ENIO CAMPOS AMICO

Correção de defeitos ventrais em ratos com
próteses de polipropileno e politetrafluoroetileno
expandido: análises histológica, biomecânica
e da resposta aderencial

São Paulo

2005

ENIO CAMPOS AMICO

Correção de defeitos ventrais em ratos com
próteses de polipropileno e politetrafluoroetileno
expandido: análises histológica, biomecânica
e da resposta aderencial

Tese apresentada ao Departamento de
Gastroenterologia da Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para a
obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Cirurgia do Aparelho
Digestivo

Orientador: Prof. Dr. Fábio Pinatel Lopasso

São Paulo

2005

FICHA CATALOGRÁFICA

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

©reprodução autorizada pelo autor

Amico, Enio Campos

Correção de defeitos ventrais em ratos com próteses de polipropileno e politetrafluoroetileno expandido : análises histológica, biomecânica e da resposta aderencial / Enio Campos Amico. -- São Paulo, 2005.

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

Área de concentração: Cirurgia do Aparelho Digestivo.

Orientador: Fábio Pinatel Lopasso.

Descritores: 1.RATOS WISTAR 2.PAREDE ABDOMINAL/cirurgia
3.PRÓTESES E IMPLANTES 4.POLIPROPILENOS/uso terapêutico
5.POLITETRAFLUOROETILENO/uso terapêutico 6.BIOMECÂNICA
7.ADERÊNCIAS 8.COLÁGENO/análise 9.TÉCNICAS HISTOLÓGICAS

USP/FM/SBD-037/05

À CIBELE,

Por me fazer sentir amado,
desde o primeiro dia

À MARIA CAMPOS,

Por ter-me feito aprender nas
minhas maiores dificuldades

GAETANO AMICO (in memoriam)

Por ter estado próximo, mesmo que longe,
por todo o tempo que pôde

À CARLA

Por sempre ter me apoiado,
independente de tudo

EVERÇO E SAMUEL

Por tornarem grande, a nossa família

A SANDRO

Pela nossa amizade

Pela minha admiração

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Fábio Pinatel Lopasso, grande exemplo de cirurgião e pesquisador. Fonte incessável de conhecimento. Pela sua sempre presente, oportuna e competente orientação. Pelo convívio e preciosa amizade.

À Profa. Dra. Elia Garcia Caldini pela firme orientação nos mais importantes passos da tese. Grande exemplo de professor universitário. Contagiu-me com seu entusiasmo. Pela sua generosidade em me ter acolhido em seu conceituado laboratório.

Ao Prof. Dr. Joaquim Gama Rodrigues pela oportunidade em realizar esta tese na Disciplina de Cirurgia do Aparelho Digestivo.

Ao Prof. Dr. Flair José Carrilho pela oportunidade em utilizar o LIM 07 (Gastroenterologia Clínica) durante toda a pesquisa.

Ao Dr. Raul Bollinger Neto pela ajuda no desenvolvimento dos modelos para o estudo biomecânico.

À Dra. Cláudia Naves Battlehner pelas suas preciosas sugestões nas avaliações morfométricas do estudo.

Ao Sr. Marcelo Alves Ferreira pela colaboração e disponibilidade na contagem das lâminas.

Ao Sr. José Edson Pereira da Costa pela presença constante e sempre disponível em todas as etapas do trabalho realizadas no LIM 07.

À Sra. Vicência Mara Rodrigues de Lima pela colaboração nas cirurgias dos animais

Ao Sr. César Augusto Martins Pereira pela ajuda em todos os ensaios biomecânicos e pelas sugestões durante todo o desenvolvimento do trabalho.

Prof. Dr. Roger Chammas por ter disponibilizado a captação digital das imagens no LIM 24 (Oncologia Clínica).

À Cibele pelo auxílio na coleta bibliográfica e em algumas etapas dos experimentos.

À Dra. Adriana Bruscato pela acessibilidade e competência na análise estatística da tese.

Às bibliotecárias Sra. Valéria de Vilhena Lombardi e Sra. Maria de Lourdes Pucci, pelas preciosas informações.

Ao Sr. Fabiano Colella pelo fornecimento das próteses de PTFEe (Gore-tex).

Ao casal Sérgio e Maria Cecília Machado. por terem me acolhido em sua casa durante todo o período da realização desta tese

“ Quem passou pela vida em branca nuvem,
E em plácido repouso adormeceu;
Quem não sentiu o frio da desgraça,
Quem passou pela vida e não sofreu,
Foi espectro de homem, não foi homem,
Só passou pela vida, não viveu.”

Francisco Otaviano

Esta dissertação está de acordo com:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação
Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação, 2004.

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

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Lista de Gráfico

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 USO DE PRÓTESES EM CIRURGIAS DE DEFEITOS DA PAREDE ABDOMINAL	2
1.2 RESPOSTA TECIDUAL À PRÓTESE.....	5
1.3 COLÁGENO	10
1.4 RESISTÊNCIA À TRAÇÃO EM CICATRIZES	15
1.5 ADERÊNCIA INDUZIDA PELA PRÓTESE	18
1.6 ESTUDOS COMPARATIVOS ENTRE AS PRÓTESES DE POLITETRAFLUOROETILENO EXPANDIDO E POLIPROPILENO	24
2. OBJETIVOS	28
3.MÉTODOS.....	30
3.1 ANIMAIS.....	31
3.2 LOCAL	31
3.3 PRÓTESE	32
3.4 MODELOS EXPERIMENTAIS.....	32
3.5 EUTANÁSIA	38
3.6 ESTUDO HISTOLÓGICO	39
3.7 ESTUDO DA RESPOSTA ADERENCIAL	45
3.8 ESTUDO BIOMECÂNICO.....	47
3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	52
4.0 RESULTADOS	54
4.1 COMPLICAÇÕES CIRÚRGICAS	55
4.2 PESO DOS ANIMAIS.....	56
4.3 ESTUDO HISTOLÓGICO	58
4.4 ESTUDO DA RESPOSTA ADERENCIAL	68
4.5 ESTUDO BIOMECÂNICO.....	72
5.0 DISCUSSÃO	78
5.1 COMPLICAÇÕES DA FERIDA CIRÚRGICA.....	83
5.2 AVALIAÇÃO HISTOLOGICA.....	84
5.3 AVALIAÇÃO BIOMECÂNICA.....	92
5.4 AVALIAÇÃO DA RESPOSTA ADERENCIAL	98
5.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	104
6.0 CONCLUSÕES.....	105
7.0 REFERÊNCIAS.....	107
Apêndice	

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 ESQUEMA DA REAÇÃO ORGÂNICA A UM CORPO ESTRANHO	9
FIGURA 2 ESQUEMA ILUSTRANDO A POSIÇÃO FINAL DOS FRAGMENTOS DE PRÓTESES IMPLANTADAS EM POSIÇÃO SUBPERITONEAL	33
FIGURA 3 ESQUEMA ILUSTRANDO A POSIÇÃO FINAL DA PRÓTESE EM CONTATO COM A CAVIDADE ABDOMINAL	35
FIGURA 4 ESQUEMA ILUSTRANDO O ASPECTO DA CORREÇÃO DE DEFEITO ABDOMINAL COM IMPLANTE SUBPERITONEAL DE PRÓTESE DE POLIPROPILENO.....	36
FIGURA 5 ESQUEMA REPRESENTANDO O CONTIGENTE MÚSCULO-APONEURÓTICO-PERITONEAL DA PAREDE ABDOMINAL INCISADO E SUTURADO COM 3 PONTO.....	37
FIGURA 6 CORTE HISTOLÓGICO DE UM FRAGMENTO DE TECIDO OBTIDO DA REGIÃO DO IMPLANTE SUBPERITONEAL DE POLIPROPILENO	41
FIGURA 7 FIGURA DEMONSTRANDO IMAGENS DIGITAIS OBTIDAS NO ESTUDO DA FRAÇÃO DE VOLUME DE FIBRAS COLAGÊNICAS DE UM FRAGMENTO DE TECIDO OBTIDO DA REGIÃO DO IMPLANTE SUBPERITONEAL DE PTFE.....	44
FIGURA 8 FOTOGRAFIA MOSTRANDO A PAREDE ABDOMINAL REBATIDA EM ANIMAL SUBMETIDO A IMPLANTE DE PP	46
FIGURA 9 ESQUEMA DA DIVISÃO DA PRÓTESE EM 4 QUADRANTES PARA ESTIMATIVA DA ÁREA ADERIDA	47
FIGURA 10 FOTOGRAFIA DE TIRA DE PAREDE ABDOMINAL OBTIDA DE UM ANIMAL SUBMETIDO A IMPLANTE DE POLIPROPILENO	48
FIGURA 11 FOTOGRAFIA DO MEDIDOR DE ALTURA UTILIZADO PARA AFERIÇÃO DA ESPESSURA DAS TIRAS	49
FIGURA 12 FOTOGRAFIA DA MÁQUINA UNIVERSAL DE ENSAIOS MECÂNICOS ACOPLADO AO MICROCOMPUTADOR	50
FIGURA 13 FOTOGRAFIA DA TIRA DE PAREDE ABDOMINAL OBTIDA DE UM ANIMAL SUBMETIDO A IMPLANTE PROTÉTICO, FIXADA ÀS GARRAS E MONTADA NA MÁQUINA UNIVERSAL DE ENSAIOS MECÂNICOS	52
FIGURA 14 A 17 CORTES HISTOLÓGICOS CORADOS PELO PICROSSÍRIUS-HEMATOXILINA E ANALISADOS SOB LUZ CONVENCIONAL.....	61
FIGURA 18 A 20 CORTES HISTOLÓGICOS CORADOS COM PICROSSÍRIUS-HEMATOXILINA OBSERVADOS SOB LUZ POLARIZADA	62
FIGURA 21 FOTOGRAFIA MOSTRANDO A ADERÊNCIA DE INTESTINO DELGADO À PRÓTESE DE POLIPROPILENO IMPLANTADA EM ANIMAL SUBMETIDO À CORREÇÃO DE DEFEITO ABDOMINAL E SACRIFICADO COM 1 SEMANA DE PÓS-OPERATÓRIO.....	70

FIGURA 22	EXEMPLO DE GRÁFICOS [FORÇA (N) X DEFORMAÇÃO (MM)] OBTIDOS NO ENSAIO DE	
	TRAÇÃO DAS TIRAS OBTIDAS EM ANIMAIS SUBMETIDOS A IMPLANTE PROTÉTICO	74

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	COMPLICAÇÕES DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO NOS ANIMAIS SUBMETIDOS À CORREÇÃO DE DEFEITOS CIRÚRGICOS ABDOMINAIS.....	55
TABELA 2	RESULTADOS DA ANÁLISE ESTATÍSTICA (TESTE QUI-QUADRADO) DAS COMPLICAÇÕES CIRÚRGICAS (ÍNDICE TOTAL DE COMPLICAÇÕES E ÍNDICE DE INFECÇÃO DAS PRÓTESES) NOS GRUPOS SUBMETIDOS À CORREÇÃO DE DEFEITOS ABDOMINAIS.....	56
TABELA 3	RESULTADOS DA ANÁLISE ESTATÍSTICA (TESTE KRUSKAL-WALLIS) DA COMPARAÇÃO ENTRE O PESO DOS ANIMAIS EM CADA MOMENTO DE EUTANÁSIA	57
TABELA 4	RESULTADOS DA ANÁLISE ESTATÍSTICA (TESTE MANN-WHITNEY) DA FRAÇÃO DE VOLUME DE TECIDO INFLAMATÓRIO EM DIFERENTES MOMENTOS APÓS O IMPLANTE DE PRÓTESES DE PP E PTFEE	64
TABELA 5	RESULTADOS DA ANÁLISE ESTATÍSTICA (TESTE MANN-WHITNEY) DA FRAÇÃO DE VOLUME DE FIBRAS COLAGÊNICAS EM DIFERENTES MOMENTOS APÓS O IMPLANTE DE PRÓTESES DE PP E PTFEE	65
TABELA 6	RESULTADOS DA ANÁLISE ESTATÍSTICA (TESTE MANN-WHITNEY) DO GRAU DE AGREGAÇÃO DO COLÁGENO NOS ANIMAIS SUBMETIDOS À CORREÇÃO DE DEFEITOS ABDOMINAIS COM PRÓTESES DE PP E PTFEE E SACRIFICADOS EM DIFERENTES MOMENTOS DE PÓS-OPERATÓRIO.....	67
TABELA 7	RESULTADOS DA ANÁLISE ESTATÍSTICA (TESTE KRUSKAL-WALLIS) DA ÁREA DE PRÓTESE ADERIDA À PRÓTESE NOS GRUPOS DE ANIMAIS SUBMETIDOS À CORREÇÃO DE DEFEITOS ABDOMINAIS COM PRÓTESES DE PP OU PTFEE SACRIFICADOS DIFERENTES MOMENTOS DE PÓS-OPERATÓRIO	69
TABELA 8	RESULTADO DA ANÁLISE ESTATÍSTICA (TESTE QUI-QUADRADO) DO NÚMERO DE ANIMAIS SUBMETIDOS À CORREÇÃO DE DEFEITOS ABDOMINAIS COM PRÓTESES DE PP E PTFEE DE CADA GRUPO COM ADERÊNCIA DE ÓRGÃOS EM DIFERENTES MOMENTOS DE PÓS-OPERATÓRIO	71
TABELA 9	RESULTADOS DA ANÁLISE ESTATÍSTICA (TESTE MANN-WHITNEY) DA FORÇA MÁXIMA NOS ENSAIOS MECÂNICOS DE TRAÇÃO DOS ANIMAIS SUBMETIDOS À CORREÇÃO DE DEFEITOS ABDOMINAIS COM PRÓTESES DE PP E PTFEE	76

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 GRÁFICO REPRESENTATIVO DA MÉDIA DO PESO (G) DOS ANIMAIS EM CADA GRUPO DO ESTUDO EM CADA MOMENTO DO PÓS-OPERATÓRIO	57
GRÁFICO 2 VALORES MÉDIOS DE FRAÇÃO DE VOLUME (EM PORCENTAGEM DO VOLUME TOTAL DO COMPARTIMENTO DE REFERÊNCIA) CORRESPONDENTES AO TECIDO INFLAMATÓRIO NOS FRAGMENTOS DE TECIDO OBTIDOS NAS DIFERENTES SEMANAS APÓS O IMPLANTE PROTÉTICO DE POLIPROPILENO OU POLITETRAFLUOROETILENO EXPANDIDO	63
GRÁFICO 3 VALORES MÉDIOS DA FRAÇÃO DE VOLUME DE FIBRAS COLAGÊNICAS (EM PORCENTAGEM) NO TECIDO REACIONAL AO IMPLANTE DAS PRÓTESES DE POLIPROPILENO E POLITETRAFLUOROETILENO EXPANDIDO (COMPARTIMENTO DE REFERÊNCIA) NAS DIFERENTES SEMANAS DE PÓS-OPERATÓRIO	65
GRÁFICO 4 MÉDIA DOS VALORES ESTIMADOS PARA ESCORE DO GRAU DE AGREGAÇÃO DO COLÁGENO NOS FRAGMENTOS DE TECIDO OBTIDOS NAS DIFERENTES SEMANAS APÓS O IMPLANTE DE POLIPROPILENO OU POLITETRAFLUOROETILENO EXPANDIDO	67
GRÁFICO 5 MÉDIAS DAS PORCENTAGENS DE ÁREA DE PRÓTESE ADERIDA NOS ANIMAIS COM DEFEITOS ABDOMINAIS CORRIGIDOS COM PRÓTESES DE PP E PTFE E SACRIFICADOS EM DIFERENTES MOMENTOS DE PÓS-OPERATÓRIO.....	69
GRÁFICO 6 NÚMERO DE ANIMAIS COM ADERÊNCIAS DE ÓRGÃOS ABDOMINAIS EM CADA GRUPO DE DEFEITOS ABDOMINAIS CORRIGIDOS COM POLIPROPILENO OU POLITETRAFLUOROETILENO EXPANDIDO E SACRIFICADOS EM DIFERENTES MOMENTOS DO ESTUDO.....	71
GRÁFICO 7 GRÁFICO DEMONSTRANDO A MÉDIA DAS ESPESSURAS DA PAREDE ABDOMINAL DAS TIRAS OBTIDAS APÓS O SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS NOS GRUPOS SUBMETIDOS AO ENSAIO DE TRAÇÃO.....	72
GRÁFICO 8 NÚMERO DE ANIMAIS NOS QUAIS, DURANTE O ENSAIO DE TRAÇÃO, OBSERVOU-SE RUPTURA NO MÚSCULO, FORA DA REGIÃO DA CICATRIZ. APENAS OS GRUPOS SUBMETIDOS À CORREÇÃO DE DEFEITOS ABDOMINAIS COM IMPLANTE PROTÉTICO (GPP E GPTFE) ESTÃO DEMONSTRADOS	73
GRÁFICO 9 VALOR MÉDIO DAS FORÇAS MÁXIMAS OBTIDAS NO ENSAIO DE TRAÇÃO DE TIRAS OBTIDAS DOS GRUPOS DE ANIMAIS SUBMETIDOS AO ESTUDO BIOMECÂNICO (GI, GS, GPP E GPP) NOS DIFERENTES MOMENTOS DE PÓS-OPERATÓRIO.....	75

RESUMO

Amico EC. *Correção de defeitos ventrais em ratos com próteses de Polipropileno e Politetrafluoroetileno expandido: análise histológica, biomecânica e da resposta aderencial* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2005. 121 p.

Atualmente os defeitos herniários da parede abdominal são freqüentemente corrigidos com o uso de biomateriais. Embora utilizada com bons resultados há várias décadas, a prótese de Polipropileno (PP) tem implicado graves complicações decorrentes de aderências aos órgãos abdominais. A prótese de Politetrafluoroetileno expandido (PTFEe) tem reconhecidamente menor potencial aderencial; no entanto, dados obtidos de estudos biomecânicos deixam dúvida quanto a sua real eficiência na correção herniária. O objetivo do estudo foi comparar esses dois diferentes tipos de próteses na correção de defeitos ventrais produzidos em ratos Wistar, levando-se em consideração parâmetros histológicos, biomecânicos e da resposta aderencial. Para o estudo histológico um grupo de animais (n=21) foi submetido simultaneamente a implante subperitoneal de fragmentos de próteses de PP e PTFEe. Para o estudo comparativo da resposta biomecânica e aderencial entre as próteses, procedeu-se ao implante protético subperitoneal com PP (n=21) e PTFEe (n=21) para corrigir defeitos ventrais criados cirurgicamente envolvendo toda a espessura da parede abdominal dos animais. Para análise biomecânica, dois outros grupos de animais foram utilizados como controle: um grupo não submetido à cirurgia (n=15) e um grupo com correção de defeitos ventrais por meio de sutura (n=21). Todas as avaliações foram realizadas com 1, 2 e 4 semanas de pós-operatório e constituíram-se de: avaliação da resposta aderencial por meio de pesquisa da área de prótese aderida e incidência de aderência a órgãos, avaliação biomecânica por meio de ensaios de tração de tiras de parede abdominal e avaliação morfométrica do tecido inflamatório e das fibras colagênicas em cortes histológicos corados por Hematoxilina-eosina e pelo método da Picrossírius-polarização, respectivamente. Os resultados mostraram que: a fração de volume de tecido inflamatório no grupo PP na primeira, segunda e quarta semanas foi respectivamente: 20%, 9% e 4% enquanto no grupo PTFEe: 30%, 16% e 16%. Houve diferença estatística

na segunda e quarta semanas. A fração de volume de colágeno fibrilar no grupo PP foi respectivamente: 65%, 71% e 77%, na primeira, segunda e quarta semanas. No grupo PTFEe os valores foram: 55%, 66% e 68%, na primeira, segunda e quarta semanas. Da mesma forma, houve diferença estatística na segunda e quarta semanas. Na análise semi-quantitativa do grau de agregação de colágeno foi observado diferença estatística apenas primeira semana de pós-operatório a favor do PP ($3,24 \times 1,40$ $p=0,022$). As próteses induziram valores semelhantes de área aderida na primeira (67,85%-PP x 71,42%-PTFEe), segunda (60,71%-PP x 60,71%-PTFEe) e quarta semanas de pós-operatório (46,42% PP x 42,85% PTFEe). Quanto à presença de aderência a órgãos abdominais houve diferença entre as próteses apenas na primeira semana a favor do PTFEe: enquanto 85,7% dos animais no grupo PP apresentaram aderências à órgãos, esse índice foi de apenas 28,5% no grupo PTFEe. Os valores de força máxima obtidos nos ensaios biomecânicos de tração com a prótese de PP foram na primeira, segunda e quarta semanas: 20,54 N, 21,62 N e 26,23 N. No grupo PTFEe os valores na primeira, segunda e quarta semanas foram: 16,92 N, 23,12 N e 25,41 N. Foi observada diferença estatística na primeira semana de pós-operatório. A comparação entre os implantes protéticos de PP e PTFEe nas condições da presente pesquisa permitiu concluir: 1) A estimativa de área aderida à prótese foi semelhante independentemente do material implantado; 2) Com 1 semana de pós-operatório, o implante de PP demonstrou-se mais resistente aos ensaios biomecânicos de tração o que se correlacionou a um maior grau de agregação das fibras colagênicas nos tecidos implantados; 3) Com 1 semana de pós-operatório, os implantes de PTFEe induziram aderências as órgãos abdominais em um menor número de animais; 4) Com 2 e 4 semanas de pós-operatório o implante de PP induziu a uma menor infiltração de tecido inflamatório e a um maior depósito de colágeno fibrilar.

SUMMARY

Amico EC. *Repair of abdominal wall defects in rats with polypropylene and expanded polytetrafluoroethylene prostheses: histological, biomechanical and adhesion formation analyses* [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2005. 121 p.

Nowadays, abdominal wall defects are frequently repaired with biomaterials. Although utilized with good results for several decades, polypropylene mesh (PP) has been implicated with serious complications due to adhesion to the abdominal organs. It has been reported that prostheses of expanded polytetrafluoroethylene (ePTFE) mesh exhibit less adhesion formation potential; however, data obtained by biomechanical studies leave doubt as to its real efficiency in hernia repair. The objective of the present study was to compare these two types of mesh in the correction of ventral defects created in Wistar rats, taking into account histological and biomechanical parameters and the adhesion response. For the histological study, a group of animals ($n = 21$) was submitted simultaneously to subperitoneal implantation of fragments of PP and ePTFE mesh. For the comparative study of the biomechanical and adhesion response between the prostheses, subperitoneal implantation with PP ($n = 21$) and ePTFE mesh ($n = 21$) was performed to repair surgically created abdominal defects, involving all layers of the abdominal wall. In the biomechanical analysis, two other groups of animals were used for the control: a group not submitted to surgery ($n = 15$) and a group with abdominal wall defects repaired with sutures ($n = 21$). At postoperative weeks 1, 2 and 4, the following evaluations were performed: study of the adhesion response by measuring the incidence of adherence to organs and area of adhered prosthesis; biomechanical test of abdominal wall strips; and morphometric study of the inflammatory tissue and collagenic fibers in sections stained with hematoxylin-eosin and by Picrosirius-polarization technique. The results showed that: the inflammatory tissue volume in group PP at postoperative weeks 1, 2 and 4, respectively, was 20%, 9% and 4%; while in the group ePTFE the values were 30%, 16% and 16%. The difference was statistically significant in postoperative weeks 1 and 4. The collagen fibril volume in group PP was:

65%, 71% and 77%, in postoperative weeks 1, 2 and 4, respectively. In group ePTFE the values were: 55%, 66% and 68%. Likewise, there was a statistically significant difference in postoperative weeks 2 and 4. In the semi-quantitative analysis of the degree of collagen aggregation, a statistically significant difference was only observed in postoperative week 1, in favor of PP (3.24×1.40 , $p = 0.022$). The prostheses induced similar values for adhered area in postoperative week 1 (67.85%-PP vs. 71.42%-ePTFE), week 2 (60.71%-PP vs. 60.71%-ePTFE) and week four (46.42% PP vs. 42.85% ePTFE). Regarding the presence of adherence to abdominal organs, there was only a statistically significant difference between the prostheses in week one, in favor of ePTFE. While 85.7% of the animals in group PP presented adherence to organs, this index was only 28.5% in group ePTFE. The maximum force obtained in the biomechanical tests with the PP mesh was 20.54 N, 21.62 N and 26.23 N, in postoperative weeks 1, 2 and 4, respectively. In group ePTFE the values were 16.92 N, 23.12 N and 25.41 N. A statistically significant difference was observed in postoperative week 1. The comparison between PP and ePTFE prosthetic implants in the conditions of the present research enabled the conclusion that: 1) the estimated area adhered to the prostheses was similar, irrespective of the implanted material; 2) at postoperative week 1, the resistance to traction was higher when the repair was done with PP mesh, which was correlated to a higher degree of collagen fiber aggregation in the implanted tissues; 3) at postoperative week 1, fewer visceral adhesions were formed on ePTFE group of animals; and 4) at postoperative weeks 2 and 4, the PP implant induced a smaller infiltration of inflammatory tissue and a larger deposit of collagen fibrils.

1. INTRODUÇÃO

1.1 USO DE PRÓTESES EM CIRURGIAS DE DEFEITOS DA PAREDE

ABDOMINAL

A idéia de usar biomateriais na reconstrução dos defeitos da parede abdominal (DPA) não é nova. Em 1878, Theodore Billroth afirmou: “*se pudéssemos produzir artificialmente tecidos de densidade e resistência das fâscias e tendões, o segredo da cura radical da hérnia seria descoberto*” (Halsted*,1924 apud Read,1996). As próteses desenvolvidas e utilizadas até a primeira metade do século XX eram ineficazes e apresentavam importantes complicações devido, principalmente, a sua constituição metálica (Matthews, Kercher, 2002). Foi apenas a partir do final da década de 50 do século passado, com a introdução do polipropileno monofilamentar trançado, que as próteses passaram a ser utilizadas com sucesso pelos cirurgiões.

As próteses disponíveis em escala comercial e mais utilizadas atualmente no mundo são a prótese de Polipropileno (PP) e a prótese de Politetrafluoroetileno expandido (PTFEe) (Béllon et al., 1996a; Schachtrupp et al., 2003).

A Prótese de PP foi divulgada nos Estados Unidos da América em 1959, por Francis Usher (Usher, Gannon, 1959). Após ter obtido resultados ruins com os enxertos de dura-máter, Usher desenvolveu uma prótese plástica formada a partir de polímero cristalino de polietileno, denominada de Marlex[®] (Read, 2004). Importantes vantagens como flexibilidade, boa resistência à tração e à infecção, foram prontamente observadas por Usher em cirurgias experimentais realizadas em cães (Read, 2004). Apenas um ano após, 20% dos cirurgiões americanos haviam aderido ao uso do novo material (Adler, 1962). Em 1963, uma nova versão do material foi desenvolvida pelo mesmo cirurgião a

*Halsted WS. *Surgical papers by William Stewart Halsted*. Baltimore: John Hopkins; 1924

partir de um material de sutura: o polipropileno monofilamentar transformado em tela trançada (Read, 2004). O Marlex[®] é talvez a prótese mais utilizada em todo o mundo na correção dos DPA. Essa prótese é formada por uma retícula de monofilamentos de polipropileno com peso de 0,1522g/10cm² e densidade de 0,23g/cm³ (Kossovsky et al., 2001). O diâmetro dos filamentos é de 150µm e os poros da prótese medem 620 por 620µm (Woloson, Greisler, 2001).

A prótese de PTFEe é um polímero descoberto acidentalmente por Plunkett, em 1938, quando ao abrir um tanque de gás de politetrafluoroetileno (PTFE), encontrou-o sob forma cristalizada (De Bord, 1998). O próximo passo foi dado por Oshige, em 1963, que descobriu um processo de expansão para que o PTFE formasse uma estrutura porosa, contínua e resistente (De Bord, 1998). A técnica para a fabricação do PTFEe foi refinada por Gore, em 1975, e utilizada inicialmente como prótese vascular (Read, 2004). Em 1983, o PTFEe sofreu expansão radial para fornecer um material laminar que pudesse ser utilizado no reparo dos DPA. Esse novo biomaterial foi desenvolvido por “W. L. Gore and associates” sendo utilizado na prática clínica desde então (De Bord, 1998). O PTFEe é a prótese mais utilizada na atualidade para a correção laparoscópica da hérnia incisional (HINC) já que nesse tipo de cirurgia existe a necessidade do implante intra-peritoneal da prótese e portanto existe o risco inerente ao contato entre a prótese e os órgãos abdominais, inviabilizando o uso de próteses com grande capacidade aderencial (Heniford et al., 2003). A prótese de PTFEe utilizada neste estudo é fruto de mais uma modificação: o MycroMesh[®] foi desenvolvido para melhorar as características de sua integração tecidual. Para tanto, perfurações regulares de 2mm de diâmetro foram feitas ao longo de toda a sua estrutura a fim de permitir a infiltração de elementos da

matriz extracelular (principalmente colágeno) com conseqüente maior fixação e integração da prótese (Law, 2001). Essa prótese tem porosidade de 17-22 μ m e espessura de 1mm (Collela, 2004).

Com o uso corrente das próteses inevitavelmente surge a questão: qual a melhor prótese disponível? Seguramente com base no conhecimento atual, os critérios de Cumberland (1952) e Scales (1953), não refletem em sua totalidade o conceito de prótese ideal. Ao longo dos anos provou-se que os materiais quimicamente inertes, ou seja, aqueles incapazes de gerar reação inflamatória, não são bons substitutos para as fâscias e músculos; por esse motivo, procuram-se atualmente próteses que estejam o mais próximo possível das propriedades fisiológicas dos tecidos implantados (Schumpelick, Klinge, 2003). DeBord (1998) sugere três critérios adicionais para a prótese ideal: (1) ser resistente à infecção, (2) proporcionar uma barreira para as aderências que surgem no contato com as vísceras abdominais e (3) permitir uma incorporação tecidual e conseqüente boa fixação no local de implantação.

Sem dúvida, os biomateriais foram responsáveis por uma revolução técnica no tratamento cirúrgico das hérnias da parede abdominal. Após várias décadas de evolução quanto ao tipo de material e de sua estrutura física, o uso das próteses nesse tipo de cirurgia, tornou-se um procedimento popular no mundo inteiro (Soler et al., 2000; Trabucchi et al., 1998). Nos Estados Unidos, mais de 90% de todas as hérnias inguinais e incisionais são corrigidas com próteses; e em alguns países europeus, como a Inglaterra, este índice está próximo de ser alcançado (Kingsnorth, Le Blanc, 2003). As vantagens sobre as cirurgias convencionais (nas quais o tratamento dos defeitos herniários é realizado com suturas e imbricamentos aponeuróticos) são bastante descritas

na literatura, tanto para as HINC's quanto para as hérnias inguinais (Kark et al., 1995; Luijendijk et al., 2000; Burger et al., 2004; Schumpelick et al., 2004). Essas próteses representam o primeiro material aloplástico a ser usado rotineiramente mesmo em adultos jovens a despeito da existência de alternativas naturais (Schumpelick, Klinge, 2003).

No que se refere à correção cirúrgica das HINC's, o uso das próteses parece ser particularmente uma ótima opção em virtude dos desapontadores resultados com o tratamento cirúrgico convencional. Os índices de recidiva das HINC's com o tratamento tradicional varia de 7 a 44 % (Cassar, Munro, 2002). Estudos não randomizados realizados nas últimas décadas em pacientes portadores de HINC's, têm demonstrado índices superiores de cura com o uso de próteses (Liakakos et al., 1994; Schumpelick et al., 1996; Koller et al., 1997; Clark, 2001). Isso permite afirmar que, exceto para hérnias muito pequenas, a correção das HINC's sem o uso de próteses associa-se a índices inaceitáveis de recorrência (Matthews, Kercher, 2002a). O único estudo prospectivo e randomizado da literatura, sobre o tema, mostra claramente uma taxa de recidiva em 10 anos, duas vezes maior com a cirurgia tradicional, comparando-a com a técnica sem tensão (uso de prótese) (Burger et al., 2004).

1.2 RESPOSTA TECIDUAL À PRÓTESE

Tipicamente existem três tipos distintos de respostas a qualquer material estranho em contato com tecidos orgânicos: destruição ou lise, rejeição ou extrusão e incorporação (Kossovsky et al., 2001). O objetivo do implante das biopróteses na

correção dos DPA é a incorporação ou integração tecidual. Para o estudo das características particulares do processo de integração tecidual das duas próteses, utilizadas no presente trabalho, é necessário que se conheça a resposta orgânica a qualquer material implantado em tecidos orgânicos.

No passado, a pouca reatividade orgânica era considerada uma virtude dos materiais protéticos. Na atualidade os materiais incorporados ao tecido hospedeiro, com adequada resposta orgânica, oferecem consideráveis vantagens quanto à resistência à tensão e provavelmente são mais eficazes que aqueles considerados inertes (Hunt et al., 1996). Credita-se a Voorhees et al. (1952) o desenvolvimento da primeira prótese vascular de sucesso, obtida a partir de seus estudos sobre a resposta tecidual aos implantes.

Imediatamente após o contato do tecido hospedeiro com a prótese, ocorre adsorção de proteínas plasmáticas e do fluido intersticial ao material estranho. As proteínas presentes e ativas nesta fase são a albumina, a imunoglobulina G e o fibrinogênio. A extensão do depósito de cada uma dessas proteínas depende da afinidade elétrica e propriedades bioquímicas da prótese (Woloson, Greisler, 2001). Em virtude da rápida adsorção de proteínas à superfície da prótese, as células inflamatórias e os fibroblastos adjacentes ao local de implante não entram em contato direto com o material implantado (Tang, Eaton, 1993). Nesse processo, o corpo estranho ou biomaterial é isolado do tecido hospedeiro, criando uma barreira de proteção para o tecido adjacente (Klosterhalfen et al., 2003). A albumina provavelmente não participa da resposta inflamatória por não ter capacidade de atrair células inflamatórias (Tang, Eaton, 1993). A imunoglobulina G permite a ativação da cascata do complemento,

conhecidamente, um poderoso mediador da inflamação. No entanto, o fibrinogênio parece ser a proteína com maior importância na resposta inflamatória a polímeros implantados em tecidos orgânicos. Uma vez desnaturado, o fibrinogênio estimula o acúmulo de grande número de neutrófilos, monócitos e macrófagos no local do implante (Tang, Eaton, 1993).

A partir da degradação das proteínas adsorvidas na superfície da prótese, gera-se um estímulo imunológico que ativa os fagócitos (neutrófilos e macrófagos). Dependendo das propriedades físico-químicas da prótese, a taxa de degradação das proteínas adsorvidas é variável levando a uma reação de corpo estranho, própria para cada tipo específico de material (Klosterhalfen et al., 2003). Os macrófagos recrutados são atraídos à prótese, liberando citocinas e fatores de crescimento. Em seguida, são atraídas outras células como os linfócitos T, neutrófilos e miofibroblastos (Klosterhalfen et al., 2003). Em poucas horas, a interface entre a prótese e o tecido está densamente povoada com células inflamatórias e mediadores bioativos. A população celular nas proximidades da prótese entre 5 e 7 dias é composta de células mononucleares (plasmócitos, macrófagos e miofibroblastos). Essas células secretam um grande número de proteínas efetoras que continuam modulando a resposta cicatricial.

Os macrófagos exercem um papel fundamental no processo de integração de biomateriais em tecidos orgânicos. No processo de cicatrização, as substâncias que modulam o reparo (como o fator α de necrose tumoral, fator de crescimento de plaquetas, fator β transformador do crescimento e fator de crescimento de fibroblastos) são produzidas ou ativadas através do estímulo dos macrófagos. Por outro lado, a persistência dessas células, após as fases iniciais do processo inflamatório, tem-se

relacionado ao estabelecimento do processo inflamatório crônico. Em virtude disso, a intensidade da resposta dos macrófagos à implantação das próteses tem sido estudada como fator preditivo da eficácia do implante: a redução do número de macrófagos ao longo do processo de integração pode sugerir uma boa adaptação do material no tecido receptor (Béllon et al., 1995).

Com a evolução da resposta inflamatória surgem células gigantes multinucleadas na interface prótese-tecido. As células gigantes multinucleadas são derivadas dos macrófagos por sua fusão, e geralmente são encontradas em áreas de inflamação crônica e ao redor de corpos estranhos ao tecido. A importância clínica dessas células, no cenário da integração tecidual das próteses, permanece no campo da especulação, embora Beets et al. (1996) tenham sugerido como melhor, a prótese com menor capacidade de induzir reação de corpo estranho a longo prazo.

A Figura 1 ilustra os principais aspectos da reação orgânica a um corpo estranho, como as próteses utilizadas no presente estudo.

Ao longo do processo inflamatório, portanto, o tecido apresenta-se composto por diferentes tipos celulares e diferentes elementos da matriz extracelular. Inicialmente na fase proliferativa, os miofibroblastos migram para o local a partir do tecido circundante e as células endoteliais proliferam a partir de vênulas intactas formando novos capilares, processo denominado de angiogênese (Witte, Barbul, 1997). Os fatores de crescimento e as citocinas responsáveis pela proliferação desses dois tipos de células derivam, principalmente, das plaquetas e dos macrófagos ativados (Witte, Barbul, 1997).

Figura 1 -Esquema da reação orgânica a um corpo estranho. (A) Proteínas como fibrinogênio e albumina são adsorvidas à prótese. (B) De acordo com as propriedades físico-químicas de cada polímero, as proteínas são degradadas. (C) Macrófagos são atraídos e estimulados, liberando mediadores inflamatórios e fatores de crescimento. (D) Outras células inflamatórias são atraídas pelos mediadores quimiotáticos. (E) Dentro de poucos dias, um tecido conjuntivo organizado contendo células gigantes multinucleadas surge na superfície do corpo estranho. (F) Os macrófagos apoptóticos (que podem ser identificados pela reação de TUNEL - terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling) são substituídos por macrófagos ativos (Ki67 positivos) derivados do tecido ou a partir de monócitos do sangue (Adaptado de Klosterhalfen et al., 2003)

A principal característica da fase seguinte, maturação, é a deposição de colágeno. Esta é a fase mais importante, já que a velocidade, a qualidade e a quantidade total de deposição dos elementos fibrosos da matriz, determinam a resistência da cicatriz (Madden, Peacock, 1968).

1.3 COLÁGENO

O termo colágeno refere-se a uma família de glicoproteínas encontrada quase que exclusivamente na matriz extracelular, sendo responsável por cerca de 1/3 da massa de proteína total em vertebrados. A molécula típica de colágeno é representada por um filamento proteico longo no qual três cadeias polipeptídicas alinhadas em paralelo (chamadas cadeias α) são enroladas umas às outras, formando uma estrutura única em tripla hélice, o que confere a esta proteína, grande rigidez e resistência à tração (Brown, Timpl, 1995).

De acordo com a estrutura primária das cadeias α e sua polimerização cerca de 20 tipos distintos geneticamente e referidos como tipos I a XX (de acordo com a seqüência cronológica de caracterização) foram identificados até o momento. Os vários tipos de colágeno diferem em sua estrutura modular, em sua organização supramolecular e função. Nas cicatrizações de feridas, os tipos mais importantes de colágeno são o I e o III (Junqueira, Carneiro, 2004).

O colágeno tipo I é o mais abundante de todos os tipos de colágeno; ele é encontrado em todos os tecidos conjuntivos, exceto em membranas basais e na

cartilagem hialina, sendo também o principal tipo de colágeno envolvido nas doenças fibróticas e nos tecidos de cicatrização. Constitui-se por duas cadeias α -1 tipo (I) e uma cadeia α -2 tipo (I); forma fibrilas grossas com 70 a 100nm de diâmetro. Estas fibrilas associam-se formando fibras de 2 a 10 μ m de diâmetro, correspondentes às clássicas *fibras colágenas* reconhecidas nos cortes histológicos observados à microscopia de luz. Estas fibras estão presentes em grande quantidade na matriz extracelular de ossos, ligamentos, tendões, fâscias, cápsulas, adventícias, derme reticular, etc; ou seja, nos compartimentos orgânicos com grande capacidade de resistência à tração (Junqueira, Carneiro, 2004).

Por sua vez, o colágeno tipo III é constituído por 3 cadeias α -1 tipo (III); forma a delicada trama de fibras finas presente no estroma de órgãos que possuem um arcabouço estrutural flexível de órgãos parenquimatosos, tais como: fígado, rim, baço, pâncreas, etc. Esse tipo de colágeno forma fibrilas mais finas de 35 a 55nm de diâmetro que se associam para formar fibras de 0,5 a 1,5 μ m (mais delicadas que aquelas formadas por colágeno I). Estas fibras têm afinidade pela prata e podem ser reconhecidas como *fibras reticulares* nos cortes histológicos examinados ao microscópio de luz.

Durante os processos de reparo e nas fibroses em geral, o colágeno tipo III é o primeiro colágeno a ser depositado, sendo mais tarde substituído pelo tipo I (Martinez-Hernandez, 1988).

A deposição do colágeno tem sido descrita, há anos, como provavelmente o evento final mais importante na resistência das feridas. Através do método radioautográfico, com administração de prolina radioativa, Madden e Peacock (1968)

observaram que, durante as primeiras três semanas após a intervenção cirúrgica, havia uma perfeita correlação entre a quantidade de colágeno sintetizado e o aumento da resistência tênsil de feridas produzidas na pele da região dorsal de ratos. Após esse período, tal correlação deixava de existir ocorrendo um progressivo aumento da resistência da ferida a despeito de níveis estáveis de colágeno. Segundo os autores, a justificativa para esse fenômeno devia-se à formação de um novo arranjo entre as fibras colágenas já produzidas, ou à substituição por colágeno neoformado com outra configuração mais resistente.

As características mecânicas do tecido conectivo são principalmente determinadas pela quantidade relativa de colágeno tipo I e III. O colágeno tipo I é responsável pela resistência à tensão, enquanto o colágeno III confere maior flexibilidade à matriz sendo encontrado nas fases iniciais da cicatrização (Junqueira, Montes, 1983; Stadelmann et al., 1998).

Lapiere et al. (1977) observaram que o tipo de colágeno presente e seu grau de agregação (formando fibrilas, fibras e até feixes de fibras), determinam as propriedades mecânicas do tecido conectivo em situação normal e em condições patológicas. Birk e Maine (1997) consideram que o principal fator na resistência tênsil de uma cicatriz é a proporção entre o colágeno tipo I e tipo III presentes. De fato, estudo clínico realizado por Junge et al. (2004) com próteses explantadas de pacientes com complicações como infecção, dor crônica e recorrência herniária, demonstrou que a razão colágeno tipo I / tipo III mostrou-se significativamente menor nos casos de recidiva herniária que nos casos em que as próteses haviam sido removidas por dor ou infecção.

A deposição de colágeno nas proximidades e mesmo na malha das próteses, utilizadas para correção herniária, é considerada como importante fator na integração entre o biomaterial e o tecido adjacente (Lamb et al., 1983). Embora a quantificação do colágeno em estudos de cicatrização de feridas com próteses tenha sido realizada por outros autores (Tyrell et al., 1989; Murphy et al., 1989; Aydos et al., 1999), a qualidade da matriz extracelular definida pela presença de diferentes arranjos moleculares com diversos graus de agregação do colágeno, nunca foi analisada em modelos para correção de DPA.

O método da Picrossírius-polarização no estudo do colágeno tecidual

O Sirius Red que é um corante muito ácido (contém seis grupamentos sulfônicos) com peso molecular de 1372 daltons, tem sido muito utilizado para corar o colágeno em cortes de tecidos. É um corante azóico com quatro grupamentos cromofóricos e tem conseqüentemente um alto coeficiente de extinção, o que permite a detecção de pequenas quantidades de colágeno em cortes de tecido (Montes, Junqueira, 1991).

Demonstrou-se que este corante liga-se ao colágeno através de uma forte interação de seus grupamentos sulfônicos ácidos com os aminoácidos básicos das moléculas de colágeno. Soluções de colágeno purificados dos tipos I, II e III ligam 126 moléculas de corante para cada molécula de colágeno (Junqueira et al., 1979).

Na medida em que as moléculas do colágeno estão ordenadamente dispostas em orientação paralela, a birrefringência normal é uma das características clássicas das fibras que contêm colágeno. A coloração pelo método do Picrossírius faz com que uma grande quantidade de moléculas do Sirius Red, de caráter ácido e alongadas, disponham-

se paralelamente às moléculas do colágeno, o que provoca aumento considerável da birrefringência das fibras que contêm colágeno quando observadas com luz polarizada. Apesar do corante Sirius Red ligar-se inespecificamente aos componentes de caráter básico do tecido, o fenômeno do aumento da birrefringência ocorre exclusivamente com o colágeno. Assim, o método da coloração com o Picrossírius associado à microscopia de polarização é um método histoquímico específico para detecção de estruturas compostas de moléculas de colágeno orientadas (Junqueira et al., 1978).

O estudo comparativo deste método com métodos bioquímicos, aplicados em diversos órgãos de vertebrados, mostrou uma correlação entre a localização das diferentes cores e intensidades de birrefringência e a distribuição dos colágenos dos tipos I, II e III (Montes, Junqueira, 1991).

A observação de que colágeno dos tipos I, II e III mostram diferentes cores e intensidades de birrefringência em um mesmo corte histológico pode ser explicada pelo fato amplamente conhecido de que esses diferentes colágenos intersticiais apresentam padrões distintos de agregação física (Junqueira et al., 1978).

O colágeno de tipo I forma as *fibras colágenas* que, nos tecidos adultos e estáveis, são fibras grossas compostas por fibrilas grossas densamente agrupadas e conseqüentemente apresentando uma intensa birrefringência com coloração amarela ou avermelhada. O colágeno de tipo III forma *fibras reticulares*, que são fibras finas, compostas por fibrilas finas, frouxamente dispostas, mostrando uma fraca birrefringência de coloração esverdeada (Montes, 1996).

A vantagem do método Picrosírius-polarização, um dos mais utilizados para o estudo do colágeno, em relação aos tricrômios como o Mallory ou Masson, prende-se ao

fato de este método permitir, não apenas a identificação das fibras que contém colágeno, mas também possibilitar o estudo do grau da agregação dessas fibras, uma vez que diferentes graus de agregação molecular correspondem a intensidades e cores diferentes de birefringência (Montes, 1996). Por esse motivo têm sido utilizado em estudos de processos cicatriciais em vários modelos (Szendroi et al., 1984; Berry et al., 1998; Schultze-Mosgau et al., 2004).

1.4 RESISTÊNCIA À TRAÇÃO EM CICATRIZES

Admitindo-se que a principal função das próteses utilizadas na correção dos DPA seja substituir as estruturas músculo-aponeuróticas, pretende-se que a reação tecidual estimulada pela presença da prótese seja limitada e também, funcionalmente eficiente. A resistência à tensão é o principal objetivo de qualquer método de fechamento da parede abdominal (Young et al., 2004). Curiosamente a biologia da cicatrização fascial é pouco entendida já que a maioria dos estudos sobre cicatrização de feridas tem-se concentrado em feridas cutâneas (Franz et al., 2001).

Os testes biomecânicos para avaliação de resistência, adaptados para o estudo da cicatrização das feridas, podem ser divididos em dois grupos: (1) testes de tração e, (2) testes de ruptura (Crawford et al., 1965; Seror et al., 2003).

Os testes de tração foram inicialmente idealizados por Howes et al. (1929). (2003). Para sua realização utiliza-se o tecido ou uma fita de tecido que inclui o segmento a ser testado. Uma das extremidades do material de prova é tracionado de modo a produzir uma deformação do tecido. A força ou tensão aplicada imediatamente

antes do momento da deformação do tecido é considerada a força máxima com que o tecido resistiu à tração.

Os testes de ruptura realizam-se através da insuflação de ar ou instilação de líquido dentro de uma víscera ou sistema oco que inclui o segmento testado. A pressão imediatamente anterior àquela do momento de ruptura do sistema é considerada a pressão máxima a que o sistema resiste. A avaliação da resistência das cicatrizes por esse método foi introduzida por Harvey que testou a resistência de feridas ao insuflar ar em estômagos de animais (Harvey, 1929).

Embora ambos os testes tenham sido aperfeiçoados ao longo dos anos, persistem válidas as observações de Higgins et al. (1969) que consideram não totalmente satisfatórios os métodos disponíveis para estudo biomecânico das feridas abdominais, pois não reproduzem os muitos fatores conhecidos e importantes na deiscência da ferida em humanos.

Douglas (1952) realizando estudo experimental em coelhos forneceu as bases para o entendimento da cicatrização de tecidos aponeuróticos. O autor comprovou que a resistência tênsil, medida nas incisões aponeuróticas em diferentes momentos pós-operatórios (nas quais os pontos da sutura haviam sido removidos), aumentava de forma lenta e progressiva obedecendo a uma curva exponencial. Dessa forma, com três semanas após a cirurgia, a ferida alcançava apenas 20% da resistência; depois de um ano, os valores ainda persistiam inferiores aos da aponeurose intacta (Douglas, 1952).

Lichtenstein et al. (1970), também utilizando modelo experimental em coelhos, ressaltaram a importância da sutura nas feridas. Os autores observaram que, já no pós-operatório, 70% da resistência do tecido intacto era obtida quando se utilizavam pontos

inabsorvíveis para sutura das feridas. Quando os pontos eram retirados antes do estudo biomecânico, ainda no mesmo modelo, a resistência da ferida alcançava apenas 41% mesmo após 2 meses da cirurgia.

O benefício em termos biomecânicos com a adição de próteses a feridas em cicatrização já foi descrito anteriormente (Adler et al.,1962; Cerise et al.,1975; Kama et al., 1999). O grau de resistência acrescida pela presença da prótese, no entanto, ainda é motivo de controvérsia.

Adler et al. (1962) estudando modelos caninos, compararam a resistência da parede abdominal intacta com a resistência de feridas produzidas na aponeurose do músculo reto do abdome suturadas primariamente com fio de seda, reforçadas ou não com prótese de poliéster. Os testes biomecânicos foram realizados aos cinco dias e às duas e meia semanas de pós-operatório. Embora maior resistência à tensão fosse observada nas feridas nas quais a prótese foi utilizada, a parede abdominal intacta mostrou-se ainda mais resistente nos dois momentos de observação do estudo.

No entanto, Cerise et al. (1975), estudando em modelo murino o efeito do implante de prótese de poliéster em DPA, observaram que a prótese conferiu maior resistência à tensão durante todo o período do estudo (16 semanas) do que a sutura isoladamente, ou mesmo, do que a parede abdominal intacta. As razões apontadas pelo autor para esse fato são: a tela por si só é bastante resistente; além disso, a prótese promoveria uma resposta tecidual com conseqüente depósito de tecido denso fibroso em quantidade até mesmo superior à do tecido normal.

A explicação para esses diferentes resultados pode ser encontrada na metodologia utilizada para a medida de resistência. No estudo de Adler et al. (1962) foi

realizada tração axial de tiras de parede abdominal incluindo a prótese, enquanto no estudo de Cerise et al. (1975) os animais foram submetidos à insuflação intraperitoneal de ar até a ruptura da ferida; método considerado por Franz et al. (2001) pouco preciso.

Também Kama et al. (1999) observaram, com 30 dias de pós-operatório, maior resistência nos estudos de tração em feridas produzidas em ratos e reforçadas com prótese de PP quando comparadas a feridas submetidas à sutura primária.

Curiosamente em todos esses três estudos citados, as próteses foram implantadas sobre a sutura primária. Dessa forma é impossível atribuir a real contribuição da sutura primária ou do implante isoladamente. Ademais tais implantes não obedecem o conceito de cirurgia “isenta de tensão” descrita por Lichtenstein e Schulman (1986), no qual a prótese é por si só responsável pela correção do defeito, ao invés de ser usada somente para reforçar a sutura.

1.5 ADERÊNCIA INDUZIDA PELA PRÓTESE

Sem dúvida alguma, de todas as propriedades desejadas para as biopróteses, a mais difícil e, ao mesmo tempo mais crítica, é possibilidade da mesma não aderir aos órgãos abdominais. No momento presente, todos os materiais constituintes das próteses induzem à aderência. Por esse motivo, um grande número de modificações às próteses existentes têm sido relatado (Matthews, Kercher, 2002). Busca-se, portanto, através da engenharia de materiais, a produção de próteses maximamente biocompatíveis com propriedades funcionais quase fisiológicas (Schumpelick, Klinge, 2003).

A formação de aderências pós-operatórias é um processo de proteção durante a restauração e reconstrução das superfícies normais de órgãos e tecidos. Seu mecanismo de formação é um complicado evento que envolve a presença de leucócitos, células mesoteliais, cascata de coagulação, mensageiros químicos (citocinas), fatores de crescimento e metabólitos celulares (Matthews et al., 2002). Tem sido relatado também que a prostaciclina, presente em altas concentrações no peritônio pode ser um importante fator protetor contra as aderências em virtude de inibir a agregação plaquetária reduzindo dessa forma a resposta inflamatória (Ozmen et al., 2002). A inflamação é a via comum que promove a formação de aderências, sendo que a defesa homeostática contra sua formação é a fibrinólise intraperitoneal (Matthews et al., 2002).

Um peritônio saudável e bem vascularizado é dotado de um eficiente sistema fibrinolítico devido à presença do fator ativador do plasminogênio liberado pelas células mesoteliais (Annibali, 2001). Após lesão do peritônio, mesmo que seja suturado, espera-se a formação de aderências aos órgãos intracavitários, conforme demonstrado experimentalmente por Soares (1991).

A prótese pode prejudicar a atividade fibrinolítica facilitando as aderências por três mecanismos: 1) a sutura da prótese no peritônio pode induzir a isquemia que é um potente estímulo à formação de aderências e 2) a inibição da mesotelização, a depender do tipo de prótese utilizada, e ainda 3) a possibilidade de desenvolvimento de infecção (Annibali, 2001).

Grande importância tem sido dada ao papel da mesotelização na prevenção das aderências pós-operatórias. A importância da velocidade da mesotelização dos

biomateriais advém da hipótese de que a formação de aderências esteja inversamente relacionada ao número de células mesoteliais em sua superfície (Béllon et al., 2003).

Em relevante estudo da década de 70, Raftery et al. (1973) analisaram, através de microscopia eletrônica, a regeneração do peritônio entre 12 horas e 14 dias após a criação de defeitos peritoneais em ratos. Os autores observaram aos 3 dias de pós-operatório o surgimento de “célula mesenquimal primitiva” na superfície de peritônio lesado. Após 5 dias, células maduras com microvilosidades eram identificadas, e após 8 dias, tornava-se evidente uma camada completa de células mesoteliais, cobrindo completamente o defeito. Mais recentemente e com modelo experimental muito interessante, Baptista et al. (2000) comprovaram o papel da mesotelização na prevenção do desenvolvimento de aderências. Os autores estudaram ratos submetidos a ressecções de parede abdominal e implante intra-peritoneal de próteses de PP através de repetidas laparoscopias realizadas com 1, 3, 7, 14 e 28 dias após a cirurgia. Com 24 horas da cirurgia, algumas aderências entre a prótese e o omento estavam invariavelmente presentes; no sétimo dia, a área envolvida com aderências aumentara consideravelmente. Aos 14 e 28 dias, não foi observado aumento na extensão das aderências já estabelecidas na primeira semana de pós-operatório. A microscopia eletrônica mostrou que aos 7 dias já existe a cobertura completa de células mesoteliais com abundantes microvilosidades sobre a prótese, o que parece explicar o fato de não se formarem novas aderências após a primeira semana.

Em estudo experimental no qual células mesoteliais foram obtidas a partir do omento humano, cultivadas em laboratório e semeadas em superfícies de diferentes próteses, Bellón et al. (2003) avaliaram a capacidade “in vitro” desses biomateriais em

induzir a mesotelização. Quatro próteses foram utilizadas: PP, PP tratado com colágeno equino, PP com camada de poliuretano e PTFEe. A análise pela microscopia eletrônica aos 10 e 30 minutos, 1, 4, 8, 12, 18 e 24 horas após a semeadura, mostrou que, após 24 horas, apenas pequenos grupos de células poligonais apareciam por entre os filamentos de PP enquanto uma camada confluyente de células mesoteliais se depositava sobre a prótese de PTFEe. No grupo em que o PP foi utilizado com uma camada de poliuretano (o que tornava a superfície da prótese laminar), observou-se o maior potencial “in vitro” de mesotelização, uma vez que ocorreu com a formação de uma camada de células mesoteliais após apenas 12 horas da semeadura. Os autores sugerem, portanto, que a estrutura da prótese seja mais importante para a formação de aderências que a constituição das biopróteses.

Em estudo realizado pelo mesmo grupo, Béllon et al. (2002) compararam duas diferentes próteses de PTFEe. A primeira com estrutura laminar já conhecida e comercializada (Dual Mesh[®]) e a outra desenvolvida em seu laboratório com estrutura reticular (CV-4[®]). As próteses foram implantadas em defeitos totais de parede abdominal de coelhos. Os animais foram sacrificados 14 dias após a cirurgia. Um maior grau de aderência foi encontrado no grupo CV-4[®]. A integração tecidual foi muito maior e a prótese estava embebida em denso tecido conjuntivo; em contraste, o neoperitônio era delgado, muito desorganizado e angiogênico. Por fim, o grupo CV-4[®] mostrou estatisticamente maior resistência à tração que o grupo Dual Mesh[®]. Os autores concluem que, de fato, a modulação da integração tecidual das biopróteses é consequência da estrutura do material utilizado.

Aderências representam uma seqüela significativa da cirurgia em virtude da morbidade associada, que inclui obstrução do intestino, dificuldades técnicas quando da necessidade de novas cirurgias e possibilidade de dor crônica (Ozmen et al., 2002). São também bastante evidentes as repercussões econômicas, em virtude da alta freqüência após cirurgias abdominais (67 – 93%) (Matthews et al., 2002). Um estudo, em 1998, mostrou que a hospitalização para a lise de aderências abdominais impõe gastos de mais de um bilhão de dólares anualmente aos Estados Unidos da América (Hooker et al., 1999). Mais de 440.000 procedimentos para lise de aderências são realizados a cada ano e 3% das laparotomias objetivam a correção da obstrução intestinal por bridas (Matthews et al., 2002). Mais recentemente, estudando os custos das hospitalizações de urgência por obstrução intestinal causada por aderências após cirurgia colorretal na Finlândia, Kössi et al. (2004) contabilizaram um gasto de \$ 72.520,60 dólares para uma população de 450.000 habitantes. Mesmo após as cirurgias de lise de aderências uma taxa de reobstrução de 11 – 21% pode ser esperada (Hooker et al., 1999).

As aderências entre as vísceras da cavidade abdominal e as próteses implantadas nas proximidades das mesmas continuam a preocupar os cirurgiões gerais (Bothra, 1973; Kaufman et al., 1981; Patsner et al., 1990; Aldridge, Simson, 2001). Em situações de deiscência da parede abdominal por trauma, infecções, tumores e mesmo nas grandes HINCs, freqüentemente grandes defeitos são criados com insuficiente tecido autógeno disponível para sua correção. A correção laparoscópica da hérnia inguinal pelo acesso intra-peritoneal descrito por Toy e Smoot (1991), trouxe, novamente à pauta das publicações científicas, os riscos das aderências entre os órgãos abdominais e as próteses. Talvez pela primeira vez, embora houvesse alternativas no tratamento cirúrgico

da hérnia, optava-se pelo implante direto de uma prótese no interior da cavidade abdominal sem a proteção do peritônio. A aplicação dessa técnica fez ressurgir a necessidade da pesquisa de biomateriais com pequena capacidade de aderência no local de implantação.

Mais recentemente a correção laparoscópica da HINC tem sido defendida por vários autores, sabendo-se que nesse tipo de cirurgia também existe o contato direto entre a prótese e os órgãos intra-peritoneais (Le Blanc et al., 2001; Moreno-Egea et al., 2001; Chu et al., 2003; Bencini et al., 2003; Heniford et al., 2003).

As complicações atribuídas ao contato das próteses com o conteúdo da cavidade peritoneal são freqüentes (Leber et al., 1998; Hamy et al., 1997; Rodda et al., 1997; Hendrickse, Evans, 1993; Petersen et al., 1995; Tsang et al., 1994). Em revisão da literatura, Losanoff et al. (2002) relatam o aparecimento de fístulas e erosões entre as próteses e as alças intestinais, em 17 pacientes submetidos a correção de hérnias de parede abdominal. Na maioria dos casos, havia sido utilizada prótese de PP. Os autores alertam para a necessidade do uso de barreiras peritoneais de modo a evitar o contato entre a prótese e a cavidade abdominal e suas, por vezes, dramáticas, conseqüências.

A despeito dessas considerações, a correção laparoscópica das HINC's têm ganhado popularidade, e com ela, a necessidade de se implantar próteses em posição intra-peritoneal.

No primeiro ensaio clínico randomizado, realizado por Carbajo et al (1999), comparando-se a correção laparoscópica com a correção aberta da HINC, sempre com o uso de próteses, os autores observaram menor recorrência, taxa de complicações e reduzido tempo de hospitalização com a técnica laparoscópica. Em publicação recente,

Heniford et al. (2003), relatam os resultados obtidos em mais de nove anos de experiência com a correção laparoscópica das HINCs . O PTFEe foi usado em 97% das cirurgias. De um total de 850 pacientes, 96,4% foram efetivamente tratados sem a necessidade de conversão para a técnica aberta. O tempo médio de cirurgia foi de 120 minutos, a taxa de complicações foi de 13,2% sendo a mortalidade observada em apenas um caso por infarto agudo do miocárdio. O índice de recidiva foi de 4,7% em um tempo médio de 20 meses (variação de 1 a 96 meses). As complicações relacionadas diretamente ao uso da prótese foram descritas em apenas 0,7% dos casos e foram devidas exclusivamente à infecção da tela. Pelos bons resultados descritos, o PTFEe tem sido utilizado na maioria das cirurgias de correção da HINC pela técnica laparoscópica (Cassar, Munro, 2002).

1.6 ESTUDOS COMPARATIVOS ENTRE AS PRÓTESES DE POLITETRAFLUOROETILENO EXPANDIDO E POLIPROPILENO

Jenkins et al. (1983) estudaram ratos submetidos à ressecção de parede abdominal incluindo o peritônio, corrigidos com 6 tipos diversos de próteses, entre elas o PTFEe e PP. Os autores não encontraram diferença no estudo comparativo das aderências entre as duas próteses; as aderências em ambos os grupos foram consideradas de moderadas a máximas. No estudo biomecânico por meio de teste de ruptura com injeção salina intraperitoneal, mais uma vez, o desempenho das duas próteses foi idêntico. De relevância é o fato de ter sido utilizado a prótese cardiovascular de PTFEe

por não haver disponível no mercado, nessa época, as próteses de PTFEe específicas para o uso em hérnias da parede abdominal.

Lamb et al. (1983) estudaram próteses de PP, PTFEe em modelo experimental com coelhos quando foi definida uma graduação histológica baseada na intensidade da reação inflamatória, presença de células gigantes de corpo estranho, presença de fibroblastos e produção de colágeno. O estudo biomecânico foi realizado através de tensiômetro pneumático. A formação de aderências não foi estudada. As próteses de PP e PTFEe apresentaram com 3 e 12 semanas a mesma resistência, e o estudo histológico demonstrou uma mesma graduação entre as próteses. No entanto, em virtude de uma melhor incorporação fibrosa nas lâminas do grupo de PTFEe, os autores sugeriram superioridade desta próteses quando comparada à de PP.

Murphy et al. (1989) obtiveram superioridade das próteses de PTFEe, no que se refere à formação de aderências em estudo experimental em ratos, quando comparadas com as de PP. Realizaram-se estudo histológico, da força de ruptura além de pesquisa de aderência. A prótese de PP foi mais bem tolerada em virtude de um menor número de células gigantes de corpo estranho e maior deposição colágena. Não houve diferença nos resultados relativos às duas próteses no teste biomecânico. Digno de nota foi o fato, de que, nesse estudo, todas as avaliações foram feitas em apenas um momento no pós-operatório, após 4 meses da cirurgia, em média, que não permite a obtenção de dados relativos às fases mais precoces do processo cicatricial.

Tyrell et al. (1989) em estudo experimental comparativo entre próteses permanentes e absorvíveis, estudaram vários tipos de materiais entre eles as próteses de PP e PTFEe. Utilizaram-se escala descritiva para análise da resposta aderencial e teste

de tração para avaliação biomecânica. À semelhança do estudo anterior, a formação de aderência foi maior com a prótese de PP. Quanto à resistência, as duas próteses mostraram-se equivalentes, divergindo apenas na décima semana do pós-operatório quando o PP foi superior. No estudo histológico, a reação tecidual foi considerada mínima em todos os casos.

Law (1990) estudou o implante de próteses de PP e PTFEe DPA utilizando modelo murino. A resistência à rotura mostrou uma tendência a ser maior com a prótese de PP em todos os momentos de pós-operatório (1, 2, 4, 8 e 22 semanas) porém sem diferença estatística. E enquanto a deposição de fibras colágenas nesta prótese, ocorresse de forma desorganizada, na prótese de PTFEe, foram observadas finas fibras colágenas que penetravam no interstício da prótese. O autor teve a preocupação de observar o comportamento das próteses no pós-operatório precoce, e por vários momentos, no primeiro mês de pós-operatório.

Em duas publicações, utilizando metodologias semelhantes, pesquisadores da Universidade “Alcalá de Henares” em Madri, que têm se dedicado ao estudo de biomateriais, compararam a prótese de PP e dois tipos comerciais diferentes de próteses de PTFEe (Mycro Mesh[®] e Dual Mesh[®]) em coelhos. Em ambas as publicações a prótese de PP foi mais resistente à tração, sendo, no entanto, responsável por maior aderência aos órgãos abdominais que a prótese de PTFEe (Béllon et al., 1996b; Béllon et al., 1997).

Em nosso meio, Aydos et al. (1999) relataram os resultados com implantes de PP e PTFEe por acesso laparoscópico em hérnias ventrais produzidas em coelhos. O estudo envolveu a pesquisa de aderências, estudo biomecânico e estudo microscópico e

morfométrico de colágeno no pós-operatório tardio. O número de animais nos quais foram identificadas aderências aos órgãos abdominais foi maior no grupo PP; o volume tecidual ocupado por fibras colágenas também foi superior estatisticamente neste grupo; e quanto ao estudo biomecânico, não houve diferença estatística entre os dois grupos.

Como demonstrado acima, a maior parte das publicações que compararam as propriedades das próteses de PP e PTFEe apresentaram resultados conflitantes. Excetuando-se a menor resposta aderencial, observada com o PTFE-e, os resultados relativos, na maioria dos estudos, aos aspectos histológicos da resposta inflamatória, deposição de colágeno e, ainda, aos dados biomecânicos, não são uniformes. Além disso, a aplicação de novas metodologias simples e acessíveis para o estudo detalhado das fibras que contêm colágeno, pode contribuir para melhor entendimento da interação entre a prótese e o tecido hospedeiro. Derivam desses fatos, os elementos de motivação para o desenvolvimento do presente estudo.

2. OBJETIVOS

Levando-se em consideração que as duas próteses mais utilizadas na prática cirúrgica atual são PP e o PTFEe, e tendo em vista as controvérsias encontradas na literatura no que se refere às propriedades biomecânicas destas próteses e sua correlação com os achados histológicos, desenvolvemos ensaios controlados para comparar parâmetros relevantes da cicatrização no período recente após implante dessas próteses (PP e PTFEe) na correção de defeitos sistematicamente criados em ratos. Objetivou-se:

1. Comparar aspectos histológicos relacionados à resposta tecidual por meio de análise morfométrica quantitativa da fração de volume tecidual correspondente à reação inflamatória.
2. Comparar qualitativa e quantitativamente as fibras colagênicas, parâmetros que se correlacionam com a resistência das cicatrizes em determinado momento.
3. Quantificar e comparar as propriedades biomecânicas das próteses nesses ensaios experimentais.
4. Quantificar e comparar a resposta aderencial aos implantes protéticos subperitoneais nesses ensaios experimentais.

3. MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Utilizaram-se 99 ratos adultos Wistar machos de 16 semanas de idade, consangüíneos, pesando entre 320 e 365 g provenientes do Biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os animais foram alimentados com ração comercial e água *ad libitum*, e permaneceram por igual período de adaptação às condições ambientais e circadianas vigentes no Laboratório de Investigação Médica (LIM) 07 (Gastroenterologia Clínica).

O estudo foi realizado conforme as normas publicadas pelo “Institute of Laboratory Animal Resources” (1996) e aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo com o nº 546/02.

3.2 LOCAL

Todos os procedimentos foram realizados nas dependências do Complexo do Hospital das Clínicas e Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; as cirurgias e a eutanásia, no Laboratório de Investigação Médica (LIM) 07 (Gastroenterologia Clínica), chefiado pelo Prof. Dr. Flair José Carrilho; o estudo biomecânico, no LIM 41 (Biomecânica), chefiado pelo Prof. Dr. Marco Martins AmatuZZi; e para o estudo histológico foi utilizado o LIM 59 (Biologia Celular), chefiado pela Profa. Dr. Élia Garcia Caldini.

3.3 PRÓTESES

Foram utilizados dois tipos de próteses: a de politetrafluoroetileno expandido, (PTFEe), MycroMesh[®] - Goretex e a de polipropileno (PP), Marlex[®] - Bard.

3.4 MODELOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram submetidos aos diferentes procedimentos cirúrgicos, passando por uma etapa comum, durante a qual foram anestesiados com administração intraperitoneal de cloridrato de quetamina (0,2 ml/kg), e doses adicionais quando necessário. Durante o procedimento cirúrgico, critérios rígidos de assepsia foram observados. Procedeu-se à tricotomia da região abdominal e à anti-sepsia com iodopovidona no abdome dos animais.

3.4.1 IMPLANTE PROTÉTICO SUBPERITONEAL (IPSP)

Para a caracterização da resposta tissular local utilizaram-se 21 animais, em que se procederam implantes de PP e PTFEe em posição subperitoneal.

Procedimento Cirúrgico:

a) Incisão mediana com 4 cm de extensão interessando a pele e a parede abdominal; b) Implante de um fragmento (1 cm²) de cada tipo de prótese em posição subperitoneal a 1 cm da borda da incisão; as próteses foram implantadas 2 cm distantes

entre si; c) Fechamento da parede abdominal; d) Fechamento da pele com sutura contínua de fio de nylon nº 5-0. A Figura 2 ilustra o posicionamento dos fragmentos implantados.

Figura 2 – Esquema ilustrando a posição final dos fragmentos de próteses implantadas em posição subperitoneal. Em A, observa-se que no mesmo animal foi implantado fragmentos de próteses de PP e PTFEe. Em B, o desenho representa um corte transversal da parede abdominal ilustrando a posição subperitoneal dos implantes. O tracejado representa a prótese

3.4.2 DEFEITO ABDOMINAL CORRIGIDO COM PRÓTESE

Para o estudo biomecânico e o da resposta aderencial, utilizou-se um modelo cirúrgico que reproduz a correção herniária em humanos no que se refere à técnica “sem

tensão”. Ressalta-se que o contato da prótese com os órgãos da cavidade abdominal, foi intencional, de modo a permitir avaliar a resposta aderencial às diferentes próteses.

Nesse modelo, os animais foram distribuídos em dois grupos. Nesses grupos, compostos por 21 animais cada um, os implantes de PP e PTFEe, denominaram os grupos a que pertenciam: grupo com implante de PP (GPP) e grupo com implante de PTFEe (GPTFEe).

Procedimento Cirúrgico:

a) Incisão mediana com 4 cm de extensão interessando a pele; b) Excisão do contigente músculo-aponeurótico-peritoneal da parede abdominal de 1,5 cm de diâmetro em seu eixo longitudinal e de 1,0 cm de diâmetro em seu eixo transverso na região central do abdome; c) Implante da prótese retangular de 2,5 cm em seu eixo longitudinal e 2,0 cm em seu eixo transverso em posição subperitoneal; d) Fixação da prótese por meio de sutura padrão composta por oito pontos de fio de nylon nº 5-0; e) Fechamento da pele com suturas contínuas de fio de nylon nº 5-0. As Figuras 3 e 4 ilustram o posicionamento das próteses para a correção dos defeitos ventrais criados nos ratos.

Figura 3 – Esquema ilustrando a posição final da prótese em contato com a cavidade abdominal. Em A, observa-se o aspecto final do implante fixo por 8 pontos na parede abdominal. Em B, observa-se que a prótese foi implantada da mesma forma que no modelo anterior em posição subperitoneal. O tracejado representa a prótese

Figura 4 – Esquema ilustrando o aspecto da correção de defeito abdominal com implante subperitoneal de prótese de polipropileno

3.4.3 DEFEITO ABDOMINAL CORRIGIDO COM SUTURA (GS)

Nesse grupo, constituído por 21 animais submetidos à laparotomia mediana, a síntese da parede abdominal foi feita com pontos separados de nylon 5-0. Os espécimes, produtos deste procedimento, à semelhança dos outros animais nos quais foram implantadas próteses corretivas, também foram submetidos a estudo biomecânico.

Procedimento Cirúrgico:

a) Laparotomia mediana de 2,5 cm na porção central do abdome; b) Ressecção de 2 mm de aponeurose em ambas as bordas da incisão; c) Fechamento sistematizado do contingente músculo-aponeurótico-peritoneal da parede abdominal com 3 pontos simples de nylon nº 5-0; d) Fechamento da pele com sutura contínua de fio de nylon nº 5-0. A figura 5 ilustra o procedimento cirúrgico realizado nesse grupo.

Figura 5 – Esquema representando o contingente músculo-aponeurótico-peritoneal da parede abdominal incisado e suturado com 3 pontos

3.4.4 PAREDE ABDOMINAL INTACTA (GI)

Quinze animais com parede abdominal intacta foram também submetidos a estudo biomecânico. Esses animais que não foram submetidos a qualquer procedimento cirúrgico, eram de mesma consangüinidade e idade dos outros indivíduos que foram alocados nos demais grupos, e permaneceram no LIM 07 por igual período de adaptação pré-operatória e equivalente observação pós-operatória até a eutanásia.

3.5 EUTANÁSIA

Independente do grupo a que pertenciam, 1/3 dos animais de cada grupo foram sacrificados por sobredose de cloridrato de quetamina via intra-peritoneal em 1, 2 e 4 semanas de pós-operatório. Nos grupos submetidos à cirurgia (IPSP, GPP, GPTFEe e GS), constituídos de 21 animais cada, sete foram sacrificados em cada momento. No grupo não submetido à cirurgia (GI), constituído de 15 animais, cinco deles foram sacrificados da mesma maneira, nos mesmos momentos de pós-operatório.

Os momentos para o sacrifício foram determinados após análise dos parâmetros obtidos na experiência-piloto previamente realizada em 20 animais, quando vários desenhos experimentais foram cotejados antes que se pudesse idealizar o que foi adotado nesta pesquisa. Pôde-se observar nessa experiência que, a partir de 1 mês, a aplicação de tração no teste biomecânico provocava, na maioria dos casos submetidos a implantes protéticos, ruptura em outras regiões da musculatura que não interessavam a interface entre a prótese e o tecido. O primeiro momento para realização dos testes (final da primeira semana) foi escolhido devido a inviabilidade da realização do estudo biomecânico no pós-operatório mais precoce, em virtude da fragilidade das cicatrizes nesse entretempo, possibilitar em alguns casos, a ruptura dos espécimes durante a preparação do ensaio biomecânico, fenômeno observado por Tognini (1999).

3.6 ESTUDO HISTOLÓGICO

O material obtido do grupo IPSP (item 3.4.1) foi destinado ao estudo histológico. Retiraram-se dois fragmentos de parede abdominal, incluindo o contingente músculo-aponeurótico-peritoneal e a prótese. Cada fragmento incluiu apenas um tipo de prótese.

3.6.1 PROCESSAMENTO DO MATERIAL

Após a remoção do material, os fragmentos foram fixados em solução de paraformaldeído 4% em tampão fosfato (ph 7,2) por 24 horas, desidratados em série alcoólica crescente, clarificados em xilol e incluídos em parafina a 57° C. Cortes de 6µm de espessura foram distendidos em lâminas de vidro.

3.6.2 COLORAÇÃO

As amostras foram processadas segundo os seguintes métodos de coloração.

3.6.2.1 Hematoxilina-eosina

Os cortes de tecido foram corados pela hematoxilina-eosina para estudo histológico geral, por ser esta uma coloração clássica para identificação celular e tecidual. Assim sendo, nestas lâminas, pôde-se proceder à caracterização do tecido inflamatório, que é um dos objetivos deste trabalho.

3.6.2.2 Picrossírius-polarização

Os cortes histológicos foram desparafinados, hidratados e corados durante uma hora em uma solução 0,1% de Sirius Red (Sirius Red F 3 B 200, Mobay Chemical Co. Union, New Jersey, EUA) e dissolvidos em ácido pícrico aquoso saturado. Os cortes foram rapidamente lavados em água corrente e contracorados com hematoxilina de Harris por 5 minutos.

3.6.3 MORFOMETRIA

3.6.3.1 Morfometria da resposta inflamatória

Sabendo-se que a resposta inflamatória envolve grande diversidade de tipos celulares e modificações teciduais características, foi considerado como tecido inflamatório, aquele representado por maiores concentrações de células tais como linfócitos, neutrófilos, eosinófilos, mastócitos, plasmócitos, macrófagos e células gigantes, assim como os interstícios representativos de edema. Para essa avaliação foi utilizado o método morfométrico quantitativo, tendo por base a estimativa da fração de volume ocupada pelo tecido inflamatório.

Procedimento:

As contagens foram realizadas ao microscópio de luz com aumento de 200 vezes (objetiva 20x / ocular 10x), contendo um retículo de pontos e linhas acoplado à ocular microscópica para contagem. O retículo consistia de 5 linhas horizontais e 5 linhas verticais, distando 100µm entre si, correspondendo a 25 pontos formados pelas intersecções das linhas do tecido reacional à prótese.

Nas preparações-piloto, realizou-se avaliação morfológica preliminar para o estabelecimento do número de cortes histológicos que deveriam ser analisados para cada fragmento de tecido. Os parâmetros obtidos em relação à fração de volume de tecido inflamatório eram equivalentes nos vários cortes de um mesmo fragmento. Assim sendo, fez-se a morfometria do tecido inflamatório em um corte de tecido de cada fragmento e em toda a extensão do tecido reacional à prótese.

A Figura 6 ilustra o retículo utilizado para contagem dos campos microscópicos.

Figura 6 – Corte histológico de um fragmento de tecido obtido da região do implante subperitoneal de polipropileno. A figura ilustra o retículo de pontos e linhas sobreposto à imagem microscópica. Os pontos que incidiam sobre as células inflamatórias ou áreas de edema foram considerados correspondentes a tecido inflamatório (em A, o ponto incide sobre uma célula gigante multinucleada); os que incidiam sobre tecido conectivo propriamente dito (como em C) foram também computados. Os que incidiam sobre a prótese ou no espaço por ela ocupado (como em B) não foram contados

Para cada corte histológico, determinou-se a fração de volume correspondente ao tecido inflamatório, pela simples divisão dos pontos incidentes sobre tecido inflamatório pela soma total dos pontos no tecido conectivo (pontos em tecido inflamatório + pontos em tecido conectivo propriamente dito), conforme demonstrado na equação:

$$FV\ ti = \frac{n^{\circ}\text{ pontos } ti}{n^{\circ}\text{ pontos } ti + n^{\circ}\text{ pontos } tc}$$

onde : FV ti = fração de volume do tecido inflamatório

ti = tecido inflamatório

tc = tecido conectivo propriamente dito

3.6.3.2 Morfometria do colágeno fibrilar

Para o estudo quantitativo da fração volumétrica de tecido ocupado por fibras colagênicas, foram analisadas as lâminas coradas com Picrosírius-hematoxilina; por esta técnica as fibras colagênicas aparecem coradas em vermelho intenso quando observadas sob luz convencional (não-polarizada).

Obtiveram-se imagens digitais de cada corte histológico, utilizando-se objetiva de 20 vezes, de modo a cobrir toda sua extensão. Para digitalização da imagem foi utilizado um sistema óptico de captação composto de um microscópio Nikon Eclipse E600[®] acoplado à câmera de vídeo digital Nikon câmera DXM1200F[®]. As imagens

digitalizadas foram captadas através do programa Nikon ACT-1 versão 2.62 2000[®] em um microcomputador acoplado à câmera digital.

A seguir as imagens digitais dos cortes corados com Picrosírius-hematoxilina foram processadas, com auxílio do programa Adobe Photoshop 7.0[®], de modo a selecionar por escala de cores apenas as fibras de colágeno (visualizadas pela sua intensa coloração em vermelho). As áreas assim selecionadas foram transferidas para o programa Image J Software[®], desenvolvido pelo “National Institute of Health”. De posse desses valores, as frações de áreas correspondentes ao colágeno dentro do compartimento de referência foram obtidas de acordo com a equação:

onde : FV_{fc} = fração de volume de fibras colagênicas

fc = fibras colagênicas

cr = compartimento de referência

Figura 7 – Figura demonstrando imagens digitais, obtidas no estudo da fração de volume de fibras colagênicas de um fragmento de tecido da região do implante subperitoneal de PTFEe. Em A, observa-se corte de tecido lâmina corado pelo Picrosírius-hematoxilina, observado sob luz convencional. A seta demonstra a extensão do compartimento de referência, constituído pelo tecido neoformado reacional à prótese. O asterisco corresponde ao espaço ocupado pela prótese; a letra M corresponde ao tecido muscular da parede abdominal. Em B observa-se o aspecto obtido do mesmo campo com seleção das fibras colagênicas; mais uma vez a seta indica o compartimento de referência

3.6.3.3 Avaliação semiquantitativa do grau de agregação do colágeno

As lâminas coradas com Picrosírius-hematoxilina foram analisadas sob luz polarizada para avaliação do grau de agregação do colágeno, conforme o método descrito por Junqueira et al. (1978).

Além de se mostrarem birrefringentes, as fibras que contêm colágeno, assumem cores e intensidades de birrefringência variadas, resultantes dos diferentes graus de agregação física do colágeno; dessa forma, fibras finas, como as presentes no tecido de granulação jovem, são reveladas como estruturas de cor verde fracamente

birrefringentes, enquanto as fibras grossas, que caracterizam lesões fibróticas maduras, definem-se por sua forte birrefringência e pelas cores amarela ou vermelha.

Para avaliação semiquantitativa da agregação do colágeno, uma vez que as fibras finas e grossas são facilmente identificáveis pelo método do Picrosírius-polarização, estabeleceu-se um sistema de graduação (escore) baseado nas seguintes classes de frequência:

[1] 0 – 25% do total de fibras presentes correspondem a fibras grossas; o restante corresponde a fibras finas.

[2] 25 – 50% do total de fibras presentes correspondem a fibras grossas; o restante corresponde a fibras finas.

[3] 50 – 75% do total de fibras presentes correspondem a fibras grossas; o restante corresponde a fibras finas.

[4] 75 – 100% do total de fibras presentes correspondem a fibras grossas; o restante corresponde a fibras finas.

3.7 ESTUDO DA RESPOSTA ADERENCIAL

Após a eutanásia dos animais dos grupos GPP e GPTFEe, realizou-se incisão transversa em abdome inferior com extensões longitudinais laterais. A seguir, com duas pinças, a parede era rebatida para inspeção das aderências existentes entre a parede abdominal e estruturas abdominais como demonstra a Figura 8.

Figura 8 – Fotografia mostrando a parede abdominal rebatida em animal, submetido a implante de PP. São observadas aderências de omento e de fígado à prótese

A avaliação da resposta aderencial levou em consideração os seguintes parâmetros:

3.7.1 ÁREA DE PRÓTESE ADERIDA

Procedeu-se essa avaliação por estimativa da área de prótese aderida. Para tanto, cada prótese foi dividida em 4 quadrantes, conforme demonstra a figura 9; a cada quadrante aderido correspondeu por convenção operacional a uma área de 25% da prótese. Este método e respectivo critério de quantificação da área aderida à prótese, estão previamente validados na literatura pertinente (Felemovicius et al., 2004).

Figura 9 – Esquema da divisão da prótese em 4 quadrantes para estimativa da área aderida (Método adaptado de Felemovicius et al., 2004)

3.7.2 INCIDÊNCIA DE ADERÊNCIA A ÓRGÃOS

Identificação da presença de aderência do fígado e/ou do intestino à prótese, para cada animal submetido a implante protético nos diferentes momentos de pós-operatório.

3.8 ESTUDO BIOMECÂNICO

3.8.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL

As técnicas para obtenção de material para o estudo biomecânico foram padronizadas durante as preparações-piloto e aplicadas sistematicamente às coortes de animais em comparação.

Parede abdominal intacta (GI)

Procedeu-se à retirada de uma tira transversal de 1,5 x 8cm na região central da parede abdominal.

Defeitos abdominais corrigidos com sutura (GS)

Procedeu-se à retirada de uma tira transversal com as mesmas dimensões, na região central da parede abdominal, de maneira a incluir a região da ferida no centro da tira. Os pontos de nylon da sutura foram retirados.

Defeitos abdominais corrigidos com próteses (GPP e GPTFEe)

Procedeu-se à retirada de uma tira transversal com as mesmas dimensões, na região central da parede abdominal, de forma que, na porção central dessa tira, apenas a prótese unia os dois segmentos laterais da parede abdominal que se sobrepunham 5mm à prótese de cada lado. Os pontos de nylon, aplicados na prótese para fixá-la, eram removidos. A Figura 10 ilustra uma destas tiras contendo a prótese.

Figura 10 – Fotografia de tira de parede abdominal obtida de um animal submetido a implante de polipropileno. Observam-se ainda os pontos de fixação da prótese ao músculo, retirados antes do ensaio de tração

3.8.2 MEDIDA DA ESPESSURA DAS TIRAS

Antes do ensaio mecânico, a espessura da camada muscular de cada uma das tiras foi avaliada pelo medidor de altura Mitutoyo® com resolução de 0,01mm com base em forma de canaleta com largura de 15mm. Esta medida foi feita nas duas laterais da tira sempre a 2,5 cm da borda da prótese. Calculou-se a espessura da tira pela média das duas aferições. A Figura 11 ilustra o medidor de altura utilizado no estudo

Figura 11 – Fotografia do medidor de altura utilizado para aferição da espessura das tiras

3.8.3 ENSAIO MECÂNICO DE TRAÇÃO

O aparelho utilizado para a medida de força máxima no ensaio biomecânico de tração foi a Máquina Universal de Ensaio Mecânicos Kratos[®], modelo K 5002, dotada de célula de carga eletrônica de 100 kgf, ajustada para escala de 10 kgf. Esta máquina opera em conjunto com um microcomputador e um programa de aquisição de dados permitindo armazenar os parâmetros de força e deformação a uma taxa de aquisição de 25 amostras por segundo. A Figura 12 ilustra o equipamento pronto para utilização.

Figura 12 – Fotografia da máquina universal de ensaios mecânicos acoplados ao microcomputador

Para fixação das tiras utilizaram-se duas garras retangulares de metal com encaixe interno denteado (Figura 13). Tais garras foram comprimidas por parafusos a um momento de torção de 3 Nm com Torquímetro digital Metalac[®], modelo MTE 100.

A distância média entre as garras foi padronizada em 35mm em virtude de a prótese possuir 20 mm de largura. As extremidades da tira foram posicionadas aproximadamente 22 mm dentro de cada garra. Após o acoplamento de ambas as garras ao aparelho, a garra inferior foi posicionada de modo que o seu peso não influenciasse o ensaio. A seguir, as tiras foram submetidas à tração axial pura até a ruptura completa, a uma velocidade de deslocamento constante de 20 mm/min.

Cada ensaio biomecânico proporcionou o registro gráfico da relação de Força (Newtons) x Deformação (mm). A força máxima obtida no limite de resistência máxima correspondeu ao pico de força obtida no gráfico. O local de ruptura da tira, na interface prótese-músculo ou na própria musculatura do animal no momento da força máxima, foi um parâmetro observado e descrito durante o ensaio.

Figura 13 – Fotografia da tira de parede abdominal obtida de um animal submetido a implante protético, fixada às garras e montada na máquina universal de ensaios mecânicos

3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi utilizado o teste Kruskal-Wallis para comparação entre grupos em diferentes tempos para as variáveis (peso, área aderida, força máxima).

Para a comparação dos grupos 2 a 2, foi utilizado o teste Mann-Whitney (fração de volume de tecido inflamatório, fração de volume de colágeno e força máxima).

Para verificar a associação entre os grupos GPP e GPTFEe quanto à aderência a órgãos, foi utilizado o teste qui-quadrado de Pearson; esse mesmo teste foi utilizado na

comparação entre as variáveis de índice total de complicações e de índice de infecção da prótese.

Todos os testes realizados foram bicaudais sendo utilizado um nível de significância de 5% ($\alpha=0,05$). Desta forma foram considerados estatisticamente significantes os testes com nível descritivo menor que 5% ($p<0,05$). Tendência à diferença estatística foi definida quando o valor de p esteve entre 0,05 e 0,1 (Soares, Siqueira, 2002; Armitage et al., 1994).

O programa utilizado para a realização de todos os testes foi o SPSS 8.0 para Windows[®].

4. RESULTADOS

4.1 COMPLICAÇÕES CIRÚRGICAS

As cirurgias realizadas foram bem toleradas na grande maioria dos animais. Do total de 99 animais, apenas 3 morreram logo imediatamente após o ato cirúrgico por sobredose anestésica. Esses animais foram substituídos para que o número de animais em cada grupo fosse mantido.

Os animais que foram submetidos ao implante protético subperitoneal (IPSP) para o estudo histológico apresentaram como complicação: seroma (3 animais) e infecção da ferida (1 animal).

As complicações encontradas nos grupos de animais submetidos à correção de DPA (GPP, GPTFEe e GS) estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 – Complicações do procedimento cirúrgico nos animais submetidos à correção de defeitos cirúrgicos abdominais. Os números referem-se à quantidade de animais que apresentaram a complicação

COMPLICAÇÃO	GS (n=21)	DEFEITO ABDOMINAL CORRIGIDO COM PRÓTESE	
		GPTFE-e (n=21)	GPP (n=21)
Deiscência de pele	0	1	0
Infecção de ferida	1	1	0
Seroma	2	1	0
Infecção da prótese	-	3	1
TOTAL	3 (14,28%)	6 (28,57 %)	1 (4,76 %)

Quando os dados foram submetidos a tratamento estatístico (Tabela 2) pôde-se observar: 1) Não houve diferença entre o grupo de parede abdominal suturada e de cada uma das próteses analisadas separadamente; 2) Quando comparadas as duas próteses

entre si, foi encontrado maior índice total de complicações com o grupo GPTFEe. Essa diferença foi estatisticamente significativa ($p=0,08$); 3) Na análise específica de índice de infecção da prótese, no entanto, não houve diferença estatística entre as duas próteses ($p=0,237$).

Tabela 2 – Resultados da análise estatística (teste qui-quadrado) das complicações cirúrgicas (índice total de complicações e índice de infecção das próteses) nos grupos submetidos à correção de defeitos abdominais. Os números representam os valores de p . As diferenças são significativas, do ponto de vista estatístico, quando o valor de p é menor que 0,05 (asterisco).

GRUPOS COMPARADOS	ÍNDICE TOTAL DE COMPLICAÇÕES	ÍNDICE DE INFECÇÃO DA PRÓTESE
GS x GPP	0,237	-
GS x GPTFEe	0,094	-
GPP x GPTFEe	0,008*	0,237

4.2 PESO DOS ANIMAIS

Como esperado, os animais ganharam peso de forma proporcional independente do grupo a que pertenciam. O gráfico 1 ilustra a média do peso dos animais dos diferentes grupos no momento do seu sacrifício.

Foi realizada uma avaliação estatística para se testar a hipótese de que os pesos dos animais (independente do grupo ao qual pertencessem) eram equivalentes em cada momento diferente de eutanásia. Conforme demonstrado na Tabela 3, os resultados da análise estatística mostraram que essa equivalência de fato existiu.

Gráfico 1 – Gráfico representativo da média do peso (g) dos animais em cada grupo do estudo em cada momento do pós-operatório

Tabela 3 – Resultados da análise estatística (teste Kruskal-Wallis) da comparação entre o peso dos animais em cada momento de eutanásia. Os números representam os valores da média, desvio-padrão e *p*. As diferenças são significativas, do ponto de vista estatístico, quando o valor de *p* é menor que 0,05 (asterisco)

MOMENTO DA EUTANÁSIA	Média (desvio-padrão)					<i>p</i>
	IPSP	GI	GS	GPP	GPTFEe	
1 semana	342,85 (6,75)	343 (5,85)	344,42 (13,74)	350,57 (11,98)	339,85 (14,59)	0,521
2 semanas	375,71 (4,47)	372,2 (3,89)	365 (16,83)	374,71 (28,32)	373,57 (13,63)	0,678
4 semanas	408 (17,20)	390,8 (16,23)	408,28 (12,43)	411,28 (18,12)	403,14 (8,66)	0,170

4.3 ESTUDO HISTOLÓGICO

Durante a obtenção do material do grupo IPSP, alguns fragmentos não puderam ser representados nos cortes histológicos, uma vez que houve desprendimento da prótese na coleta do material. Assim sendo, do total de 42 regiões que receberam o implante, 8 delas foram desprezadas (5 pertenciam aos animais sacrificados na primeira semana, 2, na segunda semana e 1, na quarta semana).

4.3.1 ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS QUALITATIVOS

As lâminas coradas com Hematoxilina-eosina e com Picrossírius-hematoxilina foram avaliadas por um patologista para descrição dos achados anatomopatológicos sob supervisão da médica patologista Dra. Cláudia N. Battlehner do Departamento de Patologia da FMUSP.

A reação tecidual ao implante da prótese ocorreu ao redor de toda sua extensão, porém com padrões de infiltração diversos de acordo com o tipo da prótese: o tecido inflamatório infiltrou-se nos macroporos da prótese de PP, enquanto que se apresentava apenas revestindo a prótese de PTFEe (Figuras 14 A e B).

Os cortes histológicos, obtidos dos fragmentos de tecido dos animais sacrificados na primeira semana, mostravam a presença de grande quantidade de células típicas do processo inflamatório agudo, independente do material implantado como neutrófilos e macrófagos e apresentavam ainda resquícios de edema e tecido de granulação (Figuras 15A e 15B). Nos fragmentos de tecido obtidos na segunda semana de pós-operatório

aparece uma população de células inflamatórias, constituída principalmente por plasmócitos, macrófagos e células gigantes de corpo estranho (Figura 16A e 16B).

Em relação às fibras colagênicas, os fragmentos oriundos das regiões da parede abdominal nas duas primeiras semanas após o implante de PTFEe, apresentaram uma trama mais delicada de colágeno quando comparada aos tecidos associados às próteses de PP; nesta última, os filamentos mostravam-se envoltos por fibras de colágeno mais grossas, dispostas concentricamente (Figura 15 e 16).

Após 4 semanas do procedimento cirúrgico, as fibras colágenas do tecido neoformado (tanto em resposta ao PTFEe quanto ao PP) apresentam-se grossas, formando feixes de fibras com aspecto característico de fibrose cicatricial. Quanto à sua organização, os feixes de fibras colágenas apresentavam-se concêntricos aos filamentos de PP e dispostos paralelamente à superfície da prótese de PTFEe (Figura 17A e 17B).

É interessante notar que a prótese de PTFEe associava-se à presença de focos de infiltrado inflamatório mesmo com 4 semanas de pós-operatório, enquanto que a prótese de PP neste período, mostrava-se rodeada por tecido conjuntivo denso, característico dos processos fibróticos cicatriciais.

A avaliação do grau de agregação dos colágenos fibrilares foi feita através do estudo dos cortes histológicos corados com o Picrossírius-hematoxilina e analisados sob luz polarizada (Método de Picrossírius-polarização – PSP).

Os fragmentos de tecido obtidos na primeira semana de pós-operatório mostrou uma nítida diferença entre os dois tipos de próteses, uma vez que na prótese de PP, as fibras que contêm colágeno mostraram-se fortemente birrefringentes apresentando-se como fibras grossas de coloração amarelo-avermelhada entremeadas a fibras finas

fracamente birefringentes de coloração esverdeada, dispostas concentricamente aos seus filamentos; o que não foi verificado nos implantes de PTFEe com igual tempo de pós-operatório. Nestes fragmentos de tecido, as estruturas colagênicas apareceram como fibrilas e fibras finas fracamente birrefringentes sob luz polarizada (Figura 18A e 18B).

A análise dos cortes histológicos obtidos dos fragmentos após 2 semanas de implante, mostrou que a deposição de colágeno sob a forma de fibras grossas, fortemente birrefringentes foi marcante nas regiões que receberam implantes de PP, sendo que quase toda a extensão do tecido conjuntivo apresentava fibras colágenas grossas. Nos tecidos oriundos dos implantes de PTFEe, aquela população de fibrilas colágenas finas foi substituída por um tecido formado por fibras grossas e fibras finas (Figura 19A e 19B).

Após 4 semanas do implante os fragmentos de tecido (tanto para a prótese de PP quanto para a de PTFEe) mostravam um tecido conjuntivo rico em fibras colágenas grossas, fortemente birrefringentes de coloração amarelo-esverdeada. No entanto, a disposição destas fibras sugeriu dois aspectos diferentes: no caso do PP, as fibras colágenas formaram feixes de fibras densas dispostas como uma trama densa ao redor de cada filamento de PP; no caso do PTFEe as fibras colágenas mostraram-se mais frouxas e dispostas paralelamente ao maior eixo da prótese (Figura 20A e 20B).

4.3.2 FRAÇÃO DE VOLUME DE TECIDO INFLAMATÓRIO

As médias das frações de volume, ocupado por tecido inflamatório reacional ao implante das próteses de PP ou PTFEe nos diferentes momentos do estudo, encontram-se dispostas no Gráfico 2. A análise estatística dos dados morfométricos relativos ao tecido inflamatório está demonstrada na Tabela 4.

Gráfico 2 – Valores médios de fração de volume (em porcentagem do volume total do compartimento de referência) correspondentes ao tecido inflamatório nos fragmentos de tecido, obtidos nas diferentes semanas após o implante protético de polipropileno ou politetrafluoroetileno expandido

Tabela 4 – Resultados da análise estatística (teste Mann-Whitney) da fração de volume de tecido inflamatório em diferentes momentos após o implante de próteses de PP e PTFEe. Os números representam os valores da média, desvio-padrão e *p*. As diferenças são significativas, do ponto de vista estatístico, quando o valor de *p* é menor que 0,05 (asterisco). As amostras apresentam tendência à diferença estatística quando o valor de *p* estiver entre 0,05 e 0,10 (cruz)

MOMENTO DA EUTANÁSIA	Média (desvio-padrão)		<i>p</i>
	PP	PTFEe	
1 semana	0,198 (0,06)	0,301 (0,09)	0,142
2 semanas	0,091 (0,02)	0,161 (0,03)	0,004*
4 semanas	0,046 (0,19)	0,152 (0,24)	0,003*

Não foi observada diferença estatisticamente significativa na fração de volume de tecido inflamatório quando se comparou os dados nos tecidos reacionais ao PP e ao PTFEe após uma semana de implante. No entanto, com 2 e 4 semanas observou-se que a fração de volume de tecido inflamatório foi significativamente maior nas regiões em que o PTFE-e foi implantado.

4.3.3 FRAÇÃO DE VOLUME DE COLÁGENO FIBRILAR

As médias das frações de volume, ocupadas por fibras colagênicas no tecido reacional ao implante das próteses de PP ou PTFEe nos diferentes momentos do estudo, encontram-se dispostas no Gráfico 3. A análise estatística desses dados está demonstrada na Tabela 5.

Gráfico 3 – Valores médios da fração de volume de fibras colagênicas (em porcentagem) no tecido reacional ao implante das próteses de polipropileno e politetrafluoretileno expandido (compartimento de referência) nas diferentes semanas de pós-operatório

Tabela 5 – Resultados da análise estatística (teste Mann-Whitney) da fração de volume de fibras colagênicas em diferentes momentos após o implante de próteses de PP e PTFEe. Os números representam os valores da média, desvio-padrão e p . As diferenças são significativas, do ponto de vista estatístico, quando o valor de p é menor que 0,05 (asterisco). As amostras apresentam tendência à diferença estatística quando o valor de p estiver entre 0,05 e 0,10 (cruz)

MOMENTO DA EUTANÁSIA	Média (desvio-padrão)		p
	PP	PTFEe	
1 semana	0,646 (0,04)	0,547 (0,07)	0,065†
2 semanas	0,7 (0,01)	0,660 (0,02)	0,007*
4 semanas	0,756 (0,03)	0,684 (0,02)	0,004*

Da mesma maneira que observado no gráfico da fração de volume ocupada de tecido inflamatório, foi encontrado diferença estatística na comparação do volume ocupado por fibras colagênicas nos animais submetidos a implantes de PP ou PTFEe, apenas na segunda e quarta semanas de pós-operatório.

4.3.4 AVALIAÇÃO SEMIQUANTITATIVA DO GRAU DE AGREGAÇÃO DO COLÁGENO

Os resultados da aplicação do escore de avaliação do grau de agregação do colágeno no tecido reacional ao implante das próteses de PP ou PTFEe em diferentes momentos do estudo, encontram-se dispostos no Gráfico 4; a análise estatística desses dados encontram-se na Tabela 6.

Gráfico 4 – Média dos valores estimados para escore do grau de agregação do colágeno nos fragmentos de tecido obtidos nas diferentes semanas após o implante de polipropileno ou politetrafluoroetileno expandido. Grau 1) 0 – 25% de fibras grossas; Grau 2) 25 – 50% de fibras grossas; Grau 3) 50 – 75% de fibras grossas e Grau 4) 75 – 100% de fibras grossas.

Tabela 6 – Resultados da análise estatística (teste Mann-Whitney) do grau de agregação do colágeno nos animais submetidos à correção de defeitos abdominais com próteses de PP e PTFEe e sacrificados em diferentes momentos de pós-operatório. Os números representam os valores de p . As diferenças são significativas, do ponto de vista estatístico, quando o valor de p é menor que 0,05 (asterisco)

MOMENTO DA EUTANÁSIA	Média (desvio-padrão)		p
	PP	PTFEe	
1 semana	3,24 (0,95)	1,40 (0,54)	0,022*
2 semanas	3,14 (0,69)	2,80 (0,44)	0,332
4 semanas	3,33 (0,81)	2,71 (0,95)	0,221

Observa-se que há uma diferença estatisticamente significativa entre o grau de agregação do colágeno na primeira semana, na qual as regiões submetidas ao implante de PP apresentaram mais fibras grossas, e aquelas submetidas a implantes de PTFEe apresentaram maior quantidade de fibras finas. Nos demais momentos de pós-operatório, o aspecto do depósito colágeno foi semelhante entre os implantes.

4.4 ESTUDO DA RESPOSTA ADERENCIAL

4.4.1 ÁREA ADERIDA

A média dos valores da porcentagem de área aderida de prótese de PP ou PTFEe, implantadas em animais com defeitos abdominais sacrificados em diferentes momentos do estudo, encontram-se dispostos no Gráfico 5; a análise estatística desses dados encontram-se na Tabela 7.

Gráfico 5 – Médias das porcentagens de área de prótese aderida nos animais com defeitos abdominais, corrigidos com próteses de PP e PTFEe e sacrificados em diferentes momentos de pós-operatório

Tabela 7 – Resultados da análise estatística (teste Kruskal-Wallis) da área de prótese aderida à prótese nos grupos de animais submetidos à correção de defeitos abdominais com próteses de PP ou PTFEe, sacrificados diferentes momentos de pós-operatório. Os números representam os valores da média, desvio-padrão e *p*. As diferenças são significativas, do ponto de vista estatístico, quando o valor de *p* é menor que 0,05 (asterisco)

MOMENTO DA EUTANÁSIA	Média (desvio-padrão)		<i>p</i>
	PP	PTFEe	
1 semana	67,85 (23,77)	71,42 (17,25)	0,632
2 semanas	60,71 (28,34)	60,71 (24,39)	0,891
4 semanas	46,42 (30,37)	42,85 (18,89)	0,945

Em relação à área da prótese aderida não foram observadas diferenças entre os grupos em quaisquer momentos do pós-operatório.

4.4.2 INCIDÊNCIA DE ADERÊNCIA A ÓRGÃOS

A avaliação da aderência da prótese a órgãos mostrou que no modelo utilizado neste estudo, o intestino e o fígado foram os órgãos que apresentaram aderência às próteses com variações importante, a depender do tipo de prótese e também do momento de sacrifício. A Figura 21 exemplifica um destes casos de aderência.

Figura 21 – Fotografia mostrando a aderência de intestino delgado à prótese de polipropileno implantada em animal submetido à correção de defeito abdominal e sacrificado com 1 semana de pós-operatório

O número de animais em cada grupo e em diferentes momentos de pós-operatório, com defeitos abdominais corrigidos com PP e PTFEe, e nos quais havia aderência de órgãos abdominais à prótese, encontram-se dispostos no Gráfico 6; a análise estatística desses dados encontram-se na Tabela 8.

Gráfico 6 – Número de animais com aderências de órgãos abdominais em cada grupo de defeitos abdominais corrigidos com polipropileno ou politetrafluoroetileno expandido e sacrificados em diferentes momentos do estudo

Tabela 8 – Resultado da análise estatística (teste qui-quadrado) do número de animais submetidos à correção de defeitos abdominais com próteses de PP e PTFEe de cada grupo com aderência de órgãos em diferentes momentos de pós-operatório. Os números representam os valores de p . As diferenças são significativas, do ponto de vista estatístico, quando o valor de p é menor que 0,05 (asterisco)

MOMENTO DA EUTANÁSIA	p
1 semana	0,031*
2 semanas	1,000
4 semanas	0,280

Houve uma maior frequência de aderências na primeira semana de pós-operatório no GPP. Nos outros tempos não houve diferença estatisticamente significativa no número de animais que apresentavam aderência a órgãos.

4.5 ESTUDO BIOMECÂNICO

A média da espessura das tiras de parede abdominal, obtidas após o sacrifício dos animais nos grupos e submetidos ao ensaio de tração (GI, GS, GPP e GPTFEe), estão dispostas no Gráfico 7.

Gráfico 7 – Gráfico demonstrando a média das espessuras da parede abdominal das tiras obtidas após o sacrifício dos animais nos grupos submetidos ao ensaio de tração

O gráfico mostra um padrão bastante heterogêneo da espessura da parede abdominal dos ratos nos diferentes grupos e momentos da eutanásia.

No Gráfico 8, pode-se observar o número de animais em cada grupo submetido à correção de defeitos abdominais com sutura ou com implante protético (GS, GPP e GPTFEe).

Gráfico 8 – Número de animais nos quais, durante o ensaio de tração, observou-se ruptura no músculo, fora da região da cicatriz. Apenas os grupos submetidos à correção de defeitos abdominais com implante protético (GPP e GPTFEe) estão demonstrados

A Figura 22 mostra, a título de exemplo, dois gráficos obtidos durante o ensaio de tração.

Figura 22 – Gráficos [Força (N) x Deformação (mm)] obtidos no ensaio de tração das tiras obtidas em animais submetidos a implante protético. Em A, prótese de politetrafluoroetileno expandido. Em B, prótese de polipropileno. Observa-se que os valores da força máxima estão demonstrados na ordenada de cada gráfico.

O valor médio das forças máximas, obtidas no ensaio de tração dos animais, submetidos ao estudo biomecânico (GI, GS, GPP e GPP) nos diferentes momentos de pós-operatório, encontram-se dispostos no gráfico 9; a análise estatística desses dados encontra-se na Tabela 9.

Gráfico 9 – Valor médio das forças máximas, obtidas no ensaio de tração de tiras obtidas dos grupos de animais, submetidos ao estudo biomecânico (GI, GS, GPP e GPP) nos diferentes momentos de pós-operatório

Tabela 9 – Resultados da análise estatística (teste Mann-Whitney) da força máxima nos ensaios mecânicos de tração dos animais, submetidos à correção de defeitos abdominais com próteses de PP e PTFEe. Os números representam os valores da média, desvio-padrão e p . As diferenças são significativas, do ponto de vista estatístico, quando o valor de p é menor que 0,05 (asterisco). As amostras apresentam tendência à diferença estatística quando o valor de p estiver entre 0,05 e 0,10 (cruz)

GRUPOS COMPARADOS	1 SEMANA p	2 SEMANAS p	4 SEMANAS p
GI x GS	GI = 21,92 (4,24) GS = 14,60 (6,34) $p=0,062\dagger$	GI = 26,16 (6,13) GS = 17,27 (3,75) $p=0,019^*$	GI = 27,33 (2,18) GS = 26,23 (6,19) $p=0,935$
GI x GPP	GI = 21,92 (4,24) GPP = 20,54 (1,99) $p=0,570$	GI = 26,16 (6,13) GPP = 21,62 (3,16) $p=0,088\dagger$	GI = 27,33 (2,18) GPP = 26,20 (3,65) $p=0,465$
GI x GPTFEe	GI = 21,92 (4,24) GPTFEe = 16,92 (3,41) $p=0,062\dagger$	GI = 26,16 (6,13) GPTFEe = 23,12 (5,03) $p=0,685$	GI = 27,33 (2,18) GPTFEe = 25,41 (4,48) $p=0,372$
GS x GPP	GS = 14,60 (6,34) GPP = 20,54 (1,99) $p=0,110$	GS = 17,27 (3,75) GPP = 21,62 (3,16) $p=0,048^*$	GS = 26,23 (6,19) GPP = 26,20 (3,65) $p=0,848$
GS x GPTFEe	GS = 14,60 (6,34) GPTFEe = 16,92 (3,41) $p=0,338$	GS = 17,27 (3,75) GPTFEe = 23,12 (5,03) $p=0,025^*$	GS = 26,23 (6,19) GPTFEe = 25,41 (4,48) $p=0,949$
GPP x GPTFEe	GPP = 20,54 (1,99) GPTFEe = 16,92 (3,41) $p=0,018^*$	GPP = 21,62 (3,16) GPTFEe = 23,12 (5,03) $p=0,565$	GPP = 26,20 (3,65) GPTFEe = 25,41 (4,48) $p=0,848$

A análise dos dados acima demonstra:

a) Não houve diferença estatística entre as forças máximas obtidas nos ensaios biomecânicos nos grupos submetidos ao implante protético quando comparados ao grupo de parede intacta.

b) O implante das próteses, independente do tipo (PP ou PTFEe), conferiram à ferida maior resistência à tração, na segunda semana de pós-operatório, quando comparadas com a sutura da parede abdominal com pontos ($p=0,048$; $p=0,025$).

c) O implante de prótese de PP conferiu maior resistência à ferida quando comparado ao implante de PTFE-e na primeira semana ($p=0,018$).

d) Com 4 semanas de pós-operatório, não houve diferença estatística entre os grupos

5. DISCUSSÃO

A compreensão do fenômeno da cicatrização tecidual na presença de biomateriais na prática cirúrgica moderna é um vasto campo em evolução, da qual a pesquisa experimental tem sido uma grande aliada. Apesar disso, décadas de pesquisa não foram suficientes para esclarecer todas as características desse complexo fenômeno. O fato de existirem pelo menos 80 diferentes próteses usadas para a correção das hérnias da parede abdominal é uma demonstração clara desse fato (Kingsnorth, Le Blanc, 2003).

Embora alguns pesquisadores tenham estudado, a partir da segunda metade do século XX aspectos da integração tecidual de biomateriais nos defeitos da parede abdominal (Harrison et al., 1957; Arnauld et al., 1977), grande impulso nessa área foi dado apenas na década de oitenta, após a divulgação do conceito de cirurgia “sem tensão” por Lichtenstein e Shulman (1986). Seguiu-se a popularização do uso das próteses na prática cirúrgica e com ela, a necessidade de um maior número de pesquisas em laboratório. Atualmente, estima-se que sejam utilizadas em torno de um milhão de próteses por ano no mundo para correção de defeitos da parede abdominal (Schachtrupp et al., 2003). Esse número é possível, em virtude das correções herniárias com o uso de próteses, serem atualmente mais comuns que as técnicas convencionais, em muitos países (Mc Cormack et al., 2003).

A busca do material sintético ideal não é novidade entre os pesquisadores e engenheiros da área de biomateriais. Nos anos cinquenta Cumberland (1952) e Scales (1953) já haviam descrito oito propriedades ideais para os biomateriais. Segundo esses autores, o material deveria ser quimicamente inerte, não modificado fisicamente por fluidos teciduais, não produzir reação inflamatória e de corpo estranho, não ser

carcinogênico, não produzir alergia ou hipersensibilidade; ser capaz de resistir à tensão, de ser produzido em escala comercial e passível de ser esterilizado. Baseados em conhecimentos atuais da complexa interação entre as próteses e os tecidos orgânicos, a indesejável capacidade dos biomateriais em aderir às estruturas adjacentes ao local do implante, assim como outras propriedades, têm sido acrescentadas aos antigos conceitos (De Bord, 1998).

Atualmente, dois são os biomateriais mais utilizados no mundo por apresentarem baixas taxas de rejeição e infecção: o PP e o PTFE-e (Béllon et al., 1996b; Schachtrupp et al., 2003). Em nosso meio, o PP é de uso corrente por conferir ótima resistência tênsil ao tecido implantado, por ser bem tolerado com pequenos índices de rejeição e ainda pelo seu baixo custo (Speranzini, Deutsch, 2001). A principal desvantagem desse material é a sua grande capacidade de aderir aos órgãos abdominais (Losanoff et al., 2002). O PTFEe teve seu uso difundido por Toy e Smoot (1991), na descrição da técnica de correção laparoscópica da hérnia inguinal pelo acesso intraperitoneal. Atualmente essa prótese tem sido utilizada na correção laparoscópica das HINCs. A principal vantagem desse material, diz respeito a sua pequena capacidade de induzir aderências, sendo por este motivo preferido nas situações em que se prevê o contato direto com vísceras abdominais (Heniford et al., 2003).

Embora a maioria dos estudos comparativos disponíveis na literatura atestem vantagens com o PTFE-e quando se avalia seu potencial em promover aderências, resultados de estudos biomecânicos entre esta prótese e o PP têm gerado controvérsia. Enquanto alguns autores descrevem resultados semelhantes entre os dois materiais (Lamb et al., 1983; Murphy et al., 1989; Aydos et al., 1999), a superioridade do PP é

sugerida em outras publicações (Law, 1990; Tyrell et al., 1989; Béllon et al., 1996b). Isso põe em dúvida o fato de a prótese de PTFE ser tão resistente quanto às constituídas por PP.

A proposta do presente estudo é corolário da recente necessidade em se utilizar próteses com pequena capacidade de aderência a órgãos abdominais associada à adequada resistência à tensão e integração tecidual proporcionadas pela infiltração colágena.

Para realizar esta pesquisa foi escolhido o rato como animal de experimentação. Algumas características desse animal no âmbito experimental, já foram descritas por outros autores. Dessa forma, Soares (1991) considera como vantagens do seu uso, a pronta, rápida e farta obtenção dos animais associada à facilidade de controle e manutenção em gaiolas, além da ótima aceitação de dieta e elevada resistência à infecção. Nishihara e Prudden (1958) sugerem, em virtude das similaridades anatômicas e dinâmicas entre o rato e os humanos, que os resultados obtidos nos estudos experimentais de cicatrização, utilizando esse animal, possam ser extrapolados para a prática cirúrgica.

O desenho do estudo foi desenvolvido após experiência piloto na qual vários animais foram operados. Um dos aspectos mais importantes, definidos a partir dessa experiência preliminar foi o período pós-operatório mais apropriado para o estudo das propriedades histológicas, aderenciais e biomecânicas das próteses utilizadas na pesquisa. Dessa forma, os animais foram sacrificados em três momentos distintos dentro do primeiro mês de pós-operatório. Dois foram os motivos desta escolha: a falha da cicatrização das feridas, tardiamente evidenciada pela presença clínica da HINC, ocorrer

no primeiro mês de pós-operatório e o modelo em ratos não permitir avaliação adequada das feridas submetidas a grandes forças de tração em virtude de sua frágil parede abdominal.

O estudo de Pollock e Evans (1989), apóia a observação de que as hérnias incisionais são decorrentes de falhas precoces na cicatrização das feridas. Os autores estudaram 149 pacientes submetidos a laparotomias por diversas causas e implantaram cliques metálicos nas bordas das aponeuroses durante a síntese da parede abdominal. Os pacientes foram seguidos por um tempo médio de 25 meses. Uma radiografia de abdome foi realizada no primeiro mês do procedimento cirúrgico e os pacientes foram examinados para pesquisa de HINC. A incidência de HINC foi de 12% (18 pacientes). O dado mais relevante do estudo foi a observação que 94,4% dos pacientes que desenvolveram hérnia na série estudada, apresentavam ao exame radiológico, um afastamento entre os cliques superior a 12 mm. Os autores concluíram que o surgimento da HINC é previsível já no primeiro mês após a cirurgia. Embora nesse estudo não tenham sido utilizadas próteses, o suposto de que tais materiais possam até acelerar a cicatrização, foi um dos motivos de acreditarmos que o primeiro mês após a cirurgia é o período crítico mesmo, em experimentos com reforço de biomateriais.

O outro fator determinante na escolha do momento da eutanásia dos animais derivou da observação nos experimentos-piloto, de que tardiamente (45 e 60 dias), a quase totalidade dos ensaios de tração realizados em modelos com implante protético, resultavam em rotura na parede abdominal dos ratos fora da interface entre a prótese e a musculatura da parede abdominal dos animais. Dessa forma, a maior resistência com uma ou outra prótese não poderiam ser avaliadas, o que foi interpretado como uma

limitação do modelo em virtude da frágil parede abdominal dos ratos. Evidentemente esse fenômeno não pode ser transposto à prática cirúrgica.

5.1 COMPLICAÇÕES DA FERIDA CIRÚRGICA

Embora a análise das complicações da ferida cirúrgica, não tenha sido objetivo do estudo, observou-se um número maior de complicações com a prótese de PTFEe quando comparada à prótese de PP (28,57 % x 4,76 %). Dentre as complicações encontradas no grupo PTFEe, apenas uma delas, a deiscência da pele, encontrada em um animal, foi relacionada a erro técnico, já que em nenhum momento foi diagnosticado nesse animal, qualquer fator predisponente relacionado à complicação da ferida cirúrgica (infecção, seroma, hematoma). Embora a infecção da prótese tenha sido a maior responsável pelo alto índice de complicações observado no grupo PTFEe, quando essa complicação foi analisada separada e comparativamente com a prótese de PP, não houve diferença ao teste estatístico ($p=0,237$). O fato de 19,04 % dos animais no grupo PTFEe ter apresentado algum tipo de complicação infecciosa, no entanto, comparado a incidência nula com a prótese de PP não pode ser desprezado, já que os grupos foram submetidos às mesmas e rigorosas condições de assepsia. Digno de nota foi o fato de não ter sido utilizado antibioticoprofilaxia nos animais em virtude de em humanos, ser assunto controverso (D'Amico et al., 2001; Aufenacker et al., 2004).

Segundo Amid (2001), a infecção cirúrgica causada pela implantação de biomateriais é causada pela infiltração e proliferação de bactérias nos poros e interstícios desses materiais. Quando os espaços intersticiais ou poros das próteses são menores que

10µm ou quando a prótese contém componente microporoso como no caso daquelas multifilamentares e trançadas, as bactérias não podem ser eliminadas pelos macrófagos e neutrófilos que são maiores que esse tamanho.

A literatura aponta para um maior risco de infecção com as próteses de PTFEe em situações experimentais de contaminação bacteriana. Desta forma, Bleichrodt et al. (1993) compararam o comportamento de próteses de PP e PTFEe em feridas de ratos submetidas à contaminação por suas próprias fezes. Os autores encontraram maior índice de infecção e hérnia no grupo submetido ao implante de PTFEe. Concluem os autores que esse material não deva ser utilizado na presença de infecção. Da mesma forma, em estudo realizado com coelhos com inoculação de 10^6 unidades formadoras de colônias de *S. aureus* e *S. epidermidis*, em defeitos abdominais corrigidos com próteses de PP e PTFEe, Béllon et al. (2004a) observaram maiores alterações microscópicas no processo de integração tecidual assim como maior presença de *S. aureus* no grupo PTFEe. Curiosamente não houve diferença no estudo biomecânico entre as próteses.

Em virtude dos transtornos que podem sobrevir da infecção dos biomateriais utilizados para implantes na parede abdominal de humanos, os resultados descritos nesta pesquisa sugerem que a incidência e conseqüências da infecção das próteses de PTFEe sejam mais adequadamente investigadas.

5.2 AVALIAÇÃO HISTOLOGICA

O primeiro parâmetro utilizado para avaliação comparativa entre as próteses do presente estudo foi o critério histológico. Para tanto, foi pesquisada a reação tecidual ao

implante das próteses, levando em consideração a quantidade de tecido inflamatório e a deposição do colágeno reacionais à presença dos biomateriais.

A idéia de incluirmos o infiltrado inflamatório como parâmetro histológico de tolerância do biomaterial baseou-se em trabalho clássico da literatura, feito por Arnauld et al (1977). A partir de implantes de seis tipos distintos de materiais em ratos, os autores tentaram correlacionar aspectos histológicos e biomecânicos. Chegaram à conclusão que a presença de pequeno número de células inflamatórias esteve associada a uma ótima tolerância da prótese, enquanto que a resistência mecânica da ferida relacionava-se à maior quantidade de células produtoras de colágeno, os fibroblastos. A prótese de Dacron[®] foi a que obteve os melhores resultados. As próteses de PP e PTFEe não foram avaliadas, provavelmente em virtude da primeira não ser muito popular na França e da segunda não ser disponível comercialmente à época da realização do estudo.

Diferentemente de Arnauld et al. (1977), que utilizou para contagem das células um método randômico que contemplava quatro campos por corte de tecido, no presente trabalho, optou-se pela avaliação morfométrica de todo tecido reacional à prótese representado no corte histológico. Outra diferença diz respeito a termos preferido analisar o colágeno diretamente no tecido e não a quantidade de fibroblastos.

A prótese de PTFEe induziu uma infiltração de células inflamatórias semelhante à prótese de PP, na primeira semana da cirurgia. No entanto, o tecido inflamatório persistiu por mais tempo, no caso do PTFEe, uma vez que a prótese de PP apresentou uma resposta inflamatória menor na segunda e quarta semanas da cirurgia. Esse resultado é discordante daquele obtido por outros autores. Lamb et al. (1983) em estudo experimental com coelhos observaram um número semelhante de macrófagos e células

inflamatórias nos implantes de PP e PTFEe após 3 e 12 semanas de pós-operatório. Da mesma forma, Béllon et al. (1995), Béllon et al. (1996b) e Béllon et al. (1997), utilizando coelhos submetidos a implantes de próteses de PP e PTFEe e identificando os macrófagos por método imuno-histoquímico, observaram um pico dessas células, na mesma proporção entre os dois tipos de próteses, no décimo quarto dia de pós-operatório. O presente estudo parece ser o primeiro a sugerir uma maior capacidade, com o uso da prótese de PTFEe, na indução de infiltração de células inflamatórias no tecido implantado, comparada à prótese de PP.

Examinando esses dados, em associação aos resultados do teste biomecânico, observou-se que a quantificação do tecido inflamatório nos fragmentos de tecido submetidos a implante protético não permitiu correlação com os ensaios biomecânicos de tração: enquanto as diferenças no estudo histológico foram estatisticamente significantes na segunda e quarta semanas de pós-operatório, no estudo biomecânico a diferença entre as próteses foi observada apenas na primeira semana. Rath et al. (1997), estudando quatro próteses distintas implantadas em coelhos, fornecem outra evidência da dissociação entre os achados histológicos e biomecânicos; os autores observaram que, embora a prótese de Dacron[®] tenha demonstrado melhor tolerância do ponto de vista inflamatório, a prótese de polipropileno foi três vezes mais resistente em ensaios de tração.

A composição e a dinâmica das populações celulares envolvidas no processo de cicatrização das feridas simples (sem implante protético) são bastante conhecidas (Mônaco, Lawrence, 2003; Waldorf, Fewkes, 1995) e não foram objeto do estudo. Desta forma não foi possível discernir entre a resposta celular induzida pela própria ferida

daquela induzida especificamente pela presença da prótese. Por outro lado, a comparação entre os implantes de PP e de PTFEe nos permite concluir que o tipo de material implantado é um fator decisivo quanto ao tipo de reação tecidual. Esses achados já foram observados por outros pesquisadores (Calnan, 1963; Coda et al., 2000).

O papel do colágeno na cicatrização das feridas e especificamente sua participação no ganho de resistência das feridas, que ocorre com o passar do tempo, têm sido pesquisados há muito tempo (Howes et al., 1929; Levenson et al., 1965; Madden, Peacock, 1968; Madden, Peacock, 1971). As metodologias utilizadas neste estudo para análise do colágeno foram: análise quantitativa do colágeno por morfometria e análise semi-quantitativa da agregação das fibras colágenas.

Na análise quantitativa do colágeno pelo método morfométrico duas observações puderam ser feitas: 1) A quantidade de fibras colágenas aumentou progressivamente independente do tipo de prótese implantada, e 2) A prótese de PP foi capaz de induzir a um maior acúmulo de colágeno quando comparada com a prótese de PTFEe em todos os momentos do pós-operatório (quer com diferença estatística ou com tendência à diferença estatística das amostras).

Esses achados são compatíveis com o de outros autores. Tyrell et al. (1989), comparando implantes em coelhos utilizando quatro próteses distintas, entre elas o PP e o PTFEe, observaram, através de análise descritiva, maior infiltração colágena com o PP. De forma semelhante, embora em uma única análise em torno do quarto mês de pós-operatório, Murphy et al. (1989) observaram com implantes de PP em modelo murino, maior depósito de colágeno. Estudo morfométrico comparativo do depósito de colágeno em implantes de PP e PTFEe foi realizado por Aydos et al. (1999). Os autores

obtiveram após setenta dias de pós-operatório um maior volume de fibras colágenas no grupo do PP, sendo a diferença estatisticamente significativa.

Os valores da fração tecidual de colágeno e da força máxima no estudo biomecânico em ambas as próteses do estudo apresentaram-se progressivamente maiores com o passar do tempo. No entanto, na comparação entre as próteses de PP e PTFEe notou-se que enquanto a fração tecidual de colágeno foi maior estatisticamente no grupo PP na segunda e quarta semanas de pós-operatório, a força máxima nos ensaios de tração foi significativamente maior com a mesma prótese apenas na primeira semana. Isso sugere que embora uma maior quantidade de colágeno se correlacione com maior resistência ao longo do tempo, quantidades aparentemente iguais de colágeno (como visto na primeira semana) podem apresentar desempenho biomecânico diverso.

Quanto à análise semiquantitativa da agregação do colágeno houve na primeira semana de pós-operatório nos implantes de PTFEe predominância de fibras finas enquanto as fibras grossas de colágeno foram mais prevalentes nos implantes de PP no mesmo período. Desta forma, o fato da força máxima aplicada nos ensaios mecânicos de tração ter sido maior nos animais com implantes de PP, na primeira semana, pode ser explicado pelo arranjo supramolecular do colágeno sob a forma de fibras grossas já neste momento, observado com essa prótese. Na segunda e quarta semanas, as fibras grossas prevalecem nos dois tipos de implantes e os testes biomecânicos mostram resultados semelhantes. Assim sendo, a correlação entre os dados biomecânicos e o arranjo do colágeno no tecido (não apenas sua quantidade) obtida na presente pesquisa é uma contribuição original à literatura científica.

A partir desses dados pode-se sugerir que em estudos de cicatrização com implante protético, a pesquisa da distribuição das fibras grossas e finas de colágeno deve ser valorizada. Isso é devido a possibilidade apontada nesta pesquisa de seu poder preditor em relação ao comportamento biomecânico tecidual de forma mais eficiente que a simples quantificação do colágeno presente no tecido.

O método do Picrossírius-polarização tem sido usado para a determinação do tipo de colágeno (tipo I ou III) presente nos tecidos como preconizado por Junqueira e Montes (1983). No entanto, sua utilização indiscriminada pode levar a interpretações equivocadas, uma vez que seus autores já estabeleceram de modo definitivo que o método serve a esse propósito somente quando aplicado a tecidos normais, estáveis, de organismos adultos, que não estejam em processo de síntese ou degradação destas fibras (Montes, Junqueira, 1991).

Ainda segundo esses autores, o método do Picrossírius-polarização é capaz de distinguir, pelas diferenças de cor e intensidade da birrefringência o grau de agregação das fibras que contém colágeno.

Uma vez que o colágeno I é o único a atingir o mais elevado grau de polimerização, dando origem a fibras grossas formadas por fibrilas grossas, este é o único tipo de colágeno que mostra birrefringência amarelo-avermelhada quando observado pelo método Picrossírius-polarização. Porém, durante o processo de síntese ou degradação do colágeno tipo I aparecem fibras de diferentes espessuras. Estas fibras mais finas (que estão em processo de síntese ou de digestão), embora sendo de colágeno tipo I, mostram-se como fibras esverdeadas e fracamente birrefringentes. Por isso, em tecidos que se encontram em processo de cicatrização não se pode afirmar que todas as

fibras finas esverdeadas e fracamente birrefringentes sejam somente colágeno tipo III, já que fibras de colágeno tipo I que estejam em processo de digestão (devido à lesão do processo traumático) ou aquelas que já estejam sendo depositadas pelos fibroblastos (para reparação tecidual), apresentam-se com este mesmo aspecto.

O que pode ser afirmado nestes casos é se o tecido no momento do estudo, apresenta predomínio de fibras colagênicas mais finas ou mais grossas o que implica propriedades biomecânicas diferentes.

No caso do implante da prótese de PP, 7 dias após a cirurgia, o tecido reacional encontrava-se já rico em fibras grossas e portanto formadas por colágeno tipo I, enquanto nos casos do PTFEe este aspecto foi encontrado apenas nos animais sacrificados com 2 e 4 semanas de pós-operatório. Portanto, no caso do implante com PTFEe o tecido reacional permanece durante um tempo maior constituído por maiores quantidades de fibras finas, o que provavelmente explica seu pior desempenho no teste biomecânico.

Ainda que se saiba muito a respeito do arranjo das moléculas de colágeno para a formação das fibrilas, pouco se sabe sobre como estas fibrilas associam-se originando diverso arranjos supramoleculares de colágeno, como fibras grossas e finas. Um dos principais fatores para a deposição e organização de diferentes tipos genéticos de colágeno nos tecidos é a combinação das forças exercidas sobre as células produtoras de colágeno e as fibras em formação. Por exemplo, arranjos de tecido conjuntivo denso como aquele presente nos tendões e ligamentos originam-se como resposta às forças de tensão aplicadas em uma única direção (Harris et al., 1981; Stopak et al., 1985).

No modelo utilizado para avaliação histológica na presente pesquisa, os implantes protéticos foram submetidos à forças semelhantes (em intensidade e direção) conseqüentes à elevações da pressão abdominal nos animais. Mesmo assim o arranjo das malhas colagênicas mostrou-se completamente diferente entre as próteses.

O motivo pelo qual a prótese de PP induz a rápida síntese de colágeno do tipo I quando comparada à prótese de PTFEe provavelmente deve-se ao material do qual a prótese é constituída. Em estudo inédito na literatura, Junge et al. (2003) estudaram a qualidade do depósito colágeno, a expressão das colagenases e ainda os inibidores tissulares específicos das colagenases em modelo murino submetido a implante protético. Os autores observaram diferentes tipos de reação de corpo-estranho específicas para cada prótese dependendo da sua constituição. Neste mesmo trabalho usando o método do Picrossírius-polarização os autores descreveram menor quantidade de colágeno do tipo III nos implantes de PP quando comparados aos de poliéster, e polipropileno combinado com poligalactina. No entanto, em virtude do exposto acima pode-se criticar esta interpretação uma vez que as fibras que foram identificadas como colágeno tipo III (pelo seu aspecto) podem ser constituídas de colágeno tipo I em formação ou degradação.

Embora uma abundante depósito de colágeno I tenha sido observado no presente estudo com a prótese de PP (o que provavelmente foi responsável pelos melhores resultados biomecânicos), pesquisadores do Departamento de Cirurgia da “Technical University of Aachen” na Alemanha, através de sucessivas publicações têm sugerido que a resposta observada com as próteses de PP disponíveis comercialmente pode ter também, conseqüências adversas (Klinge et al., 1998a; Junge et al., 2002). Segundo

esses autores a alta densidade, pequena elasticidade e poros de pequenas dimensões encontrados nesse tipo de material, com conseqüente permeação desordenada e excessiva de colágeno, pode levar a complicações locais na ferida operatória, seromas, desconforto e perda da expansibilidade da parede abdominal.

A redução do tamanho da prótese de PP é considerada outra conseqüência do excessivo depósito colágeno. Em estudo experimental, Klinge et al. (1998b) implantaram vários tipos de telas marcadas com cliques metálicos no espaço pré-peritoneal de cães. Exames radiográficos foram realizados regularmente até o sacrifício do animal quando a tela era removida para análise histopatológica e ainda para estudo do tamanho dos poros da tela. Após 4 semanas, a área da tela de polipropileno, estava reduzida em 54% do seu tamanho original. Em estudo clínico realizado em pacientes portadores de HINC, Amid (1997) também observou por meio de exame radiológico, uma redução do tamanho das próteses (20%), após 10 meses da cirurgia. Talvez o maior risco teórico conseqüente a essa redução do tamanho das próteses seja a recidiva da hérnia. Em virtude de não termos medido as dimensões da prótese no momento da eutanásia, não foi possível observar o fenômeno de retração das próteses. Independente disso não foi evidenciada nesta pesquisa qualquer caso de hérnia no seguimento pós-operatório dos animais do presente estudo.

5.3 AVALIAÇÃO BIOMECÂNICA

Quanto à avaliação biomecânica, optou-se pela utilização de dois grupos controles: grupo - parede abdominal intacta (GI) e grupo - defeito abdominal corrigido

com sutura (GS). A parede abdominal intacta foi incluída para servir de referência para o valor ideal de força à qual a cicatriz poderia resistir e, desta forma, tornou-se o maior objetivo do ponto de vista biomecânico, para os modelos de implantes protéticos do estudo. Por outro lado, o grupo submetido à correção de DPA com sutura, foi considerado o equivalente nulo para o acréscimo em resistência das feridas pelos implantes, ou seja, os valores observados nos testes de resistência efetuados nesses controles seriam a referência para o cálculo do ganho em resistência com o uso das próteses.

Os resultados da avaliação biomecânica, nas condições da presente investigação, comprovam que a dinâmica da resistência tênsil de feridas com o implante das próteses testada, ocorre de maneira diferente às cicatrizações das feridas simples. O uso de próteses de PP ou de PTFEe na correção de defeitos ventrais criados em ratos conferiram à ferida, mesmo nas mais iniciais fases de cicatrização, resistência semelhantes aos valores obtidos pela parede abdominal intacta. Isso foi sugerido pelo fato de a diferença encontrada entre as curvas de força máxima no ensaio mecânico de tração entre a parede abdominal intacta ou com implantes de próteses, não ter sido estatisticamente significativa.

Independentemente do tipo de implante utilizado (PP ou PTFEe), as próteses tornaram as feridas mais resistentes com duas semanas de pós-operatório, que aquelas submetidas à simples sutura. Nesse período de pós-operatório, pôde-se observar a partir da medida das forças máximas ao ensaio mecânico de tração, que a prótese de PP foi responsável por um acréscimo de 40,68% em resistência, das feridas simples. No grupo PTFEe, no mesmo período de pós-operatório, as feridas tornaram-se 33,56% mais

resistentes. A principal justificativa, discutida anteriormente, é o fato de que nesta fase do processo de cicatrização, ambas as próteses estudadas tenham induzido a agregação das fibras colágenas, tornando-se o tecido rico em fibras grossas de colágeno tipo I. Na revisão da literatura não foram encontradas referências que tivessem quantificado o benefício em termos biomecânicos do implante protético em feridas, como pôde ser feito na presente pesquisa.

A presente pesquisa confirma a evidência obtida, com as experiências-piloto realizadas em animais submetidos a implante protético e avaliados tardiamente à cirurgia, que o modelo murino não é adequado para análise biomecânica nessa fase do processo cicatricial. Isso foi observado em virtude da maioria dos espécimes de parede abdominal, sofrer ruptura em regiões distantes da interface músculo-prótese aos ensaios de tração realizados com um mês da cirurgia. A ruptura ocorrendo fora da área de interface entre a prótese e o músculo, sugere que a cicatrização adquiriu resistência superior à da própria aponeurose do animal. Dessa forma, em fases adiantadas da cicatrização, os ensaios biomecânicos quantificam a resistência da parede abdominal dos animais e não a própria cicatriz. Esse fenômeno foi descrito por outros autores em estudos prévios de cicatrização de feridas simples (Meeks et al., 1995), feridas com implante protético (Aydos et al., 1999; Béllon et al., 1996b; Murphy et al., 1989) e ainda com a utilização de coelhos como animais de experimentação (Béllon et al., 1998).

Foi observado que a parede abdominal tornou-se proporcionalmente mais resistente à tração com o ganho de peso dos animais. Isso pôde ser demonstrado na avaliação biomecânica de animais com a parede abdominal intacta. Com uma semana, os animais tinham em média 343 gramas, com 4 semanas o peso médio foi de 390,8

gramas, o que correspondeu a ganho ponderal de 12,23%. A força máxima do ensaio mecânico de tração teve, paralelamente neste mesmo período, um aumento de 19,8%. A hipótese para explicar parece bastante lógica: com o aumento do peso ocorre um aumento da massa muscular da parede do animal e, portanto há de se esperar uma maior resistência à tração. A medida da espessura da parede abdominal dos animais, no entanto, não corroborou com essa hipótese. Levenson et al. (1965) estudando a cicatrização da pele da região paravertebral de ratos, obtiveram resultados semelhantes. Em virtude de terem estudado tiras de pele intactas para comparação, os autores observaram uma relação proporcional entre o peso dos animais, resistência à tensão e concentração de hidroxiprolina por grama de tecido dessas tiras, independentemente de sua espessura. A explicação para esse fenômeno, segundo os autores, advém do fato que durante o crescimento dos animais, a atividade dos fibroblastos também aumenta e com ela a formação de quantidades crescentes de colágeno. Essa mesma explicação pode ser sugerida para justificar forças máximas crescentes nos ensaios de tração obtidas no presente estudo independente da espessura da parede abdominal dos animais.

Com relação aos ensaios biomecânicos, os dados do estudo demonstram diferenças entre as próteses de PP e PTFEe. No modelo da presente pesquisa, o PP foi estatisticamente mais resistente que o PTFEe na primeira semana de pós-operatório. Com o decorrer do tempo as diferenças embora existindo passam, a não ter significância estando os resultados com 4 semanas mais próximos entre si. Os estudos reportados pela literatura com intenção de comparar a resistência tecidual com essas duas próteses mostram resultados conflitantes. Enquanto Lamb et al. (1983), Murphy et al. (1989) e

Aydos et al. (1999) não encontraram diferença entre as próteses, Law (1990), Tyrell et al. (1989) e Béllon et al. (1996b) demonstraram superioridade com a prótese de PP.

A semelhança entre as próteses observada por alguns autores provavelmente deveu-se ao fato que a maioria dos estudos não ter analisado comportamento biomecânico dos tecidos submetidos a implantes protéticos no pós-operatório precoce. Apenas um desses estudos analisou a resistência das próteses na primeira semana de pós-operatório. Law (1990) observou em cinco momentos diferentes do pós-operatório (1, 2, 4, 8 e 22 semanas) o comportamento biomecânico de três tipos distintos de próteses (PP, PTFE e Prótese de ácido poliglicólico). Foram utilizados cinco ratos para cada ensaio com cada prótese e em cada tempo. Embora a força de ruptura tenha sido superior com o PP em nenhum dos momentos a diferença foi estatisticamente significativa. A presente pesquisa é a primeira da literatura, portanto, a indicar que a diferença biomecânica a favor dos implantes com prótese de PP ocorre precocemente no período pós-operatório.

Embora não tenha sido estudada a resistência das feridas após um mês do implante protético, pelas limitações anteriormente comentadas, a presença de grande número de fibras colágenas do tipo I observadas de forma uniforme em ambas as próteses a partir da segunda semana do implante sugere ser improvável que a longo prazo exista superioridade do ponto de vista biomecânico de uma prótese sobre a outra. A superioridade do PP observada no seguimento tardio, nos estudos de Tyrell et al. (1989) e Béllon et al. (1996b) é passível de críticas. No primeiro, a avaliação biomecânica foi realizada por modelo no qual uma das bordas das tiras era fixada a um balde sendo o peso da água que progressivamente enchia o balde a força que tracionava

o conjunto para baixo. Segundo Franz et al. (2001), o modelo de tração utilizado na presente pesquisa através do uso de dinamômetros corresponde à modalidade mais aceita atualmente para avaliação biomecânica em feridas ventrais. No estudo de Béllon et al. (1996b) a maior crítica sem dúvida é o pequeno número de animais para cada grupo nos diferentes momentos (3 espécimes para cada). Os próprios autores, em publicações subseqüentes com outros objetivos e utilizando outras próteses, aumentaram o número de animais em seus experimentos (Béllon et al., 2002; Béllon et al., 2004b).

O presente estudo conclui a favor do PP quanto aos resultados obtidos no estudo biomecânico. O papel da fixação das próteses por meio de pontos e da sobreposição entre a prótese e as bordas da ferida, no entanto, são aspectos descritos que podem reduzir as diferenças encontradas nesta pesquisa.

Estudando a cicatrização em feridas de coelhos sem a utilização de próteses, Lichtenstein et al. (1970) observaram um ganho em resistência de aproximadamente 30% quando os ensaios de tração eram realizados nos primeiros dois meses da cirurgia em fragmentos de tecido no qual os pontos não eram removidos. É provável que tais pontos tenham a mesma capacidade de fixar e estabilizar as próteses nos primeiros dias de pós-operatório quando as diferenças entre elas são mais evidentes.

Outro fator que pode minimizar as diferenças observadas nesta pesquisa foi sugerido por Law (1990). O autor observou em estudo experimental comparativo entre três tipos diferentes de próteses (PP, PTFEe e Ácido poliglicólico), realizado em modelo murino, que a diferença a favor da prótese de PP sobre a prótese de PTFEe desaparecia quando a sobreposição entre as próteses e as bordas da ferida era aumentada de 2 para 6 mm. Esse mesmo fator pode justificar o índice de 60% de hérnias encontrado por

Simmermacher et al. (1994) em ratos submetidos a implantes de próteses de PTFEe. A sobreposição entre a prótese e as bordas da ferida nesse estudo foi de 2 a 3 mm praticamente a metade da sobreposição observada no presente estudo (5 mm).

5.4 AVALIAÇÃO DA RESPOSTA ADERENCIAL

O risco da formação de aderências entre os órgãos da cavidade abdominal e as próteses utilizadas na correção das hérnias ventrais preocupa há muito tempo os cirurgiões gerais (Read, 1997). Além disso, o risco de infecção associado à dificuldade de seu tratamento pela presença da prótese, contribuíram para que esses materiais fossem reservados apenas para os casos de recidiva herniária (Kark et al., 1995). A partir da década de noventa com a difusão da cirurgia “sem tensão” para o tratamento das hérnias inguinais e com a divulgação de melhores resultados no tratamento das hérnias incisionais com o uso de próteses, esse tipo de cirurgia têm sido cada vez mais realizado (Cassar, Munro, 2002).

Nessas situações para prevenir fistulas e aderências, admite-se que o peritônio parietal deva ser preservado durante o reparo da hérnia ventral servindo como uma barreira interposta entre a víscera e a prótese (Vrijland et al., 2000). Nem sempre, no entanto, isso é possível. Há situações exemplares: Em uma primeira, no campo da cirurgia geral são freqüentes as eviscerações, as ressecções por tumores, as infecções invasivas de partes moles e até mesmo as grandes hérnias incisionais nas quais não há extensão de peritônio suficiente para cobrir completamente as próteses. Em outra situação, mais recente, a correção laparoscópica das HINCs têm sido cada vez mais

utilizada nos dias de hoje. Nessas duas situações existe a necessidade de implantar a prótese em posição intra-peritoneal e, portanto em contato direto com os órgãos abdominais.

Para a avaliação das aderências observadas com as próteses em nosso estudo, utilizamos dois métodos: A medida da área aderida é um método objetivo que fornece valores numéricos para comparação. O segundo método foi escolhido, sabendo-se que a aderência da prótese ao omento tem, sem dúvida, implicação clínica diversa da aderência entre a prótese e os órgãos intraperitoneais, como o intestino. No caso do omento, a aderência é até desejada em humanos como nas situações em que não há peritônio para o fechamento da cavidade e a prótese é colocada na cavidade abdominal livre. Nos casos em que o peritônio está presente e em extensão suficiente, este é colocado entre a prótese e os órgãos abdominais de forma a protegê-los. Já no caso de aderência ao intestino, a depender do tipo de prótese, freqüentemente migra para dentro do órgão causando fístulas, abscessos e outras graves complicações (Losanoff et al., 2002).

Com relação à área de prótese aderida, observamos igualdade entre as duas próteses utilizadas. A área aderida foi semelhante em todos os tempos para as diferentes próteses estudadas. Esses resultados mostram-se diferentes dos dois estudos publicados na literatura utilizando a mesma metodologia e comparando as mesmas próteses.

Béllon et al. (1997) estudando 24 coelhos com defeitos ventrais corrigidos com próteses de PP (12 animais) e PTFEe (12 animais), observaram diferença na área de prótese aderida com 90 dias de pós-operatório. Enquanto a área recoberta por aderências no grupo PP foi de 7,58 cm², no grupo PTFEe essa área foi de 0,5 cm². De forma

semelhante, Matthews et al. (2003) em estudo mais recente implantando próteses de PP e PTFEe em coelhos observaram significativamente menos aderência com 9 e 16 semanas após a cirurgia no grupo que havia utilizado a prótese de PTFEe. Cabe ressaltar que ambos os estudos acima utilizaram uma modificação da prótese de PTFEe que permite diferenças de porosidade entre suas duas faces (DualMesh®). Nesse tipo de prótese de uma lado a porosidade varia entre 30 e 60 μm enquanto na outra face a dimensão dos poros é menor que 10 μm . Acreditando que o tamanho do poro seja inversamente proporcional à quantidade de aderência formada conforme discutido anteriormente, essa prótese permitiria uma menor área de aderência como encontrados nos estudos citados de Béllon et al. (1997) e Matthews et al. (2003)

Ainda na avaliação da área de prótese aderida, quando comparamos os diferentes momentos de avaliação no pós-operatório, observamos com o passar do tempo uma menor área aderida em ambas as próteses. Esse achado é comparado com o descrito por Van't Riet et al. (2003) que estudando experimentalmente ratos nos quais eram implantados próteses de PP, PP coberto por ácido hialurônico e carboximetilcelulose e um terceiro grupo com prótese de poliéster com cobertura colágena observaram menor grau de área de prótese aderida nos grupos com próteses de PP com um tempo maior de pós-operatório (30 dias x 7 dias).

Baptista et al. (2000) em um excelente modelo experimental mostram resultados discordante. Os autores desenvolveram uma nova metodologia para a avaliação da aderência a próteses de PP utilizando múltiplas e seqüenciais laparoscopias. Após a ressecção de segmento de camada muscular e peritoneal de ratos, foram-lhes implantados próteses de PP em contato com a cavidade abdominal. Utilizando ótica de

artroscopia, os autores realizaram laparoscopias com 1, 3, 7, 14 e 28 dias de pós-operatórios em cada animal. Aderências de omento estiveram invariavelmente presentes com 24 horas da cirurgia. No sétimo dia de pós-operatório a área envolvida com aderência era maior do que as observadas nos dias 1 e 3. Com 2 e 4 semanas, no entanto, o grau de aderências às próteses foram semelhantes à observada com uma semana de cirurgia. Os autores concluem que as aderências se formam até 7 dias de pós-operatório e que após esse período não há modificações independentemente do passar do tempo. Esses achados são coincidentes aos de Felemovicius et al. (2004) utilizando metodologia similar.

Outro método de avaliação da resposta aderencial induzida pelas próteses utilizado neste estudo, foi a avaliação descritiva da presença de aderência à órgãos abdominais. Foi observado com 7 dias de pós-operatório aderência em 6 animais nos quais se utilizou prótese de PP enquanto naqueles com implantes de prótese de PTFEe apenas 2 animais apresentaram aderência. Esse resultado foi estatisticamente significativo ($p=0,031$).

Diferentemente do observado na análise da área aderida, a avaliação descritiva da presença de aderências às vísceras da cavidade abdominal são concordantes com várias publicações prévias. Béllon et al. (1996b) e Béllon et al. (1997) em duas publicações mostram grande superioridade da prótese de PTFEe. Em 1996 comparando o mesmo tipo comercial de prótese de PTFEe utilizado no presente estudo (MycroMesh[®]) com a próteses de PP (Marlex[®]) os autores observaram aderência ao PTFEe em apenas 2/3 dos casos observados no grupo PP (Béllon et al., 1996b). No ano seguinte, comparando outro tipo de prótese de PTFEe, a Dual Mesh[®] com prótese de PP, a diferença foi maior

a favor da primeira. Enquanto em todos os casos nos quais se utilizou a prótese de PP foi observado aderência a vísceras, em apenas 1 de 12 casos essas mesmas aderências foram identificadas com a prótese de PTFEe. Os autores, no entanto, não submeteram seus dados a tratamento estatístico (Béllon et al., 1997). Em nosso meio Aydos et al. (1999) observaram estatisticamente maior aderência ao intestino em coelhos submetidos a implantes de prótese de PP (12 de 15 animais) quando comparados aos animais com implante de prótese de PTFEe (4 de 15 animais). Em estudo mais recente Matthews et al. (2003) observaram de forma semelhante índice menor de aderência com o PTFEe do que com o PP (30% x 55%).

Dois são os fatores que parecem influenciar a formação das aderências: a porosidade e a estrutura das próteses.

A importância da porosidade das próteses utilizadas para correção das hérnias abdominais tem sido defendida por alguns autores (Amid et al., 1995 e Amid et al., 1994). Esses autores sugerem, que as próteses sejam classificadas de acordo com sua porosidade. As próteses macroporosas seriam aquelas com poros maiores de 75 µm, enquanto as prótese microporosas aquelas com poros menores que 10µm em pelo menos uma de suas faces. Essa classificação segundo os autores é essencial para o entendimento das propriedades dos biomateriais (Amid, 1997).

Por ser considerada uma prótese macroporosa, o grande interstício da prótese de PP permite a rápida infiltração de tecido fibroso. Essa propriedade é importante para a boa integração tecidual de biomateriais sintéticos e tem-se demonstrado proporcional ao tamanho do poro (White, 1988). Bobyn et al. (1982) demonstraram que as próteses com poros maiores que 50 µm permitem uma firme fixação de tecido fibroso quando

comparadas com próteses com poros de menor tamanho. Isso ocorre em virtude do interstício dessas próteses permitirem a infiltração de fibroblastos e, portanto a infiltração de fibras colágenas. Provavelmente o grande tamanho dos poros tenha influência na rapidez do depósito de fibras colágenas do tipo I justificando os achados do presente estudo. A hipótese de que o tamanho do poro da prótese deva influenciar o tipo de colágeno infiltrado, no entanto, carece de validação por estudos específicos.

A prótese macroporosa da mesma forma em que permite a infiltração de tecido fibroso, facilita a infiltração de células inflamatórias na fase inicial da implantação, passo inicial na formação das aderências (Matthews et al., 2002). Se por um lado grandes poros parecem ter efeito benéfico na integração da prótese, por outro lado, acredita-se induzirem maior aderências à vísceras abdominais.

O papel da estrutura da prótese na integração tecidual têm sido extensivamente estudado pela Universidade de Alcalá na Espanha. De acordo com a estrutura, duas formas de próteses são mais comuns: reticulares e laminares. As próteses reticulares são constituídas de filamentos entrelaçados de maneira a formar uma retícula na qual grandes espaços se formam entre os filamentos. O PP é um exemplo desse tipo de prótese. Nas próteses laminares a estrutura é condensada de modo que praticamente não existem espaços entre os filamentos.

Se por um lado a pequena porosidade e a estrutura laminar da prótese de PTFE possam explicar a menor aderência às vísceras observadas na presente pesquisa, não há justificativa aparente para o fato de que essas características da prótese não tenham sido capazes de induzir a menor área de aderência quando comparadas com a prótese de PP.

5.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Segundo Kossovsky et al. (2001), “O grande debate sobre qual a melhor prótese não pode ser respondido em uma simples sentença em virtude de serem contextuais as relativas vantagens e desvantagens da reação tecidual dos materiais”. Outro ponto a ser compreendido atualmente é que o uso dos biomateriais disponíveis não causa sérios problemas de biocompatibilidade (Béllon et al., 2004b). Desta forma talvez a melhor questão a ser respondida seja: Qual a melhor prótese para cada específica situação clínica?

A presente pesquisa realizada em base experimental, e portanto, a despeito de carregar limitações quanto à aplicabilidade clínica, pôde sugerir que:

A prótese de PP induz a menor reação inflamatória, maior quantidade de infiltrado de fibras colágenas e mais precoce infiltrado de colágeno maduro no interstício de seus filamentos com conseqüente maior resistência à tração. Por essas propriedades trata-se de excelente opção para a correção da maioria das hérnias da parede abdominal (inguinais, incisionais, etc...)

A prótese de PTFEe induz a menor aderência aos órgãos abdominais ao mesmo tempo em que após um período médio de 2 semanas apresenta resultados histológicos e biomecânicos tão bons quanto as próteses de PP. Estaria indicada preferencialmente nas hérnias incisionais nas quais não se dispõe de peritônio para proteção dos órgãos abdominais. Para as demais situações, após estudos mais específicos que avaliem o risco de complicações de ferida, o uso desse tipo de material adequadamente fixado às estruturas adjacentes poderia ser recomendado.

6. CONCLUSÕES

A partir da comparação experimental entre os implantes subperitoneais de polipropileno e o politetrafluoroetileno expandido nas condições da presente pesquisa, conclui-se que:

- 1) o politetrafluoroetileno expandido induziu uma maior infiltração de tecido inflamatório na segunda e quarta semanas de pós-operatório
- 2) o polipropileno induziu um maior depósito colágeno na segunda e quarta semanas de pós-operatório.
- 3) o polipropileno foi responsável por um maior grau de agregação de fibras colagênicas na primeira semana de pós-operatório.
- 4) a área aderida em ambas as próteses (polipropileno e politetrafluoroetileno expandido) foi semelhante em todos os momentos do estudo.
- 5) o politetrafluoroetileno expandido causou menos aderências a órgãos abdominais que o polipropileno na primeira semana de pós-operatório
- 6) a prótese de polipropileno foi mais resistente aos ensaios biomecânicos de tração na primeira semana de pós-operatório.

7. REFERÊNCIAS

Adler RH. An evaluation of surgical mesh in the repair of hernia and tissue defects. *Arch Surg*. 1962;85:836–44.

Adler RH, Mendez M, Darby C. Effects of implanted mesh on the strength of healing wounds. *Surgery*. 1962;52:896–904.

Aldridge AJ, Simson JNL. Erosion and perforation of colon by synthetic mesh in a recurrent paracolostomy hernia. *Hernia*. 2001;5:110–2.

Amid PK. Classification of biomaterials and their related complications in abdominal wall hernia surgery. *Hernia*. 1997;1:15–21.

Amid PK. Complications of the use of prostheses: part I. In: Bendavid R, Abrahamson J, Arregui M, Flament JB, Philips EH. *Abdominal wall hernias. Principles and management*. New York: Springer-Verlag; 2001. p. 294–305.

Amid PK, Shulman AG, Lichtenstein IL, Hakakha M. Biomaterials for abdominal wall hernia surgery and principles of their applications. *Langenbecks Arch Surg*. 1994;379:168–71.

Amid PK, Lichtenstein IL, Shulman AG, Hakakha M. Biomaterials for “tension-free” hernioplasties and principles of their applications. *Minerva Chir*. 1995;50:821–6.

Annibali R. Prosthetic materials and adhesion formation. In: Bendavid R, Abrahamson J, Arregui M, Flament JB, Philips EH. *Abdominal wall hernias. Principles and management*. New York: Springer-Verlag; 2001. p. 294–305.

Armitage P, Berry G, Matthews JNS. *Statistical methods in medical research*. 3rd ed. Oxford: Blackwell; 1994.

Arnauld JP, Eloy R, Adloff M, Grenier JF. Critical evaluation of prosthetic materials in repair of abdominal wall hernias. New criteria of tolerance and resistance. *Am J Surg*. 1977 ;133 :338–45.

Aufenacker TJ, Van Geldere V, Van Mesdag T, Bossers AN, Dekker B, Scheijde E, et al. The role of antibiotic prophylaxis in prevention of wound infection after lichtenstein open mesh repair of primary inguinal hernia. A multicenter double-blind randomized controlled trial. *Ann Surg.* 2004;240:955–61.

Aydos RD, Silva IS, Goldenberg S, Goldenberg A, Simões MJ, Takita LC et al. Estudo comparativo do efeito das telas de politetrafluoroetileno expandido e de polipropileno, colocadas por laparoscopia, em hérnias ventrais produzidas em coelhos. *Acta Cir Bras.* 1999;14:59-64.

Baptista ML, Bonsack ME, Felemovicius I, Delaney JP. Abdominal adhesions to prosthetic mesh evaluated by laparoscopy and electron microscopy. *J Am Coll Surg.* 2000;190:271–80.

Beets GL, Go PM, Van Mameren H. Foreign body reactions to monofilament and braided polypropylene mesh used as preperitoneal implants in pigs. *Eur J Surg.* 1996;162:823–5.

Béllon JM, Buján J, Contreras L, Hernando A. Integration of biomaterials implanted into abdominal wall: process of scar formation and macrophage response. *Biomaterials.* 1995;16:381-7.

Béllon JM, Buján J, Contreras LA, Carreras – San Martín A, Hernando A, Jurado F. Improvement of the tissue integration of a new modified polytetrafluoroethylene prosthesis : Mycro Mesh ®. *Biomaterials.* 1996a;17:1265–71.

Béllon JM, Buján J, Contreras LA, Carreras – San Martín A, Jurado F. Comparison of a new type of polytetrafluoroethylene patch (Mycro Mesh) and polypropylene prosthesis (Marlex) for repair of abdominal wall defects. *J Am Coll Surg.* 1996b;183:11–8.

Bellón JM, Contreras LA, Buján J, Carrera - San Martín A. The use of biomaterials in the repair of abdominal wall defects: a comparative study between polypropylene meshes (Marlex) and a new polytetrafluoroethylene prosthesis (Dual Mesh). *J Biomater Appl.* 1997;12:121–35.

Bellón JM, Contreras LA, Buján J, Palomares D, Carrera-San Martín A. Tissue response to polypropylene meshes used in the repair of abdominal wall defects. *Biomaterials*. 1998; 19: 669–75.

Bellón J, Jurado F, García - Honduvilla N, López R, San - Martín AC, Buján J. The structure of a biomaterial rather its chemical composition modulates the repair process at the peritoneal level. *Am j surg*. 2002;184:154-159.

Bellón JM, García - Honduvilla N, López R, Corrales C, Jurado F, Buján J. In vitro mesothelialization of prosthetic materials designed for the repair of abdominal wall defects. *J Mater Sci Mater Med*. 2003;14:359–64.

Bellón JM, García - Carranza A, García - Honduvilla N, Carrera - San Martín A, Buján J. Tissue integration and biomechanical behaviour of contaminated experimental polypropylene and expanded polytetrafluoroethylene implants. *Br J Surg*. 2004a;91:489–94.

Bellón JM, Rodríguez M, Serrano N, San - Martín AC, Buján J. Improved biomechanical resistance using an expanded polytetrafluoroethylene composite-structure prosthesis. *World J Surg*. 2004b;28:461–5.

Bencini L, Sanchez LJ, Boffi B, Farsi M, Scatizzi M, Moretti R. Incisional hernia repair. Retrospective comparison of laparoscopic and open techniques. *Surg Endosc*. 2003;17:1546–51.

Berry DP, Harding KG, Stanton MR, Jasani B, Ehrlich HP. Human wound contraction: collagen organization, fibroblasts, and myofibroblasts. *Plast Reconstr Surg*. 1998;102:124-31.

Birk DE, Maine R. Localization of collagen types I, III and V during tendon development. Changes in collagen types I and III are correlated with changes in fibril diameter. *Eur J Cell Biol*. 1997;72:352–61.

Bleichrodt RP, Simmermacher RKJ, Van Der Lei B, Chakenraad JM. Expanded polytetrafluoroethylene patch versus polypropylene mesh for the repair of contaminated defects of the abdominal wall. *Surg Gynecol Obstet*. 1993;176:18–24.

Bobyn JD, Wilson GJ, Macgregor DC, Pilliar RM, Weatherly GC. Effect of pore size on the peel strength of attachment of fibrous tissue to porous-surfaced implants. *J Biomed Mater Res.* 1982;16:571-84.

Bothra R. Late onset small bowel fistula due to tantalum mesh. *Am J Surg.* 1973;125:649–50.

Brown JC, Timpl R. The collagen superfamily. *Int Arch Allergy Immunol.* 1995;107:484-90.

Burger JWA, Luijendijk RW, Hop WCJ, Halm JA, Verdaasdonk EGG, Jeekel J. Long-term follow-up of a randomized controlled trial of suture versus mesh repair of incisional hernia. *Ann Surg.* 2004;240:578 –85.

Calnan J. The use of inert plastic material in reconstructive surgery. I. A biological test for tissue acceptance. II. Tissue reactions to commonly used materials. *Br J Plast Surg.* 1963;133:338–45.

Carbajo MA, Martin Del Olmo JC, Blanco JI, De La Cuesta C, Toledano M, Martin F et al. Laparoscopic treatment vs open surgery in the solution of major incisional and abdominal wall hernias with mesh. *Surg Endosc.* 1999;13:250–2.

Cassar K; Munro A. Surgical treatment of incisional hernia. *Bri J Surg.* 2002;89:534–45.

Cerise EJ, Busuttil RW, Craighead CC, Ogden WW. The use of Mersilene® mesh in repair of abdominal wall hernias: a clinical and experimental study. *Ann Surg.* 1975;181:728–34.

Chu UB, Gina LA, Schwartz RW, Park AE. Laparoscopic incisional hernia repair: a technical advance. *Curr Surg.* 2003;60:287–91.

Clark JL. Ventral incisional hernia repair of large incisional hernias. *Surg Laparosc Endosc.* 2001;99:33–9.

Coda A, Botto - Micca F, Quaglino F, Ramellini G. In vivo tissue reaction to different prosthetic materials in abdominal wall hernia repair. *Hernia*. 2000;4:206–11.

Collela FS. *Informações do representante sobre a tela MycroMesh®* via Internet. fcolella@wlgore.com [mensagem pessoal] [citado 05 jul 2004]. E-mail para Enio Campos Amico (ecamic@uol.com.br)

Crawford DT, Bains JW, Ketcham AS. A standard model for tensiometric studies. *J Surg Res*. 1965;5:265–8.

Cumberland VH. A preliminary report on the use of prefabricated nylon weave in the repair of ventral hernia. *Med J Aust*. 1952;1:143.

D'Amico DF, Parimbelli P, Ruffolo C. Antibiotic prophylaxis in clean surgery: breast surgery and hernia repair. *J Chemother*. 2001;1:108–11.

De Bord JR. The historical development of prosthetics in hernia surgery. *Surg Clin North Am*. 1998;78:973-1006.

Douglas DM. The healing of aponeurotic incisions. *Br J Surg*. 1952;40:79–84.

Felemovicius I, Bonsack ME, Hagerman G, Delaney JP. Prevention of adhesions to polypropylene mesh. *J Am Coll Surg* . 2004;198:543–8.

Franz MG, Smith PD, Wachtel TL, Wright TE, Kuhn MA, Ko F, et al. Fascial incisions heal faster than skin: a new model of abdominal wall repair. *Surgery*. 2001;129:203–8.

Hamy A, Paineau J, Savigny JL, Vasse N, Visset J. Sigmoid perforation, an exceptional late complication of peritoneal prosthesis for treatment of inguinal hernia. *Int Surg*. 1997;82:307–8.

Harris AK, Stopak D, Wild P. Fibroblast traction as a mechanism for collagen morphogenesis. *Nature*. 1981; 290:249-51.

Harrison JH, Swanson DS, Lincoln AF. A comparison of tissue reactions to plastic materials. *Arch Surg.* 1957;74:139-44.

Harvey SC. The velocity of the growth of fibroblasts in the healing wound. *Arch Surg.* 1929;18:1227-40.

Hendrickse CW, Evans DS. Intestinal obstruction following laparoscopic inguinal hernia repair. *Br J Surg.* 1993;80:1432.

Heniford BT, Park A, Ramshaw BJ, Voeller G. Laparoscopic repair of ventral hernias. Nine years' experience with 850 consecutive hernias. *Ann Surg.* 2003;238:391-400.

Higgins GA, Antkowiak JG, Esterkyn SH. A clinical and laboratory study of abdominal wound closure and dehiscence. *Arch Surg.* 1969;98: 421-7.

Hooker GD, Taylor BM, Driman DK. Prevention of adhesion formation with use of sodium hyaluronate-based bioresorbable membrane in a rat model of ventral hernia repair with polypropylene mesh--a randomized, controlled study *Surgery.* 1999;125:211-6.

Howes EL, Sooy JW, Harvey SC. The healing of wounds as determined by their tensile strength. *JAMA.* 1929;92:42-5

Hunt JA, Flanagan BF, McLaughlin PJ, Strickland I, Williams DF. Effects of biomaterial surface charge on the inflammatory response: evaluation of cellular infiltration and TNF α production. *J biomed mater res.* 1996;31:139-44.

Institute of Laboratory Animal Resources. Commission on Life Sciences. National Research Council. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.* 7th ed. Washington, DC : National Academy Press; 1996.

Jenkins SD, Klammer TW, Parteka JJ, Condom RE. A comparison of prosthetic materials used to repair abdominal wall defects. *Surgery.* 1983;94:392-8.

Junge K, Klinge U, Rosch R, Klosterhalfen B, Schumpelick V. Functional and morphologic properties of a modified mesh for inguinal hernia repair. *World J Surg.* 2002;26:1472–80.

Junge K, Rosch R, Bialasinski L, Klinge U, Klosterhalfen B, Schumpelick V. Persistent extracellular matrix remodelling at the interface to polymers used for hernia repair. *Eur Surg Res.* 2003;35:497–504.

Junge K, Klinge U, Rosch R, Mertens PR, Kirch J, Klosterhalfen B, et al. Decreased collagen type I/III ratio in patients with recurring hernia after implantation of alloplastic prostheses. *Hernia.* 2004;389:17–22.

Junqueira LC, Carneiro J. *Histologia básica*. 10^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.

Junqueira LCU, Montes GS. Biology of Collagen-Proteoglycan Interaction. *Arch Histol Jap.* 1983;46:589–629.

Junqueira LCU, Cossermelli W, Brentani RR. Differential staining of collagens type I, II and III by Sirius Red and polarization microscopy. *Arch Histol Jpn.* 1978;41:267–74.

Junqueira LCU, Bignolas G, Brentani R. Picrossirius staining plus polarization microscopy, specific method of collagen detection in tissue section. *J Histochem.* 1979;11:447–55.

Kama NA, Coskun T, Yavuz H, Doganay M, Reis E, Akat AZ. Autologous skin graft, human dura mater and polypropylene mesh for repair of ventral abdominal hernias: an experimental study. *Eur J Surg.* 1999;165:1080–85.

Kark AE, Kurzer M, Waters KJ. Tension-free mesh hernia repair: review of 1098 cases using local anaesthesia in a day unit. *Ann R Coll Surg Engl.* 1995;77:299–304.

Kaufman Z, Engelberg M, Zager M. Fecal fistula: a late complication of Marlex mesh repair. *Dis Colon Rectum.* 1981;24:543–4.

Kingsnorth A, Le Blanc K. Hernias: inguinal and incisional. *Lancet.* 2003;362:1561–71.

Klinge U, Klosterhalfen B, Conze J, Limberg W, Obolenski B, Öttinger AP, et al. Modified mesh for hernia repair that is adapted to the physiology of the abdominal wall. *Eur J Surg.* 1998a;164:951–60.

Klinge U, Klosterhalfen B, Müller M, Öttinger AP, Schumpelick V. Shrinking of polypropylene mesh in vivo : an experimental study in dogs. *Eur J Surg.* 1998b;164:965–9.

Klosterhalfen B, Hermanns B, Rosch R, Junge K. Biological response to mesh. *Eur Surg.* 2003; 35:16–20.

Koller R, Miholic J, Jakl RJ. Repair of incisional hernias with expanded polytetrafluoroethylene. *Eur J Surg.* 1997;163:261–6.

Kössi JAO, Salminen PTP, Laato MK. Surgical workload and cost of postoperative adhesion-related intestinal obstruction : importance of previous surgery. *World J Surg.* 2004;28:666–70.

Kossovsky N, Freiman CJ, Howarth D. Biomaterials Pathology. In: Bendavid R, Abrahamson J, Arregui M, Flament JB, Philips EH. *Abdominal wall hernias. Principles and management.* New York: Springer-Verlag; 2001. p. 221–34.

Lamb JP, Vitale T, Kaminski DL. Comparative evaluation of synthetic meshes used for abdominal wall replacement. *Surgery.* 1983;93:643–8.

Lapiere CM, Nusgens B, Pierard GE. Interaction between collagen type I and type III in conditioning bundles organization. *Connect Tissue Res.* 1977;5:21–9.

Law NW. A comparison of polypropylene mesh, expanded polytetrafluoroethylene patch and polyglycolic acid mesh for the repair of experimental abdominal wall defects. *Acta Chir Scand.* 1990;156:759–62.

Law N. Expanded polytetrafluoroethylene. In: Bendavid R, Abrahamson J, Arregui M, Flament JB, Philips EH. *Abdominal wall hernias. Principles and management.* New York: Springer-Verlag; 2001. p. 279–85.

Le Blanc KA, Booth WV, Whitaker JM, Bellanger DE. Laparoscopic incisional and ventral herniorrhaphy: our initial 100 patients. *Hernia*. 2001;5:41–5.

Leber GE, Garb JL, Alexander AI, Reed WP. Long-term complications associated with prosthetic repair of incisional hernias. *Arch Surg*. 1998;133:378–82.

Levenson SM, Geever EF, Crowley LV, Oates JF, Berard CW, Rosen H. The healing of rat skin wounds. *Ann Surg*. 1965;161: 293–308.

Liakakos T, Karanikas I, Panagiotidis H, Dendrinis S. Use of marlex mesh in the repair of recurrent incisional hernia. *Br J Surg*. 1994;81:248–9.

Lichtenstein IL, Shulman AG. Ambulatory outpatient hernia surgery. Including a new concept, introducing tension-free repair. *Int Surg*. 1986;71:1 – 4.

Lichtenstein IL, Herzikoff S, Shore JM, Jiron MW, Stuart S, Mizuno L. The dynamics of wound healing. *Surg Gynecol Obstet*. 1970;130:685–90.

Losanoff JE, Richman BW, Jones JW. Entero-cutaneous fistula: a late consequence of polypropylene mesh abdominal wall repair: case report and review of the literature. *Hernia*. 2002;6:144–7.

Luijendijk RW, Hop WCJ, Van Den Tol MP, De Lange DCD, Braaksma MMJ, Ijzermans JNM et al. A comparison of suture repair with mesh repair for incisional hernia. *N Engl J Med*. 2000;343:392 –8.

Madden JW, Peacock JEE. Studies on the biology of collagen during wound healing . I Rate of collagen synthesis and deposition in cutaneous wounds of the rat. *Surgery*. 1968;64:288–94.

Madden JW, Peacock JEE. Studies on the biology of collagen during wound healing . III Dynamic metabolism of scar collagen and remodeling of dermal wounds. *Ann Surg*. 1971;174:511-20.

Martinez - Hernandez A. Repair, regeneration and fibrosis. In: Rubin EE, Faber JL, editors. *Pathology*. Philadelphia: Lippincott; 1988. p. 66-95.

Matthews BD, Kercher KW. Bioprosthetic materials in hernia repair. *Probl Gen Surg*. 2002;19:7–13.

Matthews BD, Pratt BL, Backus CL, Kercher KW, Heniford BT. Comparison of adhesion formation to intra-abdominal mesh after laparoscopic adhesiolysis in the New Zealand White rabbit. *Am Surg*. 2002;68:936–40.

Matthews BD, Pratt BL, Pollinger HS, Backus CL, Kercher KW, Sing RF, et al. Assessment of adhesion formation to intra-abdominal polypropylene mesh and polytetrafluoroethylene mesh. *J Surg Res*. 2003;114:126–32.

McCormack K, Scott NW, Go PM, Ross S, Grant AM. Laparoscopic techniques versus open techniques for inguinal hernia repair. *Cochrane Database Syst Rev* 2003; CD001785.

Meeks GR, Nelson KC, Byars RW. Wound strength in abdominal incisions: a comparison of two continuous mass closure techniques in rats. *Am J Obstet Gynecol*. 1995; 173:1676-83.

Monaco JL, Lawrence WT. Acute wound healing an overview. *Clin Plast Surg*. 2003;30:1-12.

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

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

Moreno – Egea A, Liron R, Girela E, Aguayo JL. Laparoscopic repair of ventral and incisional hernias using a new composite mesh (Parietex): initial experience. *Surg Laparosc Endosc Percutaneous Tech*. 2001;11:103–6.

Murphy JL, Freeman JB, Dionne PG. Comparison of Marlex and Gore-tex to repair abdominal wall defects in the rat. *Can J Surg*. 1989;32:244–7.

Nishihara G, Prudden JF. A quantitative relationship of wound tensile strength to length. *Surg Gynecol Obstet.* 1958;107:305–10.

Ozmen MM, Aslar AK, Terzi MC, Albayrak L, Berberoglu M. Prevention of adhesions by bioresorbable tissue barrier following laparoscopic intraabdominal mesh insertion. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech.* 2002;12:342-6.

Patsner B, Mann WJ, Chalas E, Orr JW. Intestinal complications associated with use of the Dexon mesh sling in gynecologic oncology patients. *Gynecol Oncol.* 1990;38:146–8.

Petersen TI, Qvist N, Wara P. Intestinal obstruction – a procedure – related complication of laparoscopic inguinal hernia repair. *Surg Laparosc Endosc.* 1995;5:214–6.

Pollock AV, Evans M. Early prediction of late incisional hernias. *Br J Surg.* 1989;76:953–4.

Raftery AT. Regeneration of parietal and visceral peritoneum: an electron microscopical study. *J Anat.* 1973;115:375–92.

Rath AM, Zhang J, Amouroux J, Chevrel JP. Les prothèses pariétales abdominales. Étude biomécanique et histologique. *Chirurgie.* 1997;121:253–65.

Read RC. Recurrent and incisional hernias. In : McQuarrie DG, Humphrey EW, Lee JT. *Reoperative general surgery.* 2nd ed. Edição. St Louis: Mosby; 1997. p. 558–67.

Read RC. Milestones in the history of hernia surgery: prosthetic repair. *Hernia.* 2004;8:8–14.

Rodda DJ, Otto GM, Pese KE. Intestinal obstruction following transabdominal preperitoneal laparoscopic inguinal hernia repair. *Aust N Z J Surg.* 1997;67:142–3.

Scales JT. Discussion on metals and syntetic materials in relation to soft tissue: tissue reaction to synthetic materials. *Proc R Soc Med.* 1953;46:647.

Schachtrupp A, Klinge U, Junge K, Rosch R, Bhardwaj RS, Schumpelick V. Individual inflammatory response of human blood monocytes to mesh biomaterials. *Br J Surg*. 2003;90:114-20.

Schultze – Mosgau S, Blaese MA, Grabenbauer G, Wehrhan F, Kopp J, Amann K et al. Smad-3 and Smad-7 expression following anti-transforming growth factor beta 1 (TGFbeta1)-treatment in irradiated rat tissue. *Radiother Oncol*. 2004;70:249-59.

Schumpelick V, Klinge U. Prosthetic implants for hernia repair. *Bri J Surg*. 2003;90:1457-8.

Schumpelick V, Conze J, Klinge U. Preperitoneal mesh-plasty in incisional hernia repair. A comparative retrospective study of 272 operated incisional hernias. *Chirurgie*. 1996;67:1028-35.

Schumpelick V, Klinge U, Junge K, Stumpf M. Incisional abdominal hernia: the open mesh repair. *Langenbecks Arch Surg*. 2004;389:1- 5.

Seror D, Nissan A, Spira RM, Feigin E, Udassin R, Freund HR. Comparison of bursting pressure of abdominal wall defects repaired by three conventional techniques. *Am Surg*. 2003;69:978-80.

Simmermacher RKJ, Schakenraad JM, Bleichrodt RP. Reherniation after repair of the abdominal wall with expanded polytetrafluoroethylene. *J Am Coll Surg*. 1994;178: 613-6.

Soares LA. *Processo de cicatrização das feridas na parede abdominal: influência da sutura do plano peritoneal com fio de catégute. Estudo experimental* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina , Universidade de São Paulo; 1991.

Soares JF, Siqueira AL. *Introdução à estatística médica*. 2ª ed. Belo Horizonte: Coopmed; 2002.

Soler M, Verhaeghe P, Stoppa R. Parietal reinforcement prostheses: an original intraperitoneal experimental study. *Hernia*. 2000; 4:61-6.

Speranzini MB, Deutsch CR. Biomateriais. In: Speranzini MB; Deutsch CR. Tratamento cirúrgico das hérnias das regiões inguinal e crural: estado atual. São Paulo, Editora Atheneu, 2001. p. 57 – 67.

Stadelmann WK, Digenis AG, Tobin GR. Physiology and healing dynamics of cronic cutaneous wounds. Am J Surg. 1998;176:26S–38S.

Stopak D, Wessells NK, Harris AK. Morphogenetic rearrangement of injected collagen in developing chicken limb buds. Proc Natl Acad Sci U S A. 1985;82:2804-8.

Szendroi M, Vajta G, Kovacs L, Schaff Z, Lápiss K. Polarization colours of collagen fibres: a sign of collagen production activity in fibrotic processes. Acta Morphol Hung. 1984;32:47–55.

Tang L, Eaton JW. Inflammatory responses to biomaterials. J Lab Clin Med. 1993;103:466-71.

Tognini JRF. *Estudo biomecânico e morfológico da cicatrização da parede abdominal de ratos sob ação do meloxicam* [tese]. São Paulo: Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo; 1999.

Toy FK, Smoot RT. Toy - Smoot laparoscopic hernioplasty. Surg Laparosc Endosc. 1991;1:151–5.

Trabucchi EE, Corsi FR, Meinardi C, Cellerino P, Allevi R, Foschi DA. Tissue response to polyester mesh for hernia repair: na ultramicroscopic study in man. Hernia. 1998;2:107–12.

Tsang S, Normand R, Karlin R. Small bowel obstruction : a morbid complication aftre laparoscopic herniorrhaphy. Am Surg. 1994;60:332-4.

Tyrell J, Silberman H, Chandrasoma P, Niland J, Shull J. Absorbable versus permanent mesh in abdominal operations. Surg Gynecol Obstet. 1989;168:227-47.

Usher FC, Gannon JP. Marlex mesh : A new plastic mesh for replacing tissue defects : I. Experimental studies. Arch Surg. 1959;78:131-7.

Van't Riet M, Vos Van Steenwijk PJ, Bonthuis F, Marquet RL, Steyerberg EW, Jeekel J, et al. Prevention of adhesion to prosthetic mesh . Comparison of different barriers using an incisional hernia model. Ann Surg. 2003;237:123–8.

Voorhees AB, Jaretzki A, Blakemore AH. The uses of tubes constructed from Vinyon N cloth in bridging arterial defects. Ann Surg. 1952;35:332-6.

Vrijland WW, Bonthuis F, Steyerberg EW, Marquet RL, Jeekel J, Bonjer HJ. Peritoneal adhesions to prosthetic materials: choice of mesh for incisional hernia repair. Surg Endosc. 2000;14:960–3.

Waldorf H, Fewkes J. Wound healing. Adv Dermatol. 1995;10:77-96.

Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. Surg Clin North Am. 1997;77:509-28.

White RA. The effect of porosity and biomaterial on the healing and long-term mechanical properties of vascular prostheses. ASAIO Transactions. 1988;34:95–100.

Woloson SK, Greisler HP. Biochemistry, immunology and tissue response to prosthetic material. In: Bendavid R, Abrahamson J, Arregui M, Flament JB, Philips EH. *Abdominal wall hernias. Principles and management*. New York: Springer-Verlag; 2001. p. 201–7.

Young RM, Gustafson R, Dinsmore RC. Sepramesh vs. Dualmesh for abdominal wall hernia repairs in a rabbit model. Curr Surg. 2004;61:77–9.

APÊNDICES

PESO DOS ANIMAIS – IPSP

1 SEMANA gramas	2 SEMANAS gramas	4 SEMANAS gramas
341	376	400
327	359	420
339	388	411
350	369	415
330	370	397
361	402	412
352	366	405

PESO DOS ANIMAIS – GI, GS, GPP e GPTFEe

	1 SEMANA gramas	2 SEMANAS gramas	4 SEMANAS gramas
CONTROLE – PAREDE ABDOMINAL INTACTA	345	378	417
	342	374	392
	353	368	390
	338	370	380
	340	371	375
CONTROLE – PAREDE ABDOMINAL SUTURADA	338	365	415
	346	356	385
	365	395	418
	321	354	415
	350	347	397
	339	380	412
PRÓTESE DE POLIPROPILENO	352	358	416
	340	361	427
	334	345	440
	362	340	397
	358	417	420
	360	377	405
PRÓTESE DE POLITETRAFLUOROETILENO EXPANDIDO	340	401	400
	360	382	390
	333	386	411
	348	365	400
	342	369	389
	323	385	397
	321	353	408
	356	367	414
	356	390	403

ESTUDO HISTOLÓGICO I

TEMPO	TIPO DE PRÓTESE	NÚMERO DA LÂMINA	Nº ANIMAL	PONTOS DO RETÍCULO		
				PRÓTESE	TC. CONJUNTIVO NÃO-INFLAMATÓRIO	TC. INFLAMATÓRIO
1 SEMANA	PTFE-e	7801	R1	80	212	66
		7802	R2	107	213	110
		7803	R3	57	251	67
		7806	R6	100	333	267
		7807	R7	122	85	32
	PP	7787	R1	214	390	64
		7788	R2	72	219	37
		7790	R4	36	128	44
		7793	R7	25	129	44
2 SEMANAS	PTFE-e	7837	R1	206	223	33
		7838	R2	150	215	35
		7839	R3	184	180	40
		7840	R4	179	208	38
		7841	R5	179	241	62
	PP	7823	R1	208	253	18
		7824	R2	234	282	29
		7825	R3	214	323	43
		7826	R4	201	401	41
		7827	R5	245	244	18
		7828	R6	183	443	31
		7829	R7	211	212	27
4 SEMANAS	PTFE-e	7878	R1	226	235	40
		7879	R2	286	169	33
		7880	R3	327	162	36
		7881	R4	293	208	39
		7882	R5	254	197	44
		7883	R6	350	248	33
		7884	R7	279	228	38
	PP	7871	R1	150	361	14
		7872	R2	71	189	8
		7873	R3	57	330	27
		7874	R4	105	302	10
		7876	R6	106	321	14
		7877	R7	100	264	9

ESTUDO HISTOLÓGICO II

TEMPO	TIPO DE PRÓTESE	NÚMERO DA LÂMINA	Nº ANIMAL	ÁREAS	
				ÁREA DE COLÁGENO	ÁREA DE REAÇÃO
1 SEMANA	PTFE-e	7801	R1	1,68	2,78
		7802	R2	1,66	3,23
		7803	R3	1,95	3,18
		7806	R6	2,61	6,00
		7807	R7	0,67	1,17
	PP	7787	R1	3,22	4,54
		7788	R2	1,69	2,56
		7790	R4	1,04	1,72
		7793	R7	1,06	1,73
2 SEMANAS	PTFE-e	7837	R1	1,73	2,56
		7838	R2	1,72	2,50
		7839	R3	1,36	2,20
		7840	R4	1,66	2,46
		7841	R5	1,96	3,03
	PP	7823	R1	2,01	2,71
		7824	R2	2,22	3,11
		7825	R3	2,54	3,66
		7826	R4	3,01	4,42
		7827	R5	1,87	2,62
		7828	R6	3,40	4,74
		7829	R7	1,65	2,39
4 SEMANAS	PTFE-e	7878	R1	1,84	2,75
		7879	R2	1,40	2,02
		7880	R3	1,32	1,98
		7881	R4	1,70	2,47
		7882	R5	1,59	2,41
		7883	R6	2,03	2,81
	PP	7884	R7	1,75	2,66
		7871	R1	2,91	3,75
		7872	R2	1,57	1,97
		7873	R3	2,53	3,57
		7874	R4	2,38	3,12
		7876	R6	2,60	3,35
		7877	R7	2,14	2,73

ESTUDO HISTOLÓGICO III

TEMPO	TIPO DE PRÓTESE	NÚMERO DA LÂMINA	Nº ANIMAL	RELAÇÕES	
				RELAÇÃO I/R	RELAÇÃO Colágeno/R
1 SEMANA	PTFE-e	7801	R1	0,445	0,435
		7802	R2	0,340	0,515
		7803	R3	0,210	0,614
		7806	R6	0,273	0,571
		7807	R7	0,237	0,603
	PP	7787	R1	0,141	0,708
		7788	R2	0,144	0,661
		7790	R4	0,255	0,601
		7793	R7	0,254	0,614
2 SEMANAS	PTFE-e	7837	R1	0,140	0,686
		7838	R2	0,154	0,674
		7839	R3	0,181	0,620
		7840	R4	0,128	0,675
		7841	R5	0,204	0,646
	PP	7823	R1	0,065	0,717
		7824	R2	0,092	0,681
		7825	R3	0,117	0,693
		7826	R4	0,093	0,712
		7827	R5	0,066	0,740
		7828	R6	0,113	0,692
		7829	R7	0,068	0,715
4 SEMANAS	PTFE-e	7878	R1	0,117	0,721
		7879	R2	0,142	0,658
		7880	R3	0,163	0,690
		7881	R4	0,181	0,668
		7882	R5	0,157	0,687
		7883	R6	0,182	0,658
		7884	R7	0,145	0,668
	PP	7871	R1	0,075	0,710
		7872	R2	0,037	0,776
		7873	R3	0,041	0,777
		7874	R4	0,032	0,764
		7876	R6	0,033	0,784
		7877	R7	0,040	0,796

ESTUDO HISTOLÓGICO – GRAU DE AGREGAÇÃO DO COLÁGENO

TEMPO	TIPO DE PRÓTESE	NÚMERO DA LÂMINA	Nº ANIMAL	ESCORE
1 SEMANA	PTFE-e	7801	R1	2
		7802	R2	1
		7803	R3	1
		7806	R6	2
		7807	R7	1
	PP	7787	R1	4
		7788	R2	3
		7790	R4	2
		7793	R7	4
2 SEMANAS	PTFE-e	7837	R1	2
		7838	R2	3
		7839	R3	3
		7840	R4	3
		7841	R5	3
	PP	7823	R1	3
		7824	R2	3
		7825	R3	4
		7826	R4	4
		7827	R5	3
		7828	R6	2
		7829	R7	3
4 SEMANAS	PTFE-e	7878	R1	4
		7879	R2	3
		7880	R3	3
		7881	R4	1
		7882	R5	2
		7883	R6	3
		7884	R7	3
	PP	7871	R1	4
		7872	R2	3
		7873	R3	4
		7874	R4	3
		7876	R6	4
		7877	R7	2

ADERÊNCIA – ÁREA ADERIDA

	1 SEMANA % de área aderida	2 SEMANAS % de área aderida	4 SEMANAS % de área aderida
PRÓTESE DE POLIPROPILENO	50	25	25
	50	100	25
	100	50	25
	50	50	75
	50	50	100
	100	50	50
	75	100	25
PRÓTESE DE POLITETRAFLUOROETILENO EXPANDIDO	75	50	25
	75	50	25
	100	75	25
	75	50	50
	75	100	50
	50	25	75
	50	75	50

ADERÊNCIA – ANÁLISE DESCRITIVA

	1 SEMANA órgãos aderidos	2 SEMANAS órgãos aderidos	4 SEMANAS órgãos aderidos
CONTROLE – PAREDE ABDOMINAL INTACTA	-	-	-
	-	-	-
	-	-	-
	-	-	-
	-	-	-
CONTROLE – PAREDE ABDOMINAL SUTURADA	OMENTO	-	-
	-	-	-
	-	-	OMENTO
	-	-	-
	-	-	-
	-	OMENTO	-
PRÓTESE DE POLIPROPILENO	OMENTO, INTESTINO	OMENTO	OMENTO
	OMENTO	OMENTO, INTESTINO	INTESTINO
	OMENTO, FÍGADO	OMENTO	OMENTO, FÍGADO
	OMENTO, INTESTINO	OMENTO	INTESTINO, FÍGADO
	OMENTO, INTESTINO	OMENTO	OMENTO, INTESTINO
	OMENTO, INTESTINO	FÍGADO	OMENTO
	OMENTO, INTESTINO	INTESTINO	OMENTO
PRÓTESE DE POLITETRAFLUOROETILENO EXPANDIDO	OMENTO	INTESTINO	OMENTO
	OMENTO	OMENTO	OMENTO
	OMENTO	INTESTINO	OMENTO, INTESTINO
	OMENTO, FÍGADO	OMENTO	OMENTO
	OMENTO	OMENTO	-
	OMENTO	OMENTO	INTESTINO, FÍGADO
	INTESTINO	OMENTO, FÍGADO	-

BIOMECÂNICA

	1 SEMANA		2 SEMANAS		4 SEMANAS	
	LOCAL DE RUPTURA	FORÇA MÁXIMA	LOCAL DE RUPTURA	FORÇA MÁXIMA	LOCAL DE RUPTURA	FORÇA MÁXIMA
CONTROLE – PAREDE ABDOMINAL INTACTA	Músculo	21,97	Músculo	36,54	Músculo	29
	Músculo	27,05	Músculo	24,38	Músculo	23,8
	Músculo	16,71	Músculo	21,5	Músculo	29,2
	Músculo	25	Músculo	23,62	Músculo	26,88
	Músculo	18,88	Músculo	25,88	Músculo	27,78
CONTROLE – PAREDE ABDOMINAL SUTURADA	Ferida	21,66	Ferida	16,54	Ferida	19,41
	Ferida	9,25	Ferida	16,06	Ferida	24,78
	Ferida	9,97	Ferida	15,34	Ferida	19,12
	Ferida	25,55	Ferida	24,49	Ferida	35,56
	Ferida	11,79	Ferida	19,89	Ferida	23,82
	Ferida	12,51	Músculo	15,39	Ferida	31,59
	Ferida	11,50	Ferida	13,23	Ferida	29,33
PRÓTESE DE POLIPROPILENO	Músculo	19,95	Interface	18,89	Interface	29,37
	Interface	23,28	Músculo	17,8	Músculo	24,39
	Interface	16,81	Músculo	19,79	Interface	32,33
	Interface	21,03	Interface	27,2	Músculo	23,16
	Interface	20,27	Interface	22,01	Interface	26,59
	Interface	21,89	Músculo	23,29	Músculo	21,67
	Músculo	20,58	Interface	22,4	Músculo	25,8
PRÓTESE DE POLITETRAFLUOROETILENO EXPANDIDO	Interface	20,46	Interface	28,88	Interface	28,05
	Interface	10,34	Interface	26,24	Músculo	25,84
	Interface	18,85	Interface	16,49	Músculo	27,42
	Interface	17,76	Músculo	24,23	Interface	23,14
	Interface	15,34	Interface	16,57	Músculo	18,46
	Interface	19,52	Músculo	21,9	Músculo	32,14
	Interface	16,18	Interface	27,58	Interface	25,65

GRÁFICOS ENSAIO DE TRAÇÃO – PAREDE ABDOMINAL INTACTA (1 SEMANA)

GRÁFICOS ENSAIO DE TRAÇÃO – PAREDE ABDOMINAL INTACTA (2 SEMANAS)

GRÁFICOS ENSAIO DE TRAÇÃO – PAREDE ABDOMINAL INTACTA (4 SEMANAS)

GRÁFICOS ENSAIO DE TRAÇÃO – PAREDE ABDOMINAL SUTURADA (1 SEMANA)

GRÁFICOS ENSAIO DE TRAÇÃO – PAREDE ABDOMINAL SUTURADA (2 SEMANAS)

GRÁFICOS ENSAIO DE TRAÇÃO – PAREDE ABDOMINAL SUTURADA (4 SEMANAS)

GRÁFICOS ENSAIO DE TRAÇÃO – PP (1 SEMANA)

GRÁFICOS ENSAIO DE TRAÇÃO – PP (2 SEMANAS)

GRÁFICOS ENSAIO DE TRAÇÃO – PP (4 SEMANAS)

GRÁFICOS ENSAIO DE TRAÇÃO – PTFEe (1 SEMANA)

GRÁFICOS ENSAIO DE TRAÇÃO – PTFEe (2 SEMANAS)

GRÁFICOS ENSAIO DE TRAÇÃO – PTFEe (4 SEMANAS)

This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.