

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIRURGIA**

Márcia Vaz

**AVALIAÇÃO DO TEMPO DE FIBROPLASIA EM TELA DE POLIPROPILENO NA
CORREÇÃO DE HÉRNIA INCISIONAL DA PAREDE ABDOMINAL: ESTUDO
EXPERIMENTAL EM RATOS**

ORIENTADOR: Prof. Dr. Manoel Roberto Maciel Trindade

PORTO ALEGRE

2007

Márcia Vaz

**AVALIAÇÃO DO TEMPO DE FIBROPLASIA EM TELA DE POLIPROPILENO NA
CORREÇÃO DE HÉRNIA INCISIONAL DA PAREDE ABDOMINAL: ESTUDO
EXPERIMENTAL EM RATOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina em Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS para obtenção do Título de Doutor em Medicina: Cirurgia

ORIENTADOR: Prof. Dr. Manoel Roberto Maciel Trindade

PORTO ALEGRE

2007

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

V393a Vaz, Márcia

Avaliação do tempo de fibroplasia em tela de polipropileno na correção de hérnia incisional : estudo experimental em ratos / Márcia Vaz. – Porto Alegre, 2007. 79 f. : il.

Tese (Doutorado em Cirurgia) – Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina, Porto Alegre, 2007.

Orientador: Prof. Dr. Manoel Roberto Maciel Trindade.

1. Fibroplasia. 2. Colágeno. 3. Tela de polipropileno. 4. Parede Abdominal. I. Trindade, Manoel Roberto Maciel. II. Título.

CDD 617.559

Bibliotecária Responsável
Iara Breda de Azeredo
CRB 10/1379

Márcia Vaz

**AVALIAÇÃO DO TEMPO DE FIBROPLASIA EM TELA DE POLIPROPILENO NA
CORREÇÃO DE HÉRNIA INCISIONAL DA PAREDE ABDOMINAL: ESTUDO
EXPERIMENTAL EM RATOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina em Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS para obtenção do Título de Doutor em Medicina: Cirurgia

Aprovada pela Banca Examinadora

Porto Alegre, ___ de _____ de 2007

Orientador: Prof. Dr. Manoel Roberto Maciel Trindade, UFRGS

Prof. Dr. Amarilio Vieira de Macedo Neto, UFRGS

Prof. Dr. Armando José d'Acampora, UFSC

Prof. Dr. João Luiz Ellera Gomes, UFRGS

Profa. Dra. Maria de Lourdes Pessole Biondo-Simões, UFPR

DEDICATÓRIA

À minha mãe, **Gertrudes**, pelo exemplo de força, perseverança e integridade.

Ao meu pai, **Hércio** (*in memoriam*), pelo exemplo de luta e pelos ensinamentos que me iluminam até hoje!

À minha família, que me forneceu a segurança para seguir em frente, sempre.

Ao **Francisco Benfica**, pela presença indispensável, paciência e apoio, que tornaram o caminho mais fácil.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao Prof. Dr. **Manoel Roberto Maciel Trindade**, Chefe do Serviço de Cirurgia do Aparelho Digestivo do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e Professor Associado do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, orientador deste trabalho, por me incentivar a vencer desafios desde o início da minha vida profissional, e que durante todos estes anos de convivência, além de um grande MESTRE, tornou-se um inestimável AMIGO.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. **Rodrigo Ketzer Krebs**, colega com quem dividi a fase experimental deste trabalho, pela dedicação e seriedade.

Aos funcionários do Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório do Instituto de Ciências Básicas da Saúde – UFRGS, pelo desprendimento, disponibilidade e colaboração na execução deste trabalho.

Ao doutorando **Eduardo Neubarth Trindade**, pelo auxílio durante a organização do projeto de pesquisa.

À Profa. Dra. **Luíse Meurer**, pelos valiosos ensinamentos em patologia, paciência e dedicação na realização do estudo histológico, da videomorfometria e das fotomicrografias desta tese.

À Profa. **Vânia Naomi Hirakata**, estatística, que, com dedicação, me auxiliou na análise estatística.

Com efeito, em última análise, é precisamente nas coisas mais profundas e importantes que estamos indizivelmente sós, e para que um possa aconselhar ou mesmo ajudar a outro, muito deve acontecer; muitos sucessos favoráveis devem ocorrer; toda uma constelação de eventos se deve reunir para que uma única vez se alcance um resultado feliz.

Rainer Maria Rilke, 1903
(Cartas a um Jovem Poeta)

RESUMO

Objetivo: A proposta deste trabalho é avaliar o tempo de fibroplasia em tela de polipropileno na correção de hérnias incisionais da parede abdominal, em ratos, por meio da quantidade de colágeno, correlacionando-o com a resposta inflamatória local. *Métodos:* Trinta e seis ratos machos da linhagem Wistar foram submetidos à ressecção longitudinal de um segmento músculo-aponeurótico e peritoneal (3x2 cm) da parede abdominal, seguida por reforço com tela de polipropileno, em forma de ponte sobre a aponeurose. Os animais foram distribuídos em seis grupos, de acordo com o tempo de fibroplasia a ser estudado (um, dois, três, sete, 21 e 30 dias de pós-operatório). Após os prazos estabelecidos para estudo da fibroplasia, os animais foram submetidos à eutanásia, e a área de fixação da tela de polipropileno foi avaliada histologicamente quanto à reação inflamatória e à percentagem de colágeno pela técnica videomorfométrica assistida por computador. *Resultados:* O colágeno total foi identificado junto à tela no 3º dia pós-implante, apresentou aumento progressivo na sua proporção em todos os dias subseqüentes até o 21º dia, quando atingiu sua proporção máxima ($p < 0,001$). A partir do dia 3, o colágeno III sofreu um aumento progressivo até o dia 21, quando atingiu sua proporção máxima ($p < 0,001$), e no 30º dia apresentou uma redução significativa ($p < 0,001$). O colágeno tipo I surgiu entre o 7º e o 21º dia, apresentou sua máxima proporção no 21º dia e manteve-se inalterado até o final do período de observação. A relação colágeno tipo I/tipo III aumentou progressivamente até o 30º dia de observação ($p < 0,001$). Os neutrófilos foram identificados no 1º dia pós-implante, mantendo-se junto à tela até o 21º dia. Os macrófagos, gigantócitos e linfócitos foram identificados no 2º dia. Trinta dias após a implantação da tela, desapareceram os neutrófilos e mantiveram-se estáveis as proporções de macrófagos, gigantócitos e linfócitos ($p < 0,001$). *Conclusões:* Os resultados do presente estudo evidenciaram colágeno total no 3º dia pós-implante, aumentando progressivamente até o 21º dia. O colágeno tipo III foi observado no 3º dia, aumentou até o 21º dia, quando reduziu significativamente. O colágeno tipo I surgiu entre o 7º e o 21º dia, e sua máxima proporção ocorreu no 21º dia, atingindo um platô. A relação do colágeno tipo I/tipo III aumentou progressivamente até o 30º dia, indicando maior proporção de colágeno tipo I ao final do período. O prolongamento da resposta inflamatória da cicatrização e a

persistência do processo inflamatório crônico junto à tela não interferiram no tempo da fibroplasia.

Palavras-chave: Fibroplasia. Colágeno. Tela de polipropileno. Parede abdominal.

ABSTRACT

Objective: This study assessed the amount of collagen and correlated it with local inflammatory responses to evaluate the length of time required for fibroplasia when polypropylene meshes are used to repair incisional abdominal wall hernias in rats.

Methods: Thirty-six male Wistar rats underwent longitudinal resection of a peritoneal and musculoaponeurotic tissue segment (3x2 cm) of the abdominal wall followed by defect reconstruction with polypropylene mesh bridging over aponeurosis. The animals were divided into six groups according to the time points for the analysis of fibroplasia: one, two, three, seven, 21 and 30 days post-implantation. Animals were sacrificed at each time point, and the site where the polypropylene mesh was implanted was evaluated histologically to assess inflammatory response and percentage of collagen using computer-assisted video morphometry.

Results: Total collagen was found at the mesh site on the third post-implantation day, and increased progressively on all subsequent days up to the 21st day, when it reached its highest percentage ($p < 0.001$). Type III collagen increased progressively from the 3rd to the 21st day, when it reached its greatest percentage ($p < 0.001$); on the 30th day, it decreased significantly ($p > 0.001$). Type I collagen was first found between the 7th and 21st days, reached its greatest percentage on the 21st day and then remained stable until the 30th day. The type I to type III collagen ratio increased significantly and progressively up to the 30th day ($p < 0.001$). Neutrophils were found at the mesh site from the 1st to the 21st post-implantation day. Macrophages, giant cells and lymphocytes were seen on the 2nd day. Thirty days after mesh implantation, neutrophils disappeared, but the percentages of macrophages, giant cells and lymphocytes remained stable ($p < 0.001$).

Conclusion: This study showed that total collagen was first seen on the 3rd day post-implantation, increased progressively up to the 21st day. Type III collagen was first seen on the 3rd day, increased up to the 21st day, and then decreased significantly. Type I collagen was first seen between the 7th and 21st days and reached its greatest percentage on the 21st day, after which it remained stable. The type I and type III collagen ratio progressively increased up to the 30th day, indicating a greater percentage of type I collagen at the last observational time point. The prolonged healing inflammatory response and the

persistence of chronic inflammation surrounding to the mesh did not affect the length of time required for fibroplasia.

Key Words: Fibroplasia. Collagen. Polypropylene mesh. Abdominal wall.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Defeito músculo-aponeurótico	30
Figura 2 – Tela de polipropileno fixada	31
Figura 3 – Fotomicrografia de resposta inflamatória junto à tela de polipropileno no dia 1. Coloração HE (200x). Seta, tela de polipropileno; N, neutrófilos	37
Figura 4 – Fotomicrografia de resposta inflamatória junto à tela de polipropileno no dia 2. Coloração HE (200x). Seta, macrófagos; Cavidade, tela de polipropileno; N, neutrófilos	38
Figura 5 – Fotomicrografia de resposta inflamatória junto à tela de polipropileno no dia 3. Coloração HE (200x). Seta, gigantócitos; M, macrófagos; L, linfócitos; C, colágeno	38
Figura 6 – Fotomicrografia de resposta inflamatória junto à tela de polipropileno no dia 7. Coloração HE (200x). Cavidade, tela de polipropileno; Seta, gigantócitos; M, macrófagos; L, linfócitos	39
Figura 7 – Fotomicrografia de resposta inflamatória junto à tela de polipropileno no dia 21. Coloração HE (200x). Cavidade (tela) rodeada por gigantócitos (G); C, colágeno	39
Figura 8 – Fotomicrografia de resposta inflamatória junto à tela de polipropileno no dia 30. Coloração HE (200x). Cavidade (tela) rodeada por gigantócitos (G)	40
Figura 9 – Gráfico da evolução temporal das células inflamatórias e fibroplasia na tela de polipropileno. Os valores estão expressos em escores para macrófagos, gigantócitos e linfócitos, e em percentual para neutrófilos e colágeno total	40
Figura 10 – Fotomicrografia colágeno tipo I (área refringente vermelho-alaranjado) e tipo III (área refringente verde) junto à tela de polipropileno no dia 3. Coloração Picosirius com luz polarizada (200x). Cavidade, tela de polipropileno	42
Figura 11 – Fotomicrografia colágeno tipo I (área refringente vermelho-alaranjado) e tipo III (área refringente verde) junto à tela de	

polipropileno no dia 7. Coloração Picrosirius com luz polarizada (200x)	42
Figura 12 – Fotomicrografia colágeno tipo I (área refringente vermelho-alaranjado) e tipo III (área refringente verde) junto à tela de polipropileno no dia 21. Coloração Picrosirius com luz polarizada (200x)	43
Figura 13 – Fotomicrografia colágeno tipo I (área refringente vermelho-alaranjado) e tipo III (área refringente verde) junto à tela de polipropileno no dia 30. Coloração Picrosirius com luz polarizada (200x)	43
Figura 14 – Gráfico da evolução temporal das médias percentuais de colágeno total, das frações de colágeno tipo I e tipo III e da relação das médias percentuais dos colágenos tipo I/tipo III	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultado da avaliação microscópica da resposta inflamatória	36
Tabela 2 – Médias percentuais de colágeno total e das frações de colágeno tipo I e tipo III	41

LISTA DE ABREVIATURAS

C	Colágeno
FGF	Fator de crescimento dos fibroblastos
G	Gigantócitos
L	Linfócitos
M	Macrófagos
N	Neutrófilos
PDGF	Fator de crescimento derivado das plaquetas
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
TGF	Fator transformador do crescimento
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	18
3	LITERATURA	19
3.1	DEFEITOS DA PAREDE ABDOMINAL	19
3.2	TELA DE POLIPROPILENO	21
3.3	CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS	23
4	MÉTODO	29
4.1	DELINEAMENTO.....	29
4.2	AMOSTRA	29
4.3	PROCEDIMENTOS	29
4.4	TÉCNICAS DE COLORAÇÃO	32
4.5	TÉCNICA VIDEOMORFOMÉTRICA	33
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	34
4.7	ASPECTOS ÉTICOS	34
5	RESULTADOS	36
6	DISCUSSÃO	45
7	CONCLUSÕES	49
	REFERÊNCIAS	50
	APÊNDICE A – CÁLCULOS ESTATÍSTICOS	56
	ANEXO A – RESOLUÇÃO DA COMISSÃO CIENTÍFICA E COMISSÃO DE PESQUISA E ÉTICA EM SAÚDE	57

1 INTRODUÇÃO

A reparação de grandes hérnias da parede abdominal sempre se constituiu em um desafio para os cirurgiões. No final dos anos cinqüenta, a introdução da tela de polietileno por Usher et al.^(1,2) foi um grande passo no tratamento definitivo das hérnias e levou a uma redução significativa no índice de recidivas⁽³⁻⁶⁾. As características da tela de polipropileno incluem algumas das propriedades necessárias para os biomateriais descritos por Cumberland⁽⁷⁾ e Scales⁽⁸⁾.

Atualmente, existem disponíveis vários materiais sintéticos, no entanto a tela de polipropileno, sem dúvida, é a mais amplamente utilizada e a com maior experiência registrada⁽⁹⁻¹¹⁾. Essas telas apresentam como principais características o fato de serem inertes na presença de infecção, de manterem a resistência tênsil da parede abdominal e de possuírem excelente capacidade de integração^(5,12), além de terem um baixo custo, de serem maleáveis e de já terem sido experimentadas durante anos.

Na literatura existem inúmeros trabalhos avaliando a reação do organismo à presença da tela de polipropileno, que é amplamente utilizada na correção dos defeitos da parede abdominal das mais diversas etiologias. A maioria desses trabalhos busca avaliar o índice de recidiva, de infecção, de resposta inflamatória e a presença de aderências associadas ao uso dos diferentes tipos de tela disponíveis atualmente no mercado^(11,13,14).

Tem sido descrito na literatura que a tela de polipropileno torna-se envolta especialmente por tecido fibrótico denso⁽¹³⁾ e que a indução da fibrose é resultado de reação local à lesão tecidual e à tela utilizada. O processo de fibroplasia consiste em uma seqüência harmônica e coordenada de eventos celulares e moleculares, que interagem para promover a reparação e a reconstituição do tecido lesado⁽¹⁵⁻²⁰⁾. Sua extensão depende do grau e da atividade inflamatória, uma das fases do processo de cicatrização⁽²¹⁻²³⁾, e é uma pré-condição para a reconstrução de uma parede abdominal mecanicamente estável⁽²⁴⁾. O reforço da parede abdominal com tela de polipropileno ocorre pelo aumento da força de resistência da própria prótese e como resultado da reação fibrosa induzida pela tela. A bio-integração resulta da infiltração das células inflamatórias e da deposição do tecido conjuntivo⁽²⁵⁾.

Apesar de a tela de polipropileno ser amplamente utilizada na correção dos defeitos da parede abdominal, de haver estudos comparando a resposta do hospedeiro quanto ao tipo de tela utilizada ou à idade do hospedeiro, ainda não existem dados disponíveis quanto ao tempo da fibroplasia na tela e, conseqüentemente, do comportamento da cicatriz aponeurótica na incorporação da tela de polipropileno, da qual dependem a resistência e a integridade da parede abdominal.

2 OBJETIVOS

GERAL:

Avaliar o tempo de aparecimento de colágeno associado ao uso da tela de polipropileno.

ESPECÍFICOS:

Determinar a quantidade de colágeno total e colágeno tipo I e tipo III na tela de polipropileno em diferentes momentos do processo de fibroplasia.

Correlacionar a fibroplasia nos diferentes tempos avaliados com a resposta inflamatória local.

3 LITERATURA

3.1 DEFEITOS DA PAREDE ABDOMINAL

Os defeitos músculo-aponeuróticos da parede abdominal são a doença cirúrgica mais freqüente, com uma incidência acima de 10% na população em geral⁽²⁶⁾. O mecanismo fundamental da formação das hérnias é a perda da integridade mecânica dos tecidos da parede abdominal, fundamentalmente por alterações na estrutura molecular ou celular. A hérnia abdominal é uma doença heterogênea, em que uma população de pacientes expressa um defeito, genético ou sistêmico, na matriz extracelular, levando à formação das hérnias primárias, enquanto outro grupo de pacientes adquire o defeito na parede por uma falha na cicatrização em uma cirurgia prévia, formando-se as hérnias secundárias⁽²⁷⁾.

Embora as hérnias da parede abdominal sejam uma afecção comum e o seu reparo seja uma das cirurgias mais freqüentemente realizadas, um entendimento profundo do papel do colágeno no desenvolvimento e na recorrência desta doença ainda é escasso. A prevalência da hérnia inguinal aumenta constantemente após os 15 anos de idade. Sua incidência cumulativa atinge 46% dos homens e 13% das mulheres até os 80 anos de idade. Para as hérnias da parede abdominal apenas, excluindo-se as hérnias inguinais, e incluindo-se especialmente as hérnias incisionais, a prevalência independe do gênero, sendo muito semelhante entre homens e mulheres⁽²⁸⁾. A hérnia incisional é uma das complicações mais comuns após uma laparotomia, e estudos prospectivos relatam que 11 a 23% de todas as incisões da linha média irão resultar em hérnia incisional⁽²⁹⁻³¹⁾.

Vários fatores têm sido implicados no desenvolvimento das hérnias primárias da parede abdominal. Atualmente, o centro das atenções, com referência ao desenvolvimento de hérnias, voltou-se para as alterações da matriz extracelular, seu maior componente – o colágeno – e as metaloproteínases, enzimas remodeladoras da matriz. O colágeno representa a proteína quantitativamente mais abundante no corpo e é a escleroproteína mais importante da matriz extracelular. Nas primeiras fases do processo de reparação de uma ferida, a formação tecidual é caracterizada pela fibroplasia, neovascularização, migração e produção da matriz extracelular. As

fases finais da reparação da ferida são caracterizadas pela remodelação da matriz, com a transformação do tecido de granulação inicial em tecido conjuntivo ^(27,28,32-42). O colágeno, a principal proteína da matriz extracelular, é responsável pela força tênsil dos tecidos. A qualidade do tecido conjuntivo é determinada principalmente pela quantidade e proporção de colágeno tipo I e tipo III sintetizados e depositados. Em particular, o colágeno maduro, tipo I, encontrado em feixes densos do tecido conjuntivo, é responsável pela resistência tecidual. Em contraste, as fibras de colágeno tipo III são menores em diâmetro e são vistas como o colágeno imaturo, encontrado predominantemente em cicatrizes jovens. Uma redução da proporção de colágeno tipo I/tipo III reduz a estabilidade mecânica do tecido conjuntivo ⁽⁴³⁾. Logo, defeitos no metabolismo do colágeno resultam em alterações da quantidade relativa dos vários tipos de colágeno, afetando a formação das fibrilas, seus tamanhos e o seu grau de ligação. A diminuição da relação entre colágeno tipo I e tipo III corresponde à redução da firmeza do tecido, pois o colágeno tipo III fornece menos resistência. Existem fortes evidências de que esta alteração está associada à fraqueza mecânica do tecido de cicatrização, pois o colágeno tipo III é caracteristicamente abundante nos primeiros dias da cicatrização da ferida, sendo subsequente substituído pelo colágeno tipo I. Assim, pacientes com metabolismo defeituoso do colágeno têm um risco aumentado para hérnia, uma vez que apresentam capacidades mecânicas inferiores do tecido conjuntivo ^(28,38). Vários autores têm descrito alterações na matriz extracelular, especialmente relacionadas à formação do colágeno em pacientes com hérnias ^(28,32,35-42,44).

Existe uma incidência cumulativa de reoperações por hérnias incisionais, que mesmo o uso de telas não alterou significativamente, mas apenas retardou a recorrência em dois a três anos ^(6,28). As alterações no metabolismo do colágeno e a existência das hérnias da parede abdominal ^(28,32,37-42) explicariam, de certa forma, por que a taxa de cirurgias para hérnias recorrentes, na maioria dos países, permanece constante apesar de todos os progressos nas técnicas cirúrgicas ⁽²⁸⁾. De todos os estudos publicados de 1957 a 2001, embora poucos fossem ensaios clínicos randomizados, os índices de recidiva para a correção da hérnia incisional sem uso da tela eram de até 49%, e com uso da tela, de até 10% ^(26,29-31,42). Já estudos randomizados encontraram altos índices de recorrência, de até 32% após o reparo com uso de tela e de até 63% sem o seu uso ⁽²⁹⁻³¹⁾.

A valorização dessa alteração metabólica e da falha do processo de cicatrização da ferida, como razões subjacentes para o surgimento e a recorrência das hérnias da parede abdominal, permite entender por que a simples síntese do defeito herniário resulta em falha do tratamento e em recidiva⁽²⁸⁾. Se um defeito primário existe na matriz extracelular ou em outro tecido que predispõe a formação de uma hérnia primária, é razoável assumir que o mesmo defeito pode se expressar durante a cicatrização de feridas operatórias⁽²⁷⁾. Assim, o uso da tela é obrigatório e, como conseqüência do defeito no metabolismo do colágeno, pode-se concluir que a tela deve ser permanente, que toda a cicatriz deve ser reforçada pela prótese e que a extensão da sobreposição da tela é o principal fator a determinar o risco de recidiva⁽²⁸⁾.

Cirurgiões em todo o mundo concordam que se deve entender a hérnia abdominal como uma doença do tecido conjuntivo, que pode ser tratada em muito poucos pacientes pela simples síntese, e que, na maioria dos pacientes, deve ser tratada com a colocação de uma tela^(26,42).

3.2 TELA DE POLIPROPILENO

Para os cirurgiões, a reparação dos grandes defeitos da parede abdominal sempre se constituiu em um desafio. A introdução da tela de polipropileno por Usher et al.^(1,2), no século passado, foi um grande passo no tratamento definitivo das hérnias e levou à redução significativa do índice de recidivas⁽³⁻⁶⁾. As propriedades necessárias ao biomaterial ideal incluem: a) não ser modificado fisicamente pelos fluidos teciduais; b) ser quimicamente inerte, não potencializando infecção ou retardando o processo de cicatrização; c) não causar reação inflamatória ou de corpo estranho no tecido hospedeiro; d) não ser carcinogênico; e) não promover um estado de alergia ou hipersensibilidade; f) ser capaz de resistir ao estresse mecânico; g) permitir a fabricação ou obtenção da forma e tamanho desejados com facilidade e baixo custo; h) poder ser esterilizado; e i) ser incorporado pelo tecido hospedeiro^(7,8,45). Poucos são os materiais que apresentam todas essas propriedades, embora atualmente existam vários materiais sintéticos disponíveis, supostamente com essas características, que estão sendo constantemente

avaliados. No entanto, a tela de polipropileno continua sendo o biomaterial mais amplamente utilizado e com maior casuística⁽⁹⁻¹¹⁾, constituindo-se, na maioria dos trabalhos publicados, o padrão-ouro.

As principais características da tela de polipropileno são: ser inerte na presença de infecção, manter a resistência tênsil e possuir excelente capacidade de integração^(5,12). A tela de polipropileno é usada em diferentes situações, para reforço ou substituição da parede abdominal, em cirurgias eletivas ou de emergência. Desde os resultados preliminares de Usher, com uso da tela de polipropileno, inúmeros resultados da experiência clínica e experimental mundial estão disponíveis tanto em cirurgias abertas como videolaparoscópicas^(3,5,6,11,25,46-49).

A tela deve ser flexível, mesmo quando integrada à parede abdominal pelo tecido cicatricial. A reação de corpo estranho constitui-se em problema específico no reparo com uso da tela e é muitas vezes subestimado. Essa reação varia entre os indivíduos, e é dependente da quantidade e da estrutura da tela. Devido ao elevado número de telas colocadas a cada ano na correção de defeitos da parede abdominal, mais de um milhão em todo o mundo, e à sua permanência por longos períodos de tempo junto aos tecidos, não devem existir dúvidas quanto à segurança desses materiais. O uso corrente de biomateriais no reparo de hérnias representa um grande avanço no tratamento dessa doença, mas novas telas ainda são pesquisadas e, sem dúvida, os resultados dependem de um melhor entendimento da reação de corpo estranho que se desenvolve no hospedeiro^(6,50).

Atualmente, sabe-se que a maioria das complicações relacionadas ao uso da tela de polipropileno descritas na literatura está relacionada a erros técnicos no posicionamento da tela e na fixação da tela com fios multifilamentares inabsorvíveis^(9,24,51).

A tela de polipropileno é a prótese mais comumente utilizada nas cirurgias das hérnias da parede abdominal, pois preserva suas propriedades químicas e sua integridade mecânica por anos, além de fortalecer a parede abdominal pela indução da resposta inflamatória do tipo corpo estranho, resultando em uma área cicatricial forte e tornando-se totalmente integrada à parede abdominal^(22,24). A tela de polipropileno, bem como os diferentes tipos de telas disponíveis no mercado, tem sido amplamente avaliada por vários trabalhos experimentais e clínicos, que as comparam quanto às alterações macroscópicas relacionadas a infecções, aderências e recidivas, bem como quanto às alterações microscópicas, especialmente a resposta inflamatória e a fibrose^(11,13,14,22). Esses estudos

comprovam a segurança e a eficácia do uso da tela de polipropileno⁽⁵²⁾. No entanto, existem poucas evidências sobre a resposta biológica relacionada especificamente à tela de polipropileno⁽⁵³⁾, incluindo-se aí o tempo de fibroplasia.

3.3 CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS

A maioria das evidências sustenta que as hérnias inguinais recorrentes ocorrem devido à falha da cicatrização da ferida operatória, como também é o caso das hérnias incisionais e de suas recidivas⁽²⁷⁾.

Após uma lesão tecidual, independente de sua natureza, o processo de cicatrização é essencial para que se recupere a integridade corporal^(20,21,23). A cicatrização constitui-se em uma seqüência complexa de eventos celulares e bioquímicos orquestrados, com o objetivo de restaurar a integridade tecidual após a lesão^(15-20,27). A participação das células imunológicas na cicatrização da ferida é conhecida há muito tempo, com a sucessiva migração de neutrófilos, macrófagos e linfócitos para o interior da ferida. Hoje, está claro que essas células, além de seu papel no processo inflamatório e na defesa do organismo, são essenciais na regulação do processo de cicatrização das feridas por meio da secreção de moléculas sinalizadoras, como as citocinas, linfocinas e fatores de crescimento⁽¹⁸⁾.

As fases clássicas da cicatrização de uma ferida – inflamação, proliferação, deposição de tecido conjuntivo e remodelagem – foram descritas para as feridas cutâneas e constituem a base para a compreensão do processo de reparo tecidual. Essas fases de cicatrização se aplicam a uma ampla variedade de tecidos e órgãos^(27,54).

Didaticamente, o processo de cicatrização das feridas pode ser dividido em: a) hemostasia e inflamação, b) proliferação ou fibroplasia e c) maturação ou remodelagem^(15,17,19,23). Cada uma delas é controlada e regulada por substâncias biologicamente ativas, denominadas fatores de crescimento, os quais são polipeptídios que controlam o crescimento, a diferenciação e o metabolismo das células⁽²³⁾.

Quando os tecidos são lesados, o sangue entra em contato com o colágeno e outros fatores teciduais, que iniciam a resposta hemostática. As plaquetas, expostas ao colágeno presente na parede dos vasos sanguíneos lesados, liberam substâncias vasoativas, que produzem vasoconstrição, e uma ampla variedade de substâncias quimiotáticas e fatores de crescimento presentes nos seus grânulos. Quando as plaquetas ativadas agregam-se, dão início à cascata da coagulação, que, ao final, resulta na formação e polimerização da fibrina. A formação do coágulo de fibrina ocorre com o objetivo de aproximar as margens da ferida e oferecer substrato para a ação da fibronectina, que servirá como matriz provisória para as demais células atraídas pela lesão tecidual^(15,17,19,21,23). As plaquetas, essenciais para o início do processo de cicatrização, são fonte importante de fatores de crescimento, incluindo o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento dos fibroblastos (FGF) e o fator transformador do crescimento (TGF), os quais atraem quimicamente neutrófilos, macrófagos, fibroblastos e células endoteliais. Os fatores de crescimento que agem localmente são produzidos pelas plaquetas, nas primeiras 48 horas após um ferimento, e daí em diante, principalmente, pelos macrófagos⁽²³⁾.

A fase inflamatória é essencial à cicatrização, ocorrendo nesse período um aumento na permeabilidade dos vasos, quimiotaxia das células sanguíneas para a ferida, liberação de mediadores químicos, citocinas e fatores de crescimento no local da ferida^(15,17,19). Durante a fase inflamatória, predominam neutrófilos, macrófagos e linfócitos; a contribuição de cada tipo celular para o sucesso da cicatrização, no entanto, é variável⁽¹⁹⁾.

Os neutrófilos são as primeiras células do sistema imunológico a chegar à área da ferida, em decorrência da maior permeabilidade vascular, pela liberação de prostaglandinas e de substâncias quimiotáticas. Aparecem imediatamente após a lesão e permanecem por três a cinco dias. Sua função principal é a fagocitose das bactérias, controlando a infecção e desbridando a ferida. No entanto, os neutrófilos não são essenciais para o processo de cicatrização ou para a síntese do colágeno, embora ajudem na defesa do hospedeiro^(15,17-19,23,27).

Os macrófagos migram para a ferida 48 a 96 horas após a lesão, onde permanecem até o décimo dia, tornando-se a principal célula dessa fase, no controle e na regulação da cicatrização das feridas. Desempenham uma função essencial e crítica para o sucesso da cicatrização, pois participam e concluem o processo

inflamatório e de desbridamento. Sua ação antimicrobiana é desenvolvida pela fagocitose e pela produção de radicais reativos, como óxido nítrico, oxigênio e peróxido. O desbridamento é facilitado pela fagocitose e pela produção de enzimas como colagenase e elastase. No entanto, a principal contribuição dos macrófagos para o processo de cicatrização é a secreção de citocinas e fatores de crescimento, que irão mediar a angiogênese e a fibroplasia. Essas citocinas agem de maneira parácrina, ativando e recrutando outras células envolvidas na cicatrização e, juntamente com os fatores de crescimento, regulam a quimiotaxia, a proliferação dos fibroblastos e a síntese de colágeno^(15,17-19,23,27).

Os linfócitos T migram para a ferida depois das células inflamatórias e macrófagos, no 5º dia após a lesão, durante a fase proliferativa, e atingem seu máximo no 7º dia. As células T – supressoras podem desempenhar um papel inibitório no processo de cicatrização, possivelmente ajudando a regular para menos o exuberante processo inflamatório e o estado proliferativo da cicatrização, quando este se aproxima da sua conclusão^(15,17,18).

As células inflamatórias elevam a demanda de oxigênio na ferida, resultando em hipóxia tecidual e produção aeróbica de lactato por essas células e pelos fibroblastos. O lactato se acumula e estimula a secreção de colágeno e a angiogênese⁽²¹⁾.

A resistência de uma ferida em cicatrização é praticamente zero durante a fase inflamatória. Assim, uma resposta inflamatória excessiva ou prolongada, como é visto com corpos estranhos incisionais, tais como os fios de sutura e o material da tela, predispõem a uma falha na cicatrização⁽²⁷⁾.

A proliferação celular é responsável pela reparação da lesão tecidual. As células que proliferam na ferida são os fibroblastos e as células endoteliais. A fibroplasia começa quando o número de macrófagos e de fibroblastos aumenta na ferida, simultaneamente ao início do processo de angiogênese, resultando na formação da matriz extracelular, que inclui a síntese de colágeno. É nessa fase que a resposta inflamatória termina, pois o número de leucócitos diminui, os mediadores inflamatórios não são mais produzidos e os presentes são inativados. A fibroplasia inicia aproximadamente cinco dias após a lesão tecidual e pode continuar por até duas semanas. Os fibroblastos migram para a ferida dois dias após a lesão tecidual, a partir do tecido adjacente, enquanto as células endoteliais proliferam a partir de vênulas localizadas junto à ferida, formando novos capilares.

Os fibroblastos presentes nos tecidos adjacentes à ferida encontram-se em um estado quiescente, devendo ser ativados por mediadores liberados durante a inflamação, principalmente pelas plaquetas e macrófagos, para proliferarem. Esses mediadores humorais incluem: fibronectina, fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento dos fibroblastos (FGF) e fator transformador do crescimento (TGF), os quais estimulam a replicação e a quimiotaxia dos fibroblastos, bem como estimulam os fibroblastos a sintetizarem fibronectina e colágeno^(15,17,19,21,23,27). Os fibroblastos que derivam das feridas se caracterizam por proliferarem menos. No entanto, sintetizam mais colágeno e promovem uma maior contração deste, quando comparados com os fibroblastos encontrados normalmente na derme. Essa alteração é atribuída, principalmente, às citocinas liberadas pelos macrófagos⁽¹⁹⁾.

A extensão da fibroplasia é proporcional à tensão de oxigênio. Os fibroblastos da ferida adotam um fenótipo sintético sob a influência dos fatores de crescimento e da alta concentração de lactato. Logo, a resistência da ferida, que é resultado da deposição de colágeno, é altamente vulnerável às variações respiratórias e de perfusão sangüínea⁽²¹⁾. No entanto, muito pouco se sabe sobre o comportamento dos fibroblastos no processo de reparo tecidual em tecidos não-dérmicos⁽²⁷⁾.

A fase de maturação da cicatrização de uma ferida caracteriza-se pela deposição de colágeno, residindo sua importância no fato de que irá determinar a resistência, o tamanho e a aparência final da cicatriz, na dependência da velocidade, da quantidade e da qualidade total do colágeno presente^(15,17,19). A composição da matriz da ferida sofre alterações no decorrer do processo. Inicialmente, é constituída basicamente por fibrina e fibronectina, originárias do processo de hemostasia e dos macrófagos. Em seguida, glicosaminoglicanos, proteoglicanos e outras proteínas são sintetizadas e facilitam a deposição da matriz e sua remodelagem. Na seqüência, o colágeno torna-se a proteína predominante na cicatriz. A síntese do colágeno total aumenta por quatro a cinco semanas após a lesão, não apenas pelo aumento no número de fibroblastos, mas também pela maior produção de colágeno por cada célula⁽¹⁹⁾.

O colágeno é a proteína animal mais comum e corresponde a 30% da proteína total do corpo humano. Nas fâscias da parede abdominal, o colágeno corresponde a 80% ou mais do peso seco dos tecidos⁽²⁷⁾. A quantidade e a relação

do colágeno tipo I e tipo III determinam, basicamente, a resistência e a estabilidade mecânica tanto do tecido conjuntivo como do tecido cicatricial⁽⁴²⁾. Em tecidos normais, o colágeno proporciona resistência, integridade e estrutura aos tecidos. O colágeno tipo I representa o polímero de colágeno maduro, com fibras grossas e alta força de tensão, e é a forma predominante, representando mais de 90% do colágeno total, sendo encontrado nos tendões, nos ligamentos e na derme. O tipo III é constituído de fibras de colágeno finas, imaturas e isoladas, de baixa força de tensão, sendo encontrado em todos os tecidos com certo grau de flexibilidade e plasticidade, como tecidos embrionários e músculos lisos, e no período inicial da cicatrização das feridas cirúrgicas^(37,42,55). Estes são os tipos de colágenos mais freqüentemente encontrados nas fâscias e aponeuroses, e também nos tecidos de cicatrização^(32,56). A derme intacta é constituída por 80 a 90% de colágeno tipo I e 10 a 20% de colágeno tipo III. Na ferida, o colágeno tipo III aparece precocemente, coincidindo com o aparecimento da fibronectina, sendo degradado, geralmente pelos macrófagos e fibroblastos, à medida que a ferida envelhece. Sua presença indica um aumento na plasticidade do tecido conjuntivo resultante^(19,57). O exame bioquímico mostra que o colágeno produzido no tecido de granulação é diferente do colágeno presente na pele intacta e que, apesar de um longo período de remodelação da cicatriz, que pode atingir até dois anos, pela degradação e síntese⁽²³⁾, as fibras de colágeno no tecido cicatricial nunca serão tão organizadas como o colágeno da pele intacta^(19,57).

Acredita-se que a força de tensão dos tecidos depende amplamente das proporções variáveis de colágeno do tipo I, com sua alta força de resistência, e do imaturo colágeno do tipo III. A força de tensão na ferida é de 3% com uma semana e de 20% da força final após três semanas. Depois de três meses, a área de cicatriz mostra 80% da força da pele intacta, não obtendo nenhuma força adicional após esse período. O acúmulo da matriz na área em cicatrização representa o equilíbrio entre a deposição e a degradação, que são reguladas pelas próprias células envolvidas no processo⁽¹⁹⁾. O processo de reparo tecidual está praticamente completo após 90 dias do implante da tela⁽⁵⁰⁾.

Acredita-se que uma resposta inflamatória prolongada, devido à presença de um corpo estranho, como o implante de uma tela, pode atrasar a progressão do processo de cicatrização para a fase da fibroplasia (fibroproliferação), na qual ocorre um ganho rápido de força. O retardo da resposta dos fibroblastos, por sua vez,

impede a síntese da matriz provisória e prolonga o período de tempo em que a ferida cirúrgica ficará sujeita a um aumento da força mecânica, dependendo inteiramente do material de sutura para manter sua resistência. Ou seja, uma ferida cirúrgica é totalmente dependente da sutura até que a resistência fornecida pelo colágeno depositado, quando sua maturação for atingida, seja capaz de compensar a carga exercida sobre ela⁽²⁷⁾.

4 MÉTODO

4.1 DELINEAMENTO

Experimento não-controlado

4.2 AMOSTRA

Foram utilizados 36 ratos albinos, machos, da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*), com idade aproximada de 60 dias e peso variando de 180 a 220 g, oriundos do Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório do Instituto de Ciências Básicas da Saúde – UFRGS. Os animais foram distribuídos em seis grupos de seis e mantidos em gaiolas de plástico com as dimensões de 40 x 30 x 16 cm, com no máximo três ratos em cada unidade, recebendo ração e água *ad libitum*. Os procedimentos cirúrgicos foram realizados em sala especial do próprio biotério, seguindo as normas técnicas e diretrizes internacionais de pesquisa em animais⁽⁵⁸⁻⁶¹⁾. O jejum pré-operatório foi de 12 horas. A manutenção dos animais ocorreu em uma sala do referido biotério, em ambiente com fluxo de ar contínuo, livre de barulho e em temperatura ambiente.

4.3 PROCEDIMENTOS

Os animais foram anestesiados com solução de cloridrato de cetamina 10% (Ketalar® Agener União 100 mg/ml) e cloridrato de xilazina 2% (Calmium® Agener União 20 mg/ml), em doses de 100 mg/kg e 10 mg/kg IM, respectivamente^(13,61).

Em prancha cirúrgica para pequenos roedores, imobilizou-se o animal, em decúbito dorsal horizontal, com contenção elástica das patas dianteiras e traseiras, e realizou-se a anti-sepsia com Iodofor Aquoso 2%. Colocaram-se os campos

esterilizados e, mediante técnica asséptica, foi realizada uma incisão mediana, abaixo do apêndice xifóide, na pele do animal, com 6 cm de extensão, seguida de dissecação da tela subcutânea por cerca de 4 cm de cada lado e exposição da camada músculo-aponeurótica.

Procedeu-se à exérese de um segmento elipsóide na linha média, que incluía a camada músculo-aponeurótica e o peritônio, com 3 cm de eixo longitudinal e 2 cm de eixo transversal, para criar um defeito músculo-aponeurótico. Para a hemostasia, foi realizada sutura contínua da borda com fio de polipropileno 4-0, agulhado e atraumático (Figura 1). Esse defeito músculo-aponeurótico foi corrigido com a colocação da tela de polipropileno monofilamentar com 4 cm de eixo longitudinal e 3 cm de eixo transversal, sendo fixada com oito pontos em "U", separados e eqüidistantes, nas suas bordas com fios de polipropileno 4-0, agulhado e atraumático, com cinco nós em cada ponto, ficando as margens da prótese sobre o plano aponeurótico anterior (Figura 2). A superfície interna da prótese foi deixada em contato direto com as vísceras intra-abdominais, e a superfície externa, em contato com a tela subcutânea. A pele foi fechada com sutura contínua, com fio monofilamentar de nylon 4-0. Os animais, após a operação, se recuperavam por cerca de 40 minutos e eram mantidos nas gaiolas com acesso a ração e água, onde permaneciam até a data prevista para a aferição.



Figura 1 – Defeito músculo-aponeurótico

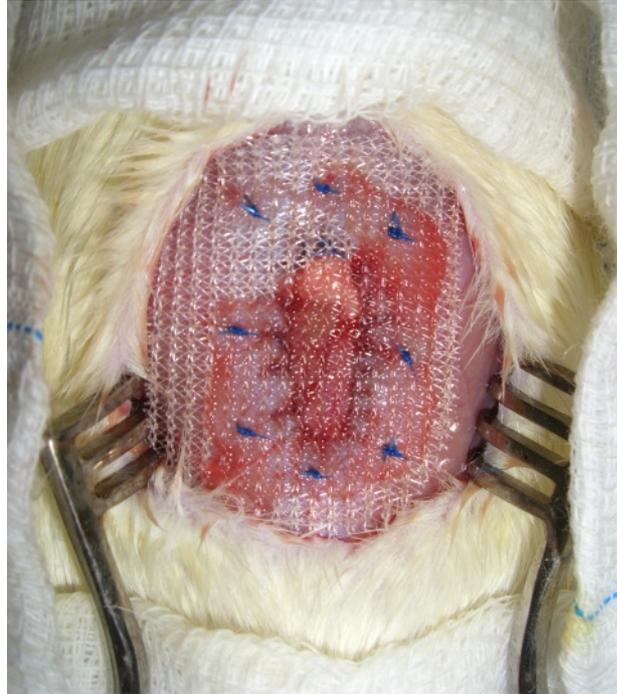


Figura 2 – Tela de polipropileno fixada

Os tempos de estudo estabelecidos foram um, dois, três, sete, 21 e 30 dias de pós-operatório, sendo escolhidos para cada tempo seis animais aleatoriamente, os quais foram submetidos à eutanásia com cloridrato de cetamina 10% e cloridrato de xilazina 2%⁽⁶¹⁾.

Constatado o óbito, o animal foi colocado em mesa de dissecação cirúrgica para pequenos animais. Incisou-se a pele no local da cicatriz prévia e descolou-se a tela subcutânea por cerca de 5 cm de cada lado da linha média, para ampla exposição da parede abdominal e tela. A parede abdominal foi aberta junto à região inguinal esquerda. Pela abertura, verificou-se a presença de aderências, as quais foram desfeitas enquanto completava-se a exérese do conjunto músculo-aponeurótico e tela, com uma margem de 1 cm além do perímetro da tela. As peças foram distendidas sobre placas de isopor e fixadas em formalina tamponada (solução tamponada de formaldeído a 10%).

Quando todos os animais foram submetidos à eutanásia nos tempos previstos e todas as amostras foram coletadas, estas foram fracionadas em duas porções equivalentes, desidratadas em concentrações crescentes de etanol, clarificadas em xilol e incluídas em blocos de parafina. Os blocos foram, então, seccionados em micrótomo Leica®, modelo RM2025, na espessura de 4 µm. Posteriormente, as

lâminas foram coradas. A orientação macroscópica dos cortes foi feita transversalmente às telas.

4.4 TÉCNICAS DE COLORAÇÃO

As técnicas de coloração empregadas neste trabalho foram hematoxilina-eosina e Picrosirius.

a) Técnica da hematoxilina-eosina: os cortes foram desparafinados em xilol, hidratados em concentrações crescentes de etanol, lavados em água destilada e corados pela hematoxilina de Harris por três minutos. A seguir, foram lavados em água corrente e corados pela eosina por 1 minuto. Após haver-se retirado o excesso de corante com lavagem rápida em água, as preparações foram desidratadas em concentrações crescentes de etanol, clarificadas em xilol e montadas com bálsamo-do-Canadá.

A coloração pela hematoxilina-eosina viabilizou o reconhecimento e a quantificação da resposta inflamatória, por meio de um escore baseado em uma escala pré-determinada de 0-3. Para a avaliação histológica, foram utilizados apenas os fios da tela cortados transversalmente; os cortes oblíquos e tangenciais foram desprezados. As lâminas foram avaliadas por um único patologista, de acordo com o protocolo a seguir^(25,62,63).

a) Resposta inflamatória – ausência (0) ou presença (1) de neutrófilos.

b) Infiltrado de macrófagos:

- ausente (0);
- leve - não circunda totalmente o fio da tela (1);
- moderado - circunda totalmente o fio da tela (2);
- intensa - circunda totalmente o fio da tela, numa espessura duas a três vezes maior que a anterior (3).

c) Infiltrado de gigantócitos:

- ausente (0);
- leve - de um a dois gigantócitos ao redor do fio da tela (1);
- moderado - de três a cinco gigantócitos ao redor do fio da tela (2);
- intenso - mais de cinco gigantócitos ao redor do fio da tela (3).

d) Infiltrado de linfócitos:

- ausente (0);
- leve - de um a dois linfócitos ao redor do fio da tela (1);
- moderado - de três a cinco linfócitos ao redor do fio da tela (2);
- intenso - mais de cinco linfócitos ao redor do fio da tela (3).

b) Técnica de Picrosirius⁽⁶⁴⁾: cortes de 4 µm de espessura em formalina a 10% foram desparafinados, hidratados e corados por uma hora em solução de vermelho Sirius a 0.1% (Sirius Red F 3 B 200, Mombay Chemical Co. Union, New Jersey, U.S.A), dissolvida em ácido pícrico aquoso saturado. Os cortes foram, então, lavados em água corrente e contracorados com hematoxilina de Harris por seis minutos. O fenômeno de birrefringência, que se refere ao grau de retardamento da luz polarizada linear, é natural às fibras de colágeno. Isso ocorre pelo ordenamento paralelo das moléculas de colágeno nas fibrilas, bem como pela orientação das próprias fibras^(65,66). Ainda assim, a adição do Picrosirius resulta na sua ampliação, colorindo em amarelo, verde e principalmente vermelho brilhante as fibras colagenosas, sobressaindo-se a um fundo escurecido formado pelos demais elementos tissulares⁽⁶⁷⁾. O método de Picrosirius com luz polarizada permite a identificação do colágeno pela sua forte birrefringência, sendo que dois tipos de fibras colágenas podem ser distinguidos: o colágeno tipo I aparece vermelho-alaranjado, enquanto as fibras do colágeno tipo III mostram-se verdes ou esverdeadas^(50,64,66,67).

4.5 TÉCNICA VIDEOMORFOMÉTRICA

A técnica videomorfométrica permite a avaliação de cortes corados com Picrosirius mediante a luz polarizada por um sistema de imagens (microscópio com videocâmara associada) e a realização de contagem das áreas preenchidas por colágeno e das áreas sem este elemento. O método de Picrosirius com luz polarizada permite a identificação do colágeno pela sua forte birrefringência. A avaliação quantitativa do colágeno nas lâminas coradas com Picrosirius foi realizada mediante luz polarizada, pela contagem das áreas birrefringentes. Utilizou-se um

sistema de imagens formado por um microscópio Zeis®, modelo Primo Star, com uma videocâmera Sony® (Tóquio, Japão) acoplada. O sinal de vídeo foi digitalizado em 24 bits em um computador pessoal Pentium® 133 Megahertz (MHz), com uma resolução de 640 (horizontal) por 480 (vertical) pixels e 16 milhões de cores. Utilizando o programa aplicativo Image Pro Plus, versão 4.1 para Windows 98 (Media Cybernetics, Silverspring, U.S.A.), sob a forma de arquivos.tiff. Para cada caso foram digitalizados dez campos microscópicos no aumento 200x. O início da avaliação morfométrica deu-se com a segmentação da imagem, que corresponde à delimitação da área de interesse em cada imagem. Em seguida, o programa mede a proporção da área de interesse previamente segmentada em relação à totalidade do campo. Esta é a medida do colágeno total. Em nova segmentação, foram selecionadas as áreas com refringência verde ou esverdeada. A medida dessas áreas corresponde ao colágeno tipo III. Os resultados são expressos como proporção das áreas de colágeno tipo I e tipo III^(36,64,66).

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*), versão 12, e o programa WINPEPI DESCRIBE, versão 1.55. Aplicou-se o teste qui-quadrado com método de Monte Carlo para cálculo exato e o teste de Tukey para comparações múltiplas na análise das variáveis categóricas (neutrófilos). Utilizou-se a análise da variância entre os grupos (ANOVA), com pós-teste de Tukey e Dunnett para comparações múltiplas das variáveis quantitativas (macrófagos, gigantócitos, linfócitos e colágeno). Adotou-se o nível de significância de 0,05 ($\alpha \leq 0,05$) em todos os testes estatísticos.

4.7 ASPECTOS ÉTICOS

O protocolo deste estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (Anexo I), vinculado ao Programa de Pós-

Graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

5 RESULTADOS

Não ocorreram mortes pós-operatórias, nem foram observadas infecção ou rejeição à tela implantada durante o período do estudo.

A resposta inflamatória das células imunológicas junto à tela de polipropileno foi avaliada pelo exame histológico (método hematoxilina-eosina), cujos achados encontram-se sumarizados na Tabela 1.

Tabela 1 – Resultado da avaliação microscópica da resposta inflamatória

Dia	Macrófagos*	Gigantócitos*	Linfócitos*	Neutrófilos†
1	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	100% ^a
2	1,00 ± 0,00 ^b	0,67 ± 0,52 ^b	1,00 ± 0,00 ^b	100% ^a
3	1,50 ± 0,55 ^b	1,00 ± 0,00 ^b	2,83 ± 0,41 ^c	100% ^a
7	2,17 ± 0,41 ^b	2,50 ± 0,55 ^c	2,33 ± 0,52 ^c	100% ^a
21	2,83 ± 0,41 ^b	2,00 ± 0,00 ^c	1,17 ± 0,41 ^d	33% ^a
30	2,33 ± 0,52 ^b	2,00 ± 0,00 ^c	1,00 ± 0,00 ^d	0% ^b

* Valores expressos em média ± dp. ANOVA entre os diferentes dias mostrou diferença significativa para $p < 0,001$

† Valores expressos em frequência absoluta (relativas). Teste Pearson qui-quadrado pelo método Monte Carlo entre os diferentes dias mostrou diferença significativa para $p < 0,001$

As razões e as médias percentuais seguidas da mesma letra não diferem significativamente ($\alpha = 0,05$) entre si pelo teste de Tukey para comparações múltiplas.

No 1º dia após o implante (Figura 3), foram identificados apenas neutrófilos, indicando um processo inflamatório agudo. No dia 2 (Figura 4), foram identificados macrófagos, gigantócitos e linfócitos, sendo que a proporção de neutrófilos permanecia estável. No 3º dia (Figura 5), os neutrófilos, macrófagos e gigantócitos persistiram inalterados em relação ao dia anterior, observando-se aumento da proporção de linfócitos ($p < 0,001$). Uma semana após o implante da tela (Figura 6), mantiveram-se os neutrófilos, macrófagos e linfócitos, sem alteração significativa na sua proporção, e houve aumento da proporção de gigantócitos em relação ao dia 3

($p < 0,001$). No 21º dia (Figura 7), houve redução da proporção de neutrófilos, mas que não se mostrou estatisticamente significativa em relação aos dias anteriores ($\alpha = 0,05$). As proporções de macrófagos e gigantócitos permaneceram sem alterações em relação ao dia 7, e houve redução da proporção de linfócitos em relação ao período de observação anterior ($p < 0,001$). Trinta dias após a implantação da tela (Figura 8), desapareceram os neutrófilos ($p < 0,001$) e mantiveram-se estáveis as proporções de macrófagos, gigantócitos e linfócitos. O comportamento das diferentes células inflamatórias, avaliadas no decorrer do estudo, está representado no gráfico da Figura 9.

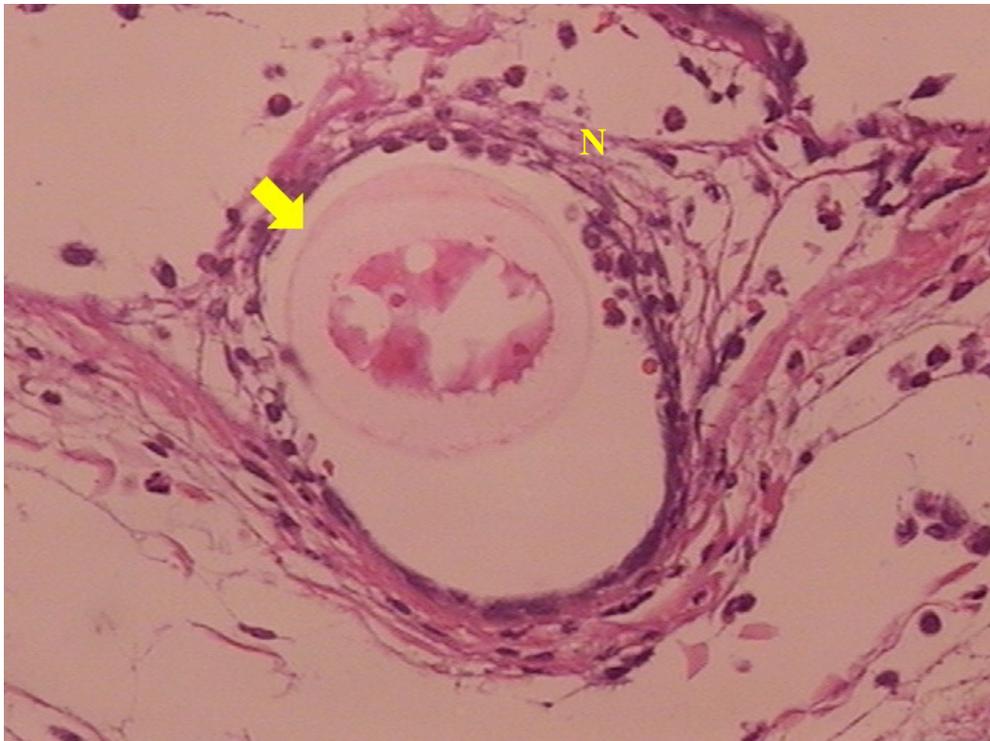


Figura 3 – Fotomicrografia de corte histológico da resposta inflamatória junto à tela de polipropileno no dia 1. Coloração HE (200x). Seta, tela de polipropileno; N, neutrófilos

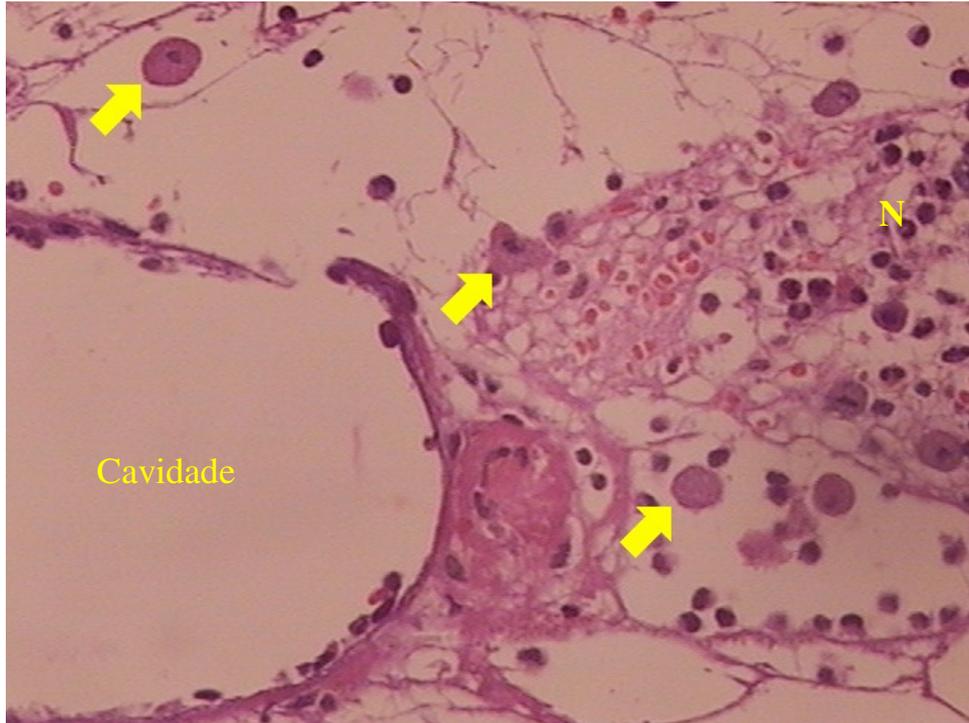


Figura 4 – Fotomicrografia de corte histológico da resposta inflamatória junto à tela de polipropileno no dia 2. Coloração HE (200x). Seta, macrófagos; Cavidade, tela de polipropileno; N, neutrófilos

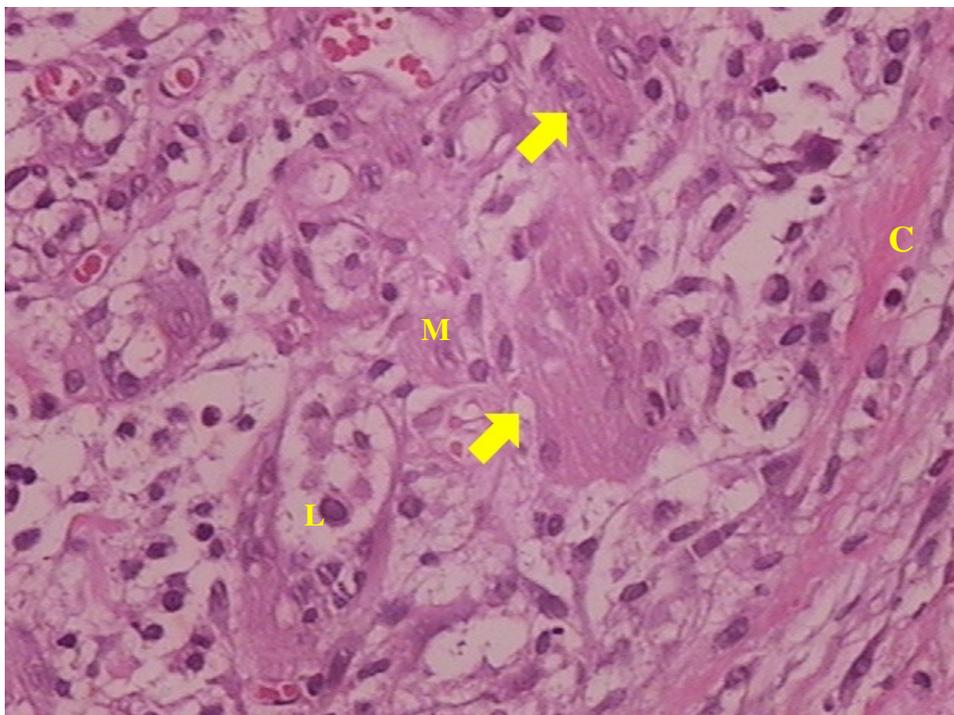


Figura 5 – Fotomicrografia de corte histológico da resposta inflamatória junto à tela de polipropileno no dia 3. Coloração HE (200x). Seta, gigantócitos; M, macrófagos; L, linfócitos; C, colágeno

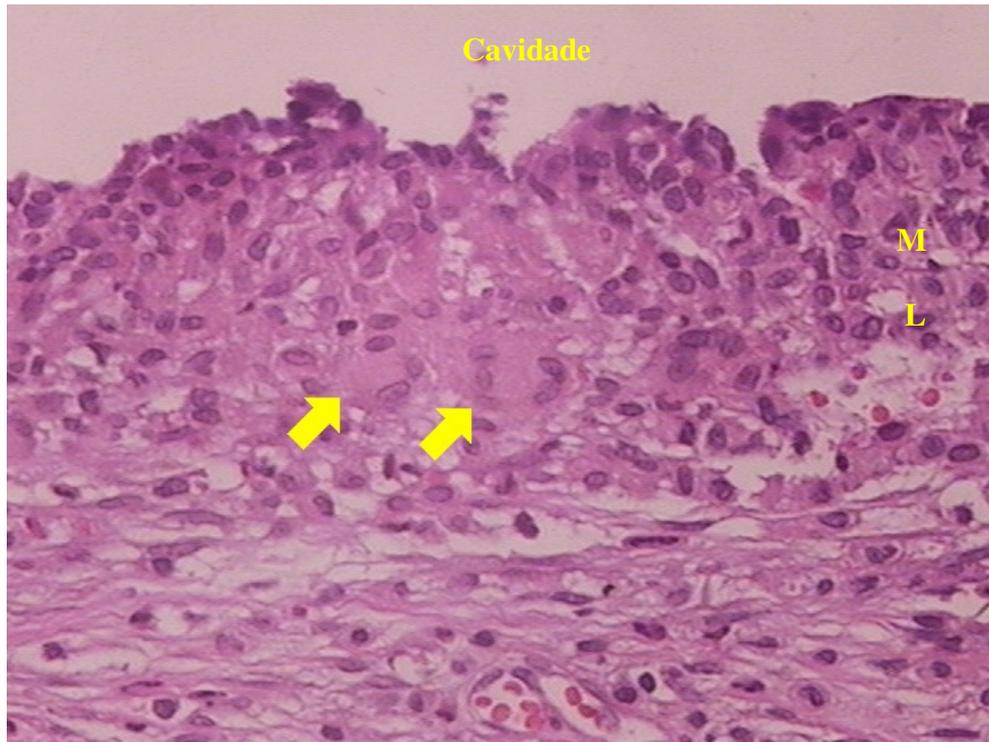


Figura 6 – Fotomicrografia de corte histológico da resposta inflamatória junto à tela de polipropileno no dia 7. Coloração HE (200x). Cavidade, tela de polipropileno; Seta, gigantócitos; M, macrófagos; L, linfócitos

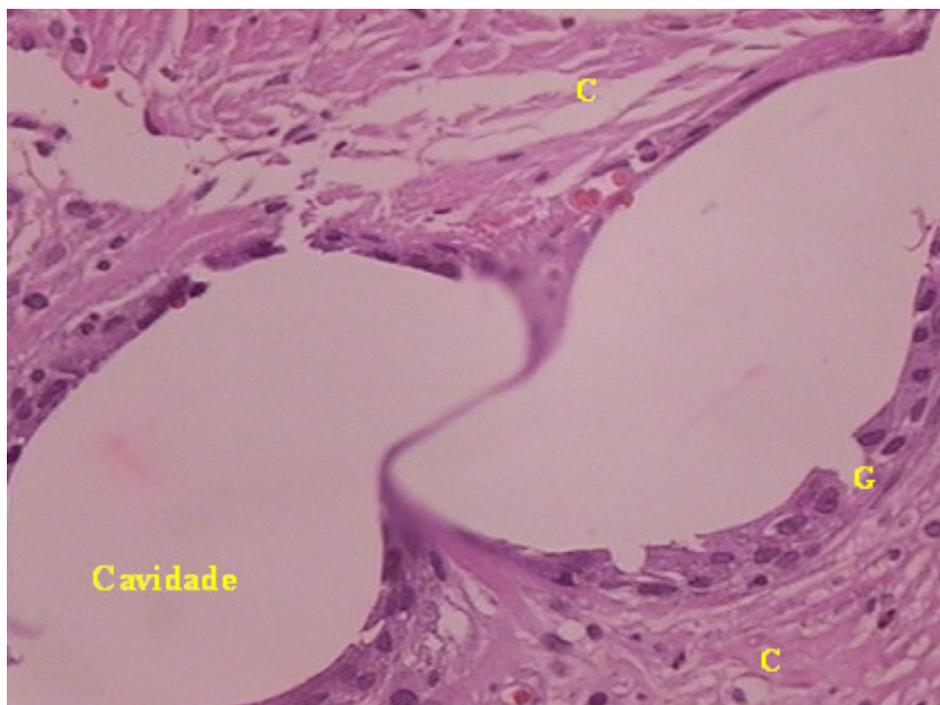


Figura 7 – Fotomicrografia de corte histológico da resposta inflamatória junto à tela de polipropileno no dia 21. Coloração HE (200x). Cavidade (tela) rodeada por gigantócitos (G); C, colágeno

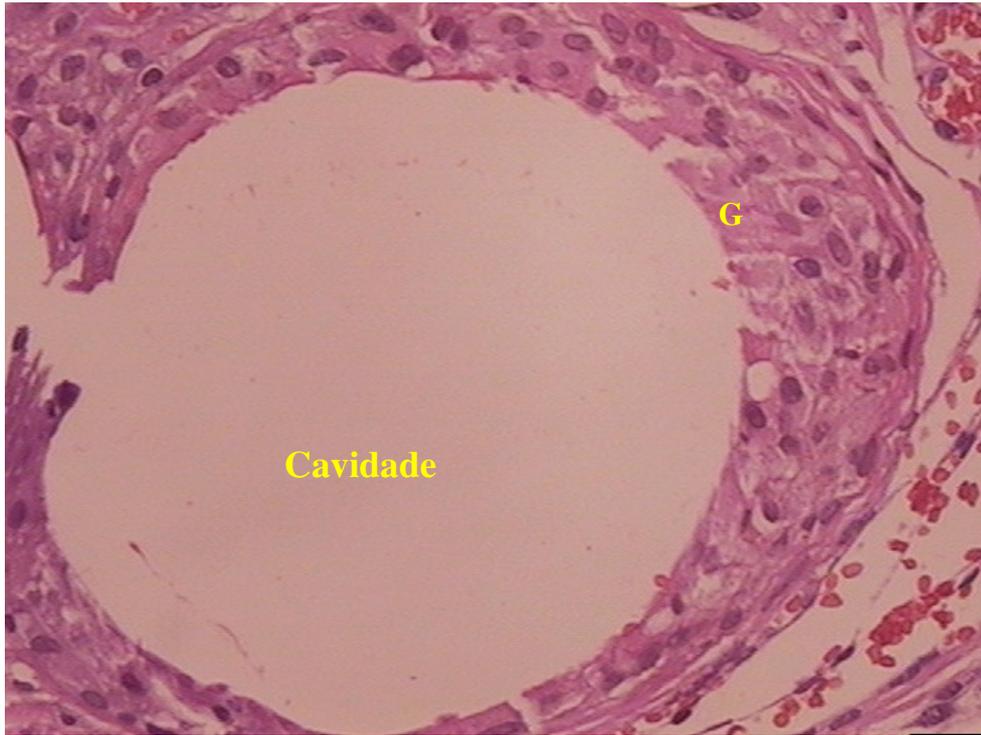


Figura 8 – Fotomicrografia de corte histológico da resposta inflamatória junto à tela de polipropileno no dia 30. Coloração HE (200x). Cavidade (tela) rodeada por gigantócitos (G)

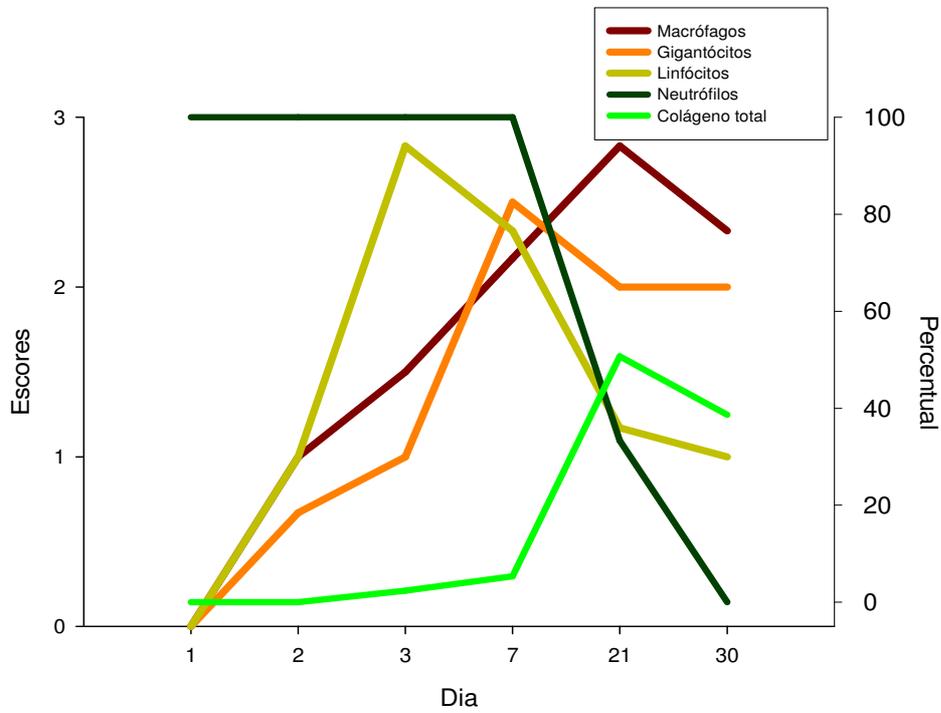


Figura 9 – Gráfico da evolução temporal das células inflamatórias e fibroplasia na tela de polipropileno. Os valores estão expressos em escores para macrófagos, gigantócitos e linfócitos, e em percentual para neutrófilos e colágeno total

A videomorfometria sob luz polarizada das lâminas coradas pelo método de Picrosirius revelou a proporção média de colágeno total, colágenos tipo I e tipo III dos dez campos examinados conforme Tabela 2.

Tabela 2 – Médias percentuais de colágeno total e das frações de colágeno tipo I e tipo III

		Colágeno total *	Colágeno tipo I *	Colágeno tipo III *	Relação colágeno tipo I / tipo III *
Grupo	N	Média ± dp	Média ± dp	Média ± dp	Média ± dp
Dia 1	6	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00 ^a	--
Dia 2	6	0,03 ± 0,05 ^a	0,00 ± 0,00	0,03 ± 0,05 ^a	0,00 ± 0,00
Dia 3	6	2,37 ± 0,36 ^b	0,00 ± 0,00	2,37 ± 0,36 ^b	0,00 ± 0,00
Dia 7	6	5,33 ± 0,30 ^c	0,00 ± 0,00 ^a	5,33 ± 0,30 ^c	0,00 ± 0,00 ^a
Dia 21	6	50,72 ± 3,73 ^d	23,85 ± 2,12 ^b	26,87 ± 3,11 ^d	0,90 ± 0,12 ^b
Dia 30	6	38,67 ± 5,31 ^e	21,02 ± 2,93 ^b	17,65 ± 2,64 ^e	1,20 ± 0,11 ^c

*ANOVA entre os diferentes dias mostrou diferença significativa para $p < 0,001$

As médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente ($\alpha = 0,05$) entre si pelo teste de Dunnett para comparações múltiplas

Observou-se o aparecimento do colágeno total junto à tela no 3º dia pós-implante, com aumento progressivo na sua proporção em todos os dias subseqüentes até o 21º dia, quando atingiu sua proporção máxima ($p < 0,001$). O colágeno tipo III é a fração do colágeno que aparece no dia 3 (Figura 10), identificando-se uma diferença significativa dessa proporção em relação àquelas observadas nos dias 1 e 2. A partir de então, o colágeno tipo III sofreu um aumento progressivo até o dia 21 (Figuras 11 e 12), quando atingiu sua proporção máxima ($p < 0,001$). No 30º dia (Figura 13), o colágeno tipo III apresentou uma redução significativa na sua proporção em relação ao dia 21 ($p < 0,001$). O colágeno tipo I surgiu entre o 7º e o 21º dia (Figuras 11 e 12), atingiu sua máxima proporção no 21º dia ($p < 0,001$) e manteve-se estável até o final do período de observação. A diferença de proporções mensuradas entre os dois tipos de colágenos foi significativa nos dias 3 e 7 ($p < 0,001$) e no dia 30 ($p < 0,05$). A relação colágeno tipo I/tipo III (Tabela 2) aumenta de forma significativa até o 30º dia de observação ($p < 0,001$). O comportamento do colágeno total e dos colágenos tipo I e tipo III no decorrer do estudo estão representados no gráfico da Figura 14.

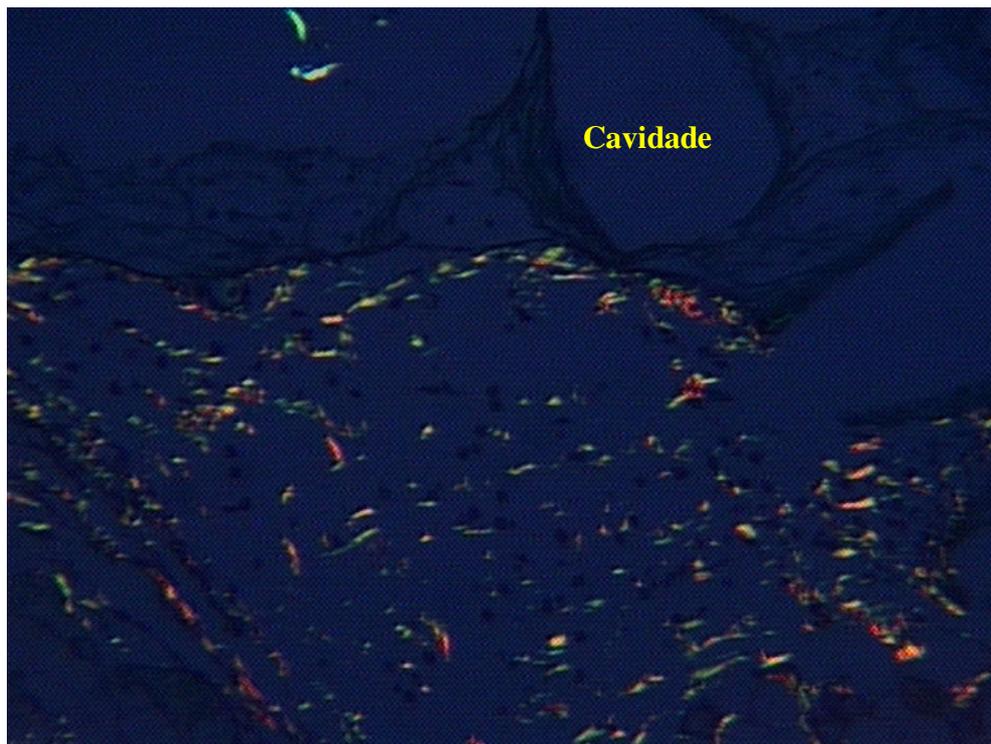


Figura 10 – Fotomicrografia de corte histológico com colágeno tipo I (área refringente vermelho-alaranjado) e tipo III (área refringente verde) junto à tela de polipropileno no dia 3. Coloração Picrosirius com luz polarizada (200x). Cavidade, tela de polipropileno

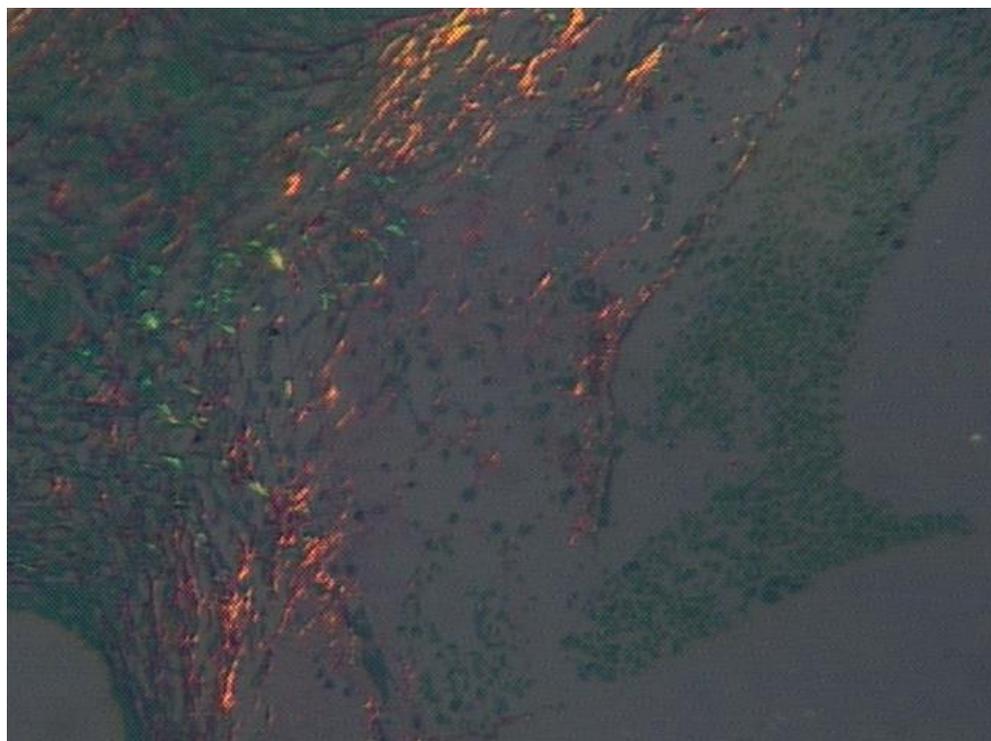


Figura 11 – Fotomicrografia de corte histológico com colágeno tipo I (área refringente vermelho-alaranjado) e tipo III (área refringente verde) junto à tela de polipropileno no dia 7. Coloração Picrosirius com luz polarizada (200x)

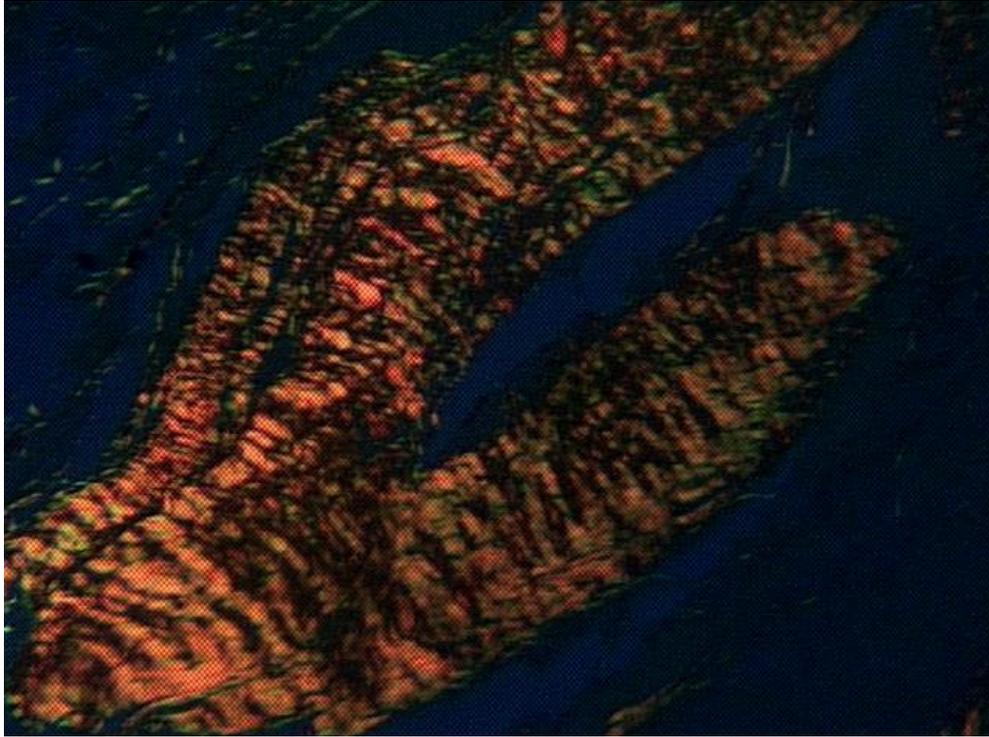


Figura 12 – Fotomicrografia de corte histológico com colágeno tipo I (área refringente vermelho-alaranjado) e tipo III (área refringente verde) junto à tela de polipropileno no dia 21. Coloração Picrosirius com luz polarizada (200x)

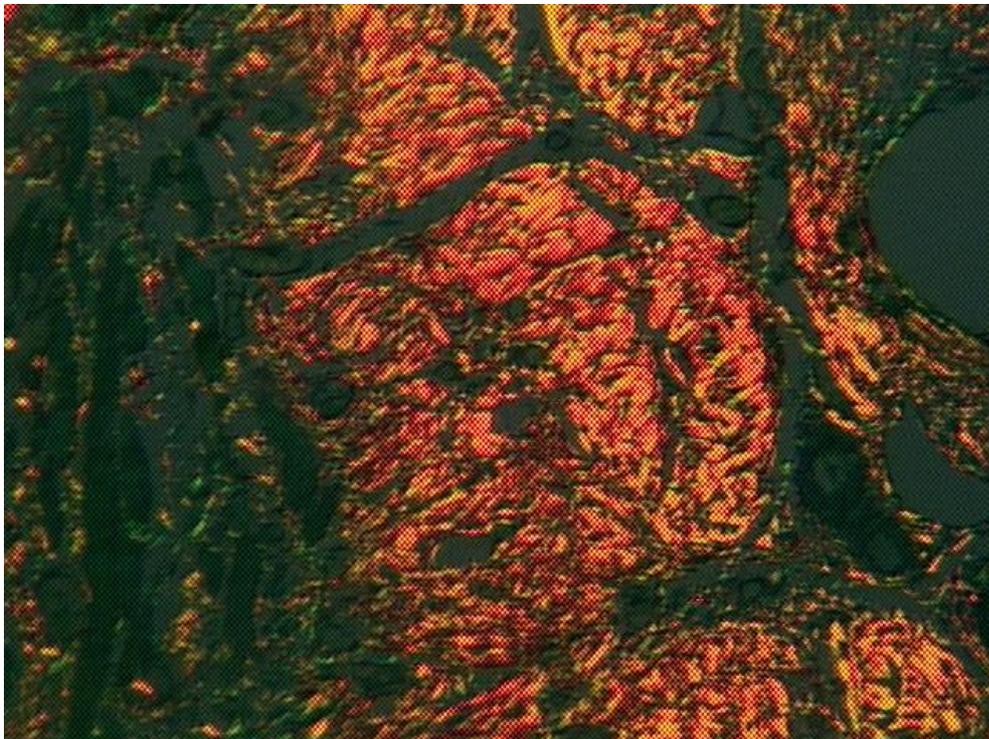


Figura 13 – Fotomicrografia de corte histológico com colágeno tipo I (área refringente vermelho-alaranjado) e tipo III (área refringente verde) junto à tela de polipropileno no dia 30. Coloração Picrosirius com luz polarizada (200x)

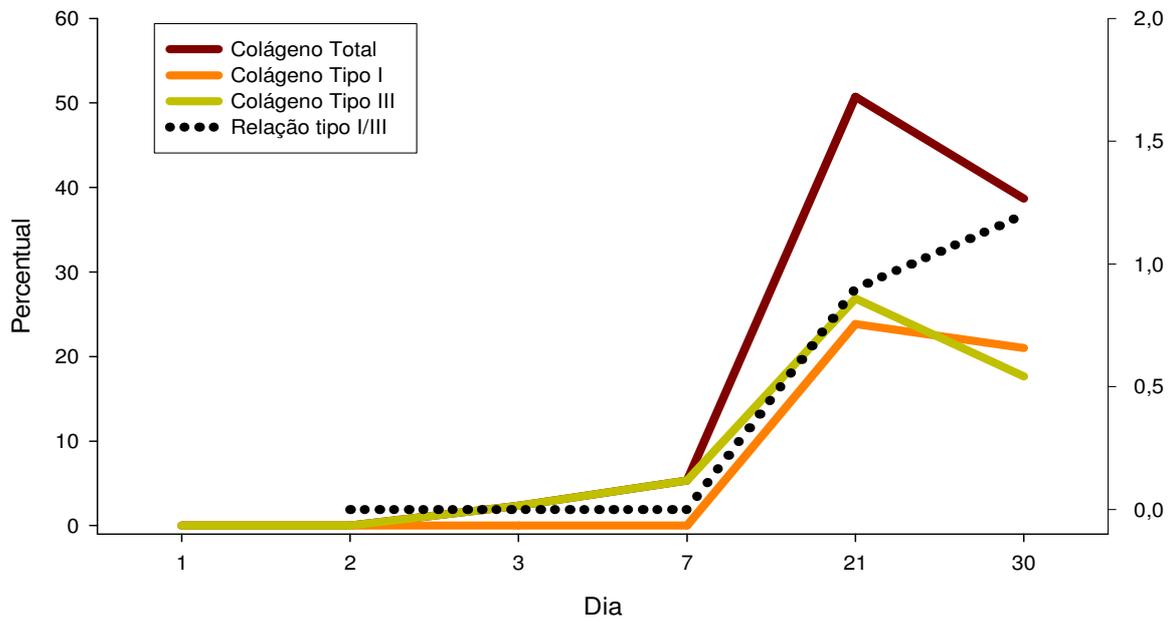


Figura 14 – Gráfico da evolução temporal das médias percentuais de colágeno total, das frações de colágeno tipo I e tipo III e da relação das médias percentuais dos colágenos tipo I/tipo III

6 DISCUSSÃO

O presente trabalho buscou avaliar, por meio do modelo experimental da hérnia incisional em ratos, a evolução do tempo da fibroplasia na tela de polipropileno, processo fisiológico já bem estabelecido para as feridas cutâneas, e que também se aplica a uma ampla variedade de tecidos^(27,54). Na literatura, existem inúmeros trabalhos avaliando a reação do organismo à presença da tela de polipropileno, a qual é utilizada amplamente na correção dos defeitos da parede abdominal das mais diversas etiologias. No entanto, a maioria desses trabalhos busca avaliar o índice de recidiva, de infecção, a resposta inflamatória e a presença de aderências associadas ao uso dos diferentes tipos de tela disponíveis atualmente^(11,13,14). A literatura refere que a tela de polipropileno, por agir como um corpo estranho na ferida operatória, causaria uma resposta inflamatória prolongada (reação inflamatória crônica), retardando a progressão para a fase proliferativa da cicatrização, a qual é responsável pela força tênsil da cicatriz^(13,27,68).

O modelo experimental de hérnia incisional abdominal em ratos foi escolhido devido à facilidade de manuseio e disponibilidade no Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório do Instituto de Ciências Básicas da Saúde – UFRGS, bem como por estes animais apresentarem alta resistência à infecção, baixa morbidade e mortalidade, além de ser um modelo experimental amplamente utilizado e bem documentado^(13,15,22,24,25,30,35,53,62,63,69-74). A anestesia utilizada mostrou-se segura e de fácil administração, produzindo sedação, analgesia e relaxamento adequado ao procedimento realizado. Não foi realizada epilação, nem utilizado antibiótico profilático.

Nosso estudo permitiu verificar que os neutrófilos estiveram presentes na ferida operatória até o 21º dia, período maior que o relatado na literatura^(15-20,27), indicando a persistência do processo inflamatório agudo. Os macrófagos surgiram junto à tela no 2º dia, de acordo com os relatos da literatura^(15,17-19,23,27), atingindo sua intensidade máxima a partir do 7º dia e assim permanecendo até o final do período de observação. Este comportamento dos macrófagos divergiu dos registros clássicos, que referem que essas células desaparecem em torno do 10º dia pós-agressão^(15,17-19,23,27). O linfócitos foram identificados junto à tela de polipropileno a partir do segundo dia, divergindo do previamente relatado em outros estudos, em

que este tipo celular surge na ferida no 5º dia após a lesão tecidual^(15,17,18). Observamos que os linfócitos atingiram sua máxima infiltração entre o 3º e o 7º dia pós-operatório, em acordo com estudos anteriormente publicados^(15,17,18), e a partir de então diminuíram progressivamente até o 21º dia, mantendo-se assim até o 30º dia. Os gigantócitos, as células que representam o processo inflamatório crônico tipo corpo estranho, foram identificados na ferida no 2º dia, estando presentes de forma mais intensa a partir do 7º dia, e assim permanecendo até o final do período de observação, achados estes que estão de acordo com o anteriormente descrito⁽²²⁾. A persistência dos neutrófilos e macrófagos por um período maior de tempo junto à tela indica o prolongamento da fase aguda da inflamação, enquanto que o aparecimento precoce dos linfócitos e gigantócitos junto à tela, e sua persistência até o final do período de observação, indicam a presença de um processo inflamatório crônico. Esses achados vão ao encontro das constatações já relatadas^(4,12,22,24,53,62,68). No processo de cicatrização descrito classicamente para as feridas cutâneas^(15-20,27), que constitui a base para a compreensão do processo de reparo dos demais tecidos, os neutrófilos são as primeiras células do sistema imunológico a chegar à área da ferida, aparecendo aproximadamente 24 horas após a lesão e permanecendo por três a cinco dias. Os macrófagos migram para a ferida 48 a 96 horas após a lesão, permanecendo do 3º ao 10º dia, tornando-se a principal célula no controle e na regulação da cicatrização das feridas, antes da migração e replicação dos fibroblastos^(15,17-19,23,27). Os linfócitos chegam à ferida no 5º dia após a lesão, depois das células inflamatórias, e atingem seu máximo no 7º dia, durante a fase proliferativa^(15,17,18). Em um estudo em ratos, avaliando a resposta celular à tela, Klinge et al.⁽⁵³⁾ observaram que os sinais de inflamação eram máximos entre sete e 14 dias. O mesmo autor⁽²²⁾, em outro estudo, relata a presença de gigantócitos junto às telas de polipropileno fixadas em ratos no 7º dia pós-operatório, que aumentaram no 14º dia e continuaram aumentando até o final do período de observação, aos 90 dias. Verifica, no 21º dia, o desaparecimento quase completo do processo inflamatório agudo e a presença de infiltrado celular característico da inflamação crônica.

Para avaliarmos a deposição de colágeno durante o processo de cicatrização, utilizamos cortes histológicos transversais da tela, corados com Picrosirius e observados com luz polarizada. Este método, apresentado por Constantine e Mowry⁽⁷⁵⁾, tem sido largamente empregado em pesquisas do colágeno, com

resultados confiáveis^(64,66,76,77). Foi utilizado o processo de captação de imagens para vídeo e mensuração videomorfométrica por computador, método este que apresenta uma boa correlação com a quantificação de hidroxiprolina por medida bioquímica^(66,78).

No presente estudo, constatamos a presença de colágeno junto à tela a partir do 3º dia pós-operatório, atingindo sua máxima média percentual no 21º dia (50,6%). O colágeno foi identificado junto à tela de polipropileno mais precocemente que em alguns relatos da literatura^(22,73), em percentagem média maior do que o observado por Souza Filho et al.⁽⁷⁹⁾, e reduzindo sua proporção média após o 21º dia, em desacordo com o descrito por outros autores na reparação muscular e cutânea^(66,73). A fibroplasia nas feridas cutâneas começa aproximadamente cinco dias após a lesão tecidual e pode continuar por até duas semanas^(17,19,21,23,27). A síntese de colágeno total aumenta por quatro a cinco semanas após um ferimento, e a remodelagem do colágeno pode ocorrer por um período de até dois anos⁽²³⁾. Noronha et al.⁽⁷³⁾, estudando a reparação cutânea em ratos após aplicação de *laser*, observaram fibroplasia no 7º dia após o procedimento, com um aumento rápido até o 28º dia, atingindo um platô e mantendo-se até o final do experimento (112 dias). Estudos relataram que a aponeurose de músculo reto abdominal é constituída de pelo menos 80% por colágeno⁽⁸⁰⁾. Wolwacz Júnior et al.⁽⁴¹⁾ observaram uma área média percentual de 75% de colágeno na fáscia transversal dos pacientes sem hérnias. Klinge et al.⁽²²⁾ descreveram o surgimento de fibras de colágeno em telas de polipropileno fixadas em ratos a partir do 7º dia pós-operatório. Em um estudo para verificar a fibroplasia em cicatrizes de laparotomias medianas em ratos, Souza Filho et al.⁽⁷⁹⁾ constataram que, nos ratos controles, a porcentagem média de colágeno total era 17,68% no 30º dia pós-operatório. Pickering et al.⁽⁶⁶⁾, estudando a fibrose no músculo grácil do rato, observaram que no 5º dia pós-operatório o conteúdo de colágeno, determinado por videomorfometria, foi 16%, atingindo no 21º dia um platô em aproximadamente 80%.

Nossos resultados evidenciaram que o colágeno tipo III estava presente junto à tela de polipropileno no início do processo de cicatrização (3º dia pós-implante), aumentando progressivamente do 7º ao 21º dia, quando atingiu sua proporção máxima e começou a diminuir. O colágeno tipo I foi observado junto à tela no 3º dia pós-implante, mas em proporções muito pequenas em relação ao colágeno tipo III. Ele apareceu em maior quantidade a partir do 7º dia e, no 21º dia, atingiu sua média

percentual máxima. O colágeno tipo I manteve um platô entre o 21º e o 30º dia. A relação colágeno tipo I/tipo III apresentou um aumento progressivo, com predomínio do colágeno tipo I ao final do período de observação, indicando aumento da resistência junto à tela. Esses achados estão de acordo com o descrito classicamente na literatura para a cicatrização de feridas^(17,19,50) e não reproduzem o encontrado por outros autores em relação a uma proporção aumentada de colágeno tipo III^(70,79). O colágeno tipo I é a principal fibra constituinte das aponeuroses e fâscias, seguido de uma menor quantidade de colágeno tipo III⁽⁸¹⁾. A cicatrização envolve a expressão coordenada dos colágenos tipo I e tipo III⁽³⁴⁾. O colágeno tipo III é o colágeno que é secretado pelos fibroblastos precocemente no processo de reparação tecidual, e é geralmente degradado pelos macrófagos e fibroblastos, durante a fase de maturação e remodelagem^(34,42,55,57). Bellón et al.⁽⁵⁰⁾, em coelhos, verificaram que as fibras de colágeno tipo III predominavam duas semanas após o implante de tela de polipropileno. Biondo-Simões et al.⁽⁶⁹⁾, avaliando o colágeno em ratos jovens e velhos, 30 dias após o implante de tela de polipropileno, encontraram diferença em relação à deposição de colágeno tipo III, que era maior no grupo de ratos idosos. Bogusiewicz et al.⁽⁷⁰⁾, estudando a deposição de colágeno em telas implantadas em ratos, observaram que, 42 dias após a cirurgia, 70% do colágeno depositado era do tipo III. Souza Filho et al.⁽⁷⁹⁾, ao verificar a fibroplasia em cicatrizes de laparotomias medianas em ratos, observaram, no 30º dia após a cirurgia, que nos ratos controles a proporção média de colágeno III era maior do que a de colágeno tipo I.

Pelos nossos dados, não existem evidências de que uma resposta inflamatória prolongada junto à tela de polipropileno resulte em atraso na progressão do processo de fibroplasia ou em prejuízo à síntese do colágeno I, conforme referido por alguns autores^(22,24,27,53,70,79).

A tendência herniogênica das aponeuroses com alterações da quantidade de colágeno sugere a utilização da tela de polipropileno na correção dos defeitos músculos-aponeuróticos. Com os nossos achados, abre-se uma gama de questionamentos com relação à proporção de colágeno encontrado junto à tela de polipropileno, à aponeurose íntegra e junto à área de cicatrização das aponeuroses.

7 CONCLUSÕES

- a) O colágeno total foi observado no 3º dia, aumentando progressivamente até o 21º dia e diminuindo a seguir.
- b) O colágeno tipo III foi identificado no 3º dia, aumentando progressivamente até o 21º dia, quando apresentou redução progressiva.
- c) O colágeno tipo I foi mensurável entre o 7º e 21º dia de observação, observando-se a sua máxima proporção no 21º dia, a qual se manteve estável até o final do período de observação.
- d) A relação entre o colágeno tipo I e tipo III aumentou progressivamente até o 30º dia, indicando maior proporção de colágeno tipo I ao final do período.
- e) Houve prolongamento da duração da resposta inflamatória aguda do processo de cicatrização e persistência do processo inflamatório crônico junto à tela de polipropileno, que não interferiram na fibroplasia.

REFERÊNCIAS

- (1) Usher FC, Wallace SA. Tissue reaction to plastics; a comparison of nylon, orlon, dacron, teflon, and marlex. *AMA Arch Surg.* 1958 Jun;76(6):997-9.
- (2) Usher FC, Cogan JE, Lowry TI. A new technique for the repair of inguinal and incisional hernias. *Arch Surg.* 1960 Nov;81:847-54.
- (3) Conze J, Junge K, Klinge U, Weiss C, Polivoda M, Oettinger AP, et al. Intraabdominal adhesion formation of polypropylene mesh. Influence of coverage of omentum and polyglactin. *Surg Endosc* 2005 Jun;19(6):798-803.
- (4) Klosterhalfen B, Junge K, Hermanns B, Klinge U. Influence of implantation interval on the long-term biocompatibility of surgical mesh. *Br J Surg.* 2002 Aug;89(8):1043-8.
- (5) Leber GE, Garb JL, Alexander AI, Reed WP. Long-term complications associated with prosthetic repair of incisional hernias. *Arch Surg.* 1998 Apr;133(4):378-82.
- (6) Schumpelick V, Klinge U. Prosthetic implants for hernia repair. *Br J Surg.* 2003 Dec;90(12):1457-8.
- (7) Cumberland VH. A preliminary report on the use of prefabricated nylon weave in the repair of ventral hernia. *Med J Aust.* 1952 Feb 2;1(5):143-4.
- (8) Scales JT. Discussion on metals and synthetic materials in relation to soft tissues and tissue reaction to synthetic materials. *Proc R Soc Med.* 1953;46:647-52.
- (9) Amid P. Classification of biomaterials and their related complications in abdominal wall hernia surgery. *Hernia.* 1997;[1]:15-21.
- (10) Bellon JM, Rodriguez M, Serrano N, Garcia-Honduvilla N, Gomez V, Bujan J. [Polypropylene and polydioxanone show similar biomechanical efficacy in midline closure]. *Cir Esp.* 2005 Dec;78(6):377-81.
- (11) Korenkov M, Sauerland S, Arndt M, Bograd L, Neugebauer EA, Troidl H. Randomized clinical trial of suture repair, polypropylene mesh or autodermal hernioplasty for incisional hernia. *Br J Surg.* 2002 Jan;89(1):50-6.
- (12) Goldenberg A, Matone J, Marcondes W, Herbella FA, Farah JF. Comparative study of inflammatory response and adhesions formation after fixation of different meshes for inguinal hernia repair in rabbits. *Acta Cir Bras.* 2005 Sep-Oct;20(5):347-52.
- (13) d'Acampora AJ, Joli FS, Tramonte R. [Expanded polytetrafluoroethylene and polypropylene in the repairing of abdominal wall defects in Wistar rats. Comparative study]. *Acta Cir Bras.* 2006 Nov;21(6):409-15.

- (14) Demir U, Mihmanli M, Coskun H, Dilege E, Kalyoncu A, Altinli E, et al. Comparison of prosthetic materials in incisional hernia repair. *Surg Today*. 2005;35(3):223-7.
- (15) d'Acampora AJ, Vieira DS, Silva MT, Farias DC, Tramonte R. Morphological analysis of three wound-cleaning processes on potentially contaminated wounds in rats. *Acta Cir Bras*. 2006 Sep-Oct;21(5):332-40.
- (16) Efron DT, Most D, Shi HP, Tantry US, Barbul A. A novel method of studying wound healing. *J Surg Res*. 2001 Jun 1;98(1):16-20.
- (17) Mandelbaum SH, Di Santis EP, Mandelbaum MHS. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares: parte I. *An Bras Dermatol*. 2003;78(4):393-408.
- (18) Park JE, Barbul A. Understanding the role of immune regulation in wound healing. *Am J Surg*. 2004 May;187(5A):11S-6S.
- (19) Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. *Surg Clin North Am*. 1997 Jun;77(3):509-28.
- (20) Witte MB, Barbul A. Role of nitric oxide in wound repair. *Am J Surg*. 2002 Apr;183(4):406-12.
- (21) Hunt TK, Hopf HW. Wound healing and wound infection. What surgeons and anesthesiologists can do. *Surg Clin North Am*. 1997 Jun;77(3):587-606.
- (22) Klinge U, Klosterhalfen B, Muller M, Anurov M, Ottinger A, Schumpelick V. Influence of polyglactin-coating on functional and morphological parameters of polypropylene-mesh modifications for abdominal wall repair. *Biomaterials*. 1999 Apr;20(7):613-23.
- (23) Steed DL. The role of growth factors in wound healing. *Surg Clin North Am*. 1997 Jun;77(3):575-86.
- (24) Klosterhalfen B, Klinge U, Schumpelick V. Functional and morphological evaluation of different polypropylene-mesh modifications for abdominal wall repair. *Biomaterials*. 1998 Dec;19(24):2235-46.
- (25) Leroy JL, Mutter D, Forgione A, Inoue H, Vix M, Bailey C, et al. The new 4DDome prosthesis: an original light and partially absorbable composite mesh for hernia repair. *Hernia*. 2006 Oct;10(5):401-8.
- (26) Schumpelick V. Special issue-collagen. *Hernia*. 2006 Dec;10(6):453.
- (27) Franz MG. The biology of hernias and the abdominal wall. *Hernia*. 2006 Dec;10(6):462-71.
- (28) Klinge U, Binnebosel M, Mertens PR. Are collagens the culprits in the development of incisional and inguinal hernia disease? *Hernia*. 2006 Dec;10(6):472-7.

- (29) Cassar K, Munro A. Surgical treatment of incisional hernia. *Br J Surg.* 2002 May;89(5):534-45.
- (30) Dubay DA, Choi W, Urbanchek MG, Wang X, Adamson B, Dennis RG, et al. Incisional herniation induces decreased abdominal wall compliance via oblique muscle atrophy and fibrosis. *Ann Surg.* 2007 Jan;245(1):140-6.
- (31) Luijendijk RW, Hop WCJ, van den Tol MP, Lange DCD, Braaksma MMJ, IJzermans JNM, et al. A comparison of suture repair with mesh repair for incisional hernia. *N Engl J Med.* 2000 Aug 10;343(6):392-8.
- (32) Fachinelli A, iel Trindade MR. Qualitative and quantitative evaluation of total and types I and III collagens in patients with ventral hernias. *Langenbecks Arch Surg.* 2007 Jul;392(4):459-64.
- (33) Friedman DW, Boyd CD, Norton P, Greco RS, Boyarsky AH, Mackenzie JW, et al. Increases in type III collagen gene expression and protein synthesis in patients with inguinal hernias. *Ann Surg.* 1993 Dec;218(6):754-60.
- (34) Jansen PL, Klinge U, Mertens PR. Hernia disease and collagen gene regulation: are there clues for intervention? *Hernia.* 2006 Dec;10(6):486-91.
- (35) Junge K, Rosch R, Anurov M, Titkova S, Ottinger A, Klinge U, et al. Modification of collagen formation using supplemented mesh materials. *Hernia.* 2006 Dec;10(6):492-7.
- (36) Junge K, Klinge U, Rosch R, Lynen P, Binnebosel M, Conze J, et al. Improved collagen type I/III ratio at the interface of gentamicin-supplemented polyvinylidenfluoride mesh materials. *Langenbecks Arch Surg.* 2007 Jul;392(4):465-71.
- (37) Klinge U, Zheng H, Si ZY, Schumpelick V, Bhardwaj RS, Muys L, et al. Expression of the extracellular matrix proteins collagen I, collagen III and fibronectin and matrix metalloproteinase-1 and -13 in the skin of patients with inguinal hernia. *Eur Surg Res.* 1999;31(6):480-90.
- (38) 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(1):43-8.
- (39) Pans A, Albert A, Lapiere CM, Nusgens B. Biochemical study of collagen in adult groin hernias. *J Surg Res.* 2001 Feb;95(2):107-13.
- (40) Rodrigues Junior AJ, Rodrigues CJ, da Cunha AC, Jin Y. Quantitative analysis of collagen and elastic fibers in the transversalis fascia in direct and indirect inguinal hernia. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo.* 2002 Nov-Dec;57(6):265-70.
- (41) Wolwacz Jr I, Trindade MRM, Cerski CT. The collagen in transversalis fascia of direct inguinal hernia patients treated by videolaparoscopy. *Acta Cir Bras.* 2003;18(3):196-202.

- (42) Zheng H, Si Z, Kasperk R, Bhardwaj RS, Schumpelick V, Klinge U, et al. Recurrent inguinal hernia: disease of the collagen matrix? *World J Surg.* 2002 Apr;26(4):401-8.
- (43) Junge K, Klinge U, Rosch R, Mertens PR, Kirch J, Klosterhalfen B, et al. Decreased collagen type I/III ratio in patients with recurring hernia after implantation of alloplastic prostheses. *Langenbecks Arch Surg.* 2004 Feb;389(1):17-22.
- (44) Bendavid R. The unified theory of hernia formation. *Hernia.* 2004 Aug;8(3):171-6.
- (45) Graham J, Usher FC, Perry JL, Barkley HT. Marlex mesh as a prosthesis in the repair of thoracic wall defects. *Ann Surg.* 1960 Apr;151:469-79.
- (46) Chew DK, Choi LH, Rogers AM. Enterocutaneous fistula 14 years after prosthetic mesh repair of a ventral incisional hernia: a life-long risk? *Surgery.* 2000 Mar;127(3):352-3.
- (47) DeGuzman LJ, Nyhus LM, Yared G, Schlesinger PK. Colocutaneous fistula formation following polypropylene mesh placement for repair of a ventral hernia: diagnosis by colonoscopy. *Endoscopy.* 1995 Aug;27(6):459-61.
- (48) Kaufman Z, Engelberg M, Zager M. Fecal fistula: a late complication of Marlex mesh repair. *Dis Colon Rectum.* 1981 Oct;24(7):543-4.
- (49) Taylor SG, O'dwyer PJ. Chronic groin sepsis following tension-free inguinal hernioplasty. *Br J Surg.* 1999 Apr;86(4):562-5.
- (50) Bellon JM, Rodriguez M, Garcia-Honduvilla N, Pascual G, Bujan J. Partially absorbable meshes for hernia repair offer advantages over nonabsorbable meshes. *Am J Surg.* 2007 Jul;194(1):68-74.
- (51) Birolini C, Utiyama EM, Rodrigues AJ Jr., Birolini D. Elective colonic operation and prosthetic repair of incisional hernia: does contamination contraindicate abdominal wall prosthesis use? *J Am Coll Surg.* 2000 Oct;191(4):366-72.
- (52) Goldstein HS. A university experience using mesh in inguinal hernia repair. *Hernia.* 2001 Dec;5(4):182-5.
- (53) 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 Apr;103(2):208-14.
- (54) Mast BA. Healing in other tissues. *Surg Clin North Am.* 1997 Jun;77(3):529-47.
- (55) Diegelmann RF. Collagen metabolism. *Wounds.* 2001;13[5],177-82.
- (56) Kumar V, Fausto N, Abbas A, editors. *Robbins & Cotran pathologic basis of disease.* 7th ed. Philadelphia: Saunders; 2004.

- (57) Papadimitriou J, Petros P. Histological studies of monofilament and multifilament polypropylene mesh implants demonstrate equivalent penetration of macrophages between fibrils. *Hernia*. 2005 Mar;9(1):75-8.
- (58) Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Manual para técnicos em bioterismo. 2ª ed. São Paulo: Cobeia, 1996.
- (59) Canadian Council on Animal Care. Disponível em: http://www.ccacca/en/CCAC_Programs/Guidelines_Policies/GUIDES/ENGLISH/toc_v1.htm. 2007 April 30.
- (60) Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Princípios éticos na experimentação animal. Disponível em: <http://www.cobeia.org.br/index.php?pg=legislacao#> 2007.
- (61) Paiva FP, Maffili VV, Santos ACS. Curso de manipulação de animais de laboratório. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 2005.
- (62) Gianlupi A, Trindade MRM. Comparação entre o uso de fio inabsorvível (polipropileno) e fio absorvível (poliglactina 910) na fixação de prótese de polipropileno em correção de defeitos músculo-aponeurótico da parede abdominal. Estudo experimental em ratos. *Acta Cir Bras*. 2004;19[2],94-102.
- (63) Yelimlies B, Alponat A, Cubukcu A, Kuru M, Oz S, Ercin C, et al. Carboxymethylcellulose coated on visceral face of polypropylene mesh prevents adhesion without impairing wound healing in incisional hernia model in rats. *Hernia*. 2003 Sep;7(3):130-3.
- (64) Montes GS, Junqueira LC. The use of the Picrosirius-polarization method for the study of the biopathology of collagen. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1991;86 Suppl 3:1-11.
- (65) Montes GS. Structural biology of the fibres of the collagenous and elastic systems. *Cell Biol Int*. 1996 Jan;20(1):15-27.
- (66) Pickering JG, Boughner DR. Quantitative assessment of the age of fibrotic lesions using polarized light microscopy and digital image analysis. *Am J Pathol*. 1991 May;138(5):1225-31.
- (67) Montes GS, Krisztan RM, Shigihara KM, Tokoro R, Mourao PA, Junqueira LC. Histochemical and morphological characterization of reticular fibers. *Histochemistry*. 1980 Feb;65(2):131-41.
- (68) Bellon JM, Bujan J, Contreras L, Hernando A. Integration of biomaterials implanted into abdominal wall: process of scar formation and macrophage response. *Biomaterials*. 1995 Mar;16(5):381-7.
- (69) Biondo-Simões Mde L, Westphal VL, Paula JB, Borsato KS, Noronha L. Collagen synthesis after the implantation of polypropylene nets in abdominal wall of young and old rats. *Acta Cir Bras*. 2005 Jul-Aug;20(4):300-4.

- (70) Bogusiewicz M, Wrobel A, Jankiewicz K, Adamiak A, Skorupski P, Tomaszewski J, et al. Collagen deposition around polypropylene tapes implanted in the rectus fascia of female rats. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2006 Jan;124(1):106-9.
- (71) Hooker GD, Taylor BM, Driman DK. Prevention of adhesion formation with use of sodium hyaluronate-based bioresorbable membrane in a rat model of ventral hernia repair with polypropylene mesh--a randomized, controlled study. *Surgery.* 1999 Feb;125(2):211-6.
- (72) Krause HG, Galloway SJ, Khoo SK, Lourie R, Goh JT. Biocompatible properties of surgical mesh using an animal model. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2006 Feb;46(1):42-5.
- (73) Noronha L, Chin EWK, Kimura LY, Graft L. Estudo morfométrico e morfológico da cicatrização após uso de laser erbium:YAG em tecidos cutâneos de ratos. *Bras Patol Méd Lab.* 2004;40(1):41-8.
- (74) Soiderer EE, Lantz GC, Kazacos EA, Hodde JP, Wiegand RE. Morphologic study of three collagen materials for body wall repair. *J Surg Res.* 2004 May 15;118(2):161-75.
- (75) Constantine VS, Mowry RW. Selective staining of human dermal collagen. II. The use of picosirius red F3BA with polarization microscopy. *J Invest Dermatol.* 1968 May;50(5):419-23.
- (76) Junqueira LC, Bignolas G, Brentani RR. Picosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochem J.* 1979 Jul;11(4):447-55.
- (77) Wolman M. Polarized light microscopy as a tool of diagnostic pathology. *J Histochem Cytochem.* 1975 Jan;23(1):21-50.
- (78) Inoué S. Video image processing greatly enhances contrast, quality, and speed in polarization-based microscopy. *J. Cell Biol.* 1981 May;89,346-56.
- (79) Souza Filho ZA, Greca FH, Noronha L, Maranhão ASA, Calil AP, Hubie DP, et al. Abdominal wall healing in reoperated rats. *Acta Cir Bras.* 2007;22(2):147-51.
- (80) Wagh PV, Read RC. Defective collagen synthesis in inguinal herniation. *Am J Surg.* 1972 Dec;124(6):819-22.
- (81) Mayne R. Preparation and applications of monoclonal antibodies to different collagen types. *Clin Biochem.* 1988 Apr;21(2):111-5.

APÊNDICE A - CÁLCULOS ESTATÍSTICOS

```

GET DATA /TYPE=XLS
/FILE='C:\A\Consul07\Marcia Vaz\dados Márcia Vaz.xls'
/SHEET=name 'VMM'
/CELLRANGE=full
/READNAMES=on .
USE ALL.
COMPUTE filter_$=( ~ (CASO = '30G' OR CASO = '21G')).
VARIABLE LABEL filter_$ " ~ (CASO = '30G' OR CASO = '21G') (FILTER)".
VALUE LABELS filter_$ 0 'Not Selected' 1 'Selected'.
FORMAT filter_$ (f1.0).
FILTER BY filter_$.
EXECUTE .

```

```

VAR LABELS média 'Col TOTAL' .
ONEWAY
MÉDIA BY dia
/STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY
/MISSING ANALYSIS
/POSTHOC = T3 ALPHA(.05).

```

Oneway

Descriptives

MÉDIA Col TOTAL

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	6	,00	,000	,000	,00	,00	0	0
2	6	,03	,052	,021	-,02	,09	0	0
3	6	2,37	,361	,148	1,99	2,75	2	3
7	6	5,33	,301	,123	5,02	5,65	5	6
21	6	50,72	3,734	1,524	46,80	54,64	45	55
30	6	38,67	5,307	2,167	33,10	44,24	31	46
Total	36	16,19	20,968	3,495	9,09	23,28	0	55

Test of Homogeneity of Variances

MÉDIA Col TOTAL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
9,704	5	30	,000

ANOVA

MÉDIA Col TOTAL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15176,381	5	3035,276	430,207	,000
Within Groups	211,662	30	7,055		
Total	15388,043	35			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MÉDIA Col TOTAL

Dunnnett T3

(I) dia	(J) dia	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-,033	,021	,788	-,13	,06
	3	-2,367*	,148	,000	-3,05	-1,69
	7	-5,333*	,123	,000	-5,90	-4,77
	21	-50,717*	1,524	,000	-57,74	-43,69
	30	-38,667*	2,167	,000	-48,66	-28,68
2	1	,033	,021	,788	-,06	,13
	3	-2,333*	,149	,000	-3,01	-1,66
	7	-5,300*	,125	,000	-5,86	-4,74
	21	-50,683*	1,524	,000	-57,71	-43,66
	30	-38,633*	2,167	,000	-48,62	-28,64
3	1	2,367*	,148	,000	1,69	3,05
	2	2,333*	,149	,000	1,66	3,01
	7	-2,967*	,192	,000	-3,68	-2,26
	21	-48,350*	1,531	,000	-55,35	-41,35
	30	-36,300*	2,172	,000	-46,27	-26,33
7	1	5,333*	,123	,000	4,77	5,90
	2	5,300*	,125	,000	4,74	5,86
	3	2,967*	,192	,000	2,26	3,68
	21	-45,383*	1,529	,000	-52,39	-38,37
	30	-33,333*	2,170	,000	-43,31	-23,36
21	1	50,717*	1,524	,000	43,69	57,74
	2	50,683*	1,524	,000	43,66	57,71
	3	48,350*	1,531	,000	41,35	55,35
	7	45,383*	1,529	,000	38,37	52,39
	30	12,050*	2,649	,017	2,05	22,05
30	1	38,667*	2,167	,000	28,68	48,66
	2	38,633*	2,167	,000	28,64	48,62
	3	36,300*	2,172	,000	26,33	46,27
	7	33,333*	2,170	,000	23,36	43,31
	21	-12,050*	2,649	,017	-22,05	-2,05

*. The mean difference is significant at the .05 level.

```

GET DATA /TYPE=XLS
  /FILE='C:\A\Consul07\Marcia Vaz\dados Márcia Vaz.xls'
  /SHEET=name 'HE'
  /CELLRANGE=full
  /READNAMES=on .
USE ALL.
COMPUTE filter_$=( ~ (CASO = '30G' OR CASO = '21G')).
VARIABLE LABEL filter_$ " ~ (CASO = '30G' OR CASO = '21G') (FILTER)".
VALUE LABELS filter_$ 0 'Not Selected' 1 'Selected'.
FORMAT filter_$ (f1.0).
FILTER BY filter_$.
EXECUTE .

```

```

CROSSTABS
  /TABLES=dia BY NEUTRÓFILOS
  /FORMAT= AVALUE TABLES
  /STATISTIC=CHISQ
  /CELLS= COUNT ROW
  /COUNT ROUND CELL
  /METHOD=MC CIN(99) SAMPLES(10000).

```

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
dia * NEUTRÓFILOS	36	100,0%	0	,0%	36	100,0%

dia * NEUTRÓFILOS Crosstabulation

			NEUTRÓFILOS		Total
			0	1	
dia	1	Count	0	6	6
		% within dia	,0%	100,0%	100,0%
2	2	Count	0	6	6
		% within dia	,0%	100,0%	100,0%
3	3	Count	0	6	6
		% within dia	,0%	100,0%	100,0%
7	7	Count	0	6	6
		% within dia	,0%	100,0%	100,0%
21	21	Count	4	2	6
		% within dia	66,7%	33,3%	100,0%
30	30	Count	6	0	6
		% within dia	100,0%	,0%	100,0%
Total	Total	Count	10	26	36
		% within dia	27,8%	72,2%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Monte Carlo Sig. (2-sided)		
				Sig.	99% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Pearson Chi-Square	29,354 ^a	5	,000	,000 ^b	,000	,000
Likelihood Ratio	34,902	5	,000	,000 ^b	,000	,000
Fisher's Exact Test	24,966			,000 ^b	,000	,000
Linear-by-Linear Association	27,717 ^c	1	,000	,000 ^b	,000	,000
N of Valid Cases	36					

Chi-Square Tests

	Monte Carlo Sig. (1-sided)		
	Sig.	99% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
Pearson Chi-Square			
Likelihood Ratio			
Fisher's Exact Test			
Linear-by-Linear Association	,000 ^b	,000	,000
N of Valid Cases			

a. 12 cells (100,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,67.

b. Based on 10000 sampled tables with starting seed 1487459085.

c. The standardized statistic is -5,265.

```
GET
FILE='C:\A\Consul07\Marcia Vaz\bd01.sav'.
USE ALL.
COMPUTE filter_$=( ~ (CASO = '30G' OR CASO = '21G')).
VARIABLE LABEL filter_$ " ~ (CASO = '30G' OR CASO = '21G') (FILTER)".
VALUE LABELS filter_$ 0 'Not Selected' 1 'Selected'.
FORMAT filter_$ (f1.0).
FILTER BY filter_$.
```

EXECUTE .

```

ONEWAY
MACRÓFAGOS GIGANTÓCITOS LINFÓCITOS BY dia
/STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY
/MISSING ANALYSIS
/POSTHOC = T3 ALPHA(.05).

```

Oneway

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
MACRÓFAGOS 1	6	,00	,000	,000	,00	,00
2	6	1,00	,000	,000	1,00	1,00
3	6	1,50	,548	,224	,93	2,07
7	6	2,17	,408	,167	1,74	2,60
21	6	2,83	,408	,167	2,40	3,26
30	6	2,33	,516	,211	1,79	2,88
Total	36	1,64	1,018	,170	1,29	1,98
GIGANTÓCITOS 1	6	,00	,000	,000	,00	,00
2	6	,67	,516	,211	,12	1,21
3	6	1,00	,000	,000	1,00	1,00
7	6	2,50	,548	,224	1,93	3,07
21	6	2,00	,000	,000	2,00	2,00
30	6	2,00	,000	,000	2,00	2,00
Total	36	1,36	,931	,155	1,05	1,68
LINFÓCITOS 1	6	,00	,000	,000	,00	,00
2	6	1,00	,000	,000	1,00	1,00
3	6	2,83	,408	,167	2,40	3,26
7	6	2,33	,516	,211	1,79	2,88
21	6	1,17	,408	,167	,74	1,60
30	6	1,00	,000	,000	1,00	1,00
Total	36	1,39	,994	,166	1,05	1,73

Descriptives

		Minimum	Maximum
MACRÓFAGOS	1	0	0
	2	1	1
	3	1	2
	7	2	3
	21	2	3
	30	2	3
	Total	0	3
GIGANTÓCITOS	1	0	0
	2	0	1
	3	1	1
	7	2	3
	21	2	2
	30	2	2
	Total	0	3
LINFÓCITOS	1	0	0
	2	1	1
	3	2	3
	7	2	3
	21	1	2
	30	1	1
	Total	0	3

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
MACRÓFAGOS	9,188	5	30	,000
GIGANTÓCITOS	72,625	5	30	,000
LINFÓCITOS	7,500	5	30	,000

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
MACRÓFAGOS	Between Groups	31,806	5	6,361	42,407	,000
	Within Groups	4,500	30	,150		
	Total	36,306	35			
GIGANTÓCITOS	Between Groups	27,472	5	5,494	58,176	,000
	Within Groups	2,833	30	,094		
	Total	30,306	35			
LINFÓCITOS	Between Groups	31,556	5	6,311	63,111	,000
	Within Groups	3,000	30	,100		
	Total	34,556	35			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dunnett T3

Dependent Variable	(I) dia	(J) dia	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
MACROFAGOS	1	2	-1,000	,000	.	-1,00	-1,00
		3	-1,500*	,224	,010	-2,53	-,47
		7	-2,167*	,167	,000	-2,94	-1,40
		21	-2,833*	,167	,000	-3,60	-2,06
		30	-2,333*	,211	,001	-3,31	-1,36
	2	1	1,000	,000	.	1,00	1,00
		3	-,500	,224	,470	-1,53	,53
		7	-1,167*	,167	,008	-1,94	-,40
		21	-1,833*	,167	,001	-2,60	-1,06
		30	-1,333*	,211	,013	-2,31	-,36
	3	1	1,500*	,224	,010	,47	2,53
		2	,500	,224	,470	-,53	1,53
		7	-,667	,279	,348	-1,71	,38
		21	-1,333*	,279	,011	-2,38	-,29
		30	-,833	,307	,218	-1,96	,30
	7	1	2,167*	,167	,000	1,40	2,94
		2	1,167*	,167	,008	,40	1,94
		3	,667	,279	,348	-,38	1,71
		21	-,667	,236	,184	-1,53	,20
		30	-,167	,269	1,000	-1,17	,83
	21	1	2,833*	,167	,000	2,06	3,60
		2	1,833*	,167	,001	1,06	2,60
		3	1,333*	,279	,011	,29	2,38
		7	,667	,236	,184	-,20	1,53
		30	,500	,269	,637	-,50	1,50
30	1	2,333*	,211	,001	1,36	3,31	
	2	1,333*	,211	,013	,36	2,31	
	3	,833	,307	,218	-,30	1,96	
	7	,167	,269	1,000	-,83	1,17	
	21	-,500	,269	,637	-1,50	,50	
GIGANTÓCITOS	1	2	-,667	,211	,191	-1,64	,31
		3	-1,000	,000	.	-1,00	-1,00
		7	-2,500*	,224	,001	-3,53	-1,47
		21	-2,000	,000	.	-2,00	-2,00
		30	-2,000	,000	.	-2,00	-2,00
	2	1	,667	,211	,191	-,31	1,64
		3	-,333	,211	,788	-1,31	,64
		7	-1,833*	,307	,002	-2,96	-,70
		21	-1,333*	,211	,013	-2,31	-,36
		30	-1,333*	,211	,013	-2,31	-,36
	3	1	1,000	,000	.	1,00	1,00
		2	,333	,211	,788	-,64	1,31
		7	-1,500*	,224	,010	-2,53	-,47
		21	-1,000	,000	.	-1,00	-1,00
		30	-1,000	,000	.	-1,00	-1,00
	7	1	2,500*	,224	,001	1,47	3,53
		2	1,833*	,307	,002	,70	2,96
		3	1,500*	,224	,010	,47	2,53
		21	,500	,224	,470	-,53	1,53
		30	,500	,224	,470	-,53	1,53

Multiple Comparisons

Dunnett T3

Dependent Variable	(I) dia	(J) dia	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
GIGANTOCITOS	21	1	2,000	,000	.	2,00	2,00
		2	1,333*	,211	,013	,36	2,31
		3	1,000	,000	.	1,00	1,00
		7	-,500	,224	,470	-1,53	,53
		30	,000	,000	.	,00	,00
	30	1	2,000	,000	.	2,00	2,00
		2	1,333*	,211	,013	,36	2,31
		3	1,000	,000	.	1,00	1,00
		7	-,500	,224	,470	-1,53	,53
		21	,000	,000	.	,00	,00
LINFÓCITOS	1	2	-1,000	,000	.	-1,00	-1,00
		3	-2,833*	,167	,000	-3,60	-2,06
		7	-2,333*	,211	,001	-3,31	-1,36
		21	-1,167*	,167	,008	-1,94	-,40
		30	-1,000	,000	.	-1,00	-1,00
	2	1	1,000	,000	.	1,00	1,00
		3	-1,833*	,167	,001	-2,60	-1,06
		7	-1,333*	,211	,013	-2,31	-,36
		21	-,167	,167	,980	-,94	,60
		30	,000	,000	.	,00	,00
	3	1	2,833*	,167	,000	2,06	3,60
		2	1,833*	,167	,001	1,06	2,60
		7	,500	,269	,637	-,50	1,50
		21	1,667*	,236	,000	,80	2,53
		30	1,833*	,167	,001	1,06	2,60
	7	1	2,333*	,211	,001	1,36	3,31
		2	1,333*	,211	,013	,36	2,31
		3	-,500	,269	,637	-1,50	,50
		21	1,167*	,269	,020	,17	2,17
		30	1,333*	,211	,013	,36	2,31
	21	1	1,167*	,167	,008	,40	1,94
		2	,167	,167	,980	-,60	,94
		3	-1,667*	,236	,000	-2,53	-,80
		7	-1,167*	,269	,020	-2,17	-,17
		30	,167	,167	,980	-,60	,94
	30	1	1,000	,000	.	1,00	1,00
		2	,000	,000	.	,00	,00
		3	-1,833*	,167	,001	-2,60	-1,06
		7	-1,333*	,211	,013	-2,31	-,36
		21	-,167	,167	,980	-,94	,60

*. The mean difference is significant at the .05 level.

```
GET DATA /TYPE=XLS
/FILE='C:\A\Consul07\Marcia Vaz\dados Márcia Vaz3.xls'
/SHEET=name 'VMM_CTII'
/CELLRANGE=full
/READNAMES=on .
```

```
USE ALL.
COMPUTE filter_$=( ~ (CASO = '30G' OR CASO = '21G')).
VARIABLE LABEL filter_$ " ~ (CASO = '30G' OR CASO = '21G') (FILTER)".
VALUE LABELS filter_$ 0 'Not Selected' 1 'Selected'.
FORMAT filter_$ (f1.0).
FILTER BY filter_$.
EXECUTE .
```

```
VAR LABELS média 'Tipo 3' .
```

```
ONEWAY
média tipol BY dia
/STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY
/MISSING ANALYSIS
```

/POSTHOC = T3 ALPHA(.05).

Oneway

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
						Lower Bound	Upper Bound
média Tipo 3	1	6	,00	,000	,000	,00	,00
	2	6	,03	,052	,021	-,02	,09
	3	6	2,37	,361	,148	1,99	2,75
	7	6	5,33	,301	,123	5,02	5,65
	21	6	26,87	3,112	1,271	23,60	30,13
	30	6	17,65	2,639	1,077	14,88	20,42
	Total	36	8,71	10,363	1,727	5,20	12,21
tipo1	1	6	,00	,000	,000	,00	,00
	2	6	,00	,000	,000	,00	,00
	3	6	,00	,000	,000	,00	,00
	7	6	,00	,000	,000	,00	,00
	21	6	23,85	2,117	,864	21,63	26,07
	30	6	21,02	2,931	1,196	17,94	24,09
	Total	36	7,48	10,844	1,807	3,81	11,15

Descriptives

		Minimum	Maximum
média Tipo 3	1	0	0
	2	0	0
	3	2	3
	7	5	6
	21	24	32
	30	15	22
	Total	0	32
tipo1	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	7	0	0
	21	21	27
	30	16	24
	Total	0	27

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
média Tipo 3	7,458	5	30	,000
tipo1	8,136	5	30	,000

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
média Tipo 3	Between Groups	3674,259	5	734,852	261,301	,000
	Within Groups	84,368	30	2,812		
	Total	3758,628	35			
tipo1	Between Groups	4050,119	5	810,024	371,779	,000
	Within Groups	65,363	30	2,179		
	Total	4115,482	35			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dunnnett T3

Dependent Variable	(I) dia	(J) dia	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
média Tipo 3	1	2	-,033	,021	,788	-,13	,06
		3	-2,367*	,148	,000	-3,05	-1,69
		7	-5,333*	,123	,000	-5,90	-4,77
		21	-26,867*	1,271	,000	-32,72	-21,01
		30	-17,650*	1,077	,000	-22,62	-12,68
	2	1	,033	,021	,788	-,06	,13
		3	-2,333*	,149	,000	-3,01	-1,66
		7	-5,300*	,125	,000	-5,86	-4,74
		21	-26,833*	1,271	,000	-32,69	-20,98
		30	-17,617*	1,077	,000	-22,58	-12,65

Multiple Comparisons

Dunnett T3

Dependent Variable	(I) dia	(J) dia	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
média Tipo 3	3	1	2,367*	,148	,000	1,69	3,05
		2	2,333*	,149	,000	1,66	3,01
		7	-2,967*	,192	,000	-3,68	-2,26
		21	-24,500*	1,279	,000	-30,33	-18,67
		30	-15,283*	1,087	,000	-20,21	-10,35
	7	1	5,333*	,123	,000	4,77	5,90
		2	5,300*	,125	,000	4,74	5,86
		3	2,967*	,192	,000	2,26	3,68
		21	-21,533*	1,277	,000	-27,37	-15,70
		30	-12,317*	1,084	,001	-17,26	-7,37
	21	1	26,867*	1,271	,000	21,01	32,72
		2	26,833*	1,271	,000	20,98	32,69
		3	24,500*	1,279	,000	18,67	30,33
		7	21,533*	1,277	,000	15,70	27,37
		30	9,217*	1,666	,004	3,05	15,38
	30	1	17,650*	1,077	,000	12,68	22,62
		2	17,617*	1,077	,000	12,65	22,58
		3	15,283*	1,087	,000	10,35	20,21
		7	12,317*	1,084	,001	7,37	17,26
		21	-9,217*	1,666	,004	-15,38	-3,05
tipo1	1	2	,000	,000	.	,00	,00
		3	,000	,000	.	,00	,00
		7	,000	,000	.	,00	,00
		21	-23,850*	,864	,000	-27,84	-19,86
		30	-21,017*	1,196	,000	-26,53	-15,50
	2	1	,000	,000	.	,00	,00
		3	,000	,000	.	,00	,00
		7	,000	,000	.	,00	,00
		21	-23,850*	,864	,000	-27,84	-19,86
		30	-21,017*	1,196	,000	-26,53	-15,50
	3	1	,000	,000	.	,00	,00
		2	,000	,000	.	,00	,00
		7	,000	,000	.	,00	,00
		21	-23,850*	,864	,000	-27,84	-19,86
		30	-21,017*	1,196	,000	-26,53	-15,50
	7	1	,000	,000	.	,00	,00
		2	,000	,000	.	,00	,00
		3	,000	,000	.	,00	,00
		21	-23,850*	,864	,000	-27,84	-19,86
		30	-21,017*	1,196	,000	-26,53	-15,50
	21	1	23,850*	,864	,000	19,86	27,84
		2	23,850*	,864	,000	19,86	27,84
		3	23,850*	,864	,000	19,86	27,84
		7	23,850*	,864	,000	19,86	27,84
		30	2,833	1,476	,602	-2,72	8,38
	30	1	21,017*	1,196	,000	15,50	26,53
		2	21,017*	1,196	,000	15,50	26,53
		3	21,017*	1,196	,000	15,50	26,53
		7	21,017*	1,196	,000	15,50	26,53
		21	-2,833	1,476	,602	-8,38	2,72

*. The mean difference is significant at the .05 level.

```
USE ALL.
COMPUTE filter_$=(~ (CASO = '30G' OR CASO = '21G') AND dia > 1).
VARIABLE LABEL filter_$ 'dia > 1 (FILTER)'.
VALUE LABELS filter_$ 0 'Not Selected' 1 'Selected'.
FORMAT filter_$ (f1.0).
```

```

FILTER BY filter_$.
EXECUTE .
ONEWAY
relacao BY dia
/STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY
/MISSING ANALYSIS
/POSTHOC = T3 ALPHA(.05).

```

Oneway

Descriptives

relacao

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
2	2	,00	,000	,000	,00	,00	0	0
3	6	,00	,000	,000	,00	,00	0	0
7	6	,00	,000	,000	,00	,00	0	0
21	6	,90	,121	,049	,77	1,02	1	1
30	6	1,20	,106	,043	1,08	1,31	1	1
Total	26	,48	,546	,107	,26	,70	0	1

Test of Homogeneity of Variances

relacao

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4,851	4	21	,006

ANOVA

relacao

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7,336	4	1,834	297,566	,000
Within Groups	,129	21	,006		
Total	7,466	25			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: relacao

Dunnnett T3

(I) dia	(J) dia	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
2	3	,000	,000	.	,00	,00
	7	,000	,000	.	,00	,00
	21	-,897*	,049	,000	-1,11	-,68
	30	-1,195*	,043	,000	-1,38	-1,01
3	2	,000	,000	.	,00	,00
	7	,000	,000	.	,00	,00
	21	-,897*	,049	,000	-1,11	-,68
	30	-1,195*	,043	,000	-1,38	-1,01
7	2	,000	,000	.	,00	,00
	3	,000	,000	.	,00	,00
	21	-,897*	,049	,000	-1,11	-,68
	30	-1,195*	,043	,000	-1,38	-1,01
21	2	,897*	,049	,000	,68	1,11
	3	,897*	,049	,000	,68	1,11
	7	,897*	,049	,000	,68	1,11
	30	-,299*	,066	,010	-,53	-,07
30	2	1,195*	,043	,000	1,01	1,38
	3	1,195*	,043	,000	1,01	1,38
	7	1,195*	,043	,000	1,01	1,38
	21	,299*	,066	,010	,07	,53

*. The mean difference is significant at the .05 level.

SORT CASES BY dia .
 SPLIT FILE
 SEPARATE BY dia .
 T-TEST
 PAIRS = média WITH tipo1 (PAIRED)
 /CRITERIA = CI(.95)
 /MISSING = ANALYSIS.

T-Test

dia = 2

Paired Samples Statistics^a

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 média Tipo 3	,03	6	,052	,021
1 tipo1	,00	6	,000	,000

a. dia = 2

Paired Samples Correlations^a

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 média Tipo 3 & tipo1	6	.	.

a. dia = 2

Paired Samples Test^a

	Paired Differences						t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference					
				Lower	Upper				
Pair 1 média Tipo 3 - tipo1	,033	,052	,021	-,021	,088	1,581	5	,175	

a. dia = 2

dia = 3**Paired Samples Statistics^a**

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 média Tipo 3	2,37	6	,361	,148
1 tipo1	,00	6	,000	,000

a. dia = 3

Paired Samples Correlations^a

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 média Tipo 3 & tipo1	6	.	.

a. dia = 3

Paired Samples Test^a

	Paired Differences						t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference					
				Lower	Upper				
Pair 1 média Tipo 3 - tipo1	2,367	,361	,148	1,987	2,746	16,037	5	,000	

a. dia = 3

dia = 7**Paired Samples Statistics^a**

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 média Tipo 3	5,33	6	,301	,123
1 tipo1	,00	6	,000	,000

a. dia = 7

Paired Samples Correlations^a

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 média Tipo 3 & tipo1	6	.	.

a. dia = 7

Paired Samples Test^a

	Paired Differences						t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference					
				Lower	Upper				
Pair 1 média Tipo 3 - tipo1	5,333	,301	,123	5,017	5,649	43,386	5	,000	

a. dia = 7

dia = 21**Paired Samples Statistics^a**

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 média Tipo 3	26,87	6	3,112	1,271
1 tipo1	23,85	6	2,117	,864

a. dia = 21

Paired Samples Correlations^a

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 média Tipo 3 & tipo1	6	-,017	,974

a. dia = 21

Paired Samples Test^a

	Paired Differences						t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference					
				Lower	Upper				
Pair 1 média Tipo 3 - tipo1	3,017	3,794	1,549	-,965	6,999	1,947	5	,109	

a. dia = 21

dia = 30**Paired Samples Statistics^a**

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 média Tipo 3	17,65	6	2,639	1,077
1 tipo1	21,02	6	2,931	1,196

a. dia = 30

Paired Samples Correlations^a

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 média Tipo 3 & tipo1	6	,816	,048

a. dia = 30

Paired Samples Test^a

	Paired Differences						t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference					
				Lower	Upper				
Pair 1 média Tipo 3 - tipo1	-3,367	1,714	,700	-5,166	-1,568	-4,811	5	,005	

a. dia = 30

split file off .

ONEWAY

MACRÓFAGOS GIGANTÓCITOS LINFÓCITOS BY dia

/STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY

/MISSING ANALYSIS

/POSTHOC = Tukey ALPHA(.05).

Oneway**Descriptives**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
MACRÓFAGOS	1	,00	,000	,000	,00	,00
	2	1,00	,000	,000	1,00	1,00
	3	1,50	,548	,224	,93	2,07
	7	2,17	,408	,167	1,74	2,60
	21	2,83	,408	,167	2,40	3,26
	30	2,33	,516	,211	1,79	2,88
	Total	1,64	1,018	,170	1,29	1,98
GIGANTÓCITOS	1	,00	,000	,000	,00	,00
	2	,67	,516	,211	,12	1,21
	3	1,00	,000	,000	1,00	1,00
	7	2,50	,548	,224	1,93	3,07
	21	2,00	,000	,000	2,00	2,00
	30	2,00	,000	,000	2,00	2,00
	Total	1,36	,931	,155	1,05	1,68
LINFÓCITOS	1	,00	,000	,000	,00	,00
	2	1,00	,000	,000	1,00	1,00
	3	2,83	,408	,167	2,40	3,26
	7	2,33	,516	,211	1,79	2,88
	21	1,17	,408	,167	,74	1,60
	30	1,00	,000	,000	1,00	1,00
	Total	1,39	,994	,166	1,05	1,73

Descriptives

		Minimum	Maximum
MACRÓFAGOS	1	0	0
	2	1	1
	3	1	2
	7	2	3
	21	2	3
	30	2	3
	Total	0	3
GIGANTÓCITOS	1	0	0
	2	0	1
	3	1	1
	7	2	3
	21	2	2
	30	2	2
	Total	0	3
LINFÓCITOS	1	0	0
	2	1	1
	3	2	3
	7	2	3
	21	1	2
	30	1	1
	Total	0	3

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
MACRÓFAGOS	9,188	5	30	,000
GIGANTÓCITOS	72,625	5	30	,000
LINFÓCITOS	7,500	5	30	,000

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
MACRÓFAGOS	Between Groups	31,806	5	6,361	42,407	,000
	Within Groups	4,500	30	,150		
	Total	36,306	35			
GIGANTÓCITOS	Between Groups	27,472	5	5,494	58,176	,000
	Within Groups	2,833	30	,094		
	Total	30,306	35			
LINFÓCITOS	Between Groups	31,556	5	6,311	63,111	,000
	Within Groups	3,000	30	,100		
	Total	34,556	35			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) dia	(J) dia	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
MACROFAGOS	1	2	-1,000*	,224	,001	-1,68	-,32
		3	-1,500*	,224	,000	-2,18	-,82
		7	-2,167*	,224	,000	-2,85	-1,49
		21	-2,833*	,224	,000	-3,51	-2,15
		30	-2,333*	,224	,000	-3,01	-1,65
	2	1	1,000*	,224	,001	,32	1,68
		3	-,500	,224	,252	-1,18	,18
		7	-1,167*	,224	,000	-1,85	-,49
		21	-1,833*	,224	,000	-2,51	-1,15
		30	-1,333*	,224	,000	-2,01	-,65
	3	1	1,500*	,224	,000	,82	2,18
		2	,500	,224	,252	-,18	1,18
		7	-,667	,224	,057	-1,35	,01
		21	-1,333*	,224	,000	-2,01	-,65
		30	-,833*	,224	,009	-1,51	-,15
	7	1	2,167*	,224	,000	1,49	2,85
		2	1,167*	,224	,000	,49	1,85
		3	,667	,224	,057	-,01	1,35
		21	-,667	,224	,057	-1,35	,01
		30	-,167	,224	,974	-,85	,51
21	1	2,833*	,224	,000	2,15	3,51	
	2	1,833*	,224	,000	1,15	2,51	
	3	1,333*	,224	,000	,65	2,01	
	7	,667	,224	,057	-,01	1,35	
	30	,500	,224	,252	-,18	1,18	
30	1	2,333*	,224	,000	1,65	3,01	
	2	1,333*	,224	,000	,65	2,01	
	3	,833*	,224	,009	,15	1,51	
	7	,167	,224	,974	-,51	,85	
	21	-,500	,224	,252	-1,18	,18	
GIGANTÓCITOS	1	2	-,667*	,177	,009	-1,21	-,13
		3	-1,000*	,177	,000	-1,54	-,46
		7	-2,500*	,177	,000	-3,04	-1,96
		21	-2,000*	,177	,000	-2,54	-1,46
		30	-2,000*	,177	,000	-2,54	-1,46
	2	1	,667*	,177	,009	,13	1,21
		3	-,333	,177	,434	-,87	,21
		7	-1,833*	,177	,000	-2,37	-1,29
		21	-1,333*	,177	,000	-1,87	-,79
		30	-1,333*	,177	,000	-1,87	-,79
	3	1	1,000*	,177	,000	,46	1,54
		2	,333	,177	,434	-,21	,87
		7	-1,500*	,177	,000	-2,04	-,96
		21	-1,000*	,177	,000	-1,54	-,46
		30	-1,000*	,177	,000	-1,54	-,46
	7	1	2,500*	,177	,000	1,96	3,04
		2	1,833*	,177	,000	1,29	2,37
		3	1,500*	,177	,000	,96	2,04
		21	,500	,177	,082	-,04	1,04
		30	,500	,177	,082	-,04	1,04

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) dia	(J) dia	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
GIGANTOCITOS	21	1	2,000*	,177	,000	1,46	2,54
		2	1,333*	,177	,000	,79	1,87
		3	1,000*	,177	,000	,46	1,54
		7	-,500	,177	,082	-1,04	,04
		30	,000	,177	1,000	-,54	,54
	30	1	2,000*	,177	,000	1,46	2,54
		2	1,333*	,177	,000	,79	1,87
		3	1,000*	,177	,000	,46	1,54
		7	-,500	,177	,082	-1,04	,04
		21	,000	,177	1,000	-,54	,54
LINFÓCITOS	1	2	-1,000*	,183	,000	-1,56	-,44
		3	-2,833*	,183	,000	-3,39	-2,28
		7	-2,333*	,183	,000	-2,89	-1,78
		21	-1,167*	,183	,000	-1,72	-,61
		30	-1,000*	,183	,000	-1,56	-,44
	2	1	1,000*	,183	,000	,44	1,56
		3	-1,833*	,183	,000	-2,39	-1,28
		7	-1,333*	,183	,000	-1,89	-,78
		21	-,167	,183	,940	-,72	,39
		30	,000	,183	1,000	-,56	,56
	3	1	2,833*	,183	,000	2,28	3,39
		2	1,833*	,183	,000	1,28	2,39
		7	,500	,183	,097	-,06	1,06
		21	1,667*	,183	,000	1,11	2,22
		30	1,833*	,183	,000	1,28	2,39
	7	1	2,333*	,183	,000	1,78	2,89
		2	1,333*	,183	,000	,78	1,89
		3	-,500	,183	,097	-1,06	,06
		21	1,167*	,183	,000	,61	1,72
		30	1,333*	,183	,000	,78	1,89
	21	1	1,167*	,183	,000	,61	1,72
		2	,167	,183	,940	-,39	,72
		3	-1,667*	,183	,000	-2,22	-1,11
		7	-1,167*	,183	,000	-1,72	-,61
		30	,167	,183	,940	-,39	,72
	30	1	1,000*	,183	,000	,44	1,56
		2	,000	,183	1,000	-,56	,56
		3	-1,833*	,183	,000	-2,39	-1,28
7		-1,333*	,183	,000	-1,89	-,78	
21		-,167	,183	,940	-,72	,39	

*. The mean difference is significant at the .05 level.

=====
DESCRIBE Version 1.55
Wednesday, 3rd October 2007, 17:51.
=====

Sequence of rates or proportions or ratios

DATA:

Scores, numerators, and denominators:
1: 0, 6; 2: 0, 6; 3: 0, 6; 4: 0, 6;
5: 4, 6; 6: 6, 6;

RESULTS:

Tests:

Cochrane-Armitage test for linear trend:
chi-sq = 20.94 (DF: 1) P = 0.000 [4.8E-6]
Test for departure from linear trend:
chi-sq = 8.42 (DF: 4) P = 0.077
Test for any variation:
total chi-sq = 29.35 (DF: 5) P = 0.000 [2.0E-5]
Note: 7 cells (of 12) have an expected frequency of <5
6 cells have an expected frequency of <2

Mantel test for trend:
chi-sq = 20.35 (DF: 1) P = 0.000 [6.4E-6]

Multiple pairwise comparisons (Tukey procedure):
(observations numbered #1 to #6)

Pair	Rates per 1000	Ratio	P
#1,#6	0.0, 1000.0	0.000	P < 0.001
#2,#6	0.0, 1000.0	0.000	P < 0.001
#3,#6	0.0, 1000.0	0.000	P < 0.001
#4,#6	0.0, 1000.0	0.000	P < 0.001

No other difference is significant (P < 0.05).

Avaliação histológica - resultados descritivos

CASO	dia	NEUTRÓFILOS	MACRÓFAGOS	GIGANTÓCITOS	LINFÓCITOS
1A	1	1	0	0	0
1B	1	1	0	0	0
1C	1	1	0	0	0
1D	1	1	0	0	0
1E	1	1	0	0	0
1F	1	1	0	0	0
2A	2	1	1	1	1
2B	2	1	1	1	1
2C	2	1	1	1	1
2D	2	1	1	0	1
2E	2	1	1	0	1
2F	2	1	1	1	1
3A	3	1	2	1	3
3B	3	1	1	1	3
3C	3	1	2	1	3
3D	3	1	1	1	2
3E	3	1	1	1	3
3F	3	1	2	1	3
7A	7	1	2	2	2
7B	7	1	2	2	2
7C	7	1	2	3	3
7D	7	1	2	3	3
7E	7	1	2	2	2
7F	7	1	3	3	2
21A	21	0	3	2	1
21B	21	0	3	2	1
21C	21	0	3	2	1
21D	21	0	3	2	1
21E	21	1	3	2	1
21F	21	1	2	2	2
30A	30	0	2	2	1
30B	30	0	3	2	1
30C	30	0	3	2	1
30D	30	0	2	2	1
30E	30	0	2	2	1
30F	30	0	2	2	1

Videomorfometria sob luz polarizada - coloração picrossírius - colágeno total

CASO	dia	CAMPO 1	CAMPO 2	CAMPO 3	CAMPO 4	CAMPO 5	CAMPO 6	CAMPO 7	CAMPO 8	CAMPO 9	CAMPO 10	MÉDIA
1A	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1B	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1C	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1D	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1E	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1F	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2A	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
2B	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2C	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2D	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2E	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2F	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3A	3	5	4	2	1	0	6	1	1	5	1	1
3B	3	2	4	6	4	2	0	0	1	2	1	1
3C	3	0	5	4	2	4	0	2	2	1	0	0
3D	3	5	4	1	2	0	0	2	1	4	1	1
3E	3	3	4	5	1	2	0	0	1	5	4	4
3F	3	0	0	5	0	4	4	2	4	6	4	4
7A	7	6	10	2	4	4	4	8	1	3	7	5
7B	7	8	5	7	10	6	5	3	9	2	4	4
7C	7	9	8	3	7	2	5	6	5	5	2	2
7D	7	10	5	2	8	3	4	9	2	5	5	5
7E	7	8	5	3	9	4	6	7	5	5	1	1
7F	7	10	9	5	7	3	2	3	1	8	5	5
21A	21	65	55	45	75	70	80	12	32	51	50	50
21B	21	50	35	45	25	65	50	40	45	50	40	40
21C	21	40	75	10	50	45	60	45	60	55	45	45
21D	21	55	58	60	45	45	55	65	45	65	55	55
21E	21	45	50	55	65	45	45	55	60	50	40	40
21F	21	40	45	55	65	60	55	45	45	55	55	55
30A	30	20	50	25	30	30	25	20	40	20	50	50
30B	30	50	20	30	50	40	45	35	50	30	25	25
30C	30	10	50	20	25	25	30	30	40	50	70	70
30D	30	30	50	50	40	50	50	45	50	55	40	40
30E	30	35	40	45	35	40	50	30	50	40	45	45
30F	30	45	50	40	35	25	45	60	25	45	45	45

- Cada coluna corresponde a um campo de grande aumento (200x)
- Os valores estão expressos em % de fibrose (colágeno total) por campo, considerando como 100% o campo microscopico.

% Fibras Verdes (videomorfometria) - % Média fibras de colágeno tipo III
% Média fibras colágeno tipo I
Relação colágeno tipo I/tipo III

CASO	dia	%fverdes/campo1	campo2	campo3	campo4	campo5	campo6	campo7	campo8	campo9	campo10	média tipo 3	media tipo1	relacao I/III
1A	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	#DIV/0!
1B	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	#DIV/0!
1C	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	#DIV/0!
1D	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	#DIV/0!
1E	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	#DIV/0!
1F	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	#DIV/0!
2A	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0,1	0	
2B	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	#DIV/0!
2C	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0,1	0	
2D	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	#DIV/0!
2E	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	#DIV/0!
2F	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	#DIV/0!
3A	3	5	4	2	1	0	6	1	1	5	1	2,6	0	
3B	3	2	4	6	4	2	0	0	1	2	1	2,2	0	
3C	3	0	5	4	2	4	0	2	2	1	0	2	0	
3D	3	5	4	1	2	0	0	2	1	4	1	2	0	
3E	3	3	4	5	1	2	0	0	1	5	4	2,5	0	
3F	3	0	0	5	0	4	4	2	4	6	4	2,9	0	
7A	7	6	10	2	4	4	8	1	3	7	5	5	0	
7B	7	8	5	7	10	6	5	3	9	2	4	5,9	0	
7C	7	9	8	3	7	2	5	6	5	5	2	5,2	0	
7D	7	10	5	2	8	3	4	9	2	5	5	5,3	0	
7E	7	8	5	3	9	4	6	7	5	5	1	5,3	0	
7F	7	10	9	5	7	3	2	3	1	8	5	5,3	0	
21A	21	35	30	25	37	35	42	6	17	26	30	28,3	25,2	0,890459
21B	21	28	19	25	13	35	30	25	20	25	19	23,9	20,6	0,861924
21C	21	20	37	8	20	25	30	25	35	20	25	24,5	24	0,979591
21D	21	30	41	35	20	30	30	29	31	41	36	32,3	22,5	0,696594
21E	21	25	20	25	35	19	24	37	38	27	19	26,9	24,1	0,895910
21F	21	18	23	28	32	31	26	24	23	25	23	25,3	26,7	1,055335
30A	30	12	26	14	13	12	10	10	15	10	25	14,7	16,3	1,108840
30B	30	24	9	13	21	16	21	17	26	13	11	17,1	20,4	1,192982
30C	30	4	23	15	10	11	12	14	13	19	32	15,3	19,7	1,287581
30D	30	14	21	23	23	19	26	20	23	28	19	21,6	24,4	1,129622
30E	30	16	11	21	16	19	23	12	24	11	21	17,4	23,6	1,356321
30F	30	19	27	20	17	18	24	32	12	10	19	19,8	21,7	1,095959

Colágeno total, tipo I e tipo III - coloração Picrossírius - videomorfometria sob luz polarizada

DIA	n	MEDIA COLÁGENO TOTAL	MEDIA COLAGENO I	MEDIA COLÁGENO III	Relação tipo I/tipo III
1	6	0	0 (0%)	0 (0%)	
2	6	0,03	0 (0%)	0,03 (100%)	
3	6	2,37	0 (0%)	2,37 (100%)	
7	6	5,33	0 (0%)	5,33 (100%)	
21	7	50,71	23,85	26,87	0,9
30	7	38,67	21,02	17,65	1,2

Colágeno total = media % fibrose /campo
Colágeno tipo I = media % fibras verdes/campo
Colágeno tipo III = media % fibras vermelhas/campo

**ANEXO A - RESOLUÇÃO DA COMISSÃO CIENTÍFICA E COMISSÃO DE
PESQUISA E ÉTICA EM SAÚDE**



HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação

COMISSÃO CIENTÍFICA E COMISSÃO DE PESQUISA E ÉTICA EM SAÚDE

RESOLUÇÃO

A Comissão Científica e a Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde, que é reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/MS como Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA e pelo Office For Human Research Protections (OHRP)/USDHHS, como Institutional Review Board (IRB0000921) analisaram o projeto:

Projeto: 99-128

Pesquisador Responsável:
MANOEL ROBERTO MACIEL TRINDADE

Título: AVALIAÇÃO DO TEMPO DE FIBROPLASIA EM TELA DE POLI- PROPILENO (MÁRLEX) EM CORREÇÃO DE HERNIAS INCISIONAIS EM RATOS.

Data da Versão:

PRORROGAÇÃO DE TÉRMINO

25/05/2007

Este documento referente ao projeto acima foi Aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos, de acordo com as Diretrizes e Normas Internacionais e Nacionais, especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde.

Porto Alegre, 04 de junho de 2007.


Prof. Nadine Clausell

Coordenadora do GPPG e CEP-HCPA