

Cristina Gama Pereira Lucena

**ESTUDO EXPERIMENTAL COMPARATIVO ENTRE AS
TELAS DE POLIPROPILENO, POLIPROPILENO +
POLIGLACTINA E POLIPROPILENO + TITÂNIO:
CITOCINAS PRÓ-INFLAMATÓRIAS, ALTERAÇÕES
INFLAMATÓRIAS TECIDUAIS E MORFOMETRIA DO
COLÁGENO**

Tese apresentada à Universidade
Federal de São Paulo para obtenção do
Título de Mestre em Ciências.

São Paulo

2009

Cristina Gama Pereira Lucena

**ESTUDO EXPERIMENTAL COMPARATIVO ENTRE AS
TELAS DE POLIPROPILENO, POLIPROPILENO +
POLIGLACTINA E POLIPROPILENO + TITÂNIO:
CITOCINAS PRÓ-INFLAMATÓRIAS, REAÇÃO
INFLAMATÓRIA TECIDUAL E MORFOMETRIA DO
COLÁGENO**

Tese apresentada à Universidade Federal de
São Paulo para obtenção do Título de Mestre
em Ciências

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Moura Linhares

Co-orientador: Prof. Dr. Ricardo Artigiani Neto

São Paulo

2009

Lucena, Cristina Gama Pereira.

Estudo experimental comparativo entre as telas de polipropileno, polipropileno+poliglactina e polipropileno+titânio: citocinas pró-inflamatórias, reação inflamatória tecidual e deposição do colágeno. / Cristina Gama Pereira Lucena. - - São Paulo, 2009.

xvii, 76f.

Tese (Mestrado) – Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Gastroenterologia Cirúrgica.

Título em Inglês: Comparing the behavior of polypropylene, polypropylene+poliglactin and polypropylene+titanium meshes in rat: inflammatory cytokines, tissue alterations and collagen deposition.

1. hérnia. 2. telas. 3. colágeno. 4. inflamação. 5. citocinas.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO

ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIRURGIA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO (*STRICTU SENSU*) EM
GASTROENTEROLOGIA CIRÚRGICA**

Chefe do Departamento: Prof. Dra. Lídia Masako Ferreira

Coordenador do Curso de Pós-graduação: Prof. Dr. Délcio Matos.

Cristina Gama Pereira Lucena

**ESTUDO EXPERIMENTAL COMPARATIVO ENTRE AS TELAS
DE POLIPROPILENO, POLIPROPILENO+POLIGLACTINA E
POLIPROPILENO+TITÂNIO: CITOCINAS PRÓ-
INFLAMATÓRIAS, REAÇÃO INFLAMATÓRIA TECIDUAL E
MORFOMETRIA DO COLÁGENO**

Presidente da banca: Prof. Dr. Marcelo Moura Linhares

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alberto Goldenberg

Prof. Dr. Luiz Arnaldo Szutan

Prof. Dr. Alcides Augusto Salzedas Neto

Dedicatória

A Deus, Inteligência Suprema, cuja complexidade e beleza, nós, ainda muito ignorantes, estamos longe de compreender.

A minha mãe, Liete, pelo exemplo vivo de coragem, fortaleza e dignidade, especialmente diante da dor e do sofrimento.

A meu pai, Gerardo, lúcido sempre, por ter sempre me estimulado o gosto pela leitura e me ensinado a pensar por mim mesma.

A meu marido, Augusto, pelo amor, apoio generoso, que somente os fortes sabem dar, e compreensão, mesmo nos momentos em que não posso estar ao seu lado.

A meu irmão Ricardo, minha cunhada Eliane e meu sobrinho Vinícius que formam uma família linda.

A minha avó, Laura, que me mostrou a grande força proveniente do contato direto com a terra, animais e plantas.

As minhas tias Lizete e Lindinete, que tantas vezes me trataram com carinho de mãe.

A Aparecida, mais que uma amiga, irmã e confidente de todas as horas.

Aos Drs. José Augusto Bezerra, Luiz Carlos Soares de Mello e Nelma Maria Barbosa da Silva, primeiros mestres em Cirurgia, que me ensinaram a ter disciplina, segurança e humildade quando eu ainda era acadêmica em Medicina. Minha gratidão eterna.

Aos Drs. Wilson Luís Abrantes, Domingos André Drummond, Guilherme Durães Rabelo e Marcus Antônio Oliveira, preceptores a Residência em Cirurgia da Fundação Hospitalar de Minas Gerais, não somente pelos ensinamentos técnicos, mas também de respeito ao paciente e aos colegas.

Ao paciente, razão maior de toda atividade de trabalho, ensino e pesquisa na área da Saúde.

Ao animal de experimentação, cuja contribuição à pesquisa geralmente custa a própria vida.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Marcelo Moura Linhares, orientador desta tese. Mestre, cujo entusiasmo pelos avanços da Ciência e da pesquisa, contágia e impulsiona todos os seus orientandos. Amigo, sempre disponível a ajudar em momentos de cansaço e desânimo. Rigoroso, obriga-nos a buscar a excelência sempre.

Ao Prof. Dr. Ricardo Artigiani Neto, co-orientador desta tese, pela contribuição extremamente relevante em Histologia, pelo envolvimento, pela amizade e pela ajuda indispensável.

À Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), em especial ao programa de Pós-graduação em Gastroenterologia Cirúrgica por receber alunos de todo o país numa instituição conceituada nacionalmente. Ao seu coordenador, o Prof. Dr. Délcio Matos, cuja atuação rigorosa, íntegra e tenaz é decisiva para o seu funcionamento.

Ao Departamento de Patologia da UNIFESP, e ao seu coordenador, no início da realização desta tese, o Prof. Dr. Marcello Franco.

Ao Centro de Desenvolvimento de Modelos Experimentais (CEDEME) da UNIFESP, ao seu diretor, o Prof. Dr. João Bosco Pesqueiro, e à Dra. Débora Rosa, veterinária, sua coordenadora de Produção. Ao Sr Emanuel Cardoso, técnico de laboratório, cujo apoio foi essencial à realização das cirurgias nos animais.

Aos funcionários da Pós-Graduação em Gastroenterologia Cirúrgica, os Srs. Mônica Noletto Miranda, Sidney Gonçalves Bárbara e Cláudia Joanete da Silva, por auxílio, simpatia e informação. Eles estão sempre acessíveis a todos os pós-graduandos.

Aos professores e orientadores da Pós-Graduação pelos conhecimentos transmitidos e por ampliar nossa visão sobre Ciência e Pesquisa.

A todos os colegas da Pós-Graduação que, provenientes de todas as regiões do Brasil, também contribuem com a nossa formação com suas experiências únicas. Aos Drs. Levindo Alves de Oliviera e Marcelo Eustáquio Rocha, amigos desde o momento da nossa entrevista para a admissão no Programa.

Agradecimentos especiais

À FAPESP, pelo “Auxílio à pesquisa”, com o processo 07/57100-6.

À CAPES, pela “bolsa de Mestrado”, desde 2008.

Sumário

Dedicatória.....	v
Agradecimentos.....	vi
Agradecimentos Especiais.....	vii
Listas.....	ix
Resumo.....	xv
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 OBJETIVO.....	3
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	4
3 MÉTODOS.....	17
4 RESULTADOS.....	26
5 DISCUSSÃO.....	48
6 CONCLUSÕES.....	61
7 ANEXOS.....	62
8 REFERÊNCIAS.....	69
Abstract	
Bibliografia consultada	

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Anestesia intraperitoneal do rato com ketamina + xilazina.....	18
Figura 2. Coleta de sangue no animal para dosagens de citocinas.....	18
Figura 3. Tricotomia abdominal do rato com aparelho elétrico.....	19
Figura 4. Incisão em flanco direito do animal.....	19
Figura 5. Retirada de fragmento da musculatura anterior do abdome do rato.....	20
Figura 6. Telas utilizadas nos grupos A (polipropileno – alta densidade), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio densidade), respectivamente.....	20
Figura 7. Fixação da tela na parede abdominal do animal com fio de polipropileno.....	21
Figura 8. Aspecto final da incisão na parede abdominal do animal.....	21
Figura 9. Escala para avaliação da reação inflamatória tecidual.....	22
Figura 10. Escala complementar para avaliação da reação inflamatória tecidual.....	23
Figura 11. Análise gráfica da evolução das dosagens de IL-1 β em D0, D1, D4 e D40 nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).....	26
Figura 12. Análise gráfica das dosagens de TNF α em D0, D1, D4 e D40 nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).....	27
Figura 13. Análise gráfica das dosagens de VEGF em D0, D1, D4 e D40 nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).....	28
Figura 14. Análise gráfica das dosagens de IL6 em D0, D1, D4 e D40 nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).....	29
Figura 15. Camada de células na periferia dos granulomas. Análise gráfica dos escores (média + erro padrão) nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).....	30

Figura 16. Camada de células inflamatórias (>15) na periferia do granuloma (entre as setas) em animal do grupo B (polipropileno + poliglactina). Fotomicrografia - HE, 400x.....	31
Figura 17. Camadas de células (entre setas) na periferia de granuloma corpo estranho (G) em animal do grupo C (polipropileno + poliglactina). Fotomicrografia – tricromo de Masson, 400x	31
Figura 18. Reação inflamatória no tecido do hospedeiro. Análise gráfica do escore (média + erro padrão) nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).....	32
Figura 19. Reação intensa, granulomatosa, com massa de células inflamatórias, e células gigantes tipo corpo estranho (setas), no tecido do hospedeiro em animal do grupo B (polipropileno + poliglactina). Fotomicrografia - HE, 200x.....	33
Figura 20. Reação inflamatória discreta no tecido do hospedeiro (setas) em animal do grupo C (polipropileno + titânio). Fotomicrografia - HE, 100x.....	33
Figura 21. Reação inflamatória na superfície da tela. Análise gráfica do escore (média + erro padrão) nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio)	34
Figura 22. Resposta inflamatória granulomatosa na superfície da tela em animal do grupo B (polipropileno + poliglactina). Imagem em negativo das fibras da tela (setas azuis) e células gigantes do tipo corpo estranho (setas verdes) Fotomicrografia - HE, 400x.....	35
Figura 23. Reação inflamatória na superfície da tela(setas), com macrófagos e granulomas corpo estranho em animal do grupo C (polipropileno + titânio). Fotomicrografia - HE, 100x.....	35
Figura 24. Maturação tecidual. Análise gráfica do escore (média+erro padrão) nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).....	36
Figura 25. Maturação tecidual: vasos sanguíneos no interstício (setas azuis) em animal do grupo A (polipropileno). Fotomicrografia - HE, 400x.....	37

Figura 26. Maturação tecidual: massa desorganizada de células inflamatórias (seta azul) em animal do grupo B (polipropileno + poliglactina). Notar a diferença na reação tecidual entre o polipropileno (seta vermelha) e a poliglactina (seta verde). Fotomicrografia - HE, 100x.....	37
Figura 27. Células gigantes. Análise gráfica do escore (média+erro padrão) nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).....	38
Figura 28. Reação inflamatória, com células gigantes do tipo corpo estranho, agrupadas (setas azuis), e fibras da tela (setas verdes) em animal do grupo B (polipropileno + poliglactina). Fotomicrografia - HE, 200x.....	39
Figura 29. Reação inflamatória pobre em células gigantes (setas) em animal do grupo A (polipropileno). Fotomicrografia - tricromo de Masson, 100x.....	39
Figura 30. Invasão da musculatura do animal pelo infiltrado inflamatório. Análise gráfica do escore (média + erro padrão) nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno+ poliglactina) e C (polipropileno + titânio).....	40
Figura 31. Ilhas de tecido muscular estriado (círculo amarelo) em meio a fragmentos de tela e reação inflamatória em animal do grupo A (polipropileno). Fotomicrografia - tricromo de Masson, 100x.....	41
Figura 32. Ausência de infiltrado inflamatório na musculatura (setas) em animal do grupo C (polipropileno + titânio). Fotomicrografia-HE, 100x.....	41
Figura 33. Somatória dos parâmetros para a avaliação da reação inflamatória estudados nos itens A-D (tabelas 1-4). Análise gráfica do escore (média + erro padrão) nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).....	42
Figura 34. Somatória de todos os itens usados para a avaliação da reação inflamatória (tabelas 1-6). Análise gráfica do escore (média + erro padrão) nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno+titânio).....	43
Figura 35. Reação inflamatória intensa com formação de abscesso (círculo) em animal do grupo B (polipropileno + poliglactina). Fotomicrografia - HE, 100X.....	44

Figura 36. Análise gráfica da morfometria do colágeno em porcentagem média nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio). Notar que a porcentagem de colágeno corresponde à porcentagem de pixels brancos na contagem pelo programa <i>Image Tool</i>	45
Figura 37. GRÁFICO DE DISPERSÃO: valores individuais para quantificação do colágeno (em porcentagem de pixels brancos correspondentes ao colágeno), nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno+titânio).....	46
Figura 38. Fotomicrografia , 400x: morfometria do colágeno no grupo A (polipropileno). Notar a deposição regular em fibras compactas (setas). Picrosirius à esquerda e <i>Image Tool</i> (escala de cinza) à direita.....	47
Figura 39. Fotomicrografia , 400x: morfometria do colágeno no grupo B (polipropileno + poliglactina). Notar a deposição esparsa e irregular. Picrosirius à esquerda e <i>Image Tool</i> (escala de cinza) à direita.....	47
Figura 40. Fotomicrografia , 400X: morfometria do colágeno no grupo C (polipropileno + titânio). Notar a deposição menos esparsa que no grupo B (figura 39), mas ainda irregular (setas). Picrosirius à esquerda e <i>Image Tool</i> (escala de cinza) à direita.....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultados e análise estatística: camada de células na periferia dos granulomas nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio)	30
Tabela 2. Resultados e análise estatística: reação inflamatória no tecido do hospedeiro nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).....	32
Tabela 3. Resultados e análise estatística: resposta inflamatória na superfície da tela nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).....	34
Tabela 4. Resultados e análise estatística: maturação tecidual nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).....	36
Tabela 5. Resultados e análise estatística: células gigantes nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).....	38
Tabela 6. Resultados: invasão da musculatura do hospedeiro pelo infiltrado inflamatório nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).....	40
Tabela 7. Resultados + análise estatística da somatória dos parâmetros para a avaliação da reação inflamatória estudados nos itens A+B+C+D (tabelas 1-4) nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).....	42
Tabela 8. Resultados + análise estatística da somatória dos todos os itens usados para avaliação da reação inflamatória (tabelas 1-6) nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno+titânio).....	44

Tabela 9. Resultados: morfometria do colágeno em valores percentuais nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).....	47
Tabela 10. Análise estatística (comparações múltiplas) da deposição do colágeno nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno+titânio).....	47

Lista de abreviaturas

μm	micrômetro
cm^2	centímetro quadrado
n.	número de indivíduos estudados
mm^2	milímetro quadrado
ω^3	ômega 3
ml.	mililitros
400x.	quatrocentas vezes

Resumo

Objetivo: avaliar a resposta inflamatória sérica, tecidual tardia e realizar uma análise morfométrica do colágeno depositado nos reparos cirúrgicos com telas de alta densidade de polipropileno e de baixa densidade de polipropileno + poliglactina e polipropileno + titânio. **Métodos:** trinta ratos Wistar, albinos, nascidos no mesmo dia, nos quais se retirou fragmento de musculatura anterior do abdômen, foram alocados em grupos de 10. No grupo A, foi posicionada tela de polipropileno de alta densidade. Nos grupos B e C foram usadas implantes de baixa densidade, em associação com poliglactina e titânio, respectivamente. No pré-operatório imediato e nos dias 1 e 3 de pós-operatório (DPO) foram dosados através do método Luminex as seguintes citocinas pró-inflamatórias séricas: VEGF (fator de crescimento endotelial vascular), IL1 β (interleucina 1 beta), IL6 (interleucina 6) e TNF α (fator de necrose tumoral alfa). No 40º dia realizou-se eutanásia e biópsia de fragmento central no sítio de inserção da tela. Usaram-se as colorações hematoxilina-eosina (HE) e tricromo de Masson na análise histológica das reações inflamatórias. Para avaliação objetiva dos resultados, empregou-se uma escala com pontuações atribuídas aos seguintes itens: camadas de células na periferia dos granulomas, reação inflamatória no tecido do hospedeiro, resposta inflamatória na superfície da tela, maturação tecidual, presença de células gigantes e invasão inflamatória na musculatura do animal adjacente à tela. No estudo morfométrico do colágeno usou-se o picrosirius sob luz polarizada com leitura de dados pelo programa de computador *Image Tool*. O teste não paramétrico de *Kruskal Wallis* foi a ferramenta estatística para avaliação da reação inflamatória (HE e Masson). ANOVA foi usada na estatística dos dados resultantes da análise do colágeno e das citocinas. **Resultados:** Não houve diferenças estatisticamente significantes nas dosagens de citocinas no período de estudo ($P>0,05$). Com relação à Histologia, no grupo A houve menor número de granulomas e de camadas de células na periferia dos mesmos, menos células gigantes, com maior fibrose, maturação tecidual e síntese de colágeno ($P<0,01$). No grupo B, foram encontrados maior número de granulomas e de camadas de células nos mesmos, mais células gigantes, com intensa reação inflamatória do tipo corpo estranho. Houve menor fibrose, maturação tecidual e deposição de colágeno ($P<0,01$). O grupo C

apresentou valores intermediários entre os grupos B e A, exceto pelo menor processo inflamatório na superfície da tela. **Conclusões:** Não houve diferenças significativas nos níveis de citocinas entre os grupos estudados. Nos animais onde foi implantada a tela de polipropileno + poliglactina, houve processo inflamatório mais intenso tardio, com menor maturação tecidual e deposição de colágeno no 40°DPO. A tela de polipropileno apresentou menor processo inflamatório tardio, com maior maturação tecidual e deposição de colágeno. A tela de polipropileno+titânio apresentou valores intermediários entre as anteriores.

1 INTRODUÇÃO

A hérnia incisional é uma das complicações mais freqüentes em cirurgia do abdome e encontra-se presente em aproximadamente 11% de todos os procedimentos que envolvem sutura da parede abdominal.^(1,2) É a causa mais comum de reoperações após a realização de laparotomias.⁽¹⁾

Os fatores de risco classicamente relacionados à formação da hérnia incisional são má técnica cirúrgica, infecção, alterações da anatomia local, elevação da pressão intra-abdominal e extensão da cicatriz.^(2,3) Atualmente, porém, as alterações da matriz extracelular e de um de seus componentes mais importantes, o colágeno, têm sido estreitamente implicadas em sua patogênese.⁽⁴⁾ As citocinas pró-inflamatórias como as interleucinas e os fatores de crescimento e de necrose tumoral são fundamentais na proliferação celular, formação da matriz e, conseqüentemente, da cicatriz definitiva.⁽⁷⁾

As altas taxas de recidivas após a sutura primária no tratamento da hérnia incisional (45 a 54%) estimularam o desenvolvimento de materiais biocompatíveis.⁽¹⁾ Usher foi o pioneiro na apresentação de resultados do uso dos mesmos, as chamadas telas, na década de 1950⁽⁸⁾. O emprego de telas reduziu significativamente a taxa de recorrência nas hérnias incisionais para cerca de 10%.⁽⁴⁾

Atualmente, o uso de telas na correção cirúrgica das hérnias representa o maior grupo de implantes de biomateriais na Medicina (cerca de um milhão por ano no mundo).⁽⁹⁾ Entretanto, não se conhece ainda o mecanismo pelo qual há redução do índice de recidiva. Tradicionalmente o conceito de “reparo livre de tensão” é o mais utilizado, porém muito ainda existe para ser esclarecido. Um estudo experimental demonstrou que a tela aumentaria as propriedades de elasticidade da parede abdominal, resultando em redução do índice de recorrência.⁽¹⁾

No entanto, a cirurgia com telas está associada com o aumento da taxa de complicações como seroma, celulite, dor pós-operatória, fístula, granuloma, migração ou contração do implante, sensação de rigidez e corpo estranho.⁽⁹⁾ Di Vita et al. (2006), demonstraram que a presença da tela no reparo das hérnias está associada a uma elevação dos mediadores pró-inflamatórios.⁽¹⁰⁾

Apesar da variedade dos materiais existentes, o polipropileno ainda é o mais largamente utilizado para confecção de telas.^(9,10,11,12,13,14,15) Esse biomaterial induz a

uma rápida reação local e sistêmica caracterizada pelo aumento nos níveis das citocinas pró-inflamatórias (interleucinas e fatores de crescimento tais como o VEGF e o b-FGF). Estes fatores de crescimento estão relacionados com a angiogênese, com a formação de tecido de granulação e com a proliferação de fibroblastos⁽¹³⁾, indispensáveis à formação do colágeno, da matriz extracelular e do tecido cicatricial resistente.⁽⁹⁾ Vaz et al. (2009), em trabalho experimental realizado no Brasil, demonstraram que o implante da tela de polipropileno na parede abdominal levaria à deposição de colágeno tipo III após o terceiro dia de pós-operatório (DPO). Seus resultados mostraram também que a produção do colágeno tipo III atingiria o pico no 21ºDPO e decresceria drasticamente no 30ºDPO, quando a deposição do colágeno tipo I atingiria seu ápice.⁽¹⁶⁾

A reação inflamatória local induzida pelo polipropileno provocaria uma série de inconvenientes como dor, desconforto e sensação de corpo estranho, que afetariam a qualidade de vida do paciente no pós-operatório. A magnitude de tal reação dependeria da massa da tela. Por tal motivo, recentemente foram estabelecidos dois novos conceitos em relação à tela de polipropileno: *heavy* (alta densidade) e *light* (baixa densidade). A tela de alta densidade seria constituída de poros pequenos e possuiria maior massa. A tela leve seria constituída de poros grandes, superiores a 1000µm e, por conseguinte, menor massa.⁽¹⁷⁾ Teoricamente, a tela de baixa densidade otimizaria a reação tipo corpo estranho pela redução da massa do material empregado e da sua superfície de contato com o tecido do hospedeiro.

Recentemente, uma série de materiais, absorvíveis ou não, foram incorporados na confecção de telas, além do polipropileno.⁽¹⁸⁾ Várias telas de baixa densidade têm sido lançadas no mercado. Dentre as quais, a associação do polipropileno com a poliglactina, material multifilamentar de absorção precoce, tem sido amplamente estudado.^(17,18) A tela de polipropileno revestida por titânio também tem recebido destaque pois, teoricamente, a conhecida propriedade inerte deste metal contribuiria para diminuir o processo inflamatório desencadeado pelo polipropileno.⁽¹⁹⁻²²⁾

Todavia, existem divergências sobre o real avanço trazido pelas telas de baixa densidade. Em revisão bibliográfica, Wheyhe et al. (2007) chegaram à conclusão de que as telas leves poderiam apresentar algumas vantagens na dor pós-operatória e na

sensação de corpo estranho. Porém, estariam também associadas a um maior índice de recidiva.⁽¹⁷⁾

A grande questão é que da reação inflamatória dependem a formação de matriz extracelular e a deposição do colágeno, fatores primordiais para evitar a recidiva das hérnias. Portanto, em longo prazo, o resultado da redução da densidade das telas ainda precisa ser melhor esclarecido.⁽¹⁸⁾ A tela ideal seria aquela que atendesse ao binômio: menor complicação e menor recidiva. As dúvidas são inúmeras, não somente quanto à reação inflamatória causada por cada tipo de implante em diferentes etapas do pós-operatório, como também nos seus efeitos na síntese e deposição do colágeno na cicatriz definitiva.

O presente estudo experimental visa comparar três tipos diferentes de tela, todas possuindo polipropileno em sua constituição, no que diz respeito ao aumento das taxas de mediadores inflamatórios precoces e seu reflexo numa fase mais tardia da cicatrização, numa metodologia ainda inédita na literatura até o momento. Esperamos assim contribuir para elucidação de questões ainda presentes e poder auxiliar na realização de estudos clínicos futuros sobre tema tão atual e instigante.

1. 1 Objetivos.

1. Comparar a reação inflamatória sérica e tecidual entre as telas de alta densidade de polipropileno e de baixa densidade de polipropileno+poliglactina e polipropileno+titânio.
2. Comparar morfometricamente a deposição do colágeno no implante das telas citadas.

2 REVISÃO DA LITERATURA.

O processo de cicatrização da parede abdominal é complexo. White e Barbul (1997) afirmam que a lesão da parede abdominal desencadearia uma cascata de eventos celulares e bioquímicos, os quais resultariam no reparo da lesão e formação da cicatriz. A cicatrização dependeria de três fases distintas, embora, muitas vezes, sobrepostas: hemostasia+inflamação, proliferação e maturação (ou remodelação).⁽⁷⁾

Se houver deficiência em qualquer uma das fases haverá conseqüente falha em todo o processo da cicatrização. A primeira fase seria caracterizada por aumento de permeabilidade vascular, quimiotaxia de células dos vasos sanguíneos para a área lesada, liberação local de substâncias (citocinas) e ativação da migração celular. A inibição desta fase poderia resultar em alterações profundas na cicatriz, conforme observado em diabéticos e imunodeprimidos.⁽⁷⁾

Os fibroblastos e as células endoteliais seriam as principais células envolvidas na fase de proliferação. Para que ocorra a ativação dos fibroblastos, fatores de crescimento e outras citocinas seriam indispensáveis e poderiam ser estimuladores ou inibidores. A ativação dos fibroblastos resultaria em sua migração e proliferação, além da síntese do colágeno, constituinte importantíssimo da matriz extracelular.⁽⁷⁾

A maturação ou remodelação seria caracterizada pela deposição de colágeno no tecido cicatricial. Em termos clínicos, esta seria a fase mais importante porque a resistência da cicatriz final dependeria de modificações na matriz extracelular, relacionadas à quantidade e à qualidade do colágeno depositado. Haveria deposição inicial de colágeno tipo III (fibras mais frágeis) e, posteriormente, do tipo I (fibras mais resistentes). O colágeno tipo I é predominante na derme normal e na cicatriz madura. O fenômeno de contração da cicatriz também aconteceria nesta terceira fase do reparo da parede abdominal.⁽⁷⁾

A hérnia incisional é uma complicação freqüente da cicatriz cirúrgica abdominal. Derek et al. (2006), afirmaram que a mesma aconteceria em aproximadamente 11% de todas as laparotomias medianas. Segundo os autores, cerca de 200.000 hernioplastias incisionais seriam realizadas anualmente somente nos Estados Unidos. O implante de

telas seria o fator responsável pela redução do índice de recidivas de valores de até 56% para cerca de 10%.⁽¹⁾

Num estudo experimental, em roedores, cujo objetivo era a determinação do parâmetro biomecânico mais importante para a prevenção de recidivas, esses autores chegaram à conclusão que o uso de tela aumentaria as propriedades de elasticidade da parede abdominal. Em seus resultados, houve maior alongamento das fibras musculares e redução da rigidez da parede nos animais estudados.⁽¹⁾

Junge et al. (2002), realizaram um estudo experimental, em 60 ratos, na tentativa de observar a influência do material da tela na deposição do colágeno. Na patogênese da hérnia incisional, os autores priorizaram a formação da matriz extracelular e a deposição dos colágenos III e I. Utilizaram-se os seguintes materiais: poliéster, polipropileno, e polipropileno+poliglactina, comparando-os com um grupo controle, onde foi realizada sutura simples.⁽³⁾

Seus resultados implicam as alterações do fator beta de crescimento dos fibroblastos (β -FGF) com alterações da cicatrização. O trabalho forneceu indícios fortes de que a presença da tela afetaria o processo cicatricial da parede abdominal, interferindo de maneira geral na qualidade da matriz, através da relação colágeno I/III. Já a quantidade de deposição da matriz extracelular sofreria variação de acordo com o tipo de material utilizado.⁽³⁾

Nesta mesma linha, Derek et al. (2004), em trabalho experimental em ratos, chegaram à conclusão de que, no reparo da parede abdominal, a atividade cinética dos fibroblastos da aponeurose seria maior que os da derme.⁽⁴⁾

Em trabalho publicado, também em 2004, estes mesmos autores abordaram o mesmo tema empregando um modelo experimental em ratos. Teriam conseguido reduzir consideravelmente as incidências de hérnia incisional e recidiva após o reparo da mesma com o tratamento da fáscia abdominal com o β -FGF.⁽⁵⁾

Karayannakis et al. (2003), observaram que, em pacientes submetidos a hernioplastias de parede abdominal com ou sem o uso da tela, ocorreria aumento do níveis séricos e no fluido drenado do VEGF, na fase proliferativa precoce do reparo da parede.⁽²³⁾

Di Vita et al.(2006), autores de numerosos trabalhos sobre o assunto, publicaram interessante estudo no qual dosaram níveis de citocinas no fluido drenado em 20 pacientes do sexo feminino submetidas a tratamento de hérnia incisional, sendo 50% com reparo simples e 50% com o uso de tela de polipropileno.⁽⁶⁾

As citocinas pró-inflamatórias, interleucinas 1 (IL1) e 6 (IL6), e os fatores de crescimento endotelial vascular (VEGF) e β -FGF aumentariam seus níveis em todas as pacientes. Porém, haveria aumento mais significativo naquelas onde o reparo com tela foi utilizado. Seus resultados sugerem que diferentes procedimentos induziriam a vários níveis de inflamação e que a implantação da prótese de polipropileno estimularia significativamente a resposta inflamatória sistêmica no paciente.⁽⁶⁾

Os mesmos autores já haviam estudado, em 2004, a resposta inflamatória aguda após correções cirúrgicas de hérnias inguinais e incisionais com ou sem o uso da tela de polipropileno. Seus resultados mostraram que o tratamento cirúrgico das hérnias induziria a uma resposta inflamatória, a qual seria maior quando fosse utilizada a tela, sendo proporcional ao tamanho da mesma.⁽¹⁰⁾

Outro estudo de Di Vita et al. (2005), mostrou que alterações dos níveis de β -FGF e VEGF, associados a alterações de outras citocinas, seriam detectados em humanos submetidos a hernioplastia inguinal, com ou sem o uso de tela de polipropileno. Haveria aumento maior de citocinas com o implante da tela. Os autores sugerem que esses fatores de crescimento poderiam influenciar no processo de cicatrização da parede abdominal.⁽¹³⁾

Realizaram-se outros trabalhos buscando avaliar o papel dos fatores de crescimento na cicatrização. Robson et al. (2004), publicaram um interessante estudo em modelo experimental de hérnia incisional em roedor. Avaliaram o efeito de interleucinas e fatores de crescimento na prevenção da falência aguda da parede abdominal. Propuseram que uma abordagem biológica poderia ser útil na redução desta complicação. O fator de crescimento transformador β 2, o β -FGF e a IL-1b poderiam eliminar ou reduzir o desenvolvimento de hérnia incisional no modelo utilizado.⁽²⁴⁾ Korenkov et al. (2004), no entanto, chegaram a conclusão diversa: em ratos, o fator de crescimento transformador β 1, quando aplicado localmente, não modificaria a força da parede abdominal após seis semanas de uso.⁽²⁵⁾

A administração de outras substâncias na tentativa de melhorar a cicatrização nas correções cirúrgicas de hérnias com tela tem sido também pesquisada. Arbós et al. (2000), avaliaram em ratos o efeito precoce da administração de arginina antes da implantação da tela, na parede abdominal. Concluíram que, independentemente do local do implante, o suplemento de arginina poderia ser favorável na deposição precoce de colágeno local, sendo útil no processo de integração de materiais biocompatíveis pela parede abdominal.⁽²⁶⁾

O fenômeno da contração da tela ocorre cerca de dois meses após a cirurgia e pode determinar complicações como migração da mesma. Gonzalez et al. (2005), compararam as telas de poliéster e de polipropileno em suínos. Concluíram que a tela de poliéster sofreria menor contração, em relação à de polipropileno.⁽⁹⁾ Costello et al. (2007), estudaram os mecanismos envolvidos na inflamação crônica e na perda de complacência com a contração ou a migração da tela após sua degradação. Concluíram que estas alterações estariam ligadas ao processo de oxidação do biomaterial utilizado.⁽²⁷⁾

Vários autores tentaram relacionar as complicações e as recidivas das hernioplastias com a técnica cirúrgica. Lange et al. (2003), apresentam uma revisão sobre a cirurgia da hérnia incisional na Alemanha. Em um estudo retrospectivo, 432 pacientes foram avaliados, sendo os mesmos submetidos a várias técnicas diferentes, com ou sem ou uso da tela. Seus resultados indicam que apenas o reparo com tela apresentaria índice de recidiva aceitável. A técnica subfascial teria um menor número de complicações. O material de escolha seria o polipropileno e o maior fator prognóstico para o resultado da cirurgia seria a experiência do cirurgião.⁽¹¹⁾

White et al. (1998), determinaram os fatores que afetariam as complicações de parede no reparo das hérnias incisionais. Os autores relacionam o uso da tela e o tamanho do defeito da aponeurose superior a 10 cm como fatores que aumentariam a morbidade. O posicionamento da tela extrafascial aumentaria o número de seromas. Concluíram ainda que o uso de drenos ou a antibioticoterapia não reduziria o risco de infecção.⁽²⁸⁾

Klinge et al. (2005), publicaram um artigo no qual fizeram uma revisão sobre a fisiopatologia e a técnica aberta no reparo da hérnia incisional. Consideraram que

mesmo com o uso da tela, sem a qual o índice de recidiva seria muito alto, a hernioplastia incisional ainda representaria um desafio para o cirurgião. Recomendaram a técnica subfascial quando possível e, somente nos casos mais difíceis, a técnica extrafascial.⁽²⁹⁾

Birolini et al. (2001), fizeram um estudo com 19 pacientes operados por hérnia incisional após transplante renal. Utilizaram a técnica extrafascial, com tela de polipropileno. Não foram encontradas recidivas ou complicações em longo prazo, segundo os autores. O seguimento dos pacientes foi realizado de um a três anos de pós-operatório.⁽³⁰⁾

O polipropileno, polímero não absorvível, ainda é o material mais usado para a confecção de telas. Ahmad et al. (2003), também o consideram como o melhor biomaterial, e preferem empregá-lo em posição extrafascial.⁽³¹⁾ Outros defensores desse tipo de tela são Vyslouzil et al. (2005). Estes autores indicariam inclusive seu uso em localização intra-abdominal nas grandes hérnias, com bons resultados em longo prazo.⁽¹²⁾

Sedov et al. (2005), autores russos, publicaram um artigo no qual afirmam mostrar um novo método para a hernioplastia incisional, com fixação da tela de polipropileno ao longo de toda a linha da cicatriz anterior. Foram avaliados 16 pacientes. Em seguimento de um a três anos, não haveria recidivas, mesmo em hérnias consideradas grandes ou gigantes.⁽¹⁴⁾

Apesar do uso muito freqüente da tela de polipropileno, ainda existem muitas dúvidas com relação ao processo inflamatório e cicatricial provocado pela sua implantação na parede abdominal. Vaz et al. (2009), autores brasileiros, elaboraram estudo experimental, sobre a fibroplasia em ratos. Mostraram que o colágeno tipo III já poderia ser detectado no terceiro dia após a aposição da tela e aumentaria até o 21º DPO. No 30º DPO ocorreria um decréscimo significativo do colágeno tipo III e maior porcentagem do tipo I.⁽¹⁶⁾

O estabelecimento do conceito de telas leves ou de baixa densidade (*light*) em contraste com as telas pesadas ou de alta densidade (*heavy*) também foi idealizado a partir do uso do polipropileno. Na Alemanha, Klosterhalfen et al. (2005), fizeram uma revisão na qual ilustram ambos os termos. A tela leve poderia melhorar a reação tipo

corpo estranho. A questão decisiva para os autores citados seria até que ponto o material, e, conseqüentemente, sua força mecânica e tênsil, poderia realmente influir no desenvolvimento da hérnia recorrente. Até o momento do estudo, haveria superioridade nas telas tipo leve no que diz respeito ao conforto e qualidade de vida dos pacientes no pós-operatório.⁽¹⁸⁾

Klinge et al. (2002), estudaram o impacto do diâmetro dos poros das telas na formação da cicatriz em ratos. Concluíram que as telas de alta e baixa densidade provocariam uma reação inflamatória do tipo corpo estranho, porém as últimas resultariam em melhor integração tecidual no hospedeiro.⁽³²⁾

Junge et al. (2002) publicaram artigo comparando as telas de alta e baixa densidade implantadas na parede abdominal de ratos machos (n=54). A tela de baixa densidade foi constituída de rede de poros grandes com multifilamentos de polipropileno com poliglactina absorvível. A de alta densidade, com dois monofilamentos de polipropileno. Os autores sugerem que a redução da densidade do material e o aumento do tamanho dos poros teriam efeito favorável na integração da tela, com minimização dos efeitos colaterais, podendo oferecer vantagens nas cirurgias livres de tensão para correção de hérnias inguinais.⁽³³⁾ Note-se que os autores, até o momento do estudo, não recomendavam as telas de baixa densidade para hernioplastias incisionais.

A comparação entre as telas de baixa e alta densidade vem resultando numa série de estudos, muitos dos quais apresentam conclusões conflitantes. Weyhe et al. (2007), avaliaram a reação do tipo corpo estranho provocada por diferentes telas de polipropileno em cultura em de fibroblastos. Concluíram que a inflamação dependeria muito mais da composição e do tipo de material na tela do que da quantidade do mesmo.⁽³⁴⁾

Post et al. (2003), desenvolveram um estudo randomizado, no qual 122 pacientes com hérnia inguinal primária ou recidivada foram submetidos à correção cirúrgica pela técnica de Lichtenstein, com telas de polipropileno de alta ou baixa densidade. Concluíram que as telas leves seriam preferíveis para o reparo, com redução significativa da dor pós-operatória nos primeiros seis meses. Após o sexto mês, não haveria diferença importante na qualidade de vida entre os indivíduos que receberam os dois

tipos de tela. Os autores sugeriram que estudos com número maior de pacientes e acompanhamento em longo prazo precisariam ser realizados.⁽³⁵⁾

O'Dwyer et al. (2005), publicaram um ensaio clínico randomizado no qual comparam as telas de baixa e alta densidade em relação à dor crônica pós-operatória. Neste estudo foram avaliados 321 pacientes submetidos a hernioplastia inguinal, nos primeiro, terceiro e duodécimo meses após a cirurgia. Após doze meses, significativamente menos pacientes do grupo que recebeu telas de baixa densidade apresentariam dor em relação àqueles do grupo das telas de alta densidade. A recidiva foi aumentada nos pacientes com telas de baixa densidade, porém, os autores associaram-na a fatores ligados à sua fixação.⁽³⁶⁾

Um estudo experimental em ratos. com uma nova tela composta de duas camadas de polipropileno com uma de politetrafluoretileno expandido (e-PTFE), foi realizado por Ferrando et al. (2002). As camadas de polipropileno ficariam em contato com o tecido celular subcutâneo enquanto a camada de e-PTFE ficaria em contato com os órgãos da cavidade peritoneal dos animais. Os autores concluíram que este tipo de tela poderia ser implantado na correção de defeitos da parede abdominal. Haveria biocompatibilidade, integração favorável e efeitos colaterais mínimos.⁽³⁷⁾

Goldenberg et al. (2005), fizeram um estudo comparativo da resposta inflamatória e da formação de aderências após fixação de tela em região inguinal de coelhos por vídeo-laparoscopia. Utilizando telas de polipropileno (alta densidade) e polipropileno+poliglactina (baixa densidade), posicionadas no interior da cavidade abdominal, chegaram à conclusão de que ambas as próteses promoveriam aderência de forma semelhante, porém, com a prótese de polipropileno + poliglactina existiria maior fibrose e melhor incorporação aos tecidos.⁽³⁸⁾

Weyne et al. (2006), em trabalho experimental com ratos, mostraram uma menor biocompatibilidade com o uso da tela de baixa densidade de polipropileno em avaliação por microscopia ótica e eletrônica no 21° e 90°DPOs.⁽³⁹⁾

Pascual et al. (2008), analisaram a biocompatibilidade e a deposição de colágeno precoce em coelhos. Concluíram que, em animais onde foram implantadas telas de baixa densidade constituída de polipropileno com poros maiores que 3 mm², haveria uma super

expressão genética do colágeno I e III. Ocorreria também a uma maior deposição do colágeno tipo III e sua conversão mais rápida para o tipo I.⁽⁴⁰⁾

Di Vita et al. (2008), analisaram o impacto de diferentes texturas da tela de polipropileno na resposta inflamatória em 32 pacientes através de contagem de leucócitos, dosagem de PCR e citocinas pró-inflamatórias. De acordo com os seus resultados, as telas multifilamentares parecem provocar uma reação inflamatória aguda mais intensa quando comparadas às telas monofilamentares.⁽⁴¹⁾

Ainda com relação à constituição das telas, Harrel et al. (2006), analisando a sua infectibilidade “in vitro”. Implantaram-se colônias de estafilococos resistentes à metilicina em vários materiais. Apontaram uma maior aderência das bactérias nas telas de polipropileno + poliglactina (atribuída aos multifilamentos desta última) e menor aderência na tela de e-PTFE.⁽⁴²⁾

Weyhe et al. (2007), fizeram revisão na literatura em língua inglesa e germânica sobre o uso de telas de baixa e alta densidade. Concluíram que as primeiras apresentariam vantagens na redução da dor pós-operatória imediata e da sensação de corpo estranho. Relacionaram, porém, seu uso ao aumento da incidência de recidiva.⁽¹⁷⁾

Em busca do implante ideal para o reparo da parede abdominal, inúmeros materiais passaram a ser utilizados na confecção das telas. Burger et al. (2006), publicaram extenso estudo experimental com 200 ratos, cujo objetivo era avaliar os novos materiais de tela para reparo das hérnias. Os parâmetros avaliados foram: formação de aderência, incorporação, força tênsil, fístula e infecção. Todos os materiais foram colocados intraperitonealmente. Concluíram pela superioridade das telas de poliéster + colágeno-polietileno e polipropileno + carboximetilcelulose, as quais combinariam formação mínima de aderências com máxima incorporação e força tênsil. Não haveria diferenças no item infecção entre os materiais analisados.⁽¹⁹⁾

Harrell et al. (2007), realizaram estudo em coelhos, comparando a biocompatibilidade de quatro tipos de telas posicionadas no interior da cavidade abdominal (ePTFE, polipropileno + ePTFE, polipropileno + carboximetilcelulose e polipropileno). Chegaram à conclusão de que não haveria diferenças entre as mesmas no final do período estudado (quatro meses).⁽⁴³⁾

Chatzimavroudis et al. (2008), avaliaram o efeito inflamatório sistêmico de três telas implantadas intra-peritonealmente em coelhos: polipropileno, polipropileno + titânio e polipropileno + ePTFE. Seus resultados mostraram que existiria uma reação de média intensidade, independentemente do tipo de material utilizado.⁽⁴⁴⁾

Continua o interesse pelo uso de telas no interior da cavidade abdominal, uma vez que, até o momento, não foi encontrada a tela que poderia evitar a formação de aderências e fístulas em contato direto com as vísceras. Schreinemacher et al. (2009), avaliaram seis telas diferentes em ratos: polipropileno, polipropileno + titânio, polipropileno + poliglicaprone, polipropileno + celulose, poliéster + colágeno, polipropileno + ácidos graxos ω 3. Precocemente parece haver menor formação de aderências intraperitoneais com as telas de poliéster + colágeno e polipropileno + ω 3. Entretanto, com a absorção das coberturas de colágeno e ω 3, respectivamente, após o 30° DPO, o efeito protetor desapareceria e aumentariam consideravelmente as aderências nas telas mais benéficas precocemente.⁽⁴⁵⁾

Os meios de fixação da tela na parede ou na cavidade abdominal também têm sido motivo de controvérsias no quesito complicações e formação de aderências. Gianlupi et al. (2004), idealizaram um estudo experimental no qual compararam a fixação de tela de polipropileno em ratos com fios inabsorvível (polipropileno) e absorvível (poliglactina). Concluíram que a tela poderia ser fixada com o fio de poliglactina, pois as diferenças entre os dois tipos de fio não foram significantes estatisticamente.⁽⁴⁶⁾

Em cirurgia vídeo-laparoscópica, Memisoglu et al. (2006), publicaram um estudo experimental em coelhos (n=40) no qual foram aplicados, intraperitonealmente, cliques de níquel-titânio ou somente de titânio, com ou sem o uso da tela. Chegaram à conclusão que o clipe de níquel-titânio está associado com um nível de aderências menor, podendo ser utilizado no interior da cavidade abdominal.⁽⁴⁷⁾

A escolha da via de acesso convencional ou vídeo-laparoscópica para a correção cirúrgica das hérnias incisionais provoca discussões até o momento. Em meta-análise realizada por Goodney et al. (2002), comparando-se a hernioplastia incisional pelas técnicas aberta e vídeo-laparoscópica, chegou-se à conclusão que o acesso laparoscópico ofereceria baixo índice de complicações e menor tempo de hospitalização

em relação ao reparo aberto. Os autores, porém, sugeriram a realização de estudos randomizados e com seguimento em longo prazo para avaliação do índice de recidiva.⁽⁴⁸⁾

Pitrez et al. (2006), em trabalho retrospectivo sobre as eventrações lombares (20 casos), recomendariam a intervenção convencional em detrimento da laparoscópica. Indicariam a sutura primária, naquelas hérnias cujo diâmetro é inferior a 5cm, e uso da tela de polipropileno, em diâmetros maiores ou em casos onde há tensão na linha de sutura.⁽⁴⁹⁾

Eriksen et al. (2009), publicaram estudo em humanos (n=35), para a avaliação de dor, qualidade de vida e recuperação após o reparo vídeolaparoscópico de hérnias incisionais. Afirmaram que o reparo vídeo-laparoscópico estaria associado com dor e fadiga consideráveis nos primeiros seis meses de pós-operatório, prolongando o tempo de convalescença dos pacientes. Consideraram ainda que meios de fixação alternativos, como colas, poderiam reduzir a dor pós-operatória e deveriam ser investigados em ensaios clínicos.⁽⁵⁰⁾

Champault et al. (2009) publicaram um estudo experimental em porcos onde se avaliou o uso de uma tela auto-adesiva de polipropileno (baixa densidade). A mesma apresentaria boa integração ao tecido do hospedeiro. Os autores propõem o emprego da mesma para a redução de custos, dor pós-operatório e tempo cirúrgico.⁽⁵¹⁾

Um trabalho inovador, realizado na África, comparou o uso da tela de polipropileno + poliglactina com a tela de nylon esterelizada (proveniente de mosquiteiros) em 35 pacientes onde foram realizadas 40 hernioplastias inguinais. Freudenberg et al. (2006) afirmam que não haveria diferença significativa no acompanhamento dos pacientes em curto prazo.⁽⁵²⁾ Tal publicação mereceu por parte do Editorial do periódico uma análise na qual Danny Rosin discorreu sobre as condições locais que não permitiram estudos experimentais prévios com o uso da tela de nylon em humanos e sobre o dilema do cirurgião em países subdesenvolvidos, onde situações desfavoráveis não permitem o acesso à tecnologia de ponta. Recomendou ainda a realização de estudos com seguimento em longo prazo.⁽⁵³⁾

Ressalta-se o uso de tela de material biológico, absorvível, a qual teria teoricamente indicação nos casos de infecção ou onde houvesse contato das mesmas com as vísceras abdominais. Modernamente, dois materiais têm sido mais estudados: o

produto obtido do processamento da submucosa de intestino de suíno e o produto da derme acelular de cadáver.

Grupta et al. (2006), compararam o uso desses materiais em 74 pacientes operados entre 2002 e 2005. Concluíram que a submucosa suína, quando imperfurada, apresentaria o seroma como maior complicação, o qual parece ser minimizado com o uso do material perfurado. A recidiva da hérnia seria o maior problema com o uso da derme acelular. Os autores recomendam que os cirurgiões deveriam estar cientes dessas complicações.⁽⁵⁴⁾

Ott et al. (2006), avaliaram a biocompatibilidade de diferentes materiais de tela no reparo de defeitos da parede abdominal. Estudaram, em 96 ratos, as telas de polipropileno, polipropileno+titânio, poliglicol e colágeno dermal de suíno. Concluíram que, independente do material utilizado, a implantação de telas na parede abdominal contaminada com bactérias estaria associada com infecções supurativas, especialmente o colágeno dermal de suíno. Contra-indicariam o uso de telas para o reparo de paredes abdominais na presença de infecção.⁽⁵⁵⁾

Helton et al. (2005), em trabalho publicado no Archives of Surgery, avaliaram a tela de submucosa de suíno em 53 pacientes com hérnia incisional. As cirurgias foram estratificadas como limpas, potencialmente contaminadas e contaminadas ou infectadas. Recomendaram-na em cirurgias limpas ou potencialmente contaminadas, porém fizeram restrição ao seu emprego em pacientes críticos e naqueles cuja parede apresentasse uma contaminação grosseira.⁽⁵⁶⁾

Geisler et al. (2003), publicaram um estudo com 29 pacientes, os quais foram submetidos a procedimento cirúrgico onde havia estoma ou ressecção intestinal em associação à correção de hérnia ventral com tela de material não absorvível. Em todos os pacientes houve preparo do cólon. Concluíram que, quando há preparação do cólon, tela não absorvível poderia ser utilizada para o reparo de hérnia ventral com a presença do intestino aberto. Embora seguro, entretanto, o reparo local de hérnia para-estomal, neste estudo, apresenta alto índice de recidiva.⁽⁵⁷⁾

O titânio é uma substância largamente usada em próteses e implantes cirúrgicos, ortopédicos, odontológicos, neurológicos, vasculares e vídeolaparoscópicos⁽⁵⁸⁾, inclusive como material de fixação de tela.⁽⁵⁹⁾ Foi empregado na confecção de um novo tipo de

implante. Trata-se tela de baixa densidade de polipropileno recoberta de titânio. Nesta década, vários estudos comparando-se a tela de polipropileno + titânio com outros tipos de materiais.

Schug-Pass et al. (2006), compararam a biocompatibilidade das telas de polipropileno + titânio e e-PTFE. Em reparo intraperitoneal laparoscópico no tratamento de hérnias ventrais em modelo suíno, apontaram a superioridade da primeira sobre a segunda.⁽⁶⁰⁾

Em 2008, os autores anteriores publicaram estudo experimental em porcos. Utilizaram a tela de baixa densidade de polipropileno + titânio, implantada intraperitonealmente por via vídeolaparoscópica, recoberta ou não com filme de substância pretensamente antiaderente (poliglactídeo). Em conclusão, ressaltaram que, para evitar a formação de aderências, seria necessário usar a menor quantidade de material possível, como na tela citada. A aplicação de película de filme antiaderente não exerceria benefício adicional algum.⁽⁶¹⁾

Scheidbach et al. (2004), avaliaram em porcos a biocompatibilidade das telas de polipropileno puras (alta e baixa densidade), polipropileno + poliglactina e polipropileno + titânio em cirurgia vídeolaparoscópica extra-peritoneal. Os animais foram avaliados no 95°(+/-5)DPO. Seus resultados sugerem que a tela de polipropileno + poliglactina não representaria avanço real na cirurgia das hérnias devido à sua intensa reação inflamatória. Consideraram que as telas de baixa densidade apresentariam melhor biocompatibilidade, especialmente a de polipropileno + titânio.⁽⁶²⁾

Ten Hallers et al. (2006), compararam a fixação de telas de polipropileno e polipropileno + titânio com ou sem cola de fibrina e sua reação histológica em estudo experimental. Concluíram que a presença da cola da fibrina provocaria reação inflamatória prolongada e exacerbada nos implantes de ambas as telas.⁽⁶³⁾

Junge et al. (2005), avaliaram o efeito das telas de polipropileno e polipropileno + titânio, implantadas no tecido subcutâneo de ratos. Ambas eram de baixa densidade. Nos dias 56, 84 e 182 três animais de cada grupo foram sacrificados para avaliação da formação do tecido conjuntivo e inflamatório. Os autores não encontraram diferença significativa de biocompatibilidade entre as os dois materiais utilizados.⁽²⁰⁾

Um estudo prospectivo, em 400 pacientes submetidos a hernioplastia inguinal por vídeo-laparoscopia, comparando o uso da tela de polipropileno com a de polipropileno + titânio, foi publicado por Tamme et al. (2005). Estes autores concluíram que o uso da tela de polipropileno + titânio poderia ser seguro e efetivo, para a correção de hérnias inguinais, sem a necessidade de método de fixação, na técnica vídeolaparoscópica extra peritoneal.⁽²¹⁾

Horstmann et al. (2006), estudaram a recuperação funcional e a qualidade de vida em 672 pacientes submetidos a hernioplastias inguinais vídeolaparoscópicas, utilizando-se telas de polipropileno, polipropileno + poliglactina e polipropileno + titânio. Eles sugeriram que resultados funcionais comparáveis, poucas complicações pós-operatórias e melhora da qualidade de vida poderiam ser encontrados com a redução da quantidade de polipropileno em telas usadas para o reparo de hérnias inguinais por vídeo-laparoscopia transabdominal.⁽²²⁾

O grande número de trabalhos sobre o emprego de telas dos mais variados materiais tem provocado confusão decorrente de diferentes termos e nomenclaturas usadas. Cobb et al. (2009), fizeram uma revisão sobre o assunto, visando uniformizar a terminologia dos tipos de telas e suas propriedades.⁽⁶³⁾

Corcione e Cuccurrullo (2009), revelaram sua preocupação diante de inúmeras modificações técnicas, abordagens e materiais propostos, mudanças rápidas de conceitos e paradigmas na cirurgia das hérnias. Consideram que “hoje a anarquia é mais evidente, diante da ausência de comitês científicos, de estudos randomizados prospectivos e de conferências para consensos: por isso é fácil propor inovações, mas difícil entender o porquê”.⁽⁶⁴⁾

Observa-se assim, que o volume de informação sobre o tema “hérnias com tela” é muito grande, com abordagens e metodologia diferentes em cada pesquisa, dificultando o estudo sobre o assunto, mas ao mesmo tempo tornando-o mais necessário e interessante.

3 – MÉTODO

O protocolo de pesquisa foi encaminhado ao Comitê de Ética e Pesquisa da UNIFESP e aprovado em maio de 2007 (CEP 0285/07).

3.1 – Amostra.

Trinta ratos machos, provenientes do Centro de Desenvolvimento de Modelos Experimentais da UNIFESP (CEDEME), da linhagem albina da raça Wistar, nascidos todos no mesmo dia, com idade de três meses, cujo peso era de 250 a 300 gramas, foram aleatoriamente alocados em três grupos: A, B e C. Cada grupo foi constituído por 10 animais.

Durante a realização do estudo todos os animais foram mantidos em condições constantes e similares de temperatura, luminosidade e alimentação. Foram acompanhados pela equipe de Veterinária da Instituição, seguindo-se as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

3.2 - Cirurgias

Os procedimentos operatórios foram realizados no CEDEME, no período de 28 a 30 de abril de 2008.

Os animais permaneceram em jejum por período de 8 horas antes da cirurgia. A anestesia foi feita com a associação de cloridrato de ketamina a 10% + xilazina a 2%, intraperitoneal, na dose de 0,1ml da solução por 100g de peso (figura 1).

Após a anestesia foi realizada coleta de sangue no animal para dosagens de citocinas (figura 2).

Utilizou-se técnica asséptica nas cirurgias. Foi realizada a tricotomia da parede anterior do abdômen com aparelho elétrico, seguindo-se de sua antissepsia com iodopovidine tópico (figura 3). A seguir, realizou-se uma incisão longitudinal de 4 cm no flanco direito de cada animal, retirando-se um fragmento da musculatura anterior do abdômen, medindo 2,0 x 1,0 cm (figuras 4 e 5).

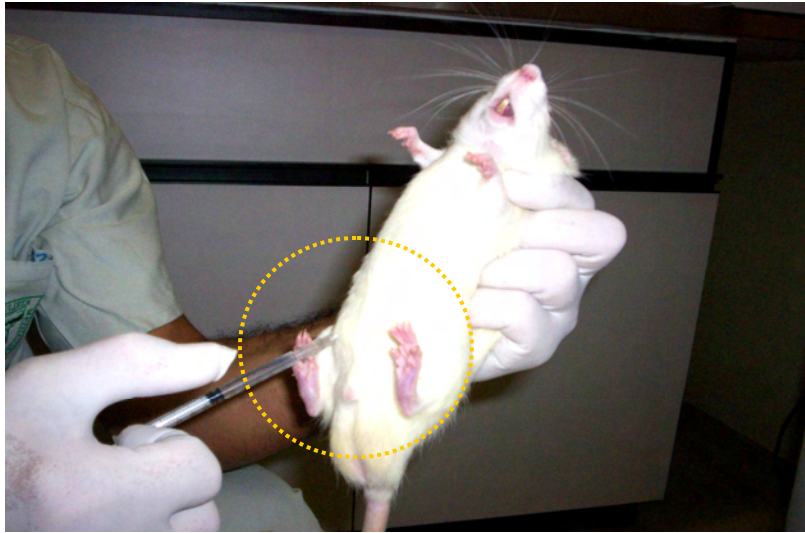


Figura 1. Anestesia intraperitoneal do rato com ketamina + xilazina

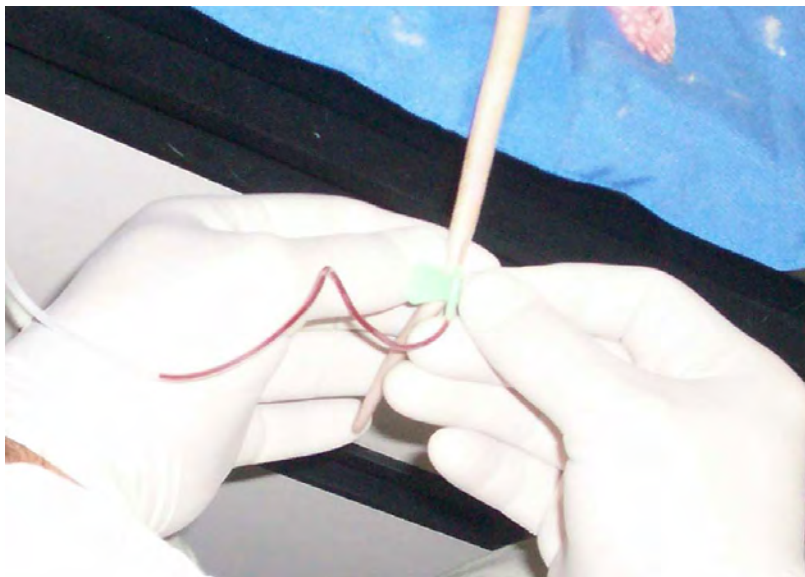


Figura 2. Coleta de sangue no animal para dosagens de citocinas



Figura 3. Tricotomia abdominal do rato com aparelho elétrico.

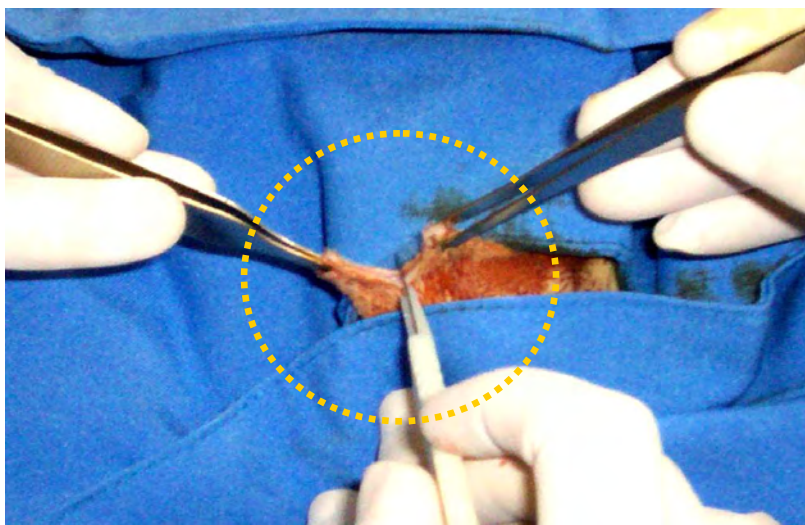


Figura 4. Incisão no flanco direito do animal.

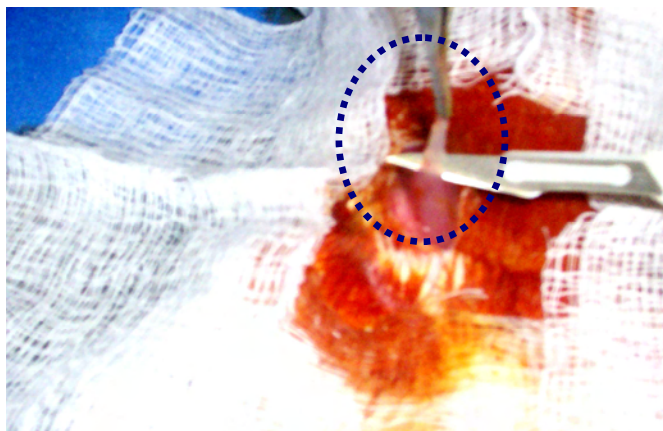


Figura 5. Retirada de fragmento do músculo reto anterior do abdome do rato.

No grupo A, posicionou-se uma tela constituída de polipropileno monofilamentar, de alta densidade (Intracorp®, Venkuri – BR), em substituição ao defeito criado. No grupo B, a tela utilizada foi a de poros grandes, de polipropileno e poliglactina, de baixa densidade (Vyproll®, Ethicon – USA) e no grupo C foi utilizada uma tela de poros grandes de polipropileno, revestida de titânio, de baixa densidade (Timesh®, GfE – GER) – (figura 6).

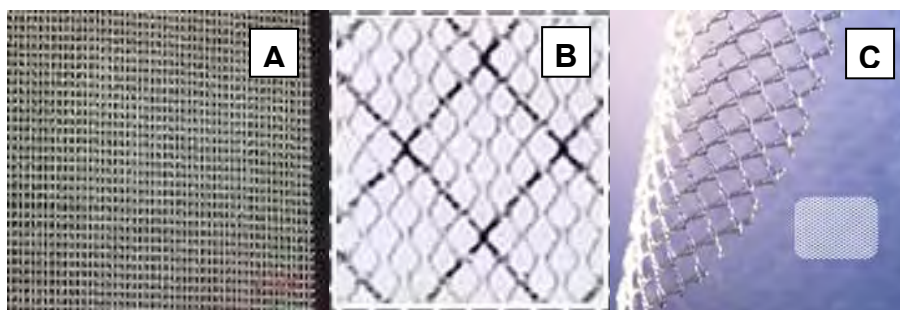


Figura 6. Fotografias das telas utilizadas nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio), respectivamente.

Todas as telas foram esterelizadas previamente com óxido de etileno e tiveram exatamente a mesma medida, 6cm^2 (3,0 x 2,0 cm). Como método padronizado para todos os animais, as telas foram fixadas com seis pontos separados de fio de polipropileno número 3-0, sendo três pontos posicionados em cada borda lateral das mesmas (figura 7). Finalmente, foi realizada a sutura da pele dos animais com pontos separados de fio de nylon 4-0 (figura 8).

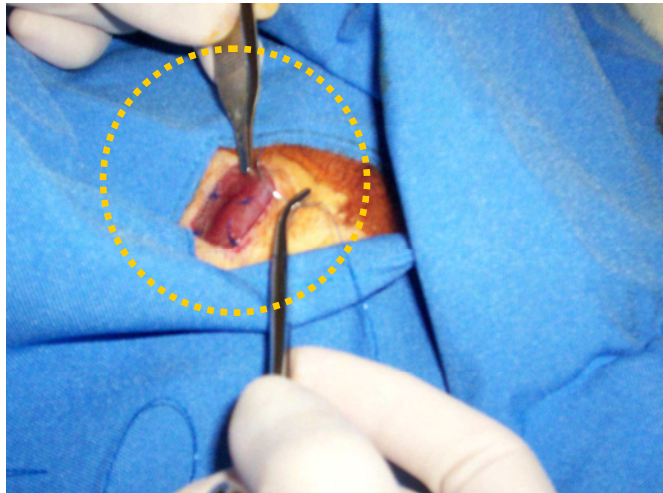


Figura 7. Fixação da tela no defeito muscular do animal com fio de polipropileno.

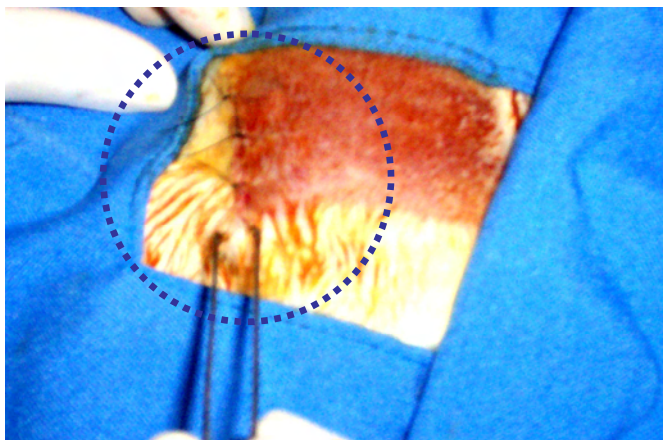


Figura 8. Aspecto final da incisão na parede abdominal do animal.

Os animais foram avaliados diariamente, observando-se complicações, conforme protocolo estabelecido em ficha individual para cada rato. No 40º dia do pós-operatório (DPO) procedeu-se à eutanásia com dose letal de ketamina. Retirou-se fragmento da área central da região da tela, distando o máximo possível das suas bordas, onde foram fixados os pontos. O material foi encaminhado para análise histológica, após fixação com formol tamponado.

3.3 – Histologia

3.3.1 – Reação inflamatória

Após fixação, as peças foram submetidas a processamento de rotina com tratamento com xilol e inclusão em parafina. Foram submetidas à microtomia e à coloração pelos métodos hematoxilina-eosina (HE) e tricromo de Masson.

Para avaliação histológica foi utilizada escala numérica com pontuação atribuída a cada item analisado, conforme demonstrado na figura 9.

<u>A* - Camadas de células na periferia dos granulomas.</u>	
PONTOS	LEGENDA
1 -	01 a 04 camadas.
2 -	05 a 09 camadas.
3 -	10 a 30 camadas.
4 -	> 30 camadas.
<u>B* - Reação inflamatória no tecido do hospedeiro.</u>	
PONTOS	LEGENDA
1 -	Tecido fibroso, maduro, não denso.
2 -	Tecido fibroso imaturo, com fibroblastos e pouco colágeno.
3 -	Tecido granuloso e denso, com fibroblastos e muitas células inflamatórias.
4 -	Massa de células inflamatórias, com desorganização do tecido conjuntivo.
<u>C* - Resposta inflamatória na superfície da tela.</u>	
PONTOS	LEGENDA
1 -	Fibroblastos, sem macrófagos ou células corpo estranho.
2 -	Focos isolados de macrófagos ou células corpo estranho.
3 -	Uma camada de macrófagos e células corpo estranho.
4 -	Múltiplas camadas de macrófagos e células corpo estranho.
<u>D* - Maturação tecidual.</u>	
PONTOS	LEGENDA
1 -	Tecido intersticial, maduro, denso, semelhante ao conjuntivo ou adiposo normais.
2 -	Interstício com vasos sanguíneos, fibroblastos e poucos macrófagos.
3 -	Interstício com células gigantes e inflamatórias, mas com conjuntivo de permeio.
4 -	Massa de célula inflamatórias, sem tecido conjuntivo de permeio

Harrell et al ⁽⁴³⁾

Figura 9. Escala empregada para a avaliação da reação inflamatória tecidual.

Foram acrescentados ainda dois itens complementares (aos quais também foi atribuída pontuação de valores de 01 a 04), conforme pode ser observado na figura 10.

E - <u>Presença de células gigantes.</u>	
PONTOS	LEGENDA
1 -	Ausente.
2 -	Isoladas
3 -	Em grupos de até 3.
4 -	Em grupos superiores a 3.
F – <u>Invasão inflamatória na musculatura adjacente à tela.</u>	
PONTOS	LEGENDA
1 -	Ausente.
2 -	Presença de infiltrado inflamatório em focos isolados.
3 -	Presença de infiltrado inflamatório entre fibras musculares.
4 -	Presença de infiltrado inflamatório entre feixes de fibras.

Figura 10. Escala complementar para a avaliação da reação inflamatória tecidual.

A avaliação foi feita em microscópio ótico em aumento de 400x (objetiva-40x e ocular-10x), após escolha dos campos em aumentos inferiores. Todas as análises foram realizadas de modo independente pela autora e por um patologista de reconhecida experiência, o qual desconhecia o grupo de procedência das mesmas.

O campo avaliado foi escolhido na transição entre a tela e o tecido do hospedeiro, onde houve maior concentração dos elementos a serem estudados, em cada item.

A análise histológica desta tese foi realizada no Departamento de Patologia da Universidade Federal de São Paulo.

3.3.2 – Análise morfométrica do colágeno.

Utilizou-se a coloração Picrosirius, com luz polarizada. Os cortes foram desparafinados, hidratados e corados em solução de Sirius Red a 0,1% por um período de uma hora (Sirius Red F3B200, Mobay Chemical Co. Union, EUA). Foram, a seguir, banhados com ácido pícrico aquoso saturado. Posteriormente, foram lavados em água corrente e contracorados com Hematoxilina de Harris por cinco minutos.

As lâminas foram submetidas à luz polarizada e suas imagens foram capturadas por sistema constituído por microscópio Olympus BX51 (acoplado a uma câmara de marca Olympus) e um computador Pentium com um gigabyte de memória.

Empregou-se o aumento de 400x e a escolha do campo a ser utilizado foi definida pela área de maior concentração de colágeno, ou seja, de cor vermelho-alaranjada.

A contagem dos pixels, correspondentes ao colágeno, foi feita num microcomputador Acer com dois gigabytes de memória, pelo programa "*Image Tool*" (versão 3.0).

Foram obedecidos os seguintes passos para a contagem dos pixels, correspondentes ao colágeno no "*Image Tool*":

- A imagem colorida (picrosirius) selecionada foi transformada para a escala de cinza.

- A seguir, foi acionado o comando "*threshold*" automático.

- Para melhor visualização, inverteu-se a imagem. O colágeno passou então a corresponder à cor branca.

- A contagem dos pixels brancos e pretos e sua percentagem foram feitas pelo comando "*Count Black/White Pixels*", sendo apresentadas sob forma de tabela para o leitor.

3.4 – Citocinas.

Após anestesia dos animais, foram colhidos no mínimo 0,1ml de sangue no dia da cirurgia (antes do procedimento) e nos primeiro, terceiro e quadrigésimo DPO. A amostra foi centrifugada. O soro sobrenadante foi pipetado e armazenado a -20°C.

Dosagens de IL1 β , IL6, VEGF E TNF α foram realizadas através do método *Lincoplex*, no qual anticorpos de captura em microesferas ligam-se à substância específica estudada. Em seguida são adicionados anticorpos de detecção, os quais também se ligam ao complexo anticorpo de captura-substância e possibilitam a emissão de sinal fluorescente. A leitura do valor da dosagem foi realizada pelo equipamento *Luminex 100* através de sistema duplo de lasers.

3.5 – Análise estatística.

3.5.1 – Hematoxilina-eosina e Manson.

Utilizou-se o teste não paramétrico de *Kruskal Wallis (K-W)* com o pós-teste de *Dunn* para comparações múltiplas.

O valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo

3.5.2 – Colágeno.

Realizou-se a análise de variância paramétrica (ANOVA) com o pós-teste de *Bonferroni* para comparações múltiplas.

O valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

3.5.3 – Citocinas.

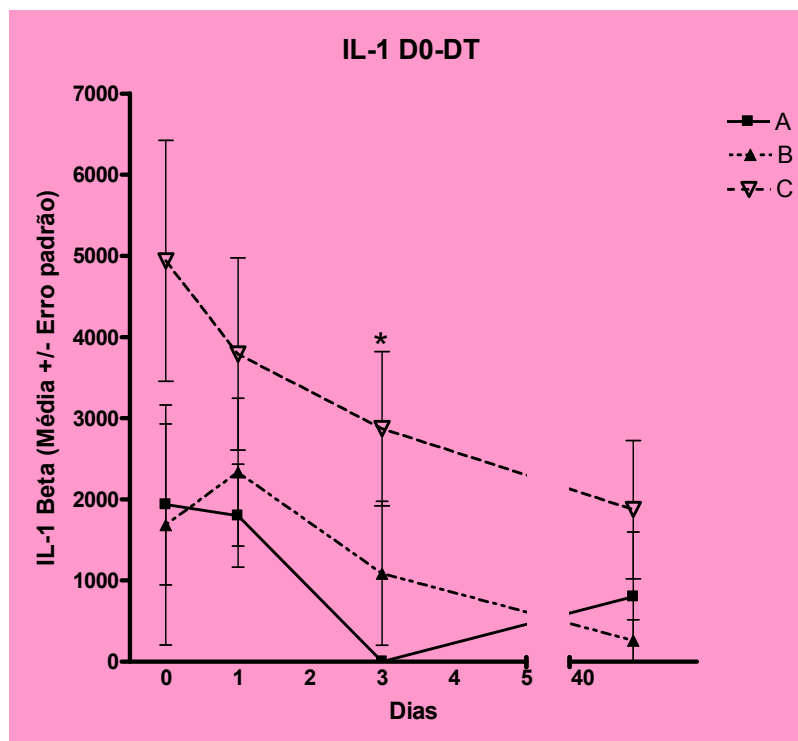
Realizou-se a análise de variância paramétrica (ANOVA) de medidas repetidas. O valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

O programa de computador usado para as análises estatísticas foi o Prism 4.0, GraphPad Software Inc (USA, 2003).

4 – RESULTADOS

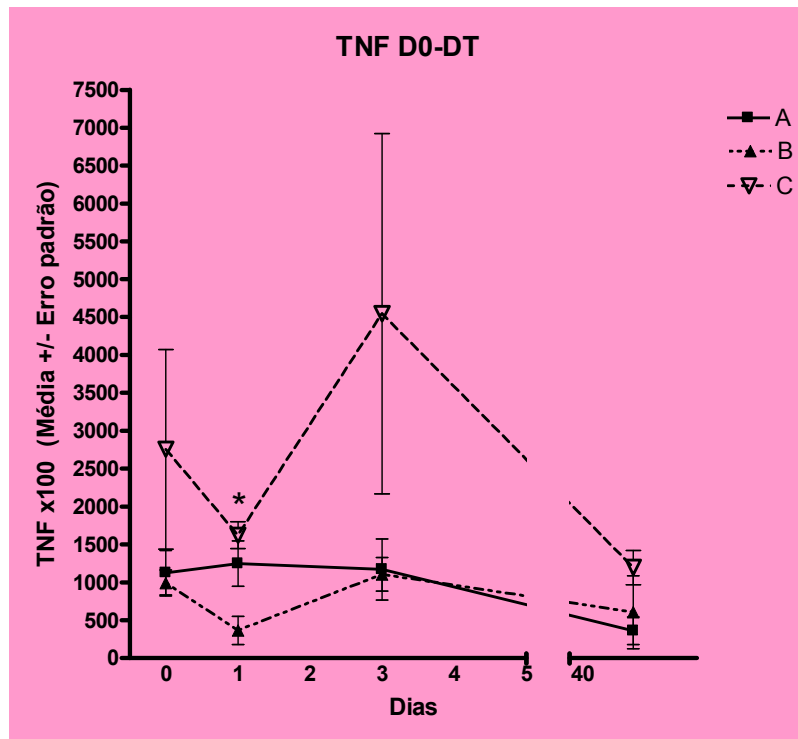
4.1 – Citocinas.

Não foram encontrados valores significantes estatisticamente na comparação entre os grupos. Do mesmo modo, neste estudo, também não foram encontradas diferenças significantes entre os dias de pós-operatório, em cada grupo (figuras 11a14).



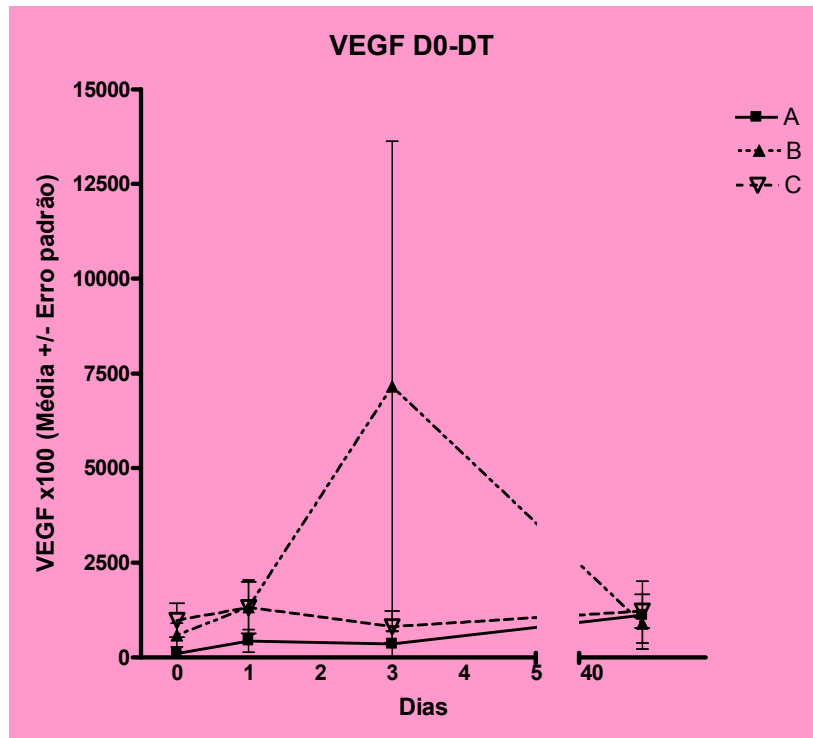
Valores de p: D0 – $P=0,1797$; D1 – $P=0,3291$; D3 – $P=0,0473$; D40 – $P=0,2429$
ANOVA + teste de Bonferroni para comparações múltiplas

Figura 11. Análise gráfica das dosagens de IL-1 em D0, D1, D3 e D40 nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).



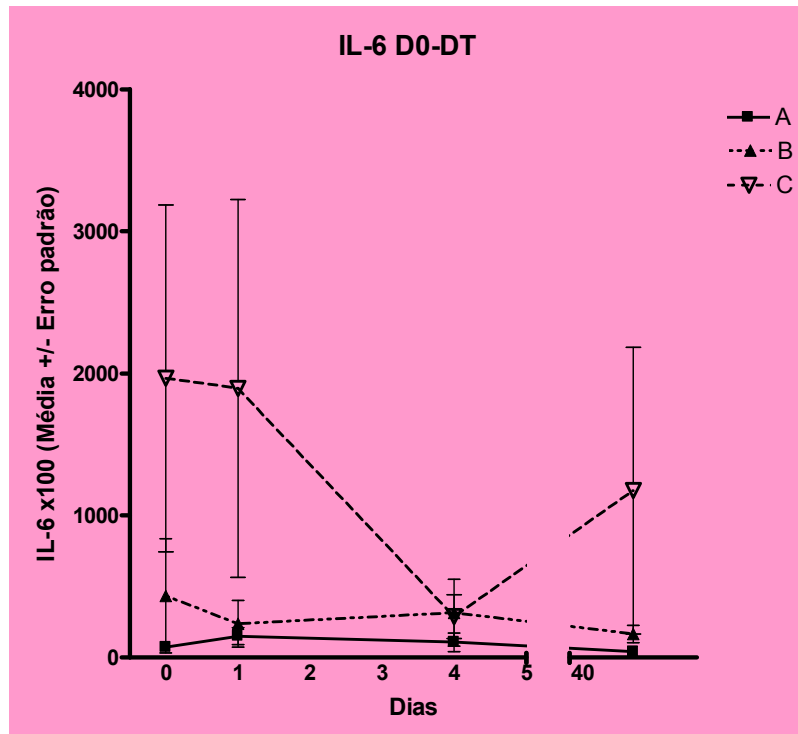
Valores de p: D0 – $P=0,2284$; D1 – $P=0,0012$; D3 – $P=0,1719$; D40 – $P=0,2105$
ANOVA + teste de Bonferroni para comparações múltiplas

Figura 12. Análise gráfica das dosagens de TNF α em D0, D1, D3 e D40 nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).



Valores de p: D0 – $P=0,1799$; D1 – $P=0,5192$; D3 – $P=0,3924$; D40 – $P=0,9301$
ANOVA + teste de Bonferroni para comparações múltiplas

Figura 13. Análise gráfica da evolução das dosagens de VEGF em D0, D1, D3 e D40 nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).



Valores de p: D0 – $P=0,1791$; D1 – $P=0,2374$; D3 – $P=0,6644$; D40 – $P=0,358$;
ANOVA + teste de Bonferroni para comparações múltiplas

Figura 14. Análise gráfica das dosagens de IL6 em D0, D1, D3 e D40 nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).

4.2 – HISTOLOGIA – Análise de cada item da reação inflamatória.

4.2.1 - Histologia A: camadas de células na periferia dos granulomas.

Neste item, conforme observado na figura 15 e na tabela 1, o grupo B apresentou o maior escore, enquanto o grupo A apresentou o menor ($p < 0,05$).

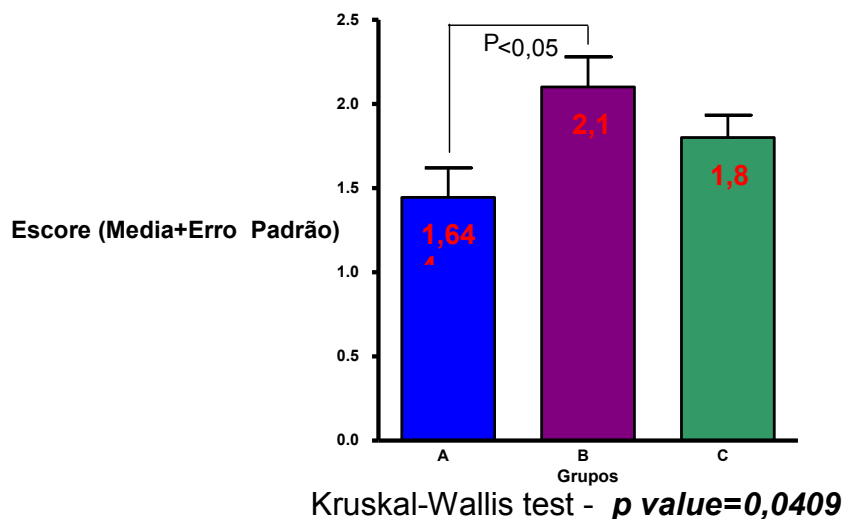


Figura 15. Camada de células na periferia dos granulomas. Análise gráfica dos escores (média + erro padrão) nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).

Tabela 1. Resultados e análise estatística: camada de células na periferia dos granulomas nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio)

Grupos	A	B	C
Número de valores	9	10	10
Média / Desvio padrão	1,44 / 0,53	2,1 / 0,57	1,8 / 0,42
IC 95%	1,04 - 1,85	1,67 - 2,51	1,50 - 2,10

Teste de Dunn
(comparações múltiplas)

A vs B

$p < 0,05$

A vs C

$p > 0,05$

B vs C

$p > 0,05$

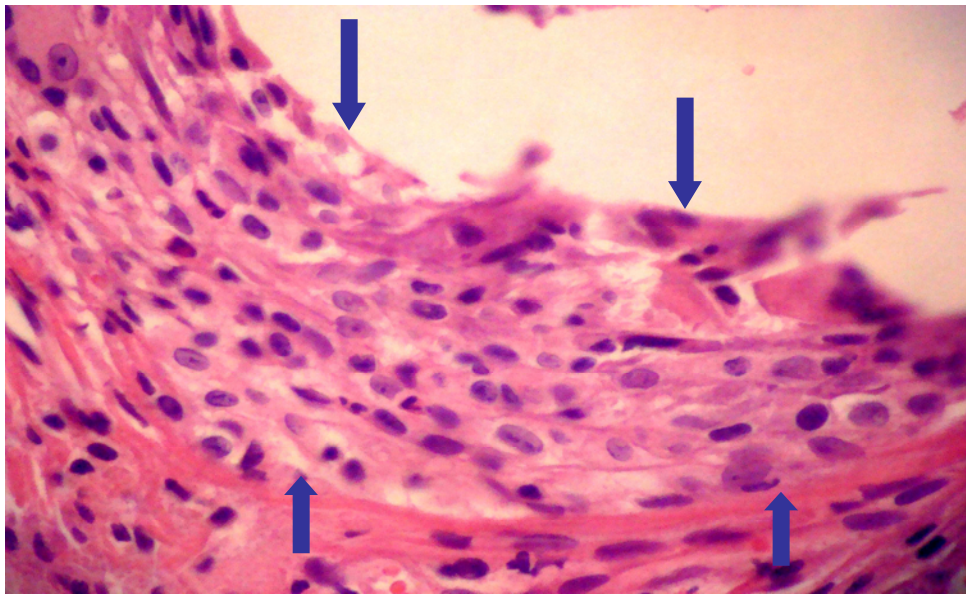


Figura 16. Camada de células (>15) inflamatórias na periferia do granuloma (entre as setas) em animal do grupo B (polipropileno + poliglactina). Fotomicrografia - HE, 400x

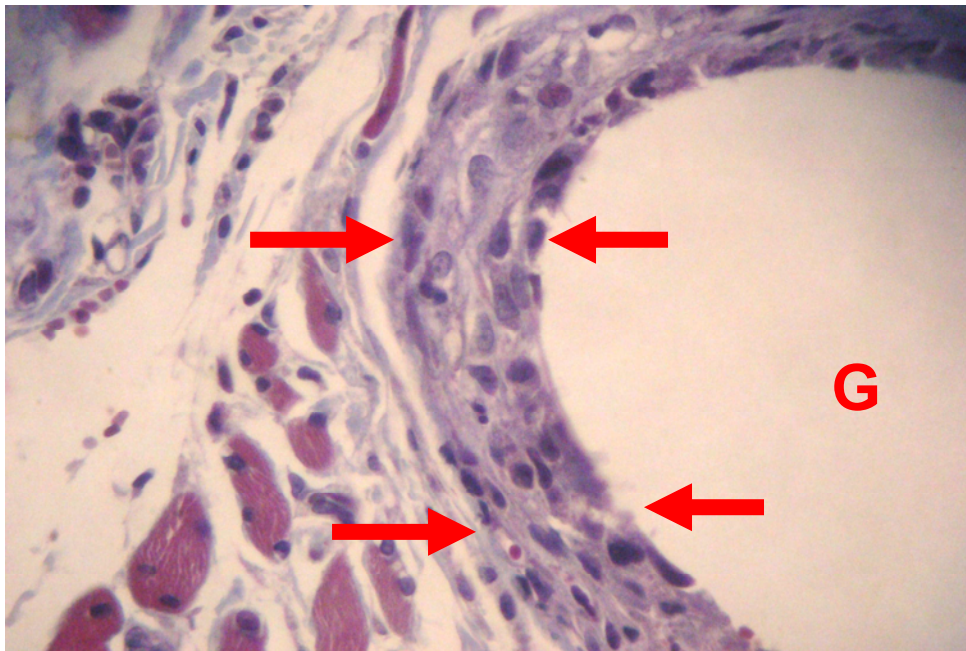


Figura 17. Camadas de células (entre setas) na periferia de granuloma corpo estranho (G) em animal do grupo C (polipropileno + titânio). Fotomicrografia - Tricromo de Masson, 400 x.

4.2.2 – Histologia B: Reação inflamatória no tecido do hospedeiro.

Na avaliação da reação inflamatória no tecido do hospedeiro, também houve maior escore no grupo B. O grupo C apresentou o menor escore neste item. Observar figura 18 e tabela 2 ($p < 0,01$).

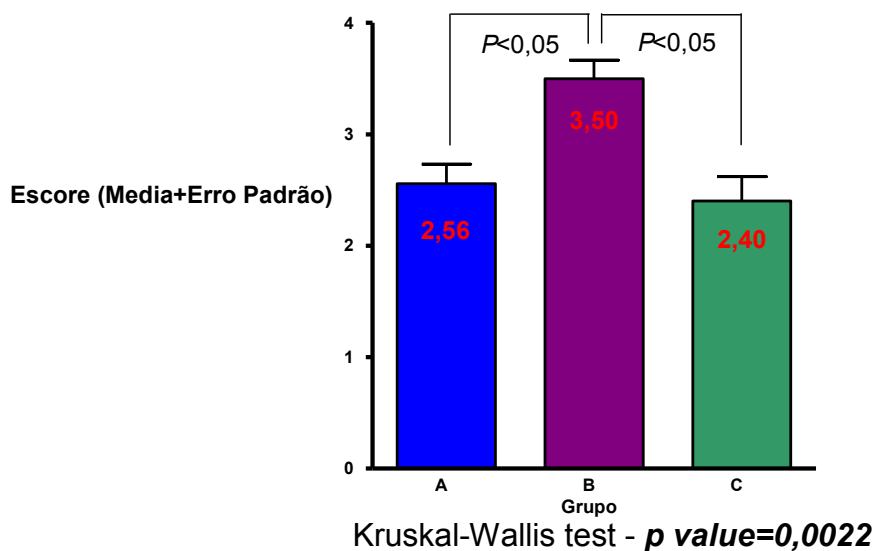


Figura 18. Reação inflamatória no tecido do hospedeiro. Análise gráfica do escore (média + erro padrão) nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).

Tabela 2. Resultados e análise estatística: reação inflamatória no tecido do hospedeiro nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio)

Grupos	A	B	C
Número de valores	9	10	10
Média / Desvio padrão	2,56 / 0,53	3,50 / 0,53	2,40 / 0,70
IC 95%	2,15 - 2,96	3,12 - 3,88	1,90 - 2,90

Teste de Dunn
(comparações múltiplas)

	p
A vs B	$p < 0,05$
A vs C	$p > 0,05$
B vs C	$p < 0,01$

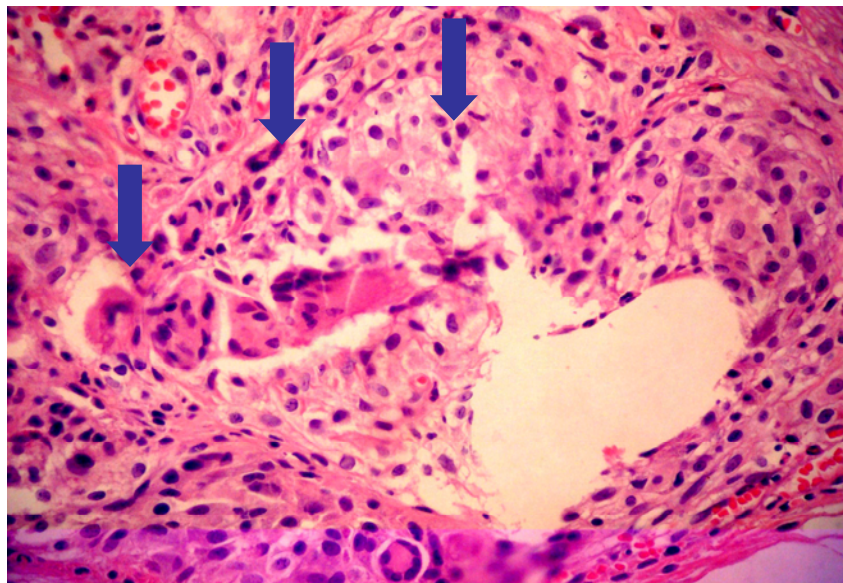


Figura 19. Reação intensa, granulomatosa, com massa de células inflamatórias e células gigantes tipo corpo estranho (setas), no tecido do hospedeiro em animal do grupo B (polipropileno + poliglactina). Fotomicrografia - HE, 200x.

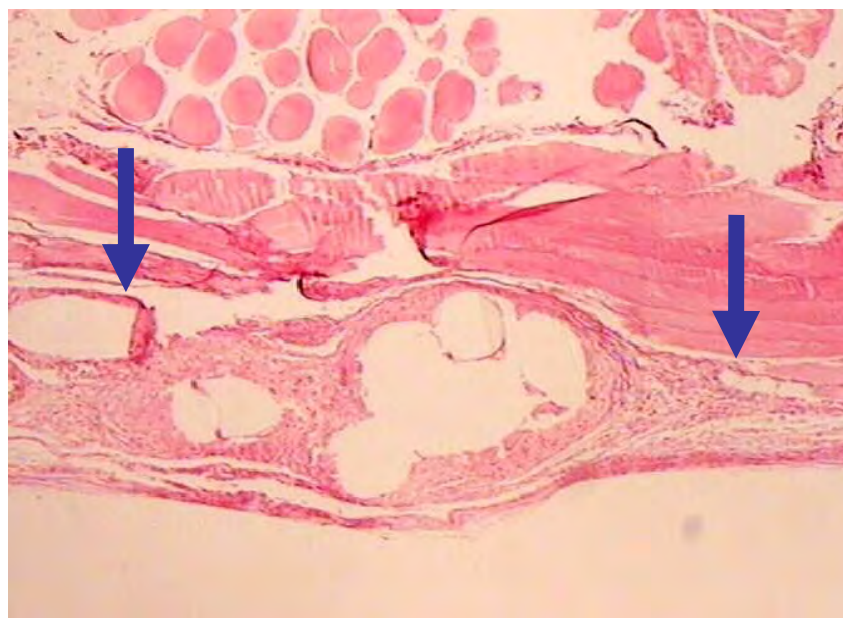


Figura 20. Reação inflamatória discreta no tecido do hospedeiro (setas) em animal do grupo C (polipropileno + titânio). Fotomicrografia - HE, 100x

4.2.3 – Histologia C: Reação inflamatória na superfície da tela.

No item “reação inflamatória na superfície da tela”, o grupo B também apresentou o maior escore. O grupo A apresentou o menor ($p < 0,001$). Ver figura 21 e tabela 3.

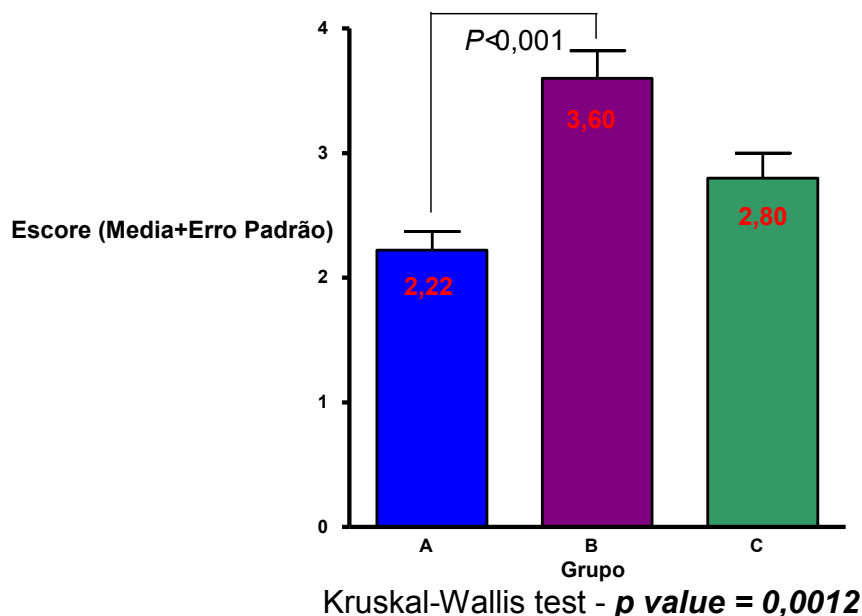


Figura 21. Reação inflamatória na superfície da tela. Análise gráfica do escore (média + erro padrão) nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio)

Tabela 3. Resultados e análise estatística: resposta inflamatória na superfície da tela nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio)

Grupos	A	B	C
Número de valores	9	10	10
Média / Desvio padrão	2,22 / 0,44	3,60 / 0,70	2,80 / 0,63
IC 95%	1,88 – 2,56	3,10 – 4,10	2,35 – 3,25

Teste de Dunn
(comparações múltiplas)

	p
A vs B	$p < 0,001$
A vs C	$p > 0,05$
B vs C	$p < 0,05$

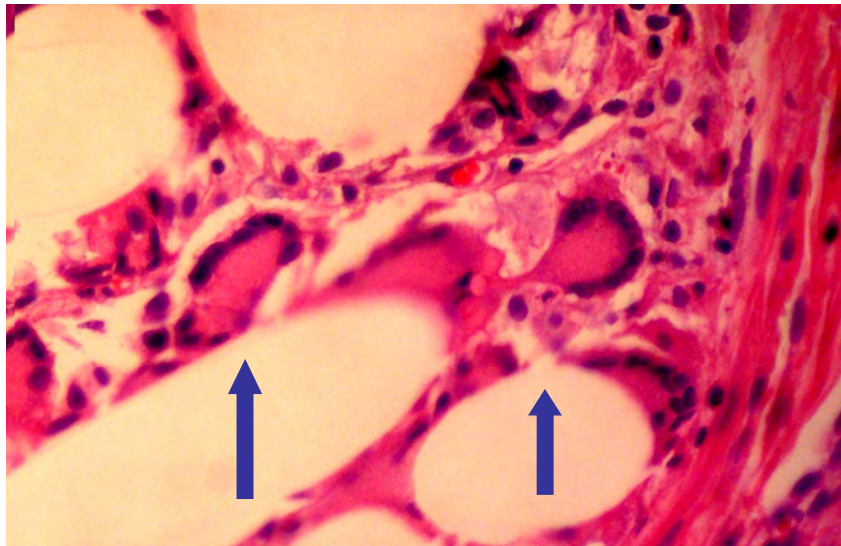


Figura 22. Resposta inflamatória granulomatosa na superfície da tela em animal do grupo B (polipropileno + poliglactina). Ver setas. Fotomicrografia - HE, 400x.

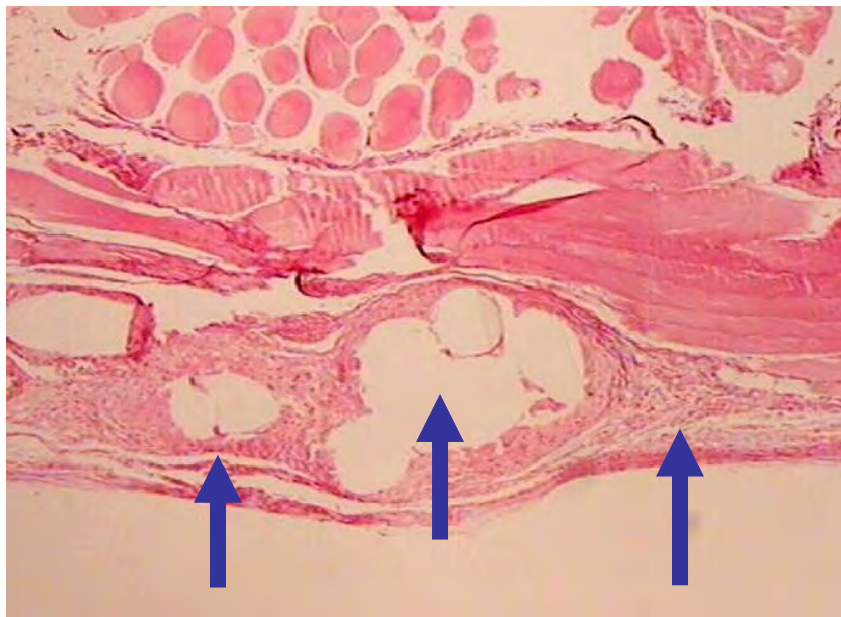
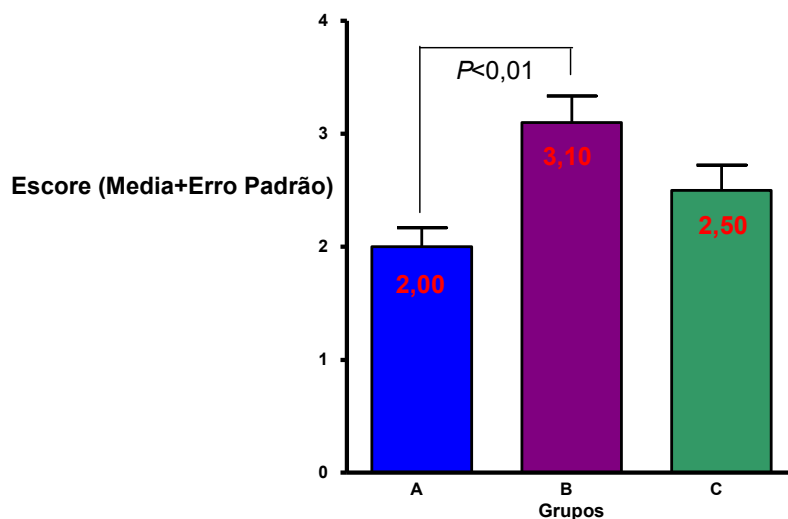


Figura 23. Reação inflamatória na superfície da tela (setas), com macrófagos e granulomas corpo estranho em animal do grupo C (polipropileno + titânio). Fotomicrografia - HE, 100x.

4.2.4 - Histologia D: Maturação tecidual.

Neste item, houve maior escore, ou seja, menor maturação tecidual, no grupo B. O grupo A, por sua vez, apresentou menor escore, isto é, maior maturação tecidual ($p < 0,01$), conforme pode ser observado na figura 24 e na tabela 4.



Kruskal-Wallis test - p value = 0,0075

Figura 24. Maturação tecidual. Análise gráfica do escore (média + erro padrão) nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).

Tabela 4. Resultados e análise estatística: maturação tecidual nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno+poliglactina) e C (polipropileno+titânio)

Grupos	A	B	C
Número de valores	9	10	10
Média / Desvio padrão	2,00 / 0,50	3,10 / 0,74	2,50 / 0,71
IC 95%	1,61 – 2,38	2,57 – 3,63	2,00 – 3,01

Teste de Dunn
(comparações múltiplas)

	p
A vs B	$p < 0,01$
A vs C	$p > 0,05$
B vs C	$p > 0,05$

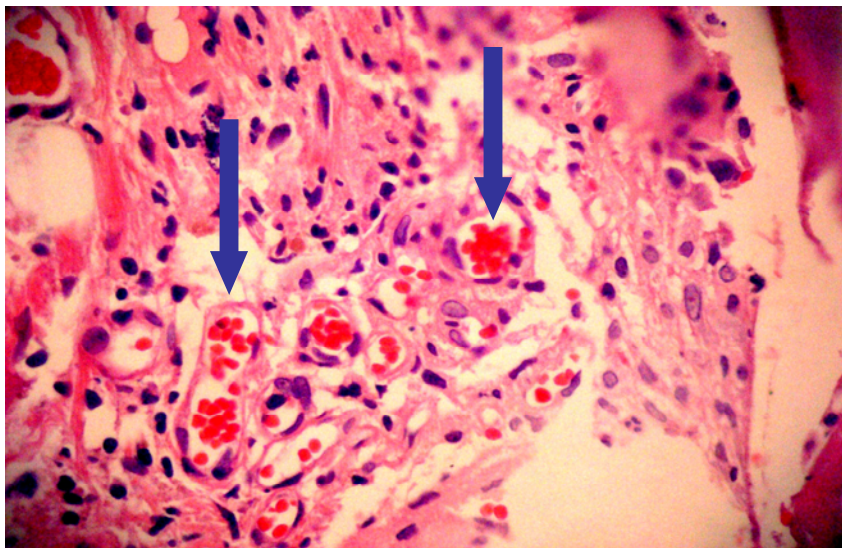


Figura 25. Maturação tecidual: vasos sanguíneos no interstício (setas) em animal do grupo A (polipropileno). Fotomicrografia - HE, 400x

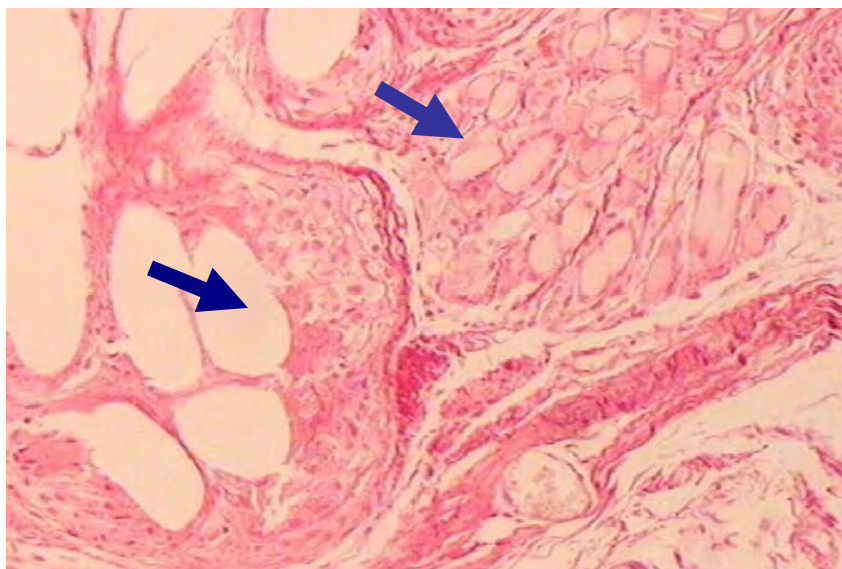


Figura 26. Maturação tecidual: massa desorganizada de células inflamatórias (setas azuis) em animal do grupo B (polipropileno + poliglactina). Fotomicrografia - HE, 100x.

4.2.5 – Histologia E: Células gigantes.

O grupo B apresentou o maior escore neste item enquanto o grupo A apresentou o menor ($p < 0,001$) Ver gráfico e tabela abaixo (figura 27 e tabela 5).

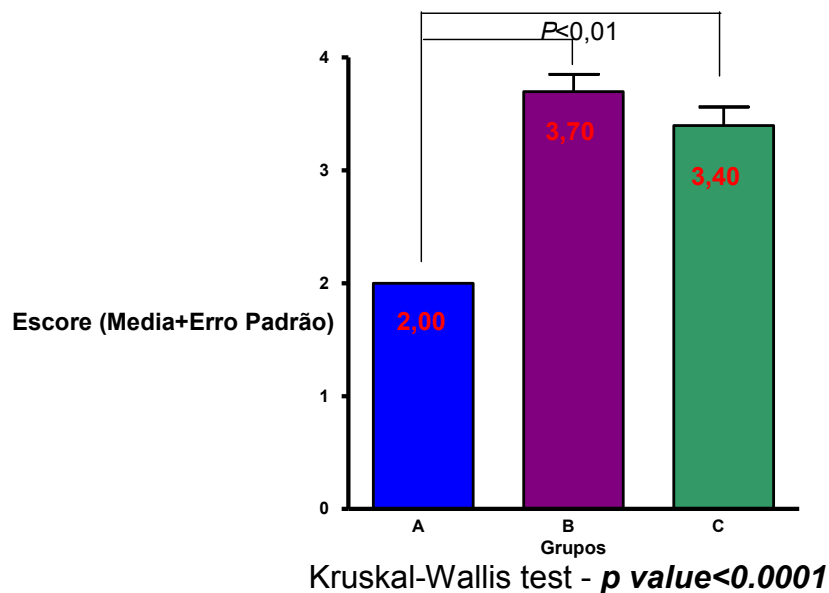


Figura 27. Células gigantes. Análise gráfica do escore (média + erro padrão) nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).

Tabela 5. HISTOLOGIA – resultados e análise estatística: células gigantes nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio)

Grupos	A	B	C
Número de valores	9	10	10
Média / Desvio padrão	2,00 / 0,00	3,70 / 0,48	3,40 / 0,52
IC 95%	2,00 – 2,00	3,35 – 4,05	3,03 – 3,77

Teste de Dunn
(comparações múltiplas)

A vs B

$p < 0,001$

A vs C

$p < 0,01$

B vs C

$p > 0,05$

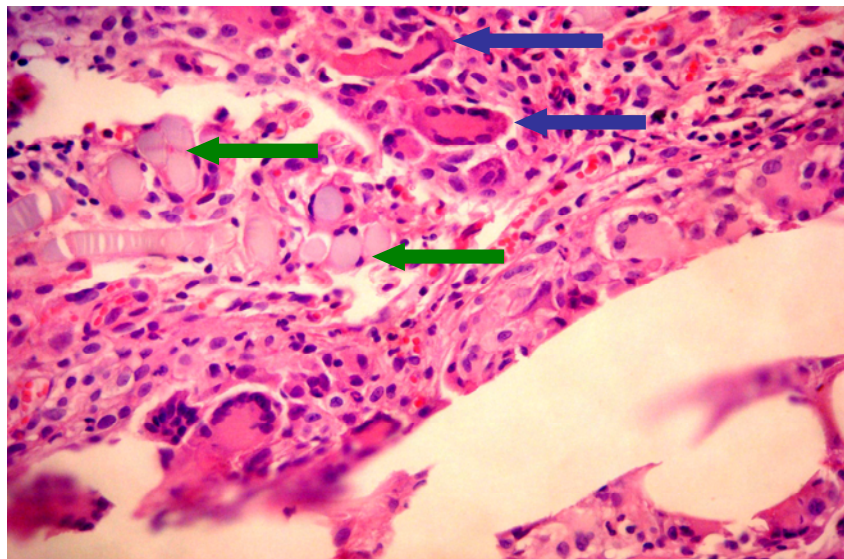


Figura 28. Reação inflamatória com células gigantes do tipo corpo estranho agrupadas (setas azuis) e fibras da tela (setas verdes) em animal do grupo B (polipropileno + poliglactina). Fotomicrografia - HE, 200x

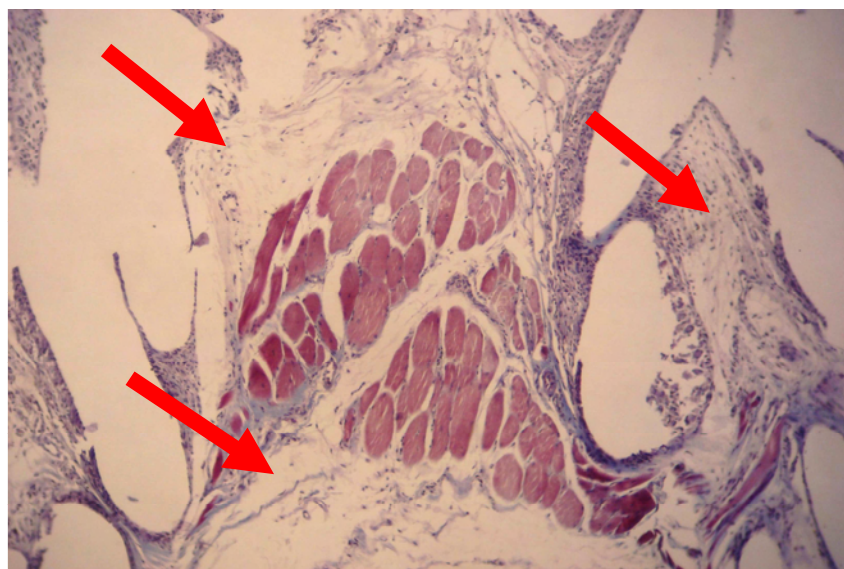


Figura29. Reação inflamatória pobre em células gigantes (setas) em animal do grupo A (polipropileno). Fotomicrografia - tricromo de Masson, 100x.

4.2.6 – Histologia F: Invasão da musculatura adjacente pelo processo inflamatório.

Neste item, o grupo A apresentou a maior pontuação enquanto o grupo C, a menor ($p > 0,05$). Observar a figura 30 e a tabela 6.

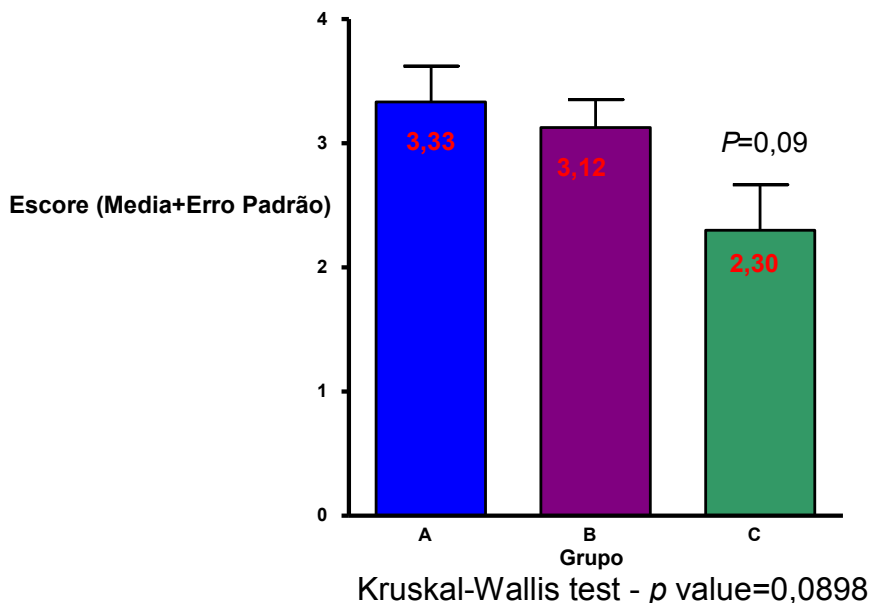


Figura 30. Invasão da musculatura do animal pelo infiltrado inflamatório. Análise gráfica do escore (média + erro padrão) nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio)

Tabela 6. Resultados: invasão da musculatura adjacente do hospedeiro pelo pelo infiltrado inflamatório nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio)

Grupos	A	B	C
Número de valores	9	10	10
Média / Desvio padrão	3,00 / 0,87	3,12 / 0,64	2,30 / 1,16
IC 95%	2,67 – 4,00	2,59 – 3,67	1,47 – 3,13

Observação: não foram realizadas as comparações múltiplas entre os grupos devido ao achado de um valor de p não significativo estatisticamente.

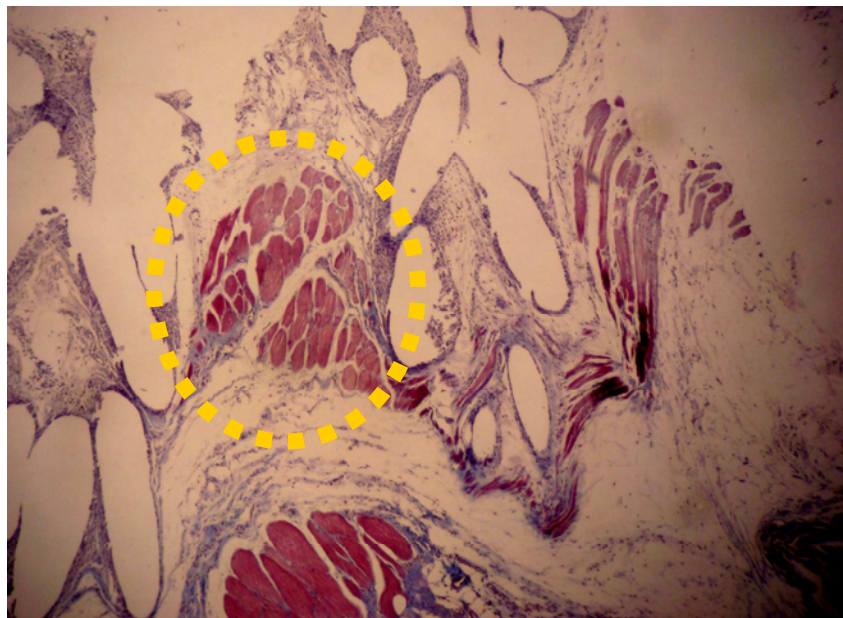


Figura 31. Ilhas de tecido muscular (círculo amarelo) estriado em meio a fragmentos de tela e reação inflamatória em animal do grupo A (polipropileno). Fotomicrografia - tricromo de Masson, 100x

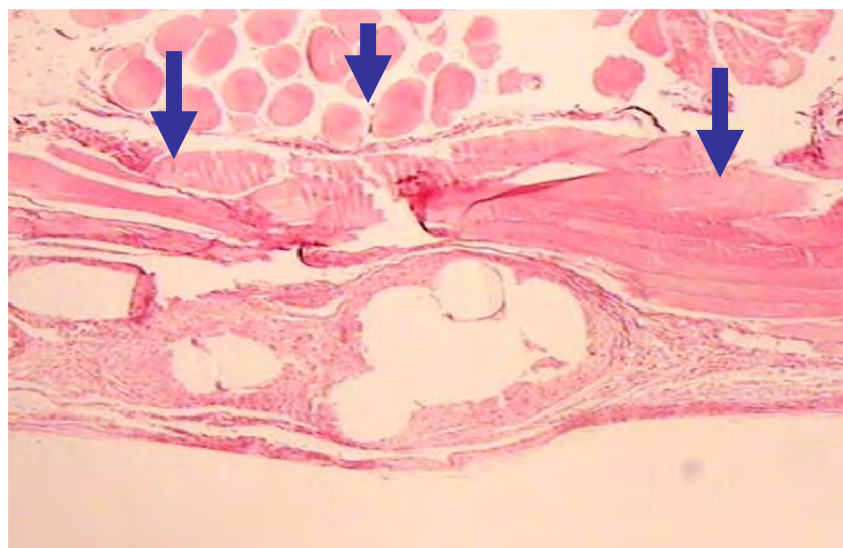


Figura 32. Ausência de infiltrado na musculatura (setas) em animal do grupo C (polipropileno + titânio). Fotomicrografia - HE, 100x

4.2.7 – Histologia: somatória A-D.

Conforme observado na figura 33 e na tabela 7, na somatória dos itens da escala de avaliação proposta por Harrell et al. (2007), há um escore maior para o grupo B e menor para o grupo A ($p < 0,001$).

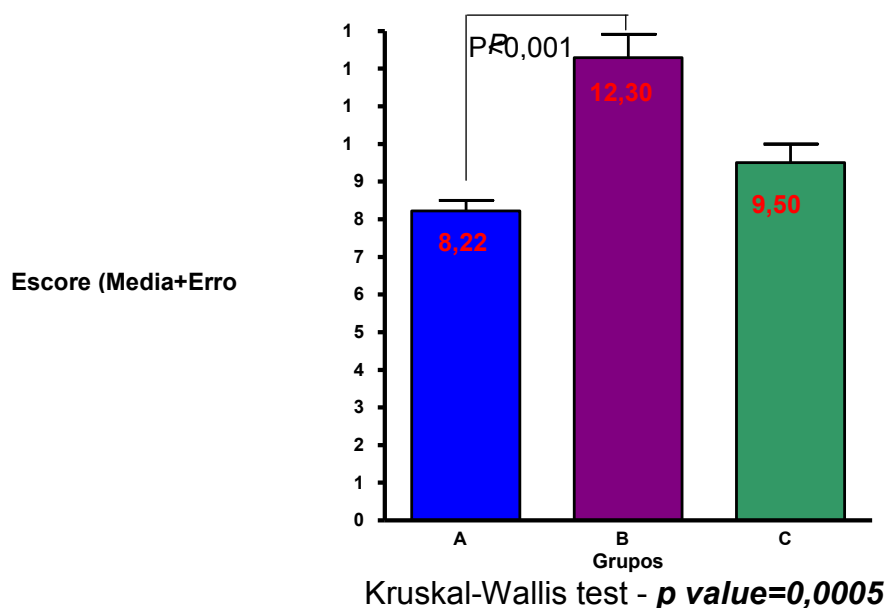


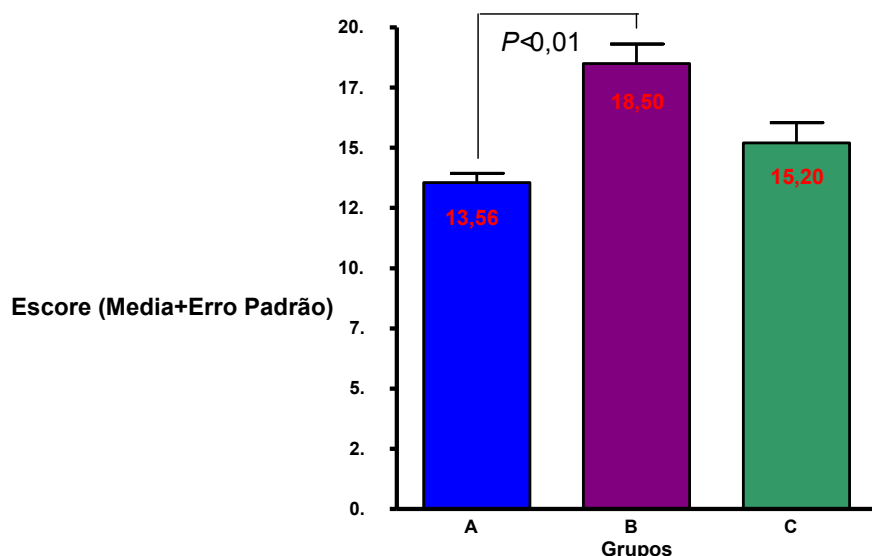
Figura 33. Somatória dos parâmetros para a avaliação da reação inflamatória estudados nos itens A-D (tabelas 1-4). Análise gráfica do escore (média + erro padrão) nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).

Tabela 7. Resultado + análise estatística da somatória dos parâmetros para a avaliação da reação inflamatória estudados nos itens A-D (tabelas 1-4) nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio)

Grupos	A	B	C
Número de valores	9	10	10
Média / Desvio padrão	8,22 / 0,83	12,3 / 1,95	9,50 / 1,58
IC 95%	7,58 – 8,86	10,91 – 13,69	8,37 – 10,63
Teste de Dunn (comparações múltiplas)	Diferenças entre as somadas dos grupos		p
A vs B	-14,82		$p < 0,001$
A vs C	-6,12		$p > 0,05$
B vs C	8,70		$> 0,05$

4.2.8 – Histologia: somatória de todos os itens (A-F).

Quando são somados todos os itens utilizados para a avaliação da resposta inflamatória provocada por cada tipo de tela, mais uma vez o grupo B apresenta o maior escore e o grupo A, o menor ($p < 0,01$). Ver figura 34 e tabela 8.



Kruskal-Wallis test - p value = 0,0026

Figura 34. Somatória de todos os itens usados para a avaliação da resposta inflamatória (tabelas 1-6). Análise gráfica do escore (média + erro padrão) nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).

Tabela 8. Resultados + análise estatística da somatória de todos os itens usados para a avaliação inflamatória (tabelas 1-6) nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno+poliglactina) e C (polipropileno+titânio).

Grupos	A	B	C
Número de valores	9	10	10
Média / Desvio padrão	13,56/1,13	18,50/2,55	15,20/2,66
IC 95%	12,69-14,42	16,68-20,32	13,30-17,10

Teste de Dunn
(comparações múltiplas)

A vs B
A vs C
B vs C

Diferenças entre as
somadas dos grupos

-12,99
-4,08
8,90

p

$p < 0,01$
 $p > 0,05$
 $p > 0,05$

4.2.9 – Observações importantes:

- No grupo A foram analisados somente nove animais devido à ocorrência de óbito no animal A3.2 no pós-operatório imediato.

- No grupo B, além das alterações já descritas, encontrou-se a formação de abscesso no animal B3.2.

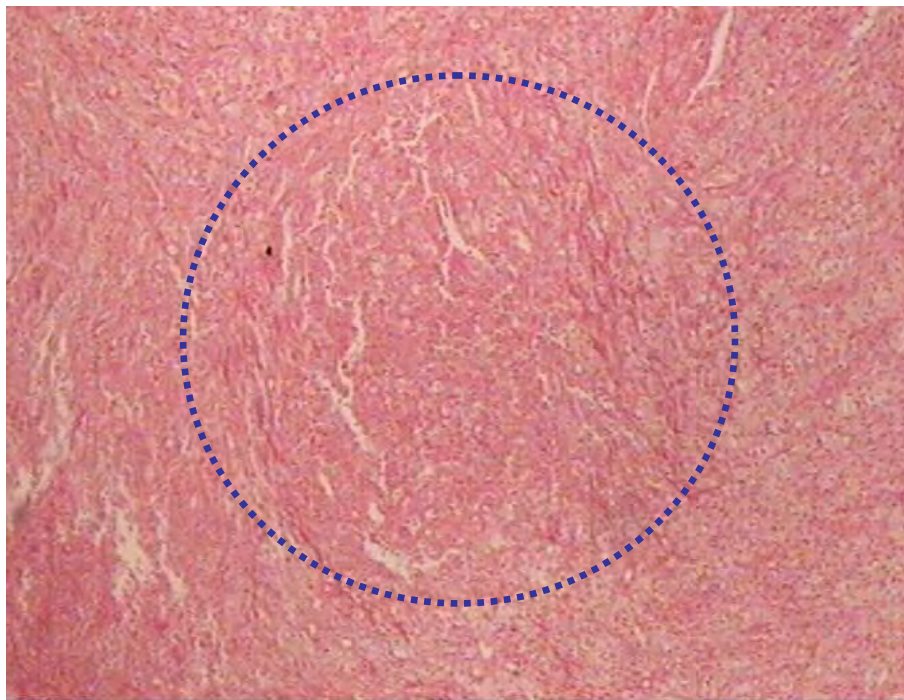


Figura 35. Reação inflamatória intensa com formação de abscesso (círculo) no animal do grupo B (polipropileno + poliglactina). Fotomicrografia - HE, 100x.

4.3 – Análise morfométrica do colágeno.

Neste estudo, houve uma maior deposição de colágeno nos animais onde se implantou a tela convencional de polipropileno ($p < 0,01$). Houve uma menor deposição de colágeno nos animais onde foi implantada a tela de polipropileno + poliglactina. Os animais que receberam o implante da tela de polipropileno + titânio apresentaram uma deposição intermediária. Observar as figuras 36-37 e as tabelas 9-10.

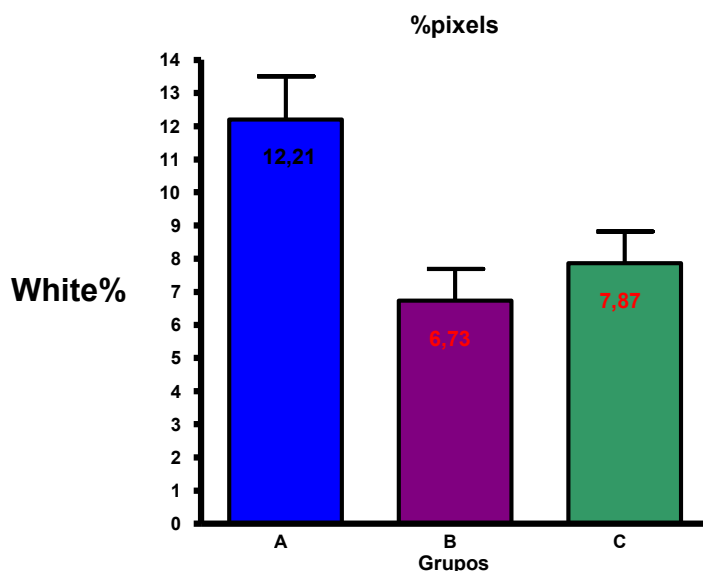


Figura 36. Análise gráfica da morfometria do colágeno em percentagem média nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio). Notar que a percentagem de colágeno corresponde à percentagem de pixels brancos (White%) na contagem pelo programa Image Tool.

Tabela 9. Resultados das análises da morfometria do colágeno em valores percentuais nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).

Grupos	A	B	C
Número de valores	9	10	10
Média / Desvio padrão	12,21/3,90	6,73/3,02	7,87/3,01
IC 95%	9,21-15,20	4,57-8,89	5,71-10,02

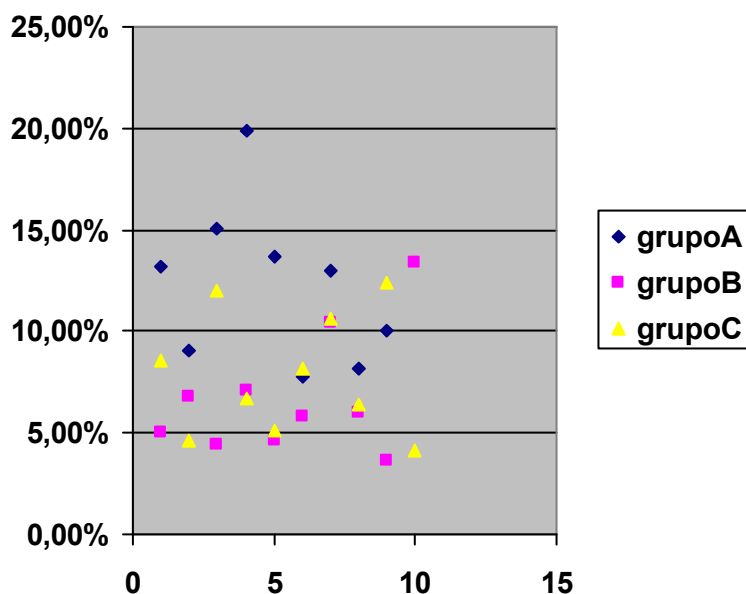


Figura 37. Gráfico de dispersão dos indivíduos para quantificação do colágeno, em percentagem de pixels brancos, nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio).

Tabela 10. Análise estatística (comparações múltiplas) da morfometria do colágeno nos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + poliglactina) e C (polipropileno + titânio)

Número de valores	9	10	10
Média / Desvio padrão	12,2 / 3,9	6,7 / 3,0	7,9 / 3,0
IC 95%	9,2 - 15,2	4,6 - 8,9	5,7 - 10,0

Análise de variância ANOVA

p

0,0034

Teste de Bonferroni
(comparações múltiplas)

A vs B

***p* < 0.01**

A vs C

***p* < 0.05**

B vs C

***p* > 0.05**

Observou-se ainda um padrão diferenciado de deposição do colágeno entre os grupos: enquanto no grupo A, a deposição ocorreu de uma maneira regular, em feixes de fibras compactas. Nos demais grupos, a deposição foi esparsa e irregular, conforme pode ser visto nas figuras 38-40.

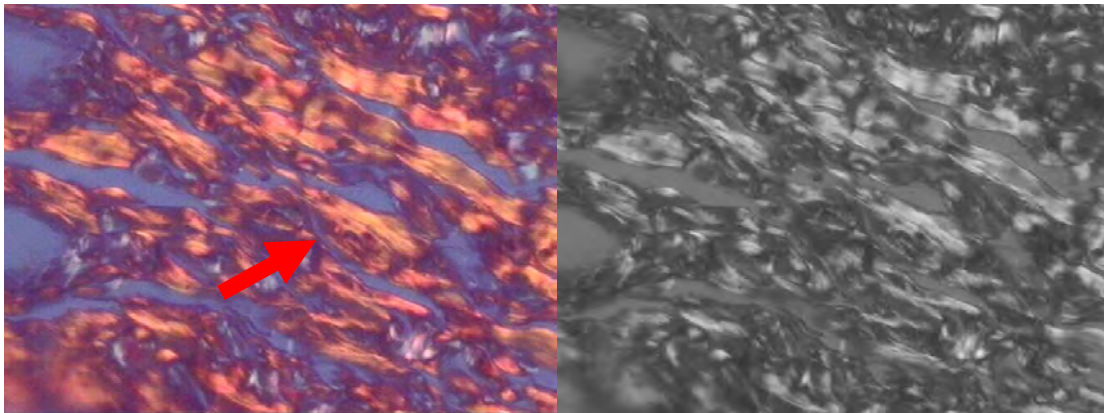


Figura 38. Fotomicrografia , 400X: morfometria do colágeno no grupo A (polipropileno). Notar a deposição regular em fibras compactas (setas). Picrosirius à esquerda e *Image Tool* (escala de cinza) à direita.

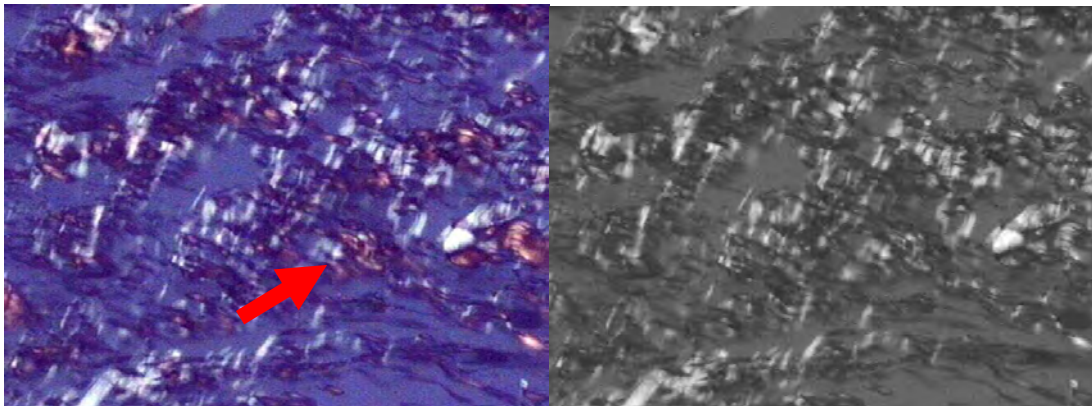


Figura 39. Fotomicrografia, 400X: morfometria do colágeno no grupo B (polipropileno + poliglactina). Notar a deposição irregular e esparsa. Picrosirius à esquerda e *Image Tool* (escala de cinza) à direita.

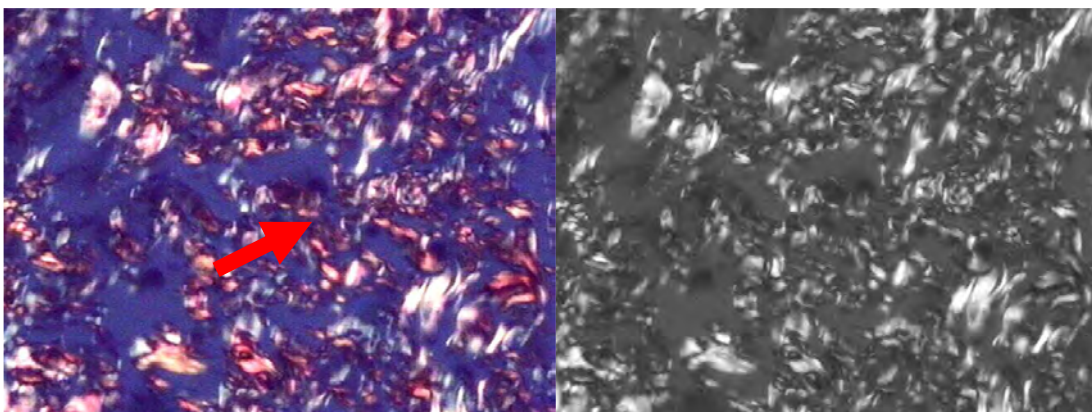


Figura 40. Fotomicrografia , 400X: morfometria do colágeno no grupo C (polipropileno + titânio). Notar a deposição menos esparsa que no grupo B (figura 39), mas ainda irregular (setas). Picrosirius à esquerda e *Image Tool* (escala de cinza) à direita

5 DISCUSSÃO

As hérnias incisionais representam ainda um grande desafio para o cirurgião do abdome. Sua freqüência elevada, associada à morbidade importante, resulta em indicação comum de tratamento cirúrgico na prática clínica diária.^(1,2,11)

A cirurgia para correção de tais hérnias pode ser extremamente difícil devido a fatores como sua localização, tamanho do anel herniário, além da destruição da integridade dos músculos e das fáscias abdominais com alterações anatômicas significativas.^(2,3,11,28) A presença de comorbidades associadas nos pacientes como obesidade, desnutrição, aumento da pressão intra-abdominal e DPOC (doença pulmonar obstrutiva crônica) também dificultam o sucesso do tratamento cirúrgico.^(2,3,11)

O papel das alterações da síntese da matriz extracelular, mais especificamente do colágeno, na patogênese das hérnias vem ganhando destaque na literatura^(4,5). Do mesmo modo, a participação de citocinas (fatores de crescimento e de necrose tumoral e interleucinas) no processo de cicatrização também tem sido estudada em vários centros.^(6,10,13,24,25)

O emprego de telas indubitavelmente reduziu a taxa de recidiva nas hernioplastias de maneira geral. Entretanto, houve concomitantemente aumento no índice de complicações, as quais podem refletir na qualidade de vida do paciente^(6,10, 11,14). A ocorrência de celulite, seroma, dor pós-operatória, sensação de corpo estranho e rigidez de parede associadas ao uso da tela, depende do tipo e da intensidade do processo inflamatório provocado pelo seu implante no hospedeiro.^(6, 22, 27, 36)

O material mais frequentemente utilizado na confecção das telas é o polipropileno monofilamentar, não absorvível.^(11,12, 28,30,31) As telas de polipropileno tradicionais são consideradas de alta densidade e possuem malha de poros pequenos. Isto implica em maior quantidade de material por superfície de aplicação⁽¹⁸⁾. O implante deste tipo de tela induz a uma reação inflamatória maior quando comparada à cirurgia de correção da hérnia apenas por sutura simples. Tal reação ocorre na parede abdominal, mas também apresenta caráter sistêmico, uma vez que pode ser evidenciada pela elevação da dosagem sérica de mediadores pró-inflamatórios.^(6,10)

Na tentativa de reduzir complicações, foram criadas telas de polipropileno de menor densidade, com poros maiores. Houve associação com outros materiais, absorvíveis ou não, com o objetivo de melhorar a biocompatibilidade das mesmas^(18,38). Vários autores apresentam estudos em humanos com resultados superiores em termos de redução de morbidade em curto prazo^(17,35,36,62), porém parece haver uma maior taxa de recidiva.^(17,36)

A deposição do colágeno e, conseqüentemente, a resistência final da cicatriz, dependem de toda uma cascata de reações que têm início com o fator que desencadeia a inflamação.⁽⁷⁾ Daí surge uma questão: até que ponto a reação inflamatória pode ser benéfica ou prejudicial? Dessa resposta dependem tanto as complicações cirúrgicas precoces quanto o reparo, o processo de cicatrização final, e, conseqüentemente, a redução da taxa de recidiva.

Não existe também consenso sobre a deposição do colágeno na reparação da parede abdominal com o emprego de telas. Trabalhos recentes, realizados com animais e períodos de pós-operatório diferentes podem auxiliar o pesquisador desse tema tão atual.^(16,27,40,41) Entretanto, há muitos pontos a serem esclarecidos.

Dúvidas relacionadas à prática cotidiana do cirurgião de abdome permanecem sem resposta: - Qual o processo inflamatório desencadeado em curto, médio e longo prazo pelo emprego das telas? - As novas telas representam realmente um avanço? - Qual será a tela ideal? - Como modular a reação inflamatória para reduzir complicações e melhorar a formação da cicatriz? - Menos complicações precoces implicam em mais recidiva tardia? - Menor inflamação significa maior recidiva? - Será que o tipo de inflamação é mais importante do que a intensidade da mesma?

Deste modo, há possibilidade do desenvolvimento de inúmeras linhas de pesquisa relacionadas a este assunto tão instigante. O conhecimento sobre o mesmo ainda é limitado, embora novas telas sejam lançadas periodicamente no mercado. Na realidade, não existe ainda nem esclarecimento completo sobre a inflamação provocada pela tela atualmente mais utilizada, a de polipropileno. Não há, inclusive, consenso sobre a terminologia a ser empregada na pesquisa dos reparos cirúrgicos das hérnias com tela.^(8,64)

Espera-se, com o presente estudo, contribuir com algumas respostas, ou com novas perguntas, para esclarecimento de um tema tão palpitante.

Ratos, coelhos, porcos, camundongos já foram utilizados em experimentos relacionados ao emprego de telas.^(1,3,4,16,19,33,37, 38,40,43-47,62) Optou-se, neste estudo experimental pelo uso de ratos albinos Wistar por serem largamente empregados nesse tipo de pesquisa, pela facilidade de aquisição, manuseio, manutenção e acompanhamento dos mesmos no período de pesquisa.

Foram escolhidos animais machos para evitar influências hormonais do ciclo reprodutivo nas respostas inflamatórias pesquisadas. Como fator diferencial, no presente estudo, além de peso semelhante, todos os animais tiveram seu nascimento no mesmo dia para homogeneizar as amostras o máximo possível.

Não se encontraram, na literatura, valores padrões para parâmetros estudados. Por esta razão não foi possível realizar o cálculo estatístico da amostra. Observaram-se, no entanto, em trabalhos experimentais com o uso de tela, grupos cujo n variava de cinco a quinze.^(1,3, 4, 16, 19, 33, 37, 38, 40, 43-47, 62) Optou-se, por isso, pela alocação de dez animais em cada grupo.

O grupo A, onde foi implantada a tela padrão, foi considerado controle em relação aos demais. Houve, no pós-operatório imediato, o óbito de um animal (A3.2). Por esta razão nos resultados do grupo A são analisados os dados de apenas nove indivíduos, fato que não prejudicou a análise estatística dos resultados.

A identificação dos animais possibilitou o acompanhamento individual de cada rato.

Realizou-se um estudo piloto, com cinco animais para a padronização da anestesia, coleta de amostras de sangue e do procedimento cirúrgico.

Existe, nos experimentos com ratos, ampla utilização da associação do cloridrato de ketamina com a xylazina para a sua anestesia por via intraperitoneal.⁽¹⁾ Essa associação foi utilizada pela facilidade de aquisição das drogas e manuseio dos animais, cuja parede abdominal delgada, facilita o acesso intraperitoneal.

Neste estudo, analisou-se a reação inflamatória em três tipos diferentes de tela. A tela convencional de polipropileno de alta densidade ainda é a mais usada,^(11,12, 28,30,31) por isso foi escolhida como padrão. Duas outras telas de polipropileno com poros grandes foram usadas para comparação. Numa, há associação com material absorvível,

a poliglactina, a qual teoricamente reduziria a rigidez de parede abdominal no pós-operatório tardio.⁽¹⁸⁾ Noutra, associou-se um material inabsorvível, já utilizado em outros implantes e próteses, inclusive em contato com osso e vasos sanguíneos, com excelente biocompatibilidade, o titânio.^(58,59)

O modelo experimental de retirada de fragmento muscular de parede anterior do abdômen em roedores com implante posterior de tela já foi empregada na literatura.⁽¹⁶⁾ A opção do quadrante do abdômen de onde se retirou o fragmento foi aleatória, porém uma vez estabelecida, foi rigorosamente observada em todos os animais.

Como o objetivo do estudo é a avaliação da resposta inflamatória e da deposição do colágeno na parede abdominal, não foi violada a cavidade peritoneal dos ratos. Isto exigiu certo treinamento devido à pequena espessura da musculatura abdominal dos animais.

Todas as telas possuíam a mesma área e foram fixadas com o mesmo fio, constituído de material presente nas mesmas, o polipropileno. Padronizou-se a fixação do implante com igual número de pontos de sutura e mesma localização nos bordos da tela. Evitaram-se, deste modo, vieses relacionados ao seu tamanho e à sua fixação.

A eutanásia foi realizada no 40º dia de pós-operatório, porque o objetivo do estudo era analisar a reação tecidual numa fase mais tardia de cicatrização. Vaz et al. (2009), recentemente demonstraram que, após o 30º dia de pós-operatório, existe estabilização da deposição do colágeno tipo I na parede abdominal de ratos, nos quais foram implantadas telas de polipropileno.⁽¹⁶⁾

Para avaliação da reação tecidual, optou-se por uma coloração já considerada padrão (hematoxilina-eosina - HE)^(16,43) e por outra a qual permite visualização estrutural de diferentes células e tecidos (tricromo de Masson). Colheu-se fragmento central da área de implantação da tela, o mais distante possível da área de sutura, para evitar influência dos meios de fixação no processo inflamatório.^(46,47,50,51)

A utilização de uma escala numérica na avaliação de achados histológicos visa retirar o elemento subjetivo do(s) pesquisador(es) da análise dos resultados obtidos. Vários autores já empregaram esta metodologia.^(16,43) No presente estudo utilizou-se a adaptação de uma escala publicada por Harrell et al. (2007), para avaliação da reação inflamatória decorrente do implante de telas em coelhos.⁽⁴³⁾

Foram adicionados mais dois itens à escala de Harrell. A primeira adição decorreu da grande variedade do número de células corpo estranho nos grupos, as quais foram encontradas predominantemente no grupo B em relação aos demais. A segunda, deveu-se ao achado muito interessante da invasão da musculatura abdominal do animal pelo processo inflamatório decorrente do implante da tela, especialmente no grupo A. Esta invasão foi muito pequena no grupo C.

A facilidade de manuseio da escala acima mencionada e a riqueza de achados na avaliação histológica do material utilizado permitiram que a autora, cuja formação profissional é eminentemente cirúrgica, participasse da sua aplicação, juntamente com um patologista de experiência reconhecida da UNIFESP.

Na análise morfométrica do colágeno, utilizou-se uma coloração clássica, o picrossirius sob luz polarizada¹⁶. Associou-se um método de captura, interpretação das imagens e contagem de pixels com o uso de um computador e do programa *Image Tool*, o qual foi descrito em nosso meio por Mizzurana em sua tese de Doutorado, apresentada na UNIFESP.⁽⁶⁵⁾ No presente estudo, optou-se pelo mesmo método para obtenção de resultados objetivos e reprodutíveis. Sua simplicidade permitiu que a autora o aplicasse em seu domicílio, após a captura das imagens num computador acoplado ao microscópio no Departamento de Patologia da UNIFESP. Demonstra-se assim um exemplo de como a Tecnologia e a Informática podem contribuir para a pesquisa, especialmente em Ciências da Saúde.

Existe uma plêiade de substâncias de atuação marcadamente pró-inflamatória, as quais são liberadas no organismo após injúria ou trauma. Alguns desses mediadores já foram avaliados em seres humanos submetidos a cirurgias para correção de hérnias com e sem o uso de telas por Di Vita et al. (2005, 2006). Foram dosados no sangue e no fluido drenado dos indivíduos submetidos a correção cirúrgica de hérnias incisionais^(6,10). Em nosso estudo foram dosadas as citocinas IL1 β , IL6, VEGF e TNF α pela possibilidade de serem avaliadas em kits específicos para ratos.

O método Lincoplex já foi já foi validado por vários autores.^(66,67) Note-se que não foi realizado um estudo piloto para as dosagens das citocinas, devido ao alto custo de cada kit, o qual uma vez aberto, possibilitaria a realização de 96 reações simultâneas. Nesta pesquisa utilizaram-se apenas dois kits, os quais representaram a sua etapa mais

onerosa. A realização de um estudo piloto implicaria na compra de um novo kit apenas para a realização de algumas reações.

As amostras de sangue dos animais que foram colhidas antes do procedimento cirúrgico (D0) tiveram o objetivo de servir de controle para as demais.

Na análise estatística da reação tecidual, utilizou-se um teste não paramétrico, o Kruskal Wallis (K-W), cujo objetivo foi testar a hipótese de que, entre três amostras independentes (A, B e C), alguma(s) dela(s) difere(m) de outra(s). As variáveis histológicas são consideradas ordinais porque recebem “escores” que agem como *categorias* (variável categórica, não contínua). Significa dizer-se que o escore “4” não é matematicamente 2x maior que o escore “2”. Ou seja, embora exista uma relação hierárquica, elas não guardam uma relação matemática.

O emprego do K-W, quase sempre implica na necessidade de utilização de um segundo teste. O pós-teste escolhido foi o de *Dunn*, cuja função é estabelecer múltiplas comparações após testes não paramétricos.

Na avaliação morfométrica do colágeno, as variáveis numéricas, contínuas, permitiram a realização de Análise de Variância Paramétrica (ANOVA). A **ANOVA** é uma metodologia estatística cujo objetivo é comparar duas ou mais amostras ou tratamentos, a fim de verificar se há diferenças significativas entre as médias, que sejam decorrentes de efeitos dos mesmos. Em nosso estudo a ANOVA ganha robustez devido a homogeneidade no número de indivíduos de cada amostra. O pós-teste *Bonferroni* para comparações múltiplas foi aplicado a seguir.

A análise estatística para as dosagens de citocinas foi realizada com ANOVA de medidas repetidas (*Repeated Measures* ANOVA). Esse teste, possível em nossos dados, compara os três grupos ou mais entre si, considerando-os como medidas em um mesmo indivíduo ao longo do tempo. Por esse motivo, o grupo A tem nove conjuntos de dados. O indivíduo que tem apenas a coleta de sangue no pré-operatório (D0) foi, portanto, eliminado (animal A3.2, óbito). Note-se que, no total, são NOVE comparações. De maneira a manter as chances de encontrar, ao acaso, diferenças $<0,05$, usou-se a correção de Bonferroni. Esta consiste em dividir-se o valor de p pelo número de comparações a serem feitas (mantendo suas chances de encontrar uma associação ao acaso em 5%). Assim, p (corrigido) = $0,05/9 = 0,006$.

Os trabalhos de Di Vita et al. (2005 e 2006) analisaram a dosagem de citocinas pró e antiinflamatórias no sangue e em fluido drenado em pacientes submetidos a cirurgias para correção de hérnias com e sem tela.^(6,10) Em todos os indivíduos houve aumento das citocinas pró-inflamatórias especialmente nas primeiras 48 horas após a operação. Este aumento foi estatisticamente maior quando foi empregada a tela, e proporcional à área da mesma.^(6,10) Em outro estudo, no entanto, as dosagens do TNF α em coelhos não apresentaram diferenças na avaliação da reação inflamatória provocada por sutura primária e por diferentes tipos de tela (polipropileno, polipropileno + titânio, polipropileno + PTFE)⁽⁴⁴⁾.

Em nossa pesquisa, a comparação das dosagens de citocinas não apresentou resultados expressivos, nem entre os grupos, nem entre os diversos dias de pós-operatório ($p > 0,05$). Notou-se que algumas das diferenças observadas também ocorreram no pré-operatório imediato, fato talvez decorrente da necessidade de anestésiar o animal para cada coleta de sangue. O ato anestésico por si próprio poderia ter provocado elevação de mediadores de resposta inflamatória ao trauma no animal. A possibilidade de alguns animais apresentarem previamente algum processo inflamatório parece remota uma vez que os mesmos foram avaliados pela equipe de Veterinária do CEDEME.

Algumas dificuldades foram encontradas nesta pesquisa em relação às dosagens de citocinas nos ratos: - A inexistência de valores considerados padrões para as dosagens em ratos na literatura. - A impossibilidade de mais de uma coleta de sangue em menos de 24 ou 48 horas, devido à pequena volemia do animal e à necessidade de anestesiá-lo para cada procedimento. - A ausência de dados que permitissem um preciso ajuste de tempo entre a espécie humana (com estudo anterior, o qual mostrava o pico dos valores no 2º DPO) e do roedor (um rato de três meses pode ser considerado adulto). - A impossibilidade de um estudo piloto, o qual poderia contribuir para a resolução de algumas das questões citadas anteriormente.

Os resultados obtidos nesta tese não devem servir para desencorajar novos trabalhos sobre os mediadores pró-inflamatórios. Ainda há muito a ser estudado e pesquisado sobre o papel das citocinas no processo inflamatório desencadeado pela aposição de telas na parede abdominal. Novas metodologias poderiam contribuir para

confirmação ou questionamento destes resultados, possibilitando avanços, inclusive na modulação biológica da inflamação para obtenção da cicatriz mais adequada.

Há autores, os quais não consideram a tela de polipropileno+poliglactina como um avanço real na cirurgia das hérnias devido ao incremento da inflamação provocada pela mesma.^(39,62) Entretanto, há outros que acreditam que existe melhor integração desta tela ao tecido do hospedeiro em relação à tela de polipropileno de alta densidade.⁽³²⁾

Weyhe et al. (2007), analisaram a inflamação provocada por várias telas em cultura de fibroblastos de ratos. Concluíram que a resposta inflamatória depende muito mais do tipo de material empregado do que da quantidade do mesmo. Todas as telas provocariam uma supressão do fator de crescimento transformador $\beta 1$, mais especialmente aquelas que continham além de polipropileno, material absorvível⁽³⁴⁾.

Os resultados desta tese mostram que, tardiamente (40°DPO), a implantação da tela em cuja constituição existe material absorvível (polipropileno + poliglactina) resulta numa reação inflamatória intensa, rica em granulomas e células do tipo corpo estranho ($p < 0,05$). Há menor maturação tecidual ($p < 0,01$). Concomitantemente houve menor deposição de colágeno na parede abdominal dos ratos nos quais foi posicionado este tipo de tela.

Parece lógico supor que o material de absorção precoce realmente possa ocasionar uma reação de fagocitose mais intensa, com prolongamento da fase inflamatória da cicatrização em detrimento da fibroplasia e da maturação tecidual. Talvez a supressão do fator de crescimento transformador $\beta 1$ possa estar implicada nessa questão.

A riqueza de achados nos animais nos quais a tela de polipropileno + poliglactina foi posicionada possibilitou uma análise facilitada dos itens estudados. As diferenças entre os grupos são nítidas até para aqueles que não são especialistas em Histologia (ver as figuras 15-32 e 38-40).

Nos animais onde foi posicionada a tela de polipropileno de alta densidade (grupo A), houve significativamente menor pontuação na somatória das médias dos itens avaliados ($p < 0,01$). A reação inflamatória na superfície da tela foi menor enquanto a maturação tecidual foi maior no 40°DPO ($p < 0,001$). A deposição do colágeno foi a maior entre os grupos ($p < 0,01$). Isto talvez possa traduzir a indução de resposta inflamatória aguda mais precoce e rápida, com fibroplasia mais intensa numa fase posterior. Note-se

que os resultados apresentados são fortemente significantes do ponto de vista estatístico.

Embora com $p > 0,05$, foi evidente, na casuística estudada, a maior invasão da musculatura do hospedeiro pelo processo inflamatório nos animais do grupo A, conforme pode ser demonstrado pela figura 31. Poder-se-ia especular se tal invasão estaria relacionada à fibrose na parede abdominal provocada pela tela de polipropileno, da qual poderia resultar a incômoda sensação de rigidez referida pelos pacientes, mas também a menor taxa de recidiva.⁽¹⁷⁾

A tela de baixa densidade constituída de polipropileno + titânio também tem sido motivo de divergências. Existem autores para os quais a mesma não ofereceria vantagens em relação a outras telas nos quesitos biocompatibilidade e reação inflamatória.^(20,44) No entanto, Scheidbach et al. (2004), concluíram diversamente: a cobertura de titânio na tela de baixa densidade de polipropileno proporcionaria vantagem adicional em termos de biocompatibilidade.⁽⁶²⁾

Em nosso estudo, a tela de polipropileno + titânio (grupo C) destacou-se das demais pela menor reação inflamatória na superfície da prótese (**$p < 0,01$**). Parece haver também menor invasão pelo infiltrado inflamatório na musculatura abdominal dos animais adjacente à tela, como pode ser visualizado na figura 32. Destas características poder-se-ia esperar provavelmente menor rigidez na parede abdominal onde este tipo de tela fosse posicionada e, talvez, maior recidiva da hérnia após o tratamento cirúrgico.

Em todos os outros itens, no grupo C encontraram-se resultados intermediários, com processo inflamatório menor do que a tela de polipropileno + poliglactina e maior do que a tela de polipropileno. Concomitantemente, houve maior deposição de colágeno em relação ao grupo B ($p > 0,05$) e menor em relação ao grupo A ($p < 0,05$).

Parece não haver controvérsias em relação à aplicabilidade da tela de polipropileno + titânio na cirurgia da correção das hérnias, especialmente inguinais. Existem, entretanto, dúvidas sobre o real benefício trazido pelas mesmas, embora a menor reação inflamatória tecidual no hospedeiro possa implicar em menos complicações precoces no pós-operatório.

A menor reação inflamatória e a maior deposição de colágeno no 40°DPO° foram encontradas no grupo de animais nos quais foi implantada a tela convencional de

polipropileno de fabricação nacional. Estes resultados autorizam, pelo menos temporariamente, a continuidade do seu implante pelos cirurgiões do país.

Quando se buscam na literatura estudos sobre o implante de telas em reparos cirúrgicos de hérnias, observa-se a falta de padronização dos mesmos, inclusive em termos de nomenclatura⁽⁶⁴⁾. Em pesquisas realizadas em humanos, especialmente sobre o tema hérnia incisional, há diferentes materiais⁽⁶⁸⁾, vias de acesso, posicionamento e tamanho dos implantes, parâmetros avaliados, período de acompanhamento.⁽⁶⁹⁻⁷²⁾ Há divergências até sobre o emprego de antibioticoterapia.⁽⁷³⁻⁷⁵⁾ Acontecem modificações, com a introdução de novos tipos de telas e dosagem de novas substâncias relacionadas à resposta inflamatória de cada tela numa velocidade espantosa, inclusive sem estudos experimentais prévios.⁽⁷⁶⁻⁷⁹⁾ Notam-se também, em trabalhos experimentais, variações em relação aos animais empregados, tipo e posicionamento de tela, tempo e parâmetros de pós-operatório analisados.^(37-40,80)

Diante do exposto no parágrafo anterior, não parecem surpreender a diversidade de resultados entre estudos e a falta de consenso sobre o assunto. Até porque os variados aspectos do tema “hérnia com tela” possibilitam sua divisão em inúmeras linhas de pesquisa tais como reação inflamatória, meios de fixação, posicionamento em relação às fáscias da parede abdominal e à cavidade peritoneal, vias de acesso (convencional x laparoscópico), complicações precoces e tardias etc. Há muito ainda a ser desvendado sobre um assunto aparentemente banal, cuja complexidade só se reconhece à medida que são aprofundados os estudos, e cuja importância na prática médica é revelada diariamente ao cirurgião.

Num futuro próximo, poder-se-iam realizar diversos estudos visando continuar a avaliação da resposta inflamatória decorrente da aposição de telas nas cirurgias das hérnias:

- Relação de marcadores inflamatórios no tecido (método possivelmente de execução mais fácil) com a reação inflamatória e à deposição do colágeno. Há, provavelmente, alguma relação entre os diferentes mediadores, o tipo e a intensidade da inflamação e a síntese do colágeno.

- Comparação com outras telas do mercado, especialmente àquelas as quais possuem material de absorção mais tardia em sua composição.


- Comparação entre as diferentes etapas do processo inflamatório em cada tela.
- Ensaio clínico com dosagens séricas e no fluido drenado de marcadores inflamatórios em diferentes momentos, avaliação de complicações precoces e tardias, em vários tipos de tela, especialmente a taxa de recidiva.

6 CONCLUSÕES

- 1 Neste estudo, não houve diferenças significativas nas dosagens de citocinas entre os grupos, no período de tempo considerado.
- 2 A reação inflamatória tecidual tardia (40°DPO) foi mais intensa nos animais onde se utilizou a tela de polipropileno + poliglactina de baixa densidade e menor naqueles onde se empregou a tela de polipropileno de alta densidade.
- 3 Houve maior deposição de colágeno no grupo de implante da tela de polipropileno e menor no da tela de polipropileno + poliglactina.
- 4 A tela de polipropileno + titânio apresentou valores intermediários em relação às demais, exceto no parâmetro reação inflamatória no tecido do hospedeiro, onde apresentou menor pontuação.

5 ANEXOS

Anexo 1 – Aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa da UNIFESP (1).

	<p>Universidade Federal de São Paulo Escola Paulista de Medicina</p>	<p>Comitê de Ética em Pesquisa Hospital São Paulo</p>
---	--	---

São Paulo, 18 de maio de 2007
CEP 0285/07

Ilmo(a). Sr(a).
Pesquisador(a) CRISTINA GAMA MATOS PEREIRA
Co-Investigadores: Marcelo Moura Linhares (orientador)
Disciplina/Departamento: Gastroenterologia Cirúrgica/Cirurgia da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo
Patrocinador: Recursos Próprios.

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: **"Estudo experimental comparativo das telas de polipropileno, polipropileno + poliglactina e polipropileno + titânio: marcadores inflamatórios e alterações histológicas"**.

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: Experimental, categoria C.

RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: não se aplica.

OBJETIVOS: Avaliar a resposta inflamatória e reações teciduais, provocadas no hospedeiro pela implantação, na parede abdominal, de tela de polipropileno, polipropileno + poliglactina e polipropileno + titânio..

RESUMO: estudo com ratos. Anestésico: ketamina/xilazina. Eutanásia: dose letal de ketamina. Serão utilizados 60 ratos Lewis, distribuídos em 3 grupos: A–após retirada de fragmento de aponeurose anterior do reto abdominal, será posicionada tela constituída de polipropileno em substituição ao defeito criado. No grupo B será posicionada tela de poros grandes constituída de polipropileno e poliglactina. No grupo C será utilizada tela de poros grandes de polipropileno, revestida de titânio. Serão realizadas dosagens séricas de VEGF, interleucina 1, interleucina 6 , proteína C reativa e leucócitos, no pré operatório e nos dias 1,3 e 5 do pós operatório. No 30º dia de pós operatório, os animais serão submetidos a eutanásia, retirando-se fragmento central da área de onde foi fixada a prótese, com tecido subcutâneo, tela e musculatura. O material será analisado microscopicamente, quanto ao processo inflamatório e colágeno tipo I e III..

FUNDAMENTOS E RACIONAL: Estudo fundamentado, visando avaliar as alterações histológicas da resposta inflamatória provocada pela implantação de tela de polipropileno associada a poliglactina ou titânio..

MATERIAL E MÉTODO: Estão descritos os procedimentos a serem realizados.

DETALHAMENTO FINANCEIRO: sem financiamento externo - R\$ 40722,00.

CRONOGRAMA: 24 meses.

OBJETIVO ACADÊMICO: mestrado.


ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: 17/5/2008 e 17/5/2009.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU e APROVOU** o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.


Rua Botucatu, 572 - 1º andar – conj. 14 - CEP 04023-062 - São Paulo / Brasil
Tel.: (011) 5571-1062 - 5539.7162

Anexo 2 – Aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa da UNIFESP (2).

	<i>Universidade Federal de São Paulo Escola Paulista de Medicina</i>	<i>Comitê de Ética em Pesquisa Hospital São Paulo</i>
---	--	---

3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,




Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo

CTEP 0285/07

Rua Botucatu, 572 - 1º andar – conj. 14 - CEP 04023-062 - São Paulo / Brasil
Tel.: (011) 5571-1062 - 5539.7162

Anexo 3 – Auxílio à Pesquisa da FAPESP (1).


FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

São Paulo, 28 NOV. 2007
Ilmo(a). Sr(a).
Prof(a). Dr(a). MARCELO MOURA LINHARES

Ref. Proc.: 07/57100-6

Prezado(a) Sr(a).:

Comunicamos a V.Sa. que esta Fundação aprovou, no processo acima referido, a concessão de auxílio.

O Termo de Outorga, com as condições financeiras aprovadas, está sendo preparado, cabendo-nos informar que alguns dos itens orçamentários podem não ter sido aprovados ou aprovados com valores inferiores aos solicitados.

Cabe ressaltar que, após assinatura do contrato, solicitações de aditivos ao orçamento aprovado somente são analisadas se encaminhadas juntamente com os relatórios científicos previstos. Solicitações encaminhadas fora dessas ocasiões apenas são analisadas, em caráter excepcional, se ficar demonstrado que os itens e valores orçamentários em questão não poderiam ter sido previstos no momento da assinatura do termo de outorga ou da apresentação dos relatórios científicos anteriores.

A assinatura do Termo de Outorga e aceitação do auxílio equivale ao reconhecimento, por parte do pesquisador responsável, de que os recursos concedidos pela FAPESP são suficientes, salvo circunstâncias imprevisíveis, para viabilizar a realização do projeto. Por essa razão, recomenda-se aos pesquisadores que somente assinem o Termo de Outorga após terem se certificado de que os itens e valores do orçamento aprovado pela FAPESP sejam nas circunstâncias previsíveis suficientes para garantir plenamente o bom desenvolvimento do projeto em questão. Não havendo essa certeza, recomenda-se ao pesquisador que não assine o Termo e apresente imediatamente um pedido de reformulação do orçamento aprovado, devidamente fundamentado, que será analisado pela Assessoria da FAPESP.

Solicitamos que aguarde convocação da FAPESP para assinatura do respectivo Termo.

Observações constantes do despacho:

Atenciosamente,

Carlos Henrique de Brito Cruz
Diretor Científico

Parecer em anexo

Despacho original assinado pelo Diretor Científico

RUA PIO XI, 1500 - CEP 05468-901 - SÃO PAULO - SP - TEL.: 11 3838.4000 - FAX: 11 3645-2383 - e-mail: expedientec@fapesp.br

Anexo 4 - Modelo da ficha clínica de cada animal.

ESTUDO EXPERIMENTAL COMPARATIVO ENTRE AS TELAS DE POLIPROPILENO, POLIPROPILENO + POLIGLACTINA E POLIPROPILENO + TITÂNIO: MEDIADORES INFLAMATÓRIOS E ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO COLÁGENO

FORMULÁRIO – IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS

ANIMAL _____ PESO _____ IDADE _____

DATA CIRURGIA _____ DATA REINTERVENÇÃO _____

PRÉ-OPERATÓRIO IMEDIATO

VEGF _____ TNFa _____ IL1 _____ IL6 _____

1º DPO

VEGF _____ TNFa _____ IL1 _____ IL6 _____

4º DPO

VEGF _____ TNFa _____ IL1 _____ IL6 _____

40º DPO

VEGF _____ TNFa _____ IL1 _____ IL6 _____

ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS

PREOP _____

_____ 4oDPO _____

OBS

Anexo 5 – Planilha Excel: resultados da análise das reações inflamatória (por itens de A-F, com médias) nos animais dos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + titânio) e C (polipropileno + poliglactina).

A1.1	A1	B3	C2	D3	2.25 média	9 soma	grupo A	E2	F4	2.36 Media Geral
A2.1	2	2	2	2	2.00	8	2.05	2	4	
A3.1	1	3	2	2	2.00	8		2	4	
A4.1	2	3	2	2	2.25	9		2	3	
A5.1	2	2	3	2	2.25	9		2	4	
A1.2	1	3	2	1	1.75	7		2	3	
A2.2	1	2	2	2	1.75	7		2	4	
A3.2	ob	ob	ob	ob	ob	ob		ob	ob	
A4.2	2	2	3	2	2.25	9		2	2	
A5.2	1	3	2	2	2.00	8		2	2	
B1.1	2	3	4	3	3.00	12	grupo B	4	3	3.24
B2.1	3	3	4	3	3.25	13	3.07	4	3	
B3.1	2	4	4	3	3.25	13		4	2	
B5.1	2	4	3	2	2.75	11		3	3	
B1.2	2	4	4	3	3.25	13		3	4	
B2.2	2	3	3	3	2.75	11		4	3	
	3	4	4	4	3.75	15		4	S	
B4.2	1	3	2	2	2.00	8		4	S	
B5.2	2	3	4	4	3.25	13		4	4	
C1.1	2	2	3	3	2.25	10	grupo C	3	1	2.61
C2.1	2	2	3	3	2.25	10	2.37	4	4	
C3.1	2	2	2	2	2.00	8		3	2	
C4.1	2	3	4	4	3.25	13		4	2	
C5.1	1	2	2	2	1.75	7		3	1	
C1.2	1	4	2	2	2.25	9		3	1	
C2.2	2	2	3	3	2.25	10		4	4	
C3.2	2	2	3	2	2.25	9		3	3	
C4.2	2	3	3	2	2.25	10		4	3	
C5.2	2	2	3	2	2.25	9		3	2	

Anexo 6 – Quadro: resultados da análise morfométrica do colágeno (*Image Tool*) nos animais dos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + titânio) e C (polipropileno + poliglactina).

	Black Count	White Count	Black %	White %	Mean	297343,11	41344,89
	87,79	12,21	Std. Dev. 13197,20	13197,20	3,90	3,90	
	BLACK	WHITE	BLACK	WHITE			
A1.1	294043	44645	86,82%	13,18%			
A2.1	308052	30636	90,95%	9,05%			
A3.1	287580	51108	84,91%	15,09%			
A4.1	271340	67348	80,12%	19,88%			
A5.1	292488	46200	86,36%	13,64%			
A1.2	312222	26466	92,19%	7,81%			
A2.2	294536	44152	86,96%	13,04%			
A4.2	311074	27614	91,85%	8,15%			
A5.2	304753	33935	89,98%	10,02%			
	Black Count	White Count	Black %	White %	Mean	315899,50	
	22788,50	93,27	6,73	Std. Dev. 10230,50	10230,50	3,02	3,02
	BLACK	WHITE	BLACK	WHITE			
B1.1	321627	17061	94,96%	5,04%			
B2.1	315843	22845	93,25%	6,75%			
B3.1	323592	15096	95,54%	4,46%			
B4.1	314709	23979	92,92%	7,08%			
B5.1	323022	15666	95,37%	4,63%			
B1.2	319106	19582	94,22%	5,78%			
B2.2	303194	35494	89,52%	10,48%			
B3.2	318436	20252	94,02%	5,98%			
B4.2	326220	12468	96,32%	3,68%			
B5.2	293246	45442	86,58%	13,42%			
	Black Count	White Count	Black %	White %	Mean	308510,70	26312,70
	92,13	7,87	Std. Dev. 15755,75	10147,37	3,01	3,01	
	BLACK	WHITE	BLACK	WHITE			
C1.1	274204	25838	91,39%	8,61%			
C2.1	322867	15821	95,33%	4,67%			
C3.1	298196	40492	88,04%	11,96%			
C4.1	315907	22781	93,27%	6,73%			
C5.1	321379	17309	94,89%	5,11%			
C1.2	311575	27113	91,99%	8,15%			
C2.2	302560	36128	89,33%	10,67%			
C3.2	316951	21737	93,58%	6,42%			
C4.2	296618	42070	87,58%	12,42%			
C5.2	324850	13838	95,91%	4,09%			

Anexo 7 – Planilha Excel: resultados das dosagens de IL1 β , TNF α e VEGF nos animais dos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + titânio) e C (polipropileno + poliglactina) em D0, D1,D4 e D40.

A1.1	8.255	3.406	out	out	1.047	0.841	1.145	0.946	1.066	0.111	0.627	out
A2.1	out	4.706	out	out	0.946	1.097	0.729	0.894	out	out	out	8.067
A3.1	1.648	3.231	out	out	1.330	1.239	1.330	0.894	0.770	1.497	out	0.111
A4.1	out	out	out	out	2.216	1.755	0.729	0.946	0.237	out	out	out
A5.1	out	out	out	out	2.502	2.289	2.289	0.946	out	out	out	0.770
A1.2	7.014	1.387	out	out	1.047	1.047	1.047	1.045	0.015	out	out	out
A2.2	out	out	out	out	0.946	0.786	1.047	1.047	out	out	out	out
A3.2	2.458	1.047	out
A4.2	out	3.458	out	out	0.729	1.145	0.611	0.611	0.770	out	out	out
A5.2	out	out	out	7.188	2.067	2.641	3.663	1.145	0.509	2.418	3.145	1.966
média A	1.937	1.798	out	0.798	1.387	1.426	1.398	0.941	0.336	0.447	0.419	1.212
B1.1	out	out	out	out	1.047	0.611	0.337	out	0.015	out	65.323	out
B2.1	1.965	out	0.549	out	0.946	1.047	1.419	0.946	out	out	out	out
B3.1	out	out	out	out	1.145	1.239	1.047	0.729	0.237	7.024	1.652	1.966
B4.1	14.869	5.903	out	out	1.591	0.946	1.047	0.671	2.580	1.066	1.966	4.839
B5.1	out	3.231	out	out	1.145	0.729	0.841	0.337	1.966	out	out	out
B1.2	out	2.519	out	out	1.330	1.330	1.507	0.157	out	2.743	out	out
B2.2	out	out	out	out	1.145	0.946	1.047	0.611	out	out	out	0.237
B3.2	out	3.694	8.865	out	1.145	0.729	1.506	0.611	out	out	out	out
B4.2	out	out	0.697	out	1.330	0.946	1.145	4.799	0.237	2.418	2.580	0.770
B5.2	out	7.994	2.006	2.579	0.841	0.997	2.327	1.232	1.343	0.627	0.798	2.136
média B	1.683	2.334	1.211	0.257	1.197	0.952	1.222	1.009	0.637	1.387	7.231*	0.994
medsB1.1											0.699	
C1.1	0.395	0.316	1.062	0.492	1.232	1.490	2.669	1.653	out	out	0.194	out
C2.1	5.478	5.092	2.308	3.159	0.949	1.045	1.575	1.653	out	0.194	2.815	2.136
C3.1	3.973	1.932	1.749	0.395	14.361	1.573	1.573	1.045	2.136	4.764	3.140	2.136
C4.1	4.669	3.698	1.535	4.039	1.888	1.810	2.111	1.045	0.194	0.963	out	2.815
C5.1	6.265	5.638	9.462	7.731	0.847	1.232	6.350	2.038	2.637	3.507	...	0.963
C1.2	6.430	1.208	1.969	0.681	1.888	1.733	1.045	1.045	out	out	2.136	0.560
C2.2	16.553	11.558	6.265	0.945	1.888	2.327	1.733	0.949	...	4.915	0.636	out
C3.2	3.931	7.633	4.340	3.803	1.810	1.140	1.232	1.733	1.134	out	out	1.440
C4.2	2.081	1.141	out	out	2.734	1.140	1.653	1.733	3.869	out	out	3.687
C5.2	out	out	out	out	1.733	2.734	25.506	out	out	out	out	out
média C	4.977	3.821	2.869	2.124	2.933	1.622	4.544	1.369	1.107	1.434	0.991	1.373

Anexo 7 – Planilha Excel: resultados das dosagens de IL6 nos animais dos grupos A (polipropileno), B (polipropileno + titânio) e C (polipropileno + poliglactina) em D0, D1, D4 e D40.

IL6				
	DO	D1	D4	DT
A1.1	5.86	31.28	36.40	<4.88
A2.1	49.43	526.52	<4.88	21.25
A3.1	<4.88	<4.88	<4.88	87.26
A4.1	76.29	241.86	<4.88	3.07
A5.1	258.34	201.79	510.64	188.56
A1.2	22.49	1.96	<4.88	<4.88
A2.2	18.80	21.25	<4.88	<4.88
A3.2	21.25
A4.2	13.97	48.11	<4.88	<4.88
A5.2	256.84	276.42	386.70	44.18
média A	70.45	149.91	103.75	38.26
aumento	1X	2.13X	1.47X	0.54X
B1.1	4.75	<4.88	6.98	<4.88
B2.1	11.60	169.59	20.02	106.72
3.1	21.25	<4.88	<4.88	358.86
B4.1	4051.35	416.26	345.01	499.56
B5.1	44.18	20.02	358.86	406.90
B1.2	0.88	37.69	<4.88	<4.88
B2.2	91.40	<4.88	<4.88	<4.88
B3.2	95.56	1665.19	2393.30	<4.88
B4.2	<4.88	<4.88	4.75	50.75
B5.2	4.75	28.21	2.70	208.72
média B	432.57	233.70	313.16	163.15
medsB4.1	30.49	213.4	309.62	125.77
aumento	1X	6.99X	10.15X	4.12X
C1.1	<4.88	13.284	1085.25	<4.88
C2.1	<4.88	<4.88	...	326.13
C3.1	12017.11	...	326.13	771.15
C4.1	11.11	40.72	<4.88	71.85
C5.1	1078.60	625.89	109.08	10.227
C1.2	44.71	48.67	...	47.51
C2.2	40.72	6.35	22.16	6.35
C3.2	2.70	<4.88	<4.88	48.67
C4.2	5005.46	4201.15	1289.39	236.47
C5.2	1446.75	719.05	32.61	<4.88
média C	1964.72	...	358.05	155.44
medsC3.1	847.78	1892.58	362.61	87.02
aumento	1X	2.23X	0.43X	0.10X

8 – REFERÊNCIAS

1. Derek AD, Wang X, Adamson B, Kuzon Jr WM, Dennis RG, Franz MG. Mesh incisional herniorrhaphy increases abdominal wall elastic properties: A mechanism for decreased hernia recurrences in comparison with suture repair. *Surg.*2006;140(1):14-24.
2. Lawson-Smith MJ, Galland RB. Combined fascia and mesh repair of incisional hernias. *Hernia* 2006;10:262-5.
3. Junge K, Junge U, Klosterhalfen B, Mertens PR, Rosch R, Schchtrupp A, Ulmer F, Schumpelik V . Influence of mesh materials on collagen deposition in a rat model. *J Inv Surg.*2002;15:319-28.
4. Derek AD, Wang X, Kirk S, Adamson B, Robson MC, Franz MG. Fascial fibroblast kinetic activity in increased during abdominal wall repair compared to dermal fibroblasts. *Wound Repair and Regeneration* 2004;12(5):539-45.
5. Derek AD, Wang X, Kuhn A, Robson MC, Franz MG. The prevention of incisional hernia formation using a delayed-release polymer of basic fibroblast growth factor. *Ann Surg.*2004;240:179-86.
6. Di Vita G, Patti R, D'Agostino P, Ferlazzo V, Angileri M, Sieli G, Buscemi S, Caruso G, Arcara M, Cillari E. Modifications in the production of cytokines and growth factors in drainage fluids following mesh implantation after incisional hernia repair. *Am J Surg.*2006;191(6):785-90.
7. Whitte MB, Barbul A. General principles of wound healing. *Surg Clin N Am.* 1997;77(3):509-28.
8. Cobb WS, Peindl RM, Zerey M, Carbonell AM, Heniford BT. Mesh terminology 101. *Hernia.* 2009;13(1):1-6.
9. Gonzalez R, Fugate, McClusky D, Ritter EM, Lederman A, Dillehay D, Smith CD, Ramshaw BJ. Relationship between tissue ingrowth and mesh contraction. *World J. Surg.* 2005;29:1038-43.
10. Di Vita G, D'Agostinho P, Patti R, Arcara, Caruso G, Davi, Cillari E . Acute inflammatory response after inguinal and incisional hernia repair with implantation of polypropylene mesh of different size. *Langenbecks Arch Surg.* 2005;390:306-11.

11. Langer C, Liersh T, Kley C, Flosman M, Suss M, Siemer A, Becker H. Incisional hernia surgery in Germany. *Chirurg*. 2003;74(7):638-45.
12. Vyslouzil K, Klementa I, Stary L, Duda M, Zboril P, Skalicky P, Dlouhy M. The intraabdominally located mesh in the laparotomy management of major hernias. *Rozhl Chir*. 2005;84(6):310-313.
13. Di Vita G, Patti R, DAgostinho P, Arcoleo F, Caruso G, Arcara M, Davi V, Cillari E. Serum VEGF and b-FGF profiles after tension-free or conventional hernioplasty. *Langenbecks Arch Surg*. 2005;390:528-533.
14. Sedov VM, Tarbaev SD, Gostevskoi AA, Gorelov AS. Effectiveness of hernioplasty with using a polypropylene mesh implant in treatment of postoperative ventral hernias. *Vestn Khir Im I I Grek*. 2005;164(3):85-7.
15. Vyslouzil K, Klementa I, Stary L, Duda M, Zboril P, Skalicky P, Dlouhy M. The intraabdominally located mesh in the laparotomy management of major hernias. *Rozhl Chir*. 2005;84(6):310-3.
16. Vaz M, Krebs RK, Trindade EN, Trindade MR. Fibroplasia after polypropylene mesh implantation for abdominal wall hernia repair in rats. *Acta Cir Bras*. 2009 Jan-Feb;24(1):19-25.
17. Weyhe D, Belyaev O, Muller C, Meurer K, Bauer K, Papapstolou G, Uhl W. Improving outcomes in hernia repair by the use of the light meshes – a comparison of different implant constructions based on a critical appraisal of the literature. *World J Surg*. 2007;31:234-44.
18. Klosterhalfen B, Junge K, Klinge U. The lightweight and large porous mesh concept for hernia repair. *Expert Rev Med Devices*. 2005;2(1):103-17.
19. Burger JW, Halm JA, Wijsmuller AR, Raa S, Jeekel J. Evaluation of a new prostectic meshes for ventral hernia repair. *Surg Endosc*. 2006;20(8):1320-5.
20. Junge K., Rosch R, Kllinge U, Saklak M, Klosterhalfen B, Peiper C, Schumpelick V. Titanium coating of a polypropylene mesh for hernia repair: effect on biocompatibility. *Hernia*. 2005;9(2):115-9.
21. Tamme C, Garde N, Klinger A, Wunder R, Kockerking F. Totally extraperitoneal inguinal hernioplasty with titanium-coated polypropylene mesh : early results. *Surg Endosc*. 2005;19(8):1125-9.

22. Horstmann R, Hellwig M, Classen C, Rottgermann S, Palmes D. Impact of polypropylene amount on functional outcome and quality of life after inguinal hernia repair by TAPP procedure using pure, mixed, and titanium-coated meshes. *World J Surg.* 2006;30:1-8.
23. Karayiauraki A, Zlar A, Polychronidis A, Simopoulos C. Serum and drainage fluid vascular endothelial factor levels in early surgical wounds. *Eur Surg Res.* 2003;35:492-6.
24. Robson MC, Derek AD, Wang X, Franz MG. Effect of cytokine growth factors on the prevention of acute wound failure. *Wound Rep Reg.* 2003;12(1):38-43.
25. Korenkov M, Yucel N, Koebke J, Schierholz J. Local administration of TGF- β 1 to reinforce the anterior abdominal wall in a rat model of incisional hernia. *Hernia.* 2005;9:252-8.
26. Arbós MA, Ferrando JM, Vidal J, Quiles MT, Huguet P, Castells J, Segarra, Armengol M, Schwartz S. Early effects of exogenous arginine after the implantation of prosthetic material into the rat abdominal wall. *Life Sciences.* 2000;67:2493-512.
27. Costello CR, Bachman SL, Ramshaw BJ, Grant SA. Materials characterization of explanted polypropylene hernia meshes. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2007 Oct;83(1):44-9.
28. White TJ, Santos MC, Thompson JS. Factors affecting wound complications in repair of ventral hernias. *Am Surg.* 1998;64(3):276-80.
29. Klinge U, Conze J, Carsten JK, Schumpelick V. Incisional hernia: open techniques. *World J Surg.* 2005;29:1066-72.
30. Birolini C, Mazzuchi E, Utiyama EM, Nahas W, Rodrigues AJ, Arap S, Birolini D. Prosthetic repair of incisional hernia in kidney transplant patients. A technique with onlay polypropylene mesh. *Hérnia.* 2001;5(1):31-5.
31. Ahmad M, Niaz WA, Hussain A, Saeeuddin A. Polypropylene mesh repair of incisional hernia. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2003;13(8):440-2.
32. Klinge U, Klosterhalfen B, Birkenhauer V, Junge K, Conze J, Schumpelick V. Impact of Polymer Pore Size on the Interface Scar Formation in a Rat Model *J Surg Res.* 2002;103(2): 208-14.

33. 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.
34. Weyhe D, Hoffmann P, Belyaev O, Mros K, Muller C, Uhl W, Schmitz F. The role of TGF-beta1 as a determinant of foreign body reaction to alloplastic materials in rat fibroblast cultures: comparison of different commercially available polypropylene meshes for hernia repair. *Regul Pept.* 2007 Jan 10;138(1):10-4.
35. Post S, Weiss B, Willer M, Neufang T, Lorenz D. Randomized clinical trial of lightweight composit mesh for Lichtenstein inguinal hernia repair. Annual Congress 2002 of the German Surgical Society;2002 May, Berlin, Germany..
36. O'Dwyer PJ, Kingsnorth AN, Molloy RG, Small PK, Lammers B, Hieryseck G . Randomized clinical trial assessing impact of a lightweight or heavyweight mesh on chronic pain after inguinal hernia repair. *Br J Surg.* 2005;92(2):166-70.
37. Ferrando JM, Vidal J, Armengol M, Gil J, Manero JM, Huguet P, Segarra A, Quíles MT, Scharz S, Arbós I, Via M. Experimental Evaluation if a new layered prosthesis exhibiting a low tensile modulus of elasticity: long-term integration response within the rat abdominal wall. *World J Surg.* 2002;26:409-15.
38. Goldenberg A, Matone J, Marcondes W, Herbella FAM, Farah JFM. Comparative study of inflammatory response and adhesions formation after fixation of different meshes for inguinal h ernia repair in rabbits. *Acta Cir Bras.* 2005;20(5):347-52.
39. Weyhe D, Schmitz I, Belyaev O, Muller KM, Uhl W, Zumtobel V. Experimental comparison of monofile light and heavy polypropylene meshes: less weight does not mean less biological response. *World J Surg.* 2006;30:1566-91.
40. Pascual G, Rodr guez M, Gomez-Gil V, Garc a-Honduvilla N, Buj n J, Bell n JM. Early tissue incorporation and collagen deposition in lightweight polypropylene meshes: bioassay in an experimental model of ventral hernia. *Surgery.* 2008 Sep;144(3):427-35
41. Di Vita G, Patti R, Sparacello M, Balistreri CR, Candore G, Caruso C. Impact of different texture of polypropylene mesh on the inflammatory response. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2008 Jan-Mar;21(1):207-14.

42. Harrell AG, Novitky YW, Kercher KW, Foster M, Burns JM, Kuwada TS, Heniford BT. In vitro infectability of prosthetic mesh by methicilin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Hernia*. 2006;10(2):120-4.
43. Harrell AG, Novitsky YW, Cristiano JA, Gersin KS, Norton HJ, Kercher KW, Heniford BT. Prospective histologic evaluation of intra-abdominal prosthetics four months after implantation in a rabbit model. *Surg Endosc*. 2007 Jul;21(7):1170-4.
44. Chatzimavroudis G, Koutelidakis I, Papaziogas B, Tsaganos T, Koutoukas P, Giamarellos-Bourboulis E, Atmatzidis S, Atmatzidis K. The effect of the type of intraperitoneally implanted prosthetic mesh on the systemic inflammatory response. *Hernia*. 2008 Jun;12(3):277-83.
45. Schreinemacher MH, Emans PJ, Gijbels MJ, Greve JW, Beets GL, Bouvy ND. Degradation of mesh coatings and intraperitoneal adhesion formation in an experimental model. *Br J Surg*. 2009 Mar;96(3):305-13.
46. Gianlupi A, Trindade MRM. Comparação entre o uso de fio inabsorvível (polipropileno) e fio absorvível (poliglactina 910) na fixação de prótese de polipropileno em correção de defeitos músculo-aponeuróticos da parede abdominal. Estudo experimental em ratos. *Acta Cir Bras*. 2004;19(2):94-102.
47. Memisoglu K, Saribeyoglu K, Pekmez S, Karahasanoglu T, Sen B Bayrak I, Arbak S, Sirvand S. Mesh fixation devices and formation of intraperitoneal adhesions. *J Laparoendosc Adv Surg Tech*. 2006;16(5):439-44.
48. Goodeny PP, Birkmeyer CM, Birkmeyer JD. Short-term outcome of laparoscopic and open ventral hernia repair. *Arch Surg*. 2002;137(10):1161-5.
49. Pitrez FAB. Eventrações lombares: revisão tardia de 20 pacientes. *Rev Col Bras Cir*. 2006;33(1):2-5.
50. Eriksen JR, Poornorozy P, Jørgensen LN, Jacobsen B, Friis-Andersen HU, Rosenberg J. Pain, quality of life and recovery after laparoscopic ventral hernia repair. *Hernia*. 2009;13(1):13-21.
51. Champoult G, Polliand C, Dufour F, Zioli M, Behr L. A "self adhering" prosthesis for hernia repair: experimental study. *Hernia*. 2009;13(1):49-52.

52. Freudenberg S, Sano D, Ouangré E, Weiss C, Wilhelm TJ. Commercial mesh versus nylon mosquito net for hernia repair. A randomized double-blind study in Burkina Faso. *W J Surg.* 2006;30(10):1784-9.
53. Rosin D. Re:"Commercial Mesh vs. Nylon Mosquito Net for Hernia Repair. A Randomized double-blind Study in Burkina Faso" Invited commentary. *World J Surg.* 2006;30(10):1790.
54. Grupta A, Zahriya K, Mullens PL, Salmassi S, Keshishian A. Ventral herniorraphy: experience with two different biosynthetic mesh materials, Surgisis and Alloderm. *Hernia.* 2006;22:419-25.
55. Ott R, Hartwig T, Tannapfel A, Blatz R, Rodoloff AC, Madaj-Sterba P, Mobius C, Kockeling F. Biocompatibility of bacterial contaminated prosthetic meshes and porcine dermal collagen used to repair abdominal wall defects. *Langenbecks Arch Surg.* 2007;392(4):473-8.
56. Helton WS, Fisichella P, Berger R, Horgan S, Espat NJ, Abcarian H. Short-term outcomes with small intestinal submucosa for ventral abdominal hernia. *Arch Surg.* 2005;140:549-62.
57. Giesler JD, Reilly JC, Vaughan SC, Glennon EJ, Kondylis. Safety and outcome of use of nonabsorbable mesh for repair of fascial defects in the presence of open bowel. *Dis Colon & Rectum.* 2003;46(8):1118-23.
58. Vehof JW, Hauss MT, de Ruijter AE, Spauwen PH, Jansen JA. Bone formation in transforming growth factor beta-1-loaded titanium fiber mesh implants. *Clin Oral Implants Res.* 2002;13(1):94-102.
59. Joels CS, Matthews BD, Kercher KW, Austin C, Norton HJ, Williams TC, Heniford BT. Evaluation of adhesion formation, mesh fixation strength, and hydroxyproline content after intraabdominal placement of polytetrafluoroethylene secured using titanium spiral tacks, nitinol anchors, and polypropylene suture or polyglactin 910 suture. *Surg Endosc.* 2005;19(6):780-5.
60. Schug-Pass C, Tamme C, Tannapfel A, Kockerling F. A lightweight polypropylene mesh (Timesh) for laparoscopic intraperitoneal repair of abdominal wall hernias: comparison of biocompatibility with the DualMesh in an experimental study using the porcine model. *Surg Endosc.* 2006;20(3):402-9.

61. Schug-Pass C, Sommerer F, Tannapfel A, Lippert H, Köckerling F. Does the additional application of a polylactide film (SurgiWrap) to a lightweight mesh (TiMesh) reduce adhesions after laparoscopic intraperitoneal implantation procedures? Experimental results obtained with the laparoscopic porcine model. *Surg Endosc.* 2008;22(11):2433-9.
62. Scheidbach H, Tamme C, Tannapfel A, Lippert H, Köckerling F. In vivo studies comparing the biocompatibility of various polypropylene meshes and their handling properties during endoscopic total extraperitoneal (TEP) patchplasty: an experimental study in pigs. *Surg Endosc.* 2004 Feb;18(2):211-20.
63. Ten Hallers EJ, Jansen JA, Marres MA, Rakhorst G, Verkerke GJ. Histological assessment of titanium and polypropylene fiber mesh implantation with and without fibrin tissue glue. *J Biomed Mater Res A.* 2007;80(2):372-80.
64. Corcine F, Cuccurullo D. Teaching and learning in abdominal wall surgery: where are we going? *Hernia.* 2009;13(1):101-2.
65. Mazzurana M. Avaliação da expressão da HSP70, da deposição do colágeno e das células inflamatórias nas anastomoses intestinais de ratos hipovolêmicos [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo;2007.
66. I Schutte RJ, Xie L, Klitzman B, Reichert WM. In vivo cytokine-associated responses to biomaterials. *Biomaterials.* 2009 Jan;30(2):160-8.
67. Linkov F, Yurkovetsky Z, Lokshin A. Hormones as biomarkers: practical guide to utilizing luminex technologies for biomarker research. *Methods Mol Biol.* 2009;520:129-41.
68. Machairas A, Misiakos EP, Liakakos T, Karatzas G. Incisional hernioplasty with extraperitoneal onlay polyester mesh. *Am Surg.* 2004;70(8):726-9.
69. Tosato F, Montesano G, Vasapollo L, Paolini G, Scocchera F, Piraíno A, Palermo S, Marano S, corsini F, Tosato M, Paolini A. Surgery of large ventral hernias. Personal experience in 1990-1997. *Minerva Chir.* 2000;55(4):227-34.
70. Todd AP, Nam A, Orkin BA, Lin PP. Open, intraperitoneal, ventral hernia repair. *Arch Surg;*141(3):304-6.

71. Arvidsson D, Berndsen FH, Larsson LG, Leijonmarck CE, Rimback G, Smedberg S, Spangen L, Montgomery A. Randomized clinical trial comparing 5-year recurrence rate after laparoscopic versus Shoudice repair of primary inguinal hernia. *br J Surg*. 2005;92(9):1085-91.
72. Treviño JM, Franklin Jr ME, Berghoff JL, Jaramillo EJ. Preliminary results of a two-layered prosthetic repair for recurrent inguinal and ventral hernias combining open and laparoscopic techniques. *Hernia*. 2006;10:253-7.
73. Aufenacker TJ, Koelemay MJW, Gouma DJ, Simons MP. Systematic review and meta-analysis of the effectiveness of antibiotic prophylaxis in prevention of wound infection after mesh repair of abdominal wall hernia. *Br J Surg*. 2006;93(1):5-10.
74. Edwards C, Angstadt J, Whipple O, Grau R. Laparoscopic ventral hernia repair: postoperative antibiotics decrease incidence of seroma-related cellulitis. *Am Surg*. 2005;71(11):931-5.
75. Seema B . Elective inguinal hernia repair with mesh: is there a need for antibiotic prophylaxis? – A review. *W J Surg*. 2005;29(7):830-6.
76. Bellon JM, Bajo A, Ga-Honduvilla N, Gimeno MJ, Pascual G, Guenero A, Bujan J. Fibroblasts from the transversalis fascia of young patients with direct inguinal hernia show constitutive MMP-2 overexpression. *Annals of Surgery*. 2001;233(2):287-91.
77. Leroy JL, Mutter D, Forgive A, Inaue H, Vix M, Bayley C, Marescares J. The new 4DDome prosthesis: an original light and partially absorbable composite mesh for hernia repair. *Hérnia*. 2006;10(5):401-8.
78. Costello CR, Bachman SL, Grant SA, Cleveland DS, Loy TS, Ramshaw BJ. Characterization of heavyweight and lightweight polypropylene prosthetic mesh explants from a single patient. *Surg Innov*. 2007 Sep;14(3):168-76.
79. Clarke MG, Oppong C, Simmermacher R, Park H, Kurzer M, Vanotoo L, Kingsnorth NA. The use of sterilised polyester mosquito net mesh for inguinal hernia repair in Ghana. *Hernia*. 2009;13:155-9.
80. Cobb WS, Burns JM, Peindl RD, Carbonell AM, Matthews BD, Kercher KW, Heniford BT. Textile analysis of heavy weight, mid-weight, and light weight polypropylene mesh in a porcine ventral hernia model. *J Surg Res*. 2006;136(1):1-7.

ABSTRACT

Purpose: Incisional hernia occurs in approximately 11% of all laparotomies. Changes in collagen have been closely implicated in its pathogenesis. The high recurrence rate (45 to 54%) after primary suture has stimulated the development of meshes. Currently, meshes are the biomaterials implant group most used in medicine. This study aims to compare the serum and tissue inflammatory responses and collagen deposition caused by meshes made of polypropylene, polypropylene + polyglactin and polypropylene + titanium.

Methods: Thirty Wistar rats were divided into three groups. In group **A**, a high-density polypropylene mesh was positioned on the abdominal wall. In groups **B** and **C**, low-density meshes were used in associations with polyglactin and titanium, respectively. Immediately before the operation and on the first, third and fortieth postoperative days, pro-inflammatory cytokines were assayed. On the 40th postoperative day, the region of the inserted prosthesis was biopsied. Hematoxylin-eosin and Masson's trichrome colorations were used to value the tissue inflammatory reaction with a scale for objective scoring. The scale had six items: cellular layers in granulomas periphery, inflammatory response in host tissue, inflammatory response in the mesh surface, tissue ingrowth, granulomas and muscular invasion by the inflammatory reaction. For collagen, picrosirius was used with data reading using the Image Tool computer software. Statistics tools: *Kruskal Wallis* and *Dunn* tests (HE e Masson) and ANOVA with Bonferroni test (collagen and cytokines). **Results:** Cytokines: there were no statistically significant differences between the groups. Histology: on the 40th postoperative day in group **A**, there were fewer inflammatory tissue response and greater collagen deposition ($P < 0.01$). In group **B**, there were greater inflammatory tissue response and less collagen deposition ($P < 0.01$). Group **C** presented intermediate values between groups **A** and **B**. **Conclusions:** There were no significant differences in cytokine levels between the groups in the present study. In the animals with the polypropylene + polyglactin mesh implant there was the most intense inflammatory process with lower tissue maturation and collagen deposition on the 40th postoperative day. The polypropylene mesh presented a less severe late inflammatory process, with greater tissue maturation and collagen deposition. The polypropylene + titanium mesh presented intermediate values between the others.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- Rother ET e Braga MER. Como elaborar sua tese: estrutura e referências. 2ª ed. rev. e ampl. São Paulo, 2005.
- Dicionário Priberan da Língua Portuguesa [dicionário da Internet]. Lisboa: Priberan Informática; 1998 [acesso em julho de 2009]. Disponível em <http://www.priberan.pt/dlpo>.
- DeCS – Descritores em Ciências da Saúde [Biblioteca Virtual em Saúde]. Brasil; 2008 [acesso em julho de 2009]. Disponível em <http://decs.bvs.br/>.
- Lincoplex Kits [catálogo Lincoplex]. Millimore – Gênese. São Paulo: 2006.
- Pontes ACF, Corrente JE. Comparações múltiplas não-paramétricas para o delineamento com um fator de classificação simples. Rev. Mat. Estat. São Paulo. 2001;19:179-197.