

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA:
CIÊNCIAS CIRÚRGICAS

**COLÁGENOS TIPO I E III DA LINHA ALBA EM MULHERES COM DIÁSTASE DE
MÚSCULOS RETOS DO ABDOME**

ROSA MARIA BLOTTA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Orientador: Professor Doutor Manoel Roberto Maciel Trindade

Co-orientadora: Professora Doutora Luise Meurer

Porto Alegre

2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS CIRÚRGICAS

ROSA MARIA BLOTTA

**COLÁGENOS TIPO I E III DA LINHA ALBA EM MULHERES COM DIÁSTASE DE
MÚSCULOS RETOS DO ABDOME**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade Federal do Rio Grande do Sul para
obtenção do Título de Mestre em Medicina.

ROSA MARIA BLOTTA

Porto Alegre

2011

À minha família pelo apoio e carinho,
pela paciência e compreensão
pelas muitas vezes que me ausentei do convívio de todos
para a realização deste sonho.

*Não é tolo
aquele que larga o que não pode segurar,
para se apegar
àquilo que não pode perder.*

(Russell Shedd)

AGRADECIMENTOS

Ao **Doutor Manoel Roberto Maciel Trindade**, Professor Associado do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, orientador deste trabalho e que sempre me incentivou com seu entusiasmo científico.

À **Doutora Luise Meurer**, Professora Adjunta do Departamento de Patologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, co-orientadora deste trabalho, pela dedicação e orientações.

À Doutora Sirlei dos Santos Costa, pelo apoio e pela colaboração na execução deste trabalho.

A toda a equipe técnica do Laboratório de Patologia Experimental do Hospital de Clínicas de Porto Alegre pela colaboração durante o preparo das lâminas.

Ao Professor Doutor Mario Wagner pelo auxílio e pela orientação na análise dos dados estatísticos.

À Senhora Rosa Mesquita, bibliotecária da Biblioteca Professora Ruth de Souza Schneider da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela inestimável colaboração na revisão bibliográfica.

À Senhora Estela Maria Araripe, secretária do PPG em Medicina - Ciências Cirúrgicas, pelo carinho e paciência durante esta jornada.

A todos aqueles que, mesmo não nomeados, tornaram possível a realização deste trabalho e para isso colaboraram de alguma forma.

RESUMO

A heterogeneidade da linha média observada nas pacientes submetidas à dermolipectomia abdominal e os inúmeros estudos demonstrando a importância do colágeno na estrutura e força tênsil das aponeuroses, suscitaram o interesse em conhecer o índice dos colágenos tipo I e III da linha média. O objetivo deste trabalho é avaliar a quantidade dos colágenos tipo I e III de mulheres com e sem diástase de músculos retos do abdome, assim como identificar se existe diferença na proporção entre colágeno I e III nas aponeuroses da linha média entre os dois grupos. Métodos: Trata-se de um estudo de caso-controle aninhado a uma coorte incluindo 18 pacientes do sexo feminino com diástase de músculos retos do abdome e um grupo controle de 18 pacientes de mesmo gênero sem apresentar essa condição. Foram coletadas amostras da linha média 3cm acima e 2cm abaixo da cicatriz umbilical. As amostras foram submetidas a análise imuno-histoquímica utilizando anticorpos policlonais anticolágeno tipos I e III. Resultados: Nas mulheres com diástase de músculos retos do abdome, as quantidades de colágeno tipo I e III são menores de que naquelas sem essa condição, tanto nas amostras de aponeurose da linha alba obtidas acima da cicatriz umbilical quanto abaixo da mesma ($P < 0,001$). A proporção entre colágeno tipos I e III é menor nas mulheres com diástase de músculos retos do abdome nas amostras de aponeurose obtidas acima da cicatriz umbilical ($P < 0,001$), não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos com e sem diástase ($P = 0,110$) nas amostras obtidas abaixo da cicatriz umbilical. Conclusões: As menores quantidades de colágeno tipos I e III encontrados na aponeurose da linha média podem ser considerados importante fator na diástase dos músculos retos do abdome.

Palavras-chave: parede abdominal, linha alba, diástase de músculos retos do abdome, colágeno tipo I, colágeno tipo III.

ABSTRACT

Differences observed in the midline of the abdominal wall in patients undergoing abdominoplasty and evidence from a number of studies showing the importance of collagen to aponeurotic structures and tensile strength have raised interest in investigating the rates of type I and type III collagen in this anatomic region. The aim of this study was to assess the amount of type I and type III collagen in the linea alba of women with and without diastasis recti and to determine collagen type I/III ratio by comparing these two groups. This is a case-control study nested within a surgical cohort of 18 women with diastasis recti and a control group with 18 women without diastasis recti. Samples were collected from the midline of the abdominal wall three centimeters above and two centimeters below the umbilical scar. The samples were analyzed by immunohistochemistry using polyclonal antibodies to collagen type I and type III. The amount of collagen type I and type III was smaller in women with diastasis recti than in those without this condition in samples collected from the linea alba above and below the umbilical scar ($P < 0,001$). Collagen type I/III ratio was lower in women with diastasis recti in the samples collected above the umbilical scar ($P < 0,001$). However, there was no statistically significant difference between groups with and without diastasis recti in the samples collected below the umbilical scar ($P = 0,110$). The lower amount of collagen type I and III observed in the midline of the abdominal wall could be a factor in diastasis recti.

Keywords: abdominal wall, linea alba, diastasis recti, collagen type I, collagen type III.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Parede abdominal anterior: disseção superficial.	17
Figura 2 - Secção transversal da parede abdominal anterior mostrando a composição da bainha dos músculos retos do abdome: a) acima da linha arqueada; b) abaixo da linha arqueada.	17
Figura 3 - Afastamento dos músculos retos do abdome na linha média, sendo que as setas indicam os bordos internos desta musculatura.	21
Figura 4 - Molécula de colágeno: molécula em tríplice hélice formada pelo entrelaçamento de três cadeias alfa.	22
Figura 5 - Fibroblasto e elementos envolvidos na biossíntese do colágeno.	24
Figura 6 - Representação esquemática do delineamento da pesquisa	27
Figura 7 - Representação esquemática dos locais de medição da distância entre os bordos dos músculos retos do abdome (RA) para classificação segundo os critérios de Rath.	29
Figura 8 - Descolamento do retalho abdominal com exposição da camada musculoponeurótica da parede abdominal.	30
Figura 9 - Identificação dos bordos dos músculos retos do abdome.	30
Figura 10 - Detalhe do local de coleta das amostras.	30
Figura 11 - Sutura do local da coleta das amostras de linha alba com fio inabsorvível de mononylon.	31
Figura 12 - Plicatura da aponeurose dos músculos retos do abdome.	31
Figura 13 - Representação esquemática da obtenção do número de amostras.	32
Figura 14 - Representação esquemática da obtenção do número de imagens analisadas pela técnica de imuno-histoquímica. SU: supraumbilical, IU: infraumbilical, IHQ: coloração para imuno-histoquímica, col1: colágeno tipo I, col3: colágeno tipo III.	33
Figura 15 - Quantificação do colágeno a partir da imagem digitalizada, utilizando o Programa Aplicativo Image Pro-Plus, versão 3.1.	34
Figura 16: Fotomicrografia de corte histológico da aponeurose da linha alba supraumbilical, paciente sem diástase de músculos retos do abdome. Imuno-histoquímica (400x) – colágeno tipo I.	35
Figura 17 - Fotomicrografia de corte histológico da aponeurose da linha alba supraumbilical, paciente com diástase de músculos retos do abdome. Imuno-histoquímica (400x) – colágeno tipo I.	35

Figura 18 - Fotomicrografia de corte histológico da aponeurose da linha alba infraumbilical, paciente sem diástase de músculos retos do abdome. Imuno-histoquímica (400x) – colágeno tipo I.....	36
Figura 19 - Fotomicrografia de corte histológico da aponeurose da linha alba infraumbilical, paciente com diástase de músculos retos do abdome. Imuno-histoquímica (400x) – colágeno tipo I.....	36
Figura 20 - Fotomicrografia de corte histológico da aponeurose da linha alba supraumbilical, paciente sem diástase de músculos retos do abdome. Imuno-histoquímica (400x) – colágeno tipo III.....	37
Figura 21 - Fotomicrografia de corte histológico da aponeurose da linha alba supraumbilical, paciente com diástase de músculos retos do abdome. Imuno-histoquímica (400x) – colágeno tipo III.....	37
Figura 22 - Fotomicrografia de corte histológico da aponeurose da linha alba infraumbilical, paciente sem diástase de músculos retos do abdome. Imuno-histoquímica (400x) – colágeno tipo III.....	38
Figura 23 - Fotomicrografia de corte histológico da aponeurose da linha alba infraumbilical, paciente com diástase de músculos retos do abdome. Imuno-histoquímica (400x) – colágeno tipo III.....	38
Figura 24 - Gráficos de <i>boxplot</i> representando as diferenças entre os grupos com diástase (D) e sem diástase (s/D) para as seguintes variáveis: A: colágeno tipo I supraumbilical; B: colágeno tipo I infraumbilical; C: colágeno tipo III supraumbilical; D: colágeno tipo III infraumbilical.....	42
Figura 25 - Gráficos de <i>boxplot</i> representando as diferenças entre os grupos com diástase (D) e sem diástase (s/D) para as seguintes variáveis: A: razão colágeno tipo III/colágeno I supraumbilicais e B: razão colágeno tipo III/colágeno I infraumbilicais.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação de Pitanguy das deformidades estéticas abdominais e técnicas sugeridas para correção	19
Tabela 2: Classificação dos colágenos baseado na sua estrutura e organização supramolecular	23
Tabela 3: Comparação das variáveis idade, IMC e distância entre os músculos retos do abdome entre pacientes com e sem diástase desta musculatura	40
Tabela 4: Comparação do colágeno tipo I e III entre pacientes com e sem diástase de músculos retos do abdome	41
Tabela 5: Comparação da razão entre o colágeno tipo III e tipo I entre pacientes com e sem diástase de músculos retos do abdome	41

ABREVIATURAS

cm: centímetros

FACIT: colágenos associados a fibrilas

HCPA: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

IMC: índice de massa corporal

MEC: matriz extracelular

MMPs: metaloproteinase de matriz

OE: oblíquo externo

OI: oblíquo interno

PI: piramidal

RA: reto do abdome

RER: retículo endoplasmático rugoso (granuloso)

RNAM: Ácido Ribonucleico Mensageiro

TIMP: inibidores teciduais da metaloproteinases

TR: transverso

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 GERAL	15
2.2 ESPECÍFICOS.....	15
3 REFERENCIAL TEÓRICO	16
4 MÉTODOS	27
4.1 DELINEAMENTO	27
4.2 POPULAÇÃO EM ESTUDO E AMOSTRA.....	28
4.2.1 Cálculo do tamanho da amostra.....	28
4.3 PROCEDIMENTOS	28
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	39
4.4.1 Considerações Éticas	39
5 RESULTADOS	40
6 DISCUSSÃO	44
7 CONCLUSÕES.....	46
REFERÊNCIAS	47
ANEXO I - TERMO DE CONSENTIMENTO CIRÚRGICO LIVRE E ESCLARECIDO....	51
ARTIGO CIENTÍFICO	Erro! Indicador não definido.

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A parede abdominal anterior tem sido foco de inúmeros estudos. Responsável pela proteção do conteúdo da cavidade abdominal, seus componentes, além de auxiliarem na manutenção da postura, participam dos movimentos respiratórios, auxiliam na elevação do tronco e também participam de movimentos de tosse e vômito, evacuação e trabalho de parto.

Na linha média da camada musculoaponeurótica desta parede, encontramos a linha alba a qual se estende – longitudinalmente – do processo xifóide do esterno até a sínfise púbica, sendo formada pelo entrelaçamento das expansões aponeuróticas dos músculos anterolaterais do abdome.^{1,2}

A ampla exposição da parede anterior do abdome das pacientes durante o procedimento de dermolipectomia abdominal permite a observação da variabilidade na relação entre a linha média e a protusão abdominal dessas pacientes.

Estudo realizado por Brauman³ identificou tanto pacientes com diástase de retos (afastamento dos músculos retos do abdome com alargamento da linha média) sem protusão como outras sem diástase, porém com abaulamento abdominal. Esse mesmo estudo mostrou que, em alguns casos, o local de maior diástase não correspondia ao local da protusão quando a paciente se encontrava em posição ortostática.

Na tentativa de identificar fatores que justifiquem a falha na correção e na contensão da parede abdominal, alguns estudos citam que as deformidades da camada mioaponeurótica da parede abdominal anterior podem ser causadas por alterações dos colágenos tipo I e III nas fâscias dessas estruturas.^{4,5}

Estudos comparativos entre pacientes portadores de hérnias de diversas etiologias e cadáveres sem essa doença demonstraram que o primeiro grupo apresenta menor índice de colágeno dos tipos I e III que o grupo controle,⁶ reforçando a importância do colágeno nessas estruturas de sustentação.

O colágeno tem importante participação nas fâscias e nas aponeuroses, atuando como estrutura de sustentação e de resistência às pressões intra-abdominais, incluindo-se a linha alba, e respondendo por 30% do total de proteínas do corpo humano. Atualmente, são conhecidos 28 tipos diferentes de colágenos.⁷ Cada molécula de colágeno é um bastão pequeno e rígido, formado pelo entrelaçamento em tríplice hélice de três cadeias polipeptídicas chamadas cadeias alfa. Essa estrutura protéica justifica as propriedades físicas e biológicas dos colágenos: rigidez, solidez e estabilidade.⁸

Entre os vários tipos existentes, o colágeno do tipo I é a forma predominante, sendo sua função principal a resistência ao estiramento. É o maior componente de aponeuroses, tendões e tecidos cicatriciais maduros. O colágeno do tipo III, por sua vez, corresponde, classicamente, ao que se denominam fibrilas de reticulina, e sua função é a de sustentação dos órgãos expansíveis. Durante o período inicial da cicatrização ocorre um aumento da quantidade do colágeno do tipo III.⁶

Estudo de 2009 demonstra que a diminuição da relação entre os colágenos tipo I e III corresponde à redução da firmeza do tecido, pois o tipo III fornece menos resistência a essas estruturas.⁹

Baseados nessas evidências, procuramos quantificar os colágenos tipo I e III e a razão entre estes dois tipos de colágeno na linha média de pacientes submetidas à dermolipectomia abdominal apresentando diástase de músculos retos do abdome e de pacientes sem esta condição. O intuito foi identificar se existe diferença no colágeno na composição da linha média com e sem a presença de diástase.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

- Determinar a quantidade de colágeno tipo I em proporção ao tipo III nas aponeuroses supra e infraumbilical da linha média de pacientes do sexo feminino com e sem diástase de músculos retos do abdome.

2.2 ESPECÍFICOS

- Avaliação quantitativa da expressão imuno-histoquímica dos colágenos tipo I e III em amostras de aponeurose supra e infraumbilical da linha média de pacientes do sexo feminino com diástase de músculos retos do abdome. Avaliar a proporção de colágeno tipo III em relação ao tipo I nesse grupo.

- Avaliação quantitativa da expressão imuno-histoquímica dos colágenos tipo I e III em amostras de aponeurose supra e infraumbilical da linha média de pacientes do sexo feminino sem diástase de músculos retos do abdome. Avaliar a proporção de colágeno tipo III em relação ao tipo I nesse grupo.

- Comparar os achados obtidos nos grupos com e sem diástase de músculos retos do abdome.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

A parede anterolateral do abdome é eminentemente muscular e adapta-se bem a expansões. Entre suas funções, está a proteção dos órgãos situados dentro da cavidade abdominal, colaborando com os músculos do dorso nos movimentos do tronco e na manutenção da postura ereta. Além disso, possui propriedades biomecânicas que têm profundo impacto na capacidade física e qualidade de vida. O conhecimento da anatomia estrutural e funcional dessa musculatura é fundamental para o sucesso pós-operatório de cirurgias reconstrutivas ou estéticas dessa área.

As camadas anatômicas da parede abdominal anterior são a pele, o tecido celular subcutâneo, a camada musculoaponeurótica, a fáscia extraperitoneal e o peritônio. Essa anatomia varia conforme as diferentes regiões topográficas do abdome. A principal responsável pela integridade estrutural e pela força da parede abdominal é a camada musculoaponeurótica.¹⁰ A musculatura da parede anterolateral é formada por três músculos planos e suas aponeuroses correspondentes: músculos oblíquo externo (OE), oblíquo interno (OI), transverso (TR); e pelos músculos reto do abdome (RA) e piramidal (PI), um em cada lado do abdome, como pode ser observado na Figura 1.^{1,2}

O músculo RA funciona como um poderoso tensor da parede abdominal anterior e flexor das vértebras, auxilia na estabilidade da pelve durante a deambulação, protege o conteúdo abdominal e age na flexão do tronco, controlando também sua extensão.¹⁰ Sua bainha é formada pelas fibras aponeuróticas dos três músculos planos: OE, OI e TR, os quais, ao se entrelaçarem com as do lado oposto na linha média anterior formam uma rafe mediana denominada linha alba, que se estende longitudinalmente do processo xifóide do esterno até a sínfise púbica.¹ A composição da bainha do reto varia de acordo com sua localização na parede abdominal.¹⁰ Superiormente à região da parede abdominal situada à meia distância, entra a cicatriz umbilical e a sínfise púbica; a aponeurose do oblíquo interno se divide em um folheto anterior e um posterior. O folheto anterior se une com a aponeurose do OE e passa, anteriormente, ao reto abdominal formando a lâmina anterior da bainha desse músculo; o folheto posterior do oblíquo interno funde-se com a aponeurose do transverso e passa, posteriormente, ao reto abdominal. Inferiormente, as aponeuroses musculares se fundem e passam todas anteriormente ao reto abdominal. Na Figura 2, observamos secção da parede abdominal anterior, mostrando as aponeuroses musculares. Estudo de Myriknas¹¹ e colaboradores mostra haver uma conexão monossináptica cruzada entre os dois músculos que se situam paralelamente na parede abdominal.

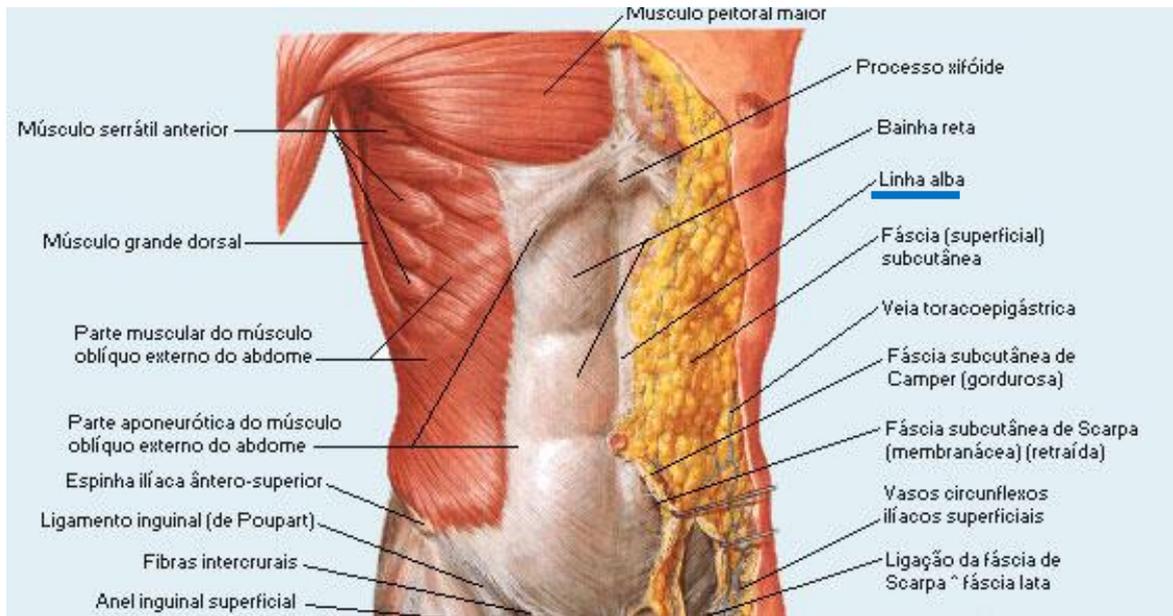


Figura 1 - Parede abdominal anterior: dissecção superficial.
Fonte: Modificado de Netter².

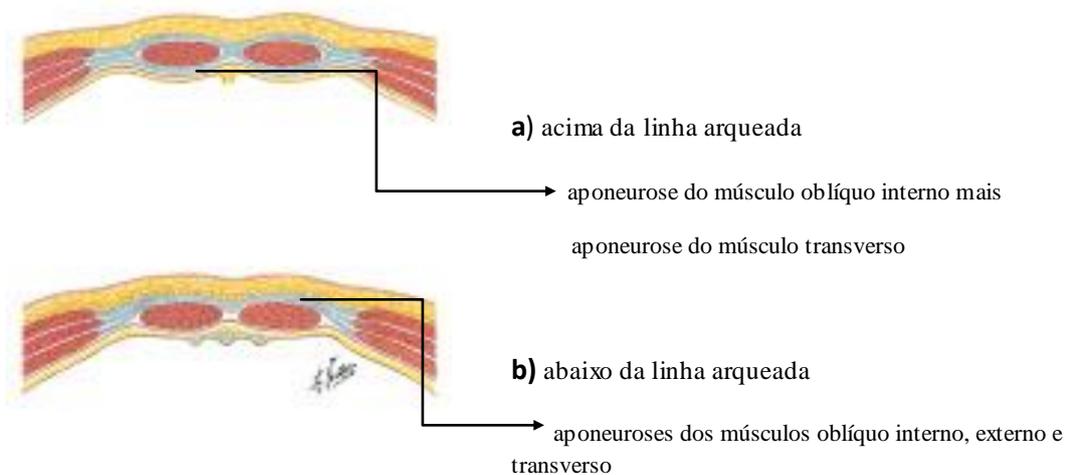


Figura 2 - Secção transversal da parede abdominal anterior mostrando a composição da bainha dos músculos retos do abdome: a) acima da linha arqueada; b) abaixo da linha arqueada.
Fonte: Modificado de: Netter².

Os músculos oblíquos internos e externos comprimem o abdome, fletem, inclinam lateralmente e rotam o tronco para o lado oposto de acordo com a orientação de suas fibras, além de, juntamente com os músculos retos do abdome, auxiliarem na expiração forçada. Também transmitem força aos músculos retos do abdome através da linha semilunar aumentando o poder de flexão dessa musculatura.¹⁰

O músculo transverso do abdome é circunferencial. Localizado profundamente aos demais músculos que compõem a parede abdominal anterior, ele possui inserções na fáscia toracolombar, na bainha do RA, no diafragma, na crista ilíaca e nas seis superfícies costais inferiores. É um músculo preferencialmente estabilizador da coluna lombar, sendo o principal músculo gerador da pressão expiratória. A contração bilateral desta musculatura aumenta a pressão intra-abdominal e a tensão da fáscia toracolombar, resultando em diminuição da circunferência abdominal, devido à orientação horizontal das fibras que bilateralmente formam uma banda musculofáscial como um espartilho.¹²⁻¹⁵

Os músculos da parede anterior do abdome em geral, são recrutados simultaneamente, para exercerem suas ações, produzindo uma variedade de forças dentro e sobre a parede abdominal. A disposição dessa musculatura, com suas fibras orientadas em sentidos diversos, permite deformações únicas e adaptabilidade às exigências dos tecidos.¹⁶ A integridade da parede abdominal anterior é fundamental na qualidade de vida. O Neal e colaboradores apresentaram estudo que corrobora essa afirmativa, evidenciando diminuição da dor lombar crônica de pacientes com flacidez da parede abdominal após a realização de dermolipectomia abdominal com plicatura aponeurótica muscular.¹⁷

A dermolipectomia abdominal ou abdominoplastia – procedimento muito realizado na cirurgia plástica – é uma cirurgia que expõe amplamente a parede abdominal, quando utilizada a técnica clássica (standard). A primeira publicação sobre esta cirurgia parece ter sido de Kelly, no ano de 1899. Inicialmente, o procedimento se restringia à remoção de pele e tecido adiposo.¹⁸ Com o tempo, novas técnicas e táticas foram surgindo, como as novas incisões, os descolamentos dos retalhos, a transposição da cicatriz umbilical, a plicatura das aponeuroses musculares e as lipoaspirações, todas com o objetivo de melhorar os resultados estéticos de contorno corporal e de funcionalidade da parede abdominal.¹⁸⁻²⁰

As alterações encontradas no abdome podem ser cutâneas, do tecido adiposo e do sistema musculoaponeurótico, isoladas ou em conjunto. Conforme as alterações encontradas, diferentes técnicas cirúrgicas podem ser propostas,²¹ como pode ser visto na Tabela 1.

Tabela 1
Classificação de Pitanguy das deformidades estéticas abdominais e técnicas sugeridas para correção

Apresentação clínica	Técnica Sugerida
Lipodistrofia abdominal sem flacidez de pele, ausência de diástase ou hérnia	Lipoaspiração
Lipodistrofia abdominal moderada com diástase	Miniabdominoplastia ou abdominoplastia endoscópica
Acentuada lipodistrofia abdominal com flacidez e excesso cutâneo, presença de diástase com ou sem cicatrizes abdominais	Abdominoplastia clássica
Flacidez cutânea e/ou lipodistrofia com diástase ou eventração; presença de cicatrizes abdominais	Técnica atípica
Marcada lipodistrofia abdominal generalizada com ausência de excesso de pele	Não são candidatas à abdominoplastia

Fonte: Pitanguy²¹

A dermolipectomia abdominal clássica consiste em incisão suprapúbica que se estende lateralmente até as duas cristas ilíacas anteriores com remoção da pele abdominal excedente, descolamento do retalho dermogorduroso abdominal com exposição da parede abdominal anterior, plicatura aponeurótica muscular e transposição do umbigo.

A linha média, formada pelo entrelaçamento das expansões aponeuróticas dos músculos anterolaterais do abdome é facilmente identificada e visualizada durante a dermolipectomia abdominal clássica. Essa unidade anatômica é particularmente importante, pois continua sendo importante via de acesso para a cavidade abdominal.

A fim de conhecer melhor a fisiologia e anatomia dessa região anatômica, muitos autores estudaram a linha média. Askar²², em 1977, sugeriu uma nova classificação da linha alba, demonstrando três tipos de aponeurose nessa região. O primeiro tipo corresponde a 30% dos casos estudados e apresenta uma única aponeurose na face anterior e outra na face posterior da linha alba. O segundo tipo, mais frequente, corresponde a 60% dos casos e apresenta três lâminas de aponeurose na face posterior e três lâminas de aponeurose na face anterior da linha alba. O terceiro tipo, correspondendo ao restante dos casos, apresenta uma lâmina de aponeurose na face anterior e três na face posterior da linha alba. O mesmo autor sugere que a linha média com somente duas lâminas de aponeurose seria mais fraca e não resistiria tão bem às pressões intra-abdominais.^{22,23}

Korenkov e colaboradores²⁴, em 2001, realizaram um estudo que não confirmou os dados de Askar, concluindo que as características biomecânicas da linha alba eram determinadas pela espessura e densidade de fibras e não pelo número de lâminas de aponeurose. Nesse trabalho, os autores propõem uma nova classificação da linha média dividida em três níveis, a saber: fraca, intermediária e compacta ou forte. Os próprios autores reconhecem falhas nessa classificação, pois não existe uma linha definida entre cada tipo preconizado.

Axer e colaboradores, em 2001, publicaram dois estudos sobre a variabilidade e os aspectos biomecânicos da linha alba e das aponeuroses do músculo reto abdominal. Os autores demonstraram, assim, que existem diferenças na arquitetura das fibras de colágeno, dependendo tanto da sua localização topográfica ao longo da linha alba quanto do gênero, sendo que no sexo feminino existe uma diferença na distribuição e tamanho das fibras em relação ao sexo masculino. A análise do diâmetro médio de 14 diferentes segmentos da linha média de 12 cadáveres mostrou que os feixes de fibrila de colágeno na região supraumbilical da linha alba tinham diâmetro menor e que a espessura da linha média supraumbilical também era menor quando comparadas à região infraumbilical. Comparando homens e mulheres o mesmo estudo mostrou que a linha alba, na região infraumbilical das mulheres, era menos espessa que nos homens.^{25,26}

Estudos biomecânicos de Grassel e colaboradores²⁷ em 2005 também demonstraram diferenças entre a linha alba de homens e mulheres. Nesse estudo, foi observado que a linha alba possui distinta anisotropia em suas propriedades biomecânicas, com maior complacência na direção longitudinal e menor na direção transversa. Correlacionando os aspectos biomecânicos com as propriedades morfológicas da linha alba, houve diferença entre os sexos (feminino e masculino). Quando comparadas aos homens, as mulheres apresentaram complacência menor na direção transversa, associada a um número maior de fibras colágenas distribuídas transversalmente em relação às oblíquas.

Todos esses trabalhos estudaram a disposição, diâmetro e distribuição das fibras de colágeno, porém não analisaram, especificamente, os tipos de colágeno e suas quantidades nessa estrutura.

Quando há um afastamento dos músculos RA na linha média, ocorre um alargamento dessa estrutura, denominado diástase de músculos retos do abdome (Figura 3).

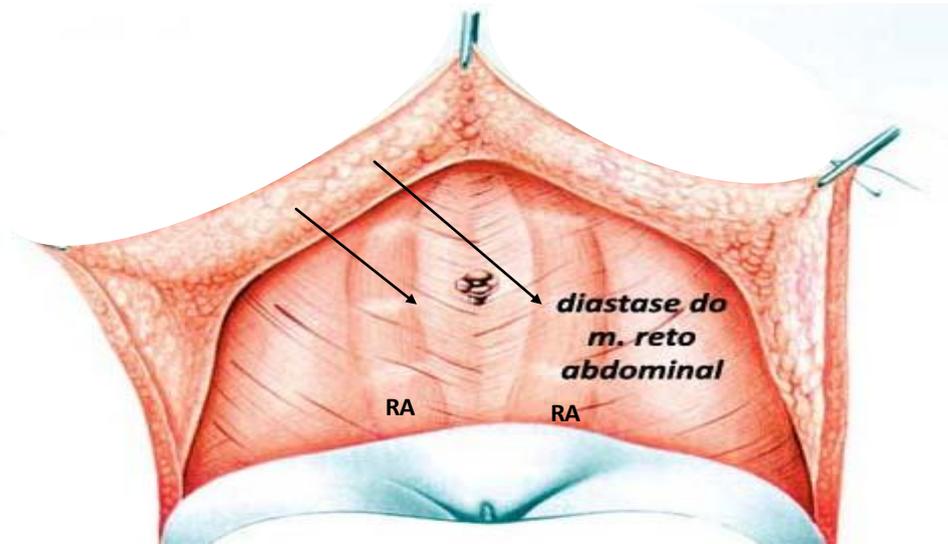


Figura 3 - Afastamento dos músculos retos do abdome na linha média, sendo que as setas indicam os bordos internos desta musculatura. RA: músculo reto abdominal.
 Fonte: Adaptado de Pereira C. Abdominoplastia após grande perda de peso (dermolipectomia ex-obeso). 2010. Disponível em: <http://www.doutorfantastico.com/2010/10/abdominoplastia-apos-grande-perda-de.html>. <Acesso em 02 de maio de 2011>

Classificações dos tipos de deformidade do abdome com sugestões de técnicas a serem adotadas para cada caso citam a diástase de retos do abdome como um de seus fundamentais parâmetros^{21,28}; por isso, a importância de definir e identificar esta condição.

Rath e colaboradores em 1996, estudando a linha alba, definiram a diástase dos músculos retos do abdome a partir de dois grupos etários. No grupo até 45 anos, considera-se diástase o afastamento dos músculos superior a 10mm acima da cicatriz umbilical, a 27mm na altura da cicatriz umbilical e a 9mm abaixo desta. No grupo com mais de 45 anos, os valores correspondentes são 15mm, 27mm e 14mm, respectivamente.²⁹

A acurácia do ultrassom como método para identificar a distância entre os músculos RA na região umbilical e supraumbilical foi demonstrada por Mendes e colaboradores.³⁰ Esse mesmo estudo mostra que, na região infraumbilical, os valores obtidos na ultrassonografia eram menores que os observados durante a abdominoplastia.

Em 2009, Beer e colaboradores³¹ realizaram um estudo por meio de ultrassom em 150 mulheres nulíparas entre 20 e 45 anos e consideraram a distância de até 22mm acima do umbigo e de até 16mm abaixo do mesmo sendo como o afastamento normal dos músculos RA.

Apesar de muitos cirurgiões atribuírem o sucesso da abdominoplastia à ação da plicatura das aponeuroses dos músculos RA, Brauman³ identificou que a presença de protusão abdominal nem sempre correspondia à presença de diástase dos músculos RA no

transoperatório, sendo que a correção da diástase não garante um resultado estético satisfatório em todos os casos.

Segundo Repta³², a protusão abdominal pode ser causada por múltiplos fatores, incluindo excesso de gordura extra-abdominal, aumento de gordura intra-abdominal, diástase de retos, hérnias de parede abdominal e flacidez miofascial.

Na tentativa de identificar fatores que justificassem a falha na correção e na contensão da parede abdominal, Nahas e colaboradores citam que as deformidades da camada mioaponeurótica da parede abdominal anterior podem ser causadas por alterações dos colágenos tipo I e III nas fâscias dessas estruturas.^{4,5}

Recentemente, tem-se tornado evidente que os colágenos estão envolvidos em funções que vão além da simples arquitetura da matriz extracelular. Eles participam do desenvolvimento dos órgãos e da cicatrização e reparo de tecidos e influenciam a angiogênese e tumorigênese, sendo depósito e distribuidor de mediadores celulares como os fatores de crescimento.³³ O conhecimento dessa proteína é de extrema importância para o entendimento da etiologia, da progressão e da evolução de diversas doenças.

A matriz extracelular (MEC) é formada por matriz fibrilar (colágeno e elastina) e substância fundamental (proteoglicanos, glicosaminoglicanos, glicoproteínas, fatores solúveis, água, nutrientes), propiciando suporte e estrutura às células e aos tecidos. Os colágenos são as proteínas mais abundantes da MEC.^{33,34} São o maior elemento estrutural de todos os tecidos conjuntivos, sendo também encontrados no tecido intersticial dos órgãos parenquimatosos.³³ A proporção entre MEC e células varia de tecido para tecido, sendo que, nos tecidos conjuntivos, há um predomínio de matriz extracelular em relação à população celular.³⁵

Os colágenos são compostos por três cadeias alfa em tripla hélice idênticas entre si ou não, que são formadas pela repetição de uma sequência típica de aminoácidos glicina-X-Y, em que X e Y podem ser qualquer aminoácido, porém, frequentemente, são a prolina e a hidroxiprolina respectivamente, chamados *Col domains*.³⁴ Existem 28 tipos diferentes de colágenos citados na literatura. Na Figura 4, pode-se observar a representação esquemática da molécula em tripla hélice do colágeno.

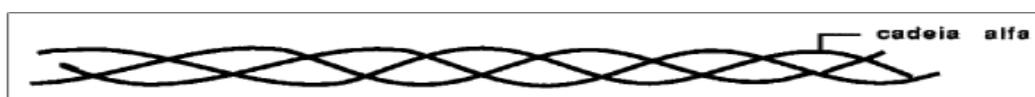


Figura 4 - Molécula de colágeno: molécula em tríplice hélice formada pelo entrelaçamento de três cadeias alfa.

Fonte: Vargas⁸

Baseados na sua estrutura e na sua organização supramolecular, os colágenos podem ser agrupados em colágenos fibrilares (*fibril forming collagens*), colágenos associados a fibrilas (*FACIT*), colágenos formadores de redes (*network-forming collagens*), colágenos de ancoragem (*anchoring fibrils*), colágenos transmembranas (*transmembrane collagens*) e outros com funções únicas (Tabela 2).³³

Tabela 2
Classificação dos colágenos baseado na sua estrutura e organização supramolecular

CLASSIFICAÇÃO	Tipo de Colágeno
Colágenos fibrilares	I,II,III,V,XI
Colágenos transmembranas	XIII,XVII
Colágenos de ancoragem	VII
Colágenos FACIT	IX,XII, XIV,XIX, XX, XXI
Colágenos formadores de rede	VIII, X
Colágenos microfibrilares	VI
Colágenos de membrana basal	IV
Colágenos com funções múltiplas	XV, XVI, XVIII

FACIT: colágenos associados a fibrilas

Fonte: Modificada de Gelse, Poschl, Aigner³³

Diferentes tipos celulares podem sintetizar colágeno, dependendo de cada tecido; entre eles, os osteoblastos e os fibroblastos. A biossíntese do colágeno inicia no núcleo celular, onde a estrutura gênica contendo as informações sobre os pró-colágenos é dividida em exons de Ácido Desoxiribonucleico (DNA) separados por introns e após, ocorre a transcrição dessa informação para o Ácido Ribonucleico mensageiro (RNAm). O RNAm maduro leva essa informação até os ribossomos na membrana do Retículo Endoplasmático Granuloso (RER) formando as cadeias pró-alfa que protuem para o lúmen do RER onde sofrem diversas modificações enzimáticas. Nessa etapa, ocorre a hidroxilação da lisina e da prolina em hidroxilisina e hidroxiprolina fundamentais para a formação de ligações cruzadas entre as fibras e conformação helicoidal respectivamente e para a formação do pró-colágeno. As moléculas de pró-colágeno são transportadas para o Complexo de Golgi onde são armazenadas em vesículas e secretadas para o meio extracelular. No meio extracelular, a

enzima pró-colágeno peptidase transforma o pró-colágeno em tropocolágeno, o qual se agrega em forma de fibrilas de colágeno (Figura 5).³³

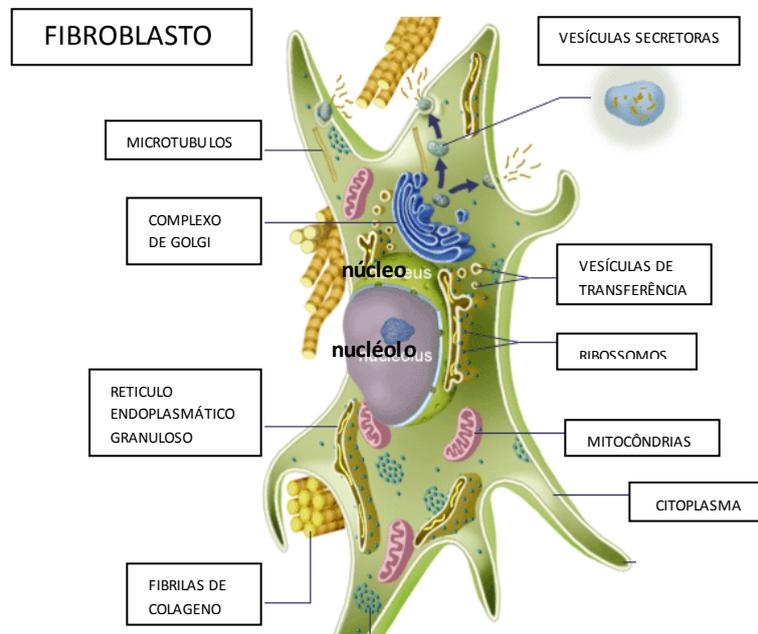


Figura 5 - Fibroblasto e elementos envolvidos na biossíntese do colágeno.
 Fonte: Adaptado de AMSER. Applied Math and Science Education Repository.
 Disponível em: <http://amser.org/index.php?P=AMSER--ResourceFrame&resourceId=5622>.
 <Acesso em 17 de maio de 2011>

Entre os vários tipos de colágeno existentes, o tipo I é a forma predominante, sendo sua função principal a de resistência ao estiramento. Caracteriza-se, também, como o maior componente de aponeuroses, de tendões e de tecidos cicatriciais maduros. O colágeno do tipo III corresponde classicamente ao que se denominam fibrilas de reticulina. Sua função é a de sustentação dos órgãos expansíveis, sendo que, durante o período inicial da cicatrização existe um aumento da quantidade desse tipo de colágeno.⁶

As fibrilas de colágeno do meio extracelular são facilmente identificáveis por estriações, que ocorrem a cada 67nm aproximadamente e que representam regiões lacunares entre a união de uma fibra de colágeno e outra.³⁶

Os colágenos fibrilares representam cerca de 90% de todo o colágeno existente. Fazem parte desta família os colágenos tipo I,II,III,V e XI. Os do tipo I e III são os principais componentes das aponeuroses.

O colágeno tipo I é o mais abundante de todos. Com suas fibras agrupadas em densos feixes, forma mais de 90% da massa orgânica óssea, sendo o maior componente colágeno dos tendões, da pele, dos ligamentos e da córnea. Sua tripla hélice é usualmente formada por duas cadeias alfa 1 e uma cadeia alfa 2, sendo chamado heterotrímero.^{7,33,37} Em adição à forma heterotrímera clássica podem-se encontrar, em menor proporção, outras formas dessa proteína: uma forma com três cadeias alfa 1 idênticas e outra chamada de colágeno ligado a laminina.³⁸ Sendo essencial para prover aos tecidos resistência ao estiramento, seu acúmulo excessivo é característico nas doenças fibróticas.³⁷

O colágeno tipo III, uma forma mais imatura, com menor força tênsil em comparação ao tipo I e com fibrilas de diâmetro menor, forma uma trama frouxa em muitos tecidos de sustentação. É encontrado também em tecidos que exibem propriedades elásticas, como a pele, os vasos sanguíneos e vários órgãos internos. É o segundo mais abundante nos tecidos humanos. Formado por três cadeias idênticas alfa 1 (homotrímero) codificadas por um único gene encontrado no cromossomo 2 chamado COL3A1, é amplamente distribuído nos tecidos que contém colágeno tipo I exceto no tecido ósseo.³³

As metaloproteinases de matriz (MMPs) são parte integrante fundamental da via extracelular das degradações do colágeno.

As MMPs constituem uma família de endopeptidases dependentes de cálcio e zinco, que exercem atividades proteolíticas na matriz extracelular. Essas enzimas, coletivamente, podem degradar todos os componentes da matriz extracelular e são classificadas em grupos, incluindo colagenases, gelatinases, estromalinas e metaloproteinases de membrana. A quebra da matriz extracelular é necessária em diversas situações fisiológicas, como na do reparo de tecidos e angiogênese.

A colagenase é um dos integrantes dessa família de enzimas, sendo uma das principais envolvidas na degradação do colágeno. Alterações na expressão, na função e ou na regulação dessa enzima foram encontradas em diversas doenças, como aneurisma de aorta abdominal e desenvolvimento e recorrência de hérnias. São também consideradas como importantes facilitadoras para a invasão e a disseminação tumoral.^{39,40}

Foram descritos 28 tipos diferentes de MMPs. A MMP-1 (colagenase-1) é a forma predominante, degradando preferencialmente o colágeno tipo III. A MMP-8 (colagenase-2) degrada o colágeno tipo I. A MMP-13 (colagenase -3) pode degradar e inativar os colágenos tipo I,II,III, IV, IX, X e XIV bem como as fibronectinas, fibrilinas e osteonectinas. Os inibidores teciduais das metaloproteinases (TIMP) inibem a atividade das MMPs no meio extracelular.⁴⁰

Diversos autores encontraram relação entre presença de hérnias e diminuição dos colágenos tipo I e III nas fâscias, tornando-as mais frágeis e propensas a desenvolverem esta doença.^{6,41-46} Certas síndromes como a Síndrome de Marfan, a Osteogênese Imperfeita e a Síndrome de Ehlers-Danlos foram associadas a uma maior incidência de hérnias, sendo que estes pacientes apresentam, como característica em comum, defeitos nos processos metabólicos do colágeno,⁴⁷ o que pode contribuir para a fragilização das fâscias. Alterações de colágeno em aneurisma de aorta abdominal e associação entre aneurisma de aorta abdominal e hérnias de parede abdominal também foram documentadas.⁴⁸⁻⁵⁰ McPhail⁵¹, em seu estudo, observou que a diástase de retos era, significativamente, mais comum em homens com aneurisma de aorta abdominal do que em doenças arteriais periféricas, sugerindo que a presença de diástase poderia servir como um indício para investigação dessa doença em pacientes de risco. O trabalho de Moesbergen e colaboradores⁵², porém, não confirmou essa associação em homens.

Existe mais de um método descrito na literatura para a identificação do colágeno. O método de Picrosirius com luz polarizada permite sua identificação pela sua forte birrefringência (grau de retardamento da luz polarizada linear), que ocorre pelo ordenamento paralelo das moléculas de colágeno nas fibrilas e pela orientação das fibras de colágeno. Nesse método, o colágeno tipo I aparece vermelho-alaranjado, enquanto o tipo III se mostra verde ou esverdeado.⁵³

Na imuno-histoquímica, a identificação do colágeno ou de outra substância se dá devido à capacidade que o anticorpo tem de se ligar ao elemento a ser pesquisado. Assim sendo, as estruturas que não têm as mesmas características contra as quais o anticorpo reage não são coradas, não sendo identificadas através desse método. A vantagem dessa técnica é a sua especificidade.

A partir da heterogeneidade da linha média observada nas pacientes que realizaram o procedimento de dermolipectomia abdominal e dos inúmeros estudos demonstrando a importância do colágeno na estrutura e força tênsil das aponeuroses, surgiu o interesse em identificar os índices dos colágenos tipo I e III dessa unidade anatômica e a razão entre os mesmos. Para isso, foi utilizada a técnica imuno-histoquímica com anticorpos policlonais anticolágeno tipo I e anticolágeno tipo III. Assim, esta pesquisa pôde apresentar um novo dado na compreensão desse achado.

4 MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO

Trata-se de um estudo caso-controle aninhado em uma coorte de pacientes com indicação de cirurgia de dermolipectomia abdominal clássica. O grupo caso foi formado por pacientes do sexo feminino com diástase de músculos retos do abdome, e o grupo controle, foi formado por pacientes do mesmo gênero que não apresentavam essa condição. Foram realizadas avaliações dos colágenos tipo I e III de amostras obtidas das regiões supra e infraumbilicais da linha alba dessa população (Figura 6).

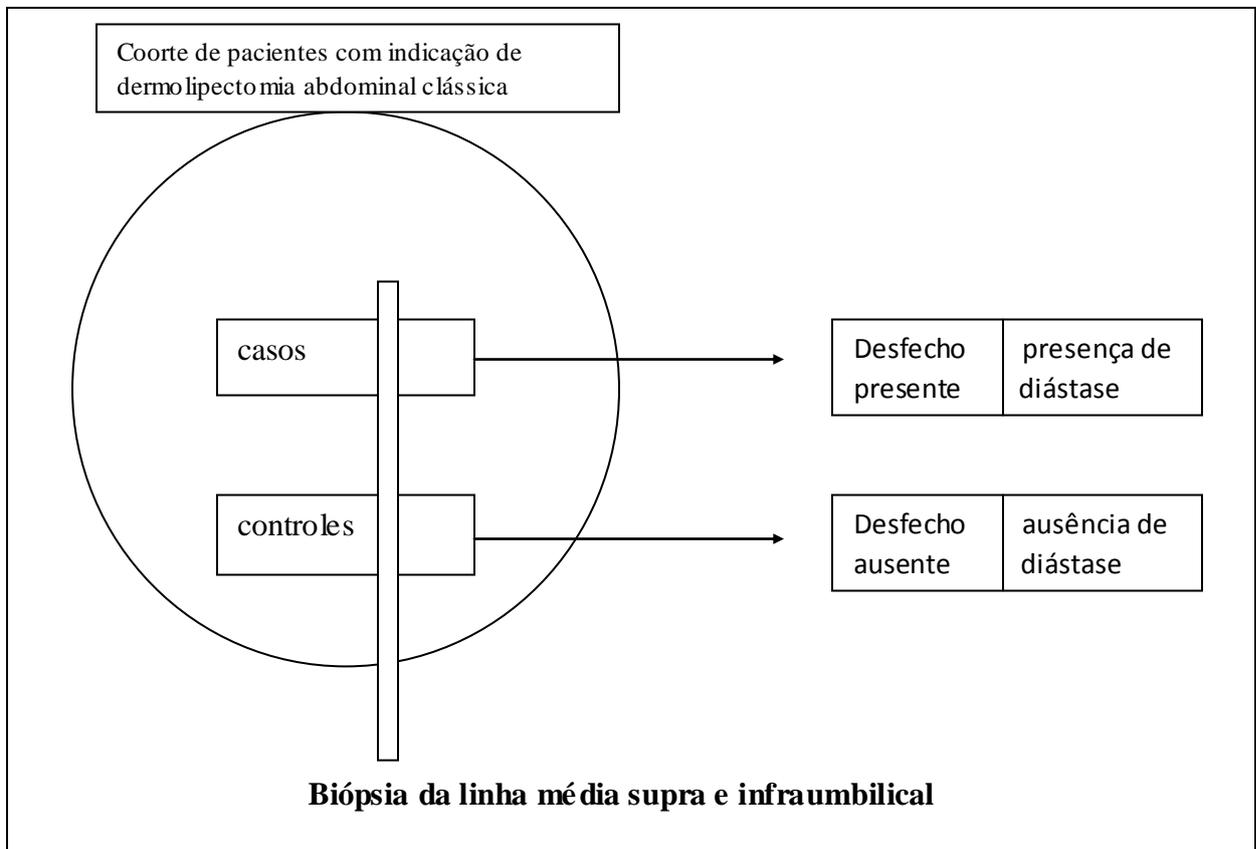


Figura 6 - Representação esquemática do delineamento da pesquisa

A identificação das amostras foi realizada no momento da coleta, através de conjunto de letras e números, ocorrendo cegamento nas avaliações laboratoriais, tanto em relação à amostra pertencer a indivíduos com ou sem diástase, quanto em relação à localização supra ou infraumbilical das mesmas.

4.2 POPULAÇÃO EM ESTUDO E AMOSTRA

Na população em estudo (grupo caso) foram incluídos indivíduos do sexo feminino, com idade entre 30 e 45 anos, submetidos à cirurgia de dermolipectomia abdominal clássica, portadores de diástase de músculos RA segundo os critérios de Rath.²⁹

No grupo controle, foram incluídos indivíduos do sexo feminino, com idade de 30 a 45 anos, submetidos à cirurgia de dermolipectomia abdominal clássica, e que não apresentaram diástase de músculos RA segundo os critérios de Rath.²⁹

Foram considerados critérios de exclusão: cirurgias abdominais prévias, presença de hérnias identificadas no pré-operatório ou no transoperatório, doenças do colágeno, diabetes, usuárias de corticosteróides até um ano antes do procedimento e recusa em participar do estudo.

Todas as pacientes foram submetidas à avaliação clínica e exames pré-operatórios de rotina para cirurgia de dermolipectomia abdominal, apresentando condições de serem submetidas ao procedimento cirúrgico. As pacientes não poderiam ser fumantes para realizar o procedimento.

4.2.1 Cálculo do tamanho da amostra

Para um nível de significância $\alpha=0,05$ e poder estatístico de 80% para detectar uma diferença de ordem de um desvio padrão nos níveis dos colágenos tipo I e III entre os grupos com e sem diástase de músculos retos do abdome, foram estimados 18 casos por grupo, num total de 36 casos.

4.3 PROCEDIMENTOS

As pacientes submetidas à dermolipectomia abdominal que se enquadravam nos critérios de inclusão foram previamente informadas sobre a pesquisa. As pacientes que concordaram em participar assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo D).

Todas as pacientes foram submetidas ao procedimento cirúrgico sob anestesia geral.

Descrição da técnica cirúrgica de dermolipectomia abdominal utilizada e da coleta de amostras

Após a demarcação cirúrgica, iniciou-se a cirurgia com a remoção do tecido abdominal inferior excedente, expondo-se a aponeurose. A seguir, o retalho dermogorduroso remanescente da parede abdominal foi descolado e elevado com exposição das aponeuroses musculares e da linha média. A hemostasia rigorosa foi realizada como próximo passo cirúrgico.

Com a parede abdominal exposta, foram identificados e demarcados com azul de metileno os bordos mediais de ambos os músculos RA, e realizada a medição da distância entre um bordo e outro na região supraumbilical a 3cm da cicatriz umbilical e na região infraumbilical a 2cm da cicatriz umbilical (Figura 7). As pacientes foram, então, classificadas em um dos dois grupos, COM ou SEM diástase.

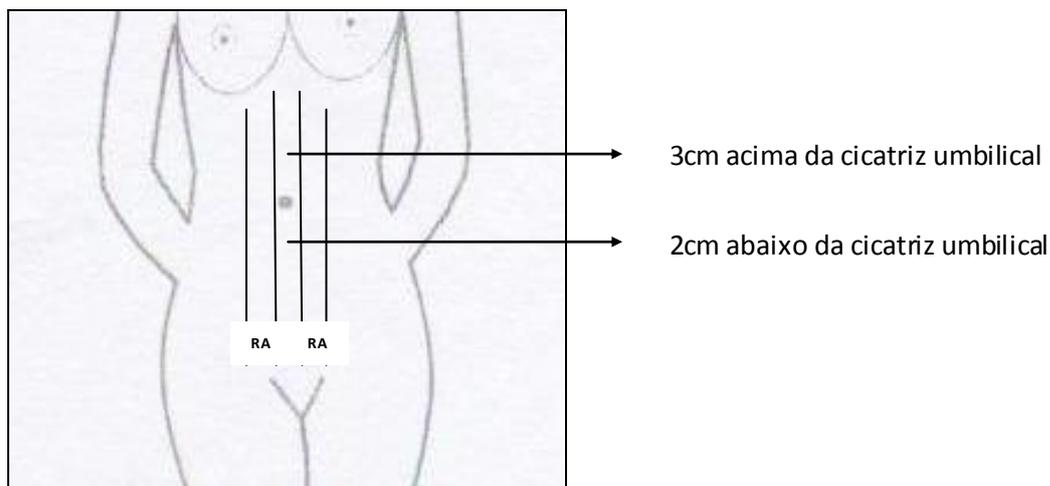


Figura 7 - Representação esquemática dos locais de medição da distância entre os bordos dos músculos retos do abdome (RA) para classificação segundo os critérios de Rath.

Nos locais de medição, foram coletadas amostras da região supra e infraumbilicais, de 0,5cm de largura por 0,5 cm de altura. O local da biópsia foi suturado com fio inabsorvível de mononylon 2-0. A partir desse ponto, a cirurgia seguiu conforme a rotina, com plicatura da linha média. O retalho dermogorduroso foi acomodado sobre a parede abdominal com exteriorização do umbigo. Antes do fechamento, foram colocados drenos de sucção a vácuo e finalizada a cirurgia com suturas por planos.

As figuras a seguir mostram as etapas do procedimento cirúrgico em paciente submetida à dermolipectomia abdominal clássica (Figuras 8 a 12).



Figura 8 - Descolamento do retalho abdominal com exposição da camada musculoaponeurótica da parede abdominal.

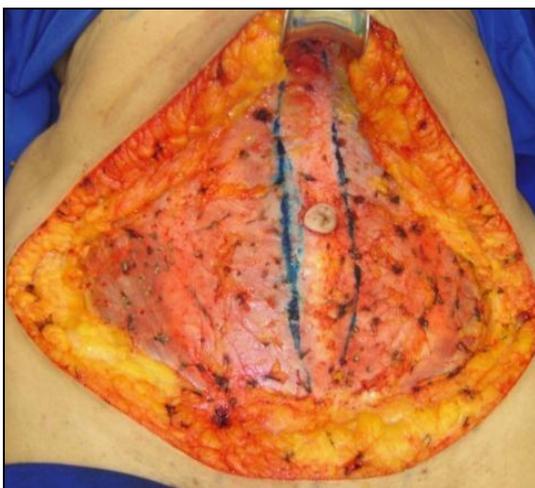


Figura 9 - Identificação dos bordos dos músculos retos do abdome.

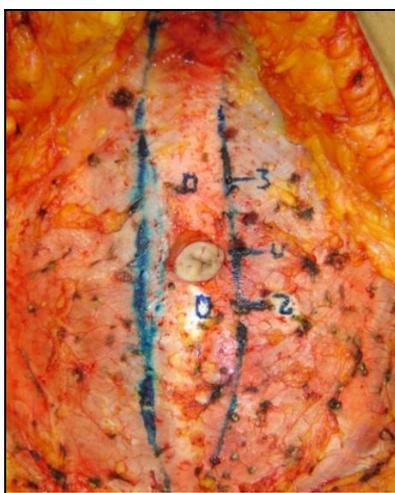


Figura 10 - Detalhe do local de coleta das amostras.



Figura 11 - Sutura do local da coleta das amostras de linha alba com fio inabsorvível de mononylon.



Figura 12 - Plicatura da aponeurose dos músculos retos do abdome.

Processamento das amostras

Imediatamente após a coleta, as amostras foram acondicionadas em frascos contendo formaldeído líquido a 4%. Após a finalização do procedimento cirúrgico, as amostras foram levadas ao Laboratório de Pesquisa Experimental do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), onde foi realizado processamento histológico de rotina. Este consistiu em banhos em soluções de concentrações crescentes de álcool, diafanização em xilol, posterior inclusão das amostras em bloco de parafina seguido de corte histológico, desparafinização, colorações de hematoxilina-eosina, imuno-histoquímica e montagem das lâminas.

Foram obtidos 72 blocos de parafina, que correspondem a 18 amostras da região supraumbilical e 18 amostras da região infraumbilical da linha alba de pacientes com diástase de músculos RA, e 18 amostras da região supraumbilical e 18 amostras da região infraumbilical da linha alba de pacientes sem diástase de músculos RA (Figura 13).

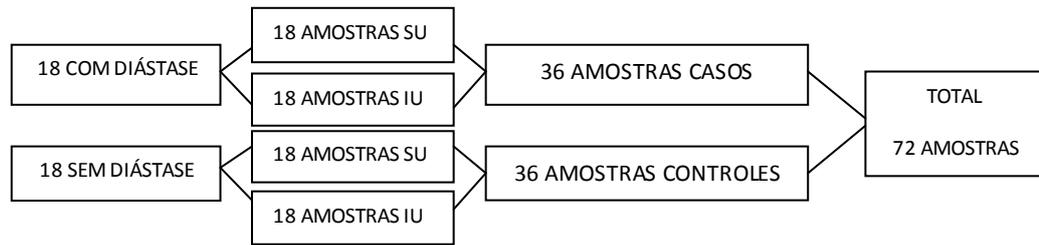


Figura 13 - Representação esquemática da obtenção do número de amostras .

A avaliação qualitativa dos colágenos tipo I e III foi realizada por meio de imunohistoquímica com a utilização do Anticorpo Policlonal Anticolágeno Tipo I (PA1-85317) e do Anticorpo Policlonal Anticolágeno Tipo III (PA1-85314).

Utilizando-se um sistema de imagens formado por um microscópio Olympus modelo BX 51, como uma videocâmera acoplada, o sinal de vídeo foi digitalizado em 24bits, com uma resolução de 1.280 (horizontal) por 960 (vertical) pixels e 24 milhões de cores. O *software* empregado foi Q-Capture Pro 5.1. Foram digitalizados 10 campos de 400 vezes de aumento por lâmina, num total de 1.440 imagens digitalizadas sob a forma de arquivos de extensão jpg (Figura 14). As imagens digitalizadas foram analisadas utilizando o Programa Aplicativo Image Pro-Plus, versão 3.1 (Media Cybernetics, Silver Spring, U.S.A.), medindo-se as áreas coradas em marrom (positivas) em cada imagem (Figura 15). Possíveis vieses foram evitados uma vez que a digitalização e análise das imagens foram realizadas pelo mesmo observador, no mesmo computador e no mesmo local para evitar o máximo de interferências na obtenção dos dados. As medidas foram anotadas em valores absolutos de “pixels” e exportadas para uma planilha Excel.

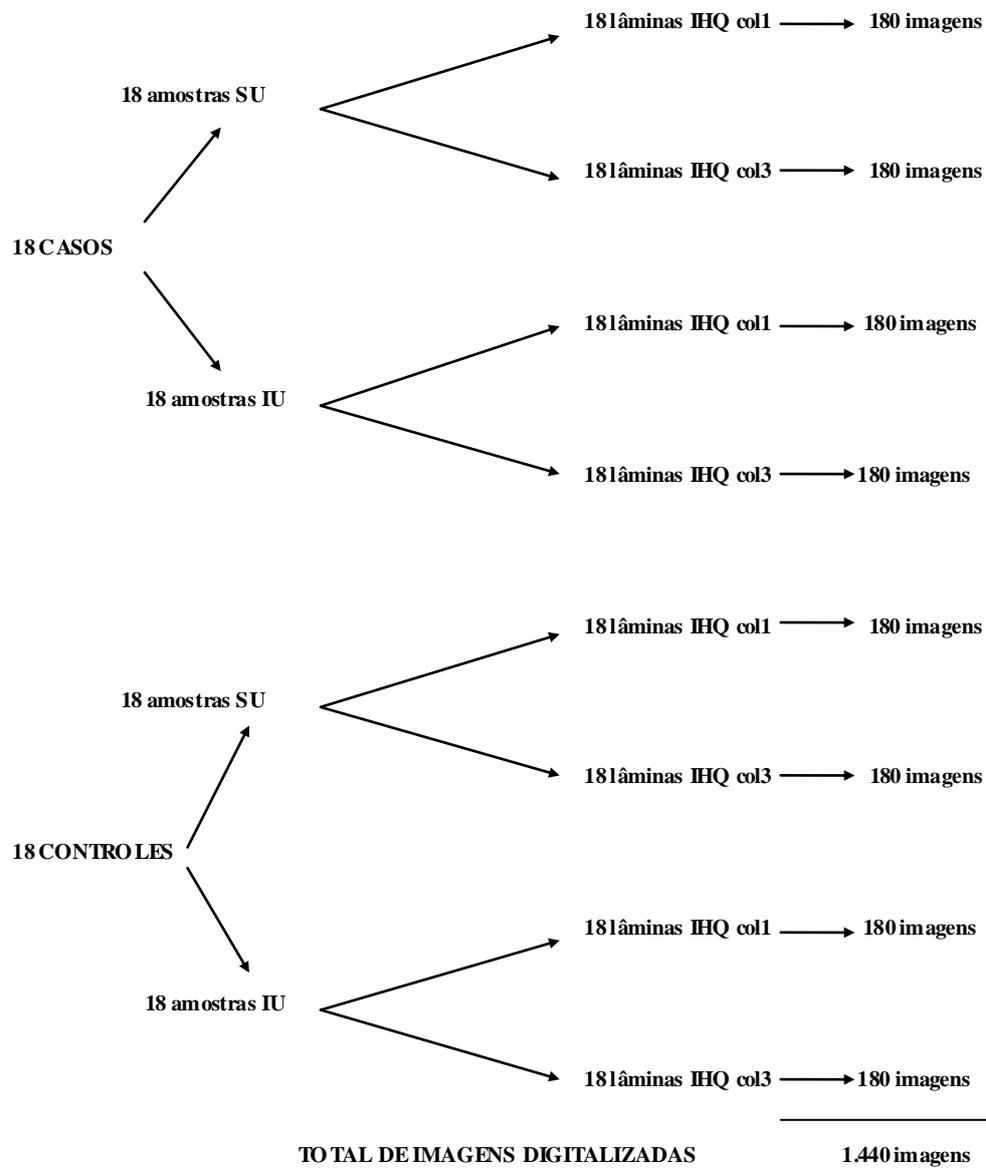


Figura 14 - Representação esquemática da obtenção do número de imagens analisadas pela técnica de imunohistoquímica. SU: supraumbilical, IU: infraumbilical, IHQ: coloração para imuno-histoquímica, col1: colágeno tipo I, col3: colágeno tipo III.

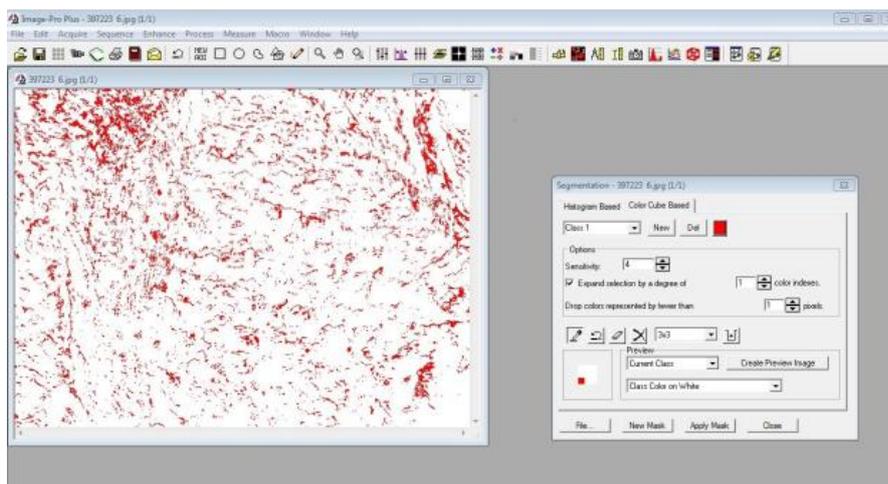
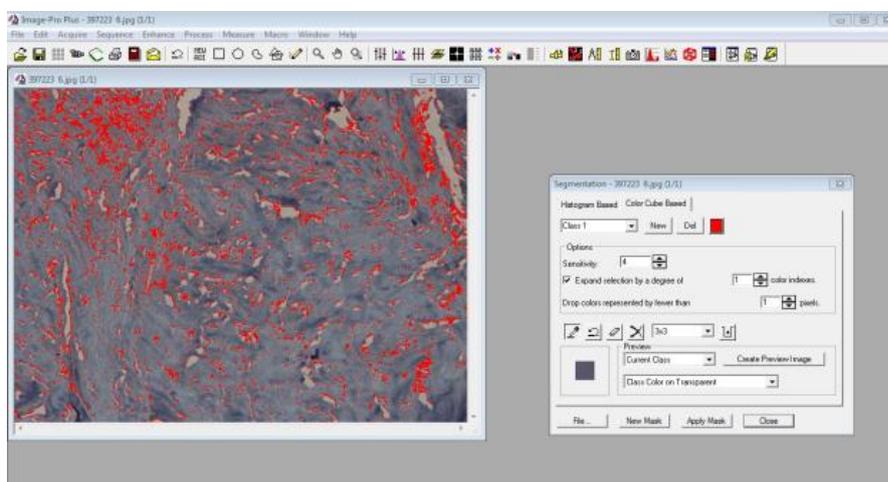
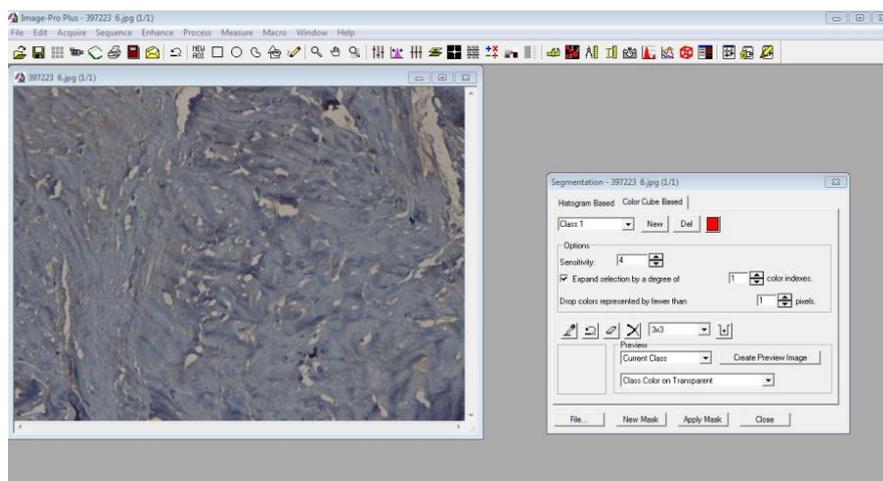


Figura 15 - Quantificação do colágeno a partir da imagem digitalizada, utilizando o Programa Aplicativo Image Pro-Plus, versão 3.1.

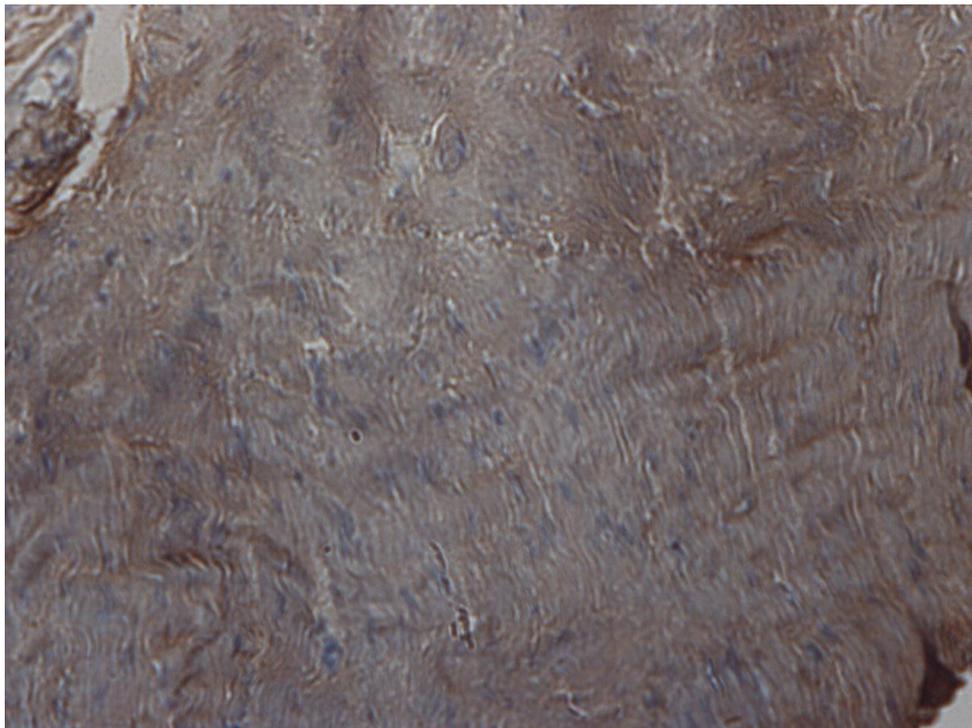


Figura 16: Fotomicrografia de corte histológico da aponeurose da linha alba supraumbilical, de paciente sem diástase de músculos retos do abdome. Imuno-histoquímica (400x) – colágeno tipo I.

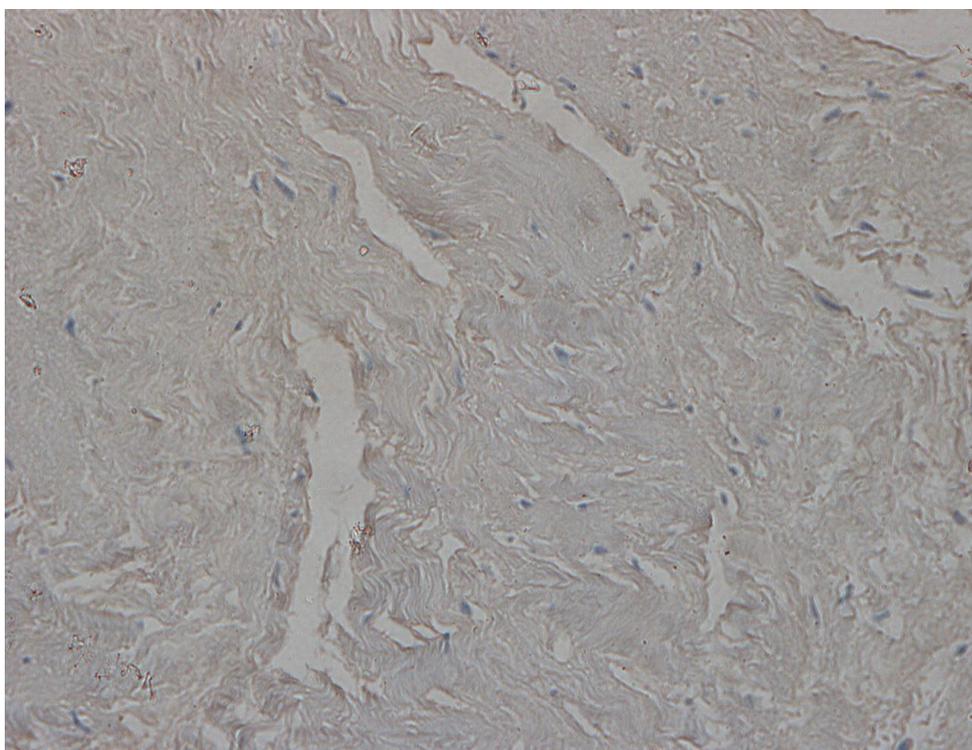


Figura 17 - Fotomicrografia de corte histológico da aponeurose da linha alba supraumbilical, de paciente com diástase de músculos retos do abdome. Imuno-histoquímica (400x) – colágeno tipo I.

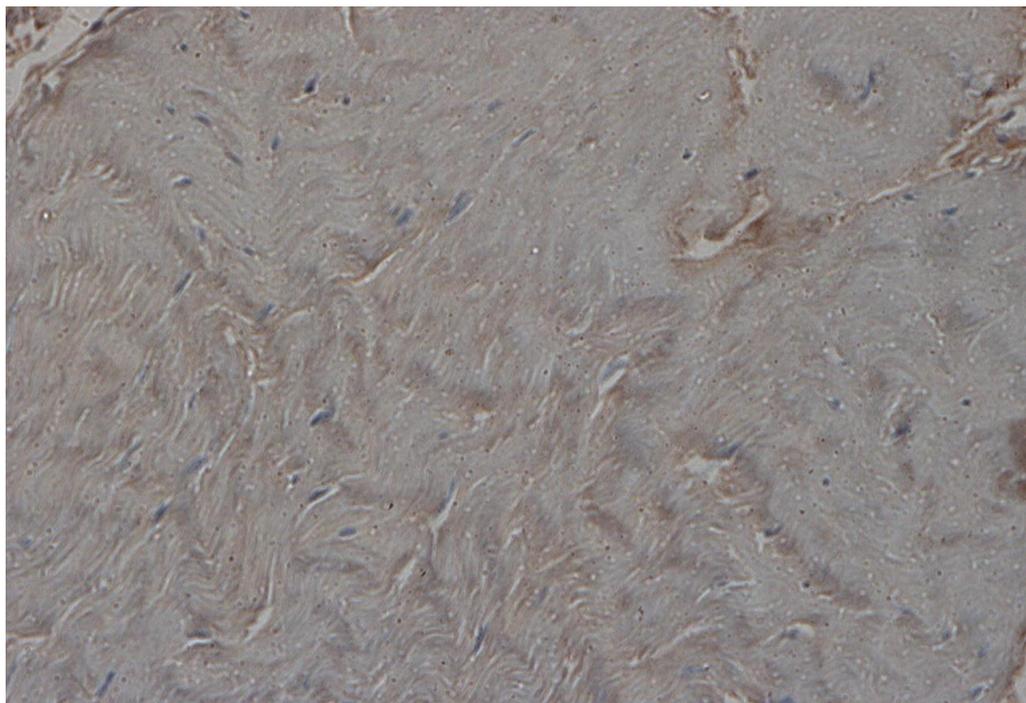


Figura 18 - Fotomicrografia de corte histológico da aponeurose da linha alba infraumbilical, de paciente sem diástase de músculos retos do abdome. Imuno-histoquímica (400x) – colágeno tipo I.

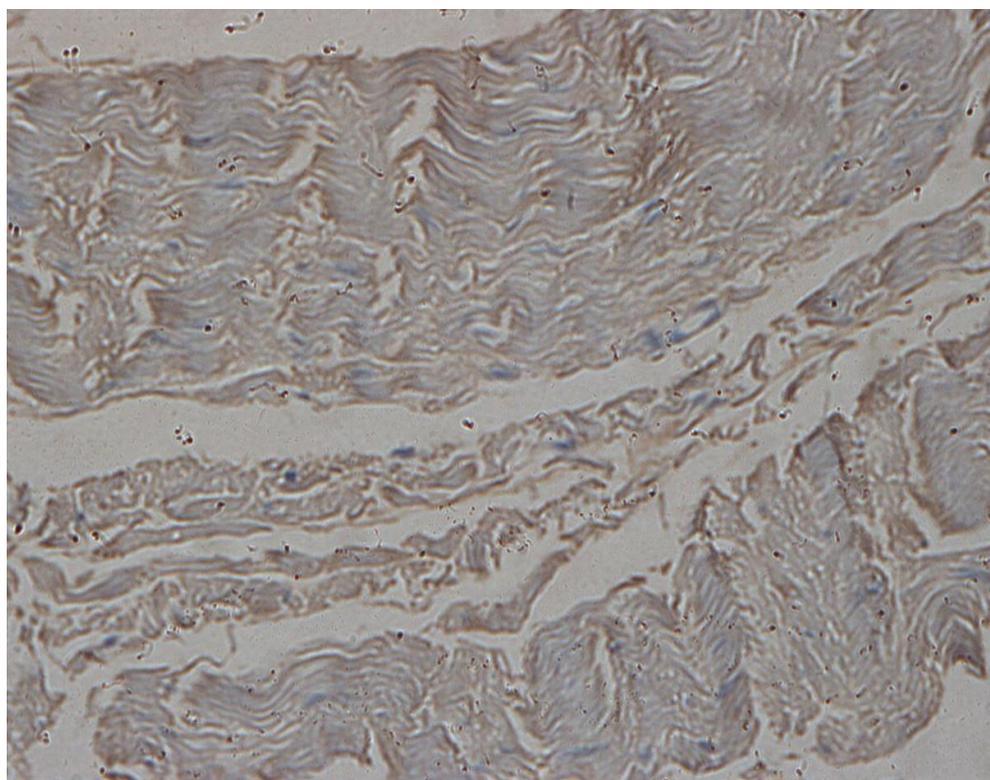


Figura 19 - Fotomicrografia de corte histológico da aponeurose da linha alba infraumbilical, de paciente com diástase de músculos retos do abdome. Imuno-histoquímica (400x) – colágeno tipo I

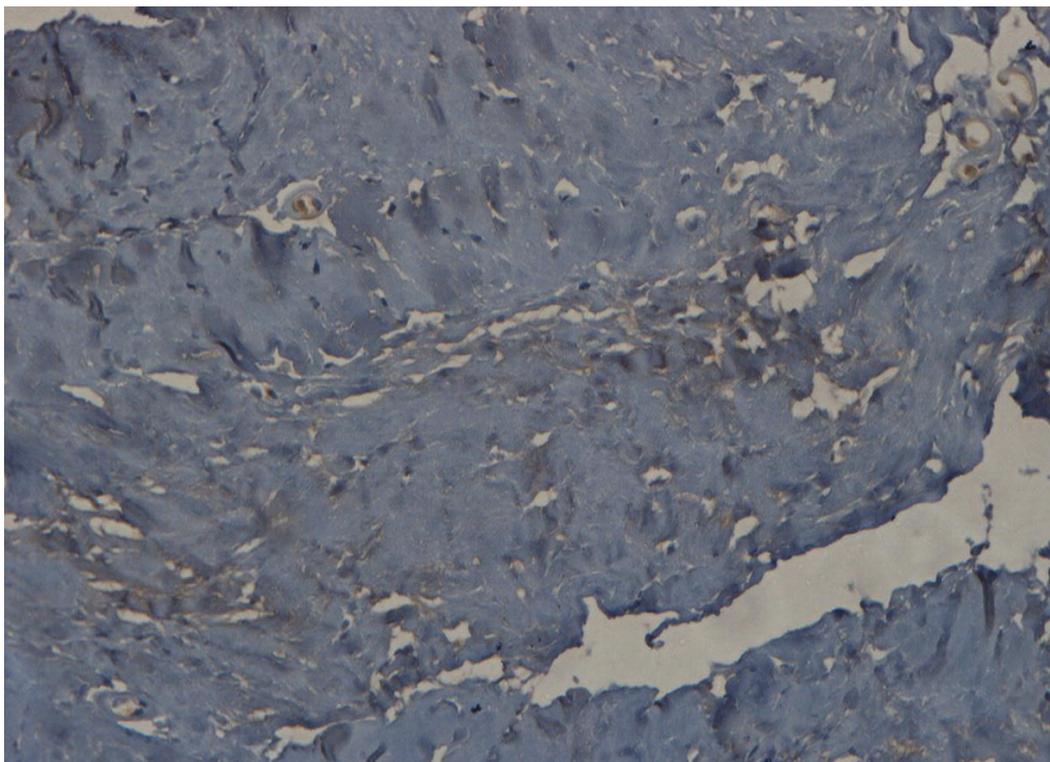


Figura 20 - Fotomicrografia de corte histológico da aponeurose da linha alba supraumbilical, de Paciente sem diástase de músculos retos do abdome. Imuno-histoquímica (400x) – colágeno tipo III.

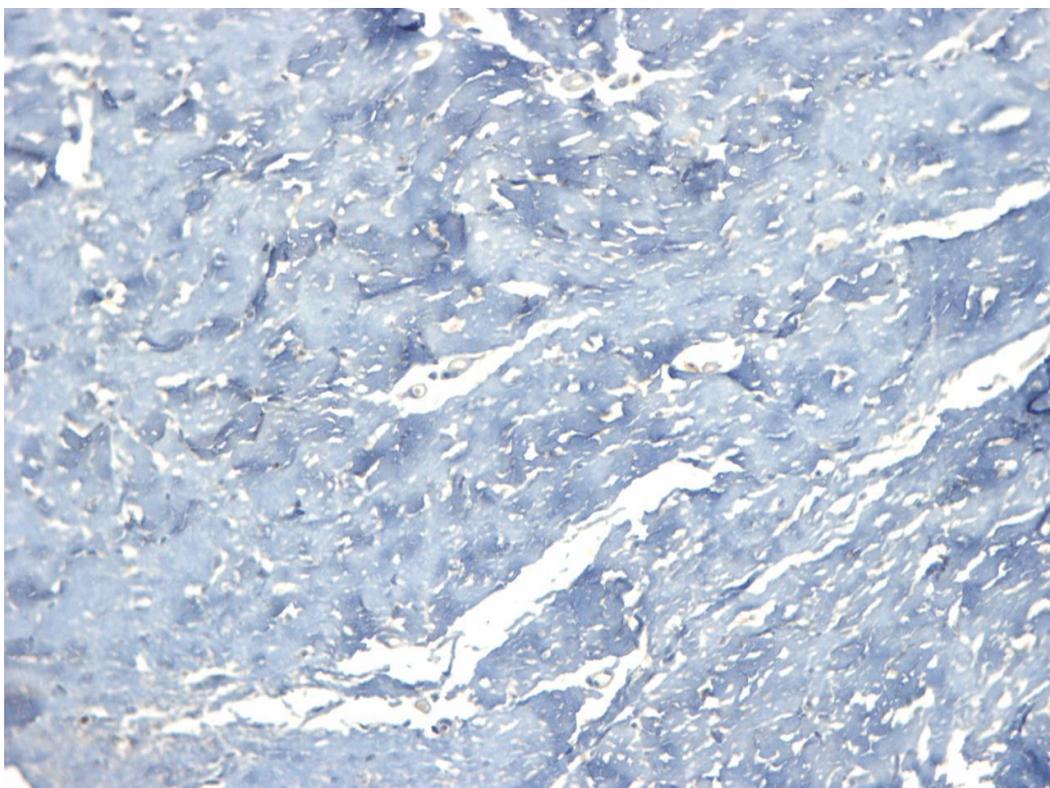


Figura 21 - Fotomicrografia de corte histológico da aponeurose da linha alba supraumbilical, de paciente com diástase de músculos retos do abdome. Imuno-histoquímica (400x) – colágeno tipo III

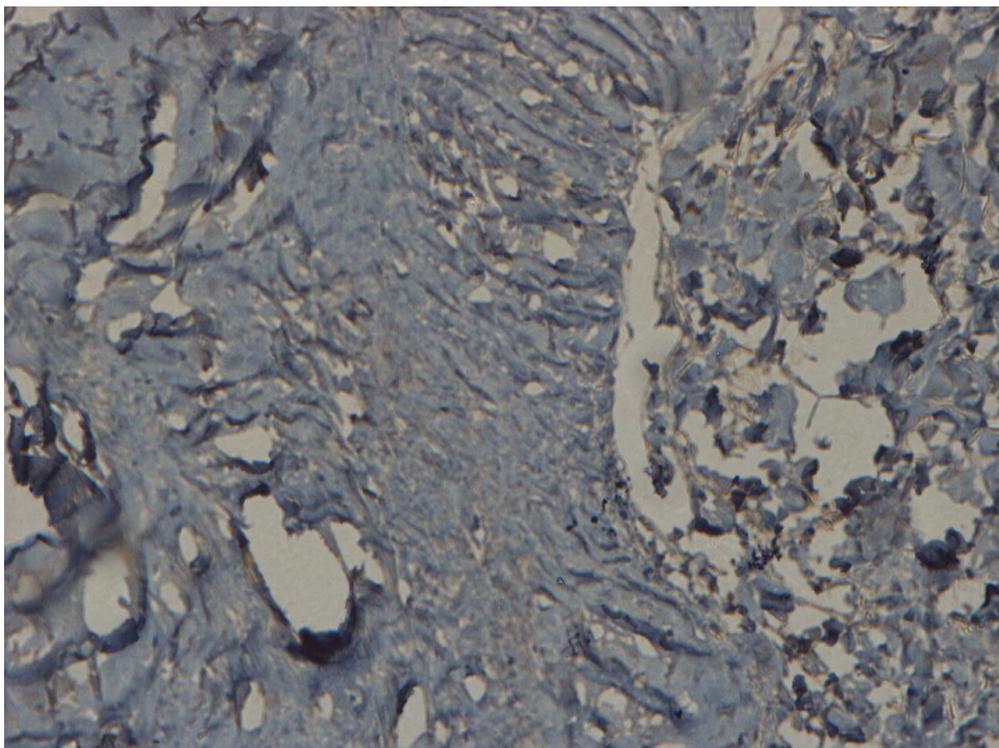


Figura 22 - Fotomicrografia de corte histológico da aponeurose da linha alba infraumbilical, de paciente sem diástase de músculos retos do abdome. Imuno-histoquímica (400x) – colágeno tipo III

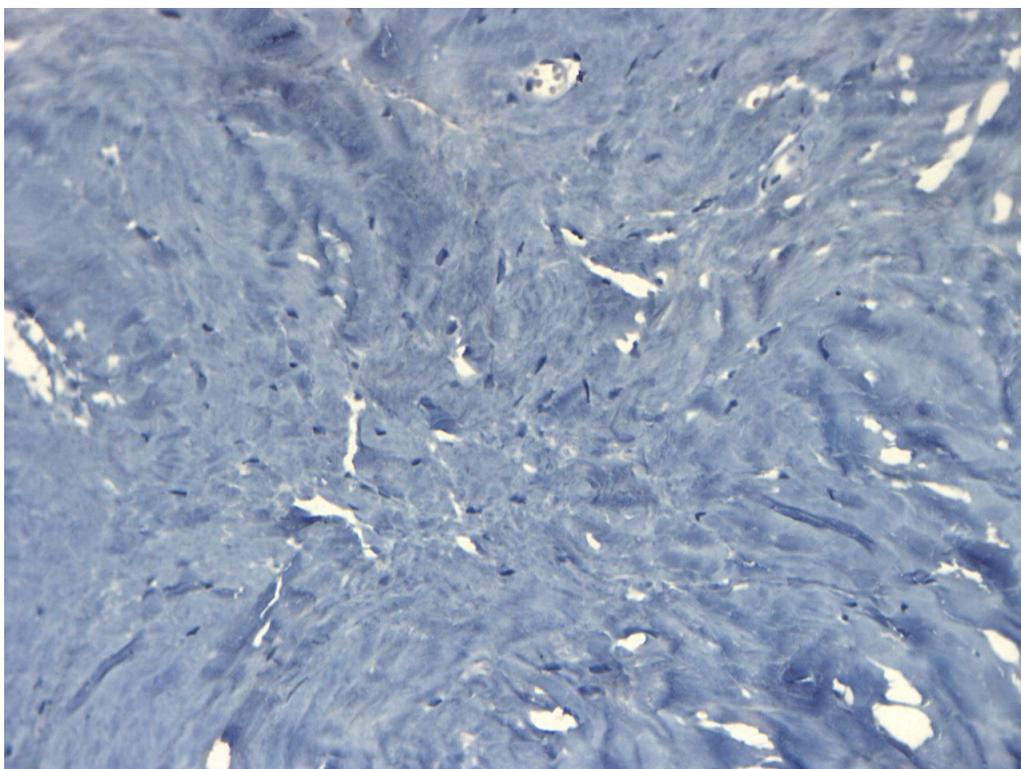


Figura 23 - Fotomicrografia de corte histológico da aponeurose da linha alba infraumbilical, de paciente com diástase de músculos retos do abdome. Imuno-histoquímica (400x) – colágeno tipo III

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram descritos por média e desvio padrão.

Inicialmente, foram feitas comparações utilizando-se o teste t de Student. Para a consideração dos potenciais efeitos confundidores da idade e do índice de massa corporal (IMC), utilizamos um modelo de análise de covariância (ANCOVA) com a inclusão desses fatores. Para a análise das razões, os valores numéricos foram transformados logaritmicamente e em postos, seguindo-se a aplicação do modelo de ANCOVA. O nível de significância adotado foi de $\alpha=0,05$.

Os dados foram analisados com o auxílio do programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, IBM, USA) versão 17.0.

4.4.1 Considerações Éticas

Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética em Pesquisa do HCPA, vinculado ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

Todas as pacientes que fizeram parte do estudo receberam e assinaram o Termo de Consentimento Cirúrgico Livre e Esclarecido (Anexo I) e foram informadas que a opção por não participar do estudo não as impedia de realizar o procedimento cirúrgico proposto.

Os pesquisadores se comprometeram a manter o anonimato das pacientes do estudo.

5 RESULTADOS

As pacientes que entraram no estudo apresentaram idade de 30 a 45 anos em ambos os grupos, conforme critério de inclusão. A média de idade do grupo com diástase foi de $39,6\pm 4,4$ anos, e do grupo sem diástase foi de $38,3\pm 3,5$ anos (Tabela 3). Nenhuma das pacientes participantes do estudo era nulípara.

A distância entre os bordos internos dos músculos RA foi medida na região supra e infraumbilical em ambos os grupos para distribuir as pacientes em grupo com ou sem o desfecho de diástase. No grupo com diástase, a média da distância entre os músculos retos do abdome na região supraumbilical foi de $3,21\pm 0,94$ cm, já na região infraumbilical foi de $2,73\pm 0,89$ cm. No grupo sem diástase, a média da distância entre os músculos retos do abdome na região supraumbilical foi de $0,98\pm 0,05$ cm, e na região infraumbilical foi de $0,89\pm 0,03$ cm (Tabela 3).

Na tabela 3 encontram-se as médias das variáveis idade, IMC e distância entre os bordos internos dos músculos retos do abdome dos dois grupos em estudo.

Tabela 3
Comparação das variáveis idade, IMC e distância entre os músculos retos do abdome entre pacientes com e sem diástase dessa musculatura

Variável	Com diástase	Sem diástase	P
	n=18	n=18	
Idade (anos)	$39,6\pm 4,4$	$38,3\pm 3,5$	0,323 ^[1]
IMC (Kg/m ²)	$25,0\pm 1,5$	$24,3\pm 1,5$	0,127 ^[1]
Distância entre os retos			
Supraumbilical (cm)	$3,21\pm 0,94$	$0,98\pm 0,05$	<0,001 ^[1]
Infraumbilical (cm)	$2,73\pm 0,89$	$0,89\pm 0,03$	<0,001 ^[1]

IMC: índice de massa corporal, P: significância estatística, [1]: teste t de Student.

Na tabela 4, estão descritas as médias dos colágenos tipo I e III supra e infraumbilicais entre as pacientes com e sem diástase de RA. Observa-se que, nas pacientes sem diástase, as medidas dos colágenos tipo I e III supra e infraumbilicais são mais elevadas ($P<0,001$).

Tabela 4
 Comparação dos colágenos tipo I e III entre pacientes com e sem diástase de músculos retos do abdome

Variável	Com diástase	Sem diástase	P
	n=18	n=18	
Colágeno tipo I (SU), Kpixels	244,5±73,5	381,1±101,1	<0,001 ^[1]
Colágeno tipo I (IU), Kpixels	217,1±58,8	397,4±82,9	<0,001 ^[1]
Colágeno tipo III (SU), Kpixels	54,3±33,1	154,9±59,4	<0,001 ^[1]
Colágeno tipo III (IU), Kpixels	58,5±36,9	152,0±68,0	<0,001 ^[1]

SU: supraumbilical, IU: infraumbilical, Kpixels: pixels x 1000, [1]: análise de covariância ajustando para os efeitos de idade e índice de massa corporal.

A Tabela 5 apresenta a razão entre o colágeno tipo III e colágeno tipo I nos dois grupos, nas regiões supra e infraumbilical. Analisando-se a quantidade de colágeno tipo III em relação ao tipo I, observa-se que há maior quantidade do tipo III tanto nas amostras supra quanto infraumbilicais das pacientes sem diástase de músculos RA quando comparadas com as pacientes com diástase. Pode-se ver também que não houve significância estatística na análise das amostras infraumbilicais.

Tabela 5
 Comparação da razão entre o colágeno tipo III e tipo I entre pacientes com e sem diástase de músculos retos do abdome

Variável	Com diástase	Sem diástase	P
	n=18	n=18	
Razão C-III/C-I (SU)	0,23±0,13	0,44±0,23	<0,001 ^[1]
Razão C-III/C-I (IU)	0,29±0,21	0,40±0,19	0,110 ^[1]

SU: supraumbilical, IU: infraumbilical, C-III: colágeno tipo III, C-I: colágeno tipo I. P: significância estatística, [1]: análise de covariância ajustando para os efeitos de idade e índice de massa corporal.

Na Figura 24, observamos os gráficos de *boxplot* representando as diferenças entre os grupos com diástase (D) e sem diástase (s/D) para os valores de colágeno tipo I supraumbilical, colágeno tipo I infraumbilical, colágeno tipo III supraumbilical, colágeno tipo III infraumbilical, bem como da razão colágeno tipo III/colágeno tipo I supraumbilicais e da razão colágeno tipo III/colágeno tipo I infraumbilicais.

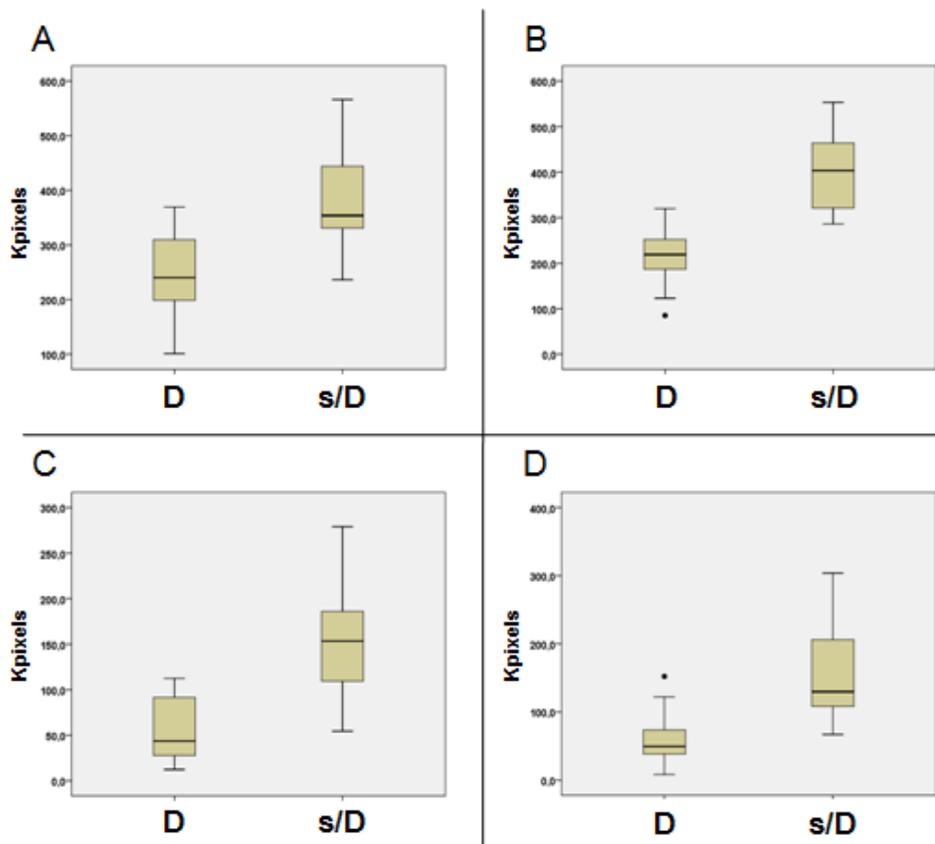


Figura 24 - Gráficos de *boxplot* representando as diferenças entre os grupos com diástase (D) e sem diástase (s/D) para as seguintes variáveis: A: colágeno tipo I supraumbilical; B: colágeno tipo I infraumbilical; C: colágeno tipo III supraumbilical; D: colágeno tipo III infraumbilical.

Na Figura 25, observamos os gráficos de *boxplot* representando as diferenças entre os grupos com diástase (D) e sem diástase (s/D) para a razão do colágeno tipo III/colágeno tipo I supraumbilicais e razão colágeno tipo III/colágeno tipo I infraumbilicais.

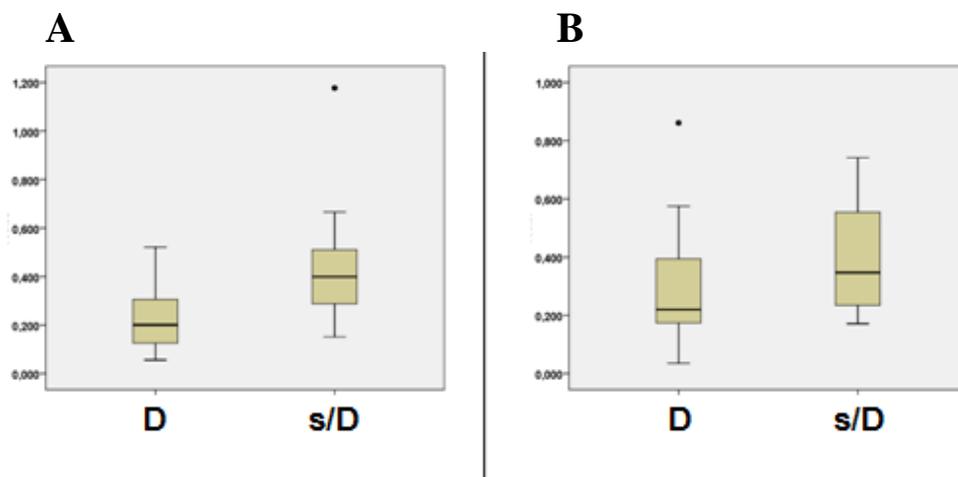


Figura 25 - Gráficos de *boxplot* representando as diferenças entre os grupos com diástase (D) e sem diástase (s/D) para as seguintes variáveis: A: razão colágeno tipo III/colágeno I supraumbilicais e B: razão colágeno tipo III/colágeno I infraumbilicais.

Resultados

1. Nas mulheres com diástase de músculos retos do abdome, a quantidade de colágeno tipo I é menor de que naquelas sem esta condição, tanto nas amostras de aponeurose da linha alba obtidas acima quanto abaixo da cicatriz umbilical.

2. Nas mulheres com diástase de músculos retos do abdome, a quantidade de colágeno tipo III é menor de que naquelas sem esta condição, tanto nas amostras de aponeurose da linha alba obtidas acima quanto abaixo da cicatriz umbilical.

3. Nas mulheres com diástase de músculos retos do abdome, a proporção entre colágeno tipo I e III é menor de que naquelas sem esta condição, nas amostras de aponeurose da linha alba acima da cicatriz umbilical. Nas amostras obtidas abaixo da cicatriz umbilical, não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos.

6 DISCUSSÃO

O presente trabalho buscou avaliar a quantidade dos colágenos tipo I e III nas aponeuroses da linha média de mulheres com diástase de músculos retos do abdome comparadas às sem essa característica.

Muitos estudos sobre o colágeno têm sido realizados e, a relação dessa proteína com a etiologia das hérnias devido ao enfraquecimento da aponeurose, já é bastante descrito, sendo que indivíduos com menor quantidade de colágeno em suas aponeuroses teriam maior propensão ao desenvolvimento de hérnias.^{6,41-43,45}

A heterogeneidade da linha média observada nas pacientes que realizaram o procedimento de dermolipectomia abdominal, e os inúmeros estudos demonstrando a importância do colágeno na estrutura e força tênsil das aponeuroses suscitaram o interesse em conhecer o índice dos colágenos tipo I e III dessa unidade anatômica.

Nosso estudo demonstrou que as pacientes sem diástase de músculos retos do abdome apresentam uma quantidade dos colágenos tipo I e tipo III maiores na linha alba quando comparadas com as pacientes que apresentavam diástase, sugerindo menor fragilidade da linha média das pacientes sem diástase.

Entre os fatores predisponentes da diástase de RA – alargamento da linha alba – são citadas as gestações prévias.⁵⁴ Estudo de Hsia e Jones, porém, mostra que existe uma grande variabilidade desta estrutura no pós-parto, sendo que algumas pacientes apresentam resolução espontânea desta condição.⁵⁵ Nosso estudo corrobora esta informação pois, nos dois grupos, todas as pacientes apresentavam gestação prévia, deixando o fato da gestação por si, ser fator causador de diástase permanente.

Essa observação também é interessante pelo fato de demonstrar a capacidade elástica dessa estrutura, ou seja, ela se alarga durante a gestação, diminuindo sua largura após o parto, com variação da resolução entre as diversas pacientes. Nossos achados encontraram maior proporção de colágeno tipo III em relação ao tipo I nas pacientes sem diástase de retos, com resultado estatisticamente significativo na região supraumbilical. Na região infraumbilical, os valores absolutos também mostraram esta maior proporção do colágeno tipo III em relação ao tipo I nas pacientes sem diástase; porém, os resultados não foram estatisticamente significativos. Talvez essa característica quanto a proporção entre os colágenos torne a estrutura menos *rígida*, permitindo a adaptabilidade.

Outra hipótese a ser testada futuramente seria a presença de fibras elásticas nessa estrutura e suas características nas pacientes com e sem diástase.

Ao analisar a diástase comparando a distância entre os bordos internos dos músculos retos do abdome, encontra-se, na literatura, que a distância entre os retos na região supraumbilical é maior que na região infraumbilical.^{29,31,56,57} Em nosso estudo, esse dado se confirmou, sendo que, das 18 pacientes com diástase, apenas uma apresentou a distância entre os bordos internos dos músculos retos do abdome infraumbilical maior que a supraumbilical. No grupo controle (sem diástase), todas as pacientes tiveram a distância entre os bordos internos desses músculos na região supraumbilical igual ou maior que a infraumbilical.

Tanto no grupo de pacientes com quanto no grupo sem diástase, encontramos proporcionalmente, em valores absolutos, mais colágeno tipo III infraumbilical quando comparados com a região supraumbilical. Isso poderia sugerir que a região infraumbilical tem constituição mais elástica, o que proporciona maior retração dessa estrutura e menor distância entre os bordos internos dos músculos retos RA. Porém, esses valores não são estatisticamente significativos.

A cavidade abdominal é exposta constantemente a *flutuações* da pressão intra-abdominal, seja por aumento do conteúdo intra-abdominal, contração da musculatura da parede abdominal anterior ou ainda por movimentação da caixa torácica. A parede abdominal anterior contrapõe esse aumento da pressão, contando com os músculos e suas aponeuroses como importantes aliados nesta tarefa. Parece razoável entender que a fraqueza das aponeuroses na linha média cause protusão abdominal, sendo que a diástase é citada por Repta³² como um dos fatores causais da protusão. Brauman³, porém, demonstrou em seu estudo que nem todas as pacientes com protusão abdominal eram possuidoras de diástase de retos, assim como nem todas as pacientes com diástase possuíam o abdome protuído. Esse achado nos faz pensar na importância da camada muscular no processo de resistência às pressões intra-abdominais em adição às aponeuroses.

A camada musculoaponeurótica da parede anterior do abdome é muito importante do ponto de vista funcional e estético. Compreender a diversidade de fatores que podem gerar a protusão abdominal, quais podem ser corrigidos e quais estão fora do controle do cirurgião é fundamental para o planejamento cirúrgico, orientação e expectativa em relação ao pós-operatório tanto para o médico quanto para o paciente, além de facilitar o entendimento de porque, muitas vezes, a plicatura aponeurótica não dá resultado satisfatório a longo prazo independente do tipo de sutura, plicatura ou fio cirúrgico utilizado.

7 CONCLUSÕES

Os resultados encontrados no presente estudo permitem concluir que existem evidências de que as menores quantidades de colágeno dos tipos I e III encontrados na aponeurose da linha média são um importante fator na diástase dos músculos retos do abdome.

REFERÊNCIAS

1. Spalteholz W. Atlas de Anatomia Humana. In. São Paulo: Editora Rocca; 1988.
2. Netter FH. Atlas of Human Anatomy. 3 ed. NJ: Editora Teterboro; 2003.
3. Brauman D. Diastasis recti: clinical anatomy. *Plast Reconstr Surg* 2008;122:1564-9.
4. Nahas FX, Barbosa MV, Ferreira LM. Factors that may influence failure of the correction of the musculoaponeurotic deformities of the abdomen. *Plast Reconstr Surg* 2009;124:334; author reply -5.
5. Nahas FX, Ferreira LM, Ely PB, Ghelfond C. Rectus diastasis corrected with absorbable suture: a long-term evaluation. *Aesthetic Plast Surg* 2011;35:43-8.
6. Fachinelli A, Maciel Trindade MR. Qualitative and quantitative evaluation of total and types I and III collagens in patients with ventral hernias. *Langenbecks Arch Surg* 2007;392:459-64.
7. Cen L, Liu W, Cui L, Zhang W, Cao Y. Collagen tissue engineering: development of novel biomaterials and applications. *Pediatr Res* 2008;63:492-6.
8. Vargas DM, Audi L, Carrascosa A. [Peptides derived from collagen: new biochemical markers of bone metabolism]. *Rev Assoc Med Bras* 1997;43:367-70.
9. Vaz M, Krebs RK, Trindade EN, Trindade MR. Fibroplasia after polypropylene mesh implantation for abdominal wall hernia repair in rats. *Acta Cir Bras* 2009;24:19-25.
10. Grevious MA, Cohen M, Shah SR, Rodriguez P. Structural and functional anatomy of the abdominal wall. *Clin Plast Surg* 2006;33:169-79, v.
11. Myriknas SE, Beith ID, Harrison PJ. Stretch reflexes in the rectus abdominis muscle in man. *Exp Physiol* 2000;85:445-50.
12. Cholewicki J, Juluru K, McGill SM. Intra-abdominal pressure mechanism for stabilizing the lumbar spine. *J Biomech* 1999;32:13-7.
13. Hodges PW. Is there a role for transversus abdominis in lumbo-pelvic stability? *Man Ther* 1999;4:74-86.
14. Misuri G, Colagrande S, Gorini M, et al. In vivo ultrasound assessment of respiratory function of abdominal muscles in normal subjects. *Eur Respir J* 1997;10:2861-7.
15. Urquhart DM, Barker PJ, Hodges PW, Story IH, Briggs CA. Regional morphology of the transversus abdominis and obliquus internus and externus abdominis muscles. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 2005;20:233-41.
16. Gracovetsky S, Farfan H, Helleur C. The abdominal mechanism. *Spine (Phila Pa 1976)* 1985;10:317-24.
17. ONeal RM, Mulka JP, Shapiro P, Hing D, Cavaliere C. Wide abdominal rectus plication abdominoplasty for the treatment of chronic intractable low back pain. *Plast Reconstr Surg* 2011;127:225-31.
18. Regnault P. The History of Abdominal Dermolipectomy. *Aesthetic Plastic Surgery* 1978;2:113-23.
19. Uebel CO. Lipoabdominoplasty: revisiting the superior pull-down abdominal flap and new approaches. *Aesthetic Plast Surg* 2009;33:366-76.
20. Ramirez OM. Abdominoplasty and abdominal wall rehabilitation: a comprehensive approach. *Plast Reconstr Surg* 2000;105:425-35.
21. Pitanguy IR, H.N. Personal Approach to Aesthetic Abdominal Deformities. In: *Aesthetic Surgery of the Abdominal Wall*. first ed: Springer; 2005:102-14.
22. Askar OM. Surgical anatomy of the aponeurotic expansions of the anterior abdominal wall. *Ann R Coll Surg Engl* 1977;59:313-21.
23. Askar OM. A new concept of the aetiology and surgical repair of paraumbilical and epigastric hernias. *Ann R Coll Surg Engl* 1978;60:42-8.

24. Korenkov M, Beckers A, Koebke J, Lefering R, Tiling T, Troidl H. Biomechanical and morphological types of the linea alba and its possible role in the pathogenesis of midline incisional hernia. *Eur J Surg* 2001;167:909-14.
25. Axer H, Keyserlingk DG, Prescher A. Collagen fibers in linea alba and rectus sheaths. I. General scheme and morphological aspects. *J Surg Res* 2001;96:127-34.
26. Axer H, von Keyserlingk DG, Prescher A. Collagen fibers in linea alba and rectus sheaths. *J Surg Res* 2001;96:239-45.
27. Grassel D, Prescher A, Fitzek S, Keyserlingk DG, Axer H. Anisotropy of human linea alba: a biomechanical study. *J Surg Res* 2005;124:118-25.
28. Nahas FX. An aesthetic classification of the abdomen based on the myoaponeurotic layer. *Plast Reconstr Surg* 2001;108:1787-95; discussion 96-7.
29. Rath AM, Attali P, Dumas JL, Goldlust D, Zhang J, Chevrel JP. The abdominal linea alba: an anatomo-radiologic and biomechanical study. *Surg Radiol Anat* 1996;18:281-8.
30. Mendes Dde A, Nahas FX, Veiga DF, et al. Ultrasonography for measuring rectus abdominis muscles diastasis. *Acta Cir Bras* 2007;22:182-6.
31. Beer GM, Schuster A, Seifert B, Manestar M, Mihic-Probst D, Weber SA. The normal width of the linea alba in nulliparous women. *Clin Anat* 2009;22:706-11.
32. Repta R, Hunstad JP. Diastasis recti: clinical anatomy. *Plast Reconstr Surg* 2009;123:1885; author reply -6.
33. Gelse K, Poschl E, Aigner T. Collagens--structure, function, and biosynthesis. *Adv Drug Deliv Rev* 2003;55:1531-46.
34. Gordon MK, Hahn RA. Collagens. *Cell Tissue Res* 2010;339:247-57.
35. Uitto J, Murray LW, Blumberg B, Shamban A. UCLA conference. Biochemistry of collagen in diseases. *Ann Intern Med* 1986;105:740-56.
36. Wess TJ. Collagen fibril form and function. *Adv Protein Chem* 2005;70:341-74.
37. Rossert J, Terraz C, Dupont S. Regulation of type I collagen genes expression. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15 Suppl 6:66-8.
38. Pucci-Minafra I, Luparello C, Andriolo M, Basirico L, Aquino A, Minafra S. A new form of tumor and fetal collagen that binds laminin. *Biochemistry* 1993;32:7421-7.
39. Jucá M, Nunes B, Menezes H, Gomes E, Matos D. Metaloproteinases 1 e 7 e câncer colorretal. *Rev Bras Colo-proct* 2008;28(3):353-62.
40. Donahue TR, Hiatt JR, Busuttil RW. Collagenase and surgical disease. *Hernia* 2006;10:478-85.
41. Rosch R, Junge K, Knops M, Lynen P, Klinge U, Schumpelick V. Analysis of collagen-interacting proteins in patients with incisional hernias. *Langenbecks Arch Surg* 2003;387:427-32.
42. Junior IW, Trindade MRM, Cerski CT. The collagen in transversalis fascia of direct inguinal hernia patients treated by videolaparoscopy. *Acta Cir Bras* 2003;18(3).
43. Henriksen NA, Yadete DH, Sorensen LT, Agren MS, Jorgensen LN. Connective tissue alteration in abdominal wall hernia. *Br J Surg* 2011;98:210-9.
44. Antoniou SA, Antoniou GA, Granderath FA, Simopoulos C. The role of matrix metalloproteinases in the pathogenesis of abdominal wall hernias. *Eur J Clin Invest* 2009;39:953-9.
45. Franz MG. The biology of hernia formation. *Surg Clin North Am* 2008;88:1-15, vii.
46. Bellon JM, Duran HJ. [Biological factors involved in the genesis of incisional hernia]. *Cir Esp* 2008;83:3-7.
47. Uitto J, Lichtenstein JR. Defects in the biochemistry of collagen in diseases of connective tissue. *J Invest Dermatol* 1976;66:59-79.
48. Cho BS, Roelofs KJ, Ford JW, Henke PK, Upchurch GR, Jr. Decreased collagen and increased matrix metalloproteinase-13 in experimental abdominal aortic aneurysms in males compared with females. *Surgery* 2010;147:258-67.
49. de Figueiredo Borges L, Jaldin RG, Dias RR, Stolf NA, Michel JB, Gutierrez PS. Collagen is reduced and disrupted in human aneurysms and dissections of ascending aorta. *Hum Pathol* 2008;39:437-43.

50. Antoniou GA, Giannoukas AD, Georgiadis GS, et al. Increased prevalence of abdominal aortic aneurysm in patients undergoing inguinal hernia repair compared with patients without hernia receiving aneurysm screening. *J Vasc Surg* 2011.
51. McPhail I. Abdominal aortic aneurysm and diastasis recti. *Angiology* 2008;59:736-9.
52. Moesbergen T, Law A, Roake J, Lewis DR. Diastasis recti and abdominal aortic aneurysm. *Vascular* 2009;17:325-9.
53. Montes GS, Junqueira LC. The use of the Picrosirius-polarization method for the study of the biopathology of collagen. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1991;86 Suppl 3:1-11.
54. Borges FS, Valentin EC. Tratamento da flacidez e diástase do reto-abdominal no puerpério de parto normal com o uso de eletroestimulação muscular com corrente de média frequência - estudo de caso. *Rev Bras Fisioterapia Dermato-Funcional* 2002;01:s/p.
55. Hsia M, Jones S. Natural resolution of rectus abdominis diastasis. Two single case studies. *Aust J Physiother* 2000;46:301-7.
56. Nahas FX, Augusto SM, Ghelfond C. Should diastasis recti be corrected? *Aesthetic Plast Surg* 1997;21:285-9.
57. Pontes R. *Abdominoplastia - Ressecção em Bloco e sua Aplicação em Lifting de Coxa e Torsoplastia*. Primeira ed: Editora Revinter; 2004.

ANEXOS

ANEXO I - TERMO DE CONSENTIMENTO CIRÚRGICO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____, CI _____,

fui informada da existência de um protocolo de pesquisa denominado **AVALIAÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA DO COLAGENO TOTAL, TIPO I E III DA LINHA ALBA EM PACIENTES DO SEXO FEMININO PORTADORAS DE DIASTASE DE MÚSCULOS RETOS DO ABDOME**. Foi-me explicado que o objetivo da pesquisa é estudar a linha média da parede do abdome das pacientes que possuem diástase (afastamento) dos músculos retos do abdome, comparando com a linha média de pacientes que não possuem esta condição. Também foi-me explicado que os médicos removerão dois fragmentos de 0,5X0,5cm da linha média (linha alba) da parede abdominal para ser enviado para exame e entendo que este procedimento não acarretará nenhum risco adicional a minha saúde ou a minha cirurgia, nem tampouco ocasionará qualquer tipo de mudança na técnica operatória a ser utilizada em meu procedimento cirúrgico.

Fui informada de que não é obrigatória minha adesão a esta pesquisa e, se não desejar participar da mesma, o procedimento cirúrgico indicado por meu cirurgião será realizado.

Foi-me esclarecido que meus dados pessoais serão mantidos em anonimato.

Tive a oportunidade de esclarecer todas as minhas dúvidas em relação ao procedimento e confirmo ter lido e compreendido todas as informações deste documento antes de sua assinatura.

() AUTORIZO a realizar documentação fotográfica de todos os procedimentos e permito que se utilize as fotos para fins acadêmicos, assegurando sempre minha privacidade, isto é: as fotos podem ser publicadas desde que sem identificação.

() NÃO AUTORIZO a realizar documentação fotográfica de todos os procedimentos e permito que se utilize as fotos para fins acadêmicos, assegurando sempre minha privacidade, isto é: as fotos podem ser publicadas desde que sem identificação.

Porto Alegre, ____/____/_____

Assinatura do Paciente

Prof. Dr. Manoel Roberto Maciel Trindade

Dra. Rosa Maria Blotta

Orientador

Mestrando

ARTIGO CIENTÍFICO

COLLAGEN TYPE I AND III AND DIASTASIS RECTI

Abstract

Background: Differences in width observed in the abdominal wall midline in patients undergoing abdominoplasty and studies showing the importance of collagen to the tensile strength of aponeurotic structures have raised interest to determine whether type I and III collagen contents in the linea alba play a role in the development of diastasis.

Patients and Methods: Samples of aponeurosis in the midline abdominal wall collected 3 cm above and 2 cm below the navel from nulliparous women with (n=18) and without (n=18) diastasis recti, a case-control study nested within a surgical cohort of 36 subjects, were immunohistochemically analyzed by ABC method using polyclonal antibodies against to type I and III collagen (DAKO) diluted at 1:500 each.

Results: Mean (SD) distance between the recti was 3.21 (0.94) cm and 2.73 (0.89) cm, and 0.98 (0.05) cm and 0.89 (0.03) cm in the supra- and infraumbilical region in the diastasis group and controls, respectively. Both type I and III collagen contents and ratio were less expressed in women with (244 vs 54) and without (381 vs 154) diastasis recti either supra- or infraumbilically (217 vs 58 and 397 vs 152; $p < 0.001$) but did not reach significance infraumbilically.

Conclusions: The lower amount of collagen type I and type III observed in the midline of the abdominal wall may play a key role in the development of diastasis recti and this may explain why linea alba plicatures sometimes fail to produce satisfactory long-term outcomes despite technique and material employed.

Keywords: abdominal wall, linea alba, diastasis recti, type I collagen, type III collagen

Introduction

The anterior abdominal wall and its structures have been the subject of countless studies.

Wide exposure of the anterior abdominal wall in patients undergoing abdominal dermolipectomy enables observation of the broad range of variation between linea alba anatomy and abdominal protrusion in these patients.

Work carried out by Brauman [1] identified patients with diastasis recti (separation of the rectus abdominis muscles with widening of the midline) and no abdominal protrusion, and patients with bulging abdomens, but no diastasis. This study also found that, in some cases, the point of greatest diastasis did not correspond to the site of greatest protrusion while in the standing position.

In an attempt to pinpoint factors that may explain failure of abdominal wall correction and containment, some studies note that deformities in the myoaponeurotic layer of the anterior abdominal wall may be caused by changes in type I and III collagen in the fascia of these structures [2,3].

Studies have shown that patients with hernias of various etiologies have lower rates of type I and III collagen as compared to cadaver controls with no history of hernia [4], highlighting the importance of collagen to the body's support structures.

An important structural role of collagen is to provide support and resistance to intra-abdominal pressure as a constituent of the abdominal fascia and aponeuroses, including the linea alba. Twenty-eight different types of collagen are currently known [5]. Type I is the most abundant form; it is the main component of aponeuroses, tendons, and mature scar tissue, and its main function is providing resistance to tensile stress. Type III collagen corresponds to what was classically described as reticular fiber, and its function is to provide

support to expandable structures. The amount of type III collagen also increases during the early stages of wound repair [4].

Studies have shown that a decline in the collagen type I/III ratio corresponds to a reduction in tissue firmness, as type III collagen provides less resistance than type I [6].

On the basis of this evidence, the present study sought to quantify type I and type III collagen and calculate the type I/III ratio in the linea alba of abdominal dermolipectomy patients with or without diastasis recti, in an attempt to ascertain whether a difference exists in the collagenous makeup of this anatomical structure in the absence or presence of diastasis.

Methods

This nested case-control study was carried out within a cohort of patients in whom classic abdominal dermolipectomy was indicated, including a group of female patients with diastasis recti and a control group of women without this condition. Type I and III collagen were quantitated in samples obtained from supra- and infraumbilical sites along the linea alba in both groups.

The case group comprised female patients between the ages of 30 and 45 years who underwent classic abdominal dermolipectomy and were diagnosed with diastasis recti according to the Rath criteria [7].

In a 1996 study of the linea alba, Rath et al. [7] proposed two definitions of diastasis recti depending on the age of the patient: in patients aged 45 years or younger, diastasis is defined as separation of the rectus abdominis muscles of more than 10mm (if above the umbilicus), 27mm (at the level of the umbilicus), or 9mm (below it); in patients older than 45, the thresholds correspond to 15mm, 27mm and 14mm respectively.⁷

The control group comprised female patients between the ages of 30 and 45 years who underwent classic abdominal dermolipectomy and did not have diastasis recti according to the Rath criteria.

The criteria for exclusion were prior abdominal surgery, abdominal hernia (diagnosed preoperatively or intraoperatively), collagen diseases, diabetes mellitus, or corticosteroid use within 1 year of the study.

All patients underwent routine preoperative clinical and laboratory assessment for abdominal dermolipectomy and were deemed fit to undergo the procedure. Smokers were automatically deemed unfit to undergo dermolipectomy and were thus excluded from the sample.

The study was approved by the Research Ethics Committee of Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil. All patients provided written informed consent.

Procedures

Abdominal dermolipectomy and specimen collection

After preoperative markings and incision, all excess lower abdominal tissue was removed down to the aponeurotic layer. The remaining skin flap was undermined and raised, exposing the muscle aponeuroses and the linea alba. Strict hemostasis was then achieved.

With the abdominal wall exposed, the medial borders of both recti were identified and stained with methylene blue. The distance between borders was measured 3.0 cm above the umbilicus and 2.0 cm below it. Depending on the measured distance, patients were diagnosed as having or not having diastasis and were then allocated to the case or control group accordingly.

Tissue samples (0.5x0.5cm) were collected from the predefined supra- and infraumbilical measurement sites. The biopsy sites were sutured with 2-0 monofilament nylon. The surgery then proceeded as usual with plication of the linea alba. The skin flap was

placed onto the abdominal wall and the umbilicus was reconstructed. Vacuum drains were placed and skin closure was performed in a layered fashion.

Specimen processing

Qualitative analysis of type I and type III collagen content was performed by the immunohistochemistry method, using polyclonal anti-collagen type I and type III antibodies (Figures 1 e 2).

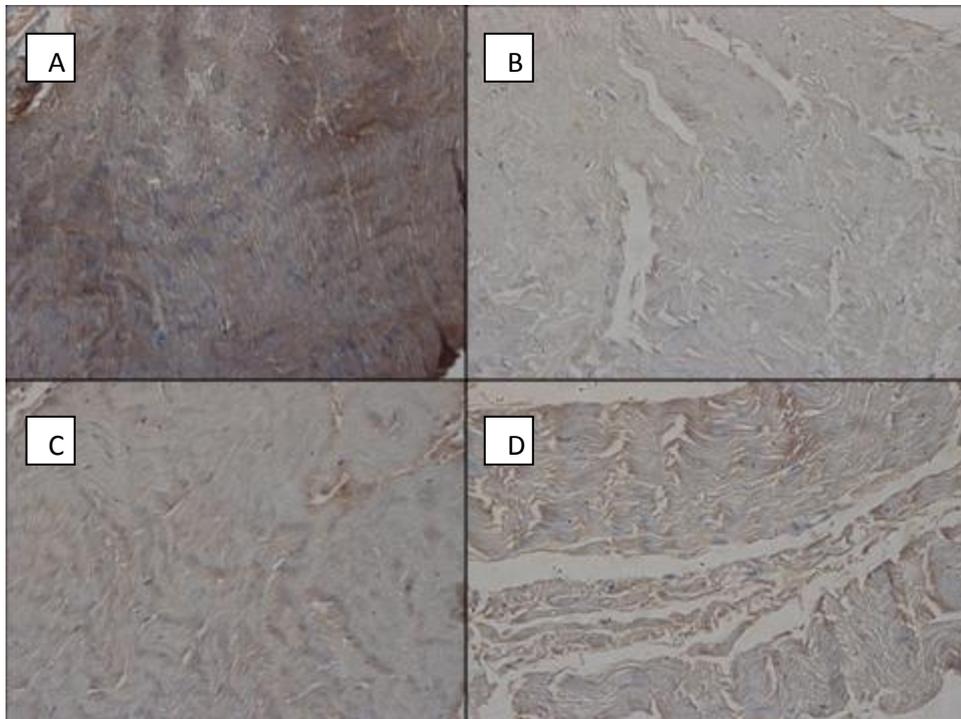


Figure 1. Photomicrograph of linea alba aponeurosis specimen, stained by immunohistochemical methods for type I collagen (original magnification, 400x). **A:** supraumbilical sample from patient with no diastasis; **B:** supraumbilical sample from patient with diastasis; **C:** infraumbilical sample from patient with no diastasis; **D:** infraumbilical sample from patient with diastasis.

Ten fields of view from each slide (original magnification, 400x) were randomly digitized for a total of 1440 images. Digitized slides were analyzed in the Image Pro-Plus software environment. Brown-stained (positive) areas were measured in each slide. To

minimize bias and interference as best as possible, the same researcher digitized and analyzed all images in the same workstation.

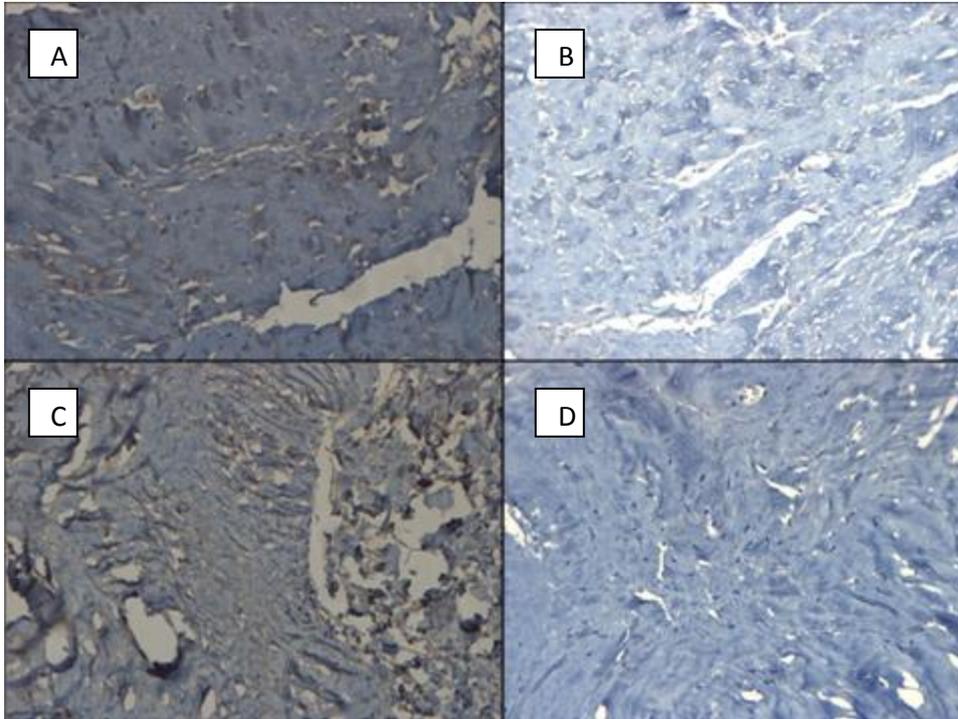


Figure 2. Photomicrograph of linea alba aponeurosis specimen, stained by immunohistochemical methods for type III collagen (original magnification, 400x). **A:** supraumbilical sample from patient with no diastasis; **B:** supraumbilical sample from patient with diastasis; **C:** infraumbilical sample from patient with no diastasis; **D:** infraumbilical sample from patient with diastasis.

Statistical analysis

Data were expressed as means and standard deviations.

The Student *t* test was used for initial comparisons. An analysis of covariance (ANCOVA) model was used to adjust for potential confounders (age and body mass index). For analysis of ratios, numerical values were log- and rank-transformed and applied to the ANCOVA model. The level of significance was set at $\alpha=0,05$.

Results

Mean patient age was 39.6 ± 4.4 years in the case (diastasis) group and 38.3 ± 3.5 years in the control (no diastasis) group (Table 1). No nulliparous patients were present in either group.

As noted in Table 1, the distance between the medial borders of the recti was measured above and below the umbilicus in all patients as part of the allocation method. In the diastasis group, the mean distance between the recti was 3.21 ± 0.94 cm in the supraumbilical region and 2.73 ± 0.89 cm in the infraumbilical region. In the control group, the mean distance was 0.98 ± 0.05 cm in the supraumbilical region and 0.89 ± 0.03 cm in the infraumbilical region (Table 1).

Table 1 shows the results of quantitative assessment of type I and III collagen and type III/I ratio in the supra- and infraumbilical samples from both study groups. In controls (no diastasis), type I and III collagen were significantly more abundant in both supra- and infraumbilical specimens ($P < 0,001$). Analysis of the type III/I ratio revealed that type III collagen was more abundant than type I collagen in supraumbilical samples of controls as compared to those of patients with diastasis. The between-group difference was not statistically significant for infraumbilical specimens.

Table 1. Between-group comparison of select study variables.

Variable	Diastasis (n=18)	No diastasis (n=18)	P
Age (years)	39.6±4.4	38.3±3.5	0.323 ^a
BMI (kg/m ²)	25.0±1.5	24.3±1.5	0.127 ^a
Distance between recti			
supraumbilical (cm)	3.21±0.94	0.98±0.05	<0.001 ^a
infraumbilical (cm)	2.73±0.89	0.89±0.03	<0.001 ^a
Type I collagen (SU), kpixels	244,5±73,5	381,1±101,1	<0.001 ^b
Type I collagen (IU), kpixels	217,1±58,8	397,4±82,9	<0.001 ^b
Type III collagen (SU), kpixels	54,3±33,1	154,9±59,4	<0.001 ^b
Type III collagen (IU), kpixels	58.5±36.9	152.0±68.0	<0.001 ^b
C-III/C-I ratio (SU)	0.23±0.13	0.44±0.23	<0.001 ^b
C-III/C-I ratio (IU)	0.29±0.21	0.40±0.19	0.110 ^b

BMI, body mass index, SU, supraumbilical; IU, infraumbilical; kpixels, pixels x1000; C-III, type III collagen; C-I, type I collagen. P, *p*-value. ^aStudent *t* test. ^banalysis of covariance adjusting for potential effects of age and BMI.

Figure 3 shows box-and-whisker plots of the differences between the diastasis (D) and no diastasis (ND) groups for supraumbilical type I collagen, infraumbilical type I collagen, supraumbilical type III collagen, infraumbilical type III collagen, as well as between-group differences i supraumbilical and infraumbilical collagen type III/I ratio.

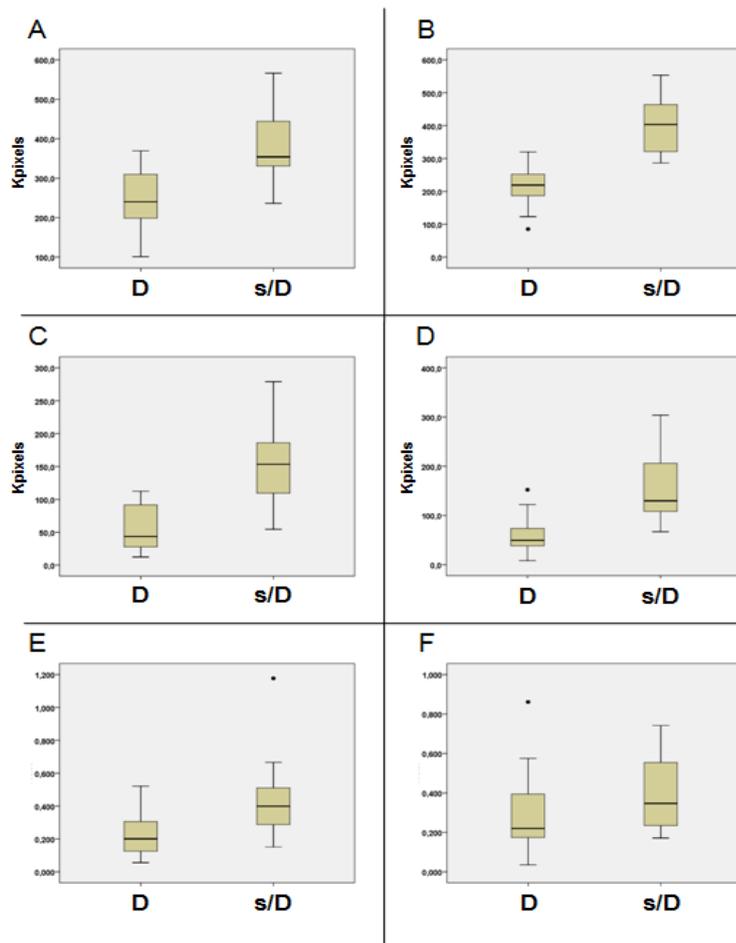


Figure 3. Box-and-whisker plots of differences between the diastasis recti (D) and no diastasis recti (ND) groups for the following variables: **A:** supraumbilical type I collagen; **B:** infraumbilical type I collagen; **C:** supraumbilical type III collagen; **D:** infraumbilical type III collagen; **E:** supraumbilical type III/I collagen ratio; **F:** infraumbilical type III/I collagen ratio.

Discussion

The present study sought to quantify and compare the amount of type I and type III collagen in the linea alba of women with and without diastasis recti.

Many studies have focused on collagen, and the association between this protein and the etiology of hernias (due to its role in weakening of aponeuroses) has been described extensively. Individuals with a lower collagen content in aponeurotic structures have been found more prone to developing hernias [4,8-11].

The observation of wide heterogeneity of the linea alba in patients undergoing abdominal dermolipectomy and the countless studies that have demonstrated the importance of collagen in the structure and tensile strength of aponeuroses aroused our interest in quantitating total collagen and type I and III collagen content in this anatomical structure.

We found that patients with no diastasis recti had higher type I and type III content in the linea alba when compared to patients with diastasis, suggesting that the linea alba is less fragile in patients who do not develop diastasis.

Pregnancy is one of the various factors that predispose to diastasis recti (widening of the linea alba) [12]. A study by Hsia and Jones [13], however, found great postpartum variability in this anatomical structure, with some patients even exhibiting spontaneous resolution of diastasis. Our findings corroborate this information, as all patients in our sample—cases and controls alike—had previously given birth, which suggests that pregnancy *per se* cannot be a causative factor of permanent diastasis recti.

This finding is also interesting in that it provides evidence of the elastic capacity of the linea alba; it widens during pregnancy and narrows in the postpartum period, although the extent of resolution of the physiological diastasis of pregnancy varies. In our sample, the collagen type III/I ratio was increased in patients with no diastasis (significantly so in linea alba specimens obtained above the umbilicus). Absolute values also supported a higher ratio of type III to type I collagen in infraumbilical samples from patients with no diastasis, despite the absence of statistical significance. This unique type III/I collagen ratio may make the linea alba less rigid and, thus, enable its adaptability to circumstances such as pregnancy.

Another hypothesis that should be tested in future is the presence of elastic fibers as structural constituents of the linea alba and their characteristics in patients with and without diastasis.

A review of the literature shows that the distance between the medial borders of the recti is greater above the umbilicus than below it [14-16,7]. This finding was confirmed in our study. Only one of 18 patients with diastasis recti had a distance between the medial borders of the recti that was greater in the infraumbilical region than in the supraumbilical region. In all controls (no diastasis), the distance between the medial borders of the recti in the supraumbilical region was equal to or greater than the distance measured below the umbilicus.

In both study groups, type III collagen was more abundant in the infraumbilical than in the supraumbilical region of the linea alba, which might suggest increased elasticity of the infraumbilical region of the abdomen, providing greater retractability and decreasing the distance between the medial borders of the recti; however, the difference was not statistically significant.

The abdominal cavity is constantly exposed to fluctuations in intra-abdominal pressure, whether due to variation in intra-abdominal contents, contraction of the abdominal wall muscles, or movement of the thoracic cavity. The anterior abdominal wall, with particular assistance from its muscles and aponeuroses, counters these increasing pressures. It is only reasonable to presume that aponeurotic weakness along the midline would lead to abdominal protrusion; accordingly, diastasis recti is cited by Repta and Hunstad [17] as one of the causative factors of protrusion. Brauman [1], however, found that not all patients with bulging abdomens had diastasis recti, and vice-versa. This finding should lead to reflection on the role of the muscle layer, and not only the aponeurotic layer, in providing resistance against intra-abdominal pressures.

Conclusions

In women with diastasis recti, type I and type III collagen—as measured in linea alba specimens collected both above and below the level of the umbilicus—are less abundant than in women without diastasis.

Furthermore, in women with diastasis recti, the collagen type III/I ratio—as measured in linea alba specimens obtained above the level of the umbilicus—is lower than in women with no diastasis (NS).

The myoaponeurotic layer of the anterior abdominal wall plays a key role in both function and aesthetics. Understanding the diversity of factors that may lead to abdominal protrusion, which are amenable to correction, and which cannot be controlled or corrected by the surgeon is essential to proper surgical planning, patient guidance, and patient and physician expectations of postoperative outcomes. Furthermore, this understanding may help explain why plication of the linea alba often fails to produce satisfactory long-term outcomes regardless of the technique and material employed.

These results shows that the lower amount of collagen type I and type III observed in the midline of the abdominal wall could be a factor in diastasis recti formation.

References

1. Brauman D (2008) Diastasis recti: clinical anatomy. *Plast Reconstr Surg* 122 (5):1564-1569. doi:10.1097/PRS.0b013e3181882493
2. Nahas FX, Barbosa MV, Ferreira LM (2009) Factors that may influence failure of the correction of the musculoaponeurotic deformities of the abdomen. *Plast Reconstr Surg* 124 (1):334; author reply 334-335. doi:10.1097/PRS.0b013e3181a83998
3. Nahas FX, Ferreira LM, Ely PB, Ghelfond C (2011) Rectus diastasis corrected with absorbable suture: a long-term evaluation. *Aesthetic Plast Surg* 35 (1):43-48. doi:10.1007/s00266-010-9554-2
4. Fachinelli A, Maciel Trindade MR (2007) Qualitative and quantitative evaluation of total and types I and III collagens in patients with ventral hernias. *Langenbecks Arch Surg* 392 (4):459-464. doi:10.1007/s00423-006-0086-9
5. Cen L, Liu W, Cui L, Zhang W, Cao Y (2008) Collagen tissue engineering: development of novel biomaterials and applications. *Pediatr Res* 63 (5):492-496. doi:10.1203/PDR.0b013e31816c5bc3

6. Vaz M, Krebs RK, Trindade EN, Trindade MR (2009) Fibroplasia after polypropylene mesh implantation for abdominal wall hernia repair in rats. *Acta Cir Bras* 24 (1):19-25. doi:S0102-86502009000100005 [pii]
7. Rath AM, Attali P, Dumas JL, Goldlust D, Zhang J, Chevrel JP (1996) The abdominal linea alba: an anatomologic and biomechanical study. *Surg Radiol Anat* 18 (4):281-288
8. Franz MG (2008) The biology of hernia formation. *Surg Clin North Am* 88 (1):1-15, vii. doi:S0039-6109(07)00157-0 [pii]
9. Henriksen NA, Yadete DH, Sorensen LT, Agren MS, Jorgensen LN (2011) Connective tissue alteration in abdominal wall hernia. *Br J Surg* 98 (2):210-219. doi:10.1002/bjs.7339
10. Rosch R, Junge K, Knops M, Lynen P, Klinge U, Schumpelick V (2003) Analysis of collagen-interacting proteins in patients with incisional hernias. *Langenbecks Arch Surg* 387 (11-12):427-432. doi:10.1007/s00423-002-0345-3
11. Wolwacz Junior I, Trindade MRM, Cerski CT (2003) [The collagen in transversalis fascia of direct inguinal hernia patients treated by videolaparoscopy]. *Acta Cir Bras* 18 (3)
12. Borges FS, Valentin EC (2002) Tratamento da flacidez e diástase do reto-abdominal no puerpério de parto normal com o uso de eletroestimulação muscular com corrente de média frequência - estudo de caso. *Rev Bras Fisioterapia Dermato-Funcional* 01
13. Hsia M, Jones S (2000) Natural resolution of rectus abdominis diastasis. Two single case studies. *Aust J Physiother* 46 (4):301-307
14. Beer GM, Schuster A, Seifert B, Manestar M, Mihic-Probst D, Weber SA (2009) The normal width of the linea alba in nulliparous women. *Clin Anat* 22 (6):706-711. doi:10.1002/ca.20836
15. Nahas FX, Augusto SM, Ghelfond C (1997) Should diastasis recti be corrected? *Aesthetic Plast Surg* 21 (4):285-289
16. Pontes R (2004) *Abdominoplastia - ressecção em bloco e sua aplicação em lifting de coxa e torsoplastia*. Editora Revinter, Rio de Janeiro
17. Repta R, Hunstad JP (2009) Diastasis recti: clinical anatomy. *Plast Reconstr Surg* 123 (6):1885; author reply 1885-1886. doi:10.1097/PRS.0b013e3181a84920