

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS CIRÚRGICAS



TESE DE DOUTORADO

ESTUDO COMPARATIVO DE

**RETRAÇÃO, RESPOSTA INFLAMATÓRIA E FIBROPLASIA EM
PRÓTESE DE POLIPROPILENO DE ALTA E BAIXA GRAMATURA**

LUCIANO ZOGBI DIAS

Porto Alegre

2012

LUCIANO ZOGBI DIAS

**ESTUDO COMPARATIVO DE
RETRAÇÃO, RESPOSTA INFLAMATÓRIA E FIBROPLASIA EM
PRÓTESE DE POLIPROPILENO DE ALTA E BAIXA GRAMATURA**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Cirurgia da Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, como requisito para obtenção do
grau de Doutor em Cirurgia.**

Orientador:

**Prof. Dr. MANOEL ROBERTO MACIEL
TRINDADE**

Porto Alegre

2012

APRESENTAÇÃO

Este trabalho consiste na tese de doutorado do Dr. Luciano Zogbi Dias, sob orientação do Prof. Dr. Manoel Roberto Maciel Trindade, intitulada ESTUDO COMPARATIVO DE RETRAÇÃO, RESPOSTA INFLAMATÓRIA E FIBROPLASIA EM PRÓTESE DE POLIPROPILENO DE ALTA E BAIXA GRAMATURA, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Cirúrgicas, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, obtendo aprovação com conceito A por unanimidade, em 4 de dezembro de 2012.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alcino Lázaro da Silva, Universidade Federal de Minas Gerais ó UFMG

Prof. Dr. Cirênio de Almeida Barbosa, Universidade Federal de Minas Gerais ó FCMMG

Prof. Dr. Luis Fernando Moreira, Universidade Federal do Rio Grande do Sul ó UFRGS

Profa. Dra. Susi Heliene Lauz Medeiros, Universidade Federal do Rio Grande ó FURG

RESUMO

Introdução: Na cirurgia das hérnias da parede abdominal, as próteses de baixa gramatura têm sido valorizadas por conter menor quantidade de material sintético, diminuindo o desconforto crônico e ainda assim permitindo um reforço seguro. Durante a cicatrização, a tela está sujeita a uma diminuição de sua área, conhecida por retração. Os objetivos deste estudo são avaliar e comparar entre telas de alta (A) e baixa (B) gramatura: o percentual de retração, a resposta inflamatória e a fibroplasia. **Métodos:** Os dois tipos de tela foram fixados anteriormente à fáscia abdominal íntegra de 25 ratos *Wistar*. Os animais foram divididos em 3 grupos e reoperados em 7, 28 e 90 dias, para a aferição das dimensões das próteses. A resposta inflamatória foi avaliada pela análise histológica corada com hematoxilina-eosina, quantificando-se neutrófilos, linfócitos, células gigantes e macrófagos perifilamentares. A fibroplasia foi avaliada por imuno-histoquímica mensurando os tipos I e III de colágeno. **Resultados:** A taxa mediana de retração da tela A foi nula em 7 dias (p 0,647); de 2,76% em 28 dias (p 0,020) e de 2,5% em 90 dias (p 0,013). A tela B retraiu 3,71% em 7 dias (p 0,040), 4,52% em 28 dias (p 0,014) e 5,0% em 90 dias (p < 0,001). Houve maior retração na tela B do que na A em 7 (p 0,036) e 90 dias (p 0,038). Na análise histológica, a quantidade de neutrófilos foi significativamente maior na tela B no 7º dia pós-operatório (p 0,008), diminuindo em ambos os tipos de telas e assemelhando-se à tela A aos 90 dias. Os linfócitos apresentaram níveis semelhantes no 7º dia pós-operatório, diminuindo em ambos os tipos de telas, especialmente na tela B, com uma diferença de aproximadamente 50% (p < 0,001). Houve mais macrófagos e células gigantes na tela B aos 7 dias, em comparação com A (p < 0,001), porém apresentaram aumento progressivo na tela A, invertendo as taxas aos 90 dias (p < 0,001). Conforme o tempo pós-implante, houve aumento progressivo da razão de colágeno I/III, de cerca de 5x aos 90 dias, nos 2 tipos de tela (p < 0,001), sem diferença entre elas. **Conclusão:** A tela B apresentou maior retração tanto precoce quanto tardiamente, maior resposta inflamatória precoce e menor reação tardia de corpo estranho do que a tela A, sem comprometer a adequada formação de colágeno.

DESCRITORES: Telas cirúrgicas, parede abdominal, cicatrização de feridas, hérnia, colágeno, experimentação animal.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 ó Fotografias do alojamento dos ratos. A- Medidor de temperatura e umidade relativa do ar; B- Gaiola contendo menos de 5 ratos, com água e ração *ad libidum* 19
- Figura 2 ó Organograma representativo dos grupos de estudo 20
- Figura 3 ó Fotografia das próteses utilizadas: A - tela A; B - tela B 21
- Figura 4 ó Fotografia mostra tela A à direita e tela B à esquerda do rato, fixadas nas suas extremidades à fáscia anterior 23
- Figura 5 ó Fotografia da parede abdominal, amplamente dissecada, expondo ambas as próteses, já incorporadas à aponeurose aos 7 dias pós-operatórios 24
- Figura 6 ó Fotografia de ressecção da parede abdominal com a tela em bloco, no rato número 5 25
- Figura 7 ó Fotografias das próteses integradas à parede abdominal, completamente removidas em bloco. A e C ó telas A; B e D ó tela B 26
- Figura 8 ó Fotografias do armazenamento das peças em solução de formalina, separadamente e identificadas, para posterior confecção dos blocos de parafina 26
- Figura 9 ó Fotomicrografia das telas extraídas ao 7º dia pós-operatório, do rato número 5, mediante coloração H.E., evidenciando todas as camadas da parede abdominal do rato. A camada mais superficial, acima, corresponde ao tecido conjuntivo neoformado adjacente aos filamentos da prótese. A - Tela A; B - Tela B. Observar a maior espessura e maior densidade de filamentos (F) na tela A e o tamanho maior dos poros (P) na tela B 27
- Figura 10 ó Fotografia do sistema de captura de imagens para mensuração do colágeno. É possível observar os filamentos (F) de tela cortados transversalmente, revestidos por macrófagos (M) bem como o tecido conjuntivo neoformado no meio dos poros (P) da tela. O tecido corado em marrom corresponde à deposição de colágeno (C) marcado pela IHQ. À direita, observa-se o ajuste padronizado para a detecção das imagens 28
- Figura 11 ó Método de contagem dos pixels, correspondentes ao colágeno marcado por IHQ. A - Foto original da aponeurose recoberta pela tela, corada por IHQ com anticorpos para colágeno tipo 1; B - Marcação dos elementos corados em marrom (colágeno tipo 1), utilizando o programa *Image Pro Plus*; C - Separação dos elementos previamente selecionados e marcados pelo programa, para contagem específica de pixels corados 29

Figura 12 ó Gráfico comparativo da média de ganho de peso, expresso em gramas, entre os grupos ($P < 0,001$)	31
Figura 13 ó Gráfico comparativo da área de cada tela antes e 7 dias após o experimento	33
Figura 14 ó Gráfico comparativo da área de cada tela antes e 28 dias após o experimento	35
Figura 15 ó Gráfico comparativo da área de cada tela antes e 90 dias após o experimento	36
Figura 16 ó Gráfico comparativo do percentual mediano de retração entre os grupos	37
Figura 17 ó Gráfico comparativo da contagem de neutrófilos. Observar a diminuição progressiva em ambos os grupos (tela A, $p = 0,05$; tela B, $p = 0,002$)	39
Figura 18 ó Gráfico comparativo da contagem de linfócitos. Observar a estabilidade no grupo que recebeu a tela A e a queda progressiva nos ratos portadores da tela B ($p < 0,001$)	40
Figura 19 ó Gráfico comparativo da contagem de células gigantes. Observar o aumento expressivo nos ratos hospedeiros da tela A ($p < 0,001$)	41
Figura 20 ó Gráfico comparativo da contagem de macrófagos. Evolução semelhante à das células gigantes, predominando na tela A aos 90 dias ($p < 0,001$)	42
Figura 21 ó Gráfico comparativo entre os tipos I e III de colágeno nas telas A em 7, 28 e 90 dias. Foram significativas somente as diferenças do tipo I entre 7 e 28 dias ($p = 0,04$) e do tipo III entre 7 e 90 dias ($p < 0,001$)	43
Figura 22 ó Gráfico comparativo entre os tipos I e III de colágeno nas telas B em 7, 28 e 90 dias. Essas diferenças não foram significativas ($p > 0,05$)	43
Figura 23 ó Gráfico comparativo da razão I/III de colágeno entre as telas A e B. Ao comparar 7, 28 e 90 dias, símbolos diferentes (# e *) representam médias estatisticamente diferentes ($p < 0,001$). Símbolos iguais (#) indicam ausência de diferença significativa	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 ó Medidas das dimensões das telas após 7 dias da intervenção inicial	33
Tabela 2 ó Medidas das dimensões das telas após 28 dias da intervenção inicial	34
Tabela 3 ó Medidas das dimensões das telas após 90 dias da intervenção inicial	36
Tabela 4 ó Resultados dos percentuais de retração das telas A e B nos 3 tempos aferidos	37
Tabela 5 ó Contagem de neutrófilos	38
Tabela 6 ó Contagem de linfócitos	39
Tabela 7 ó Contagem de células gigantes	40
Tabela 8 ó Contagem de camadas de macrófagos	41
Tabela 9 ó Contagem de pixels correspondentes aos tipos de colágeno marcado	44
Tabela 10 ó Médias das razões de colágeno I/III	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
CP	Centro de Pesquisa
DP	Desvio padrão
DPI	<i>Dots per inch</i> ó pontos por polegada
EP	Erro padrão
FIPE	Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos
GEE	<i>Generalized Estimating Equations</i> - Equações de Estimação Generalizadas
GPPG	Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
HE	Hematoxilina-eosina
IC	Intervalo de confiança
IHQ	Imuno-histoquímica
LSAB	<i>Labeled streptavidinóbiotin</i> - complexo estreptavidina-biotina
PP	Polipropileno
SPSS	<i>Statistical Package for Social Sciences</i> ó Programa de Estatística para Ciências Sociais
Tela A	Tela de alta gramatura
Tela B	Tela de baixa gramatura
UEA	Unidade de Experimentação Animal

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
2.1 HISTÓRICO.....	13
2.2 COLÁGENO	14
2.3 IMUNOHISTOQUÍMICA.....	14
2.4 A TELA E A CICATRIZAÇÃO	15
2.5 RETRAÇÃO DA TELA	16
2.6 TIPOS DE TELA.....	16
3 OBJETIVOS	18
4 MÉTODOS	19
4.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO.....	19
4.2 ASPECTOS ÉTICOS.....	19
4.3 AMOSTRA	19
4.4 GRUPOS DE ESTUDO.....	20
4.5 IMPLANTE.....	21
4.6 TÉCNICA CIRÚRGICA	22
4.7 PERÍODOS DE OBSERVAÇÃO	23
4.8 NECROPSIA.....	24
4.9 ANÁLISE HISTOLÓGICA	26
4.9.1 Hematoxilina-Eosina.....	26
4.9.2 Imunohistoquímica	27
4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	29
5 RESULTADOS	31
5.1 ANÁLISE MACROSCÓPICA	32
5.1.1 Grupo 1 ó 7 dias.....	32
5.1.2 Grupo 2 ó 28 dias.....	33
5.1.3 Grupo 3 ó 90 dias.....	35
5.2 ANÁLISE MICROSCÓPICA	38
5.2.1 HISTOLOGIA	38
5.2.2 COLÁGENO	42
6 DISCUSSÃO	46
7 CONCLUSÕES	52
REFERÊNCIAS	53
APÊNDICE ó Banco de dados.....	61
APÊNDICE A ó Avaliação macroscópica das dimensões das telas e peso dos ratos.....	61
APÊNDICE B ó Avaliação numérica das células inflamatórias.....	62
APÊNDICE C ó Médias dos tipos de colágeno	64
ANEXOS ó Artigo original para publicação	66

1 INTRODUÇÃO

A hérnia da parede abdominal é uma afecção cirúrgica de elevada prevalência e o seu tratamento está entre os procedimentos operatórios mais realizados no mundo. Pelo fato de sua anatomia ser plenamente conhecida em detalhes há mais de um século, o seu tratamento havia sido subestimado achando-se que a hérnia seria facilmente curável com suturas. Entretanto, a hérnia não é apenas um problema anatômico, mas uma doença sistêmica. Um tecido conjuntivo frágil pela diminuição ou alteração das fibras de colágeno pode romper-se mesmo após uma sutura perfeita. Tendo em vista essa fragilidade, seja por fatores ambientais, constitucionais, ou mesmo inerente ao processo de envelhecimento, cogitou-se a necessidade de acrescentar um tecido de reforço na zona de correção da hérnia¹⁻¹⁰. Uma ampla diversidade de materiais foi estudada com este propósito, sendo o polipropileno (PP) o mais difundido no mundo. Utilizando esse método, o índice de recidiva, outrora superior a 10%, caiu a menos de 1%^{1-5,11-20}.

Os espaços vazios entre os filamentos da tela denominam-se poros. É por meio deles que se infiltram os fibroblastos, responsáveis pela síntese de fibras colágenas com consequente construção de tecido conjuntivo denso, integrando a prótese ao organismo. Dos mais de 20 tipos de colágeno conhecidos, os tipos I e III são os predominantes em aponeuroses e tendões. As fibras de colágeno do tipo III são mais delgadas, elásticas e predominam no início da cicatrização. As fibras do tipo I, por sua vez, são mais espessas e conferem resistência ao tecido, aumentando a sua concentração tardiamente na cicatrização. Quanto maior o diâmetro dos poros, maiores e mais rápidas serão a fibroplasia, a angiogênese e a presença de células imunocompetentes, visando a aumentar a resistência mecânica e a proteger de germes infectantes. O afluxo das células inflamatórias inicia-se com neutrófilos, os quais participarão da fase inicial da cicatrização, seguida da migração dos macrófagos e linfócitos. Os macrófagos unidos poderão formar células gigantes multinucleadas para aumentar a sua capacidade fagocítica. À medida que a fase inflamatória diminui, a fase de síntese do tecido conjuntivo vai ganhando espaço com a deposição de colágeno^{10,11,16,21-24}.

Pela sua facilidade, segurança e baixo índice de recidiva, o uso de prótese na cirurgia corretiva de hérnia tornou-se consenso, seja na abordagem aberta ou na abordagem videolaparoscópica^{1-5,16-20,23,25}. Entretanto, a presença do biomaterial não é isenta de complicações, podendo ocorrer desconforto local e retração do implante. A retração é um fenômeno bem documentado durante a cicatrização, estando sujeito a ocorrer mesmo meses

após a implantação da prótese e pode propiciar à recorrência da hérnia. Sua causa é desconhecida, mas sugere-se que a mesma ocorra como resultado da fibroplasia e do remodelamento do tecido conjuntivo no interior da malha^{11,25-35}.

A resistência mecânica tecidual induzida pela presença da prótese é tamanha, que suporta uma tensão de ruptura músculo-aponeurótica bem maior do que a da parede abdominal sadia. Além disso, ocorre uma redução na elasticidade natural da aponeurose após a implantação da tela, devido à incongruência na resistência entre o tecido receptor e o biomaterial, o que pode aumentar ainda mais o desconforto ocasionado pela presença do corpo estranho. Dessa forma, parece vantajoso utilizar próteses sem aquela resistência excessiva, porém com maior elasticidade. Assim, foram desenvolvidas próteses de baixa gramatura, aqui abreviadas como telas B, também denominadas de baixa densidade ou de baixo peso, conhecidas na língua inglesa como *lighweight meshes*, caracterizadas por menor concentração de material sintético e poros de maior diâmetro (>1.000 μ m) do que as telas de alta densidade ou telas A^{13,25,36-50}. As telas B oferecem algumas vantagens em relação ao desconforto crônico e à sensação de corpo estranho, embora estejam associadas a um possível aumento do risco de recorrência da hérnia em grandes defeitos herniários. Alguns autores afirmam que as telas B parecem causar menor reação inflamatória, induzir a menor formação de tecido fibrótico e a retrair menos^{4,5,25,36-52}.

São poucos os estudos experimentais que buscam avaliar a retração das malhas sintéticas e apresentam resultados bastante variáveis. Alguns trabalhos mostram, inclusive, resultados contraditórios, referindo paradoxalmente a expansão da tela e de seus poros²⁸. Saber se uma prótese retrai e em que proporção é de grande valia, para que o cirurgião deixe a tela com margem de segurança adequada à área em questão e permita que a reconstituição permaneça livre de tensão. Do contrário, uma malha de dimensão inadequadamente pequena, ao retrair, possibilitaria maior chance de recidiva da hérnia. Por outro lado, margens excessivamente grandes aumentam a quantidade de corpo estranho e desconforto ao paciente. Desta forma, deve-se evitar a falta, mas também o excesso de implante em uma operação. Daí a importância de conhecer a taxa esperada de retração de cada biomaterial para escolher o tamanho mais adequado da prótese a ser utilizada^{11,27-35,46,49,51-53}.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 HISTÓRICO

A hérnia é a entidade nosológica mais frequentemente operada na cirurgia geral, podendo ser encontrada em mais de 10% da população^{4,5,10}. Sua incidência cumulativa aos 80 anos atinge 46% dos homens e 13% das mulheres⁵⁴. Antes do advento das próteses, os anatomistas pensavam conhecer todos os seus detalhes e subestimavam o seu tratamento. Todavia, mesmo utilizando uma técnica de sutura ideal, os índices de recorrência permaneciam e tornarão a continuar acima de 10% sem o uso de alguma tela de reforço^{1-5,10,16-20}. Ainda nesse período, pelo menos dois cirurgiões acertaram o rumo das pesquisas, sem nem imaginarem o sucesso que viria a ser o mercado das próteses cerca de um século depois: no século XIX, Billroth afirmou que se fosse possível produzir tecidos com a densidade e resistência da fáscia e do tendão, o segredo da cura radical da hérnia estaria descoberto^{41,55}. Em 1924, Keith afirmou que tendões, fáscias e tecidos conjuntivos não eram estruturas passivas ou mortas e sim tecidos vivos. Mais do que isso, afirmou também que o fato de as hérnias serem tão frequentes em idosos levava a suspeitar de que uma alteração patológica nos tecidos conectivos pudesse tornar alguns indivíduos particularmente suscetíveis a desenvolver hérnia⁵⁶. Na ocasião, seu conceito foi pouco valorizado em favor de se acreditar que as protrusões ocorressem devido a defeitos anatômicos congênitos preexistentes⁵⁷. Diversos materiais foram utilizados em pesquisa para a confecção de próteses, como prata, seda, vitálio, tântalo, categute e muitos outros^{1,2,16}, até que Usher obteve êxito com o PP (*Marlex*®, Bard, UK) nos anos 60^{18,19}. Este material foi amplamente estudado por Falci² e Lichtenstein²⁰ tempos depois. Sua malha é composta por fios monofilamentados produzidos pela polimerização do PP, um derivado do gás propano. Estudos demonstram que a força tênsil do PP implantado em tecido orgânico mantém-se inalterada ao longo do tempo e é facilmente esterilizável em autoclave, sem alterar suas propriedades, preenchendo os quesitos de uma tela ideal desejados por Cumberland e Scales ainda na década de cinquenta^{1,2,14-18}. É o material mais utilizado, tanto para uso clínico, quanto em grupos controle de experimentos para testar novos materiais¹¹⁻¹⁸. A prótese promove um aumento de resistência muito acima da resistência normal de uma parede abdominal sadia, suportando mais de cinco vezes a tensão de ruptura músculo-aponeurótica^{23,36,58}.

Esta resistência não se deve diretamente pela presença da tela, pois sua malha é relativamente frágil. Deve-se sim, pelo tecido conjuntivo rico em colágeno, sintetizado pelo hospedeiro na trama que a tela oferece como um alicerce^{1-5,16,23,36,41}.

2.2 COLÁGENO

O colágeno é a principal proteína da matriz extracelular e é importante componente de fâscias, tendões e ligamentos, promovendo resistência a essas estruturas. Existem mais de vinte tipos de colágeno descritos. No tecido aponeurótico, são encontrados os tipos I e III. O tipo I é o mais comum e corresponde a 90% do total de colágeno no ser humano. Pode ser sintetizado por odontoblastos e osteoblastos e, na aponeurose, pelos fibroblastos, sendo organizado em espessos e fortes filamentos. É conhecido por colágeno maduro por predominar nas fases tardias da cicatrização. O colágeno do tipo III ou imaturo, é composto por filamentos mais delgados, frágeis e elásticos e está presente em tecidos que requerem maior elasticidade, como pele, músculo, fâscia e ligamento, e também em um período precoce da cicatrização. Por ser tecido vivo, o tecido conjuntivo está constantemente sintetizando e degradando colágeno, mantendo-o em equilíbrio conforme a necessidade^{6-10,54,59-61}.

Uma forma de estimar a resistência de um tecido é pela divisão entre os tipos de colágeno I e III, conhecida como razão I/III. Com base nesta fórmula, vários estudos apontam para a natureza histopatológica da hérnia, e não meramente anatômica, evidenciando que indivíduos com hérnia inguinal adquirida, inguinal recorrente ou hérnia incisional apresentam índices I/III mais baixos do que indivíduos sem hérnia ou com hérnia inguinal congênita. Para reforçar a teoria, não há diferença na razão I/III entre crianças com e sem hérnia inguinal congênita. Quando alterados, estes valores podem ser observados não somente no local da hérnia, mas também de qualquer outra porção da fâscia e de outros tecidos, como na pele e até mesmo no pericárdio. Em estudos que envolvem biomateriais, a razão I/III pode ser utilizada como parâmetro para avaliar a fibroplasia em resposta ao material utilizado^{59,62-66}.

2.3 IMUNOHISTOQUÍMICA

Existem vários métodos para quantificar os tipos de colágeno e um deles é pela reação imunohistoquímica (IHQ). A IHQ é uma técnica essencialmente qualitativa e seu objetivo é a

localização topográfica do antígeno marcado no tecido. Anticorpos anti-colágeno I e III ligam-se especificamente aos seus respectivos alvos e a visualização dessa interação antígeno-anticorpo será obtida pela conjugação do anticorpo a uma enzima, como a peroxidase. Esta catalisará uma reação que produzirá cor. Há duas estratégias usadas para a detecção IHQ de antígenos nos tecidos: o método direto e o indireto. O método direto utiliza apenas um anticorpo e o procedimento é, portanto, simples e rápido. Entretanto, pode sofrer problemas com sensibilidade devido à pequena amplificação de sinal. O método indireto envolve um anticorpo primário não-marcado na primeira camada, que reage com o antígeno do tecido; e um anticorpo secundário marcado com a enzima na segunda camada, que reage com o anticorpo primário, levando à positividade do teste. Este método é mais sensível devido à amplificação de sinal através de diversas reações de anticorpos secundários com diferentes sítios antigênicos do anticorpo primário^{67,68}.

2.4 A TELA E A CICATRIZAÇÃO

A prótese funciona como um arcabouço, sua malha é composta por filamentos entrelaçados e o espaço vazio entre esses filamentos denomina-se poro. É através dos poros que as células do hospedeiro permeiam a malha. Alguns estudos afirmam que quanto maior o diâmetro dos poros, maiores e mais rápidas serão a entrada de células inflamatórias e a fibroplasia.^{1,2,10,11,16,21-24,30,35,36,43,69,70} Este processo inicia com a chegada das células de defesa para a limpeza e preparação da área a ser construída, tal qual ocorreria em uma cicatrização normal, sem prótese. A reação tecidual usualmente inicia-se com um pronunciado processo inflamatório através de toda a área da tela. São observados edema e necrose do tipo fibrinoide envolvendo os filamentos da malha com um denso infiltrado de neutrófilos e macrófagos, que são os dois tipos celulares predominantes no início, enquanto que os linfócitos costumam ser menos comuns neste primeiro momento. O edema desaparece em até três semanas após a implantação. Os macrófagos teciduais costumam ter elevada taxa de colonização e desempenham papel muito importante na cicatrização, intermediando as reações celulares pela liberação de citocinas e fagocitando elementos indesejáveis. Quando o material a ser fagocitado impõe maior dificuldade, os macrófagos juntam-se e transformam-se em células gigantes multinucleadas ou gigantócitos. Estes, por sua vez, podem originar o granuloma de corpo estranho, observado na reação inflamatória tardia, enquanto os neutrófilos tendem a diminuir até o completo desaparecimento. Mesmo decorridos 90 dias da

implantação, os macrófagos permanecem como as células inflamatórias dominantes^{21-24,32,47,71}. Seguirá a síntese do tecido conjuntivo com a angiogênese e com a deposição de colágeno pelos fibroblastos, preenchendo os poros da tela e constituindo um tecido mais forte e resistente do que uma aponeurose^{1-3,16,36,37,41}. A deposição de colágeno é acompanhada da contração de suas fibras e conseqüentemente da ferida operatória também.

2.5 RETRAÇÃO DA TELA

A retração é um aspecto fisiológico essencial na cicatrização, pois diminui a área da solução de continuidade, facilitando o fechamento da ferida. Ocorre inicialmente por desidratação dos tecidos moles e depois pela maturação e cruzamento das fibras colágenas^{21,22,72}. Por outro lado, a retração da cicatriz pode levar à retração da tela utilizada para cobrir o defeito herniário, deixando-a encolhida e rígida. O enrugamento e a rigidez da prótese, em conseqüência da fibrose, pode ocasionar dor crônica após a operação e até levar à recidiva da hérnia.

A primeira descrição de retração foi de autoria de Amid, ao publicar uma técnica de hernioplastia com grampeamento das bordas da tela e, durante o acompanhamento radiográfico em 10 meses, perceber que a distância entre os cliques havia diminuído cerca de 20% da distância original¹¹.

Subseqüentemente, muitos estudos experimentais buscaram avaliar em detalhes a retração e suas características. O grau de retração varia de acordo com o tipo de material que compõe a prótese^{11,27-30,32,35,44,47,51-53}, mas também com a forma de fixação^{31,73-77}, o local de implantação³³ e a presença de infecção^{26,34}.

2.6 TIPOS DE TELA

O material mais comumente utilizado para o reparo de uma hérnia abdominal é o PP. Na tentativa de aperfeiçoar a incorporação tecidual e deixar uma quantidade mínima de corpo estranho no hospedeiro, foram estudadas modificações estruturais para a confecção de próteses como menor concentração de material sintético, as telas B^{1,2,11-20,58,78}. Os primeiros testes experimentais foram realizados com prótese mista de poliglactina 910 e PP^{27,69}. Subseqüentemente, foram produzidas telas B puras de PP. Assim, de acordo com a densidade, o PP pode ser classificado em alto peso (telas A), quando o peso é superior a

80g/m²; médio peso, entre 50 e 80g/m²; baixo peso (telas B), entre 35 e 50g/m²; e ultra-baixo peso, pesando menos do que 35g/m². Uma classificação semelhante consiste em associar a densidade ao tamanho do poro: quanto maiores os poros, menor a densidade. Assim, as próteses podem ser classificadas em poros muito grandes, acima de 2.000 μ m; grandes poros, entre 1.000 e 2.000 μ m; médios poros: 600 e 1.000 μ m; pequenos poros: 100 e 600 μ m; e microporosas, com poros inferiores a 100 μ m. A tela B, representada pela *Parietene Light*® (Sofradim-Covidien, France), apresenta densidade de 38g/m² e poros de 1,5mm; contrastando a tela A, representada com o tradicional *Marlex*®, que apresenta densidade de 95g/m² e poros de 0,6mm^{2,16,34,37-39,41,43,46,58,69}.

Alguns trabalhos experimentais, também em ratos Wistar, buscaram estudar o percentual de retração em outros tipos de telas, por exemplo, com *Prolene*® (Ethicon, EUA), uma tela de PP, de densidade de 80g/m² e poros de 0,5mm, cuja retração foi de 11,3% em 30 dias⁴⁹ e 10% em 8 semanas⁷⁹. Já a tela *Light-PP*® (Cousin Biotech, France), pesa 30g/m², seus poros medem 2,5mm e retraiu 40% em 8 semanas⁷⁹. Mais comuns são trabalhos que pesquisam telas B associadas a outros elementos, denominadas próteses mistas. São exemplos a associação de PP à poliglactina, ocasionando retração de 22,4% em 90 dias⁸⁰; ao poliglecaprone, de 1,5% em 7 dias e 11,7% em 30 dias⁴⁹; ao ácido poli-L-láctico, de 0% em 2, 4 e 8 semanas⁷⁹; ao titânio, de 16,9% em 30 dias⁴⁹ e 15,5% em 90 dias⁸⁰; à celulose oxidada, de 13,1% em 30 dias⁴⁹; e à carboximetilcelulose com hialuronato, de 7% em 30 dias⁴⁹ e 14,6% em 90 dias⁸⁰. Em outro extremo, próteses de politetrafluoretileno expandido (ePTFE), uma tela microporosa representada pela *DualMesh*® (W.L.Gore & Associates, Flagstaff, AZ), apresentou retração de 45,9% em 7 dias e 44,2% em 30 dias⁴⁹.

O presente estudo é o primeiro a comparar nas duas próteses acima citadas, os três importantes parâmetros conjuntamente: retração, resposta inflamatória e fibroplasia.

3 OBJETIVOS

- 3.1 Avaliar o fenômeno de retração das telas A e B em 7, 28 e 90 dias pós-implante.
- 3.2 Avaliar a resposta inflamatória, quantificando neutrófilos, linfócitos, macrófagos e células gigantes em cada tipo de prótese em 7, 28 e 90 dias pós-implante.
- 3.3 Avaliar a fibroplasia, comparando a proporção de colágeno tipo I e III em cada tipo de prótese em 7, 28 e 90 dias pós-implante.

4 MÉTODOS

4.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO

O estudo foi realizado na Unidade de Experimentação Animal (UEA) do Centro de Pesquisa (CP) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), com financiamento do Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE).

4.2 ASPECTOS ÉTICOS

O protocolo de pesquisa foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG) do HCPA (projeto 07-235) e os animais foram manejados em concordância com os preceitos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

4.3 AMOSTRA

Foram utilizados 25 ratos Wistar (*Ratus norvegicus albinus*) do sexo masculino, com 3 meses de idade, pesando em média 324g (DP 28g, IC95% 312-336g) e mantidos no biotério da UEA do CP do HCPA. Ficavam alojados em gaiolas de plástico, medindo 40 x 30 x 16 cm, contendo no máximo 5 ratos em cada unidade, recebendo ração e água *ad libitum* e com controle de ciclo de sono/vigília de 12h. O ambiente foi sempre mantido livre de barulho, com fluxo de ar contínuo, umidade relativa do ar de 75,0% e temperatura constante de aproximadamente 22°C (fig.1).

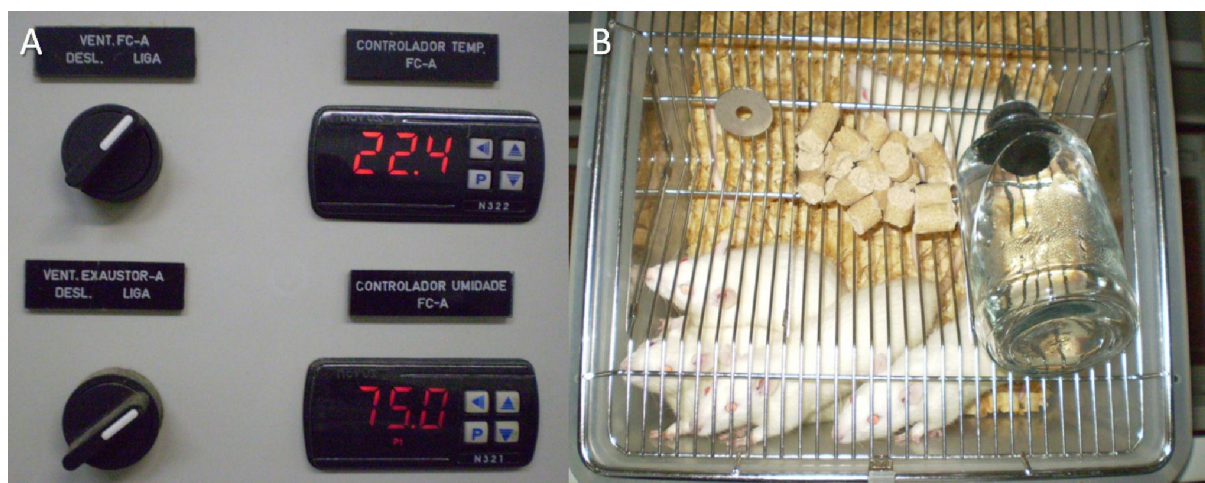


Figura 1 ó Fotografias do alojamento dos ratos. A: Medidor de temperatura e umidade relativa do ar; B: Gaiola contendo menos de 5 ratos, com água e ração *ad libitum*.

4.4 GRUPOS DE ESTUDO

Os animais (n=25) foram distribuídos em três grupos (fig. 2), de acordo com a data de aferição e coleta do material: oito no sétimo dia pós-operatório (grupo 1); oito no vigésimo oitavo (grupo 2); e nove no nonagésimo dia (grupo 3), para avaliação morfológica (macro e microscópica).

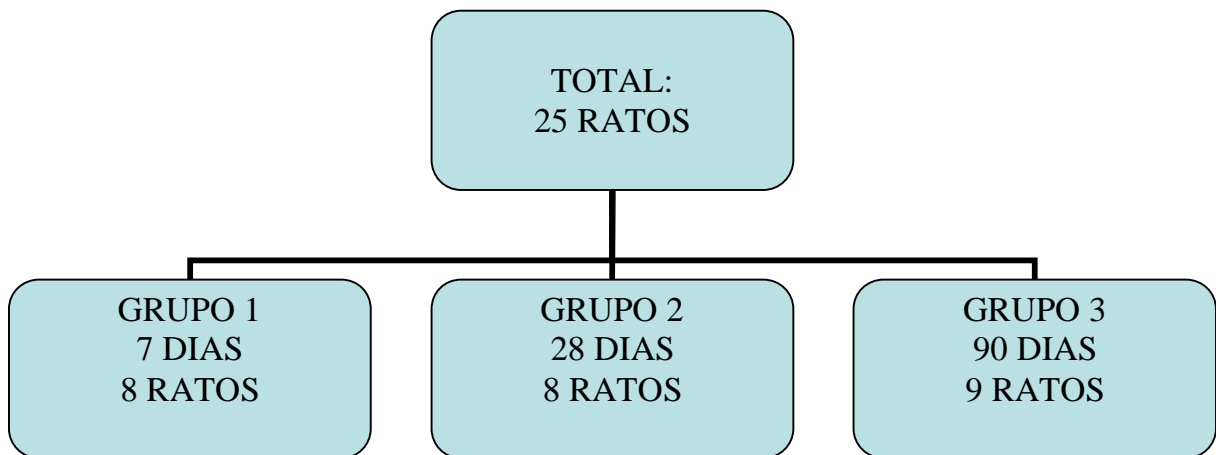


Fig. 2 ó Organograma representativo dos grupos de estudo.

4.5 IMPLANTE

Tela A: Material protético de polipropileno monofilamentar de alta gramatura ou convencional (*Marlex*®, Bard, UK).

Tela B: Material protético de polipropileno monofilamentar de baixa gramatura (*Parietene*®, Sofradim-Covidien, France). (fig. 3)

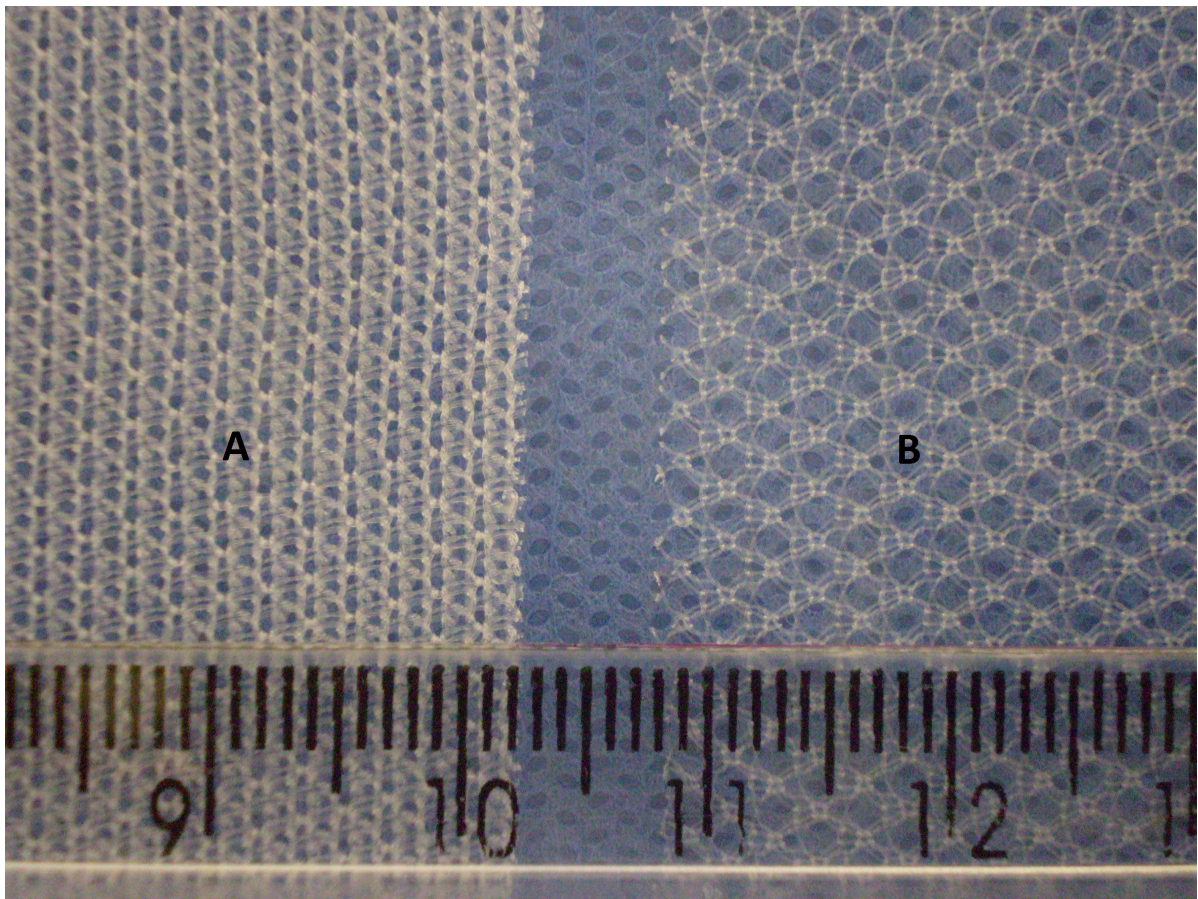


Fig. 3 ó Fotografia das próteses utilizadas: **A**: tela A; **B**: tela B.

4.6 TÉCNICA CIRÚRGICA

Todos os ratos foram operados dentro da seguinte padronização: (a) indução anestésica com xilazina (7mg/Kg) e cetamina (90mg/Kg) intra-peritoneal; (b) tonsura com cortador elétrico na face anterior do abdome; (c) imobilização em decúbito dorsal horizontal, em prancha cirúrgica para pequenos roedores. (d) Antissepsia da parede abdominal anterior com povidona-iodo; (e) proteção do campo operatório com pano esterilizado fenestrado; (f) infiltração de tecido subcutâneo com bupivacaína a 2% com vasoconstritor no local a ser incisado; (g) incisão mediana de pele e tecido subcutâneo, medindo 2 a 3cm de extensão; (h) dissecação do tecido subcutâneo da aponeurose, expondo-a o suficiente para (i) inserção da tela A de 2 x 2cm à direita; e inserção da tela B de 2 x 2cm à esquerda, ambas na face anterior da aponeurose íntegra (fig.4); (h) fixação das telas com pontos separados de poliamida (Nylon) 4.0, constituídos de 5 semi-nós cada, em seus quatro cantos, de forma a mantê-las planas e lisas, mas sem tensão; (i) fechamento com pontos intra-dérmicos separados, do mesmo fio, sem curativo. Cada operação foi fotografada detalhadamente, com resolução de 2.816 x 2.112 pixels e função super-macro ativada.

Os princípios de assepsia foram rigorosamente observados, bem como a dissecação meticulosa dos tecidos. Não foi utilizado eletrocautério, nem antibióticos profiláticos.



Fig. 4. Fotografia mostra tela A à direita e tela B à esquerda do rato, fixadas nas suas extremidades à fáscia anterior.

4.7 PERÍODOS DE OBSERVAÇÃO

O período pós-operatório imediato deu-se em incubadora, com fonte de aquecimento e água liberada. Nenhum rato sofreu entubação ou qualquer tipo de acesso venoso. Após estarem plenamente acordados, retornavam para suas gaiolas originais, com dimensões de 40 x 30 x 16 cm, contendo até 5 ratos em cada unidade, recebendo ração e água *ad libitum*, com ciclos de sono de 12h, com fluxo de ar contínuo, livre de barulho, com umidade relativa do ar de 75,0% e temperatura ambiente em torno de 22°C. Todos eram avaliados diariamente em busca de complicações locais e/ou sistêmicas.

4.8 NECROPSIA

Os ratos foram submetidos à morte indolor induzida em câmara de gás carbônico (CO₂) nas datas pré-determinadas. Após a constatação do óbito, cada animal foi novamente pesado, submetido à nova depilação e colocado na mesa cirúrgica.

O ato cirúrgico da necropsia ocorreu da seguinte forma: (a) incisão mediana ampla, com prolongamentos laterais nas extremidades; (b) dissecação do tecido subcutâneo das telas e da aponeurose; (c) mensuração das dimensões das arestas verticais e das arestas horizontais de cada tela; (d) fotografia digital com resolução de 2.816 x 2.112 pixels em função supermacro ativada (fig. 5); (e) ressecção da parede abdominal em toda a sua espessura sob as telas, juntamente com as mesmas, em bloco (figs. 6 e 7); (f) armazenamento das peças em solução de formalina tamponada a 10%, em recipientes apropriados e devidamente identificados (fig. 8).

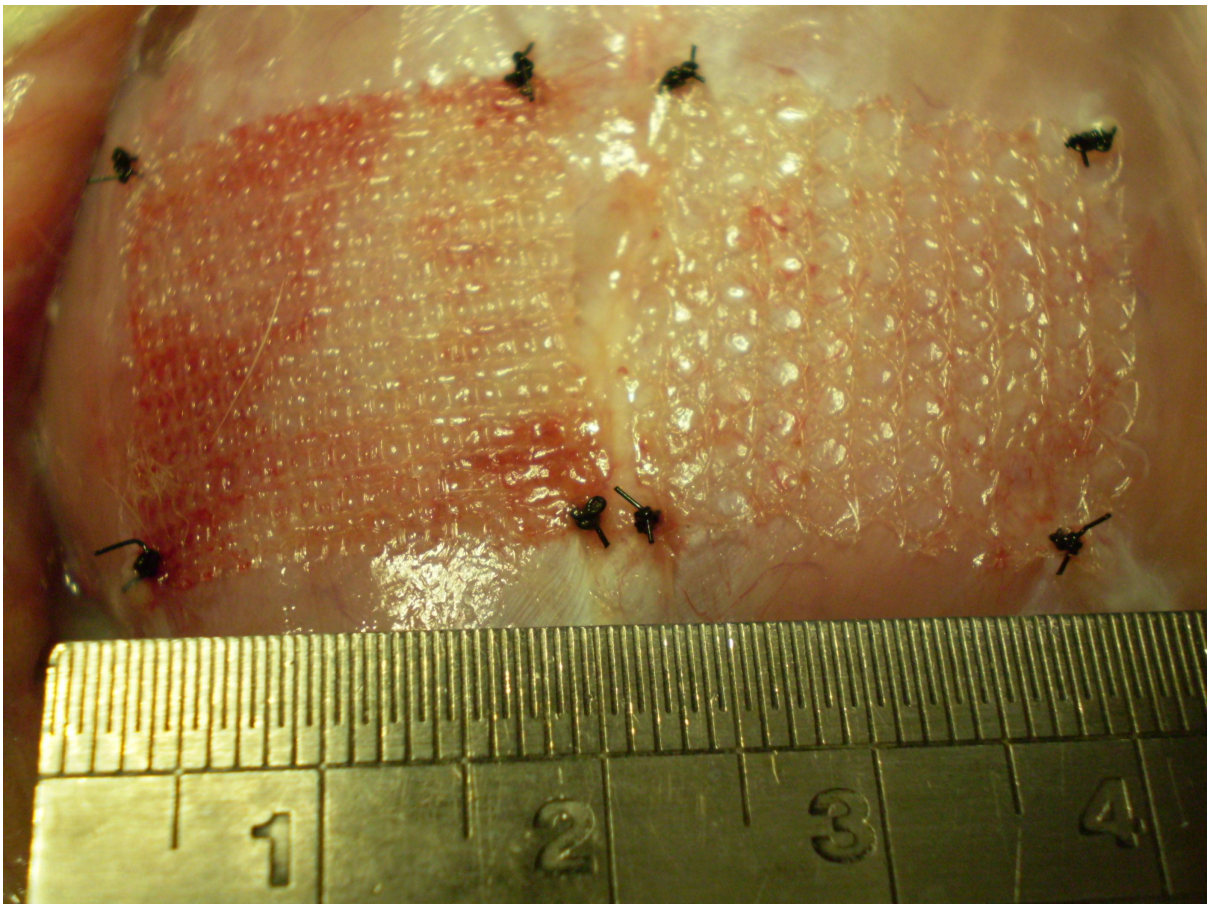


Fig. 5 6 Fotografia da parede abdominal, amplamente dissecada, expondo ambas as próteses, já incorporadas à aponeurose aos 7 dias pós-operatórios.

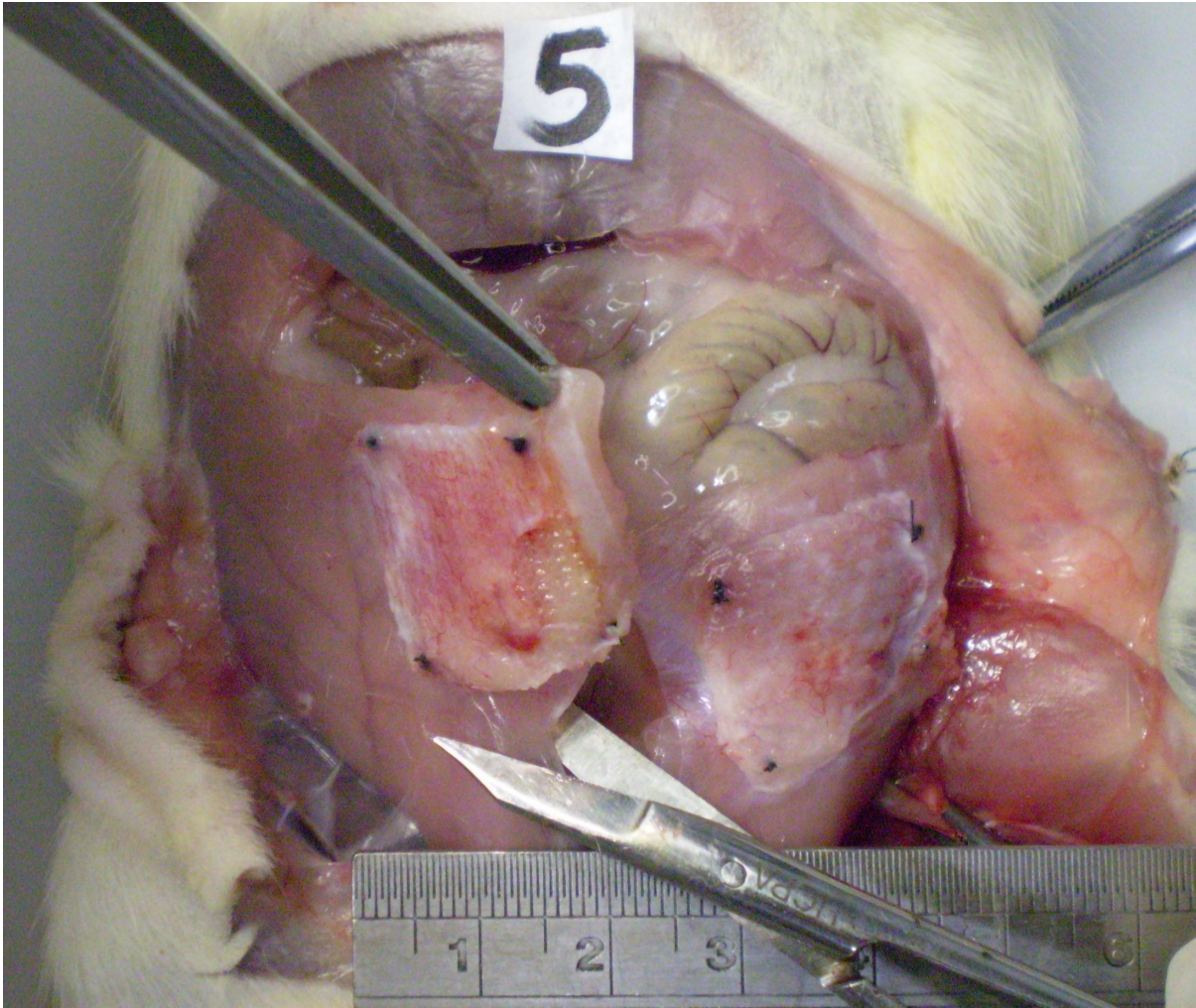


Fig. 6 ó Fotografia de ressecção da parede abdominal com a tela em bloco, no rato número 5.

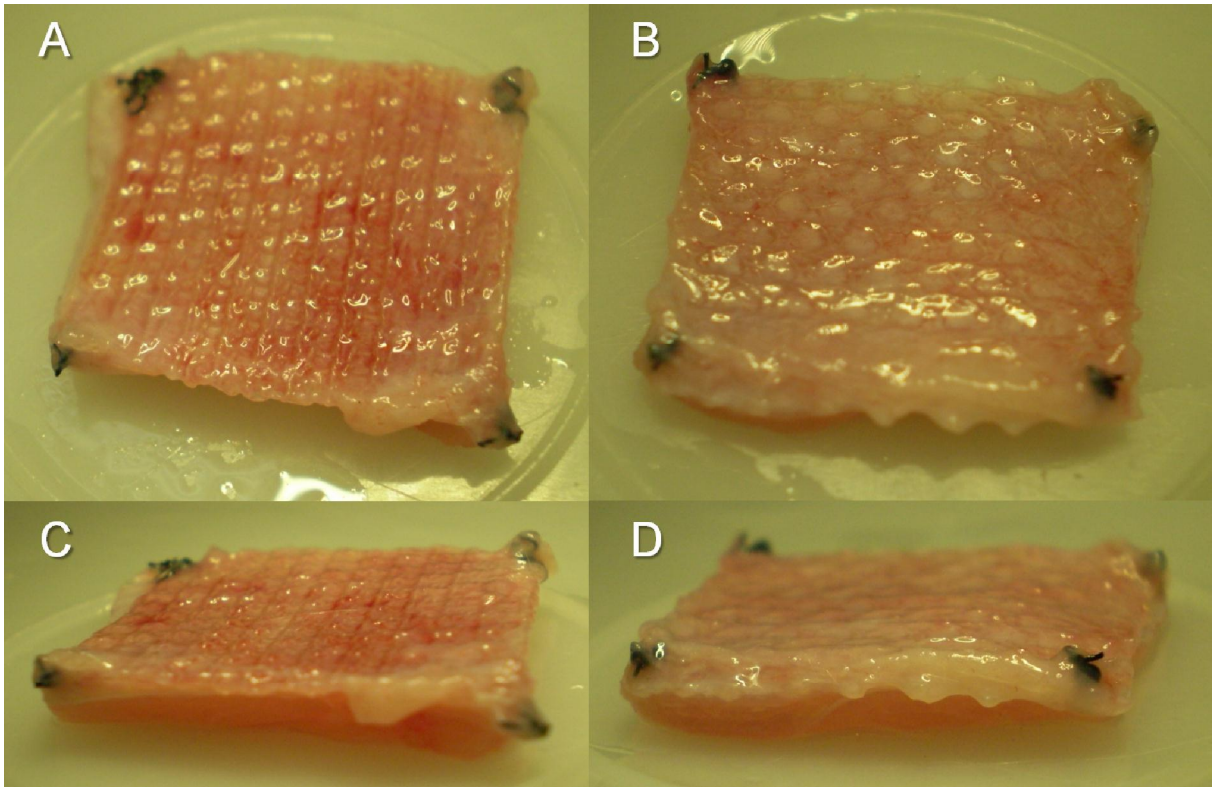


Fig.7 ó Fotografias das próteses integradas à parede abdominal, completamente removidas em bloco. A e C ó telas A; B e D - tela B.



Fig. 8 ó Fotografias do armazenamento das peças em solução de formalina, separadamente e identificadas, para posterior confecção dos blocos de parafina.

4.9 ANÁLISE HISTOLÓGICA

4.9.1 Hematoxilina-Eosina

No Laboratório de Patologia do CP do HCPA, as peças foram emblocadas em parafina, cortadas com 4 μ m de espessura e coradas em Hematoxilina-Eosina (HE). A

contagem celular foi realizada por duas patologistas independentes, por meio de um ensaio do tipo *cego*. Cada uma delas avaliou todas as amostras. Em cada espécime, foram pesquisados aleatoriamente dez campos microscópicos de 400x na área ocupada pela tela, que era identificada pela aponeurose do rato e pela presença de, pelo menos, um dos filamentos de PP (fig. 9). Em cada campo, quantificaram os seguintes itens: (1) neutrófilos; (2) linfócitos; (3) células gigantes, também denominadas gigantócitos; e (4) macrófagos. Os macrófagos foram quantificados de acordo com o número de camadas que os mesmos compunham ao redor de cada filamento da tela. Para a análise dos resultados, foi utilizada a média da contagem das duas patologistas, totalizando 20 campos microscópicos para cada uma das 4 células, em cada uma das duas telas, em cada um dos 25 ratos.

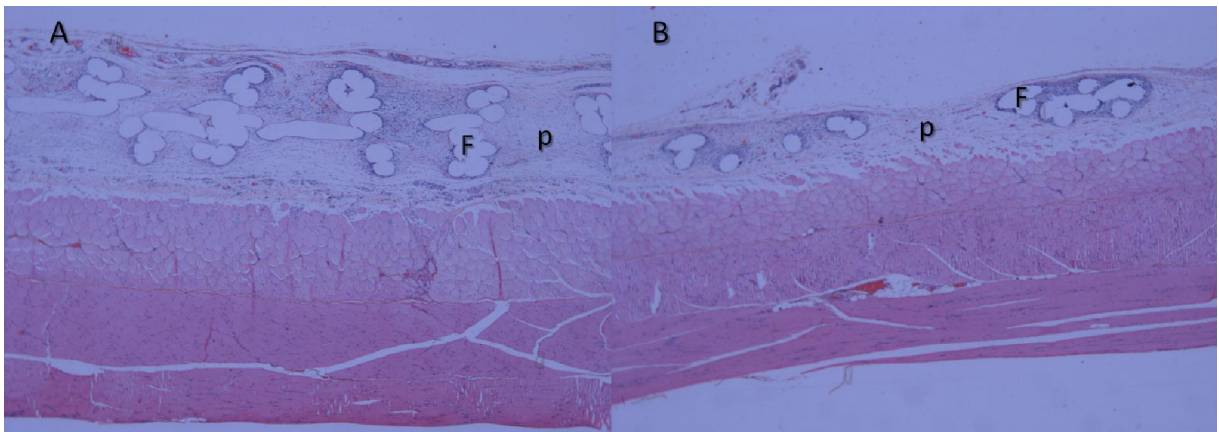


Fig. 9 é Fotomicrografia das telas extraídas ao 7º dia pós-operatório, do rato número 5, mediante coloração H.E., evidenciando todas as camadas da parede abdominal do rato. A camada mais superficial, acima, corresponde ao tecido conjuntivo neoformado adjacente aos filamentos da prótese. A: Tela A; B: Tela B. Observar a maior espessura e maior densidade de filamentos (F) na tela A e o tamanho maior dos poros (P) na tela B.

4.9.2 Imuno-histoquímica

A análise do colágeno foi realizada mensurando os tipos I e III por IHQ. Foram utilizados anticorpos policlonais anti-colágeno I (pa1-85317, *Thermo Scientific*®) e anti-colágeno III (pa1-85314, *Thermo Scientific*®). O método de revelação utilizado foi o complexo estreptavidina-biotina-peroxidase (*labeled streptavidinóbiotin - LSAB*, K0690, *Dako Corporation*®), o qual corresponde a uma técnica indireta. Por meio de microscopia óptica (microscópio *Olympus BX51*) foram obtidas fotografias de 5 campos aleatórios de cada tela inserida na aponeurose de cada rato, com aumento de 400x (fig.10). A captura de imagens foi realizada com câmera *Olympus*, modelo DP72, própria para uso em microscopia,

padronizada com as seguintes configurações: tamanho da foto: 1,24MB, com 4140 x 3096 pixels, resolução vertical: 72 pontos por polegada (dots per inch - DPI); resolução horizontal: 72 DPI; intensidade de bits: 24; unidade de resolução: 2; representação de cores: sRGB; sensibilidade: ISO 1600; com tempo de exposição de 1/2500 segundos (fig. 11).

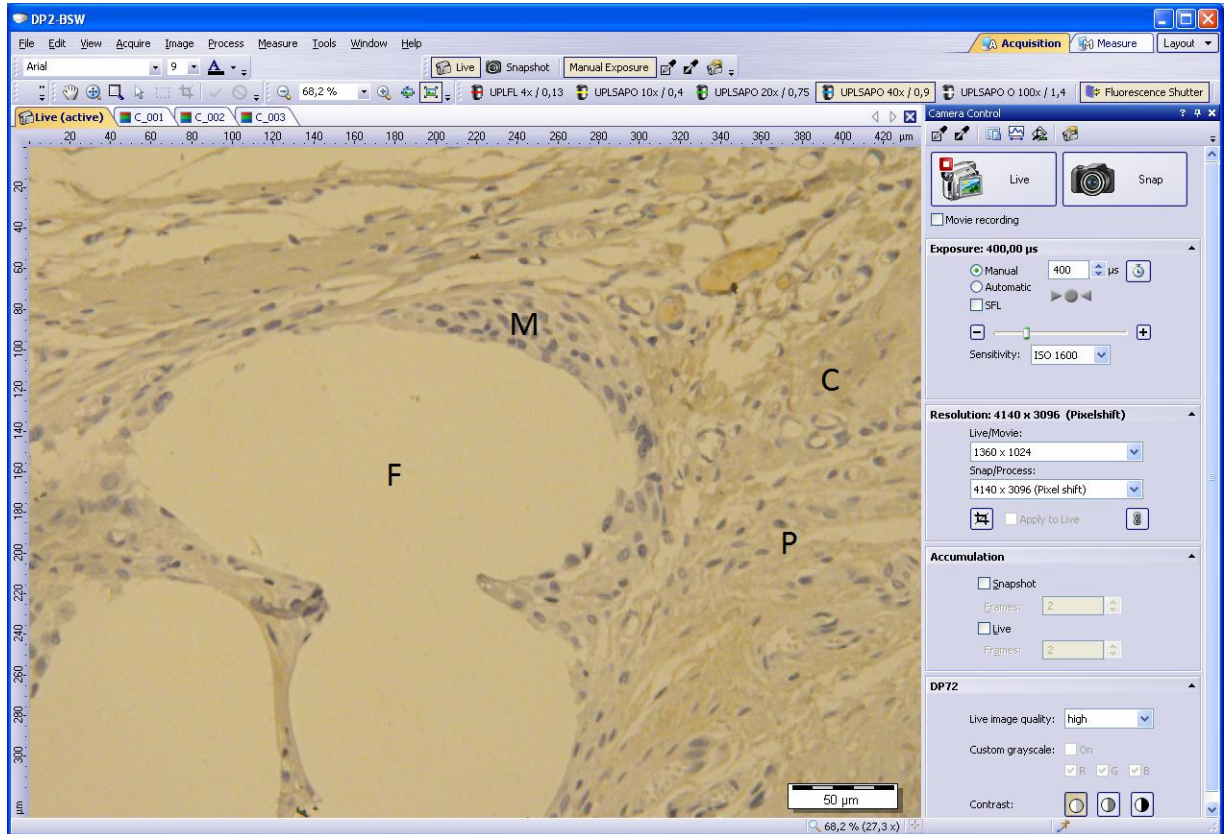
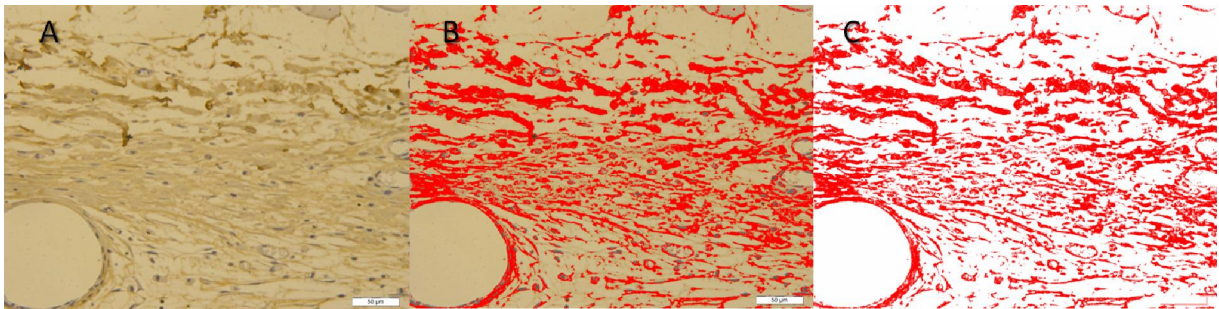


Fig.10 ó Fotografia do sistema de captura de imagens para mensuração do colágeno. É possível observar os filamentos (F) de tela cortados transversalmente, revestidos por macrófagos (M) bem como o tecido conjuntivo neoformado por meio dos poros (P) da tela. O tecido corado em marrom corresponde à deposição de colágeno (C) marcado pela IHQ. À direita, observa-se o ajuste padronizado para a detecção das imagens.

A mensuração de cada tipo de colágeno foi feita contando os pixels marcados com o auxílio do programa *Image Pro Plus* (*Media Cybernetics, Silver Spring, EUA*). Foi analisada foto por foto, em um total de 500 fotos, conforme as especificações padronizadas descritas acima. A forma de contagem de pixels foi realizada obedecendo a mesma sequência: (a) abrindo a foto desejada (fig. 11A), clicando em *file ó open*; (b) abrindo o medidor, em *õcount and measure object*; (c) optando pelo modo manual, no ícone *õAll classes selected ó manual*; (d) selecionando as cores, em *õSelect colors*; (e) selecionando o grau 3 de sensibilidade, em *õSensitivity 3 ó 1x1*; (f) escolhendo a cor desejada na figura, no caso o marrom, após ter clicado no ícone da esquerda simbolizado por uma caneta (fig. 11B); (g) filtrando somente os pontos marcados, clicando em *õClass Color on White*; (h) criando uma cópia da imagem para contagem, em *õCreate Preview Image*; (i) selecionando

objetos escuros automáticos: *Automatic Dark Objects*; a partir de então, (k) inicia a medição, em *Measure objects*; (l) procede-se à contagem, em *Count*; (m) revela os resultados em *View*; (n) abre o valor específico clicando em *Statistics* e a linha *Sum* indicará quantos pixels estão marcados, sob um total de 12.817.440 pixels. Este valor absoluto era então transformado em valor percentual e repassado a uma tabela no programa *Excel* para posterior avaliação estatística. Finalizado este processo, partia-se para a foto seguinte, seguindo a mesma sequência, até um total de 500 fotos.



Figs. 11 ó Método de contagem dos pixels, correspondentes ao colágeno marcado por IHQ

- A. Foto original da aponeurose recoberta pela tela, corada por IHQ com anticorpos para colágeno tipo 1
- B. Marcação dos elementos corados em marrom (colágeno tipo 1), utilizando o programa *Image Pro Plus*
- C. Separação dos elementos previamente selecionados e marcados pelo programa, para contagem específica de pixels corados.

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Realizado no serviço de estatística do GPPG do HCPA e utilizando o programa *Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 18.0*. O ganho de peso foi calculado pelo peso final menos o peso inicial de cada rato e extraíndo-se uma média deste valor para cada grupo de ratos. Foi utilizada análise de variância (ANOVA) para fazer a comparação entre os grupos. Com o teste de normalidade de *Shapiro-Wilk*, as variáveis que apresentaram distribuição normal (simétrica) foram representadas por média e desvio-padrão (DP), que foi o caso da contagem celular e de colágeno. Os percentuais de retração das telas apresentaram distribuição assimétrica, sendo então representadas por mediana e intervalo interquartil. Em todos os testes realizados foi utilizado nível de significância (p) inferior a 0.05. O teste de *Wilcoxon* foi usado para comparar as áreas das telas dentro de cada período. A comparação da retração entre 7, 28 e 90 dias foi feita utilizando o teste de *Kruskal-Wallis*. Para as variáveis com mais de uma medida, como os neutrófilos, linfócitos, gigantócitos e macrófagos, a análise de Equações de Estimação Generalizadas (*Generalized Estimating Equations - GEE*), avaliou o efeito de tempo, nas três categorias (7, 28 e 90 dias); de tipos de tela (A e B); e da sua interação (tempo x tela) para cada tipo celular. A análise de GEE também foi empregada

na avaliação do percentual de colágeno, associando o efeito da tela (A e B), do tempo (7, 28 e 90 dias) e do tipo de colágeno (tipos I e III), levando em consideração as interações duplas desses fatores (tela x tempo, tela x colágeno e tempo x colágeno). Foi utilizado o pós-teste de *Bonferroni* para realizar as comparações específicas dentro dos fatores significativos.

Variável preditora

Inserção de telas A e B na parede abdominal dos ratos.

Variáveis desfecho

Avaliação das medidas das próteses, integradas ao organismo, em 7, 28 e 90 dias.

Avaliação dos tipos celulares (neutrófilos, linfócitos, gigantócitos e macrófagos e em 10 campos aleatórios de cada tela, aferido por 2 patologistas independentes) em 7, 28 e 90 dias.

Avaliação dos tipos I e III de colágeno em ambas as telas em 7, 28 e 90 dias.

5 RESULTADOS

Os procedimentos cirúrgicos transcorreram sem intercorrências. Não houve sangramento significativo em nenhum rato. Todos os 25 ratos demonstraram favorável evolução pós-operatória, sem evidências de quaisquer complicações: nenhum apresentou seroma, hematoma ou infecção de sítio cirúrgico. Não houve óbitos. A média de ganho de peso por grupo apresenta-se expressa na figura 12. Não houve diferença significativa entre a média de peso inicial entre os grupos ($p = 0,200$), antes do procedimento. Todavia, após os diferentes períodos de reintervenção (7, 28 e 90 dias), houve diferença significativa entre os grupos ($p = 0,001$), sendo a média de ganho de peso no 1º grupo de 9,6g, no 2º grupo de 26,0g e no 3º grupo de 78,4g.

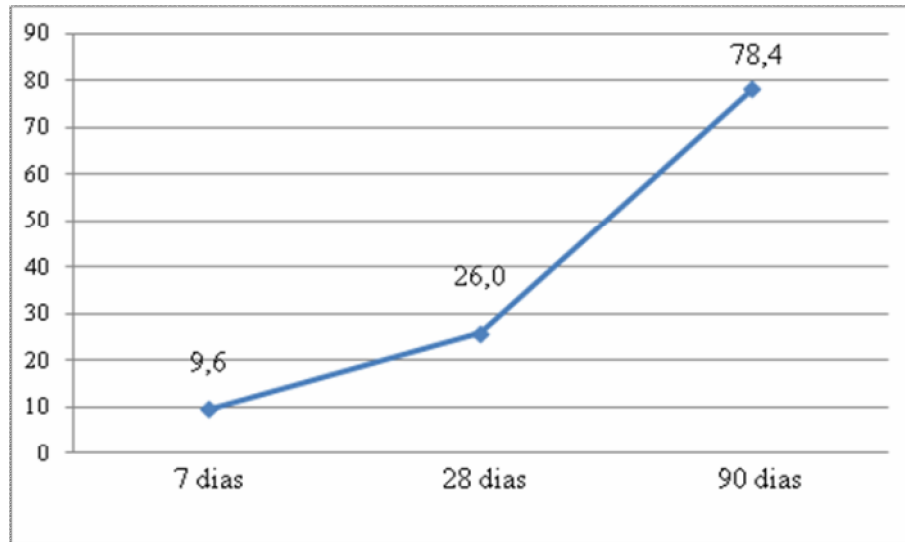


Fig. 12 ó Gráfico comparativo da média de ganho de peso, expresso em gramas, entre os grupos ($p = 0,001$).

5.1 ANÁLISE MACROSCÓPICA

5.1.1 Grupo 1 ó 7 dias

Aos 7 dias, a avaliação macroscópica já revelou integração de toda a superfície das próteses à aponeurose.

Tela A

A medida da aresta vertical variou de 1,95cm a 2,05cm, com média, mediana e moda de 2,00cm; DP de 0,026; erro padrão (EP) de 0,009 e intervalo de confiança de 95% (IC95%) situado entre 1,97 e 2,02. A aresta horizontal apresentou variação mais ampla, estendendo-se de 1,90cm no rato 5 a 2,10cm no rato 6; média e mediana de 2,00 (DP = 0,654; EP = 0,023; IC 95% = 1,94 a 2,05). A área das telas, calculada pelo produto das duas medidas acima descritas, apresentou média de 3,93cm², sendo 3,8cm² a menor e 4,2cm² a maior (DP = 1,136; ER = 0,049 e IC 95% = 3,86 a 4,09). A média de retração foi de 1,75% e a mediana foi de 0,00%. As medidas encontram-se em detalhes na tabela 1 e a variação das dimensões na figura 12. Para um nível bicaudal de significância, o valor foi de 0,647 ($p = 0,647$). Desta forma, a retração apresentada não foi considerada significativa.

Tela B

A medida da aresta vertical variou de 1,7cm a 2,05cm, com média de 1,89, mediana e moda de 1,95cm; DP de 0,117; EP de 0,041 e IC 95% situado entre 1,79 e 1,99. A aresta horizontal apresentou variação menos ampla, estendendo-se de 1,95cm a 2,05cm; média de 1,987 e mediana de 2,00 (DP = 0,353; EP = 0,012; IC 95% = 1,95 a 2,01). A área das telas apresentou média de 3,76cm², com 3,4cm² a menor e 3,99cm² a maior (DP = 0,263; ER = 0,093 e IC 95% = 3,54 a 3,98). A média de retração foi de 6,0% ($p = 0,040$) e a mediana foi de 3,71%. As medidas encontram-se em detalhes na tabela 1 e a variação das dimensões, na figura 13.

Comparação entre as telas A e B

A diferença do grau de retração mediano (tab. 4, fig. 16) entre a tela A (0,00%) e B (3,71%) foi significativa ($p = 0,036$).

Tabela 1 ó Medidas das dimensões das telas após 7 dias da intervenção inicial

Rato	Peso inicial (g)	Peso Final (g)	Área da tela A (cm ²)	Área da tela B (cm ²)
1	318	328	3,9000	3,6075
2	330	348	4,1000	3,9000
3	331	341	4,0000	3,4000
4	343	355	4,0100	3,9000
5	351	362	3,8000	3,4125
6	317	334	4,2000	4,1000
7	361	354	4,0000	3,8025
8	300	304	3,8025	3,9975
Média	331	340	3,9765	3,7650

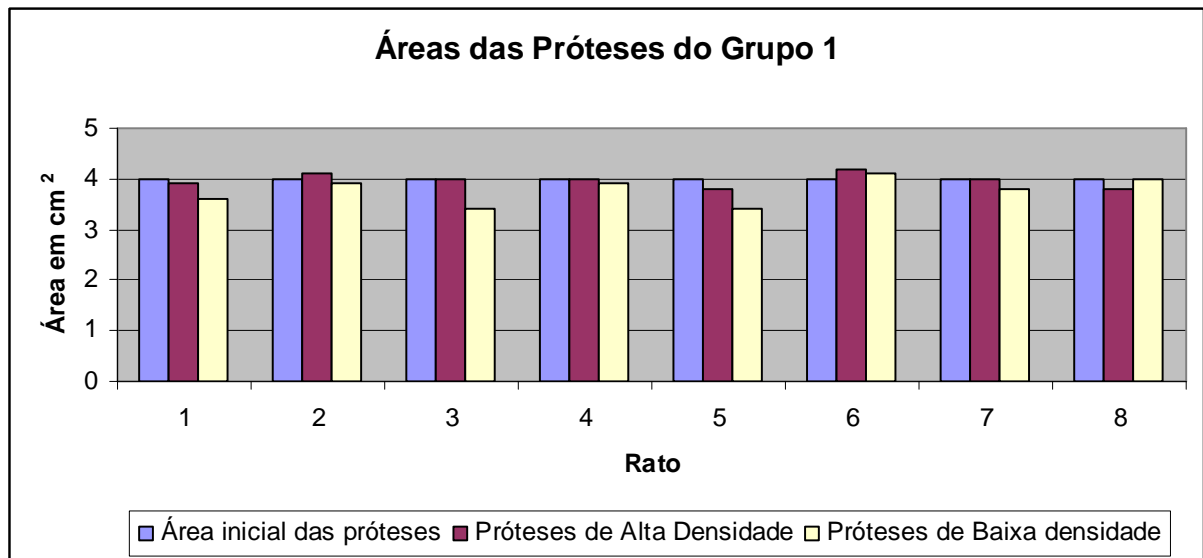


Fig. 13 ó Gráfico comparativo da área de cada tela antes e 7 dias após o experimento

5.1.2 Grupo 2 ó 28 dias

Todos mantiveram seus hábitos normais, apresentando ao 28º dia pós-operatório cicatrização completa da pele e crescimento dos pêlos recobrando a cicatriz.

Tela A

A medida da aresta vertical apresentou média de 1,94cm (DP = 0,03; EP = 0,12; IC 95% = 1,91 a 1,97). A média da aresta horizontal alterou para 1,98cm (DP = 0,05; EP = 0,02; IC 95% = 1,93 a 2,02). A área total da tela (fig.14), por sua vez, demonstrou redução para 3,85cm² (DP = 0,13; EP = 0,04; IC 95% = 3,73 a 3,96), cujo nível de significância bicaudal

foi 0,020. Houve uma retração estatisticamente significativa com média de 3,75% e mediana de 2,76%.

Tela B

A medida da aresta vertical apresentou média de 1,92cm (DP = 0,073; EP = 0,025; IC 95% = 1,86 a 1,98). A média da aresta horizontal alterou para 1,99cm (DP = 0,063; EP = 0,022; IC 95% = 1,94 a 2,04). A área total da tela (fig.14) demonstrou redução para 3,83cm² (DP = 0,142; EP = 0,050; IC 95% = 3,71 a 3,95), cujo nível de significância bicaudal foi 0,014. Houve retração média estatisticamente significativa de 4,25% e mediana de 4,52%. As medidas encontram-se em detalhes na tabela 2 e a variação das dimensões, na figura 14.

Comparação entre as telas A e B

A diferença entre o grau de retração mediano (tab. 4, fig. 16) na tela A (2,76%) e B (4,52%) não foi significativa ($p = 0,674$).

Tabela 2 ó Medidas das dimensões das telas após 28 dias da intervenção inicial

Rato	Peso inicial (g)	Peso atual (g)	Área da tela A (cm ²)	Área da tela B (cm ²)
1	298	326	3,9585	3,7050
2	294	341	3,6670	4,0950
3	325	340	3,7050	3,6900
4	362	352	3,7050	3,8380
5	255	287	3,8610	3,8000
6	360	376	3,9975	3,8950
7	270	302	4,0000	3,7050
8	310	358	3,9179	3,9600
Média	309	335	3,8514	3,8360

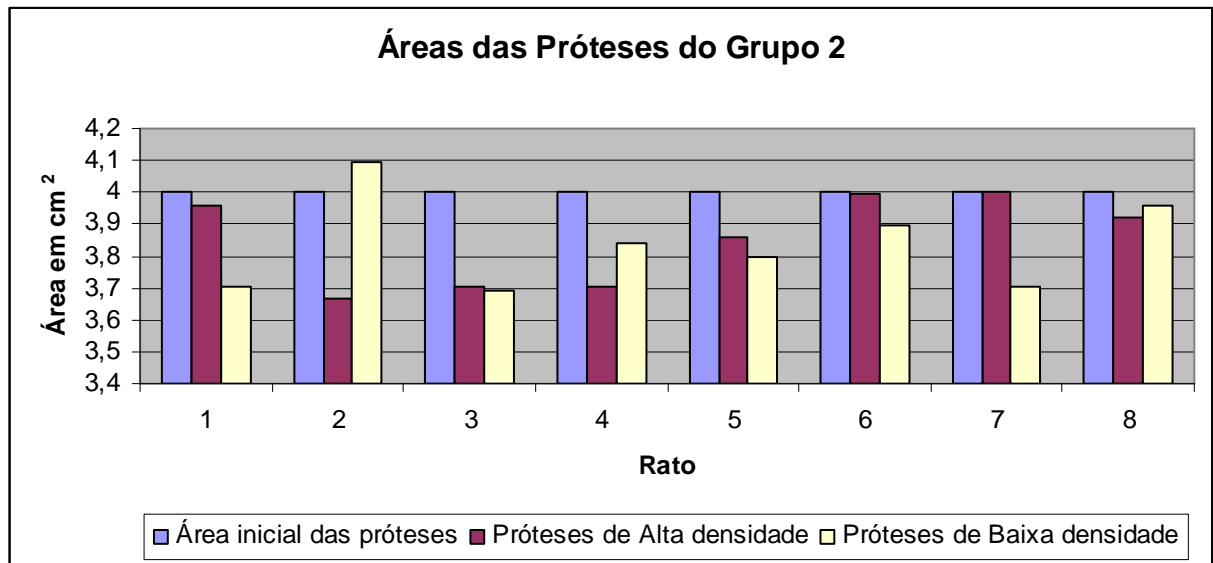


Fig. 14 ó Gráfico comparativo da área de cada tela antes e 28 dias após o experimento.

5.1.3 Grupo 3 ó 90 dias

A totalidade dos ratos obteve satisfatória evolução a curto e longo prazo, demonstrando boa aceitação das próteses.

Tela A

Aos 90 dias, a medida da aresta vertical apresentou média de 1,96cm (DP = 0,03; EP = 0,11; IC 95% = 1,93 a 1,99) e a da aresta horizontal de 1,99cm (DP = 0,03; EP = 0,01; IC 95% = 1,95 a 2,02). A área total da tela (fig.15) ficou em 3,91cm² (DP = 0,08; EP = 0,02; IC 95% = 3,85 a 3,97), cujo nível de significância bicaudal foi 0,013. Houve retração média e mediana estatisticamente significativa de 2,5% após 3 meses da inserção da prótese.

Tela B

A medida da aresta vertical apresentou média de 1,92cm (DP = 0,044; EP = 0,014; IC 95% = 1,89 a 1,96) e a da aresta horizontal de 1,95cm (DP = 0,06; EP = 0,02; IC 95% = 1,91 a 2,00). A área total da tela foi reduzida a 3,77cm² (DP = 0,089; EP = 0,029; IC 95% = 3,70 a 3,84), cujo nível de significância bicaudal foi menor do que 0,001. Houve uma retração estatisticamente significativa após 3 meses da inserção da prótese, cuja média foi 5,75% e mediana 5,0%. As medidas encontram-se em detalhes na tabela 3 e a variação das dimensões, na figura 15.

Comparação entre as telas A e B

A diferença entre o grau de retração mediano (tab.4, fig.16) na tela A (2,5%) e B (5,0%) foi significativa ($p = 0,038$).

Tabela 3 ó Medidas das dimensões das telas após 90 dias da intervenção inicial

Rato	Peso inicial (g)	Peso atual (g)	Área da tela A (cm ²)	Área da tela B (cm ²)
1	319	403	4,0000	3,800
2	334	401	3,9000	3,6075
3	330	411	3,9000	3,8025
4	315	396	3,9975	3,6480
5	325	362	3,8000	3,8025
6	371	451	3,8000	3,9000
7	312	399	3,9600	3,7925
8	313	416	3,8610	3,8000
9	365	449	4,0000	3,8000
Média	331	410	3,9131	3,7725

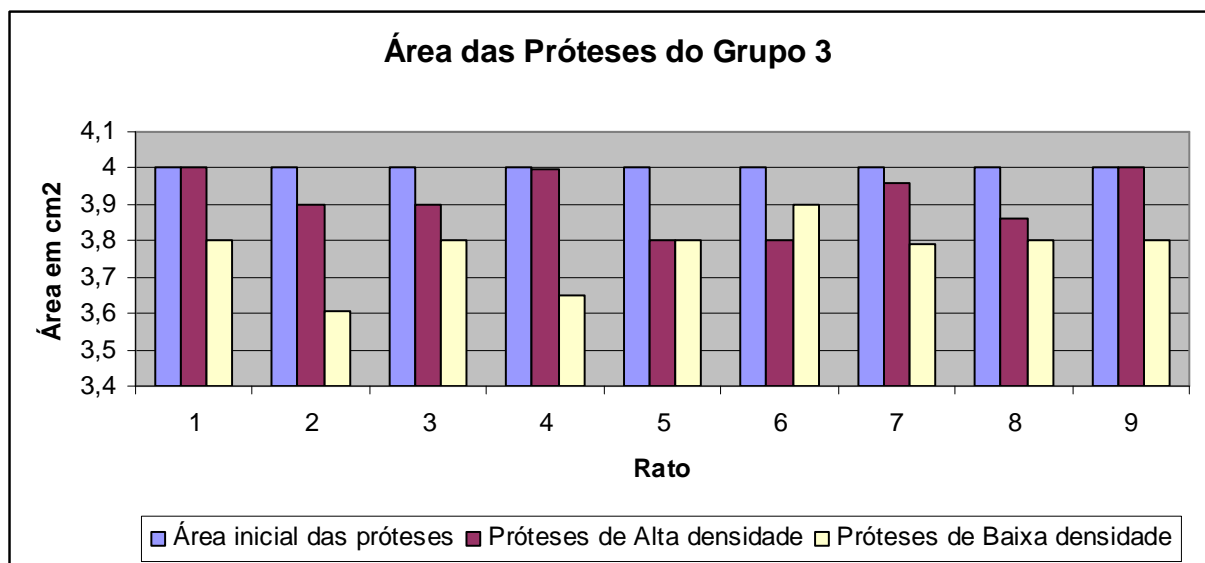


Fig. 15 ó Gráfico comparativo da área de cada tela antes e 90 dias após o experimento.

Tabela 4 ó Resultados dos percentuais de retração das telas A e B nos 3 tempos aferidos

Tempo	Tela A			Tela B			Diferença entre as medianas de A x B <i>p</i>
	Média (%)	Mediana (%)	<i>p</i>	Média (%)	Mediana (%)	<i>p</i>	
7 dias	1,75	0,00	0,647	6,00	3,71	0,040	0,036
28 dias	3,75	2,76	0,020	4,25	4,52	0,014	0,674
90 dias	2,50	2,50	0,013	5,75	5,00	0,001	0,038

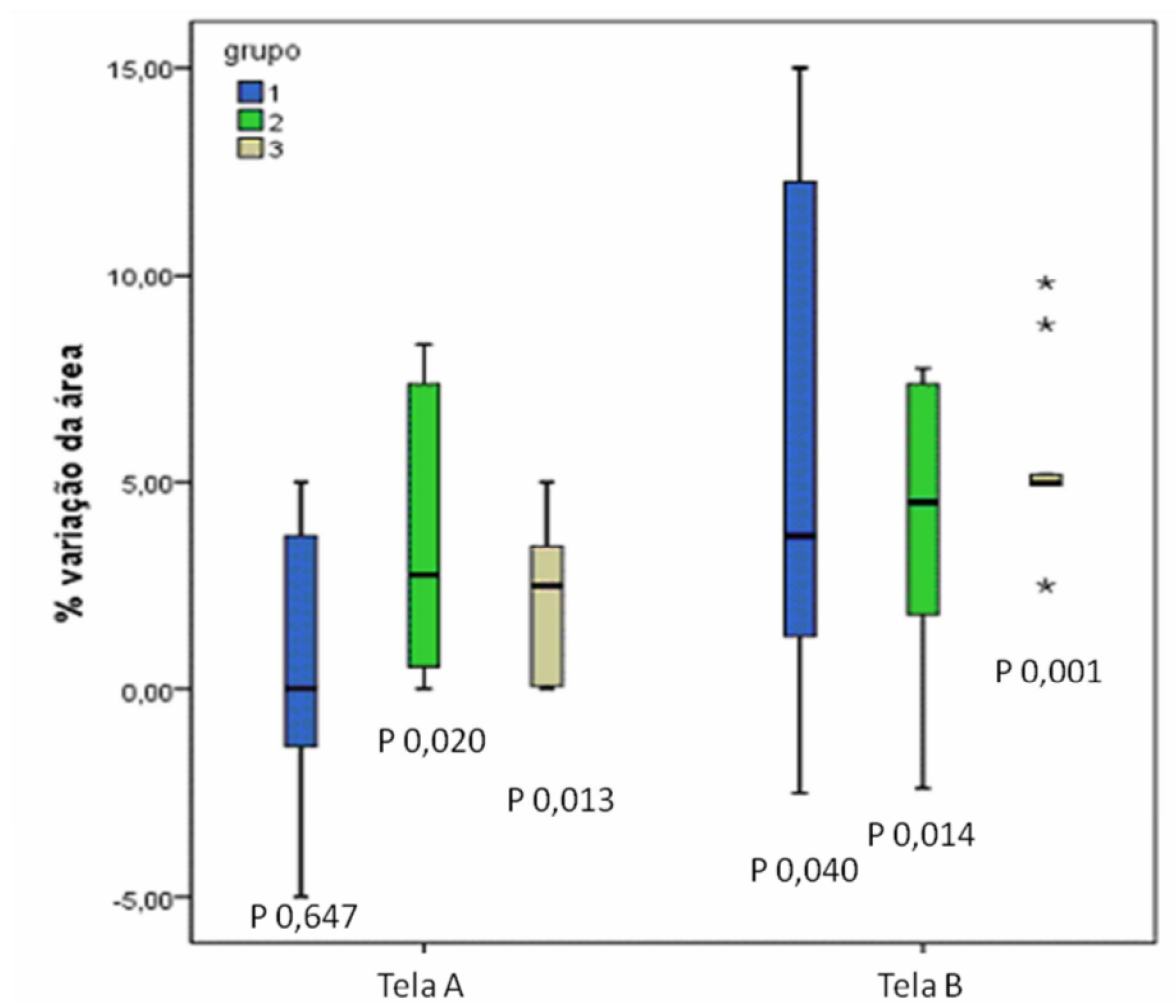


Fig. 16 ó Gráfico comparativo do percentual mediano de retração entre os grupos.

5.2 ANÁLISE MICROSCÓPICA

5.2.1 HISTOLOGIA

A avaliação microscópica com HE comprovou a integração das próteses à aponeurose do hospedeiro. A contagem das células inflamatórias apresenta-se pormenorizada a seguir:

Neutrófilos

A quantidade de neutrófilos mostrou-se mais elevada nos ratos operados no 7º dia pós-operatório, especialmente na tela B, apresentando média de 13,2 células por campo, em contraste com a tela A, com apenas 3,3 células por campo ($p = 0,008$). Em ambas as telas, houve uma queda dos níveis de neutrófilos proporcional ao tempo pós-implante. Na tela A, os níveis caíram de 3,3 no grupo 1 para 1,8 no grupo 2 ($p = 0,048$) e 1,3 no grupo 3 ($p = 0,05$). Na tela B, os níveis caíram de 13,2 no grupo 1 para 5,6 no grupo 2 ($p = 0,375$) e 1,2 no grupo 3 ($p = 0,002$). A quantidade de neutrófilos aos 90 dias foi semelhante entre as telas A e B ($p > 0,999$), próximas de 1,3 (fig. 17, tab. 5). A queda dos neutrófilos foi significativa, tanto na tela A ($p = 0,05$) quanto na tela B ($p = 0,002$).

Tab. 5 ó Contagem de neutrófilos

Grupo	Tela	Média	EP	IC 95%	
				Mínimo	Máximo
7 dias	A	3,29	0,62	2,07	4,51
	B	13,21	3,14	7,05	19,38
28 dias	A	1,81	0,21	1,39	2,23
	B	5,61	0,92	3,79	7,44
90 dias	A	1,33	0,16	1,00	1,66
	B	1,28	0,15	0,98	1,58

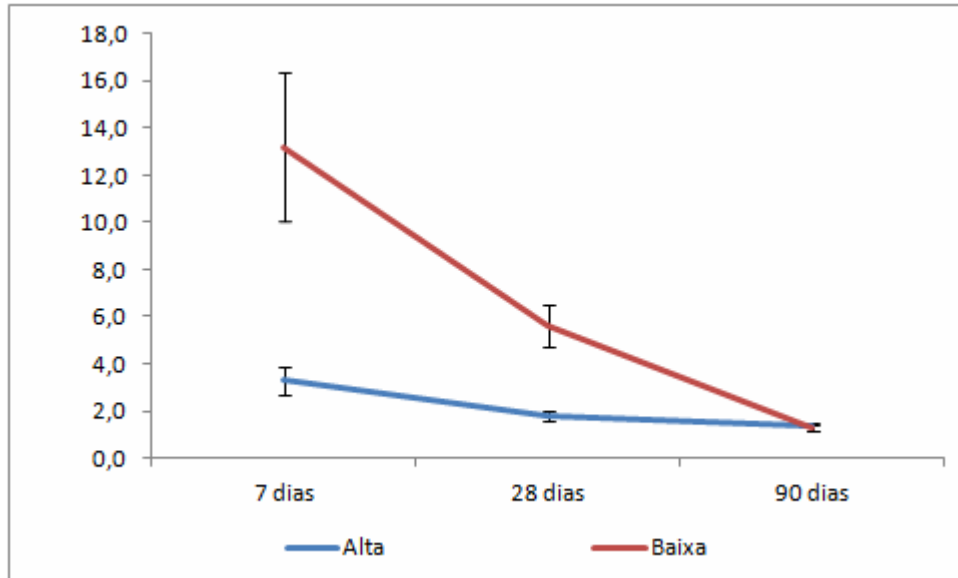


Fig. 17 ó Gráfico comparativo da contagem de neutrófilos. Observar a diminuição progressiva em ambos os grupos (tela A, $p = 0,05$; tela B, $p = 0,002$).

Linfócitos

A contagem de linfócitos apresentou níveis semelhantes no 7º dia pós-operatório, com 5,1 células por campo na tela A e 5,4 na tela B ($p > 0,999$). Seus níveis baixaram em ambos os tipos de telas, sendo este decréscimo menos expressivo na tela A, de 5,1 aos 7 dias, para 5,09 aos 28 dias ($p > 0,999$); e 5,08 aos 90 dias ($p > 0,999$). Na tela B, houve um decréscimo de 5,4 aos 7 dias para 4,15 aos 28 dias ($p = 0,360$); e para 2,64 aos 90 dias ($p < 0,001$). Aos 28 dias, não houve diferença significativa entre A e B ($p = 0,580$). Houve diferença entre A e B somente aos 90 dias ($p < 0,001$), tendo a tela A quase o dobro da quantidade de linfócitos por campo microscópico comparada à tela B (fig. 18, tab. 6).

Tab. 6 ó Contagem de linfócitos

Grupo	Tela	Média	EP	IC 95%	
				Mínimo	Máximo
7 dias	A	5,11	0,36	4,41	5,82
	B	5,46	0,42	4,63	6,29
28 dias	A	5,09	0,36	4,38	5,80
	B	4,15	0,22	3,70	4,59
90 dias	A	5,08	0,14	4,80	5,36
	B	2,64	0,13	2,37	2,91

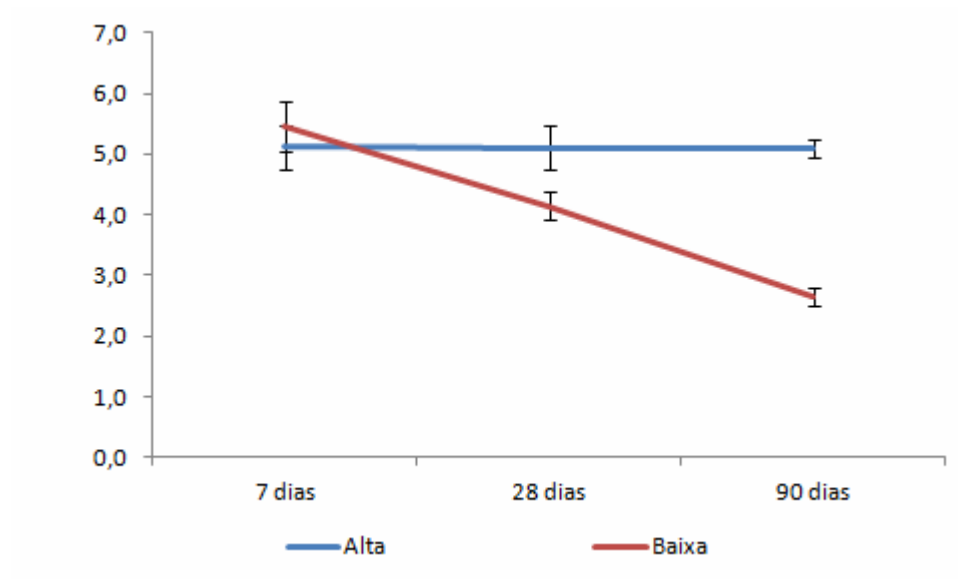


Fig. 18 ó Gráfico comparativo da contagem de linfócitos. Observar a estabilidade no grupo que recebeu a tela A e a queda progressiva nos ratos portadores da tela B ($p < 0,001$).

Células Gigantes

A contagem celular mostrou quantidade significativamente maior de células gigantes na tela B aos 7 dias, em comparação com A ($p < 0,001$). Com a evolução, esses níveis sofreram uma inversão de forma que, aos 90 dias, a tela A mostrou número maior ($p < 0,001$) (fig. 19, tab. 7).

Tab. 7 ó Contagem de células gigantes

Grupo	Tela	Média	EP	IC 95%	
				Mínimo	Máximo
7 dias	A	1,37	0,29	0,79	1,95
	B	4,43	0,30	3,83	5,02
28 dias	A	4,06	0,26	3,55	4,58
	B	4,55	0,14	4,26	4,83
90 dias	A	5,40	0,13	5,13	5,66
	B	3,74	0,29	3,16	4,32

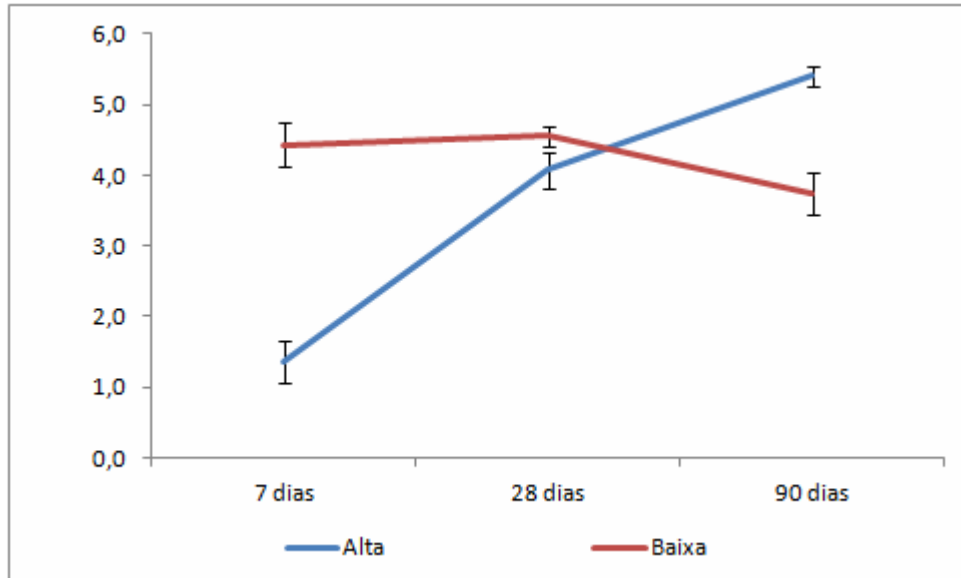


Fig. 19 ó Gráfico comparativo da contagem de células gigantes. Observar o aumento expressivo nos ratos hospedeiros da tela A ($p < 0,001$).

Macrófagos

Assim como na contagem de células gigantes, houve uma quantidade maior de camadas de macrófagos na tela B aos 7 dias, em comparação com a tela A ($p < 0,001$). Com a evolução, esses níveis também sofreram inversão de forma que, aos 90 dias, a tela A mostrou um número significativamente maior ($p < 0,001$) (fig. 20, tab. 8).

Tab. 8 ó Contagem de camadas de macrófagos

Grupo	Tela	Média	EP	IC 95%	
				Mínimo	Máximo
7 dias	A	1,65	0,11	1,43	1,87
	B	2,75	0,13	2,50	3,01
28 dias	A	3,00	0,08	2,84	3,16
	B	2,93	0,12	2,69	3,17
90 dias	A	3,20	0,11	2,98	3,42
	B	2,41	0,07	2,25	2,56

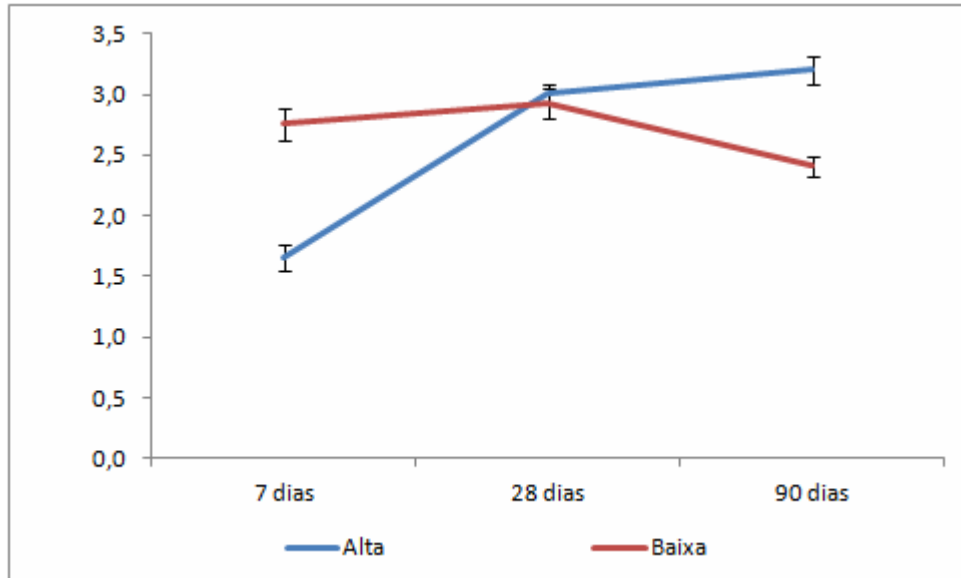


Fig. 20 ó Gráfico comparativo da contagem de macrófagos. Evolução semelhante à das células gigantes, predominando na tela A aos 90 dias ($p < 0,001$).

5.2.2 COLÁGENO

Foi constatada abundante deposição de fibras de colágeno tipo I e III em todas as próteses, cujos detalhes e comparações estão separados a seguir (figs. 21 e 22 e na tab. 9).

Tela A

Colágeno tipo I

A média de colágeno tipo I marcado foi de 28,39% aos 7 dias (EP 2,19, IC 95% 24,09 a 32,68), 20,51% aos 28 dias (EP 2,23, IC 95% 16,12 a 24,89) e 25,72% (EP 2,49, IC 95% 20,84 a 30,60) aos 90 dias.

Colágeno tipo III

A média de colágeno tipo III marcado (fig. 21) foi de 13,19% aos 7 dias (EP 0,95, IC 95% 11,33 a 15,06), 7,51% aos 28 dias (EP 1,66, IC 95% 4,24 a 10,77) e 1,53% aos 90 dias (EP 0,66, IC 95% 0,22 a 2,83).

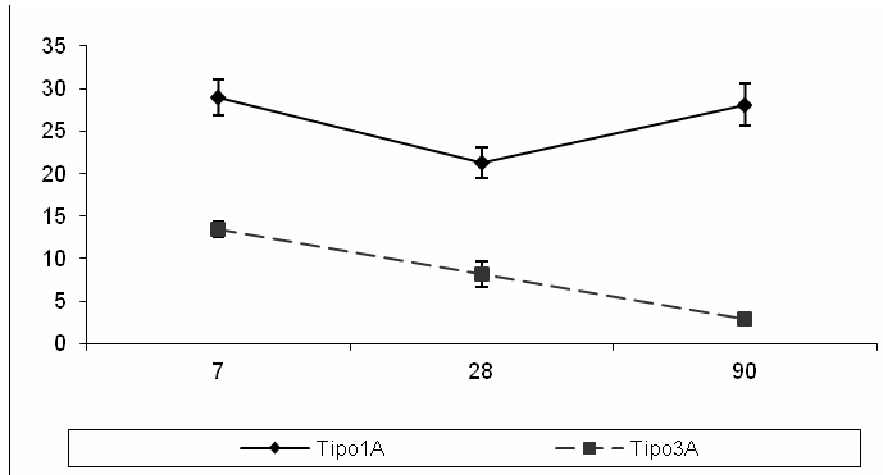


Fig. 21 ó Gráfico comparativo entre os tipos I e III de colágeno nas telas A em 7, 28 e 90 dias. Foram significativas somente as diferenças do tipo I entre 7 e 28 dias ($p = 0,04$) e do tipo III entre 7 e 90 dias ($p < 0,001$).

Tela B

Colágeno tipo I

A média de colágeno tipo I marcado foi de 19,49% aos 7 dias (EP 2,82, IC 95% 13,95 a 25,04), 18,03% aos 28 dias (EP 3,44, IC 95% 11,29 a 24,78) e 26,36% aos 90 dias (EP 2,44, IC 95% 21,56 a 31,16).

Colágeno tipo III

A média de colágeno tipo III (fig. 22) marcado foi de 4,76% aos 7 dias (EP 1,03, IC 95% 2,72 a 6,79), 5,49% aos 28 dias (EP 0,54, IC 95% 4,43 a 6,56) e 2,62% aos 90 dias (EP 0,82, IC 95% 1,01 a 4,23).

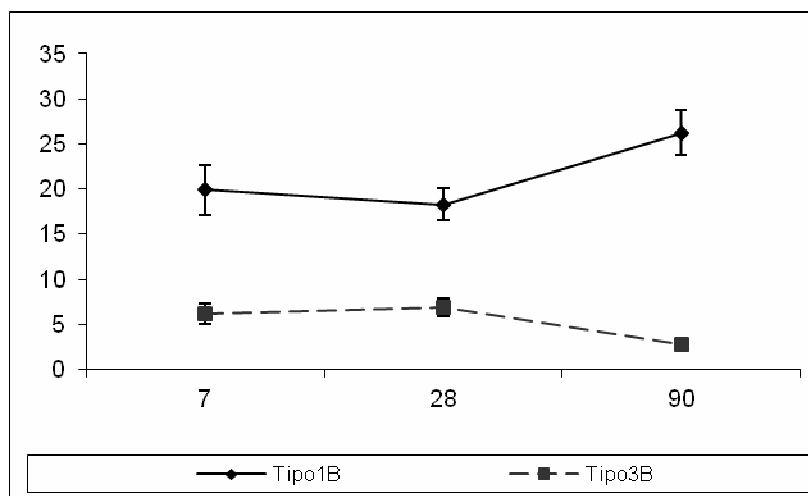


Fig 22 ó Gráfico comparativo entre os tipos I e III de colágeno nas telas B em 7, 28 e 90 dias. Essas diferenças não foram significativas ($p > 0,05$).

Tabela 9 ó Contagem de pixels correspondentes aos tipos de colágeno marcado

Tempo	Tipo de colágeno	Tela	Média (%)	EP	IC 95%	
					Mínimo	Máximo
7	I	A	28,39	2,19	24,09	32,68
		B	19,49	2,82	13,95	25,04
	III	A	13,19	0,95	11,33	15,06
		B	4,76	1,03	2,72	6,79
28	I	A	20,51	2,23	16,12	24,89
		B	18,03	3,44	11,29	24,78
	III	A	7,51	1,66	4,24	10,77
		B	5,49	0,54	4,43	6,56
90	I	A	25,72	2,49	20,84	30,60
		B	26,36	2,44	21,56	31,16
	III	A	1,53	0,66	0,22	2,83
		B	2,62	0,82	1,01	4,23

Comparações entre as telas A e B

Em cada etapa do tempo (7, 28 e 90 dias) não houve diferença significativa na concentração de colágeno do tipo I entre as telas A e B. Em contrapartida, avaliando somente o colágeno do tipo III, houve diferença no 7º dia pós operatório ($p < 0,001$), de 13,19% nas telas A para 4,76% nas telas B. Não houve diferença significativa do tipo III entre as telas A e B nos demais tempos ($p > 0,999$).

Comparações entre os colágenos tipos I e III

A concentração de colágeno do tipo I mostrou-se significativamente maior do que a do colágeno do tipo III nos três tempos avaliados e nos dois tipos de tela:

7 dias ó Telas A ó 28,3% x 13,1% ($p < 0,001$)

Telas B ó 19,4% x 4,7% ($p < 0,001$)

28 dias ó Telas A ó 20,5% x 7,5% ($p < 0,001$)

Telas B ó 18,0% x 5,4% ($p = 0,005$)

90 dias ó Telas A ó 25,7% x 1,5% ($p < 0,001$)

Telas B ó 26,3% x 2,6% ($p < 0,001$)

Razão de colágeno I/III

Ao comparar a razão entre os tipos I e III, observou-se aumento proporcional ao tempo de implantação da tela, em ambos os tipos de tela (fig. 23). Este aumento foi significativo aos 90 dias em ambas as telas (tab. 10), tendo praticamente quintuplicado ($p < 0,001$). Não houve diferença significativa entre 7 e 28 dias em nenhuma das telas (tela A: $p > 0,999$; tela B: $p = 0,840$). Não houve diferença significativa na comparação entre as telas A e B aos 7 dias ($p = 0,791$); nem aos 28 dias ($p = 0,342$); nem aos 90 dias ($p = 0,743$).

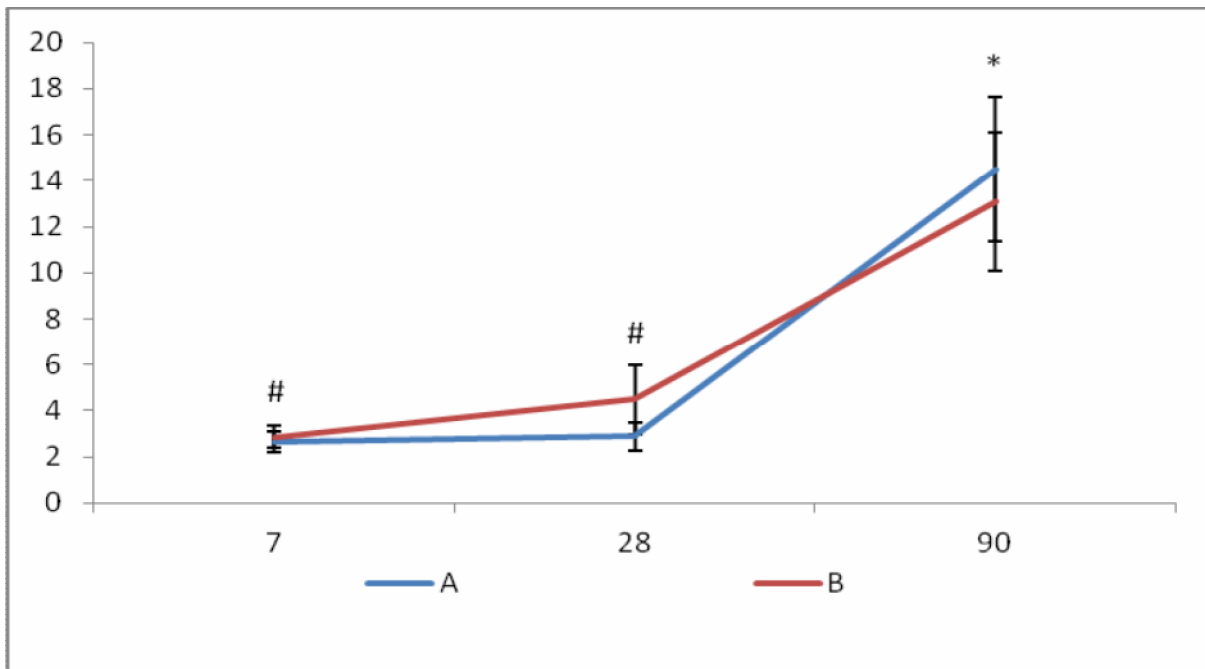


Fig 23 ó Gráfico comparativo da razão I/III de colágeno entre as telas A e B. Ao comparar 7, 28 e 90 dias, símbolos diferentes (# e *) representam médias estatisticamente diferentes ($p < 0,001$). Símbolos iguais (#) indicam ausência de diferença significativa.

Tabela 10 ó Médias das razões de colágeno I/III

Tela	Tempo (dias)	Média	EP	IC 95%	
				Mínimo	Máximo
A	7	2,66	0,45	1,76	3,56
	28	2,89	0,60	1,70	4,08
	90	14,50	3,15	8,31	20,69
B	7	2,86	0,49	1,89	3,83
	28	4,49	1,49	1,56	7,42
	90	13,09	3,03	7,14	19,04

6 DISCUSSÃO

Estudos envolvendo próteses para o tratamento de hérnias da parede abdominal ocorrem em centros de pesquisa em todo o mundo, tendo em vista que a tela é fundamental e tornou-se consenso para um reforço seguro neste tipo de cirurgia. Diminui significativamente a recidiva e até mesmo o custo global por paciente operado^{1-5,11-20,25}. Este estudo é o primeiro a comparar *Marlex*^R com *Parietene Light*^R, duas próteses de PP puro, de 95g/m² e 38g/m², respectivamente, sob três importantes aspectos: retração, por aferição direta; resposta inflamatória, pela pesquisa das células de defesa; e fibroplasia, pelos tipos I e III de colágeno. Para que houvesse maior aplicabilidade, a escolha das telas foi realizada com base no material mais utilizado para a correção de hérnias no mundo, o PP. Assim, no grupo controle, deu-se preferência ao *Marlex*^R, marca mais antiga no mercado. No grupo teste, foi utilizada *Parietene Light*^R, por ser uma tela moderna, confeccionada com o mesmo material ó PP monofilamentar puro ó porém de menor densidade.

Evitou-se utilizar telas mistas, frequentemente descritas em publicações recentes, pois a presença de outros elementos associados ao PP poderia atuar como fator de confusão e causar interferência na interpretação dos dados. Exemplos de elementos que podem ser confeccionados juntamente com o PP são a poliglactina, poliglecaprone, polidioxanona, celulose oxidada regenerada, nitinol, ácido poli-L-láctico, colágeno, ômega 3 e outros^{16,34,37-39,41,43,46,58,81}. Em um estudo espanhol, os níveis de macrófagos e de fatores de crescimento estavam diretamente associados à presença do material biodegradável na manufatura da prótese, nesse caso o poliglecaprone, e não ao tamanho dos poros ou à densidade das telas. Assim, telas que contêm material absorvível em conjunto com o PP (telas mistas) podem induzir a uma reação inflamatória mais exuberante com menor síntese de fatores de crescimento para a maturação tissular do que nas telas A ou B puras, independentemente da gramatura⁷⁰.

O planejamento da aferição nos tempos de 7, 28 e 90 dias deu-se pela cronofisiologia da resposta cicatricial do rato Wistar frente a um procedimento cirúrgico. Neste animal, aos 7 dias costuma ocorrer o término da fase inflamatória e o início da fase proliferativa, o que justificou a data da intervenção no 1º grupo de ratos. Completadas 4 semanas, a fase proliferativa chega ao fim, dando início à fase de remodelamento, o que justificou a intervenção no 2º grupo aos 28 dias. A fase de remodelamento apresentará seus resultados definitivos após alguns meses^{21,22,49}. Por este motivo, também estudando o nível de retração das telas, Zinther recomenda incluir uma aferição tardia 1 mês ou mais da data do implante.

Todavia, ele afirma não ser necessário pesquisar mais do que 90 dias da data do implante, pois o seu estudo não mostra diferença ao comparar a retração em 3, 6, 12 e 18 meses⁸². Assim, para que o 3º grupo de ratos fosse avaliado em uma fase suficientemente tardia, optou-se por fazê-lo ao 90º dia.

Ambas as telas representaram bem as características descritas do material ideal^{1,2,11,13-16,19} ao longo do estudo: a totalidade dos ratos demonstrou favorável evolução pós-operatória e adequada cicatrização, sem complicações, a despeito do amplo descolamento aponeurótico e da presença do corpo estranho. Não houve seroma, hematoma, infecção de sítio cirúrgico e nem óbitos. O fato de os ratos terem apresentado favorável evolução, sem complicações locais ou sistêmicas, aumenta a confiabilidade dos resultados, evitando que fatores como presença de infecção pudessem alterar os desfechos^{26,34}. Para reduzir a chance de ocorrer infecção do sítio cirúrgico, foram tomadas as seguintes medidas: realização da tonsura no menor intervalo de tempo possível antes da incisão e com cortador elétrico; controle da temperatura ambiente, evitando hipotermia; ausência de sondas e drenos; ausência de eletrocautério; técnica cirúrgica meticulosa e rigorosamente asséptica; realimentação oral precoce⁸³.

A infiltração subcutânea com bupivacaína antes da incisão foi feita para proporcionar anestesia local pré-operatória aos animais, denominada analgesia preemptiva, a qual reduz a dor pós-operatória mesmo quando a anestesia geral é utilizada. Reduz também a resposta endócrino-metabólica ao trauma por bloquear a via aferente da dor antes mesmo de ela ser estimulada. Desta forma, além de diminuir a chance de dor e sofrimento nos ratos, em conformidade com a bioética animal, reduziria também a chance de ocorrer um viés na aferição ao avaliar a resposta inflamatória pós-operatória - por alterações decorrentes do método e não da cicatrização^{84,85}.

Todos os ratos mantiveram seus hábitos normais, alimentando-se bem e apresentando ganho de peso progressivo ao longo do tempo. Assim, a comparação entre as médias de pesos no dia zero (peso inicial), antes do experimento, não mostrou diferença entre os 3 grupos ($p > 0,2$). Já ao subtrair o peso inicial do peso final, obtido na data da reintervenção, houve grande diferença na comparação entre os grupos reoperados nos 7, 28 e 90 dias ($p < 0,001$).

Durante o planejamento do estudo, o cálculo do tamanho da amostra sugeriu sete ou mais ratos por grupo de forma a encontrar um resultado significativo e seguro. O motivo de ser utilizado um rato excedente no 3º grupo foi como reserva, se houvesse alguma complicação tardia ou óbito que excluísse um rato do estudo. Como todos evoluíram bem e

não houve perda amostral, foram computados todos os 9 ratos aos 90 dias, aumentando o nível de significância.

As telas foram fixadas com pontos de sutura separados em suas extremidades, utilizando fio inabsorvível, objetivando mantê-las imóveis nas suas posições, para que suas margens não se desprendessem ou se dobrassem. Talvez por este motivo o índice de retração encontrado não tenha sido tão exuberante como em outros estudos^{31,73-77}. A quantidade de nós foi padronizada para que todas as telas tivessem exatamente a mesma intensidade de fixação e desta forma esse fator não influenciasse na retração^{31,73-77}. E em número de cinco semi-nós para reduzir ao máximo a chance de afrouxar a sutura, já que foi utilizado fio de alta memória^{86,87}.

Foram utilizados pontos de sutura separados na pele para evitar a abertura da incisão no caso de desprendimento de um dos pontos ou de rotura do fio. E os nós foram confeccionados de forma invertida e intradérmica para evitar que os ratos roessem os fios. Ainda, para evitar o auto-canibalismo e que outros fatores externos interferissem na evolução, foi mantido um ambiente livre de barulhos, com temperatura ambiente agradável, luz adequada para os ciclos de sono-vigília, e alimentação liberada, evitando superpopulação, trocas constantes de gaiola ou alterações bruscas da temperatura⁸⁸.

A recidiva de hérnia ocasionada pela retração da tela pode ser facilmente compreendida por uma citação bíblica de Jesus Cristo: *õNinguém usa um retalho de pano novo para remendar uma roupa velha; pois o remendo novo encolhe e rasga a roupa velha, aumentando o buraco.õ Mt 9,16; Mc 2,21; Lc 5,36*. Uma tela muito justa que retraia, por mínimo que seja, torna desprotegida a área suturada, propiciando à recorrência da herniação neste local. A retração é um fenômeno comum durante a cicatrização, mesmo sem prótese. Após a implantação de uma tela, provavelmente não seja ela quem retraia e sim apenas acompanhe a retração da cicatriz fibrótica^{29,30,33-35,43,89}. Também estudando a retração em telas *Marlex*^R, porém em coelhos, Harrel encontrou 3,6% de retração em 16 semanas⁹⁰ e Novitsky encontrou 4,6% em 12 meses⁵². Klosterhalfen afirmava que as telas B, por apresentarem menor fibrose tecidual provavelmente demonstrassem um menor índice de retração, hipótese que ainda precisava ser confirmada⁴³. Estudando a *Parietene*^R também em ratos Wistar, um recente estudo francês encontrou resultados semelhantes, de 5% de retração em 30 dias, com uma amostra de 7 ratos³⁴.

Para a quantificação do colágeno, existem vários métodos. Neste estudo, foi utilizada IHQ pelo motivo de esta técnica ser altamente específica e permitir uma diferenciação precisa entre os vários tipos de colágeno⁹¹. Dentre os métodos de revelação, optou-se por um indireto,

pois, além de ter maior sensibilidade, também tem a vantagem de que apenas um número relativamente pequeno de anticorpos secundários conjugados (marcados) precisa ser gerado. Dentre os métodos indiretos, deu-se preferência à LSAB, uma técnica de avidina-biotina em que o anticorpo secundário biotilado reage com várias moléculas de estreptavidina conjugada à peroxidase, pois a sensibilidade deste método é ainda maior do que a do método indireto padrão⁶⁸.

Para a contagem dos pixels, dentre as opções disponíveis, deu-se preferência por fotografias de alta resolução, com 12.817.440 pixels (4140 x 3096) por foto, para dar maior precisão aos resultados.

A análise microscópica, tanto em HE quanto IHQ, deteve-se ao estudo da região fascial coberta pela tela com tecido neoformado, não sendo avaliadas as demais camadas da parede abdominal, como músculo e peritônio. Os campos microscópicos eram escolhidos de forma aleatória, dentro do sítio a ser pesquisado e incluíam sempre filamentos de tela e seus poros.

Foi observado aumento progressivo da razão I/III de colágeno conforme o tempo pós-implante e de forma significativa em ambas as telas. A explicação para este fato é que, à medida que o processo cicatricial dos ratos ia evoluindo, a região recoberta pelas próteses tornava-se cada vez mais forte e resistente, às custas da síntese geral de colágeno e da substituição gradual do colágeno tipo III, imaturo, pelo colágeno tipo I, maduro. Este processo é típico da fase da cicatrização denominada de remodelamento, que corresponde à fase mais tardia e que pode se estender por meses^{21,22,49}. Na comparação da tela A com a tela B, a razão de colágeno I/III foi semelhante estatisticamente em todas as das etapas da cicatrização, pressupondo que ambas as telas constituíram bons alicerces para a deposição de colágeno.

Cada patologista quantificou os quatro tipos celulares em 10 campos aleatórios de todas as telas, totalizando 500 campos contados por cada um. Apesar de ser mais trabalhoso e demorado, optou-se por aferir a contagem celular por 2 patologistas independentes a fim de aumentar a confiabilidade dos resultados. Além disso, ambas não recebiam informação de que grupo pertenciam as amostras a serem analisadas^{92,93}.

O exame histológico das telas removidas demonstra que todas induzem a uma reação inflamatória aguda, independentemente do biomaterial que as compõe. Esta reação também afeta a integração das fibras da malha aos tecidos do hospedeiro: quanto mais intensa a reação inicial maior será o crescimento tecidual e a integração^{1,11,36,41}. Embora não houvesse sinais flogísticos à inspeção externa da ferida operatória, durante a dissecação constatou-se que a malha apresentava-se firmemente integrada à aponeurose e parcialmente recoberta por

tecido cicatricial já aos 7 dias pós-implante. De forma similar, também estudando a reação do PP na parede abdominal de ratos Wistar, Klinge descreve um ápice dos sinais de inflamação entre o 7º e o 14º dia após a implantação e um tecido cicatricial caracterizado por acúmulo contínuo de colágeno²³. O comportamento das células, suas proporções e sua evolução seguiram uma lógica natural, apresentando níveis de neutrófilos maiores aos 7 dias, período em que ocorre a fase inflamatória com predominância destas células para a limpeza do local, fagocitando bactérias, hematomas e tecidos desvitalizados, visando à preparação da área a ser construída na fase seguinte^{21,22,94,95}. Os neutrófilos diminuíram em ambas as telas aos 28 dias e mais ainda aos 90 dias. O fato de haver mais neutrófilos aos 7 dias na tela B leva à conclusão de que este tipo de tela induz a uma reação inflamatória precoce mais proeminente ou ainda que o influxo de células ali é maior na fase inicial da cicatrização. A posterior diminuição destas células em ambas as telas é justificável pelo término da fase inflamatória e início da fase de síntese⁹⁵. Junge também encontrou marcada redução da reação inflamatória no 90º dia pós-implante⁴⁷.

Os linfócitos e os macrófagos interagem com a imunidade específica e com a resposta inflamatória inespecífica aos biomateriais, estando envolvidos no recrutamento de novas células, na formação de células gigantes e influenciando a sua atividade fagocitária^{24,94}. Os níveis de linfócitos foram semelhantes nos 2 tipos de tela aos 7 dias, evoluindo com progressiva diminuição, o que é compatível com o passar da fase inflamatória. A redução dos linfócitos foi mais vertiginosa e significativa nas telas B, sugerindo que estas induzam a uma menor resposta inflamatória tardia e menor reação de corpo estranho. Os níveis de macrófagos ao redor dos filamentos de PP mostraram uma evolução idêntica à das células gigantes, a despeito de suas avaliações terem sido individualizadas, cegadas e feitas por 2 patologistas diferentes, o que aumenta a fidedignidade das médias finais. Aos 7 dias, as taxas de macrófagos e de células gigantes foram significativamente maiores nas telas B, reforçando a hipótese alegada para os neutrófilos e linfócitos, de que poros maiores permitiriam maior afluxo celular. Os níveis de gigantócitos e de macrófagos perifilamentares aumentaram progressiva e significativamente nas telas A, provavelmente por maior reação inflamatória tardia, tipo corpo estranho, justificável pela maior densidade de material protético (95g/m^2); e diminuíram nas telas B, onde esta densidade é menor (38g/m^2). Outros estudos encontraram resultados semelhantes, apontando que o tamanho do poro e a estrutura filamentar que compõem a prótese são os fatores determinantes mais importantes na reação de corpo estranho e, desta forma, telas B induziriam a melhor incorporação tecidual^{4,5}, a menor reação de corpo estranho^{40,44} e restringiriam menos a mobilidade da parede abdominal⁴⁷.

Reunindo os resultados encontrados, a deposição de colágeno foi semelhante em ambas as telas, porém a tela B apresentou menor reação de corpo estranho e maior retração. Esta provavelmente se deva à maleabilidade excessiva do material, propiciando maiores alterações na sua conformação. Neste sentido, a tela B demonstrou ser eficiente, por permitir síntese de colágeno semelhante à tela A, levando supostamente a um adequado fortalecimento da parede com menor reação tardia de corpo estranho, diminuindo, pelo menos teoricamente, a sensação de corpo estranho e desconforto crônico. Entretanto, por dobrar-se mais facilmente e retrair mais, poderia ser mais suscetível à recidiva. Confirmando essas suposições, duas metanálises recentes com 1936 e 5389 pacientes operados, respectivamente, encontraram menor ocorrência de sensação de corpo estranho ($p < 0,001$) e dor crônica ($p < 0,01$) nas telas B, sendo que o segundo estudo ainda encontrou taxa de recorrência ligeiramente maior nas telas B ($p = 0,05$)^{4,5}.

Finalizando, o uso de ambos os tipos de tela satisfaz o propósito de conduzir adequadamente à fibroplasia para o reforço da parede abdominal, com taxas pequenas de retração. O cirurgião não deve esquecer de que a prótese é apenas um material inanimado e que o sucesso dela depende também do seu correto manuseio e da resposta do hospedeiro.

7 CONCLUSÕES

7.1 Retração

A tela de baixa gramatura apresentou índice de retração maior do que a tela de alta gramatura aos 7 dias ($p = 0,036$) e aos 90 dias ($p = 0,038$).

7.2 Resposta inflamatória

A tela de baixa gramatura apresentou maior resposta inflamatória inicial ($p = 0,008$).

A tela de alta gramatura apresentou maior reação tardia de corpo estranho ($p < 0,001$).

7.3 Fibroplasia

Houve aumento progressivo da razão de colágeno I/III, em ambos os tipos de tela ($p < 0,001$) e sem diferença entre elas.

REFERÊNCIAS

1. Lázaro da Silva A. *Hérnias*. 2ª ed. São Paulo: Roca; 2006, v. 01. ISBN 8572416218
2. Falci F. Utilização das próteses em hérnias da parede abdominal. In: Lira OB, Franklin R. *Hérnias ó Texto e Atlas*. 1ª ed. Rio de Janeiro: Rubio; 2003. p. 1-18.
3. El-Khadrawy OH, Moussa G, Mansour O, Hashish MS. Prophylactic prosthetic reinforcement of midline abdominal incisions in high-risk patients. *Hernia* 2009; 13: 267-74. DOI 10.1007/s10029-009-0484-3
4. Uzzaman MM, Ratnasingham K, Ashraf N. Meta-analysis of randomized controlled trials comparing lightweight and heavyweight mesh for Lichtenstein inguinal hernia repair. *Hernia* 2012. In press. DOI 10.1007/s10029-012-0901-x
5. Li J, Ji Z, Cheng T. Lightweight versus heavyweight in inguinal hernia repair: a meta-analysis. *Hernia* 2012. In press. DOI 10.1007/s10029-012-0928-z
6. Fachinelli A, Trindade MRM. Qualitative and quantitative evaluation of total and types I and III collagens in patients with ventral hernias. *Langenbecks Arch Surg* 2007; 392: 459-64. DOI 10.1007/s00423-006-0086-9
7. Wolwacz Jr I, Trindade MRM, Cerski CT. The collagen in transversalis fascia of direct inguinal hernia patients treated by videolaparoscopy. *Acta Cir Bras* [serial online]. 2003 May-Jun; 18(3): 196-202. Available from URL: <http://www.scielo.br/acb>.
8. Sorensen LT, Hemmingsen UB, Kirkeby LT, Kallehave F, Jorgensen LN. Smoking is a risk factor for incisional hernia. *Arch Surg* 2005; 140(2): 119-23.
9. Sorensen LT. Effect of lifestyle, gender and age on collagen formation and degradation. *Hernia* 2006; 10: 456-61. DOI 10.1007/s10029-006-0143-x
10. Schumpelick V. Special issue ó Collagen. *Hernia* 2006; 10:453. DOI 10.1007/s10029-006-0155-6.
11. Amid PK. Classification of biomaterials, their related complications in abdominal wall hernia surgery. *Hernia* 1997; 1: 15-21.
12. Finan KR, Kilgore ML, Tawn MT. Open suture versus mesh repair of primary incisional hernias: a cost-utility analysis. *Hernia* 2009; 13: 173-82. DOI 10.1007/s10029-008-0462-1
13. Earle D, Romanelli J. Prosthetic materials for hernia: what's new. *Contemp Surg* 2007; 63(2): 63-9.
14. Cumberland VH. A preliminary report on the use of prefabricated nylon weave in the repair of ventral hernia. *Med J Aust* 1952; 1: 143.
15. Scales JT. Discussion on metals and synthetic material in relation to soft tissues; tissue reaction to synthetic materials. *Proc R Soc Med* 1953; 46: 647.

16. Zogbi L. The use of biomaterials to treat abdominal hernias. In: Pignatello R. Biomaterials. Rijeka, Croatia: In Tech; 2011 Nov. Chapter 18. p. 359-382. ISBN 978-953-307-661-4
17. Mahmoud Uslu HY, Erkek AB, Cakmak A, et al. Incisional hernia treatment with polypropylene graft: results of 10 years. *Hernia* 2006; 10: 380-4.
18. Usher FC, Ochsner J, Tuttle LLD Jr. Use of Marlex mesh in the repair of incisional hernias. *Am Surg* 1958; 24:969-72.
19. Usher FC. Hernia repair with Marlex Mesh. An analysis of 541 cases. *Arch Surg* 1962; 84: 73-6.
20. Lichtenstein IL, Schulman AG, Amid PK, et al. The tension-free hernioplasty. *Am J Surg* 1989; 157(2): 188-93.
21. Lemchen HF, Irigaray JH. Ferida pós-operatória: conduta na evolução normal e nas complicações. In: Pitrez FAB. Pré e pós-operatório em cirurgia geral e especializada. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2003. Cap. 15. p 130-6.
22. Castro CC, Rodrigues SMC. Cicatrização de feridas. In: Programa de atualização em cirurgia. Porto Alegre: Artmed; 2007. 2(4): 35-50.
23. Klinge U, Klosterhalfen B, Birkenhauer V, Junge K, Conze J, Schumpelick V. Impact of polymer pore size on the interface scar formation in a rat model. *J Surg Res* 2002; 103: 208-14. DOI 10.1006/jsre.2002.6358
24. Rosch R, Junge K, Schachtrupp U, Klinge B, Klosterhalfen B, Shumpelick V. Mesh implants in hernia repair. Inflammatory cell response in a rat model. *Eur Surg Res* 2003; 35: 161-6. DOI 10.1159/000070045
25. Simons MP, Aufenacker T, Bay-Nielsen M, Bouillot JL, Campanelli G, Conze J, de Lange D, Fortelny R, Heikkinen T, Kingsnorth A, Kukleta J, Morales-Conde S, Nordin P, Schumpelick V, Smedberg S, Smietanski M, Weber G, Miserez M. European Hernia Society guidelines on the treatment of inguinal hernia in adult patients. *Hernia* 2009; 13:3436403. DOI 10.1007/s10029-009-0529-7.
26. Díaz-Godoy A, García-Ureña MA, López-Monclús J, Vega Ruíz V, Melero Montes D, Erquinigo Agurto N. Searching for the best polypropylene mesh to be used in bowel contamination. *Hernia* 2011; 15:17369. DOI 10.1007/s10029-010-0762-0.
27. Klinge U, Klosterhalfen B, Müller M, Öttinger AP, Schumpelick V. Shrinking of polypropylene mesh in vivo: an experimental study in dogs. *Eur J Surg* 1998; 164: 965-9.
28. Coda A, Bendavid R, Botto-Micca F, Bossotti M, Bona A. Structural alterations of prosthetic meshes in humans. *Hernia* 2003; 7: 29-34.
29. Dietz HP, Erdmann M, Shek KL. Mesh contraction: myth or reality? *Am J Obstet Gynecol* 2011; 204: 173.e1-4. DOI 10.1016/j.ajog.2010.08.058.

30. Gonzalez R, Fugate K, McClusky D, Ritter EM, Lederman A, Dillehay D et al. Relationship between tissue ingrowth and mesh contraction. *World J Surg* 2005; 29: 1038-43.
31. Ladurner L, Drosse I, Bürklein D, Plitz W, Barbaryka G, Kirchhoff C, Kirchhoff S, Mutschler W, Schieker M, Mussack T. Cyanoacrylate Glue for Intra-abdominal Mesh Fixation of Polypropylene-Polyvinylidene Fluoride Meshes in a Rabbit Model. *J Surg Res* 2011; 167: 157662. DOI 10.1016/j.jss.2009.11.710
32. Zogbi L, Portella AOV, Trindade MRM, Trindade EN. Retraction and fibroplasia in a polypropylene prosthesis: experimental study in rats. *Hernia* 2010; 14: 291698. DOI 10.1007/s10029-009-0607-x.
33. García-Ureña MA, Ruiz VV, Godoy AD, Perea JMB, Gómez LMM, Hernández FJC, García MAV. Differences in polypropylene shrinkage depending on mesh position in an experimental study. *Am J Surg* 2007; 193: 538-42. DOI 10.1016/j.amjsurg.2006.06.045.
34. Mamy L, Letouzey V, Lavigne JP, Garric X, Gondry J, Mares P, Tayrac R. Correlation between shrinkage and infection of implanted synthetic meshes using an animal model of mesh infection. *Int Urogynecol J* 2011; 22:47652. DOI 10.1007/s00192-010-1245-7.
35. Greca FH, Souza-Filho ZA, Giovanini A, Rubin MR, Kuenzer RF, Reese FB, Araujo LM. The influence of porosity on the integration histology of two polypropylene meshes for the treatment of abdominal wall defects in dogs. *Hernia* 2008; 12: 45-9. DOI 10.1007/s10029-007-0276-6
36. Bachmann S, Ramshaw B. Prosthetic material in ventral hernia repair: How do I choose? *Surg Clin N Am* 2008; 88:101-12. DOI 10.1016/j.suc.2007.11.001.
37. Bellón JM. Implicaciones de los nuevos diseños protésicos de baja densidad en La mejora de la reparación de defectos herniarios. Revisión de conjunto. *Cir Esp* 2009; 85(5) :268673. DOI 10.1016/j.ciresp.2009.01.012.
38. Schug-Pass C, Tamme C, Tannapfel A, Köckerling F. A lightweight polypropylene mesh for laparoscopic intraperitoneal repair of abdominal hernias: Comparison of biocompatibility with the Dualmesh in an experimental study using the porcine model. *Surg Endosc* 2006; 20: 402-9. DOI: 10.1007/s00464-004-8277-3.
39. Schug-Pass C, Sommerer F, Tannapfel A, Lippert H, Kockerling F. The use of composite meshes in laparoscopic repair of abdominal wall hernias: are there differences in biocompatibility? Experimental results obtained in a laparoscopic porcine model. *Surg Endosc* 2009; 23:487695. DOI 10.1007/s00464-008-0085-8.
40. Bellón JM, Rodríguez M, García-Honduvilla N, Pascual G, Buján J. Partially absorbable meshes for hernia repair offer advantages over non-absorbable meshes. *Am J Surg* 2007; 194: 68-74. DOI 10.1016/j.amjsurg.2006.11.016.
41. Earle DB, Mark LA. Prosthetic material in inguinal hernia repair: How do I choose? *Surg Clin N Am* 2008; 88:1796201. DOI 10.1016/j.suc.2007.11.002.

42. Bringman S, Conze J, Cuccurullo D, Deprest J, Junge K, Klosterhalfen B, Parra-Davila E, Ramshaw B, Schumpelick V. Hernia repair: the search for ideal meshes. *Hernia* 2010; 14:8167. DOI 10.1007/s10029-009-0587-x.
43. Klosterhalfen B, Junge K, Klinge U. The lightweight and large porous mesh concept for hernia repair. *Export Rev Med Devices* 2005; 2(1): 1-15. DOI 10.1016/j.suc.2007.11.002.
44. Weyle D, Belyaev O, Müller C, Meurer K, Bauer KH, Papapostolou G, Uhl W. Improving outcomes in hernia repair by the use of light meshes ó A comparison of different implant constructions based on a critical appraisal of the literature. *World J Surg* 2007; 31: 234-44. DOI: 10.1007/s00268-006-0123-4.
45. Amato G, Lo Monte AI, Cassata G, Damiano G, Romano G, Bussani R. A New Prosthetic Implant for Inguinal Hernia Repair: Its Features in a Porcine Experimental Model. *Artif Organs* 2011; 35(8): 181690. DOI 10.1111/j.1525-1594.2011.01272.x.
46. Hollinsky C, Sandberg S, Koch T, Seidler S. Biomechanical properties of lightweight versus heavyweight meshes for laparoscopic inguinal hernia repair and their impact on recurrence rates. *Surg Endosc* 2008; 22: 2679685. DOI 10.1007/s00464-008-9936-6.
47. Junge K, Klinge U, Rosch, Klosterhalfen B, Schumpelick V. Functional and morphologic properties of a modified mesh for inguinal hernia repair. *World J Surg* 2002; 26: 1472-80. DOI 10.1007/s00268-002-6444-z.
48. Brown CN, Finch JG. Which mesh for hernia repair? *Ann R Coll Surg Engl* 2010; 92: 27268. DOI 10.1308/003588410X12664192076296.
49. Burger JWA, Halm JA, Wijsmuller AR, ten Raa S, Jeekel J. Evaluation of new prosthetic meshes for ventral hernia repair. *Surg Endosc* 2006; 20: 1320-5. DOI 10.1007/s00464-005-0706-4.
50. Schumpelick W, Klinge U, Rosch R, Junge K. Lightweight meshes in incisional hernia repair. *J Min Access Surg* 2006; 2(3): 117-23.
51. Silvestre AC, Mathia GB, Fagundes DJ, Medeiros LR, Rosa MI. Shrinkage evaluation of heavyweight and lightweight polypropylene meshes in inguinal hernia repair: a randomized controlled trial. *Hernia* 2011; 15: 629634. DOI 10.1007/s10029-011-0853-6
52. Novitsky YW, Harrell AG, Cristiano JABS, Paton BL, Norton HJ, Peindl RD, Kercher KW, Heniford BT. Comparative evaluation of adhesion formation, strength of ingrowth, and textile properties of prosthetic meshes after long-term intra-abdominal implantation in a rabbit. *J Surg Res* 2007; 140: 6-11. DOI 10.1016/j.jss.2006.09.015.
53. Hernández-Gascón B, Peña E, Pascual G, Rodríguez M, Bellón JM, Calvo B. Long-term anisotropic mechanical response of surgical meshes used to repair abdominal wall defects. *J Mech Behav Biomed Mater* 2012; 5: 257671. DOI <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2011.03.031>.

54. Klinge U, Binnebösel M, Mertens PR. Are collagens the culprits in the development of incisional and inguinal hernia disease? *Hernia* 2006; 10: 472-7. DOI 10.1007/s10029-006-0145-8
55. Read RC. Milestones in the history of hernia surgery: prosthetic repair. *Hernia* 2004; 8(1): 8-14.
56. Keith A. On the origin and nature of hernia. *Br J Surg* 1924; 11:455-75.
57. Read RC. Introduction. *Hernia* 2006; 10:454-5. DOI 10.1007/s10029-006-0142-y.
58. Klinge U, Klosterhalfen B. Modified classification of surgical meshes for hernia repair based on the analyses of 1,000 explanted meshes. *Hernia* 2012; 16: 25168 DOI 10.1007/s10029-012-0913-6
59. Henriksen NA, Yadete DH, Sorensen LT, Agren MS, Jorgensen LN. Connective tissue alteration in abdominal wall hernia. Systematic review. *Br J Surg* 2011; 98: 21069. DOI: 10.1002/bjs.7339.
60. Calvi, ENC, Nahas FX, Barbosa MVJ, Ihara SSM, Calil JA, Ferreira LM. Immunohistochemical analysis of collagen content and types in the rectus abdominis muscle of cadavers of different ages. *Acta Cir. Bras* 2011, 26(2): 3-7.
61. Jansen PL, Klinge U, Mertens PR. Hernia disease and collagen gene regulation: are there clues for intervention? *Hernia* 2006; 10:486691. DOI 10.1007/s10029-006-0147-6
62. Taniguchi S, Ueda K, Inoue T, Li TS, Kuga T, Hamano K. Impact of collagen subtype proportions in peritoneal tissues on inguinal hernia formation in adults and infants. *Pediatr Surg Int* 2006; 22:60064.
63. Klinge U, Si ZY, Zheng H, Schumpelick V, Bhardwaj RS, Klosterhalfen B. Abnormal collagen I to III distribution in the skin of patients with incisional hernia. *Eur Surg Res* 2000; 32:43648.
64. Klinge U, Si ZY, Zheng H, Schumpelick V, Bhardwaj RS, Klosterhalfen B. Collagen I/III and matrix metalloproteinases (MMP) 1 and 13 in the fascia of patients with incisional hernias. *J Invest Surg* 2001; 14:47654.
65. Si Z, Bhardwaj R, Rosch R, Mertens PR, Klosterhalfen B, Klinge U. Impaired balance of type I and type III procollagen mRNA in cultured fibroblasts of patients with incisional hernia. *Surgery* 2002; 131:324631.
66. Junge K, Klinge U, Rosch R, et al. Decreased collagen type I/III ratio in patients with recurring hernia after implantation of alloplastic prostheses. *Langenbecks Arch Surg* 2004; 389:17622.
67. Alves MTS, Roman LCM. Study of the effect of different fixation times in formalin and methods of antigen retrieval in immunohistochemistry. *J Bras Patol Med Lab* 2005; 41(1): 43-9.

68. Ramos-Vara JA. Technical aspects of immunohistochemistry. *Vet Pathol* 2005; 42(4): 405-26. DOI: 10.1354/vp.42-4-405.
69. Klinge U, Klosterhalfen B, Schumpelick V. Vypro: A new generation of polypropylene mesh. In: Bendavid R, Abrahamson J, Arregui ME, Flament JB, Phillips EH, eds. *Abdominal Wall Hernias: Principles and Management*. New York: Springer-Verlag, 2001: 286-91.
70. Pascual G, Rodríguez M, Sotomayor S, Pérez-Köhler B, Bellón JM. Inflammatory reaction and neotissue maturation in the early host tissue incorporation of polypropylene prostheses. *Hernia* 2012; In press. DOI 10.1007/s10029-012-0945-y
71. Vaz M, Krebs RK, Trindade EN, Trindade MRM. Fibroplasia after polypropylene mesh implantation for abdominal wall hernia repair in rats. *Acta Cir Bras* 2009; 24(1): 19-25.
72. Nien YD, Man YP, Tawil B et al. Fibrinogen inhibits fibroblast-mediated contraction of collagen. *Wound Repair Regen* 2003; 11: 380-5.
73. Beldi G, Wagner M, Bruegger LE, Kurmann A, Candinas D. Mesh shrinkage and pain in laparoscopic ventral hernia repair: a randomized clinical trial comparing suture versus tack mesh fixation. *Surg Endosc* 2011; 25:749655. DOI 10.1007/s00464-010-1246-0.
74. Sekmen U, Gurleyik G, Kayadibi H, Saglam A. The Role of Suture Fixation on Mesh Contraction after Abdominal Hernia Repair. *J Invest Surg* 2009; 22: 117621, 2009ISSN: 0894-1939 print / 1521-0553 online DOI: 10.1080/08941930802713043
75. Schwab R, Schumacher O, Junge K, Binnebösel M, Klinge U, Becker HP, Schumpelick V. Biomechanical analyses of mesh fixation in TAPP and TEP hernia Repair. *Surg Endosc* 2008; 22:73168. DOI 10.1007/s00464-007-9476-5
76. Eriksen JR, Bech JJ, Linnemann D, Rosenberg J. Laparoscopic intraperitoneal mesh fixation with fibrin sealant (Tisseel) vs. titanium tacks: a randomised controlled experimental study in pigs. *Hernia* 2008; 12: 483691. DOI 10.1007/s10029-008-0375-z
77. Champault G, Polliand C, Dufour F, Ziöl M, Behr L. A self adhering prosthesis for hernia repair: experimental study. *Hernia* 2009; 13: 49652
78. Cobb WS, Kercher KW, Heniford BT. The argument for lightweight polypropylene mesh in hernia repair. *Surg Innov* 2005; 12:6369.
79. Tanaka K, Mutter D, Inoue H, Lindner V, Bouras G, Forgione A, Leroy J, Aprahamian M, Marescaux J. In vivo evaluation of a new composite mesh (10% polypropylene/90% poly-L-lactic acid) for hernia repair. *J Mater Sci: Mater Med* 2007; 18: 99169. DOI 10.1007/s10856-006-0090-1
80. Celik A, Altinli E, Koksall N, Celik AS, Onur E, Ozkan OF, Gumrukcu G. The Shrinking Rates of Different Meshes Placed Intraperitoneally. A Long-term Comparison of the TiMesh, VYPRO II, Sepramesh, and DynaMesh. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2009; 19: 13064.

81. Coda A, Lamberti R, Martorana S. Classification of prosthetics used in hernia repair based on weight and biomaterial. *Hernia* 2012. In press. 16:9620. DOI 10.1007/s10029-011-0868-z
82. Zinther NB, Wara P, Friis-Andersen H. Shrinkage of intraperitoneal onlay mesh in sheep: coated polyester mesh versus covered polypropylene mesh. *Hernia* 2010; 14: 61165. DOI 10.1007/s10029-010-0682-z
83. Grade M, Quintel M, Ghadimi M. Standard perioperative management in gastrointestinal surgery. *Langenbecks Arch Surg* 2011; 396: 5916606. DOI 10.1007/s00423-011-0782-y
84. Dahl JB, Møiniche S. Pre-emptive analgesia. *British Medical Bulletin* 2004; 71: 13627. DOI: 10.1093/bmb/ldh030
85. Buvanendran A, Kroin JS. Multimodal analgesia for controlling acute postoperative pain. *Curr Opin Anaesthesiol* 2009; 22: 588693. DOI:10.1097/ACO.0b013e328330373a
86. Ivy JJ, Unger JB, Hurt J, Mukherjee D. The effect of number of throws on knot security with nonidentical sliding knots. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191(5): 1618-20. DOI:10.1016/j.ajog.2004.05.029
87. Moy RL, Lee A, Zalka A. Commonly used suture materials in skin surgery. *Am Fam Physician* 1991; 44: 2123-8.
88. Schanaider A, Silva PC. Uso de animais em cirurgia experimental. *Acta Cir Bras* 2004, 19(4): 441-7.
89. Eriksen JR, Gögenur L, Rosemberg J. Choice of mesh for laparoscopic ventral hernia repair. Review. *Hernia* 2007; 11: 481-92. DOI 10.1007/s10029-007-0282-8
90. Harrell AG, Novitsky YW, Peindl RD, Cobb WS, Austin CE, Cristiano JA, Norton JH, Kercher KW, Heniford BT. Prospective Evaluation of Adhesion Formation and Shrinkage of Intra-Abdominal Prosthetics in a Rabbit Model. *Am Surg* 2006; 72: 808-14.
91. Strupler M, Pena A-M, Hernest M. Second harmonic imaging and scoring of collagen in fibrotic tissues. *Opt Express* 2007; 15(7): 4054-65.
92. Cerato MM, Cerato NL, Meurer L, Edelweiss MI, Pütten AC, Golbspan L. Interobserver variability in the histological diagnosis of colorectal polyps. *Rev Bras Coloproct* 2007; 27(1): 7-15.
93. Osanai MH, Edelweiss MIA, Meurer L, Vilwocck MM, Cavazzola LT, Ribeiro G, Schirmer CC, Gurski RR. Protein p16 INK4a immunohistochemical expression in adenocarcinoma of the esophagus. *ABCD Arq Bras Cir Dig* 2011; 24(4):277-81.
94. Van Luyn MJ, Khouw IM, van Wachem PB, et al. Modulation of the tissue reaction to biomaterials. II. The function of T cells in the inflammatory reaction to crosslinked collagen implanted in T-cell-deficient rats. *J Biomed Mater Res* 1998; 39:398.

95. Bras LEC, Shurey S, Sibbons PD. Evaluation of crosslinked and non-crosslinked biologic prostheses for abdominal hernia repair. *Hernia* 2012; 16: 77-89. DOI 10.1007/s10029-011-0859-0

APÊNDICE

BANCO DE DADOS

APÊNDICE A ó Avaliação macroscópica das dimensões das telas e peso dos ratos

Grupo 1 ó Telas retiradas 7 dias após sua inserção.

Rato	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Aresta vertical Tela A	Aresta horizontal Tela A	Aresta vertical Tela B	Aresta horizontal Tela B
1	318	328	2,00	1,95	1,85	1,95
2	330	348	2,00	2,05	1,95	2,00
3	331	341	2,00	2,00	1,70	2,00
4	343	355	2,05	2,05	1,95	2,00
5	451	362	2,00	1,90	1,75	1,95
6	317	334	2,00	2,10	2,05	2,00
7	361	354	2,00	2,00	1,95	1,95
8	300	304	1,95	1,95	1,95	2,05

Grupo 2 ó Telas retiradas 28 dias após sua inserção.

Rato	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Aresta vertical Tela A	Aresta horizontal Tela A	Aresta vertical Tela B	Aresta horizontal Tela B
1	298	326	1,95	2,03	1,90	1,95
2	294	341	1,90	1,93	1,95	2,10
3	325	340	1,90	1,95	1,80	2,05
4	362	352	1,95	1,90	1,90	2,02
5	255	287	1,98	1,95	1,90	2,00
6	360	376	1,95	2,05	2,05	1,90
7	270	302	2,00	2,00	1,90	1,95
8	310	358	1,93	2,03	1,98	2,00

Grupo 3 ó Telas retiradas 90 dias após sua inserção.

Rato	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Aresta vertical Tela A	Aresta horizontal Tela A	Aresta vertical Tela B	Aresta horizontal Tela B
1	319	403	2,00	2,00	1,90	2,00
2	334	401	1,95	2,00	1,95	1,85
3	330	411,5	1,95	2,00	1,95	1,95
4	315	395,8	1,95	2,05	1,90	1,92
5	325	362,3	1,90	2,00	1,95	1,95
6	371	450,9	2,00	1,90	1,95	2,00
7	312	399,0	2,00	1,98	1,85	2,05
8	313	416,5	1,95	1,98	2,00	1,90
9	365	449,7	2,00	2,00	1,90	2,00

Os resultados correspondem à média de cada rato. As arestas estão expressas em cm.

APÊNDICE B ó Avaliação numérica das células inflamatórias

Grupo	Rato	Tela	Neutrófilos	Linfócitos	Gigantócitos	Macrófagos
1	1	A	1,05	3,8	0,7	1,45
1	2	A	4,3	5,15	0,85	1,5
1	3	A	3,1	5,6	0,6	1,6
1	4	A	2,95	5,7	0,9	1,35
1	5	A	5,55	5,35	1,95	2,05
1	6	A	2,2	3,9	1	1,3
1	7	A	1,15	4,35	1,75	1,75
1	8	A	6,05	7,1	3,25	2,25
2	1	A	1,7	4,45	4,15	2,7
2	2	A	1,5	4,45	4,05	3
2	3	A	1,85	6	3,15	2,95
2	4	A	1,85	4,65	2,95	2,85
2	5	A	2,8	6,4	3,9	3,45
2	6	A	2,05	6,2	5,25	3,15
2	7	A	0,55	3,2	5	2,75
2	8	A	2,25	5,4	4,1	3,2
3	1	A	1,05	4,45	5,7	2,9
3	2	A	0,75	5,2	5,05	3,2
3	3	A	1,8	5,4	5,1	2,85
3	4	A	0,8	4,35	5,3	2,85
3	5	A	1,3	5,05	4,95	3,1
3	6	A	2,45	5,7	5,2	4
3	7	A	1,45	5,25	6,35	3,2
3	8	A	1,45	5,5	5,45	3,45
3	9	A	1	4,85	5,5	3,3
1	1	B	3,75	4,75	3,3	2,1
1	2	B	4,4	5,65	5,5	2,5
1	3	B	2,55	4	4	2,5
1	4	B	12,75	4,3	4,8	2,95
1	5	B	19,55	5,8	4,25	3,05

1	6	B	14,7	4,95	4	2,95
1	7	B	17,85	6,25	3,65	2,65
1	8	B	30,2	8	5,95	3,35
2	1	B	5,55	3,5	5,15	2,8
2	2	B	5,9	4,9	3,95	2,85
2	3	B	5,75	4,55	4,95	2,9
2	4	B	3,3	4,55	4,5	2,85
2	5	B	11,35	4,4	4,2	3,65
2	6	B	4,15	4	4,9	2,75
2	7	B	6,95	4,5	4,7	3,25
2	8	B	2	2,8	4,05	2,4
3	1	B	1,55	2,8	4,7	2,4
3	2	B	1,15	2,25	4,85	2,3
3	3	B	1	2	4,95	2,25
3	4	B	0,7	2,6	3,35	2,5
3	5	B	0,8	2,5	3,55	2,25
3	6	B	2,05	3,05	3,25	2,95
3	7	B	1,25	2,35	2,35	2,15
3	8	B	2	3,45	2,7	2,65
3	9	B	1,05	2,8	4	2,25

Cada resultado expreso neste apêndice corresponde à média de 20 contagens de cada rato, realizadas em 10 campos microscópicos por 2 patologistas.

APÊNDICE C ó Médias dos tipos de colágeno

ID	Tela	Tempo	Tipo I	Tipo III	Razão I/III
1	A	7	25,62	8,78	2,92
2	A	7	23,94	14,20	1,69
3	A	7	28,14	18,58	1,51
4	A	7	28,70	11,64	2,47
5	A	7	32,74	5,62	5,83
6	A	7	21,72	11,62	1,87
7	A	7	32,92	16,06	2,05
8	A	7	44,22	14,76	3,00
1	B	7	3,02	7,92	0,38
2	B	7	20,00	3,92	5,10
3	B	7	33,28	10,08	3,30
4	B	7	15,28	5,86	2,61
5	B	7	0,00	0,00	0,00
6	B	7	23,86	6,96	3,43
7	B	7	17,16	7,36	2,33
8	B	7	20,62	7,08	2,91
1	A	28	10,58	5,13	2,06
2	A	28	32,41	5,37	6,03
3	A	28	21,48	9,08	2,37
4	A	28	26,14	15,64	1,67
5	A	28	16,82	17,06	0,99
6	A	28	19,08	3,47	5,50
7	A	28	13,28	5,47	2,43
8	A	28	23,49	11,22	2,09
1	B	28	2,40	2,09	1,15
2	B	28	17,63	8,51	2,07
3	B	28	30,23	11,68	2,59
4	B	28	11,24	8,88	1,27
5	B	28	30,70	2,16	14,23
6	B	28	26,11	3,21	8,13

7	B	28	21,24	8,25	2,57
8	B	28	13,52	3,43	3,94
1	A	90	45,18	7,51	6,01
2	A	90	27,45	3,62	7,59
3	A	90	32,01	2,69	11,89
4	A	90	26,99	2,65	10,18
5	A	90	19,83	0,61	32,35
6	A	90	27,96	3,09	9,04
7	A	90	20,81	2,62	7,96
8	A	90	26,19	1,81	14,50
9	A	90	26,97	0,87	30,98
1	B	90	35,74	5,56	6,43
2	B	90	35,99	1,02	35,25
3	B	90	28,12	1,70	16,54
4	B	90	23,44	2,29	10,25
5	B	90	26,95	3,08	8,76
6	B	90	27,29	6,08	4,49
7	B	90	17,67	2,87	6,17
8	B	90	10,69	1,04	10,30
9	B	90	29,78	1,52	19,64

Os resultados expressos neste apêndice correspondem à média da contagem de cinco fotos de cada tipo de colágeno corado por IHQ e marcado pelo programa *Image Pro Plus*.

ANEXOS

Artigo original - enviado para publicação na revista *Hernia*

Comparative study of shrinkage, inflammatory response and fibroplasia in heavyweight and lightweight meshes

ABSTRACT

Purpose In this manuscript the authors describe an animal study comparing shrinkage, inflammatory response and fibroplasia in heavyweight (HW-PP) and lightweight (LW-PP) polypropylene meshes.

Methods Both meshes were fixed on abdominal fascia of 25 Wistar rats (epifascial onlay placement). They were sacrificed at 7, 28 e 90 days to measure the prostheses. Histological analysis was performed with hematoxylin-eosin for cellular counting and immunohistochemistry to measure collagen types I and III.

Results The authors found that the LW-PP mesh presented greater median shrinkage than HW-PP mesh at 7 (P .036), 28 (P .674) and 90 days (P .038) postoperatively. There were more neutrophils on LW-PP mesh (P .008) at 7 days, gradually diminishing in both prostheses. Lymphocytes were similar between the implants at 7 days, diminishing about 50% on LW-PP mesh (P < .001) at 90 days. Macrophages and giant cells diminished on LW-PP and increased on HW-PP meshes (P < .001). Collagen I/III ratio presented a progressive, almost 5-fold rise at 90 days, on both mesh types (P < .001). The collagen I/III ratio was similar between LW-PP and HW-PP meshes at the three times studied.

Conclusions It is concluded that LW-PP showed more shrinkage than HW-PP mesh at 7 and 90 days, despite the fact that HW-PP presented more late foreign body reaction. The collagen I/III ratio was similar between the prostheses and increased during the post-implant period.

Keywords Abdominal wall, Animal experimentation, Collagen, Hernia, Shrinkage, Surgical mesh

Introduction

Abdominal wall hernia is a highly prevalent disease and its treatment is among the most often performed surgical procedures worldwide [1-3]. Among the predisposing factors described are systemic alterations in the metabolism of collagen, which is the most abundant protein in extracellular tissue. More than 20 types of collagen have been described, types I and III predominating in the aponeurosis. Type I fibers are thicker, strong and confer resistance on the tissue, as opposed to the type III fibers, which are thinner and more elastic. The lower the ratio between types I and III (collagen I/III ratio), the higher the susceptibility to the onset of hernia and recurrence of operated hernia [4-8]. The role of meshes in reinforcing hernioplasties is to strengthen the region and thus diminish the risk of hernia recurrence, precisely because they favor the

construction of collagen-rich connective tissue at the site [3,9-12]. The first prosthesis that performed this function successfully was disseminated in the 1960s, under the name *Marlex*® (Bard, UK) [13]. It is a standard or heavyweight polypropylene (HW-PP) mesh, because it presents a 95g/m² density of synthetic material [14,15]. It can bear tension much above that required by the abdominal wall, although it has great chances of causing a foreign body reaction and chronic discomfort at the site. The development of lightweight (LW) mesh aimed at achieving an equilibrium, and the density of the prosthetic material of less than 70-80g/m² offers sufficient resistance for a safe reinforcement and diminishes the discomfort caused by excess foreign body [1-3,9,11,12,16,17]. During scar formation, there is an incursion of defense cells between the mesh pores and subsequent synthesis of connective tissue with collagen deposition [10,18,19]. Type III collagen, which is immature, is gradually replaced by type I, mature, and the scar plate becomes stronger and resistant [9-12]. However, a typical phenomenon of scar formation called wound shrinkage may cause retraction of the mesh, and also possible kinks, or some of its extremities may become detached, making the area vulnerable and predisposing to hernia recurrence [11,19-23]. The purpose of this study is to assess and compare, in HW and LW-PP meshes: (1) the percentage of shrinkage, (2) the inflammatory reaction due to the presence of defense cells, and (3) fibroplasia due to the proportion of type I and III collagen, 7, 28 and 90 days after it is implanted.

Material and methods

Experimental protocol

The study followed the rules established by the Council for International Organization of Medical Sciences (CIOMS) ethical code for animal experimentation and was approved by the animal research ethics committee of the Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (number 07-235). Twenty-five male Wistar rats (*Ratus norvegicus albinus*) were used, approximately 3 months old, weighing on average 320g. They were housed in cages with controlled light/dark cycles, constant temperature and given free access to food and water. The animals were anesthetized with a mixture of ketamine (8mg/100g) and xylazine (0.8mg/100g) administered intraperitoneally. The hair was removed immediately before the surgical procedure, followed by antisepsis with iodopovidone and covered with sterilized drapes. Complementing the anesthesia, the animals received preemptive bupivacaine 0.5% with vasoconstrictor in the subcutaneous abdominal midline. After a median incision of 2 to 3 cm and broad undermining of the subcutaneous tissue of the anterior abdominal fascia, two kinds of 2x2cm PP meshes were inserted there (epifascial onlay placement), fixed at the ends with simple 4.0 nylon sutures so that they would remain stretched and smooth (Fig. 1).

On the right side, each rat received an HW-PP mesh, measuring 95g/m^2 with a pore size of 0.6mm (*Marlex*®, Bard, UK) and, on the left side, a LW-PP mesh of 38g/m^2 with a pore size of 1.5mm (*Parietene*®, Sofradim-Covidien, France). The principles of asepsis were strictly followed, as well as meticulous tissue dissection. No electrocautery or prophylactic antibiotics were used. After recovery during the immediate postoperative period in an incubator, the rats returned to their boxes and were allowed to eat chow and drink water *ad libitum*. All were evaluated daily to look for local and/or systemic complications.

Fig. 1 Picture shows HW-PP mesh on the right and LW-PP mesh on the left side, fixed to the aponeurosis by corner sutures.

Study groups

The animals were divided into three groups, according to the date of euthanasia: eight on the 7th day postoperatively; eight on the 28th day; and nine on the 90th day, for morphological evaluation (macro and microscopic). After euthanasia in a CO₂ chamber on the pre-determined dates, the animals were again dissected, with wide exposure of the anterior abdominal aponeurosis (Fig. 2), to measure the dimensions of the vertical and horizontal edges of the meshes, to calculate the area. Then the prostheses were removed en bloc with the whole thickness of the abdominal wall affixed to them and soaked in 10% formalin, and then in paraffin blocks. Sections of 4 μm were stained in hematoxylin-eosin (HE) and immunohistochemistry (IHC).

Fig. 2 Photograph of the abdominal wall, widely dissected, exposing both meshes, already incorporated to the anterior fascia 7 days post-implantation.

Microscopic evaluation

The examined area was always the neoformed tissue over the fascia, around mesh filaments. In a blind trial, two independent pathologists evaluated all the specimens stained with HE, in ten random fields (magnification 400x) of each sample, quantifying the following items: neutrophils, lymphocytes, giant cells and macrophages (Fig. 3). The macrophages were quantified according to the number of times they wrapped around each mesh filament.

Fig. 3 Optical microscope image of the meshes (**a** HW-PP, **b** LW-PP mesh), with HE stain, showing all layers of the abdominal wall. The most superficial layer, above, corresponds to the neoformed connective tissue adjacent to the mesh filaments. The greater thickness and density of prosthetic filaments (F) in HW-PP can be seen, and the bigger pore size (P) in LW-PP mesh. Both meshes were extracted from the same rat on the 7th day postoperatively.

For IHC, anti-collagen I (Pal-85317, *Thermo Scientific*[®]) and anti-collagen III (pa1-85314, *Thermo Scientific*[®]) polyclonal antibodies were used. The development method used was the streptavidin-biotin-peroxidase complex (LSAB, K0690, *Dako Corporation*[®]). Using optical microscopy (*Olympus BX51* microscope) photographs of 5 random fields of each mesh inserted in the aponeurosis of each rat were obtained, with a 400x magnification. Images were captured with an *Olympus* camera, model DP72, appropriate for use in microscopy, standardized with the following configurations: size of photo: 1.24MB, 4140 x 3096 pixels (Fig. 4). Each type of collagen was measured counting the pixels marked with the help of the *Image Pro Plus* program (Fig. 5).

Fig. 4 Image capture system to measure collagen. In this photograph, the prosthetic filaments (F) can be seen. They are sectioned transversally, coated with macrophages (M), and also neoformed connective tissue in the pores (P). The brown-stained tissue corresponds to the deposition of collagen (C) marked by IHC. On the right is the standardized adjustment to detect the images.

Fig. 5 Pixel-counting method corresponding to the collagen marked with IHQ. **a** Original photograph of the aponeurosis covered by mesh, stained with IHQ with antibodies for type 1 collagen. **b** Marking (in red) of the brown-stained elements (type I collagen) using the *Image Pro Plus* program. **c** Separation of the elements previously marked by the program, for specific count of red-stained pixels.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using the *Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 18.0*. Analysis of variance (ANOVA) was used to compare the weight gain means among the groups. Using the *Shapiro-Wilk* normality test, the variables that presented a normal (symmetrical) distribution were represented by mean and standard deviation, as in the case of the cell count and collagen. The percentages of mesh shrinkage presented an asymmetrical distribution, and were then represented by median and interquartile interval. A 95% level of significance ($P \leq .05$) was used in all tests. The *Wilcoxon* test was used to compare the areas of the prostheses during each period. Shrinkage at 7, 28 and 90 days was compared using the *Kruskal-Wallis* test. For variables with more than one measure, such as neutrophils, lymphocytes, macrophages and giant cells, the *Generalized Estimating Equations (GEE)* analysis, a semi-parametric test, evaluated the categories of time point effect (7, 28 and 90 days); mesh type (HW and LW); and their interaction (time point x mesh type), for each cell type. GEE analysis was also used to evaluate the percentage of collagen, associating the effect of mesh type (HW and LW), time point (7, 28 and 90 days) and collagen type (I and III). The *Bonferroni post-hoc* test was used to perform the specific comparisons within the significant factors.

Results

The surgical procedures were performed without any complications. The total sample presented a favorable postoperative outcome, appropriate incorporation of the meshes and weight gain proportional to post-implant time ($P < .001$). No seroma, hematoma, surgical site infection or death occurred.

Shrinkage

The median shrinkage of the HW-PP mesh was null ($P = .647$) on the 7th day of its implantation; on the 28th day it was 2.76% ($P = .020$); and on the 90th day it was 2.5% ($P = .013$). LW-PP mesh produced more shrinkage at all times: 3.71% ($P = .040$) at 7; 4.52% ($P = .014$) at 28; and 5.0% ($P = .001$) at 90 days postoperatively. However, the highest rate of shrinkage of LW-PP, compared with HW-PP mesh was significant only on the 7th ($P = .036$) and on the 90th ($P = .038$) days (table 1).

Table 1 Results of median shrinkage on HW-PP and LW-PP meshes, the probability value (P) of the shrinkage in each period, and a comparison between the prostheses.

Defense Cell count

The microscopic evaluation with HE proved the adequate incorporation of the meshes. The cell count (Fig. 6) is detailed below:

Neutrophils

The quantity of neutrophils was higher in the rats submitted to surgery, on the 7th day postoperatively, especially in the LW-PP meshes, which presented an average of 13.2 cells per field, as opposed to the HW-PP meshes, with only 3.3 cells per field ($P = .008$). The neutrophils declined proportionally to the post-implant time, reaching a mean close to 1.3 at 90 days (Fig. 6a) in both meshes. The drop in neutrophils was significant, both in the HW-PP ($P = .05$) and in the LW-PP meshes ($P = .002$).

Fig. 6 Cell levels during the scar-formation period: **a** Neutrophils, **b** Lymphocytes, **c** Macrophages, **d** Giant cells.

Lymphocytes

The lymphocyte count presented similar levels on the 7th day postoperatively, almost 5 cells per field in both types of mesh. The levels became lower at 28 days, and even lower at 90 days. There was an even greater reduction in the LW-PP mesh. There was a difference only at 90 days ($P < .001$), and LW-PP mesh had almost half the cells, both compared with the first measurement and compared with HW-PP mesh (Fig. 6b).

Macrophages and giant cells

The evolution of macrophage layers around the mesh filaments was very similar to that of the giant cells (Figs. 6c and 6d). There were a greater number of macrophage and giant cell layers in the LW-PP meshes

at 7 days, compared with HW-PP meshes ($P < .001$). As the evolution took place, these levels also underwent an inversion, so that, at 90 days, HW-PP meshes showed a significantly higher number ($P < .001$).

Collagen types

The concentration of type I collagen was significantly higher than that of type III in both types of mesh and at the three times evaluated (table 2). An increase proportional to the time of mesh implantation was found in both types of mesh (Fig. 7) when the collagen I/III ratio was compared. This increase was only significant at 90 days in both meshes, and rose practically five-fold ($P < .001$). The collagen I/III ratio was similar between HW-PP and LW-PP at 7 ($P = .791$); 28 ($P = .342$); and 90 days ($P = .743$).

Table 2 Results of collagen types I and III in each prosthesis and at each time evaluated.

Fig. 7 Collagen I/III ratio during the study. The same symbols (* and *) represent similar results (HW-PP: $P > .999$; LW-PP: $P = .840$). Different symbols (* and Å) represent significant different results ($P < .001$).

Discussion

The material most used worldwide to correct hernias is PP [12,18,19]. There is a growing indication for LW meshes, based on the premise that they cause less discomfort, without losing the resistance that is sufficiently necessary for reinforcement [1-3,9,11,12,16,17]. This study proposed to compare a prosthesis with a 38g/m^2 density to a standard prosthesis with 95g/m^2 .

Considering the chronophysiology of Wistar rat healing process, we planned the re-intervention dates at 7 and 28 days. In this animal, at 7 days postoperatively, the inflammatory phase usually ends and the proliferative phase begins. After 4 weeks, the proliferative phase ends, and the remodeling phase begins [24]. The remodeling phase will present definitive results after a few months. For this reason, on studying the level of mesh shrinkage, Zinther recommends including a late measurement 1 month or more after the date of the implant. However, he says that it is not necessary to research more than 90 days after the implant, because a study does not show any difference when comparing shrinkage at 3, 6, 12 and 18 months [25]. For the 3rd group of rats to be evaluated at a sufficiently late phase, we then decided to do it on the 90th day.

The meshes were fixed with separate sutures at the two extremities, enough to keep them fixed in their positions and to keep them from coming loose or kinking. Possibly for this reason, the shrinkage index found was not as exuberant as in other studies [20,21]. Actually, shrinkage is a common phenomenon during healing, even without a prosthesis. After implanting a mesh, it is probably not the mesh itself that retracts, it is likely that it only accompanies the fibrotic scar shrinkage. However, a very close-fitting mesh, no matter how small the shrinkage, may leave the sutured area unprotected, favoring hernia recurrence at the site [8,19]. Also doing

research in shrinkage of *Marlex*® meshes, but in rabbits, Harrel found 3.6% of shrinkage in 16 weeks [27] and Novitsky found 4.6% in 12 months [28]. Klosterhalfen said that because LW-PP mesh presented less tissue fibrosis, it probably had less shrinkage, a hypothesis that had not yet been confirmed [9]. The percentage of shrinkage found for *Parietene Light*® mesh, of 4.52% ($P = .014$) at 28 days postoperatively, was not different from Mamyø's finding, of 5% at 30 days with the same mesh and also in Wistar rats, with 7 rats in his sample [22]. Some studies say that the presence of infection at the surgical site is associated with the higher degree of prosthesis shrinkage [22], and others say the contrary [23]. Thus, the fact that all of our rats presented a favorable outcome without infection or other complications increases the accuracy of the results.

In immunohistochemical analysis of the collagen, there was a progressive increase of the I/III ratio of collagen, depending on time after implant and significantly in both meshes, indicating adequate fibroplasia. Thus, as the scar-formation process of the rats evolved, the region covered by the meshes became increasingly strong and resistant, at the expenses of the general synthesis of collagen and the gradual substitution of the immature type III collagen by type I, mature one. This process is typical of the healing process called remodeling, which corresponds to the latest phase and can last months [6-12]. Comparing HW-PP with LW-PP mesh, the collagen I/III ratio was similar statistically at all stages of scar-formation, assuming that both prostheses formed good foundations for collagen deposition.

The histological exam of meshes removed showed that all of them induced an acute inflammatory reaction, independent of the density of the material of each of them. Although there were no inflammatory signs at external inspection of the surgical site, during dissection it was found that the mesh was firmly integrated to the aponeurosis and partially covered by scar tissue already 7 days post-implantation (Figs. 2 and 5). Similarly, also studying the reaction of PP in the abdominal wall of Wistar rats, Klinge describes an apex of the signs of inflammation between the 7th and 14th days, and a scar tissue characterized by the continuous accumulation of collagen [17]. The proportions of the cells and their evolution followed a natural logic. There was a greater presence of neutrophils in the evaluation of the 7 days, which promote the cleansing of the site, phagocytizing bacteria, hematic remnants and devitalized tissue, with a view to preparing the area to be constructed in the next phase. After performing their function, the neutrophils diminished in both meshes at 28 days, and even more at 90 days, which is justified by the end of the inflammatory phase and the beginning of the synthesis phase [3,10,19]. Junge also found a marked reduction of the inflammatory reaction on the 90th day post implant [29]. The fact that there were more neutrophils at 7 days in LW-PP than in HW-PP mesh, indicates that the LW-PP mesh induces a more marked early inflammatory reaction, or that the influx of cells is greater in the initial phase

of scar formation [9,17]. The lymphocytes and macrophages interact with the specific immunity and with the non-specific inflammatory response to the biomaterials, and are involved in the recruitment of new cells, in the formation of giant cells and in influence their phagocytic activity [3,18,25]. The lymphocyte levels were similar in the 2 types of mesh at 7 days, diminishing progressively after this, which is compatible with the ending of the inflammatory phase. Lymphocyte reduction was significant only in the LW-PP meshes suggesting that the latter induce a lower late inflammatory response [1-3,9,16,29]. The mean of the macrophage levels around the PP filaments showed the same evolution as the giant cells although their evaluations were individualized, blinded and done by 2 different pathologists, providing more reliable findings. At 7 days, the macrophage and giant cells rates were significantly higher in the LW-PP mesh, supporting the hypothesis alleged for the neutrophils and lymphocytes, that larger pores would allow greater cell influx. The perifilamentary macrophage and giant cell levels increased progressively and significantly in the HW-PP mesh, probably because of a greater late foreign body reaction, perfectly justifiable by the higher density of prosthetic material; and they diminished in the LW-PP mesh where this density is smaller [9,19,29]. Other studies found similar results, indicating that the pore size and filamentary structure that compose the prosthesis are the most important determining factors in this type of reaction and thus, LW-PP mesh induces better tissue incorporation, less reaction to foreign bodies, and less restriction of abdominal wall mobility [1-3,9,11,16,17,25]. Other authors observed that greater inflammatory reaction, rich in granulomas and foreign bodies on the mesh surface could induce reduced tissue maturation, with less collagen deposition. Thus, a more intense phagocytosis reaction, with prolongation of the inflammatory stage of healing may delay fibroplasia and neotissue maturation [30]. The present study showed that a more exuberant foreign body reaction does not impair fibroplasia, since although HW-PP mesh induces more granuloma formation, the collagen synthesis was similar to LW-PP mesh at all times researched.

Gathering the results found, collagen deposition was similar on both meshes, but the LW-PP mesh presented less foreign body reaction and greater shrinkage. This is probably due to the excessive malleability of the material, favoring greater changes in its shaping. In this sense, LW-PP mesh proved effective, because it allows a collagen synthesis similar to HW-PP mesh, supposedly leading to an adequate strengthening of the wall, with less of a later foreign body reaction, diminishing at least theoretically, the feeling of chronic discomfort. However, because it kinks more easily and shrinks more, it could be more susceptible to recurrence. Confirming these assumptions, two meta-analyses with 1936 [1] and 5389 [2] patients operated on, respectively, found more occurrence of chronic pain and a feeling of a foreign body in the HW-PP meshes, and the second study found an even greater recurrence of hernia with the LW-PP meshes ($P = .05$).

Concluding, the use of both types of mesh meets the purpose of managing fibroplasia adequately to reinforce the abdominal wall, with small rates of shrinkage. The surgeon should not forget that the prosthesis is only an inanimate material, and that its success depends also on appropriate handling and host response.

Acknowledgments

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Uzzaman MM, Ratnasingham K, Ashraf N (2012) Meta-analysis of randomized controlled trials comparing lightweight and heavyweight mesh for Lichtenstein inguinal hernia repair. *Hernia*. in press. doi: 10.1007/s10029-012-0901-x
2. Li J, Ji Z, Cheng T (2012) Lightweight versus heavyweight in inguinal hernia repair: a meta-analysis. *Hernia*. in press. doi: 10.1007/s10029-012-0928-z
3. Zogbi L (2011) The use of biomaterials to treat abdominal hernias. In: Pignatello R (ed) *Biomaterials*. In Tech, Rijeka, Croatia, pp 359-382. ISBN 978-953-307-661-4
4. Henriksen NA, Yadete DH, Sorensen LT, Agren MS, Jorgensen LN (2011) Connective tissue alteration in abdominal wall hernia. Systematic review. *Br J Surg* 98: 2106219. doi: 10.1002/bjs.7339
5. Casanova AB, Trindade EN, Trindade MRM (2009) Collagen in the transversalis fascia of patients with indirect inguinal hernia: a caseócontrol study. *Am J Surg* 198(1):165. doi:10.1016/j.amjsurg.2008.07.021
6. Klinge U, Binnebösel M, Mertens PR (2006) Are collagens the culprits in the development of incisional and inguinal hernia disease? *Hernia* 10: 472-477. doi: 10.1007/s10029-006-0145-8
7. Calvi, ENC, Nahas FX, Barbosa MVJ, Ihara SSM, Calil JA, Ferreira LM (2011) Immunohistochemical analysis of collagen content and types in the rectus abdominis muscle of cadavers of different ages. *Acta Cir Bras* 26(2): 3-7.
8. Fachinelli A, Trindade MRM (2007) Qualitative and quantitative evaluation of total and types I and III collagens in patients with ventral hernias. *Langenbecks Arch Surg* 392: 459-464. doi: 10.1007/s00423-006-0086-9
9. Klosterhalfen B, Junge K, Klinge U (2005) The lightweight and large porous mesh concept for hernia repair. *Expert Rev Med Devices* 2(1): 1-15. doi: 10.1016/j.suc.2007.11.002
10. Vaz M, Krebs RK, Trindade EN, Trindade MRM (2009) Fibroplasia after polypropylene mesh implantation for abdominal wall hernia repair in rats. *Acta Cir Bras* 24(1): 19-25.

11. Pascual G, Rodríguez M, Gomes-Gil V, García-Honduvilla N, Buján J, Bellón JM (2008) Early tissue incorporation and collagen deposition in lightweight polypropylene meshes: bioassay in an experimental model of ventral hernia. *Surgery* 144(3): 427-435. doi:10.1016/j.surg.2008.04.005
12. Pascual G, Hernández-Gáscon B, Rodríguez M, Sotomayor S, Peña E, Calvo B, Bellón JM (2012) The long-term behavior of lightweight and heavyweight meshes used to repair abdominal wall defects is determined by the host tissue repair process provoked by the mesh. *Surgery*. in press. doi:10.1016/j.surg.2012.03.009
13. Usher FC, Ochsner J, Tuttle LLD Jr (1958) Use of Marlex mesh in the repair of incisional hernias. *Am Surg* 24:969-972.
14. Coda A, Lamberti R, Martorana S (2012) Classification of prosthetics used in hernia repair based on weight and biomaterial. *Hernia* 16:9620. doi: 10.1007/s10029-011-0868-z
15. Klinge U, Klosterhalfen B (2012) Modified classification of surgical meshes for hernia repair based on the analyses of 1,000 explanted meshes. *Hernia* 16:2516258. doi: 10.1007/s10029-012-0913-6
16. Simons MP, Aufenacker T, Bay-Nielsen M, Bouillot JL, Campanelli G, Conze J, de Lange D, Fortelny R, Heikkinen T, Kingsnorth A, Kukleta J, Morales-Conde S, Nordin P, Schumpelick V, Smedberg S, Smietanski M, Weber G, Miserez M (2009) European Hernia Society guidelines on the treatment of inguinal hernia in adult patients. *Hernia* 13:3436403. doi: 10.1007/s10029-009-0529-7
17. Klinge U, Klosterhalfen B, Birkenhauer V, Junge K, Conze J, Schumpelick V (2002) Impact of polymer pore size on the interface scar formation in a rat model. *J Surg Res* 103: 208-214.
18. Pascual G, Rodríguez M, Sotomayor S, Pérez-Köhler B, Bellón JM (2012) Inflammatory reaction and neotissue maturation in the early host tissue incorporation of polypropylene prostheses. *Hernia*. in press. doi: 10.1007/s10029-012-0945-y
19. Zogbi L, Portella AOV, Trindade MRM, Trindade EM (2010) Retraction and fibroplasia in a polypropylene prosthesis: experimental study in rats. *Hernia* 14: 2916298. doi: 10.1007/s10029-009-0607-x
20. Sekmen U, Gurleyik G, Kayadibi H, Saglam A (2009) The Role of Suture Fixation on Mesh Contraction after Abdominal Hernia Repair. *J Invest Surg* 22: 1176121. doi: 10.1080/08941930802713043

21. Beldi G, Wagner M, Bruegger LE, Kurmann A, Candinas D (2011) Mesh shrinkage and pain in laparoscopic ventral hernia repair: a randomized clinical trial comparing suture versus tack mesh fixation. *Surg Endosc* 25:7496755. doi: 10.1007/s00464-010-1246-0
22. Mamy L, Letouzey V, Lavigne JP, Garric X, Gondry J, Mares P, Tayrac R (2011) Correlation between shrinkage and infection of implanted synthetic meshes using an animal model of mesh infection. *Int Urogynecol J* 22:47652. doi: 10.1007/s00192-010-1245-7
23. Díaz-Godoy A, García-Ureña MA, López-Monclús J, Vega Ruíz V, Melero Montes D, Erquinigo Agurto N (2011) Searching for the best polypropylene mesh to be used in bowel contamination. *Hernia* 15:1736179. doi: 10.1007/s10029-010-0762-0
24. Burger JWA, Halm JÁ, Wijsmuller AR, ten Raa S, Jeekel J (2006) Evaluation of new prosthetic meshes for ventral hernia repair. *Surg Endosc* 20:1320-1325. doi: 10.1007/s00464-005-0706-4
25. Zinther NB, Wara P, Friis-Andersen H (2010) Shrinkage of intraperitoneal onlay mesh in sheep: coated polyester mesh versus covered polypropylene mesh. *Hernia* 14:6116615. doi: 10.1007/s10029-010-0682-z
26. Buvanendran A, Kroin JS (2009) Multimodal analgesia for controlling acute postoperative pain. *Curr Opin Anaesthesiol* 22:5886593. doi:10.1097/ACO.0b013e328330373a
27. Harrell AG, Novitsky YW, Peindl RD, Cobb WS, Austin CE, Cristiano JA, Norton JH, Kercher KW, Heniford BT (2006) Prospective Evaluation of Adhesion Formation and Shrinkage of Intra-Abdominal Prosthetics in a Rabbit Model. *Am Surg* 72: 808-814.
28. Novitsky YW, Harrell AG, Cristiano JABS, Paton BL, Norton HJ, Peindl RD, Kercher KW, Heniford BT (2007) Comparative evaluation of adhesion formation, strength of ingrowth, and textile properties of prosthetic meshes after long-term intra-abdominal implantation in a rabbit. *J Surg Res* 140: 6-11. doi: 10.1016/j.jss.2006.09.015
29. Junge K, Klinge U, Rosch, Klosterhalfen B, Schumpelick V (2002) Functional and morphologic properties of a modified mesh for inguinal hernia repair. *World J Surg* 26: 1472-1480. doi: 10.1007/s00268-002-6444-z
30. Pereira-Lucena CG, Artigiani-Neto R, Lopes-Filho GJ, Frazao CVG, Goldenberg A, Matos D, Linhares MM (2010) Experimental study comparing meshes made of polypropylene, polypropylene + polyglactin and polypropylene + titanium: inflammatory cytokines, histological changes and morphometric analysis of collagen. *Hernia* 14(3): 2996304. doi: 10.1007/s10029-009-0621-z

FIGURE AND TABLE LEGEND

Figure Legend

Fig. 1 Picture shows HW-PP mesh on the right and LW-PP mesh on the left side, fixed to the aponeurosis by corner sutures.

Fig. 2 Photograph of the abdominal wall, widely dissected, exposing both meshes, already incorporated to the anterior fascia 7 days post-implantation.

Fig. 3 Optical microscope image of the meshes (**a** HW-PP, **b** LW-PP mesh), with HE stain, showing all layers of the abdominal wall. The most superficial layer, above, corresponds to the neoformed connective tissue adjacent to the mesh filaments. The greater thickness and density of prosthetic filaments (F) in HW-PP can be seen, and the bigger pore size (P) in LW-PP mesh. Both meshes were extracted from the same rat on the 7th day postoperatively.

Fig. 4 Image capture system to measure collagen. In this photograph, the prosthetic filaments (F) can be seen. They are sectioned transversally, coated with macrophages (M), and also neoformed connective tissue in the pores (P). The brown-stained tissue corresponds to the deposition of collagen (C) marked by IHC. On the right is the standardized adjustment to detect the images.

Fig. 5 Pixel-counting method corresponding to the collagen marked with IHQ. **a** Original photograph of the aponeurosis covered by mesh, stained with IHQ with antibodies for type 1 collagen. **b** Marking (in red) of the brown-stained elements (type I collagen) using the *Image Pro Plus* program. **c** Separation of the elements previously marked by the program, for specific count of red-stained pixels.

Fig. 6 Cell levels during the scar-formation period: **a** Neutrophils, **b** Lymphocytes, **c** Macrophages, **d** Giant cells.

Fig. 7 Collagen I/III ratio during the study. The same symbols (* and *) represent similar results (HW-PP: $P > .999$; LW-PP: $P = .840$). Different symbols (* and \ddot{A}) represent significant different results ($P < .001$).

Table legend

Table 1 Results of median shrinkage on HW-PP and LW-PP meshes, the probability value (P) of the shrinkage in each period, and a comparison between the prostheses.

Table 2 Results of collagen types I and III in each prosthesis and at each time evaluated.



Fig. 1 Picture shows HW-PP mesh on the right and LW-PP mesh on the left side, fixed to the aponeurosis by corner sutures.

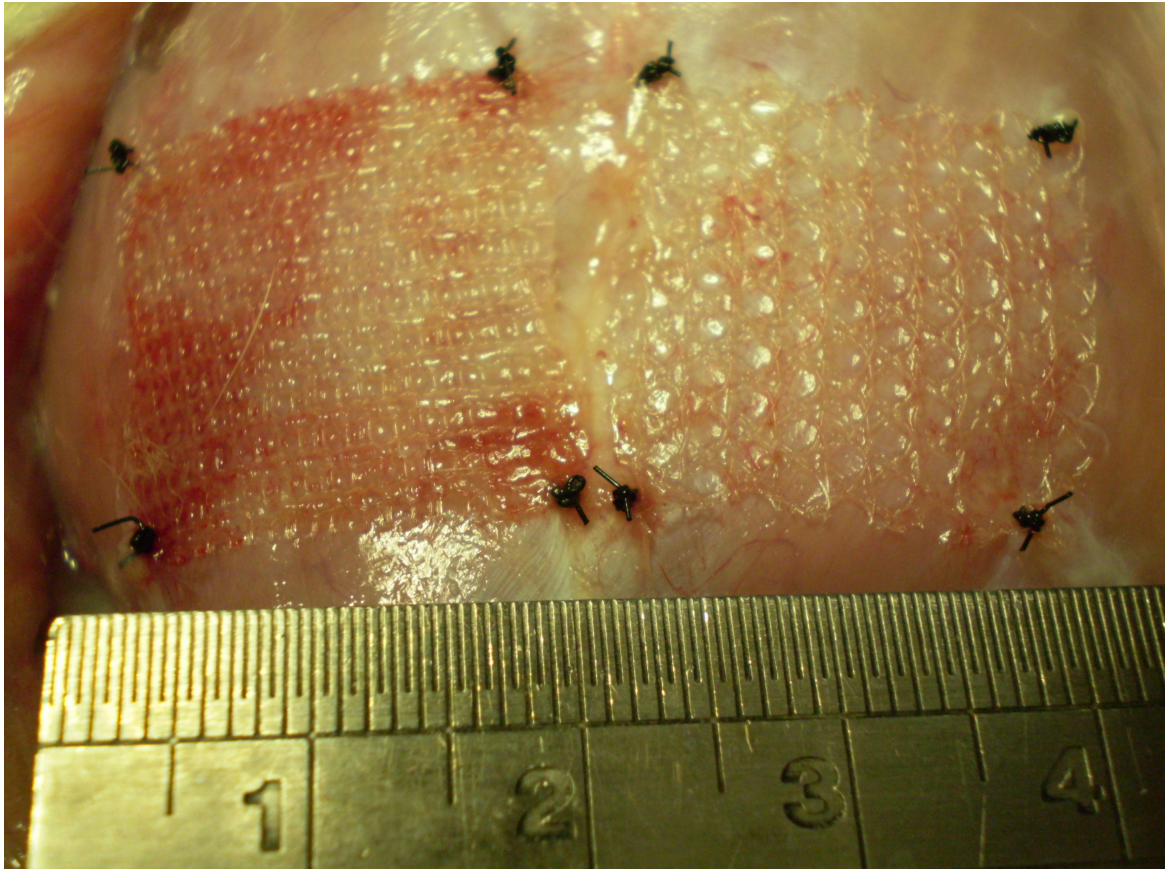


Fig. 2 Photograph of the abdominal wall, widely dissected, exposing both meshes, already incorporated to the anterior fascia 7 days post-implantation.

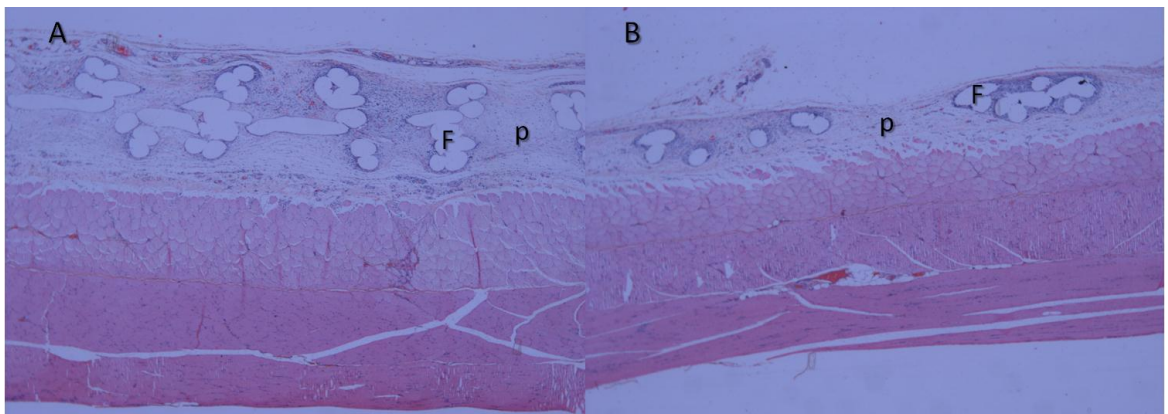


Fig. 3 Optical microscope image of the meshes (**a** HW-PP, **b** LW-PP mesh), with HE stain, showing all layers of the abdominal wall. The most superficial layer, above, corresponds to the neofomed connective tissue adjacent to the mesh filaments. The greater thickness and density of prosthetic filaments (F) in HW-PP can be seen, and the bigger pore size (P) in LW-PP mesh. Both meshes were extracted from the same rat on the 7th day postoperatively.

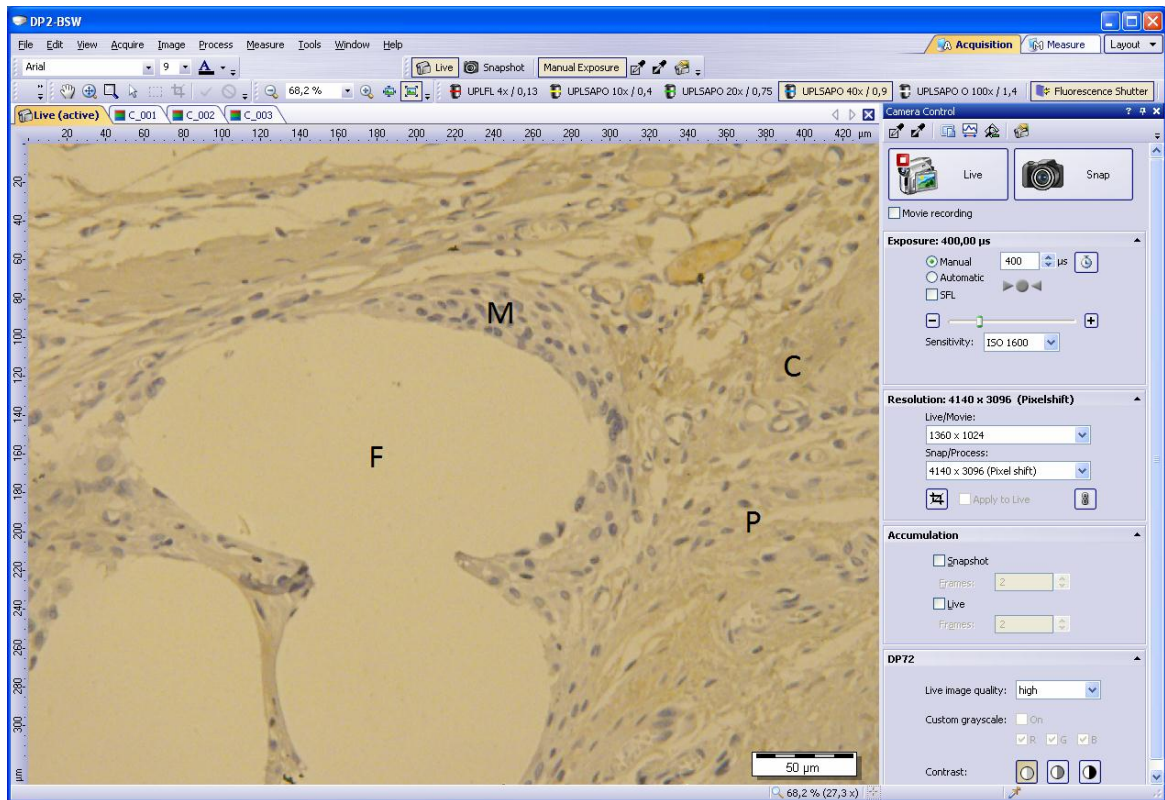


Fig. 4 Image capture system to measure collagen. In this photograph, the prosthetic filaments (F) can be seen. They are sectioned transversally, coated with macrophages (M), and also neoformed connective tissue in the pores (P). The brown-stained tissue corresponds to the deposition of collagen (C) marked by IHC. On the right is the standardized adjustment to detect the images.

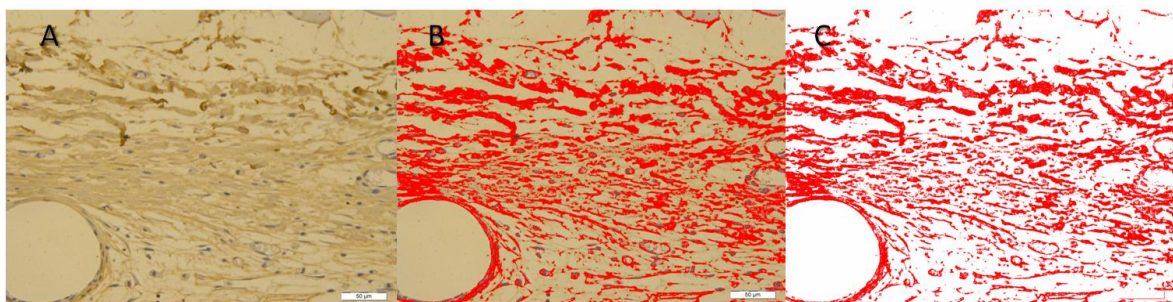


Fig. 5 Pixel-counting method corresponding to the collagen marked with IHQ. **a** Original photograph of the aponeurosis covered by mesh, stained with IHQ with antibodies for type 1 collagen. **b** Marking (in red) of the brown-stained elements (type I collagen) using the *Image Pro Plus* program. **c** Separation of the elements previously marked by the program, for specific count of red-stained pixels.

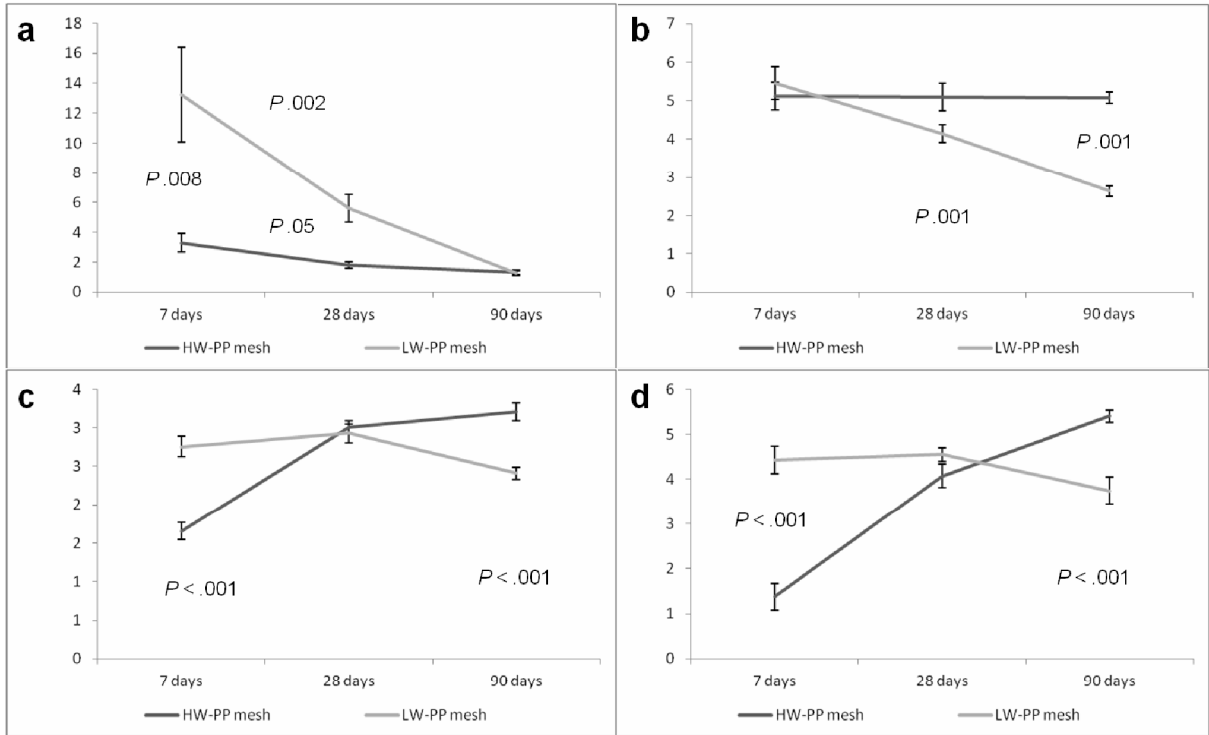


Fig. 6 Cell levels during the scar-formation period: **a** Neutrophils, **b** Lymphocytes, **c** Macrophages, **d** Giant cells.

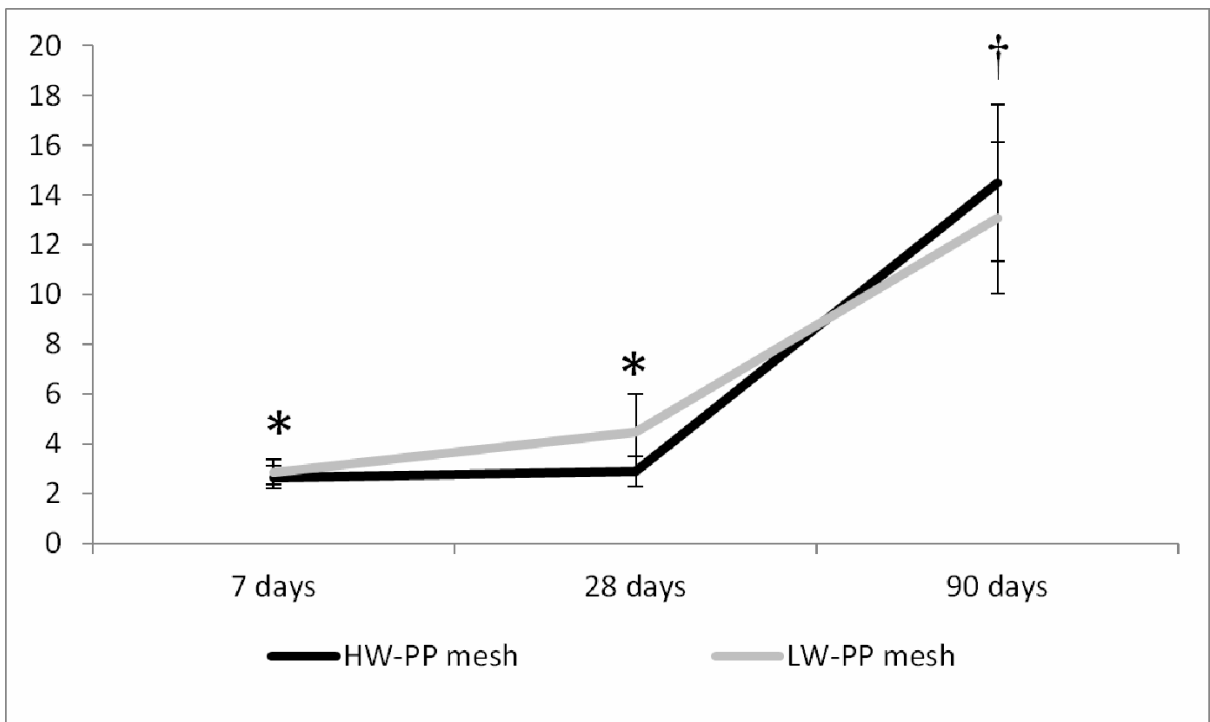


Fig. 7 Collagen I/III ratio during the study. The same symbols (* and *) represent similar results (HW-PP: $P > .999$; LW-PP: $P = .840$). Different symbols (* and *) represent significant different results ($P < .001$).

Table 1 Results of median shrinkage on HW-PP and LW-PP meshes, the probability value (*P*) of the shrinkage in each period, and a comparison between the prostheses.

Time points (days)	HW-PP	LW-PP	Difference HW-PP x LW-PP
7	0.00% (<i>P</i> = .647)	3.71% (<i>P</i> = .040)	<i>P</i> = .036
28	2.76% (<i>P</i> = .020)	4.52% (<i>P</i> = .014)	<i>P</i> = .674
90	2.50% (<i>P</i> = .013)	5.00% (<i>P</i> = .001)	<i>P</i> = .038

Table 2 Results of collagen types I and III in each prosthesis and at each time evaluated.

Time points (days)	Mesh type	Collagen type I	Collagen type III	Significance (<i>P</i>)
7	HW-PP	28.3	13.1	< .001
	LW-PP	19.4	4.7	< .001
28	HW-PP	20.5	7.5	< .001
	LW-PP	18.0	5.4	= .005
90	HW-PP	25.7	1.5	< .001
	LW-PP	26.3	2.6	< .001