Azo-Carmin. 25X

Figura 27. Grupo 1 Fotomicrografia revelando nitidamente a localização de tecido conjuntivo ao redor dos fios (seta) e espessos feixes de tecido conjuntivo (*). Coloração: Hematoxilina-eosina. 120X

Figura 28. Grupo 1 Fotomicrografia identificando em cortes transversais e longitudinal o tecido conjuntivo envolvendo os fios (setas) e acúmulo de fibroblastos. Coloração H-E. 120X

Figura 29. Grupo 1 Fotomicrografia mostrando um corte longitudinal do fio com adesão de tecido conjuntivo à superfície do fio (seta) e acúmulo de fibroblastos (*). Coloração H-E. 120X

Figura 30. Grupo 1 Fotomicrografia mostrando os cortes transversais do fio com adesão de tecido conjuntivo neoformado à superfície do fio (seta), fibroblastos e tecido adiposo (*). Coloração H-E. 120X

Fig. 31. Grupo 1 - Mostrando a camada epitelial e tecido conjuntivo subepitelial da mucosa do esôfago. Coloração H-E. 120X

Figura 32. Fotomicrografia mostrando os cortes transversais dos fios com adesão de tecido conjuntivo neoformado à superfície (seta) e fibroblastos. Coloração H-E. 120X

A Figura 32 corada com Azo-Carmin mostrou uma intensa proliferação do tecido conjuntivo ao redor dos fios seccionados em sua maioria transversalmente, aparecendo de maneira enfileirada. Cortes histológicos analisados com a utilização da luz polarizada revelaram a presença de colágeno do tipo I e III envolvendo a superfície dos fios de polipropileno (Figs. 33 e 34). Há nítida predominância do colágeno do tipo I ou maduro (vermelho alaranjado) ao redor dos fios sendo que o tom esverdeado do colágeno tipo III ou imaturo ocupa os espaços restantes sugerindo que a deposição do colágeno tenha se iniciado ao redor dos fios (Figs. 35, 36 e 37). As Figuras 37, 38 e 39 mostram o colágeno ao redor dos fios sendo que a primeira mostra o fio azul de polipropileno (da sutura).

Figura 33. Grupo 1 Fotomicrografia sob luz polarizada mostrando uma intensa proliferação de tecido conjuntivo envolvendo os fios (seta). Revelam colágenos tipo I e Tipo III. Coloração Picrosirius. 25X

Figura 34. Grupo 1 Fotomicrografia sob luz polarizada mostrando uma proliferação de tecido conjuntivo envolvendo o fio. Os colágenos tipo I e Tipo III são notados. Coloração Picrosirius. 120X

Figura 35. Grupo 1 Fotomicrografia sob luz polarizada mostrando uma intensa proliferação de tecido conjuntivo. Os fios (*) envoltos por lâminas de tecido conjuntivo são identificados contendo o colágeno tipo III. Coloração Picrosirius. 120X

Figura 36. Grupo 1 Fotomicrografia sob luz polarizada mostrando a proliferação de tecido conjuntivo identificado como colágeno tipo III. Coloração Picrosirius. 120X

As Figuras 37, 38 e 39 coradas em Picrosirius e examinadas sob luz polarizada revelam o tecido conjuntivo intensamente corado em vermelho e os septos separando as células adiposas (integração do tecido adiposo ao colágeno neoformado englobando a tela e com a permanência de adipócitos intactos). Porém à luz polarizada (Fig. 37) nota-se claramente os séptos conjuntivos formados pelos feixes de colágenos penetrando entre os adipócitos (colágeno tipo III entremeados pelo tipo I). Essa situação sugere que o colágeno inicialmente se disponha ao redor dos fios da tela de polipropileno na sua forma madura (colágeno I), envolva toda a prótese com predominância do colágeno III ou imaturo e penetre entre os adipócitos do omento maior usado como barreira em menor quantidade e na forma imatura o que nos permite inferir que este elemento (o omento maior ou tecido barreira formado por gordura) seja o último elemento na formação do tecido fibroso. Uma outra região de tecido adiposo mostra uma concentração grande de células de diferentes diâmetros. São células adiposas pertencentes ao omento maior. Os septos conjuntivos aparecem em vermelho revelando colágeno tipo III (Figs. 40 e 41).

Figura 37. Grupo 1 Fotomicrografia sob luz polarizada mostrando os cortes de fios (*) envoltos de tecido colágeno tipo III. Coloração Picrosirius. 120X

Figura 38. Grupo 1 Fotomicrografia sob luz polarizada mostrando os cortes de fios de propileno. Coloração Picrosirius. 120X

Figura 39. Grupo 1 Fotomicrografia sob luz polarizada evidenciando os tipos de colágeno tipo I e III. Coloração Picrosirius. 120X

Figura 40. Grupo 1 Fotomicrografia examinada sob luz polarizada revelando o tecido conjuntivo corado em aspecto esverdeado. Coloração: Picrosirius. 120X

Figura 41. Grupo 1 Fotomicrografia examinada sob luz polarizada revelando o tecido conjuntivo corado em vermelho e os septos separando as células adiposas. Coloração: Picrosirius. 120X

Figura 42. Grupo 1 Fotomicrografia revelando o tecido conjuntivo corado em vermelho delimitando as células adiposas (*). Coloração: Picrosirius. 120X

Figura 43. Grupo 1 Fotomicrografia examinada sob luz polarizada revelando o tecido conjuntivo das células adiposas (setas) . Coloração: Picrosirius. 120X

Figura. 44. Grupo 1 Fotomicrografia examinada sob luz polarizada revelando o tecido conjuntivo formando septos entre as células adiposas. Coloração: Picrosirius. 120X

Figura 45. Grupo 1 Fotomicrografia revelando o tecido conjuntivo corado em vermelho e septos delimitando as células adiposas. Coloração: Picrosirius. 120X

Nas Figuras 46 e 47 vemos a presença dos fios em corte frontal entremeados por tecido conjuntivo corado em azul em toda sua totalidade.

Em maior aumento, observa-se o tecido conjuntivo e a presença de fibroblastos junto ao fio de polipropileno (Figs. 48, 49 e 50). Na região do nó da malha de polipropileno, o corte revela vários segmentos envoltos por numerosos fibroblastos (Fig. 50). Nas Figuras 51 e 52 vemos extensa camada de omento maior protegendo a camada muscular subjacente correspondente aos braços do músculo pilar medial do diafragma. Na Figura 51 nota-se a presença de células adiposas separadas por septos conjuntivos.

O estudo do esôfago mostra a mucosa íntegra junto à muscular na suas duas camadas também íntegras e um tecido conjuntivo frouxo envolvendo a camada adventícia (Figs. 53 e 54).

Figura 46. Fotomicrografia mostrando os cortes de fios e tecido conjuntivo corado em azul. Coloração de Azo-Carmin. 120X

Figura 47. Fotomicrografia mostrando os cortes de fios e tecido conjuntivo neoformado corado em azul. Coloração de Azo-Carmin. 120X

Figura 48. Fotomicrografia evidenciando o tecido conjuntivo neoformado e numerosos fibroblastos junto ao fio de polipropileno e áreas adjacentes. Coloração de hematoxilina – eosina. 250X

Figura 49. Fotomicrografia evidenciando o tecido conjuntivo neoformado, segmento de fio de polipropileno e fibroblastos. Coloração de hematoxilina –eosina. 250X

Figura 50. Fotomicrografia evidenciando o tecido conjuntivo neoformado, vários segmentos na região do nó de fio de polipropileno e fibroblastos, circundando-os. Coloração de hematoxilina –eosina. 120X

Figura 51. Fotomicrografia revelando a presença de células adiposas, septos conjuntivos intercelulares próximo aos segmentos de fios de polipropileno. Coloração: Hematoxilina-eosina. 120X

Figura 52. Fotomicrografia identificando numerosas células adiposas junto às fibras musculares do braços do pilar medial do diafragma. Coloração: Azo-Carmin. 120X

Figura 53. Fotomicrografia identificando a camada de omento maior protegendo a camada muscular subjacente correspondente aos braços do músculo pilar medial do diafragma. Coloração: Azo-Carmin. 25X

Figura 54. Fotomicrografia mostrando o aspecto da mucosa íntegra a muscular na suas duas camadas também íntegras e um tecido conjuntivo frouxo envolvendo a camada adventícia. Coloração Azo-Carmin. 25X

Figura 55. Fotomicrografia revelando as características da mucosa, tecido conjuntivo adjacente e a camada muscular íntegra. Coloração Azo-Carmin. 120X

No Grupo 1, ou Experimental observa-se a proteção de um grande vaso do diafragma, junto ao hiato, pela gordura do omento maior nas diversas colorações (HE, Figura 56; Picrosirius, Figs. 57 e 58 e Azo-Carmin, Figura 59).

Superfície de Integração da Tela de Propileno – Tecido Conjuntivo no Hiato Esofágico no Grupo 2 (Tela Fixada ao Hiato sem Proteção).

4.2.2.2. Microscopia de luz - Grupo 2 - Controle

A reação tecidual foi semelhante durante a reparação nas diferentes áreas em animais do Grupo 2 (controle) com exceção da região protegida pelo omento maior também nos animais do Grupo 1 ao estudo com a coloração feita em hematoxilina-eosina. A Figura 60 revelou o fio de polipropileno circundado por numerosos fibroblastos assim como as Figuras 61 e 62.

Figura 56. Grupo 1 Fotomicrografia de um vaso sanguíneo de diâmetro maior circundado por células adiposas. Coloração: Hematoxilina-Eosina. 120X

Figura 57. Fotomicrografia de um vaso sanguíneo de diâmetro maior do grupo 1. O conjuntivo intensamente corado em vermelho é nitidamente evidenciado. Coloração: Picrosirius. 120X

Figura 58. Fotomicrografia de luz polarizada um vaso sanguíneo de diâmetro maior do grupo 1. Nota-se nitidamente a parede da artéria e septos das células adiposas. Coloração: Picrosirius 120X

Figura 59. Fotomicrografia de vaso sanguíneo envolto por uma extensa camada de tecido conjuntivo do grupo 1. Nota-se nitidamente a parede da artéria e septos conjuntivos entre as células adiposas. Coloração: Azo-Carmim. 120X

Figura 60. Grupo 2 (Controle) Fotomicrografia de maior aumento revelando os cortes de fios de polipropileno circundado por numerosos fibroblastos. Coloração: H-E. 250X

Figura 61. Grupo 2 (Controle) Fotomicrografia evidenciando o tecido conjuntivo neoformado, os segmentos do nó de fio de polipropileno na região de nó e fibroblastos. Coloração de Hematoxilina-eosina. 120X

Figura 62. Grupo 2 (Controle) Fotomicrografia revelando o tecido conjuntivo neoformado da região do nó da malha de fio de polipropileno e fibroblastos. Coloração de Hematoxilina-eosina. 120 X

Assim como no Grupo 1, os cortes foram realizados no padrão descrito na metodologia em todos os animais e aqui selecionados os achados que melhor evidenciaram a integração das superfícies Tela-Epiplon. Na área próxima à superfície dos fios, houve a neoformação de tecido conjuntivo e um acúmulo de fibroblastos (Figs. 63 e 64).

As Figuras 65 e 66 mostram, em maior aumento, o fio seccionado transversalmente mostrando várias tonalidades e com o tecido conjuntivo fazendo o envolvimento total dos mesmos.

No corte correspondente à Figura 67, a coloração de Picrosirius evidenciou o tecido conjuntivo em vermelho intenso e ao redor do fio há formação de feixes de fibras espessas em disposição circular.

O corte examinado sob luz polarizada revela que os feixes dispostos ao redor do fio são constituídas por fibras colágenas do tipo I (vermelho-laranja) ou seja pelo colágeno maduro, enquanto que as áreas esverdeadas correspondem ao colágeno tipo III (Fig. 68).

Figura 62. Grupo 2 Fotomicrografia identificando nitidamente o tecido conjuntivo neoformado ao redor do fio de polipropileno e em áreas adjacentes. Coloração: Hematoxilina-eosina. 120X

Figura 64. Grupo 2 Fotomicrografia identificando nitidamente o tecido conjuntivo neoformado ao redor do fio e acúmulo de fibroblastos. Coloração: Hematoxilina-eosina. 120X

Figura 65. Grupo 2 Fotomicrografia identificando nitidamente a disposição de tecido conjuntivo corado em azul ao redor do fio de polipropileno e em áreas adjacentes. Coloração: Azo-Carmin. 250X

Figura 66. Grupo 2 Fotomicrografia mostrando em maior aumento o tecido conjuntivo ao redor do fio de polipropileno e em disposição circular. Coloração: Picrosirius. 250X

Figura 67. Grupo 2 Fotomicrografia evidenciando o tecido conjuntivo em vermelho intenso e ao redor do fio com disposição circular. Coloração: Picrosirius. 120X

Figura 68. Grupo 2 (controle) Fotomicrografia examinada sob luz polarizada, mostrando a disposição de feixes ao redor dos fios: fibras colágenas do tipo I (vermelho-laranja) e colágeno tipo III (esverdeado). Coloração: Picrosirius. 120X

Outro corte é mostrado em Picrosirius com luz polarizada para ilustrar ao redor dos fios da tela a formação de colágeno tipo I e circundando o mesmo porém preenchendo os demais espaços o colágeno tipo III (Figs 69, 70) sendo esta última um corte transversal com cor vermelha (colágeno I – maduro) ao redor do fio e esverdeado (colágeno III – imaturo) mais na periferia.

Comparando o Picrosirius com em sem luz polarizada nota-se que a distribuição do tecido conjuntivo é mais frouxo na periferia (colágeno III) enquanto junto ao fio com auxílio da luz polarizada percebe-se a maior quantidade de

colágeno I ou maduro (Figs. 71 e 72). As Figuras 73 e 74 também confirmam essa distribuição em corte obtido de outro animal do Grupo 2.

A Figura 75 mostra colágeno tipo I ao redor do fio e tipo III circunjacente. Acima, na parte central aparece o fio fragmentado pela faca de corte.

A estrutura do esôfago corado pelo Picrosirius mostra a mucosa íntegra sem interferência cirúrgica, colágeno intensamente corado em vermelho na submucosa e sob luz polarizada colágeno I e III na camada muscular mostrando a integridade do órgão (Figs. 76 e 77).

Figura 69. Fotomicrografia examinada sob luz polarizada, mostrando a presença de fios da tela e a formação de colágenos tipo I e tipo III. Coloração: Picrosirius. 25X

Figura 70. Fotomicrografia examinada sob luz polarizada, identificando a presença de fios da tela e a formação de colágenos tipo I e tipo III. Coloração: Picrosirius. 25X

Figura 71. Fotomicrografia sob luz polarizada revelando a presença de fios da tela e tecido colágeno tipos I e III. Coloração: Picrosirius. 120X

Figura 72. Fotomicrografia identificando a presença de tecido conjuntivo intensamente corado em vermelho. A disposição de feixes de colágeno ao redor do fio é claramente notada (seta). Coloração: Picrosirius. 120X

Figura 73. Fotomicrografia de luz polarizada revelando as fibras conjuntivas tipo I e III e
Figura 74. Fotomicrografia corada com picrosirius mostrando fibras colágenas coradas em vermelho. Coloração: Picrosirius. 120X

Figura 75. Fotomicrografia mostrando a disposição do colágeno tipo I ao redor do fio e tipo III circunjacente. Acima, na parte central aparece o fio fragmentado pela faca de corte. Coloração: Picrosirius. 120X

Figura 76. Fotomicrografia examinada sob luz polarizada evidenciando o colágeno I e III na camada muscular e submucosa. Coloração: Picrosirius 25X

Figura 77. Fotomicrografia da região do esôfago examinado mostra a mucosa íntegra com o colágeno intensamente corado em vermelho na submucosa. Coloração: Picrosirius. 25X

As Figuras 78, 79 e 80 mostram aos pares a integridade do esôfago estudado em Picrosirius com e sem luz polarizadas em animais do Grupo 2. O tecido conjuntivo subepitelial cora-se intensamente em vermelho no Picrosirius e com a luz polarizada mostra ser constituído principalmente por colágeno tipo I (maduro).

Figura 78. Fotomicrografia da mucosa do esôfago mostrando o tecido conjuntivo subepitelial com fibras colágenas de tipo I. Coloração: Picrosirius. 120X

Figura 79. Fotomicrografia da mucosa do esôfago mostrando o tecido conjuntivo subepitelial intensamente corado em vermelho. Coloração: Picrosirius. Eaw120X

Figura 80. Fotomicrografia da mucosa do esôfago mostrando o tecido conjuntivo subepitelial intensamente corado em vermelho. Coloração: Picrosirius. 120X

Com a coloração de Azo-Carmin as estruturas do tecido conjuntivo coram intensamente em azul e os fios de polipropileno aparecem nitidamente conforme as Figuras 81 e 82.

Em volta dos fios as Figuras 83 e 84 mostraram intensa neoformação de fibras colágenas densamente coradas em azul e mantendo a forma circular ao redor do polipropileno. Há também uma neovascularização nestas Figuras com capilares de diâmetros variados. As Figuras 85 e 86 mostram melhor os capilares neoformados cortados longitudinalmente, o fio e a reação do colágeno ao seu redor. A Figura 87 mostra a mucosa do esôfago com características íntegras em todas as suas camadas.

Figura 81. Fotomicrografia mostrando o aspecto geral da neof ormation tecidual. On tecido conjuntivo é corado em azul e os cortes de fios em várias secções. Coloração: Azo-Carmin. 25X

Figura 82. Fotomicrografia evidenciando em maior aumento, os detalhes de disposição do tecido conjuntivo rodeando os fios. Coloração: Azo-carmin. 120X

Figura 83. Fotomicrografia em maior aumento mostrando o tecido conjuntivo neoformado nas áreas adjacentes ao fio de polipropileno. Coloração: Azo-Carmin. 120X

Figura 84. Fotomicrografia em maior aumento revelando a disposição de feixes de tecido conjuntivo neoformado ao redor dos fios de polipropileno. Coloração: Azo-Carmin. 120X

Figura 85. Fotomicrografia em maior aumento revelando a disposição de feixes de tecido conjuntivo neoformado ao redor dos fios de polipropileno. Coloração: Azo-Carmin. 120X

Figura 86. Fotomicrografia em maior aumento revelando parte de um capilar, o tecido conjuntivo neoformado ao redor dos fios. Coloração: Azo-Carmin. 120X

Figura 87. Fotomicrografia revelando a mucosa do esôfago com características normais em todas as suas camadas. Coloração: Azo-Carmin. 25X

4.2.3. Observações ao Microscópio Eletrônico

4.2.3.1. Microscopia Eletrônica de Transmissão - Grupo 1

Grupo Experimental:

Notou-se que a interposição da tela de polipropileno junto ao hiato esofágico houve a neoformação de tecido conjuntivo (Fig. 88). Os fibroblastos aparecem na superfície contactante ao fio e em áreas adjacentes (Figs. 88 e 89). O tecido conjuntivo neoformado neste período experimental é muito significativo ao exame ao microscópio eletrônico de transmissão. Capilares sanguíneos de diferentes diâmetros surgem na área de neoformação tecidual (Fig. 90). Junto às células

endoteliais notam-se a presença de feixes de fibras colágenas (Fig. 91). Na porção citoplasmática da célula endotelial revela várias cavéolas (Fig. 92).

A camada epitelial do esôfago revela células epiteliais alongadas (Fig. 93). A membrana basal apresenta prolongamento citoplasmático de fibroblastos e capilar (Fig. 94). A lâmina basal apresenta uma linha eletrônica densa contínua e hemidesmossomos (Fig. 94). As células epiteliais basais são interligadas por meio de desmossomos e interdigitações citoplasmáticas (Fig. 95). Na porção citoplasmática observa-se mitocôndrias e feixes de filamentos intermediários (Fig. 96).

No tecido conjuntivo subepitelial apresenta feixe de fibras nervosas amielínicas de 200 a 500 nm de diâmetros. As fibras nervosas são envoltas por lâminas citoplasmáticas da célula de Schwann (Fig. 97).

No interior do axoplasma verifica-se o acúmulo de mitocôndrias e vesículas eletrônicas (Fig. 98).

A espessa camada de feixe de fibras conjuntivas é notada, evidenciando uma disposição paralelas, longitudinais, oblíquos e entremeadas de fibroblastos (Figs. 99 e 100). No citoplasma de fibroblastos revela retículo endoplasmático granular, mitocôndrias e núcleo (Figs. 101 e 102).

As células fibroblastos são características e se associam aos feixes de fibras colágenas (Figs. 103 e 104).

A inervação é feita pelas fibras nervosas amielínicas, como se nota nas Figuras 105, 106, 107, 108 e 109. Cada fibra nervosa é envolta por uma bainha da célula de Schwann. Fibras nervosas mielínicas também foram examinadas, contendo diâmetros que variam de 3 a 5 micrometros (Fig. 107). O tecido conjuntivo neoformado apresenta agrupamento de feixes de fibras colágenas (Figs. 110 e 111). Ao redor dos fibroblastos aparecem compactos feixes de fibras colágenas. Os núcleos de fibroblastos são notados (Figs. 112 e 113).

Fibras musculares do músculo diafragma localizado em áreas adjacentes apresentam um núcleo bem evidente (Fig. 114) e feixes de miofibrilas revelando os sarcômeros (Fig. 115). Na Figura 116, mostra a disposição de sarcômeros e um núcleo volumoso na extremidade. Perifericamente, nota a lâmina basal da célula muscular e feixes de fibras colágenas do endomísio (Fig. 117).

Figura 88. Grupo 1 – Experimental. Eletronmicrografia mostrando as fibras colágenas (setas) e núcleos de fibroblastos.

Figura 89. Grupo 1 – Experimental. Mostra fibras colágenas alinhadas.

Figura 90. Grupo 1 – Experimental. Revela a presença de um capilar junto a neoformação tecidual. 15.000X

Citoplasma da célula endotelial

Figura 91. Mostra em maior aumento, o citoplasma da célula endotelial, cavéolas (setas) e feixes de fibras colágenas (*) . 60.000X

Figura 92. Revela em maior aumento, numerosas vesículas pinocíticas (seta maior) e cavéola (seta menor). 80.000X

Figura 93. Eletronmicrografia da camada epitelial da mucosa do esôfago (*) revelando as células epiteliais. Capilar (**) e fibroblasto (seta). 5.000X

Figura 94 Eletronmicrografia de maior aumento mostrando nitidamente a lâmina basal das células epiteliais (duas setas), hemi-desmossomos (setas) e fibras colágenas. 70.000X.

Figura 95. Identifica-se os desmossomos (seta), protrusões citoplasmáticas (*) e retículo endoplasmático granular. 50.000X

Figura 96. Nota-se as mitocôndrias e retículo endoplasmático. 50.000X

Figura 97. Feixe de fibras nervosas amielínicas envoltas por lâminas citoplasmáticas da célula de Schwann. 30.000X

Figura 98. Verifica-se a presença de mitocôndrias (setas) e vesículas. 60.000X

Figura 99. Observa-se a distribuição de feixes de fibras colágenas. 15.000X

Figura 100. Mostra uma espessa camada de fibras colágenas entremeadas de fibroblastos. Os cortes transversais mostram claramente a disposição de feixes de fibras colágenas. 10.000X

Figura 101. Revela em maior aumento parte citoplasmática de fibroblasto identificando o retículo endoplasmático granular, mitocôndrias e parte do núcleo. 20.000X

Figura 102. Mostra em maior aumento, observa-se as organelas citoplasmáticas de fibroblasto. 50.000X

Figura 103. Revela os fibroblastos e tecido conjuntivo neoformado. 4.000X

Figura 104. Identifica-se parte do citoplasma de fibroblasto com o núcleo. 10.000X

Figura 105. Mostra os feixes de fibras nervosas amielínicas. 40.000X

Figura 106. Revela fibras nervosas amielínicas (setas) envolta por uma bainha da célula de Schwann. 50.000X

Figura 107. Nota-se as fibras nervosas mielínicas e amielínicas. O núcleo da célula de Schwann é claramente observada (*). 10.000X

Figura 108. Identifica-se feixes de fibras nervosas amielínicas (setas). 20.000X

Figura 109. Nota-se as fibras nervosas amielínicas (*), lâmina de células de Schwann (seta) e fibras colágenas. 50.000X

Figura 110. Identifica-se a distribuição das fibras colágenas neofarmadas em grupamentos de feixes e núcleos de fibroblastos (*). 3.000X

Figura 111. Nota-se os feixes de fibras colágenas orientados em várias direções. 6000X

Figura 112. Revela ao redor de fibroblasto compactos feixes de fibras colágenas (*). 20.000X

Figura 113. Observa-se o núcleo de fibroblasto, prolongamentos citoplasmáticos (seta) e fibras colágenas (*). 50.000X

Figura 114. Identifica-se a fibra muscular do diafragma com núcleo evidente. Periféricamente nota-se a lâmina basal do sarcolema (setas). 15.000X

Figura 115. Verifica-se o núcleo de fibra muscular do diafragma localizado na periferia do citoplasma e feixes de miofibrilas (setas). 24.000X

Figura 116 Revela a disposição dos sarcômeros e um núcleo volumoso na extremidade. 10.000X

Figura 117. Nota-se perifericamente lâmina basal da célula muscular e feixes de fibras colágenas do endomísio. 30.000X

4.2.3.2. Microscopia Eletrônica de Transmissão - Grupo 2

Grupo Controle:

A estrutura contendo fios de polipropileno foi examinado através de cortes e notou-se a neoformação de tecido colágeno bem aderente (Fig. 118). Envolvendo o fio houve a formação de tecido colágeno em disposição circular contendo fibroblastos cujos núcleos eram alongados (Figs. 118 e 119).

As células do tecido conjuntivo foram examinadas. Numerosos prolongamentos citoplasmáticos de fibroblastos foram encontrados no interior do tecido conjuntivo (Fig. 120). O citoplasma de fibroblasto contém além do núcleo alongado, mitocôndrias e retículo endoplasmático granular (Fig. 120). Também, notou-se a presença de numerosos capilares de pequeno diâmetro variando de 5 a 10 micrometros de (Fig. 121).

Figura 118. Grupo 2 – Controle. Revela a neoformação de colágeno ao redor do fio (seta) e fibroblastos (*). A proliferação do colágeno é evidente (**). 5.000X

Figura 119. Grupo 2 Notou-se o fio envolvido circularmente pelo colágeno (seta) contendo fibroblastos com núcleos evidentes (*). 5.000X

Figura 120. Observa-se numerosos prolongamentos citoplasmáticos de fibroblatos no interior do tecido conjuntivo. 10.000X

Figura 121. Identifica-se o capilar contendo hemáceas. O citoplasma da célula endotelial possui um núcleo alongado e diâmetro pequeno (5 a 7 micrometros). 6.000X

Características da Tela Vista à Microscopia Eletrônica de Varredura

Tela de Polipropileno:

A tela de polipropileno examinado ao microscópio eletrônico de varredura revelou a existência de um entrelaçamento de fios formando espaços variáveis (Fig. 122). A rede de fios é constituída por estruturas em forma de linha de espessura de 140 micrometros de diâmetro formando malhas de diferentes aberturas (Fig. 123). Os espaços das malhas na grade revelam diâmetros pequenos a partir de 0,5 mm, 1 mm até 2 mm (Figs. 124 e 125). Em maior aumento pode-se notar nitidamente a espessura do fio e o entrelaçamento dos mesmos.

Figura 122. Mostra a malha de polipropileno revelando os espaços e entrelaçamento de fios. 40X

Figura 123. Observa-se o aspecto original das malhas de polipropileno. 40X

Figura 124. Identifica-se os espaços na malha e os fios entrelaçados em aspectos tridimensionais. 40X

Figura 125. Nota-se o entrelaçamento e a espessura dos fios em imagem original. 240X

4.2.3.3. Microscopia Eletrônica de Varredura no Grupo 1

Grupo Experimental

Em fratura de peças congeladas com nitrogênio líquido pode-se notar o emaranhado de fios da tela de polipropileno (Figs. 126 e 127). Ao lado do fio nota-se o tecido contendo tecido adiposo (Fig. 128). Após o período experimental de 30 dias houve a formação de tecido conjuntivo envolvendo todos os fios da tela (Figs. 129 e 130). Percebe-se que a implantação é firme e ao lado o tecido apresenta grande quantidade de tecido adiposo (Fig. 131). Em fraturas transversais pode-se notar a disposição circular de colágeno (Figs. 131 e 132).

Na superfície da mucosa do esôfago de animais notou-se numerosos pregueamentos revestidos por células epiteliais (Figs. 133 e 134). As epiteliais apresentam várias formas sendo alongadas ou poligonais (Fig. 135).

Figura 126. Grupo 2 – Experimental. Notase o emaranhado de fios da tela de polipropileno (seta) e tecido conjuntivo (*). 140X

Figura 127. Grupo 2 – Experimental. Nota-se os fios de polipropileno e o tecido conjuntivo neoformado (*). 140X

Figura 128. Observa-se o tecido adiposo (*) envolvendo a tela e a superfície do fio envolto pela camada de tecido conjuntivo, circularmente. 180X

Figura 129. Identifica-se a região da malha de polipropileno com os fios e estruturas de tecido adiposo (*) interposto externamente. 40X

Figura 130. Observa-se o tecido adiposo (*) protegendo os fios da tela envolta por tecido conjuntivo, circularmente (setas). 100X

Figura 131. Em maior aumento, observa-se a secção transversal de um fio envolta por tecido conjuntivo. 600X

Figura132. Nota-se a secção transversal de vários fios de tela e tecido adiposo. 140X

Figura 133. Observa-se a superfície íntegra de mucosa do esôfago com células epiteliais. 200X

Figura 134. Verifica-se a superfície da mucosa do esôfago evidenciando as células epiteliais e pregueamentos. 600X

Figura 135. Nota-se a presença de células epiteliais (*) da superfície da mucosa do esôfago com formas poligonais ou alongadas. 800X

4.2.3.4. Microscopia Eletrônica de varredura no Grupo 2

Grupo Controle:

Ao redor dos fios de polipropileno formam tecido conjuntivo denso, o que é notado na Figura 136. O tecido que envolve a tela de polipropileno é totalmente inclusa no interior das estruturas colágenas (Fig. 137). Percebe-se que aderente à superfície do fio existe as lâminas de tecido conjuntivo (Figs. 138 e 139). Nas peças fraturadas por congelação em nitrogênio líquido observa-se a implantação sólida de fios junto ao tecido adjacente (Figs. 140, 141, 142, 143 e 144). Ao redor do fio, os feixes de fibras colágenos dispõem-se circularmente (Fig. 145), como se observa nas imagens histológicas.

Em fraturas longitudinais, verifica-se a existência de tecidos ao longo das margens do fio (Fig. 147). Em Figuras de maior aumento pode-se notar os feixes de fibras colágenos (Fig. 148).

Figura 136. Grupo 2 Peça fraturada em nitrogênio líquido. Fios de polipropileno (*) envoltos por tecido conjuntivo denso. 280X

Figura 137. Identifica-se o tecido conjuntivo que envolve a tela totalmente. 260X

Figura 138. Grupo 2 Notase a lâmina de tecido conjuntivo neoformada (*) envolvendo a superfície do fio de polipropileno (seta). 400X

Figura 139. Revela o tecido aderente à superfície do fio (*). 400X

Figura 140. Grupo 2 Observa-se a implantação sólida de fio junto ao tecido adjacente (setas). 660X

Figura 141. Amostra fraturada por congelamento em nitrogênio líquido mostrando a implantação sólida de fio de polipropileno (*) junto ao tecido adjacente. 260X

Figura 142. Grupo 2 - Amostra fraturada por congelação em nitrogênio líquido. Mostra a implantação de fios de polipropileno (*) e a disposição circular de tecido conjuntivo (setas). 260X

Figura 143. Peça fraturada por congelação em nitrogênio líquido identificando a disposição circular de fibras colágenas ao redor do fio. 300X

Figura 144. Grupo 2 Revela a disposição de lâmina de tecido neoformado (*) envolvendo o fio. 600X

Figura 145. Peça fraturada por congelação em nitrogênio líquido mostrando o tecido aderente à superfície do fio (setas). 600X

Figura 146. Grupo 2 – Em maior aumento revela a disposição circular de feixes de fibras colágenas (*). 800X

Figura 147. Observa-se o tecido numa fratura longitudinal ao longo das margens do fio. 1.800X

Figura 148. Nota-se em maior aumento, os feixes de fibras colágenas neoformados.
2.400X

4.3. Estudo morfométrico

Foram analisadas as lâminas obtidas de quatro animais do Grupo 1 com seus respectivos controles com duas variações de tonalidades não muito distantes para minimizar a possibilidade de erro na leitura dos cortes histopatológicos.

Leitura			Tonalidade 80 - 190		
	Lâmina	Animal	Área a E	Área Central	Área a D
Fig. 7	1	CH8(controle)	4%	78%	17%
Fig. 3.	2	H8(experimento)	0,8%	84%	15%
Fig. 8	3	CH10(controle)	3%	84%	13%
Fig. 6	4	H10(experimento)	0,1%	90%	11%
Fig. 4	5	CH7(controle)	0,2%	90%	10%
Fig. 2	6	H7(experimento)	0,0%	39%	61%
Fig. 5	7	CH2(controle)	18%	64%	18%
Fig. 1	8	H2(experimento)	0,0%	34%	66%

CH2

CH7

CH8

CH10

H7

H2

H8

H10

Foram feitas comparações das áreas centrais, a esquerda e a direita para os grupos controle e experimento. Dos seis testes aplicados (não-paramétricos) não foi possível detectar diferença significativa em cinco comparações. A seguir tem-se os dados usados, algumas medidas resumo e os resultados dos testes.

Comparação Área Central				
	G2	G1	G2	G1
	80 - 190	80 - 190	100 - 190	100 - 190
	78	84	68	81
	84	90	74	88
	90	39	87	39
	64	34	58	34

Grupo	N	Média	D. Padrão	Mediana
G2 80-190	4	79,00	11,14	81,00
G1 80-190	4	61,80	29,30	61,50
G2 100-190	4	71,74	12,12	71,00
G1 100-190	4	60,50	27,90	60,00

G1 = Grupo Experimento (Tela com Omento)

G2 = Grupo Controle (Só Tela)

Foi aplicado um teste de Mann-Whitney (não-paramétrico) para comparar os grupos G2 80-190 e G1 80-190 e não foi possível detectar diferença significativa ($P=0,66$). Foi aplicado ao mesmo teste para comparar os grupos G2 100-190 e G1 100-190 e também não foi possível detectar diferença significativa ($P=0,88$).

Comparação Área a Esquerda				
	G2	G1	G2	G1
	80 - 190	80 - 190	100 - 190	100 - 190
	4,0	0,8	15	3
	3,0	0,1	12	1
	0,2	6,0	3	0
	18,0	0,0	23	0

Grupo	N	Média	D. Padrão	Mediana
G2 80-190	4	17,60	22,40	10,50
G1 80-190	4	1,73	2,87	0,45
G2 100-190	4	13,25	8,26	13,50
G1 100-190	4	1,0	1,41	0,50

Foi aplicado um teste de Mann-Whitney (não-paramétrico) para comparar os grupos G2 80-190 e G1 80-190 e não foi possível detectar diferença significativa ($P=0,19$). Foi aplicado ao mesmo teste para comparar os grupos G2 100-190 e G1 100-190 e foi possível detectar diferença significativa ($P=0,043$). Há indícios de que as áreas do grupo G1 100-190 sejam menores.

Comparação Area a Direita				
	G2	G1	G2	G1
	DC 80 - 190	DH 80 - 190	DC 100 - 190	DH 100 - 190
	17	15	17	15
	13	11	13	13
	10	61	10	10
	18	66	18	66

Variable	N	Média	D. Padrão	Median
G2 80 -190	4	14,50	3,70	15,00
G1 80-190	4	38,3	29,30	38,00
G2 100-190	4	14,50	3,70	15,00
G1 100-190	4	14,00	3,37	14,00

Foi aplicado um teste de Mann-Whitney (não-paramétrico) para comparar os grupos G2 80-190 e G1 80-190 e não foi possível detectar diferença significativa ($P=0,47$). Foi aplicado o mesmo teste para comparar os grupos G2 100-190 e G1 100-190 e também não foi possível detectar diferença significativa ($P=1,0$).

Tonalidade 100 - 190				
Lâmina	Animal	Área à E	Área Central	Área à D
1	CH8	15	68	17
2	H8	3	81	15
3	CH10	12	74	13
4	H10	1	88	13
5	CH7	3	87	10
6	H7	0	39	61
7	CH2	23	58	18
8	H2	0	34	66

Houve similaridade dos resultados na quantificação do colágeno, através do estudo morfométrico, não sendo detectadas diferenças significativas nas áreas centrais estudadas.

5. DISCUSSÃO

No presente trabalho são demonstrados os aspectos obtidos nos grupos experimental e controle do comportamento e proliferação do tecido conjuntivo com a implantação da tela de polipropileno com e sem o envolvimento por omento maior em coelhos.

Com relação ao esôfago, pode-se afirmar que é um órgão impar sendo o único a ocupar três segmentos do corpo humano: a região cervical, o tórax e o abdome. Inicialmente tido como órgão somente de passagem alimentar, sem função específica, nunca foram dados a seus segmentos aspectos fisiológicos próprios. É recente essa atribuição de peristaltismo regido por fenômenos motores, funções de clareamento do esôfago, atividade de contenção do RGE, presença de esfíncter funcional e mesmo defesa intrínseca do epitélio aos fatores ácidos ou não ácidos de acordo com os relatos de DeMeester (1992).

Um fator de grande importância nesse mecanismo é a região da transição esôfago gástrica que tem funções intrínsecas pela ação do esfíncter inferior do esôfago (EIE) e extrínsecas atribuídas a fatores anatômicos e funcionais locais-regionais, entre eles o hiato diafragmático. Sua anatomia é bastante variável com somente 46% dos casos tendo a apresentação padrão, i.e., com predomínio do braço direito do músculo pilar medial (Collis *et al.*, 1954). Essas particularidades tornam instigante a possibilidade da crura diafragmática ser a responsável por manter os órgãos abdominais nas suas cavidades naturais, sabendo-se que ainda o seu trabalho se dá em território com diferentes níveis pressóricos: tórax com pressão negativa e abdome francamente positivo. Além disso se movimenta, trabalhando em conjunto com o diafragma, fechando-se no sentido pósterio-anterior, empurrando o esôfago para a frente e participando ativamente do mecanismo de contenção do RGE.

Portanto, quando se pensa nas doenças de falhas dos mecanismos dessa região é importante que se cogite tratar o hiato diafragmático. A hiatoplastia proposta por Allison (1951), tornou-se método cirúrgico de amplo emprego sendo atualmente usada associada as gastropexias sejam a 270° ou 360° de envolvimento ao redor do esôfago.

O paciente deve então ser colocado em **f**decúbito dorsal horizontal apoiado sobre coxim que favoreça a exposição do andar superior do abdome, principalmente quando se associa a ressecção do apêndice xifoide. Algumas vezes seccionamos também o ligamento triangular do fígado, liberando o lobo E que, rechaçado para a direita permite boa exposição da região do hiato esofágico. Abre-se a membrana frenoesofágica e digitalmente isola-se o esôfago abdominal. Essa manobra nos doentes magros, as vezes por si só, já é bastante para expor o hiato diafragmático. Já nos obesos e com cifoesciose, pacientes que freqüentemente são portadores de grandes hérnias do hiato, é necessário que se isole os nervos vagos, anterior, posterior e o ramo hepático assim como se deve seccionar parcialmente o ligamento gastrohepático numa extensão de 6 a 8 cm para conseguir essa exposição. Isolam-se a seguir os braços do músculo pilar medial do diafragma. A nós, parece clara essa denominação de pilar medial apesar de vários autores considerarem a anatomia local como sendo variável e às vezes chamando de músculo pilar direito o braço direito do músculo pilar medial, uma vez que, freqüentemente este é maior e mais resistente que o esquerdo. Essa última manobra associada a uma leve tração permite então a redução da câmara gástrica para o abdome juntamente com o saco herniário, que é parte da fasciaendotorácica e endoabdominal (membrana frenoesofágica). Parte essencial dessa operação é a ressecção do saco herniário, se possível, ou pelo menos a liberação do esôfago e estômago na sua totalidade dessa estrutura pois parece ser fator favorecedor das recidivas, a não liberação desses órgãos do saco herniário. Reduzida a hérnia do hiato, liberado o conteúdo do saco herniário, passa-se um dreno de penrose ao redor do esôfago que, favorece a exposição do hiato.

Nesse momento pratica-se a hiatoplastia com pontos de seda 2 ou algodão 0 deixando a abertura pérvea à uma polpa digital. Esse passo cirúrgico muitas vezes, nas aberturas maiores e com fibrose do músculo pilar medial já nos permite antever a possibilidade de esgarçamento ou deiscência, o que levaria a recidiva. Percebe-se então que o cirurgião muitas vezes sai preocupado com esse tempo da operação. Parece portanto lógica a utilização de próteses nessa abertura evitando a deiscência ou seja, a falha da operação.

Essa ampla exposição do hiato em parte se deve à prática cirúrgica desenvolvida com a indicação freqüente das vagotomias gástricas proximais ou

super seletivas, assim chamadas, por promoverem a manutenção dos ramos motores dos nervos vagos e seccionar os secretores, estimuladores da secreção clorídica pelas células parietais, cirurgia amplamente utilizada na década de 70 para tratamento de úlceras duodenais, mas atualmente, com indicações restritas. Nessa época aprendemos a observar então, mais detalhadamente, as dificuldades de exposição do hiato diafragmático, e as variações de textura da musculatura local, e muitas vezes tivemos dificuldade no fechamento do mesmo. Completada a hiatoplastia, procede-se à realização da esofagogastrofundopexia liberando-se primeiramente os vasos breves para que se tenha uma válvula anti-refluxo frouxa, sem qualquer tipo de tensão.

As válvulas utilizadas variam no grau de envolvimento do esôfago desde o simples fechamento do Ângulo de Hiss (Lortat-Jacob) até o envolvimento total do órgão (360°) como na técnica de Nissen. Durante anos fizemos uso de válvulas parciais com envolvimento de 270° do diâmetro do esôfago, porém longas, de no mínimo 7 cm de extensão. Atualmente com o advento da videolaparoscopia percebeu-se, por estudos manométricos e avaliações clínicas periódicas que a válvula de envolvimento total (Nissen) não precisa ser tão longa, bastando cerca de 3 a 5 cm para manter uma zona de alta pressão ao nível do esôfago distal e portanto impedir o RGE.

Essa técnica associada a via de acesso por laparoscopia vem, então, sendo o tratamento de escolha para a DRGE desde 1991 quando Dallemagne *et al.* (1996) a realizaram pela primeira vez.

O método laparoscópico mostrou-se viável em todos os casos, mesmo em pacientes com cirurgias prévias. Observou-se menor incidência de infecção da parede e lesão esplênica em comparação com a cirurgia convencional.

As vantagens foram a redução do tempo de internação, menos dor pós-operatória, rápido restabelecimento do paciente e baixo custo além do resultado estético. Portanto é método cirúrgico mais vantajoso, consistindo em excelente via de acesso à cavidade abdominal, para execução de diversos tipos de cirurgia.

Ocorre que, no entanto, quando existem hérnias, e isto é freqüente, principalmente as que provocam grandes aberturas do diafragma, o índice de insucessos é grande. Usamos a classificação de Hill *et al.* (1996), que divide as hérnias em 4 tipos para um melhor entendimento:

Tipo I: Hérnia de deslizamento: o tipo mais comum a transição esofagogástrica migra, através do hiato, em direção cranial.

Tipo II: Hérnia para-esofágica: só o fundo gástrico migra, a transição permanece intra abdominal.

Tipo III: Combinação dos tipos I e II.

Tipo IV: Migração de outras estruturas e órgãos como Omento maior ou Cólon transversal para o tórax.

Nesses casos de hérnias para-esofágicas com hiato alargado, principalmente do tipo IV e com fatores locais desfavoráveis em que a taxa de recorrência é alta, é que achamos importante o uso de próteses para fechamento do anel hiatal usando princípios de ausência de tensão, moldando as telas ao tamanho do espaço entre os braços do músculo pilar medial e fixando a estes, sem aproximar, os braços do músculo. Resolvemos então estudar a prótese com e sem envolvimento com o omento maior, funcionando este como método de barreira para evitar erosão de órgãos vizinhos enquanto o processo de formação do colágeno se realizava.

Existem diversos autores procurando soluções plausíveis para estes casos com hiatos de difícil tratamento. Alguns deles tem proposto o reforço com uso de próteses, na maioria das vezes, reforçando a sutura dos braços do músculo pilar medial que tenha ficado com algum grau de tensão. Apesar disso são considerados métodos efetivos e podem ser uma opção no tratamento das grandes hérnias do hiato com estômago ou outros órgãos intra-torácicos (Carlson et al., 1998).

Essa situação, a nosso ver, reforça a sutura do hiato esofágico mas mantém a tela exposta, sujeita a contato com órgãos vizinhos e, portanto às complicações decorrentes desse fato. Targarana (2004), em contra posição, propôs uso de telas em casos selecionados, baseado na experiência clínica do cirurgião. Conclui que, à luz das atuais evidências, o uso de telas parece ser uma conduta salvadora e que os temores expressos no passado não tem sido tão frequentes.

Não existe portanto, um consenso sobre o uso e menos ainda sobre o tipo de material que possa melhor ser usado como prótese. Várias opções foram testadas, para minimizar as complicações. Material como politetrafluoretileno tem textura suave e menor resposta fibrótica comparado com o polipropileno, porém, apresentam complicações semelhantes (Targarana, op. cit.).

Oelschlager et al. (2006) usaram material biológico para evitar a erosão, composto por submucosa do intestino de porcos (Surgisis®) este material é rapidamente degradado mas serve para formar uma matriz como base para crescimento de tecido fibroso. No entanto, tiveram recidiva e disfagia nos seus poucos casos, mostrando ser material de comportamento incerto, além do que, descrevem dificuldades nas suturas do mesmo por ser extremamente friável, consistindo em verdadeira película.

Outro tipo de tela recentemente testada (Ringley et al., 2006) é a Acellular Dermal Matrix (ACDM) que é derivada da derme humana e é biodegradável. Foram operados por esses autores 44 pacientes, 22 com cruroplastia simples e válvula anti-refluxo. Sintomas de disfagia foram iguais nos 2 grupos e houve recidiva da hérnia do hiato em 9% dos casos com uso de ACDM. Neste tipo de material (ACDM) que é derivado de tecido humano e composto por proteínas estruturalmente intactas, fibras colágenas e feixes de colágeno existe uma rápida revascularização e migração de um grande número de células que envolvem e promovem a total integração da tela dos tecidos vizinhos.

Estudos com biópsia e microscopia com Hematoxilina-Eosina mostraram total integração do material e portanto ausência da tela. Essa total incorporação da tela, evitando o tempo prolongado de exposição a um corpo estranho, parece ser vantajoso mas, o tecido neoformado precisa ser melhor estudado pois com 9% de recidiva a tão curto prazo nos sugere que a correção não tenha sido efetiva e a presença da tela possa ser indispensável. Necessita portanto de estudos a longo prazo.

Nossa opinião é que materiais com textura mais delicada provocam menos fibrose e, portanto, lesam menos as estruturas vizinhas no entanto, não formam um bloco que, revestido pelo colágeno se assemelharia à própria musculatura do diafragma. Então fechariam a abertura do hiato mas consistiriam numa região mais fraca e funcionalmente inoperante, sujeita a esgarçamento, provocando com o tempo recidiva das hérnias da crura diafragmática.

Em nossos experimentos, a tela de polipropileno foi a escolhida por ter rápida integração tecidual e isto foi mostrado no estudo em questão com 32,08 dias em média de pós-operatório. Os resultados histológicos e ultra-estruturais revelaram que a tela de polipropileno foi totalmente envolvida pelo tecido conjuntivo neoformado. Além disso, o baixo custo, o fácil manuseio e o fato de poder ser recortada adaptando-se a qualquer tipo de abertura do hiato também foi levado em consideração e constitui um fator positivo.

Outro aspecto muito importante observado em nossos resultados é que a formação de fibrose ocorre num curto período e que sabidamente as telas de PTFE demoram mais a provocar sua formação. Frantzides *et al.* (2002), em estudo prospectivo e randomizado estudaram 72 pacientes com hiato de 8,0 cm ou mais de diâmetro. Os autores após seguimento médio de 3,3 anos observaram 22% de recidiva no grupo com hiatoplastia simples e zero naqueles em que a sutura foi recoberta com prótese circular de PTFE.

Por outro lado, Oelschlager *et al.* (op. cit.) conduziram estudo multicêntrico, prospectivo e randomizado com uso de tela de material biológico submucosa de intestino delgado suíno (Surgisis®, Cook Surgical) em hiatos maiores de 5 cm e tiveram recorrência em 24% do grupo com sutura primária e 9% no grupo com prótese (pouco tempo de seguimento). Parece, portanto, fato inconteste que a taxa de recidiva com próteses é menor nestas grandes aberturas do hiato diafragmático.

A recorrência, a disfagia, a migração da tela e erosões viscerais, além de infecção é o que a literatura mostra. Falta saber o comportamento em nível tecidual, se a tela fica intacta ou se retrai? Migra? Qual tipo de componente do tecido conjuntivo mais prolifera? Os nossos resultados revelaram que com o estudo macroscópico nestes 24 animais tivemos dados muito diferentes nos dois grupos experimental e controle, quanto à formação de aderências sendo que o anteparo de Omento não deixou haver aderências firmes exteriormente, ao contrário do Grupo 2, com formação de aderências firmes aos órgãos vizinhos. Porém, junto a superfície da tela o comportamento foi muito parecido com o colágeno tipo I (maduro) predominando ao redor dos fios e o restante sendo coberto por colágeno tipo III (imaturo).

Os resultados histológicos bem como os ultra-estruturais demonstraram que o tecido neoformado ao redor do grupo formado por polipropileno, envolveu os fios de

maneira firme e circunferencial. A gordura externa do omento maior foi preservada não sofrendo processo de fibrose total, necrose ou degeneração.

Aos cortes da microscopia de luz e com a coloração com Picrosirius apareceram traves entre o tecido adiposo de deposição de colágeno, o que pode nos fazer pensar que o processo de fibrose futuramente poderá envolver também os adipócitos. Os estudos morfométricos, quantificando o colágeno neo-formado junto a tela de polipropileno, vieram demonstrar que não houve variações estatísticas significativas quanto aos achados, o que nos permite concluir que a técnica proposta de revestimento da tela com omento maior tem resolução biológica semelhante a técnica convencional com o uso da tela, sem proteção, durante o período de 32,8 dias.

Fica porém a ressalva de que no período médio de 32,08 dias o omento maior serviu como método de barreira permitindo a cicatrização da tela com envolvimento total com tecido conjuntivo. Há uma descrição de Dutta (2007) que relatou um caso de uma criança de 12 anos de idade em que houve migração da prótese hiatal para o interior do esôfago 9 anos após a cirurgia inicial. Por outro lado, há relatos cada vez mais freqüentes de necrose gástrica e de outros órgãos por migração da válvula e volvo ou torção organo-axial intratorácica levando a casos de extrema gravidade, causados por deiscência ou esgarçamento das hiatoplastias.

Essas situações de comportamento incerto das próteses é que nos faz acreditar que, um método de barreira, mesmo que temporário, permite uma cicatrização com total envolvimento do material por colágeno. Uma vez firmemente integradas essas próteses teriam menos possibilidade de migração, permaneceriam no local como matriz, resistentes que são, impedindo o esgarçamento, deiscência, lesão dos órgãos circunvizinhos e por fim recidivas indesejadas. Portanto o polipropileno seria esse elemento por suas características e ampla utilização em outros locais do organismo.

Em síntese, verifica-se que a tela de polipropileno já vem sendo usada para cobertura ou barreira, sobretudo livre de tensão, na correção de grandes hernias hiatais, mas tem-se associado com estenose esofágica, erosão da parede de órgãos vizinhos e migração da tela para o interior do tubo digestivo, fistulas digestivas, e infecção da parede abdominal, migração da válvula para o tórax, além de aderência a estruturas vizinhas. Na nossa casuística o comportamento entre o Grupo 1

(experimento) e o Grupo 2 (só tela) foi totalmente diverso no que diz respeito as aderências, muito embora tenha ocorrido nos dois Grupos. Os achados cirúrgicos macroscópicos mostraram que no Grupo 1, em que as aderências foram provocadas pela fixação do Omento pediculado, com vascularização previamente selecionada para manter sua viabilidade, a liberação dos órgãos vizinhos foi mais fácil quando do sacrifício do animal, sugerindo um caráter mais frouxo (Grau II de Shimanuki). No Grupo 2 as aderências foram diretas da tela aos órgãos vizinhos e sua liberação muitas vezes provocou esgarçamento, sangramentos leves demonstrando ligações mais firmes a estas estruturas (Grau III de Shimanuki). Há também relatos de fechamento do peritônio sobre a tela na correção de hernias incisionais (Dinsmone et al., 1999 e 2000), bem como a observação de que o Omento poderia ser usado para reforço em orifícios herniários nas herniorrafias e como protetor de anastomoses intestinais, e ademais, possui mobilidade, propriedade absorviva, estimula a neovascularização, e potencializa o processo cicatricial (Morison, 1906; Carter et al., 1972; Adams et al., 1992; Amid et al., 1994; Grecca et al., 1998). Portanto fica demonstrada a viabilidade do uso de próteses de polipropileno no hiato esofágico de coelhos, com e sem Omento, durante o período estudado, o que nos permite inferir que novas pesquisas poderão ser efetuadas comparando outros tipos de prótese e, principalmente estudando períodos de tempo mais prolongados, ou aguardando a morte natural dos animais, para analisar alterações colaterais de maior ou menor monta em relação a técnica cirúrgica convencional do uso de reparos do hiato esofágico com telas.

6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos com a utilização de prótese de polipropileno experimentalmente fixada sem tensão ao hiato esofágico de coelhos e envolta em Omento maior pediculado, comparada com o uso da tela sem o método de barreira nos permitiu concluir que:

- A superfície de integração entre a tela de polipropileno e o tecido conjuntivo junto ao hiato esofágico foi similar no Grupo 1 (tela de omento maior) e no Grupo 2 (somente tela fixada ao hiato) e o período estudado foi suficiente para que ocorresse o envolvimento total da prótese pelo colágeno, portanto a técnica cirúrgica proposta apresentou o mesmo comportamento biológico das técnicas convencionais com colocação de próteses sem barreira de proteção, sugerindo que este coxim gorduroso pode ser usado na tentativa de minimizar os efeitos deletérios da tela enquanto ocorre a cicatrização. Com base nestes elementos vislumbra-se um horizonte de pesquisas que venham a comprovar a longo prazo a eficiência desta proposta cirúrgica uma vez que os resultados obtidos neste período (32,08 dias) foram satisfatórios.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acquarone, D. Hérnia do Hiato Esofágico (contribuição para seu estudo). Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1967.
- Acquarone, D. In Clinica Cirúrgica A. C. Netto. v.4:77-99, 1974.
- Adams, W.; Ctercteko, G. & Bilous, M. Effect of an omental wrap on the healing and vascularith of compromised intestinal anastomoses. Dis. Colon. Rectym., 35:731-738, 1992.
- Allison, P. R. Reflux esophagitis, sliding hiatal hernia, and anatomy of repair. Surg. Gyn. Obst., 92:419, 1951.
- Alponet, A.; Lakshminarasappa, S.; Teh, M.; Rajnavoka, A.; Moochralla, S. & Goh, P. M. Y. Effects of physical barriers in prevention of adhesions. An incisional hernia model in rats. J. Surg. Res., 68(2):126-132, 1997.
- Amid, P. K.; Shulman, A. G.; Lichtenstein, I. L.; Sostin, S.; Young, J. & Hakakha, M. Experimental evaluation of a new composite mesh with selective propriety of incomparation to the abdominal wall without adhering to the intestines. J. Biomed. Mater. Res., 28:373-5, 1994.
- Batista, M. L.; Bonsack, M. E. & Felenovicius, J. Abdominal adhesions to prosthetic mesh evaluated by laparoscopic and eletron microscopy. J. Am. Coll. Surg., 190(3):271-280, 2000.
- Bernstein, L. M & Baker, L. A. A clinical test for esophagitis. Gastroenterology, 34:760, 1958.
- Boyd, D. P. Thoraco abdominal repair of esophageal hiatus hernia. Surg. Gyn. Obst., 110:245, 1959.
- Carter, D. C.; Jenkins, D. H. R. & Whitfield, H. N. Omental reinforcement of intestinal anastomoses. An experimental study in the rabbit. Br. J. Surg., 59:129-33, 1972.
- Collis, J. L.; Kelly, T. D. & Wiley, A. M. Anatomy of the crura of the diaphragm and the surgery of hiatus hernia. Thoren, 9:175-189, 1954.
- Curley, A. C.; Weaver, W.; Wilkinson, L. H. & Demarest, G. B. Late complications after gastric reservoir reduction with external wrap. Arch. Surg., 122:781-783, 1987.
- Dallemagne, B.; Weerts, J. M.; Jehaes, C. & Marchiemicz, S. Causes of failures of laparoscopic anti reflux operations. Surg. Endosc., 10:305-310, 1996.

- Dally, E. & Folk, G. L. Teflon pledget uniforced fundoplication causes symptomatic gastric and esophageal penetration. *Am. J. Surg.*, 187:226-229, 2004.
- DeMeester, T. R.; Hubert, J. & Stein, H. J. Minimizing the side effects of the anti reflux operations. *World J. Surg.*, 16:335-336, 1992.
- Dinsmone, R. C. & Carlton JR., W. C. Prevention of adhesions to polypropilene mesh in a rabbit model. *Am. Surg.*, 65(4):383-387, 1999.
- Dinsmone, R. C.; Carlton JR., W. C.; Harvey, S. B. & Blaney, M. W. Prevention of adhesions to polypropilene mesh in a traumatized bowel model. *J. Am. Coll. Surg.*, 191:131-136, 2000.
- Dutta, S. Prosthetic esophageal erosion after mesh hiatoplasty in a child removed by transabdominal endogastric surgery. *J. Pediatr. Surg.* 42:252-6. 2007.
- Edwards, D. A. W. The anti reflux mechanisms, its disorders and their consequences. *Clinics in Gastroenterology*, 11(3):479-496, 1982.
- Edelman, D. S. Lapanescopic paraesophagial hernia repair with mesh. *Surg. Laparose. Endos.*, 5:32-37, 1995.
- Felix, V. N. Hiato plastia: estudo experimental em coelhos. Tese. FMUSP. 1982.
- Ferreira, A. B. H. Novo dicionário da língua portuguesa. Rio de Janeiro. Editora Nova Fronteira, 1986. 45p.
- Fonseca, N. M.; Goldenberg, S.; Gomes, P. O. & Paula Lima, C. A. Anestesia em coelhos. Artigo de revisão. *Acta Cir. Bras.*, 11(2):82-104, 1996.
- Frantzides, C. T.; Madan, A. K.; Carlson, M. A. & Stravopoulos, G. P. A prospective, randomized trial of laparoscopic polytetra fluoroethylene (PTFE) patch repair vs. simple cruroplasty for large hiatal hernia. *Arch. Surg.*, 137:649-652, 2002.
- Goldstein, J. L.; Schlesinger, P. K. & Wozwecz, H. L. Esophageal mucosal resistance. A factor in esophagitis. *Gastroent. Clin. N. Am.*, 19(3):565-586, 1990.
- Granderath, F. A.; Kamolz, T.; Schweiger, U. M. & Pointner, R. Laparoscopic refundoplication with prosthetic hiatal closure for recurrend hiatal hernia after primary failed anti reflux surgery. *Arch. Surg.*, 138(Aug.):902-7, 2003.
- Granderath, F. A.; Schweiger, U. M.; Kamolz, T.; Pasiut, M.; Haas, C. F. & Pointner, R. Laparoscopic anti reflux surgery whit routine mesh – hiato plasty in the treatment of gastroesophageal reflux disease. *J. Gastroent. Surg.*, 6:347-53, 2002.

- Greca, F. H.; Biondo-Simões, M. L. P.; Souza-Filho, Z. A.; Silva, A. P. G.; Nassif, A. E. & Costa, P. B. Ação do omento na cicatrização de anastomoses colônicas. Estudo experimental em ratos. *Acta Cir. Bras.*, 13(3): Jul./Aug./Sept., 1998.
- Harrington, S. W. Diaphragmatic hernia. Symptoms and surgical treatment in sixty cases. *J.A.M.A.*, 101:987, 1933.
- Harrington, S. W. Esophageal hiatal diaphragmatic hernia. *Surg. Gyn. Obst.*, 100:277-292, 1955.
- Harris, H. F. On the rapid conversion of haematoxylin into haematein in staining reactions. *Journal of Applied Microscopic Laboratory Methods*, 3:777. 1900.
- Hiebert, C. A. & Belsey, R. Incompetency of the gastric cardia, without radiologic evidence of hiatal hernia. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 42:352, 1961.
- Hill, L. D.; Tobias, J. & Morgan, E. H. Newer concepts of the pathophysiology of hiatal hernia and esophagitis. *Amer. J. Surg.*, 111:70, 1966.
- Kirschner, M.; Guleke, N. & Zenker, R. In *Tratado de Técnica Operatória General Y Especial Tomo VII. Segunda Parte: Editorial Labor, S.A. – Cuarta Edicion Española - 1963, Barcelona – Madrid. (Traducion de la 2ª Edicion Alemana).*
- Lichtenstein, I. L. *Hernia repair disability*, ed. 2 St Louis, Tokyo, Ishigaku. Euroamerica, 1986.
- Lichtenstein, I. L. Immediate ambulation and return to work following herniorraphy. *Industrial Medicine and Surgery*, 35:754-759, 1966.
- Lichtenstein, I. L.; Shulman, A. G. & Amid, P. K. The tension free hernioplasty. *Am. J. Surg.*, 157:188-193, 1989.
- Lilly, M. P.; Slafsky, S. F. & Thompson, W. R. Intraluminal migration of the angelchik anti reflux prosthesis. *Arch. Surg.*, 119:849-853, 1984.
- Lind, F. J.; Burns, M. C. & Mac Dougall, T. J. “Physiological” repair for hiatus hernia. Manometric study. *Arch. Surg.*, 91:233, 1965.
- Lopes, R. W. *Fisiopatologia do refluxo gastroesofágico em doença do refluxo gastroesofágico. Ano II, vol. III Clínica Brasileira de Cirurgia – SBC Atheneu. 2001.*
- Lortat-Jacob, J. L.; Maillard, J. N. & Fékété, F. A propos de 221 interventions pour hernia par l'hiatus oesophagien chez l'adult. *Ann. Surg.*, 16:985, 1962.

- Madden, J. W. & Peacock Jr., E. E. Studies on the biology of collagen during wound healing: III. Dynamic metabolism of sear collagen and remodeling of dermal wounds. *Am. Surg.*, 174:511, 1971.
- Malafaia, O.; Nassif, P. A. N. & Ribas Filho, J. M. Migração da fundoplicatura: profilaxia em atualização em cirurgia do aparelho digestivo e coloproctologia. São Paulo: Departamento de Gastroenterologia da FMUSP, 2004.
- Mittal, R. K.; Sivri, D. & Schirmer, B. D. Effect of crural myotomy on the incidence and mechanism of gastroesophageal reflux in cats. *Gastroenterology*, 105:740-747, 1993.
- Moraes-Filho, J. P. P.; Cecconello, I.; Gama-Rodrigues, J. J.; Henry, M. A.; Meneghelli, U. G. & Quigley, E. Brazilian consensus on gastroesophageal reflux disease: proposals for assessment, classification and management. *Am. J. Gastroenterology*, 97:241-8, 2002.
- Moraes-Filho, J. P. P.; Chinzon, D. & Eisig, J. M. Prevalence of heartburn and gastroesophageal reflux disease in the urban Brazilian populations. *Gastroenterology*, 124:4(suppl. 1):166. 2002.
- Morison, R. Remarks on some functions of the omentum. *Brit. Med. J.*, 1:76, 1906.
- Murakami, T. A revised tannin-osmium method for noncoated scanning electron microscope specimens. *Arch. Histol. Jpn.*, 36:189-193, 1974.
- Nasi, A.; Moraes-Filho, J. P. P. & Cecconello, I. Doença do refluxo gastroesofágico: revisão ampliada *Arquivos de Gastroenterologia* nº 4, 43:334-341, 2006.
- Nasi, A.; Moraes-Filho, J. P. P.; Zilberstein, B.; Cecconello, I.; Gama-Rodrigues, J. J. & Pinotti, H. W. Gastroesophageal reflux disease: clinical, endoscopic and intraluminal esophageal pH monitoring evaluation. *Dis. Esophagus*, 14:41-9, 2001.
- Nissen, R. & Rossetti, M. Chyrurgie de la hernie hiatale et du syndrome de reflux. La fundoplicature et la gastropexie. *J. Chr.*, 83:659, 1962.
- Nissen, R. Einige allgemein interessierende Fragen aus der Chirurgie des Herzens. *Shweiz. Med. Wehnschr.*, 67:861, 1937.
- Nissen, R. Gastropexy as the lone procedure in the surgical repair of hiatus hernia. *Amer. J. Surg.*, 92:389, 1956.
- Oelschlager, B. K.; Pellegrini, C. A.; Hunter, J.; Soper, N. ; Brunt, M.; Sheppard, B.; Jobe, B.; Polissar, N.; Swanstrom, L. Biologic prothesis reduces recurrence after

- laparoscopic paraesophageal hernia repair. A multicenter, prospective, randomized trial. *Ann. Surg.*, 244(4):481-490. 2006.
- Orlando, R. C. Esophageal epithelial defenses against acid injury. *Am. J. Gastroent.*, 89(8):548-552, 1994.
- Ott, D. J.; Gelfand, D. W. & Chen, Y. M. Gastroesophageal reflux disease. *Radiol. Clin. N. Am.*, 32(6):1147-1166, 1994.
- Petroianu, A. Aspectos éticos na pesquisa em animais. *Acta Cir. Bras.*, 11:157-64, 1996.
- Raia, A.; Pinotti, H. W.; Gama-Rodrigues, J. J. & Ellenbogen, G. Tratamento cirúrgico da hérnia hiatal com reforço do anel diafragmático, por meio de implante de Dura-Mater. *Revta Paul. Med.*, 84:88-90, 1974.
- Reynolds, E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, 17:208, 1963.
- Richardson, J. D.; Larson, G. M. & Polk, M. C. Intra thoracic fundoplication for shortened esophagus: Treacherous solution to a challenging problem. *Am. J. Surg.*, 149:29, 1982.
- Ringley, C. D.; Bochkorev, V.; Ahmed, S. I.; Vitamvas, M. L.; Oleynikov, D. Laparoscopic hiatal hernia repair with human dermal matrix patch: our initial experience. *Am. J. of Surgery*. V.192, Issue 6 (December, 2006).
- Rocha, J. M. R.; Ceconello, I.; Felix, V. N.; Sallum, R. A. A.; Oliveira, M. A. & Gama-Rodrigues, J. Tratamento cirúrgico da DRGE: aspectos técnicos e detalhes anátomo cirúrgicos – atualização em cirurgia de aparelho digestivo – *Gastro* 2003. p. 33-39.
- Sarosiek, J.; Hetzel, D. P. & Yo, Z. Evidence on secretion of epidermal growth factor by the esophageal mucosa in humans. *Am. J. Gastroenterology*, 88(7):1084-87, 1993.
- Schanaider, A. & Silva, P. C. Uso de animais em cirurgia experimental. *Acta Cir. Bras.*, 19(4):July/Aug., 2004.
- Shimanuki, T., Nishimura, K.; Montes, F. J. & Zenega, G. S. Localized prevention of post surgical adhesion formation and reformation in oxidized regenerated cellulose. *J. Biomed Mater. Res.*, 22:173-85, 1987.
- Shirazi, S.; Zike, W. L.; Amuras, S.; Condon, R. E. & DenBeanten, L. Nissen fundoplication without crural repair. *Arch. Surg.*, 108:424, 1974.

- Sonnenberg, A. & El-Serag, H. B. Clinical epidemiology and natural history of gastroesophageal reflux disease. *Yale J. Biol. Med.*, 72:81-9, 1999.
- Subramanyan, K. & Robbins, H. T. Erosion of marlex band and silastic ring into the stomach after gastroplasty: endoscopic recognition and management. *Am. J. Gastroenterol.*, 84:1319-1321, 1989.
- Sweet, R. H. The repair of hiatus hernia of the diaphragm by the supradiaphragmatic approach. *New England, J. Med.*, 238:649, 1948.
- Targarona, E. M.; Bendahan, G.; Balagene, C.; Ganiga, J. & Trias, M. Revision de conjunto mallas en el hiato una controversia no solucionada. *Cirugia Española*, 75(3):105-116, 2004.
- Tittel, A.; Treutner, K. H.; Titkova, S.; Ottinger, A. & Schumpelick, V. New adhesion formation after laparoscopic and conventional adhesiolysis: a comparative study in rabbit. *Surg. Endosc.*, 15:44-46, 2001.
- Torquati, A. & Lutfi, R. Laparoscopic fundoplication: is it worthwhile in patients with persistent GERD symptoms despite PPI therapy? (Abstract) *DDW 2004*. 126(suppl. 2):A330, 2004.
- Toupet, A. Technic of esophago-gastroplasty whit phrenogastropexy used in radial treatment of hiatal hernia as a supplent to Heller's operation in cardiospasm. *Mem. Acad. Chir., Paris*, 89:384, 1963.
- Watanabe, I. & Yamada, E. Fine structure of lamellated nerve endings found in rat gingiva. *Arch. Hist. Jap.*, 46:173-182, 1983.
- Watson, M.L. Stainning of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 4:478,1958.
- Winkelstein, A. Peptic esophagitis: a new clinical entity. *J.A.M.A.*, 104:906, 1935.
- Zilberstein, B.; Eshkenazy, R.; Pajacki, D.; Granja, C. & Brito, A. C. G. Laparoscopic mesh repair anti reflux surgery for treatment of large hiatal hernia. *Dis. of the esophagus*, 18:166-169, 2005.