



Efeito do tratamento com antileucotrieno em contratura capsular: estudo experimental

Effect of antileukotriene treatment on capsular contracture: an experimental study

CRISTINA PIRES CAMARGO^{1*} 
HELOISA ANDRADE CARVALHO¹ 
MARCIA SALDANHA KUBRUSLY¹ 
SOFIA AMARAL MEDEIROS¹ 
JULIO MORAIS BESTEIRO¹ 
ROLF GEMPERLI¹ 

Instituição: Universidade de São Paulo,
São Paulo, SP, Brasil.

Artigo submetido: 02/11/2020.
Artigo aceito: 19/04/2021.

Conflitos de interesse: não há.

DOI: 10.5935/2177-1235.2021RBCP0092

■ RESUMO

Introdução: 40% dos pacientes submetidos à radioterapia após reconstrução de mama por implante de prótese de silicone podem desenvolver encapsulamento da prótese. Diversas estratégias já foram testadas para prevenir a contratura da cápsula com resultados insatisfatórios. Este estudo analisou o efeito do antileucotrieno (AL) tópico na formação de contratura capsular em ratos com implantes de silicone associados à irradiação. **Métodos:** Foram implantados blocos de silicone na região dorsal em 20 ratas fêmeas, espécie Wistar com peso variando de 200-250g. Os animais foram divididos em dois grupos: controle (injeção de solução fisiológica 0,9% no tecido ao redor do implante) e grupo intervenção (injeção de 10mg de AL no tecido ao redor do implante). Imediatamente após a cirurgia os animais foram irradiados com dose única de 10Gy. Após dois meses, coletamos amostras de cápsulas para análise histológica e análise da expressão gênica dos seguintes biomarcadores: iNOS, VEGF-a e MMP-9. **Resultados:** A densidade vascular foi menor no grupo AL quando comparado ao grupo controle ($55,4 \pm 30,0$ vs. $81,8 \pm 26,7$, $p=0,05$, respectivamente). Da mesma forma, o VEGF-a teve o mesmo comportamento (grupo controle - $0,34 \pm 0,1$ vs. grupo Al - $0,02 \pm 0,001$, $p=0,04$). **Conclusão:** Este estudo sugeriu que o tratamento com AL diminui a angiogênese em animais submetidos a implantes de silicone e submetidos à radioterapia

Descritores: Radioterapia; Rato; Contratura capsular em implante; Fator A de crescimento do endotélio vascular; Inibidores de metaloproteinases de matriz.

¹ Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

■ ABSTRACT

Introduction: 40% of patients undergoing radiotherapy after breast reconstruction by silicone prosthesis implant may develop prosthesis encapsulation. Several strategies have already been tested to prevent capsule contracture with unsatisfactory results. This study analyzed the effect of topical antileukotriene (AL) on capsular contracture formation in rats with silicone implants associated with irradiation. **Methods:** Silicone blocks were implanted in the dorsal region in 20 female rats Wistar with weights ranging from 200-250g. The animals were divided into two groups: control (injection of 0.9% saline solution into the tissue around the implant) and intervention group (injection of 10mg of AL into the tissue around the implant). Immediately after surgery, the animals were irradiated with a single dose of 10Gy. After two months, we collected capsule samples for histological analysis and gene expression analysis of the following biomarkers: iNOS, VEGF-a and MMP-9. **Results:** Vascular density was lower in the AL group when compared to the control group (55.4 ± 30.0 vs. 81.8 ± 26.7 , $p=0.05$, respectively). Similarly, VEGF-a had the same behavior (control group - 0.34 ± 0.1 vs. group Al - 0.02 ± 0.001 , $p=0.04$). **Conclusion:** This study suggested that treatment with AL decreases angiogenesis in animals submitted to silicone implants and underwent radiotherapy.

Keywords: Radiotherapy; Mouse; Capsular contracture in implant; Vascular endothelium growth factor A; Matrix metallo-proteinases inhibitors.

INTRODUÇÃO

Implantes mamários são rotineiramente utilizados em cirurgia plástica de mama estética e reparadora, segundo a Sociedade Americana de Cirurgia Plástica, em 2016, 290.467 implantes para fins estéticos e 109.256 implantes para procedimentos reparadores¹. Embora bastante utilizado, há risco de contratura capsular em 10,6% dos casos operados². Porém, ao se realizar cirurgia reparadora, como reconstrução mamária, várias pacientes deverão se submeter à radioterapia, como tratamento local do câncer de mama, nesses casos a prevalência dessa complicação é maior do que 40% e a necessidade de retirada da prótese é de 15%².

Quando materiais inertes, como silicone, são implantados no corpo humano, o organismo forma uma cápsula de tecido conectivo em volta do implante para isolá-lo dos tecidos adjacentes. Em alguns casos devido a trauma, infecção e outras causas desconhecidas esse invólucro torna-se fibrótico (contratura capsular). Dependendo do grau de fibrose pode causar deformidade estética, dor e inflamação do local do implante³. Quando houver o encapsulamento da prótese, o tratamento deve ser cirúrgico com a retirada da prótese e substituição por outra prótese em outro plano anatômico, por exemplo, se a prótese for colocada acima do músculo peitoral e houver contratura,

a mesma deve ser substituída por outra prótese implantada abaixo do músculo. Esse procedimento tem o objetivo de evitar recidiva da contratura^{4,5}.

Por esse motivo, várias técnicas foram estudadas com o intuito de prevenir a ocorrência de contratura capsular como o emprego de implantes texturizados, implante da prótese em loja submuscular⁴, uso de medicamentos como corticoides, ciclosporina⁵ e antileucotrienos^{6,7}. Todas essas alternativas terapêuticas demonstraram resultados variáveis, sem compor evidência clínica.

Bastos et al. (2012)⁸, mostraram resultados positivos do uso de Montelukast, um antagonista de receptores de leucotrienos, na prevenção de contratura capsular.

OBJETIVO

Este estudo analisará o efeito do Montelukast em modelos animais de contratura capsular radioinduzida. Portanto, este trabalho teve como objetivo analisar o efeito de droga antileucotrieno (Montelukast[®]) na formação de contratura capsular em ratos com implante de silicone que se submeteram à radioterapia no intervalo de dois meses.

MÉTODOS

Foram analisadas 20 ratas Wistar, com peso variando entre 250-300g. Todos os animais foram mantidos em biotério com temperatura controlada

entre 22-23°C, ciclo dia/noite de 12.12h, água e alimento ad libitum. Este estudo seguiu as regras nacionais de padronização de estudos em animais de laboratório (CONCEA) e foi aprovado pelo comitê de ética de uso de animal da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CEUA-FMUSP) sob registro 067/2017.

Procedimento cirúrgico

Os animais foram anestesiados por uma solução composta de 100mg/kg de peso de cloridrato de quetamina (Ketamin®, Cristália, Brazil) e 10mg/kg de peso de cloridrato de xylazina (Rompun®, Bayer, Brazil) por via intraperitoneal.

Após anestesia intraperitoneal, os animais foram posicionados em decúbito ventral. A seguir foi realizada tricotomia em uma área de 6cm² na região da linha média da coluna logo abaixo das escápulas. Foi utilizado clorexidina tópico para antisepsia dessa região.

Foi realizado, através do uso de bisturi lâmina 15, incisão de 2cm horizontal. Dissecção de loja de 6cm² abaixo do plano do pânículo carnoso do animal e hemostasia com bisturi elétrico. Antes de realizar o fechamento da loja foi implantando bloco de silicone de 2x2cm. E a seguir os animais foram randomizados em dois grupos: controle (n=10), injeção tissular ao redor do bloco de silicone utilizando 1ml de soro fisiológico 0,09%; grupo antileucotrieno (n=10), injeção tissular ao redor do bloco de silicone utilizando 1ml de antileucotrieno (Singulair®, Merck Sharp & Dohme, Campinas, Brasil) diluído em soro fisiológico 0,9%.

Radioterapia

Todos os animais foram submetidos no pós-operatório imediato a uma sessão de radioterapia. A radiação foi efetuada irradiador específico para animais de pequeno porte (Rad Source RS2000, Quastar™), com raio-X de 160KV de 25mAs.

Os animais foram posicionados em decúbito lateral contidos por um imobilizador que possibilitasse a emissão dos raios no plano tangencial como utilizado em pacientes. Ainda foi inserido uma placa de chumbo de 5mm que possuía uma janela para a irradiação do animal garantindo o tratamento apenas na região desejada. Foi utilizada dose única de 10Gy em dois campos opostos (5Gy por campo), com carda de 6Gy/min.

Análise histológica

Após dois meses os animais foram eutanasiados por injeção intraperitoneal de cloridrato de quetamina (Ketamin®, Cristália, Brazil) na dose de 180mg/kg de peso, associada à xylazina (Rompun®, Bayer, Brazil) na dose de 15mg/kg e, a seguir, colocados em câmara de CO a 100%.

Foram coletadas amostras da cápsula ao redor do bloco de silicone através de uma incisão no dorso dos animais. Parte das amostras foram fixadas com formalina 4% por 24h e a seguir coradas com hematoxilina-eosina (HE) e picrosirius para análise sob microscopia (Nikon eclipse E600®, Japan) na magnificação de 200 e 400 vezes.

As lâminas coradas por hematoxilina-eosina analisaram a presença de células inflamatórias e densidade vascular (contagem de arteríolas) em 10 campos ao longo dos cortes histológicos. As lâminas coradas pelo método de picrosirius demonstraram graficamente a deposição de colágeno ao longo da cápsula ao redor do bloco de silicone.

Análise da expressão gênica

Extração de RNA total

As amostras de pânículo carnoso foram maceradas com o uso do aparelho Tissue Lyser LT (Qiagen, Germantown, EUA). Aos tubos de microcentrifuga com as amostras adicionou-se 1,0ml de trizol® (Invitrogen-Life Technologies, Carlsbad, EUA) e esferas de aço inoxidável. A fragmentação foi realizada por 6 minutos a 50Hz.

Após a retirada das esferas, adicionou-se 0,2ml de clorofórmio (Merck). As amostras foram centrifugadas por 15 minutos a 12.000rpm a 4°C. Após a centrifugação, a fase aquosa foi transferida para novo tubo de microcentrifuga e adicionou-se 0,5ml de álcool isopropílico gelado (Merck) para precipitação do RNA. As amostras foram incubadas à temperatura ambiente por 10 minutos e depois centrifugadas a 12.000rpm por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi descartado e o precipitado de RNA lavado com 1,0ml de etanol 75%. Centrifugou-se por 5 minutos a 10.000rpm a 4°C. O pellet de RNA foi ressuscitado em 50 a 100µL de água ultrapura estéril livre de DNase/RNase (Invitrogen-Life Technologies, Carlsbad, EUA).

Determinou-se a concentração dos RNAs extraídos em espectrofotômetro NanoDrop™ ND-1000 (NanoDrop Technologies, Inc., Wilmington, EUA). O grau de pureza foi avaliado pela relação 260/280nm, sendo utilizados apenas os RNAs cuja relação foi ≥ 1,8. Para a análise da integridade dos RNAs, realizou-se eletroforese em gel de agarose para verificação das bandas 28S e 18S. Os RNAs extraídos foram armazenados a -80°C até o uso.

Síntese de cDNA

Para a síntese de cDNA, a partir do RNA total, foi utilizado o kit High Capacity RNA-to-cDNA (Applied Biosystems) em termociclador GeneAmp 2400 (Applied Biosystems). Em volume final de 20µL: 1,0µL de

enzyme mix; 10,0µL de RT buffer; qsp 20µL de água ultrapura estéril livre de DNase/RNase e RNA total (500ng). Para a reação e parada da reação, os tubos foram incubados a 37°C por 60 minutos e a 95°C por 5 minutos, respectivamente. As amostras de cDNA foram armazenadas a -20°C até o uso.

Reação em cadeia da polimerase em tempo real (qRT-PCR)

A análise da expressão dos níveis de mRNA dos genes de interesse foi realizada por qRT-PCR no termociclador StepOnePlus™ (Applied Biosystems) com o sistema TaqMan® Gene Expression Assays (Applied Biosystems).

As sondas e os primers para os genes C5AR1 (Rn02134203), ICAM 1 (Rn 00564227), NOS2 (Rn 00561646), VEGF (Rn 01511602) e para o controle endógeno ACTB (Rn 00667869) foram adquiridas da lista de ensaios inventariados da empresa Applied Biosystems.

A qRT-PCR foi realizada em duplicata para cada amostra utilizando-se: 10,0µL TaqMan® Universal Master Mix II 2X; 1µL TaqMan® Gene Expression Assay 20X e 4µL de cDNA diluído (diluição 1:5) em volume final de 20µL, em placas de 96 poços cobertas com selante óptico.

As condições de reação foram 50°C por 2 minutos, 95 por 10 minutos, seguidos de 40 ciclos a 95°C por 15 segundos e 60°C por 1 minuto.

Para o cálculo do nível de expressão de cada gene alvo, utilizou-se o software GenEx Standard 6.1 (MultiD Analyses AB), que utiliza o método 2-delta delta Ct para a quantificação relativa, onde Ct (threshold cycle) é o ciclo da PCR em tempo real, no qual a amplificação atinge a fase logarítmica, onde delta Ct é a diferença de expressão entre gene alvo e controle endógeno de uma determinada amostra, e delta delta Ct corresponde à diferença entre o delta Ct da amostra e o delta Ct do controle.

Análise estatística

As variáveis foram submetidas à análise descritiva. Após a verificação da distribuição e variâncias dos dados os dois grupos foram comparados utilizando-se teste Wilcoxon rank sum (distribuição não normal), considerando-se p de alfa de 0.05. Foi utilizado programa STATA versão 14 (StataCorp., 2015. Stata Statistical Software: Release 14. College Station, TX: StataCorp LP, EUA).

RESULTADOS

Três animais no grupo controle e um animal no grupo AL apresentaram, deiscência e extrusão do bloco de silicone após quatro semanas da irradiação.

Análise histológica

A análise pelo método de histomorfometria não demonstrou diferença quanto ao número de células inflamatórias. Porém, houve diminuição da densidade vascular no grupo tratado com AL ao se comparar com o grupo controle (55,4±30,0 (AL) vs. 81,8±26,7 (controle); p=0.05) (Tabela 1 e Figura 1).

Tabela 1. Análise pelo método de histomorfometria referente às células inflamatórias e densidade vascular no grupo controle e no grupo AL.

	Controle (n=7) (média±DP)	Antileucotrieno (n=9) (média±DP)
Células inflamatórias	8,25±5,9	4,4±4,0
Densidade vascular	81,8±26,7	55,4±30,0

DP = Desvio-padrão.

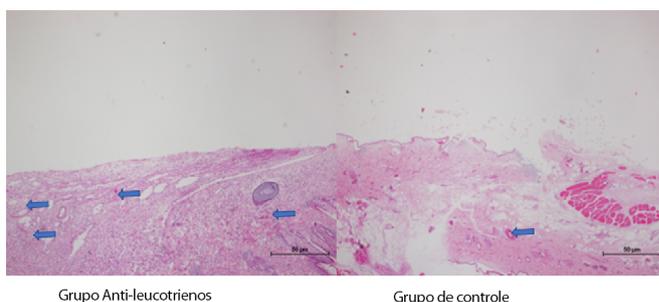


Figura 1. Lâminas coradas pelo método de HE, amostras por grupos. As setas azuis correspondem a arteríolas ao longo da cápsula.

As lâminas coradas por picrosirius demonstraram maior quantidade de colágeno no grupo controle (Figura 2).

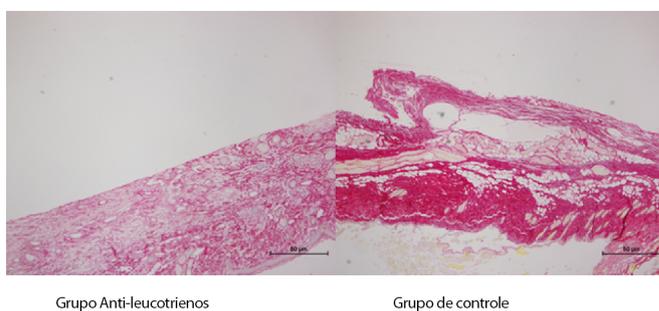


Figura 2. Coloração de picrosirius evidenciou densidade de fibras de colágeno no grupo controle ao se comparar com o grupo AL.

Análise da expressão gênica de biomarcadores (iNOS, VEGF-a, MMP-9)

O grupo AL mostrou menor quantidade de VEGF-a ao se comparar com o grupo controle (0,02±0,001 vs. 0,34±0,1, respectivamente, p=0.04) (Tabela 2).

Tabela 2. Expressão gênica de iNOS, VEGF-a, ICAM-1 e MMP-9 nos grupos controle e AL.

	Controle (n=7) (média±DP)	Antileucotrieno (n=9) (média±DP)
iNOS	0,013±0,01	0,005±0,001
VEGF-a	0,34±0,1	0,02±0,001
MMP-9	0,36±0,2	0,30±0,1

DP = Desvio-padrão.

DISCUSSÃO

Leucotrienos são lipídeos (eicosanoide) pertencentes à família de substâncias mediadoras da inflamação. Agem na contração de músculo liso (broncoconstrição), além de aumentar a permeabilidade microvascular perpetuando a reação inflamatória⁹.

Os antileucotrienos, portanto, tem como função diminuir e prevenir a contração da musculatura lisa e diminuir a permeabilidade vascular. Embora o mecanismo de ação ainda não esteja elucidado, vários estudos demonstraram o efeito benéfico dos antileucotrienos em inibir ou minimizar a contratura capsular após implantes aloplásticos mamários^{6-8,10}.

Nossa hipótese foi analisar o efeito de Al sobre a reação inflamatória local (diminuição de neoangiogênese tardia e diminuição de células inflamatórias), bem como a inibição da formação de fibrose. Para potencializar os resultados deste estudo e para mimetizar situação clínica de tratamento adjuvante à reconstrução de câncer de mama, todos os animais receberam uma dose de irradiação imediatamente após a cirurgia.

Este estudo demonstrou diminuição de 50% da contagem de células inflamatórias no grupo Al (4,4±4,0) ao se comparar com o grupo controle (8,25±5,9). Embora não tenha alcançado significância, há uma tendência a se observar menor reação inflamatória do grupo AL. Já na análise histológica quanto a densidade vascular, este estudo demonstrou menor contagem de vasos neoformados no grupo AL ao se comprar com o grupo controle (55,4±30,0 vs. 81,8±26,7, respectivamente; p=0.05). Esses dois achados sugerem diminuição da inflamação crônica na cápsula do implante de silicone. Kang et al. (2015)¹¹ analisaram o uso de Zafirlukast na formação de cápsula de implante de silicone em coelhos. Esses autores demonstraram resultado semelhante ao nosso estudo, animais tratados com Al apresentaram diminuição da contratura capsular após dois meses de seguimento. Ainda Kang et al. (2015)¹¹, também analisaram a reação inflamatória ao redor do implante de silicone. Novamente, esse grupo demonstrou diminuição de macrófagos, como apresentado no nosso estudo.

Ainda, Kang et al. (2015)¹¹, estudaram um desfecho intermediário aferindo a expressão gênica de

miofibroblastos. Os autores demonstraram diminuição na expressão do gene dos miofibroblastos no grupo tratado com AL em comparação com o grupo controle. Baseado nesses achados de literatura, nosso grupo explorou outras vias responsáveis pelo mecanismo de ação de AL.

A expressão do gene iNOS foi maior no grupo controle do que no grupo AL (0,013±0,01 e 0,005±0,001, respectivamente) (p=0,08); mas, neste estudo, essa diferença apresentou uma tendência à significância. A ação de óxido nítrico sintetase induzível (iNOS) se refere a uma enzima na resposta inflamatória mediada por macrófagos. E, conseqüentemente, o aumento de óxido nítrico (NO) produzido por macrófagos induz um estado pró-inflamatório. Portanto, a diminuição da expressão gênica no grupo AL sugere um efeito anti-inflamatório na cápsula do implante de silicone. Conforme demonstrado por McNeill et al. (2015)¹². Segundo esse estudo, a deleção de macrófagos, segundo a via radicais livres, demonstrou diminuição do processo inflamatório devido à inibição de iNOS^{11,12}.

Outro biomarcador estudado por McNeill et al. (2015)¹², foi VEGF-a como possível fator que contribuiria ao mecanismo de ação ao efeito anti-inflamatório de AL. Em nosso estudo, a expressão gênica de VEGF-a diminuiu no grupo tratado com AL ao se comparar com o grupo controle. Refletindo sobre esse desfecho, a diminuição do marcador de neoangiogênese a longo prazo (2 meses) pode demonstrar a transição de macrófagos fenótipo 1 para fenótipo 2, isto é, há resolução do processo inflamatório¹³. Outro desfecho intermediário analisado neste estudo, foi a expressão gênica de MMP-9, que corresponde ao metabolismo de gelatinase (componente da matriz extracelular). Vários autores já analisaram outras metaloproteinases, com o objetivo de se estudar o metabolismo de colágeno na regeneração tissular^{14,15}.

Este estudo não encontrou diferença na gelatinase (MMP-9) entre os grupos. Contudo, este estudo apresentou algumas limitações: a estrutura anatômica do modelo murinho adotado neste estudo apresentou algumas diferenças (panniculus carnosum) em relação ao ser humano.

CONCLUSÃO

Este estudo sugere que AL tratamento com AL diminui a angiogênese em animais submetidos a implantes de silicone e submetidos à radioterapia

AGRADECIMENTOS

Este estudo não seria possível sem a colaboração da Sra. Silvana Aparecida Biagion, Sra. Edna Maria Rodrigues dos Santos, Sra. Roqueline Alves Lago e Sr. Bruno Valério do Rosário.

COLABORAÇÕES

CPC	Análise e/ou interpretação dos dados, Análise estatística, Aprovação final do manuscrito, Conceitualização, Concepção e desenho do estudo, Metodologia, Redação - Revisão e Edição
HAC	Análise e/ou interpretação dos dados, Concepção e desenho do estudo, Investigação, Metodologia, Realização das operações e/ou experimentos, Redação - Revisão e Edição
MSK	Coleta de Dados, Investigação, Metodologia, Realização das operações e/ou experimentos, Redação - Preparação do original
SAM	Coleta de Dados, Realização das operações e/ou experimentos, Redação - Preparação do original
JMB	Análise e/ou interpretação dos dados, Concepção e desenho do estudo, Metodologia, Redação - Revisão e Edição
RG	Aprovação final do manuscrito, Concepção e desenho do estudo, Redação - Revisão e Edição, Supervisão, Visualização

REFERÊNCIAS

- American Society of Plastic Surgeons (ASPS). 2016 National plastic surgery statistics – cosmetic & reconstructive procedure trends [Internet]. Arlington Heights: ASPS; 2017; [acesso em 2017 Mai 15]. Disponível em: <https://d2wirczt3b6wjm.cloudfront.net/News/Statistics/2016/2016-plastic-surgery-statistics-report.pdf>
- Kronowitz SJ, Robb GL. Radiation therapy and breast reconstruction: a critical review of the literature. *Plast Reconstr Surg.* 2009 Ago;124(2):395-408.
- Headon H, Kasem A, Mokbel K. Capsular contracture after breast augmentation: an update for clinical practice. *Arch Plast Surg.* 2015 Set;42(5):532-43. DOI: <https://doi.org/10.5999/aps.2015.42.5.532>
- Steiert AE, Boyce M, Sorg H. Capsular contracture by silicone breast implants: possible causes, biocompatibility, and prophylactic strategies. *Medical Devices.* 2013 Jun;6:211-8. DOI: <https://doi.org/10.2147/MDER.S49522>
- Collis N, Coleman D, Foo ITH, Sharpe DT. Ten-year review of a prospective randomized controlled trial of textured versus smooth subglandular silicone gel breast implants. *Plast Reconstr Surg.* 2000 Set;106(4):786-91.
- Miller AS, Tarpley SK, Willard VV, Reynolds GD. Alteration of fibrous capsule formation by use of immunomodulation. *Aesthet Surg J.* 1998 Set/Out;18(5):346-52.
- Schlesinger SL, Ellenbogen R, Desvigne MN, Svehlak S, Heck R. Zafirlukast (Accolate): a new treatment of a difficult problem. *Aesthet Surg J.* 2002 Jul;22(4):329-36.
- Bastos EM, Sabino Neto M, Garcia EB, Veiga DF, Han YA, Denadai R, et al. Effect of zafirlukast on capsular contracture around silicone implants in rats. *Acta Cir Bras.* 2012;27(1):1-6. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0102-86502012000100001>
- Peters-Golden MD, Henderson Junior WR. Leukotrienes. *N Engl J Med.* 2007 Nov;357(18):1841-54. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMra071371>
- Vieira VJ, D'Acampora A, Neves FS, Mendes PR, Vasconcellos ZA, Neves RD, et al. Capsular contracture in silicone breast implants: insights from rat models. *An Acad Bras Ciênc.* 2016 Set;88(3):1459-70. DOI: <https://doi.org/10.1590/0001-3765201620150874>
- Kang SH, Shin KC, Kim WS, Bae TH, Kim HK, Kim MK. The preventive effect of topical zafirlukast instillation for peri-implant capsule formation in rabbits. *Arch Plast Surg.* 2015 Mar;42(2):179-85. DOI: <https://doi.org/10.5999/aps.2015.42.2.179>
- McNeill E, Crabtree MJ, Sahgal N, Patel J, Chuaiphichai S, Iqbal AJ, et al. Regulation of iNOS function and cellular redox state by macrophage Gch1 reveals specific requirements for tetrahydrobiopterin in NRF2 activation. *Free Radic Biol Med.* 2015 Feb;79:206-16. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.10.575>
- Butler CT, Reynolds AL, Tosetto M, Dillon ET, Guiry PJ, Cagney G, et al. A quininiib analogue and cysteinyl leukotriene receptor antagonist inhibits vascular endothelial growth factor (VEGF)-independent angiogenesis and exerts an additive antiangiogenic response with bevacizumab. *J Biol Chem.* 2017 Mar;292(9):3552-67. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.747766>
- Ulrich D, Ulrich F, Pallua N, Eisenmann-Klein M. Effect of tissue inhibitors of metalloproteinases and matrix metalloproteinases on capsular formation around smooth and textured silicone gel implants. *Aesthetic Plast Surg.* 2009 Jul;33(4):555-62. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00266-009-9335-y>
- Chen CZ, Raghunath M. Focus on collagen: in vitro systems to study fibrogenesis and antifibrosis - state of the art. *Fibrogenesis Tissue Repair.* 2009 Dec;2:7. DOI: <https://doi.org/10.1186/1755-1536-2-7>

*Autor correspondente:

Cristina Pires Camargo

Avenida Brigadeiro Luis Antonio, nº 4161 - Jardim Paulista, São Paulo, SP, Brasil

CEP 01402-002

E-mail: cristinacamargo@usp.br