

Enxerto homólogo congelado de diafragma na correção dos defeitos da parede abdominal de ratos

Diaphragma frozen homograft for rats' abdominal wall defects repair

PAOLA MARIA BROLIN SANTIS-ISOLAN¹; MIGUEL ANGELO AGULHAM²; GUSTAVO RASSIER ISOLAN³; ELIZABETH MILLA TAMBARA⁴; SÉRGIO BERNARDO TENÓRIO⁴; ANA CRISTINA LIRA SOBRAL⁵; ANTÔNIO ERNESTO DA SILVEIRA²

R E S U M O

Objetivos: Análise morfológica e biomecânica do enxerto homólogo congelado de diafragma para correção de defeito da parede abdominal em ratos. **Métodos:** Os animais foram distribuídos em controle (20 ratos *Wistar*) e experimento (30 ratos *Wistar*). Os do grupo controle foram submetidos à laparotomia mediana e sutura da parede abdominal; já os do grupo experimento, à ressecção da parede abdominal e reconstrução com enxerto homólogo congelado de diafragma. Os animais foram submetidos à eutanásia no 3º e 6º mês de pós-operatório e avaliados quanto à presença de complicações pós-operatórias, integridade do enxerto, presença de aderências, avaliação tensiométrica, avaliação histopatológica com H/E e com sirius-red (colágeno tipo I e III). **Resultados:** Houve integração do enxerto em todos os animais sem complicações. Aderências foram semelhantes entre os grupos controle e experimento após três e seis meses. Observaram-se maior força máxima, força de ruptura e tensão nos animais do grupo experimento aos três meses de pós-operatório ($p=0,001$; $p=0,012$ e $p=0,001$, respectivamente). Na correlação entre as diferentes variáveis estudadas houve correlação estatisticamente significativa entre força máxima e tensão nos grupos controle e experimento ($p=0,001$ e $p=0,001$), e nos subgrupos três e seis meses ($p=0,002$ e $p=0,001$). Correlacionaram-se força máxima e colágeno tipo I ($p=0,04$) e Índice de Maturação do Colágeno (IMaC) e força máxima ($p=0,03$) ambos somente no grupo controle, mas nos subgrupos 3 e 6 meses ($p=0,045$ e $p=0,038$). O número de monomorfonucleares e força máxima também apresentou significância estatística tanto para o grupo controle quanto para o experimento ($p=0,005$ e $p=0,004$, respectivamente). **Conclusão:** O enxerto homólogo congelado de diafragma mostrou ser boa alternativa no reparo de grandes defeitos da parede abdominal em ratos.

Descritores: Cicatrização de feridas. Transplante homólogo. Diafragma. Parede abdominal. Ratos.

INTRODUÇÃO

O reparo cirúrgico dos grandes defeitos congênitos ou adquiridos da parede abdominal sempre foi grande desafio para os cirurgiões, uma vez que, além das adversas condições clínicas do paciente, não existe técnica cirúrgica ideal. Tampouco existem estudos comparativos com alto grau de evidência clínico-epidemiológica que validem um tipo de procedimento cirúrgico sobre os demais.

O uso de próteses melhorou a qualidade de vida dos pacientes, mas o material não preenche todos os critérios de biocompatibilidade, trazendo complicações a longo prazo e necessidade eventual de reoperações. Os materiais biológicos possuem características de biocompatibilidade, porém, apresentam maiores dificuldades técnicas e causam grandes defeitos no local doador, podendo cursar com distrofias e atrofia musculares. O material ideal deveria ser musculotendinoso, sem gerar novas áreas de defeitos. Portanto, os tecidos armazenados nos bancos osteomusculares apresentam todas as qualidades de material ideal para o reparo dos grandes defeitos de parede

abdominal¹. A expansão de sua utilização alicerçou o vislumbrar de novas pesquisas em cicatrização relativas aos defeitos da parede abdominal.

Este estudo teve por objetivo criar um modelo experimental de correção de defeito da parede abdominal em ratos com interposição de enxerto homólogo congelado de diafragma oriundo de banco de tecidos e avaliá-lo morfológica e biomecanicamente.

MÉTODOS

Os animais foram mantidos e operados no Instituto de Pesquisas Médicas do Hospital Universitário Evangélico de Curitiba, obedecendo à Lei Federal 6.638 e às normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Foram utilizadas 70 ratas (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*), da linhagem *Wistar*, 50 com idade de 20 dias e peso médio de 110 gramas (receptores) e 20 com 12 meses e peso médio 840 (doadores) oriundos

Trabalho realizado no Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR – BR.

1. Mestre em Clínica Cirúrgica pela Universidade Federal do Paraná – UFPR – BR; 2. Professores Adjunto de Cirurgia Pediátrica da UFPR – BR; 3. Professor Adjunto de Neurocirurgia da PUC-PR – BR; 4. Professores Adjuntos de Anestesiologia da UFPR-BR; 5. Professora da Faculdade Evangélica do Paraná – Curitiba – BR.

do biotério do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR) em Curitiba, PR, Brasil.

O Grupo Experimento (30 ratos) e o Grupo Controle (20 ratos) foram distribuídos em subgrupos segundo o período de eutanásia e análise da cicatrização sendo subgrupo EA (experimento 1A) composto por 15 animais com eutanásia no 90º dia de vida; subgrupo EB (experimento 1B) composto por 15 com eutanásia no 180º dia; subgrupo CA (controle 2A) composto por 10 com eutanásia no 90º dia e subgrupo CB (controle 2B) composto por 10 com eutanásia no 180º dia de vida.

Os animais doadores foram submetidos à eutanásia com dose letal de éter etílico e ressecção de todo diafragma. Os enxertos diafragmáticos foram mantidos hidratados em recipiente com solução fisiológica 0,9%, à temperatura ambiente, até seu acondicionamento em sacos plásticos individualizados e identificados. Todo procedimento foi realizado obedecendo-se normas de assepsia e anti-sepsia para confecção de material estéril. Os enxertos foram transportados, utilizando-se isopor com gelo, até o Banco de Ossos e Tecidos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná em Curitiba, onde, sob fluxo de ar laminar, realizou-se nova embalagem do material em condições estéreis. A próxima etapa consistiu no congelamento dos enxertos à temperatura de 85°C negativos, permaneceram conservados por período de seis meses.

Os animais do grupo controle, após anestesia inalatória com éter etílico 97%, foram submetidos à incisão mediana com cinco centímetros de extensão, tendo início dois centímetros abaixo do apêndice xifóide e envolvendo todos os planos da parede anterior do abdômen. Procedeu-se a realização de síntese em plano único, com fio de polipropileno 4.0 envolvendo aponeurose e musculatura com pontos simples, separados entre si por 0,5 cm. A pele foi submetida à rafia com fio de poliglicaprone 25 (Monocryl) 5.0 mediante sutura tipo chuleio simples.

No dia do experimento retirou-se do Banco de Ossos e Tecidos os materiais congelados, os quais foram transportados em caixas de gelo até o laboratório de cirurgia experimental. Os enxertos alógrafos de diafragma foram degelados em temperatura ambiente e permaneceram em solução fisiológica 0,9% até o momento de sua utilização.

Os animais do grupo experimento, após anestesia, foram submetidos à incisão abdominal mediana de cinco centímetros de extensão e confeccionou-se defeito traumático da parede anterior do abdômen através de ressecção de segmento de cinco centímetros de comprimento por quatro de largura, mimetizando um grande defeito congênito da parede abdominal. O enxerto alógrafo de diafragma foi então suturado à parede abdominal utilizando pontos simples de fio monofilamentar de polipropileno 4.0, fechando todo defeito abdominal. A pele foi submetida à rafia utilizando fio de poliglicaprone 25 (Monocryl) 5.0, sutura contínua tipo chuleio simples.

Na avaliação inicial post-mortem foram aferidos o peso, a presença de herniações ventrais e os aspectos da ferida cirúrgica. Foram também observadas as característi-

cas macroscópicas da cavidade abdominal como presença de aderências ou outras alterações macroscópicas intra-abdominais, tais como abscesso intracavitário, volvo e estenose. As aderências foram classificadas segundo o sistema de escore semiquantitativo de adesão desenvolvido por Jenkins *et al.*².

A ressecção do abdômen anterior foi feita em monobloco envolvendo segmento músculo-aponeurótico e enxerto (grupo experimento) ou cicatriz cirúrgica (grupo controle). Os segmentos foram estendidos em papel filtro e divididos em três partes, sendo dois fragmentos periféricos de um centímetro de altura por dois centímetros de largura e um central de dois centímetros de altura por dois de largura. Os fragmentos periféricos foram encaminhados para análises histológicas (picrossírius e H/E) e o central para avaliação mecânica tensiométrica.

Os corpos de prova (fragmento central) foram preparados conforme técnica já descrita^{3,4}. As análises foram realizadas em máquina de tração computadorizada, marca Instron modelo 4467, com garras de pressão pneumática e capacidade para três toneladas, no Laboratório de Ensaio Mecânicos do Instituto de Tecnologia para Desenvolvimento (Lactec) do Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná. Consideraram-se como parâmetros a força máxima, força de ruptura e tensão.

Nos cortes histológicos corados pela hematoxilina-eosina analisaram-se a reação inflamatória, sua qualidade e intensidade. Realizaram-se análise de três campos em cada corte histológico e neles contaram-se 100 células, com aumento de 400 vezes. A avaliação da qualidade da reação inflamatória fez-se pelo tipo de células presentes. O predomínio de polimorfonucleares caracterizou a reação inflamatória aguda, de monomorfonucleares a reação inflamatória crônica e, não havendo predomínio de nenhum destes tipos, a reação inflamatória agudo-crônica.

Os cortes histológicos corados pelo Syrius Red foram analisados em microscópio de luz polarizada, marca Olympus, com aumento de 200 vezes em dois campos na área de cicatrização e foram captadas por câmara Sony CCD Íris, sendo enviadas ao monitor (Mídia Cibernética) em computador do tipo Pentium III 733 MHz, no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. A percentagem de área ocupada pelo colágeno tipo I – maduro (fibras espessas e fortemente birrefringentes com coloração avermelhada) e pelo colágeno tipo III – imaturo (fibras finas e dispersas, fracamente birrefringentes com coloração esverdeada) foi calculada para cada animal, considerando-se que esta percentagem era proporcional à quantidade de cada tipo de fibra presente nos cortes histológicos. Foi também empregado o Índice de Maturação do Colágeno – IMaC, que se baseia nas percentagens de colágeno tipo I e tipo III, sendo definido como a razão entre essas percentagens. Valores maiores do que um, indicam que a percentagem de colágeno tipo I é maior do que a percentagem de colágeno tipo III.

Utilizou-se o teste t de Student considerando-se P estatisticamente significativa com valores menores ou iguais

a 0,05. Foram também empregados os testes não-paramétrico de Mann-Whitney, Exato de Fisher, Pearson e o coeficiente de regressão Logística.

RESULTADOS

Observou-se ausência de complicações cirúrgicas em todos dos casos e o enxerto apresentou-se íntegro em todos os animais do experimento.

Em relação às aderências, em nenhum caso, tanto no grupo controle quanto no grupo experimento, estavam presentes aderências de grau II, III ou IV. Não houve diferenças estatísticas entre os grupos ou subgrupos (Tabela 1).

Na análise dos resultados da força máxima encontrou-se correlação estatisticamente significativa ($p=0,001$) entre experimento e grupo controle aos três meses. Por outro lado, ao ser feita a correlação aos seis meses o valor de p foi de 0,849. Em relação aos resultados referentes à força de ruptura, ela foi maior no grupo experimento em relação ao controle com três meses ($p=0,012$). Na correlação aos seis meses a diferença entre os dois grupos não foi significativamente estatística ($p=0,832$). Estes dados foram semelhantes ao estudo da variável tensão, na qual o valor de p aos três e seis meses foi, respectivamente, 0,001 e 0,605.

Na correlação das diferentes medidas tensiométricas os resultados mostraram-se estatisticamente significativos nas variáveis tensão e força máxima, ($p<0,001$); o mesmo ocorreu com as variáveis força máxima e força de ruptura ($p<0,001$) e tensão e força de ruptura ($p<0,001$).

Em relação aos polimorfonucleares, estiveram presentes em três casos no grupo experimento e nenhum no grupo controle aos três meses; em quatro animais do grupo experimento e em três do grupo controle aos seis meses. No estudo dos monomorfonucleares o p entre os grupos controle e experimento foi aos três e aos seis meses, respectivamente, 0,238 e 0,031, ou seja, há maior quantidade de monomorfonucleares no grupo experimento aos seis meses de pós-operatório.

Não houve correlação estatisticamente significativa entre os grupos controle e experimento em relação aos colágenos tipo I e III. Contudo, houve predomínio estatisticamente significativo de colágeno tipo I nos animais avaliados aos seis meses, tanto no grupo controle como no experimento, com $P=0,00012$ (Figura 1).

Em relação ao Índice de Maturação do Colágeno (IMaC), o valor de p entre o controle e experimento foi,

respectivamente, 0,21 e 0,28. No entanto, na correlação entre os subgrupos três e seis meses o p foi menor do que 0,001.

Na correlação entre as diferentes variáveis estudadas (tensimetria, histologia e colágeno), houve correlação estatisticamente significativa entre a força máxima e o número de monomorfonucleares nos grupos controle e experimento ($p=0,0014$ e $p=0,0011$, respectivamente), bem como correlação destas variáveis nos subgrupos três e seis meses de pós-operatório ($p=0,001$ e $p=0,0012$, respectivamente).

Avaliando a distribuição do colágeno e as variáveis tensiométricas observaram-se correlações estatisticamente significativas somente nos animais do grupo controle. A correlação da porcentagem de colágeno tipo I apresentou com a força máxima $p=0,04$, com a tensão $p=0,048$, e relacionado à força de ruptura $p=0,047$. Os valores das correlações entre estas variáveis nos animais do grupo experimento foram de $p=0,934$ (porcentagem de colágeno tipo I e força máxima), $p=0,965$ (porcentagem de colágeno tipo I e tensão), $p=0,975$ (porcentagem de colágeno tipo I e força de ruptura), portanto, não estatisticamente significativas.

O Índice de Maturação do Colágeno (IMaC) também apresentou correlação significativa estatisticamente nos animais do grupo controle em relação as variáveis

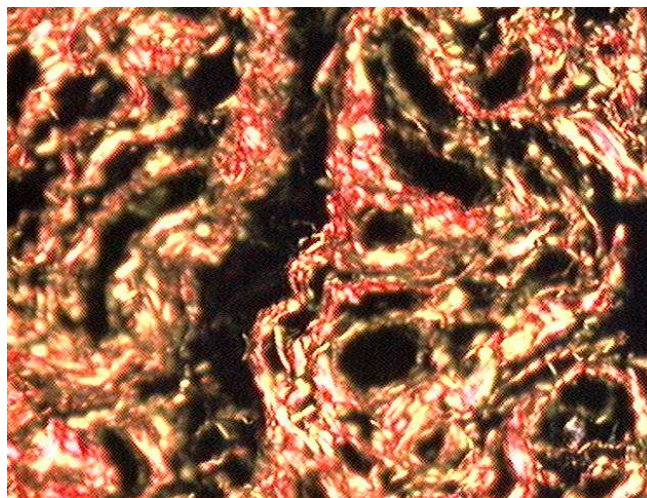


Figura 1 – Fotomicrografia de corte histológico de parede abdominal de rato corado pelo picrosirius (200 X) - grupo experimento, predomínio de colágeno tipo I.

FONTE: Serviço de Patologia do HC da UFPR.

NOTA: Colágeno tipo I = fibras coradas em vermelho; fundo preto = demais componentes do enxerto.

Tabela 1 – Escore de aderências da amostra.

Subgrupo	Escore de aderências	Grupo experimento	Grupo Controle	Total
3 meses	0	9 (60%)	7 (70%)	16 (64%)
3 meses	1	6 (40%)	3 (30%)	9 (33%)
6 meses	0	7 (46,7%)	4 (40%)	11 (44%)
6 meses	1	8 (53,3%)	6 (60%)	14 (56%)

tensiométricas. O IMaC e a força máxima correlacionaram-se com $p=0,003$. IMaC e tensão apresentaram correlação com $p=0,004$. Já o IMaC e a força de ruptura exibiram $p=0,0049$. Os resultados destas correlações para os animais do grupo experimento foram $p=0,801$ (IMaC e força máxima), $p=0,956$ (IMaC e tensão), $p=0,872$ (IMaC e força de ruptura), ou seja, não estatisticamente significativos.

A figura 2 permite verificar a existência de correlação de significado estatístico entre as variáveis tensiométricas tanto no grupo controle como no experimento. Verificaram-se valores de $p=0,0001$ para todas as correlações, seja entre força máxima e tensão, força máxima e força de ruptura, ou seja, entre tensão e força de ruptura para os grupos controle e experimento.

Submetendo à correlação IMaC e percentagem de colágeno tipo I com as variáveis tensiométricas força máxima, tensão e força de ruptura, aos três e seis meses, elas não apresentaram correlação estatisticamente significativa. Os valores da correlação do IMaC com força máxima foram $p=0,871$ (três meses) e $p=0,857$ (seis meses), IMaC com tensão foram $p=0,864$ (três meses) e $p=0,866$ (seis meses) e IMaC e força de ruptura foram $p=0,853$ (três meses) e $p=0,841$ (seis meses). Por sua vez, os valores da percentagem do colágeno tipo I correlacionados com força máxima foram $p=0,921$ (três meses) e $p=0,988$ (seis meses), com tensão $p=0,992$ (três meses) e $p=0,989$ (seis meses). O IMaC e a percentagem de colágeno tipo I também mostraram correlação entre si aos três e seis meses com valores estatisticamente significativos ($p=0,05$ e $p=0,04$, respectivamente).

A correlação da força máxima com tensão aos três e seis meses apresentaram $p=0,0001$. Força máxima e força de ruptura correlacionadas nos mesmos períodos mostraram valores $p=0,00012$. Igualmente, quando correlacionou-se tensão com força de ruptura foram encontrados valores de $p=0,00011$.

Foram analisados os valores absolutos, através da regressão logística, das correlações entre as variáveis predictoras número de monomorfonucleares, percentagem de colágeno tipo 1, Índice de Maturação do Colágeno (IMaC) força máxima, tensão e força de ruptura. As variáveis que demonstraram correlação entre si foram número de monomorfonucleares e força máxima com $p=0,009$ e força máxima com tensão com $p=0,041$. Submetendo à correlação das duas variáveis histológicas e uma variável tensiométrica observou-se que todas mantiveram os valores próximos aos das suas correlações isoladas, sendo as associações consideradas independentes.

As demais variáveis ditas não predictoras com seus valores absolutos, foram correlacionadas por regressão logística, não apresentando correlações estatisticamente significativas.

DISCUSSÃO

Já houve o reconhecimento de que o uso do enxerto de tecido musculoesquelético é uma forma de transplante, com seu consequente enquadramento em normas governamentais. Com isso, observou-se o aumento da demanda, não apenas na área ortopédica, mas também em outras.

A escolha do enxerto musculotendinoso homólogo congelado desta pesquisa foi baseada em estudos prévios da literatura, bem como da necessidade de avaliação do músculo diafragmático como fonte.

Os enxertos homólogos congelados constituem boas opções de enxerto, pois a baixa temperatura permite diminuição da resposta imune (reação enxerto-hospedeiro), proporcionando melhor incorporação do enxerto e manutenção das propriedades biomecânicas. Autores⁵ relataram estes dados e ainda ressaltaram a menor

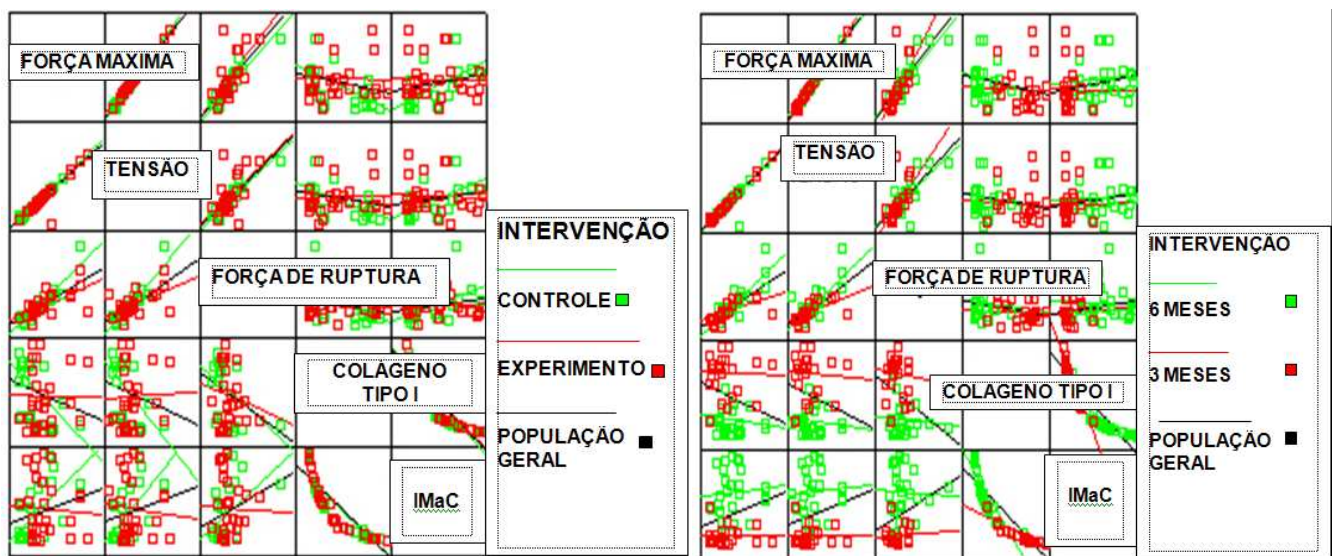


Figura 2 – Gráfico das variáveis de tensiometria e colágeno nos grupos controle e experimento e nos subgrupos 3 e 6 meses de pós-operatório.

morbidade, fraqueza muscular e relaxamento das fibras musculares nos enxertos homólogos comparados aos autólogos. O presente estudo verificou as forças tensiométricas comparando o enxerto homólogo congelado de diafragma e a parede abdominal original (grupo controle), corroborando aqueles dados.

O risco de infecção dos enxertos sempre foi preocupação marcante na sua utilização. Tomford *et al.*⁶ apresentaram valores de 5% nas taxas de infecção de enxertos homólogos congelados. Mae *et al.*⁷ estudaram a utilização da gama radiação no processo de esterilização dos enxertos homólogos de tendão implantados em 142 ratos. A taxa de infecção foi nula, porém, houve redução na força tênsil em até 50% em comparação aos enxertos homólogos congelados não irradiados. No presente estudo, não foram verificadas complicações referentes à presença de infecção.

A grande maioria dos artigos encontrados na literatura são unânimes em afirmar a superioridade dos enxertos homólogos congelados no que tange a fácil conservação e manipulação, bem como pela capacidade de manter as características primárias das forças tênsil e de ruptura, e o remodelamento do colágeno. Estas razões influenciaram a escolha dos enxertos homólogos congelados para a confecção do presente estudo e demonstraram-se verdadeiras com valores tensiométricos, variáveis do colágeno e histológicas iguais ou melhores ao material original (grupo controle).

O tecido musculoesquelético mais utilizado atualmente, em humanos, é a fásia lata pelo fato de ser totalmente tendinosa. Contudo, em animais o melhor tecido depende de características próprias. O rato, por exemplo, tem fásia lata muito exígua, sendo o diafragma - pela grande quantidade de tendão presente - boa opção⁸. Entretanto, o emprego do diafragma como enxerto homólogo tem sido pouco utilizado tanto em pesquisas experimentais como na prática clínica. Esse fato associado as suas características anatômicas influenciaram de maneira decisiva a escolha do diafragma como enxerto homólogo congelado neste estudo. O músculo diafragmático confirmou ser boa opção de enxerto homólogo congelado, pois conservou suas características biológicas e mecânicas, conforme observado nos achados deste estudo.

As complicações cirúrgicas procuradas diariamente foram a presença de herniação, deiscência, evisceração e infecção da ferida operatória. Não houve casos de complicações cirúrgicas. Ao contrário aos resultados deste trabalho, Klinge *et al.*⁹ testando quatro diferentes tipos de telas na correção de defeitos da parede abdominal em 225 ratos, verificaram diferentes índices de complicações de acordo com o tipo de tela usada. Discordando também dos resultados aqui encontrados, van't Riet *et al.*¹⁰ avaliando durante sete e 30 dias dois grupos de 28 ratos, sacrificaram dois animais no quinto dia que estavam com deiscência da ferida operatória por retenção urinária e sutura inadvertida do cólon. Além disso, a taxa de infecção foi significativamente maior no grupo que usou a tela de polipropileno com colágeno em relação ao grupo que usou tela de

polipropileno somente. Levine e Saltzman⁸ introduziram enxertos homólogos congelados à seco de diafragma na bolsa omental de 30 ratos. Os enxertos diafragmáticos mantiveram-se intactos em 83,6% dos casos. No presente estudo 100% dos enxertos homólogos diafragmáticos congelados encontravam-se íntegros.

Este trabalho não observou diferenças estatisticamente significativas no fator aderência entre os grupos ou subgrupos. Também verificou melhores valores tensiométricos aos 90 dias de pós-operatório no grupo experimento, sendo tal dado estatisticamente significativo. Autores¹¹ descreveram as alterações biomecânicas sofridas pelos enxertos homólogos congelados. No tempo zero até quatro semanas, eles apresentaram propriedades biomecânicas menores que o enxerto autólogo. Contudo, após 24 semanas não há diferenças significativas quanto as variáveis de força entre os enxertos e, por vezes, devido a sua hiper celularidade e maior deposição de colágeno tipo I poderia apresentar valores maiores de tensão¹. Diferentemente, no presente trabalho o grupo experimento apresentou força máxima, força de ruptura e tensão estatisticamente maiores que o grupo controle aos três meses de pós-operatório. Já aos seis, esses valores tensiométricos apresentaram-se de maneira semelhante entre os grupos. Monaco e Lawrence¹² relatam que após três meses os tecidos lesados teriam recuperado 80% de sua força tênsil em relação ao tecido íntegro. Segundo os mesmos autores, isto se deve ao predomínio de fibras colágenas na matriz extracelular. Estas fibras mesmo sendo finas, ou seja, colágeno tipo III, apresentam disposição espacial restaurada bem como espaços interfibrilares reduzidos com pico de deposição da elastina. Esses fatores concedem as características biomecânicas ao tecido cicatricial, conferindo valores tensiométricos equivalentes, ou até mesmo melhores que o tecido íntegro.

A existência de correlação entre a força máxima, força de ruptura e tensão são conceitos físicos lógicos e bem estabelecidos na literatura. Contudo, Van Winkle W Jr¹³ referiu que a força de ruptura pode sofrer interferência de fatores externos, como a idade do doador do tecido analisado, apresentando redução desta força, mesmo se a força máxima e a tensão apresentarem-se elevadas. Tais fatores poderiam responder aos questionamentos dos achados da presente pesquisa.

A resposta inflamatória tem início após o trauma e corresponde à primeira fase da cicatrização. Tal fenômeno é frequentemente estudado nas pesquisas experimentais que versam sobre cicatrização. Existem, porém, poucos estudos que analisam com técnica de H/E a reação da parede abdominal a diferentes tipos de materiais utilizados em enxertos. Além disso, não existem estudos que analisaram a reação inflamatória em enxerto de diafragma derivado de banco de tecidos, somente em enxertos homólogos congelados à seco⁸. Gamba *et al.*¹⁴ em estudo que testou o uso de matriz acelular no reparo de defeitos da parede abdominal em coelhos, evidenciaram que o enxerto de diafragma homólogo acelular forneceu substrato para a migração de fibroblastos, deposição de colágeno neoformado

e neovascularização. O infiltrado celular incluiu polimorfonucleares e monomorfonucleares. A presença destes foi similar em todos os grupos e permaneceu com menos de dez células por campo de grande aumento nos animais que foram analisados após dois anos. O presente estudo verificou predomínio de monomorfonucleares nos dois grupos estudados, porém, houve maior quantidade significativa destas células no grupo experimento aos seis meses. Tal resultado difere do outro estudo¹¹ onde descreveram-se alterações biológicas sofridas pelos enxertos homólogos congelados e enxertos autólogos à fresco durante os diferentes períodos da cicatrização. Verificou-se que da quarta até a sexta semana ocorre maior hiperplasticidade no enxertos congelados homólogos em relação ao a fresco autólogos. Porém, após seis meses não havia mais diferenças do número de células entre os tipos de enxertos. Um aspecto que pode ser destacado com intuito de esclarecer esta hiperplasticidade ainda aos seis meses é a perda da apoptose celular de tecidos cicatriciais.

Os autores deste trabalho verificaram que a reconstrução da parede abdominal com enxerto de diafragma de matriz acelular homólogo demonstrou migração de fibroblastos, deposição de colágeno neoformado e neovascularização. Neste estudo verificou-se predomínio de colágeno tipo I nos animais avaliados com seis meses, tanto no grupo controle como no experimento, sendo este dado estatisticamente significativo. O IMaC ratificou esta afirmação com valores maiores nos animais com seis meses, ou seja, apresentando maior quantidade de colágeno maduro ou tipo I. O presente estudo difere de Forrest¹⁵ que relatou normalização da distribuição e morfometria das fibras colágenas dos tecidos após período de 18 meses de cicatrização. Entretanto, Shino e Horibe¹⁶ observaram que aos seis meses os enxertos homólogos congelados demonstravam hiperplasticidade, provavelmente fibroblastos, e

predomínio de fibras de grande diâmetro, ou seja, de colágeno tipo I, dados estes que corroboram os achados deste estudo.

Aqui verificou-se correlação estatisticamente significativa entre o número de monomorfonucleares e a variável tensiométrica força máxima quer seja aos três como aos seis meses nos grupos controle e experimento. Tal correlação deve-se, provavelmente, ao fato de os monomorfonucleares - dentre os quais os fibroblastos - serem os produtores do colágeno. Esta proteína confere propriedades biomecânicas aos tecidos. Portanto, a hiperplasticidade dos enxertos homólogos congelados favoreceria maior síntese de colágeno e maior força máxima. As correlações entre as variáveis tensiométricas e colágeno tipo I ou IMaC, somente em animais do grupo controle aos três meses observadas neste estudo, não foram encontradas na literatura. As fases tardias da cicatrização, mesmo constituídas de fibras colágenas espessas e em maior quantidade, podem não apresentar correlação com as variáveis tensiométricas, como os achados do presente estudo.

Em conclusão, o enxerto homólogo congelado de diafragma mostrou ser boa alternativa no reparo de grandes defeitos da parede abdominal em ratos, pois apresentou ausência de complicações pós-operatórias, boa integridade, baixo índice de aderência, boa cicatrização e manutenção das variáveis de tensão e percentual de colágeno.

O próximo passo na evolução dos reparos dos defeitos da parede abdominal, segundo Zhang e Chang¹⁷, é a engenharia de tecidos. A confecção de tecidos musculotendinosos envolve o uso de cultura de células e fatores de crescimento para a formação de enxertos, e associação de técnicas de engenharia de tecidos com as novas pesquisas em células tronco. Elas serão as grandes contribuições do século 21.

A B S T R A C T

Objective: To analyse the morphology and biomechanics of diaphragm frozen homografts used for rats' abdominal wall defects repair. **Method:** Thirty wistar rats with abdominal wall resection and reconstruction using frozen diaphragm homografts were compared to twenty other rats submitted to abdominal wall incision and closure (control). Animals were euthanized after 3 and 6 months and abdominal walls were evaluated histologically with H/E and Picosiruid Red staining and tensiometric evaluation. **Results:** The tensiometric parameters were greater in the experimental group at 3 months after surgery. The percentage of mature collagen was significantly greater at 6 months after surgery in control and experimental groups. Tensiometric parameters and type I collagen as well maturation collagen index and rupture maximal strength were statistically correlated after 3 and 6 months. **Conclusion:** Frozen diaphragm homograft can be an alternative to repair the defects of abdominal wall.

Key words: Wound healing. Homografts. Diaphragm. Abdominal wall. Rats.

REFERÊNCIAS

01. Maeda A, Shino K, Horibe S, Matsumoto N, Nakamura N, Toritsuka Y. Remodeling of allogeneic and autogenous patellar tendon grafts in rats. *Clin Orthop Relat Res.* 1997 Feb;(335):298-309.
02. Jenkins SD, Klamer TW, Parteka JJ, Condon RE. A comparison of prosthetic materials used to repair abdominal wall defects. *Surgery.* 1983 Aug;94(2):392-8.
03. Naresse LE, Mendes EF, Curi PR, Lucchiari PH, Kobayasi S. Aparelho para medida da força de ruptura das anastomoses intestinais. *Rev Hosp Clin Fac Med Univ São Paulo* 1987 Set-Out;42(5):204-8.
04. Nash WA. Tração e compressão. Resistência dos materiais. São Paulo: Ed. McGraw-Hill do Brasil, p.11-20, 1972.
05. Strickland SM, MacGillivray JD, Warren RF. Anterior cruciate ligament reconstruction with allograft tendons. *Orthop Clin North Am.* 2003 Jan;34(1):41-7.

06. Tomford WW, Thongphasuk J, Mankin HJ, Ferraro MJ. Frozen musculoskeletal allografts. A study of the clinical incidence and causes of infection associated with their use. *J Bone Joint Surg Am*. 1990 Sep;72(8):1137-43.
 07. Mae T, Shino K, Maeda A, Toritsuka Y, Horibe S, Ochi T. Effect of gamma irradiation on remodeling process of tendon allograft. *Clin Orthop Relat Res*. 2003 Sep;414:305-14.
 08. Levine S, Saltzman A. Transplantation of the diaphragm in rats. *Lab Anim Sci*. 1995 Dec;45(6):694-5.
 09. Klinge U, Klosterhalfen B, Müller 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.
 10. van't Riet M, Burger JW, Bonthuis F, Jeekel J, Bonjer HJ. Prevention of adhesion formation to polypropylene mesh by collagen coating: a randomized controlled study in a rat model of ventral hernia repair. *Surg Endosc*. 2004 Apr;18(4):681-5.
 11. Jackson DW, Corsetti J, Simon TM. Biologic incorporation of allograft anterior cruciate ligament replacements. *Clin Orthop Relat Res*. 1996 Mar;324:126-33.
 12. Monaco JL, Lawrence WT. Acute wound healing an overview. *Clin Plast Surg*. 2003 Jan;30(1):1-12.
 13. Van Winkle W Jr. The tensile strength of wounds and factors that influence it. *Surg Gynecol Obstet*. 1969 Oct;129(4):819-42.
 14. Gamba PG, Conconi MT, Lo Piccolo R, Zara G, Spinazzi R, Parnigotto PP. Experimental abdominal wall defect repaired with acellular matrix. *Pediatr Surg Int*. 2002 Sep;18(5-6):327-31.
 15. Forrest L. Current concepts in soft connective tissue wound healing. *Br J Surg*. 1983 Mar;70(3):133-40.
 16. Shino K, Horibe S. Experimental ligament reconstruction by allogeneic tendon graft in a canine model. *Acta Orthop Belg*. 1991;57 Suppl 2:44-53.
 17. Zhang AY, Chang J. Tissue engineering of flexor tendons. *Clin Plast Surg*. 2003 Oct;30(4):565-72.
- Recebido em 30/10/2008
Aceito para publicação em 07/01/2009
Conflito de interesse: nenhum
Fonte de financiamento: nenhuma
- Como citar este artigo:**
Santis-Isolan PMB, Agulham MA, Isolan GR, Tambara EM, Tenório SB, Sobral ACL, Silveira AE. Enxerto homólogo congelado de diafragma na correção dos defeitos da parede abdominal de ratos. *Rev Col Bras Cir*. [periódico na Internet] 2009; 36(4). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/rcbc>
- Endereço para correspondência:**
Paola Maria Brolin Santis-Isolan
E-mail: paolabrolin@yahoo.com.br