



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Ciências Médicas

INFLUÊNCIA DA MEMBRANA DE COLÁGENO SUÍNO PURIFICADO
NA INTEGRAÇÃO TECIDUAL DE TELAS DE POLIPROPILENO
IMPLANTADAS EM RATAS

Luiz Carlos Maciel

Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas – Unicamp para obtenção de Título de Doutor em Ciências, área de concentração em Fisiopatologia Cirúrgica. Sob orientação do Prof. Dr. Cássio Luís Zanettini Riccetto e Co-orientação do Prof. Dr. Benedicto de Campos Vidal.

Campinas, 2011

LUIZ CARLOS MACIEL

**INFLUÊNCIA DA MEMBRANA DE COLÁGENO SUÍNO
PURIFICADO NA INTEGRAÇÃO TECIDUAL DE TELAS DE
POLIPROPILENO IMPLANTADAS EM RATAS**

Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do Título de Doutor em Ciências, área de concentração em Fisiopatologia cirúrgica

ORIENTADOR: Prof. Dr. Cássio Luís Zanettini Riccetto
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Benedicto de Campos Vidal

UNICAMP
2011

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
ROSANA EVANGELISTA PODEROSO – CRB8/6652 - BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS
MÉDICAS
UNICAMP**

M187i Maciel, Luiz Carlos, 1967 -
 Influência da membrana de colágeno suíno purificado
 na integração tecidual de telas de polipropileno
 implantadas em ratas. / Luiz Carlos Maciel. -- Campinas,
 SP : [s.n.], 2011.

Orientador : Cássio Luís Zanettini Riccetto
Coorientador : Benedicto de Campos Vidal
Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Prolapso de órgão pélvico. 2. Telas cirúrgicas. 3.
Fatores hospedeiros de integração. 4. Colágeno. I.
Riccetto, Cássio Luís Zanettini. II. Vidal, Benedicto de
Campos. III. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Purified porcine collagen membrane modulates integration of polypropylene mesh implant in rat model

Palavra-chave em inglês:

Pelvic organ prolapse

Surgical mesh

Integration host factors

Collagen

Área de concentração: Fisiopatologia Cirúrgica

Titulação: Doutor em Ciências da Cirurgia

Banca examinadora:

Cássio Luís Zanettini Riccetto [Orientador]

Benedicto de Campos Vidal [Coorientador]

Fábio Lorenzetti

Sidney Glina

Marcelo Lopes de Lima

Viviane Hermann Rodrigues

Data da defesa: 31-05-2011

Programa de Pós-Graduação: Faculdade de Ciências Médicas

Banca Examinadora da Defesa de Doutorado
LUIZ CARLOS MACIEL

Orientador: Prof. Dr. Cássio Luís Zanettini Riccetto

Membros:

1. Prof. Dr. Cássio Luís Zanettini Riccetto -

2. Prof. Dr. Fábio Lorenzetti -

3. Prof. Dr. Sidney Glina -

2. Prof. Dr. Marcelo Lopes de Lima -

3. Profa. Dra. Viviane Hermann Rodrigues -

Curso de Pós-Graduação em Ciências da Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 31/05/2011

Dedico este trabalho...

***À Patrícia, minha esposa, que soube compreender e
incentivar este sonho.***

***Aos nossos filhos Gabriela e Lucas, que vieram encher
de luz e felicidade a vida de nossas famílias.***

***À minha mãe, Conceição, pela sua inesgotável dedicação
aos filhos e aos netos.***

À minha irmã, Luciana, pela inspiração vinda de sua luz.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Paulo César Rodrigues Palma por todas as oportunidades que me ofereceu.

Ao Prof. Dr. Cássio Luís Zanettini Riccetto pela dedicação e paciência na confecção desta pesquisa e elaboração da tese, assim como por todas as oportunidades que me foram oferecidas.

Ao Prof. Dr. Benedicto de Campos Vidal pelas lições de vida, coragem e pensamento positivo, exemplo a ser seguido por todos.

Ao Prof. Dr. Deomir Germano Bassi pelo incentivo e confiança.

Ao Prof. Dr. Sidney Glina, amigo e incentivador.

Aos amigos de trabalho: Alberto Kalil Kobbaz, Frederico Vilela de Oliveira e Gustavo Notari de Moraes.

Aos funcionários do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Unicamp pela paciência e ajuda dedicada durante toda a fase inicial deste projeto.

A Sueli Chaves pela colaboração na editoração da tese..

A todos aqueles que em algum momento da minha vida contribuíram pela construção do conhecimento adquirido ao longo dos anos.

Aos funcionários da Diretoria de Apoio Didático, Científico e Computacional da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas pelo auxílio na documentação fotográfica, editoração e preparação dos diapositivos.

EPIGRAFE

***“Bom mesmo é ir a luta com determinação, abraçar a vida
com paixão, perder com classe e vencer com ousadia, porque
o mundo pertence a quem se atreve e a vida é “muito” pra ser
insignificante”***

Charles Chaplin

Sumário

Resumo	xii
Summary	xiv
1.Introdução	16
2.Objetivo.....	24
OBJETIVO GERAL	24
3. Material e Métodos	25
3.1. AMOSTRA	25
3.2. PREPARO DAS TELAS	26
3.3. ANESTESIAS E PREPARO	29
3.4. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO	29
3.5. COMPOSIÇÃO DOS GRUPOS DE ESTUDO E RE-OPERAÇÃO	34
3.6. ANÁLISE MICROSCÓPICA.....	37
4. Resultados	40
4.1. 7º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO	40
4.2. 14º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO.....	49
4.3. 28º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO.....	57
5.Discussão.....	67
5.1. CONSIDERAÇÕES SOBRE PROLAPSOS PÉLVICOS E ENVELHECIMENTO	67

5.2. CONSIDERAÇÕES SOBRE OS FUNDAMENTOS DO TRATAMENTO CIRÚRGICO ATUAL DOS PROLAPSOS PÉLVICOS.....	68
5.3. CONSIDERAÇÕES SOBRE A INTEGRAÇÃO DOS IMPLANTES SINTÉTICOS E BIOLÓGICOS	71
5.4. CONSIDERAÇÕES SOBRE O EMPREGO DE BIOMEMBRANAS NAS CIRURGIAS RECONSTRUTIVAS.....	73
6. Conclusões.....	79
7. Referências Bibliográficas	80

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

BMSS	Biomembrana de submucosa intestinal suína
CEEA	Comitê de Ética em Pesquisa com Animais
CEMIB	Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica
IB	Instituto de Biologia
FDA	Food and drug administration
MEC	Matriz extracelular
SIN	Sistema de Implantes

Lista de Figuras

	Página
Figura: 1	Biomembrana de colágeno suíno 28
Figura: 2	Local do implante no abdome do animal 30
Figura: 3	Tela de polipropileno à microscopia óptica 32
Figura: 4	Tela de polipropileno revestida com a BMSS à microscopia óptica 33
Figura: 5	Peças cirúrgicas em monobloco 35
Figura: 6	Esquematização da birrefringência 39
Figura: 7	Proliferação vascular 41
Figura: 8	BMSS revestindo a tela de polipropileno e o infiltrado inflamatório 42
Figura: 9	BMSS revestindo a tela de polipropileno com a birrefringência compensada 43
Figura: 10	BMSS revestindo a tela de polipropileno coma birrefringência não compensada 44
Figura: 11	Fio da tela de polipropileno sendo encapsulado 46
Figura: 12	Células gigantes 47
Figura: 13	Presença de fibroblastos 48
Figura: 14	Infiltrado linfomonocitário 50
Figura: 15	Infiltrado inflamatório próximo à BMSS 51
Figura: 16	Congestão e dilatação vascular 52

Figura: 17	Envoltório fibroblástico e células gigantes	54
Figura: 18	Envoltório fibroblástico	55
Figura: 19	Tecido mixomatoso ao redor do fio da tela de polipropileno	56
Figura: 20	Proliferação fibroblástica, birrefringência não compensada	58
Figura: 21	Birrefringência da proliferação fibroblástica	59
Figura: 22	Neoformação vascular	60
Figura: 23	Granuloma de corpo estranho	61
Figura: 24	Envoltório linfomonocitário encapsulando o fio da tela de polipropileno	63
Figura: 25	Redução do infiltrado linfomonocitário	64
Figura: 26	Célula gigante	65
Figura: 27	Célula gigante	66

Resumo

Introdução: O aumento da expectativa de vida elevou o risco da necessidade de cirurgia para o tratamento dos prolapsos de órgãos pélvicos (PO) em mulheres, principalmente no período pós-menopausa. Os distúrbios ocasionados pelos POP afetam a qualidade de vida, ao estabelecer alterações na sexualidade, função urinária e intestinal. Neste cenário, o uso das telas ganhou popularidade. Embora as telas de polipropileno sejam consideradas um bom material para restaurar o assoalho pélvico, diminuindo o tempo cirúrgico e a dor pós-operatória, existem preocupações quanto à infecção e exposição da tela. **Objetivos:** Estudar as características da deposição colágena associada aos implantes subcutâneos de telas de polipropileno revestidas por biomembrana de colágeno de submucosa intestinal suína (BMSS) em ratas, e descrever as características da reação inflamatória local. **Material e Métodos:** 30 ratas fêmeas foram divididas em três grupos conforme a data de eutanásia (7º; 14º, e 28º pós-operatório). Foram implantadas no subcutâneo abdominal destes animais um segmento de tela de polipropileno revestida com colágeno à direita e outro segmento de tela não revestida no lado esquerdo. O material foi fixado em HE e analisado no microscópio de polarização Olympus BX51 e acoplado ao software image Pro plus 6.0 para estudar as propriedades anisotrópicas do colágeno e as características da reação inflamatória local. **Resultados:** 7ºPO: A biomembrana induziu intensa

proliferação vascular, vasodilatação, infiltração de linfócitos e proliferação fibroblástica. No subgrupo da tela de polipropileno isolada notaram-se predomínio de células com aspecto histiocitário e células gigantes. 14ºPO: No subgrupo da biomembrana persistiu o infiltrado predominantemente linfocitário semelhante ao 7ºPO. Não ocorreram alterações expressivas na intensidade da deposição colágena, persistiu o aspecto de congestão vascular. No subgrupo do polipropileno isolado, observou-se alguma proliferação fibroblástica em torno dos filamentos de polipropileno, além de células gigantes achatadas pelo envoltório de colágeno e fibroblastos, mantendo pouco infiltrado linfocitário, em relação à tela recoberta pela biomembrana. 28º PO: No subgrupo da biomembrana de colágeno observou-se intensa deposição colágena com diminuição do infiltrado linfocitário e presença de mononucleares histiocitários. No subgrupo da tela de polipropileno isolada evidenciaram-se células gigantes as quais apresentavam tendência de envolver o polímero, além de menor infiltrado fibroblástico em comparação ao grupo recoberto com a biomembrana. **Conclusão:** A tela de polipropileno revestida pela BMSS evidenciou resolução precoce da inflamação, melhor neoangiogênese e deposição colágena melhor organizada do que a tela não revestida. Isto pode representar uma vantagem em segmentos clínicos se estes resultados experimentais puderem ser reproduzidos em outros estudos.

Summary

Introduction: The raise of expectance of life has brought an increase of women which will underwent pelvic organ prolapse (POP) surgery, mainly in the post menopause period. The distress caused by POP affects women's quality of life, as it alters their sexuality, urinary and bowel functions. In this scenario, the use of meshes is gaining popularity worldwide. Although polypropylene mesh (PM) is considered a good material to restore the pelvic floor, decreasing operative time and post-operative pain, there are concerns about infection and vaginal mesh exposure. **Objetives:** To study the characteristics of collagen deposition related to covering subcutaneous implants of monofilament polypropylene mesh in rats with purified suine collagen biomembrane and to describe the characteristics of the local inflammatory reaction. **Methods:** Thirty female rats were shared in three groups according to the euthanasia's day (7^o; 14^o, 28^o post-operative day). Polypropylene meshes were implanted at abdominal subcutaneous, on the right side the mesh covered by a collagen biomembrane and on the left side a non covered PM. The material were stained with HE and analyzed with Olympus BX51 polarized microscope and image Pro plus 6.0 software to study the collagen anisotropic properties and inflammatory reaction. **Results:** In the 7^o PO the CM group showed vascular proliferation and intense infiltration of lymphocytes and

fibroblasts. The PM without CM group presented a intense histiocytary infiltrate and a mild fibroblastic reaction and angiogenesis. At the 14^o PO, the group A maintained a similar lymphocytic infiltrate which was observed at the 7^o PO, without expressive alterations in the degree of fibroblastic reaction and collagem deposition. In the group B, there was a intense fibroblastic reaction surrounding the PM. Also, there were multinucleated giant cells crushed by a wrap of collagen and fibroblasts. In the 28^o PO, the group A revealed an intense fibroblastic reaction process and collagen deposition. In contrast, in the group B, it is observed that the multinucleated giant cells tried to wrap up the polypropylene, and there were a decrease of fibroblastic reaction in comparison to the PM with CM group.

Conclusions: PM covered with a purified porcine collagen membrane showed earlier resolution of inflammatory reaction, better neoangiogenesis and more organized host collagen deposition than in pure PM. This can represent an advantage in clinical setting if these experimental results proved to be reproducible in other trials.

1.Introdução

Os avanços da medicina contemporânea ampliaram a expectativa de vida das mulheres além da oitava década, permitindo que desfrutem de vidas longas e produtivas. Isso resulta numa grande população feminina que viverá por mais de trinta anos após a menopausa, gerando, assim, novas doenças e questões de saúde pública (1,2,3). Entre os problemas a considerar, encontram-se os prolapsos vaginais, que possuem prevalência e incidência maiores com o decorrer da idade. Estima-se que, entre mulheres adultas relativamente saudáveis com sessenta anos ou mais, cerca de um terço possuem algum grau de prolapso vaginal (1,2,4).

Os prolapsos de órgãos pélvicos (POP) decorrem do enfraquecimento das estruturas de sustentação dos órgãos pélvicos, os quais determinam várias anormalidades clínicas. Os defeitos das estruturas de sustentação podem ser classificados de acordo com sua localização anatômica em anormalidades da parede vaginal anterior (cistocele), defeitos apicais (prolapso uterino e ou da cúpula vaginal e a enterocele); e anormalidades da parede posterior (retoceles e rupturas perineais) (1,2,3,5).

As anormalidades clínicas causadas pelo relaxamento pélvico compreendem incontinência urinária, infecção urinária (por acúmulo residual de urina), sintomas associados às disfunções miccionais (disúria, urgência, frequência), sensação de pressão vaginal, plenitude retal, evacuação incompleta, dor lombar baixa, dispareunia, incontinência de fezes ou gases, leucorréia, menometrorragia, ulcerações da parede vaginal, entre outras; ou seja, alterações na sexualidade, na micção e na evacuação (1,3). Tais sintomas aparecerão em maior ou menor gravidade dependendo do tipo de prolapso e do estágio em que este se encontra.

Vários mecanismos levam a prolapsos vaginais. A diminuição dos níveis de estrógenos, o enfraquecimento da musculatura pélvica e periuretral associadas ao aumento da idade, podem predispor aos prolapsos. O hiato vaginal é uma área de fraqueza potencial. O enfraquecimento dos segmentos pubococcígeo e puborretal dos músculos elevadores do ânus, seja devido ao nascimento traumático ou às alterações evolutivas, amplia o hiato urogenital e transforma essa área potencial de fraqueza em uma falha verdadeira. Se houver lesão ou enfraquecimento simultâneo da fáscia endopélvica (ligamentos uterossacrais e cardinal, fáscias retovaginal e pubocervical), a pressão intra-abdominal elevada acarretará aos poucos o prolapso de útero, cistocele, prolapso vaginal posterior e enterocele (1,2,3,5,6).

O POP anterior é causado pelo estiramento, enfraquecimento ou laceração propriamente dita da região central da fáscia pubovesicocervical ou no nível de sua inserção no arco tendíneo do músculo elevador do ânus. A retocele é

uma hérnia da parede vaginal posterior causada pela ruptura dos tecidos conjuntivos fibrosos (fáscia retovaginal), situados entre o reto e a vagina. O prolapso uterino é a descida do útero pelo canal vaginal, condição devida às falhas nas estruturas de sustentação do útero e vagina, incluindo ligamentos uterossacrais, complexo do ligamento cardinal e tecido conjuntivo da membrana urogenital (1,2,3,5,6).

Diversos tratamentos cirúrgicos já foram descritos com o intuito de curar os prolapso vaginais. Contudo, a eficácia destes métodos não tem sido satisfatória. A maioria dos procedimentos é baseada em técnicas de correção exclusivamente com suturas. Estudos demonstraram que tais técnicas, apesar de eficazes por determinado período de tempo, apresentam altas taxas de recorrência após seguimento prolongado (1,7,8,9). Ademais, muitas vezes, corrigem o defeito, mas não os sintomas, como de incontinência e dispareunia (1,8). Assim, são descritas taxas de recidiva do prolapso anterior de cerca de 60% após a colporrafia anterior, e de 20% após a colpossuspensão de Burch, apesar de este último apresentar elevada taxa de sucesso inicial (85%) (7). Da mesma forma, apesar do reparo paravaginal apresentar sucesso de 67% a 100% (10), complicações significativas foram descritas como obstrução ureteral bilateral, hematoma retropúbico, abscessos vaginais, necessidade de transfusão emergencial, entre outros (11). Também são altas as taxas de recorrência dos prolapso e complicações após sacroespinhosopexia (8), assim como na abordagem transanal das retoceles, que pode comprometer esfíncter anal e levar a incontinência de gases e fezes, dor anal, estreitamento retal e fístulas

retovaginais (12). A colporrafia posterior, também muito empregada, pode associar-se com taxas de recorrência de 18% a 24% após um ano do procedimento (13).

Desta forma, diante do exposto, não existe na atualidade técnica baseada em suturas, que tenha eficácia suficiente para promover cura total e duradoura dos prolapsos vaginais.

Tendo em vista os limites das cirurgias tradicionais em restaurar a anatomia e função dos órgãos pélvicos nos prolapsos vaginais, o uso de telas para reconstrução do suporte das vísceras pélvicas em prolapsos acentuados vem sendo estudado. Vários estudos sugeriram vantagens do emprego de telas nos prolapsos anteriores acentuados (14,15,16,17,18,19). Contudo o *Food and Drug Administration* recebeu entre os anos de 2005 a 2008 mais de 1.000 comunicados de complicações relacionadas às telas de polipropileno produzidas por nove diferentes empresas (20). Em uma recente revisão sobre a correção transvaginal dos prolapsos pélvicos com telas de polipropileno, a taxa de exposição da tela no pós-operatório foi 10,2% em 127 pacientes operadas, entretanto os relatos na literatura variam de 3,8% à 25% (10,11,12,15,16,17,18,21). Apesar disso, os estudos sugerem que o uso de próteses está associado com menor tempo cirúrgico e melhor resultado anatômico (10,11,12,15,17,19).

O emprego de próteses para tratamento dos prolapsos vaginais seja de forma isolada ou combinada com os procedimentos cirúrgicos tradicionais tem diminuído, consideravelmente, a taxa de recorrência e de persistência dos

sintomas no pós-operatório (8). Em um estudo de 1996 envolvendo mulheres que já haviam realizado duas ou mais cirurgias reparadoras sem sucesso, e que foram submetidas ao reparo do prolapso com tela de polipropileno (Marlex[®]), evidenciou-se redução da recidiva reportada na literatura de 33% para 0% (22). Em pacientes que só realizaram colporrafia anterior, quando comparadas com outras que realizaram colporrafia anterior associada com o implante de tela de poligalactina, a taxa de sucesso no segundo procedimento foi de 75% e superior à do primeiro (57%). Na colporrafia posterior com ou sem tela de poligalactina, a diferença da taxa de recorrência entre os grupos foi de 24%, a qual foi favorável ao grupo no qual a prótese foi utilizada no tratamento (23).

Dentre os vários materiais sintéticos e autólogos propostos até o presente, a tela de polipropileno tem sido o mais aceito, com base nos resultados clínicos, que têm evidenciado boa biocompatibilidade, do ponto de vista da resposta do hospedeiro à prótese, a qual, de maneira geral, é pouco exudativa, e sem evidências de respostas imunológicas clinicamente relevantes (24,25). Ademais, o polipropileno tem sido empregado no tratamento cirúrgico das hérnias abdominais há vários anos, sem evidências de reações tardias ao material ou de efeitos carcinogênicos (26,27,28,29). Uma variedade de próteses de polipropileno vem sendo usadas para o tratamento dos prolapsos vaginais anteriores e posteriores com taxas de sucesso que variam de 75% a 100% (30,31,32,33). As próteses utilizadas modernamente são todas confeccionadas com trançamento monofilamentar e com macroporos e diferem uma das outras quanto a sua

configuração, local e maneira como são ancoradas aos tecidos pélvicos (34,35,36,37).

Estudos concluíram que o uso do polipropileno para o tratamento do prolapso vaginal é altamente efetivo e relativamente seguro. Permitem a redução da duração do ato cirúrgico, sem o risco de transmissão de doenças dos enxertos biológicos e apresentam resultados anatômicos superiores (17,30,31,32,33,38,39,40).

Estudos demonstraram taxa de sucesso de 91% no uso das telas de polipropileno no reparo transvaginal/transperineal de prolapso vaginal posterior (33,40,41,42). Em outro estudo confirmou-se que o uso da tela de polipropileno associada a um sling foi um tratamento eficiente para reparo do prolapso vaginal anterior (43).

As pacientes submetidas à colporrafia anterior, suspensão sacroespinal, colporrafia posterior e histerectomia associados ao uso de telas de polipropileno relataram, no pós-operatório, alta taxa de satisfação com o resultado cirúrgico (96%) e durante o seguimento não apresentaram recorrência do problema com melhora significativa da qualidade de vida (33,39,40,41,42).

Todavia, apesar dos resultados promissores apresentados com o uso das próteses de polipropileno no tratamento dos prolapsos vaginais, há problemas potenciais com sua utilização no períneo feminino. A literatura demonstra claramente maior risco de complicações locais da cirurgia tais como a erosão da uretra e/ou tecidos vizinhos, extrusão/exposição da tela na parede vaginal, dispareunia, infecção da prótese, dor e sangramento vaginal. (8,15,30,31,32,33,

44,45,46). Além do períneo e vagina, há descrições de complicações relacionadas à reação inflamatória desencadeada pela tela de polipropileno quando esta é implantada em outros sítios anatômicos, tais como o risco de obstrução do canal deferente, quando empregada para correção de hérnia inguinal (47,48).

Como os problemas com telas são relativamente frequentes e podem determinar a necessidade de remoção da prótese em decorrência de infecção secundária, a qual pode advir da extrusão/exposição da tela, justifica-se o desenvolvimento de estratégias que possibilitem reduzir estes eventos na parede vaginal.

Testes iniciais em cultura de fibroblastos mostraram que estas células reconhecem e aderem-se às fibras de colágeno obtido de material heterólogo (submucosa intestinal suína). Tais qualidades suportam a hipótese de que uma membrana biológica possa ser usada como um arcabouço junto à tela de polipropileno (49,50). A biomembrana processada a partir de submucosa intestinal de suínos tem sido empregada no tratamento de algumas doenças, tais como lesões ortopédicas, enduratio penis, lesões axonais, incontinência urinária de esforço e também prolapsos genitais (45,51,52,53,54,55).

Com fundamento no que tem sido reportado na literatura, a proposta de revestir a tela de polipropileno com a biomembrana de submucosa intestinal suína (BMSS) para modular a fase inicial da integração da prótese ao hospedeiro, possibilitando a melhor incorporação da tela aos tecidos circunvizinhos surge como uma proposta de evolução dos materiais cirúrgicos.

A composição da BMSS e sua supra-organização estrutural a torna qualificada para favorecer a adesividade plaquetária e hemostasia primária local. As plaquetas aderidas liberam fator de crescimento para fibroblastos e fatores estimulantes da angiogênese (56,57). Dessa forma, é possível postular que o revestimento de telas sintéticas pela BMSS aprimore as reações proliferativas do reparo tecidual e, assim, contribua para sua adaptação biológica e funcional.

2.Objetivo

Objetivos

Estudar a influência do recobrimento com biomembrana de colágeno suíno sobre a integração de telas de polipropileno monofilamentar no tecido subcutâneo de ratas adultas.

Avaliar a organização supramolecular da deposição colágena em torno das telas recobertas em relação às telas implantadas isoladamente, por meio de microscopia óptica e de polarização.

Descrever, de forma qualitativa, as características da reação inflamatória em torno das telas recobertas em relação às telas implantadas isoladamente.

3. Material e Métodos

O presente estudo foi desenvolvido no Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental (Laboratório de Biomateriais em Urologia) e Laboratório de Biologia do Colágeno tipo I e II e Laboratório de Anisotropias Ópticas de Biopolímero do Departamento de Anatomia, Biologia Celular e Fisiologia e Biofísica do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas-Unicamp, após aprovação da Comissão de Ética na Experimentação Animal, Comitê de Ética em Pesquisa com Animais do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (CEEa-IB-Unicamp), conforme protocolo 1336-1.

3.1. Amostra

Nas dependências do Núcleo de Medicina e Cirurgia da Unicamp, foram operadas 30 ratas Large Wistar, fêmeas, brancas, pesando entre 290g e 430g, com três meses de idade, período este em que os animais já se tornaram adultos e, portanto capazes de reproduzir (58). Todos os animais foram fornecidos pelo Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica na Área da Ciência em Animais de Laboratório da Universidade Estadual de Campinas (CEMIB-Unicamp).

3.2. Preparo das telas

As telas foram preparadas no Laboratório de Biologia do Colágeno tipo I e II e Laboratório de Anisotropias Ópticas de Biopolímero do Departamento de Anatomia, Biologia Celular e Fisiologia e Biofísica do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas-Unicamp.

As biomembranas de colágeno suíno empregadas no estudo foram sintetizadas e preparadas no Laboratório de Biologia do Colágeno tipo I e II e Laboratório de Anisotropias Ópticas de Biopolímero do Departamento de Anatomia, Biologia Celular e Fisiologia e Biofísica do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas-Unicamp, conforme processo desenvolvido neste laboratório (SIN – Sistema de implantes, Patente número: 18090033649, registrado com o número PI0902410-7). Após ter sido submetida a processos enzimáticos e de descelularização, a biomembrana apresenta apenas componentes da matriz extracelular (MEC) que compõe a submucosa intestinal suína (Figura 1). Dentre esses componentes predominam os diferentes tipos de colágenos (mais abundantes o tipo I) e glicosaminoglicanos (condroitim sulfato, heparina, heparan, sulfato e ácido hialurônico), fatores de crescimento, proteoglicanos e glicoproteínas não-colagênicas (59,60,61).

A partir de telas de polipropileno monofilamentar com macroporos (Prolene® Mesh Ethicon®, inc; lote número: RME077) medindo 15cm por 15cm, foram confeccionados segmentos de 1,5cm por 1,5cm. Trinta unidades foram processadas de forma que suas duas faces fossem cobertas com um segmento de biomembrana de colágeno suíno medindo 1,5cm por 1,5cm por 0,1cm de

espessura. Obteve-se a fixação destas membranas por meio do uso de um preparado de colágeno porcino produzido no mesmo laboratório. Todo o material a ser implantando foi acondicionado em envelopes plásticos individuais e esterilizado com radiação Gama. Não foi empregada antibioticoprofilaxia nos procedimentos cirúrgicos.

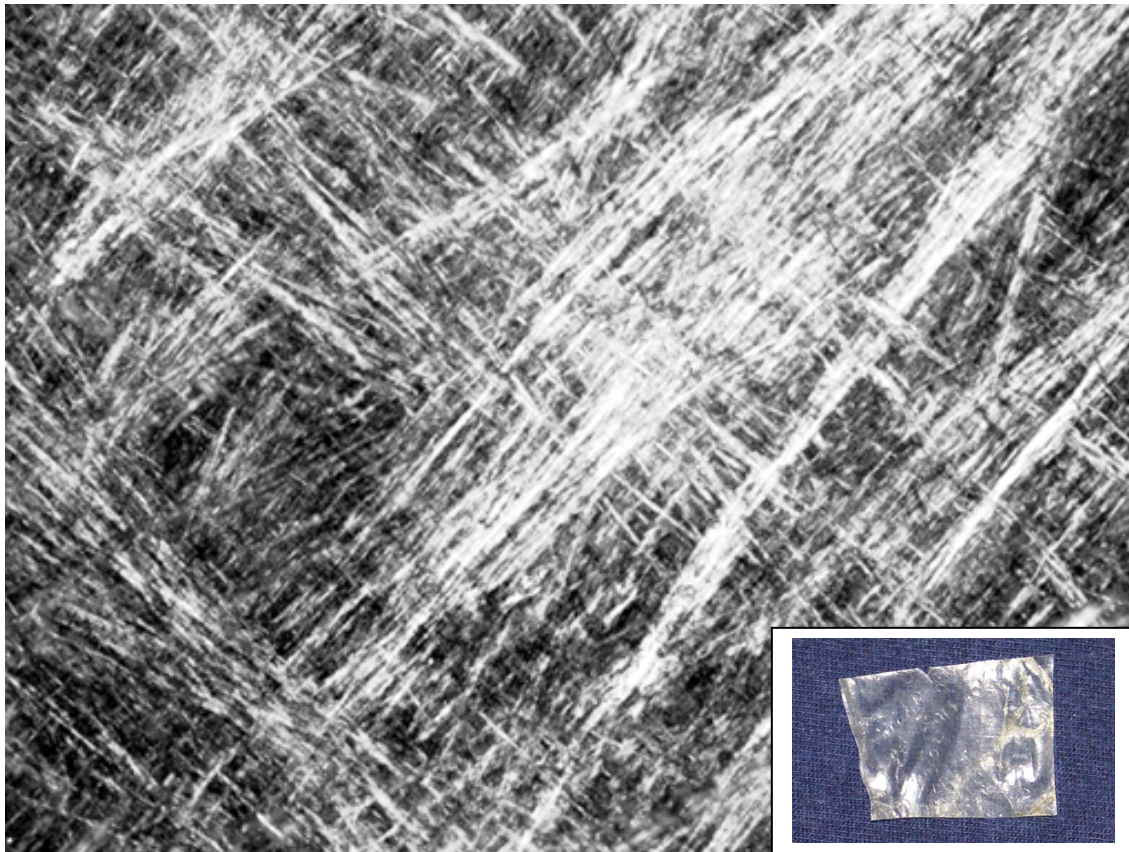


Figura 1. Camada única de biomembrana de submucosa intestinal suína. Visão por microscopia eletrônica. No canto inferior a esquerda visão macroscópica da biomembrana de submucosa intestinal suína (BMSS), sobre um fundo azul (Sony alfa 100, lente 70 mm, f/5,6, velocidade ISSO-400).

3.3. Anestesias e preparo

Os animais foram submetidos à anestesia com Pentobarbital sódico 45mg/kg por via venosa, através da punção de acesso na cauda do animal, e a seguir posicionados em decúbito dorsal horizontal. Foi, então, realizada tricotomia abdominal, e antissepsia com Polivinilpirrolidona-iodo a 10%.

3.4. Descrição do procedimento

Após a indução anestésica, seguiram-se os procedimentos gerais prévios ao ato cirúrgico.

Respeitando-se os princípios de assepsia e antissepsia, foi realizada incisão transversa infra-umbilical no hipogástrio da rata e dissecção do espaço subcutâneo com tesoura a fim de permitir o implante das telas de polipropileno, evitando-se o comprometimento da membrana de tecido conjuntivo existente na linha média do abdome, a qual o divide em duas metades, direita e esquerda. (Figura 2).



Figura 2. Incisão transversa no hipogástrio do animal, exibindo tecido conjuntivo presente na linha média o qual divide o abdome em duas metades, direita e esquerda nas quais foram implantadas as telas.

A seguir, foi posicionado um segmento de tela de polipropileno monofilamentar (0,6mm) com macroporos (2mm²) (Prolene® Mesh Ethicon®, inc; lote número: RME077) medindo 1,5cm por 1,5cm no lado esquerdo do abdome do animal (Figura 3).

No lado direito do abdome foi implantado retalho de tela de polipropileno monofilamentar (0,6mm) com macroporos (2mm²) (Prolene® Mesh Ethicon®, inc; lote número: RME077) medindo 1,5cm por 1,5cm, revestida pela biomembrana de colágeno da submucosa do intestino suíno (Figura 4).

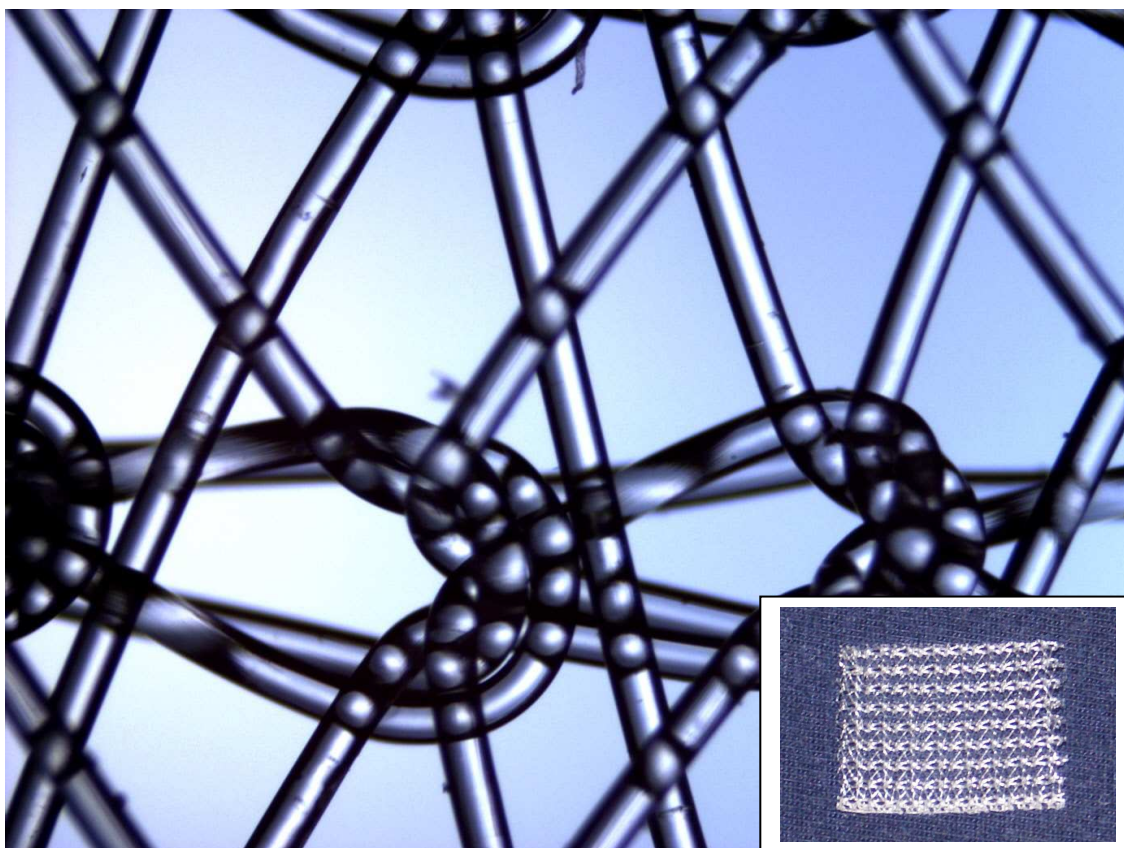


Figura 3. Tela de polipropileno não revestida pela biomembrana de colágeno suíno. Microscopia óptica, 4X0,65; No canto inferior esquerdo a visão macroscópica da tela de polipropileno isolada, sobre um fundo azul (Sony alfa 100, lente 70 mm, f/5,6, velocidade ISSO-400).

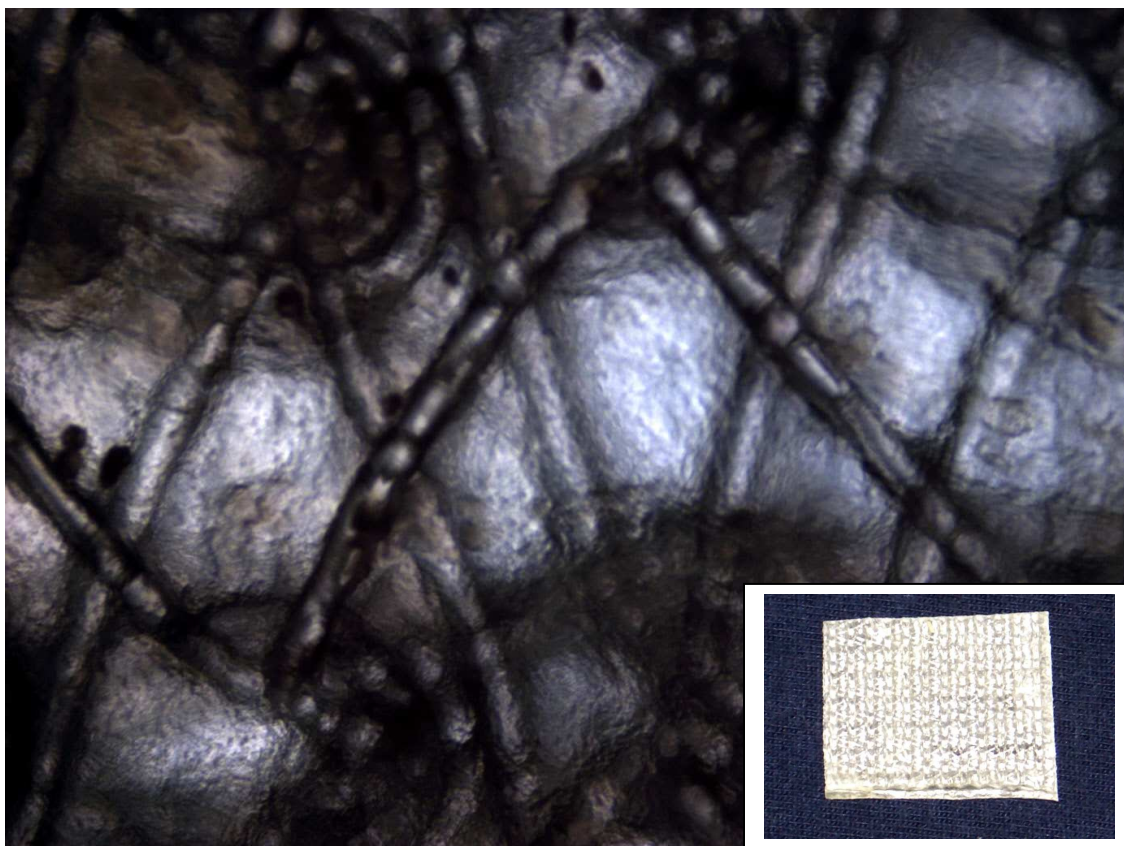


Figura 4. Tela de polipropileno revestida pela biomembrana de colágeno suíno. Microscopia óptica, 4X0,65; No canto inferior esquerdo visão macroscópica da tela revestida com a BMSS, sobre um fundo azul (Sony alfa 100, lente 70 mm, f/5,6, velocidade ISSO-400).

3.5. Composição dos Grupos de Estudo e Re-operação

Os 30 animais foram divididos em três grupos, cada qual com 10 animais, de acordo com o tempo decorrido até a re-operação, conforme descrito a seguir (Tabela 1).

Tabela 1. Tempo decorrido entre o implante da tela de polipropileno e a re-operação nos diferentes grupos de estudo

Grupo I	7 dias
Grupo II	14 dias
Grupo III	28 dias

Na re-operação, os animais foram anestesiados da mesma maneira que no procedimento inicial e posicionados em decúbito dorsal horizontal. Foi, então, realizada tricotomia abdominal e antisepsia com polivinilpirrolidona-iodo a 10%. A seguir, foi realizada incisão mediana, separando os lados direito e esquerdo do abdome, com posterior exereses do retalho de pele total contendo o implante da tela de ambos os lados de tal maneira que as peças pudessem ser acondicionadas em recipientes separados (Figura 5).

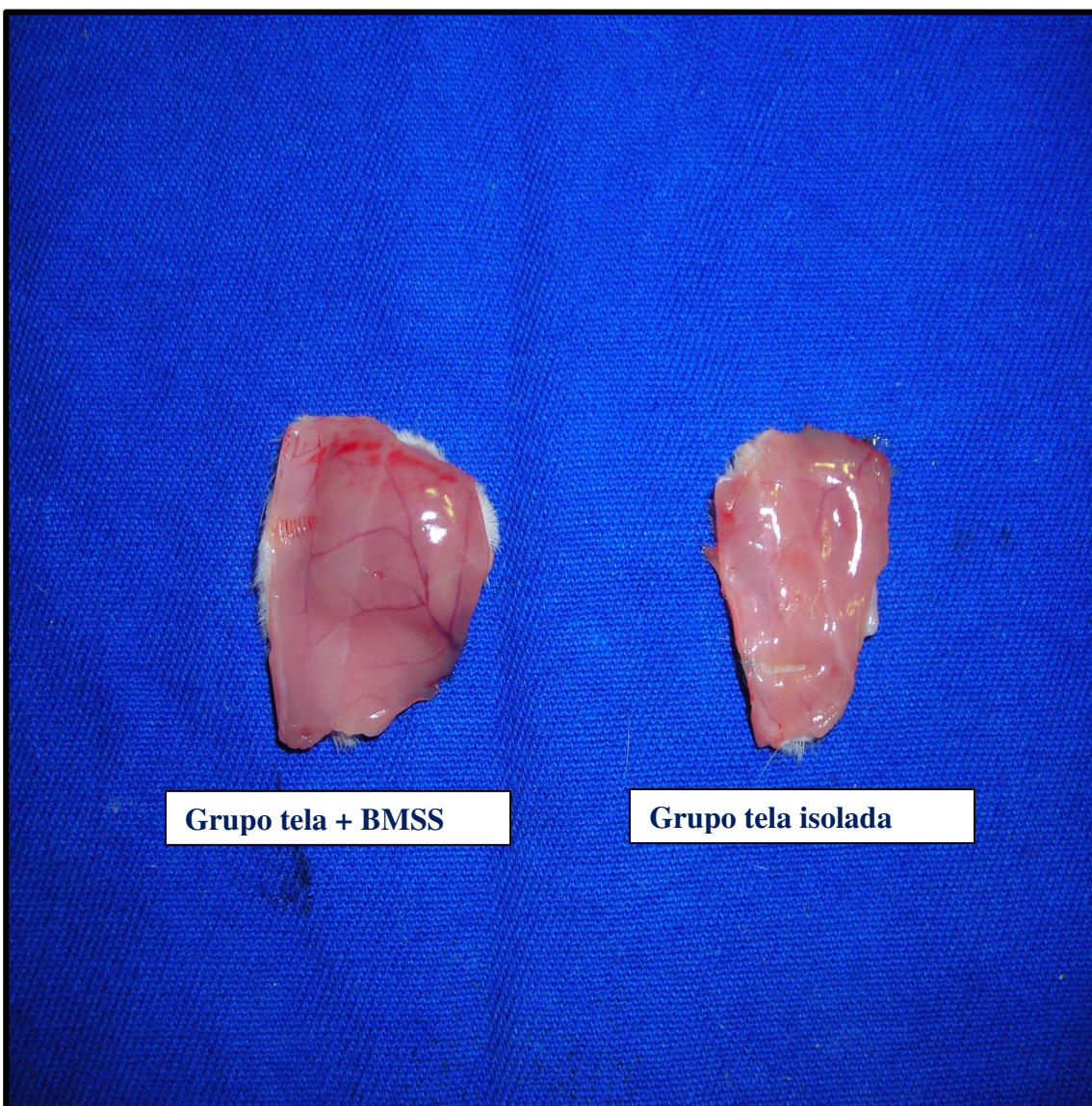


Figura 5. Retalhos de pele total contendo os implantes de polipropileno no 7º dia de pós-operatório; à direita peça com a tela revestida pela biomembrana; à esquerda tela isolada (sem a biomembrana). Sony A100, lentes 3.5-5.6;

Terminada a ressecção das peças operatórias da direita e da esquerda, os animais foram sacrificados, por meio de hipóxia induzida por dose letal de anestésico.

A fixação dos espécimes foi realizada em formalina a 10% tamponada, na qual foram mantidos, por seis horas, em sistema de vácuo, com o objetivo de remover o ar que porventura estivesse ocupando o tecido, visando melhorar as condições para a avaliação histológica. Após 12 horas, o material foi transferido para álcool a 70% e mantido sob refrigeração. Os retalhos de pele foram então submetidos ao preparo macroscópico, durante o qual foi retirado o excesso de pele. Finalmente, os espécimes foram seccionados ao meio, de tal maneira que os blocos de parafina pudessem ser confeccionados com as bordas do centro da tela voltadas para a face de corte no micrótomo.

Os cortes histológicos foram realizados com espessura de sete micrometros, que possibilita adequada avaliação das propriedades anisotrópicas. Os cortes foram corados com Hematoxilina-Eosina. Em cada lâmina foram dispostas quatro peças do material, cada qual composto por pele, tecido subcutâneo contendo a tela de polipropileno, fáscia abdominal, musculatura abdominal e peritônio parietal.

3.6. Análise microscópica

As avaliações histológicas foram realizadas no Laboratório de Biologia do Colágeno tipo I e II e Laboratório de Anisotropias Ópticas de Biopolímero do Departamento de Anatomia, Biologia Celular e Fisiologia e Biofísica do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas-Unicamp. Para tanto foi utilizado um Microscópio de Polarização Olympus BX51 (Olympus, Tokyo-Japan), acoplado ao computador contendo o Software Image Pro-Plus 6.0 (Mediacybernetics, Inc; Bethesda, MD-USA) que foi empregado para a análise da birrefringência.

Os tecidos podem ser visualizados macroscopicamente e microscopicamente porque interagem com a luz. Isto decorre da capacidade de absorção e refração da onda luminosa. Esta propriedade de absorção e a refração que os tecidos apresentam criam situações conhecidas como anisotropias, as quais possibilitam estudos de características físico-químicas, celulares e teciduais com ou sem o auxílio de colorações específicas (62,63,64,65,66).

A análise de propriedades ópticas anisotrópicas das estruturas baseadas em colágeno é um excelente método para determinação da ordem molecular nos estudos de estrutura e função da matriz extracelular (65,67,68,69).

A birrefringência é uma forma de anisotropia óptica e, para o seu adequado estudo o auxílio da microscopia de polarização é condição básica.

Nesta forma de microscopia o objeto é posicionado entre dois filtros polarizadores (analisador e polarizador), sendo um cruzado em relação ao anterior de tal sorte que a luz plano-polarizada será barrada pelo analisador. A luz, ao atravessar o objeto de estudo (este birrefringente) será desmembrada em dois vetores perpendiculares com índices de refração diferentes produzindo uma onda de luz elíptica que refletirá as características do arranjo cristalino do objeto de estudo (49,63,65,66,69). O brilho exibido pelo objeto de estudo depende da sua birrefringência e varia conforme o caminho ou retardo óptico, o qual cria uma diferença de fase a qual é percebida nas diferentes cores de interferência que o brilho da birrefringência apresenta (Figura 6) (49,62,63,64,65,66,67,68,70).

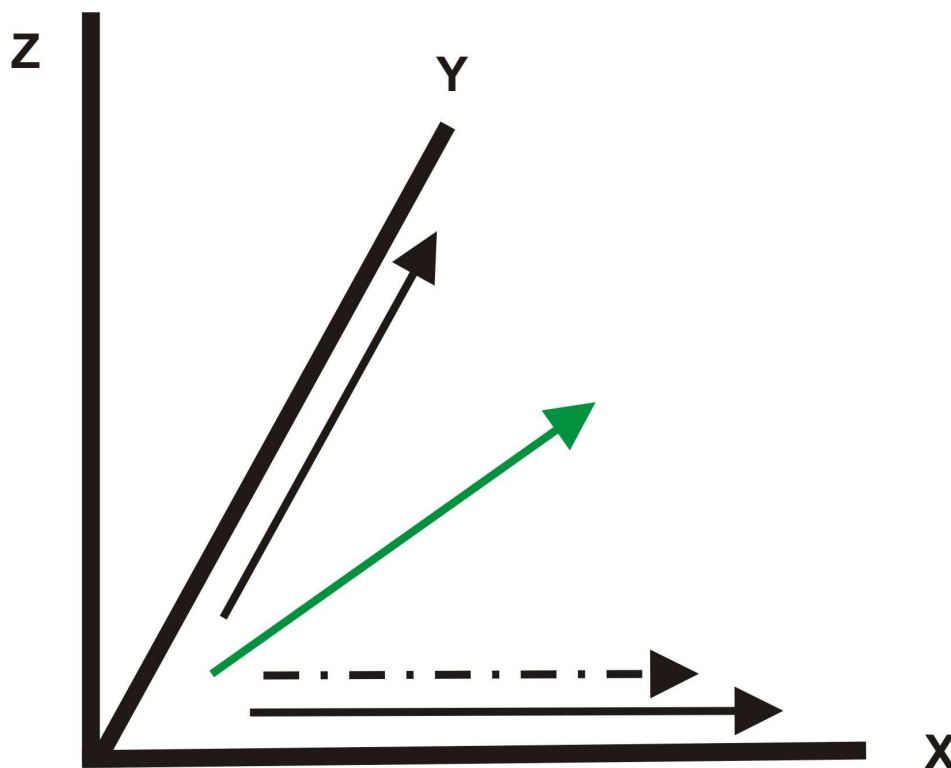


Figura 6. Esquema representativo da intensidade da Birrefringência. A direção da vibração do analisador (eixo Y) é perpendicular ao polarizador. A direção da vibração do polarizador é o eixo X. O eixo Z corresponde aos valores do retardo óptico do brilho da birrefringência. A seta verde representa uma estrutura birrefringente homogênea. Neste caso, o paralelismo da fibra hipotética é composto por macromoléculas totalmente orientadas 45° em relação ao cruzamento dos polarizadores, cujo resultado é o máximo de brilho. Se o objeto é posicionado paralelo a um dos polarizadores (Analisador ou polarizador) não há birrefringência a ser evidenciada (extinção da birrefringência), representado por duas setas negras finas paralelas aos eixos X e Y. A seta tracejada representa um objeto cuja orientação de suas fibras em relação aos polarizadores apresenta profundidades diferentes, o segmento negro representa fibras paralelas ao polarizador e os espaços em branco e os pontos com outras orientações das fibras (ondulação). Informações tridimensionais do objeto de estudo podem ser obtidas a partir destes parâmetros. Adaptado de Vidal BC, 2010 (65).

4. Resultados

No período de observação não houve óbitos, assim como não ocorreram extrusões das telas implantadas no subcutâneo dos animais nem comportamentos ou reações que sugerissem ação sistêmica da tela ou da biomembrana.

Os animais foram sacrificados e as peças cirúrgicas retiradas e analisadas conforme descrito a seguir:

4.1. 7º dia pós-operatório

Tela de polipropileno envolvida pela biomembrana: Houve intensa proliferação vascular, vasodilatação e grande infiltração de monócitos com aspecto linfocitário (Figura 7). Restos nucleares de neutrófilos também foram observados junto às biomembranas como nos fios da tela de polipropileno (Figuras 8). Na análise da birrefringência, demonstrou-se proliferação fibroblástica intensa, acompanhada de produção de finas fibras de colágeno em torno dos filamentos de polipropileno (Figura 9). A intensidade da birrefringência verificada permite afirmar que tais fibras foram formadas recentemente, evidenciando a presença de estímulo fibroblástico local (Figura 10).

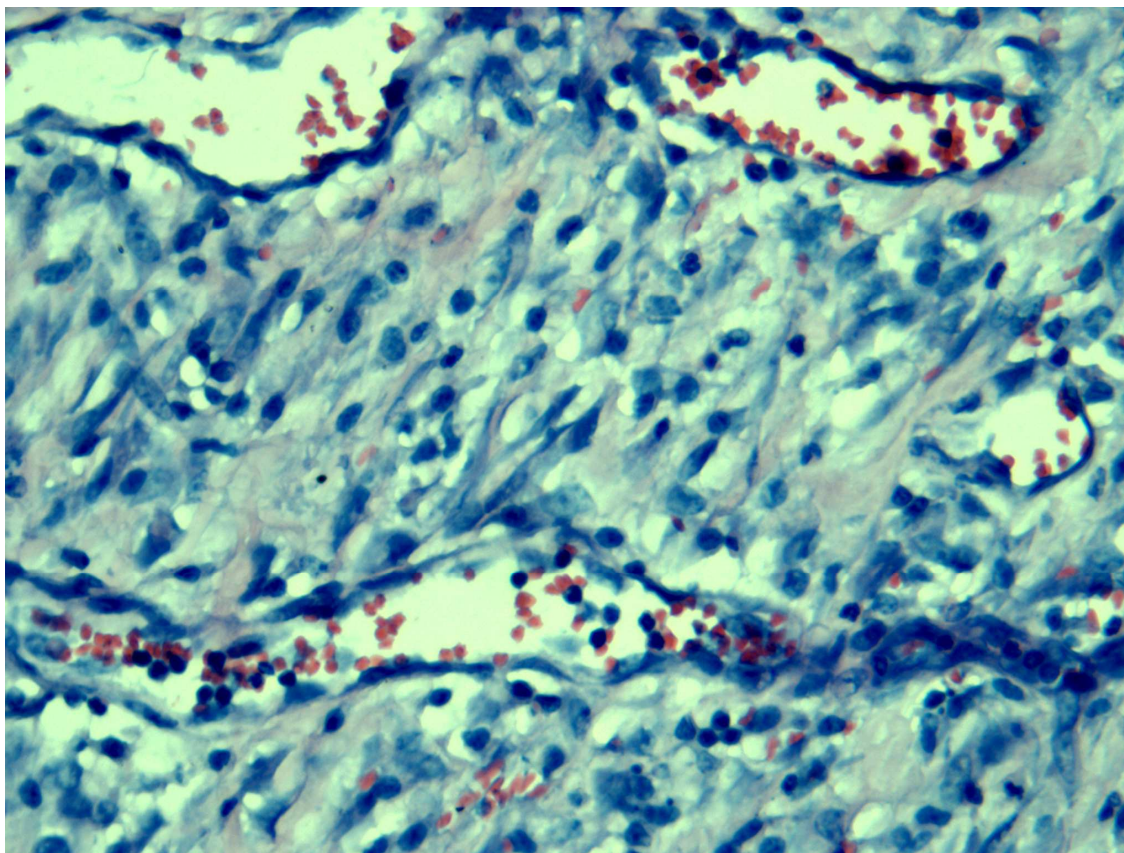


Figura 7: Proliferação vascular, vasodilatação e infiltração linfocitária. Tela revestida pela BMSS. HE 20X0,65.

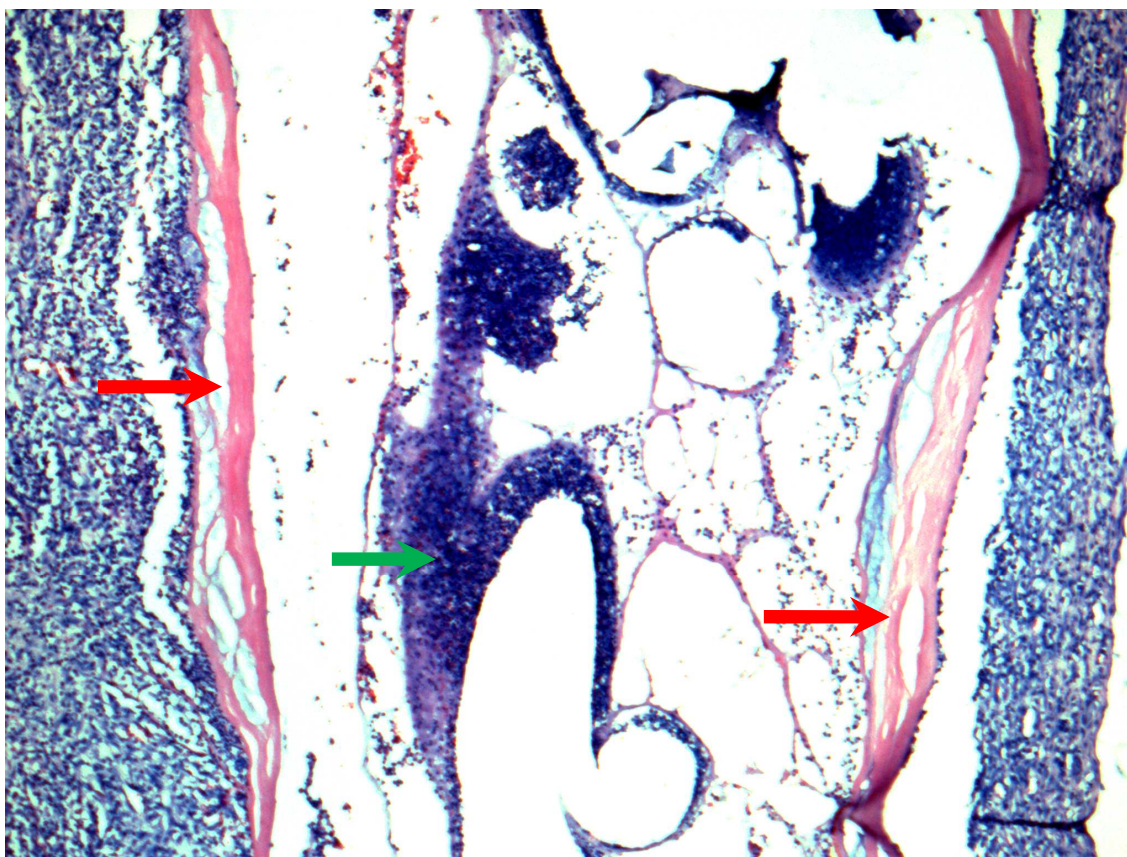


Figura 8: BMSS revestindo a tela de propileno (Setas vermelha) e intenso infiltrado linfomonocitários com restos de neutrófilos ao redor do fio da tela de propileno (seta verde). HE 10X0,65.

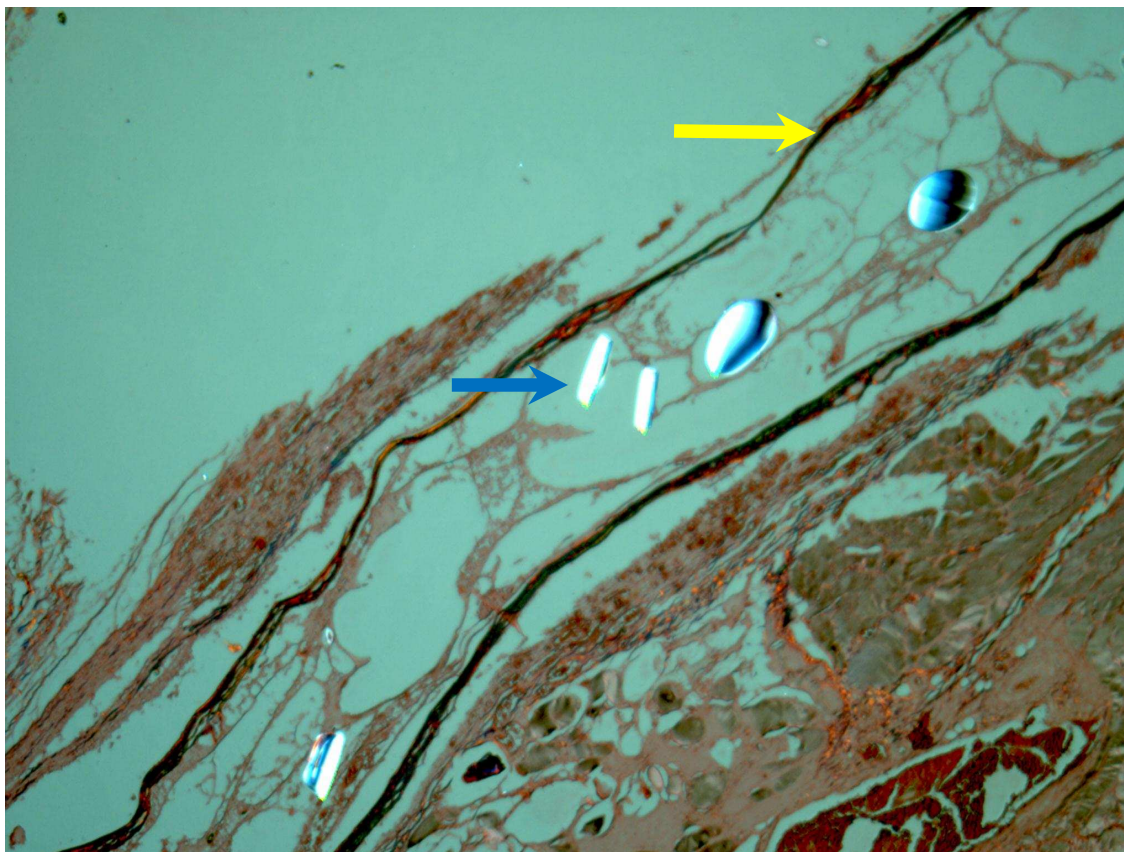


Figura 9: BMSS revestindo a tela de polipropileno (seta amarela), intensa birrefringência do fio da tela de polipropileno (seta azul). HE 4X0,65.

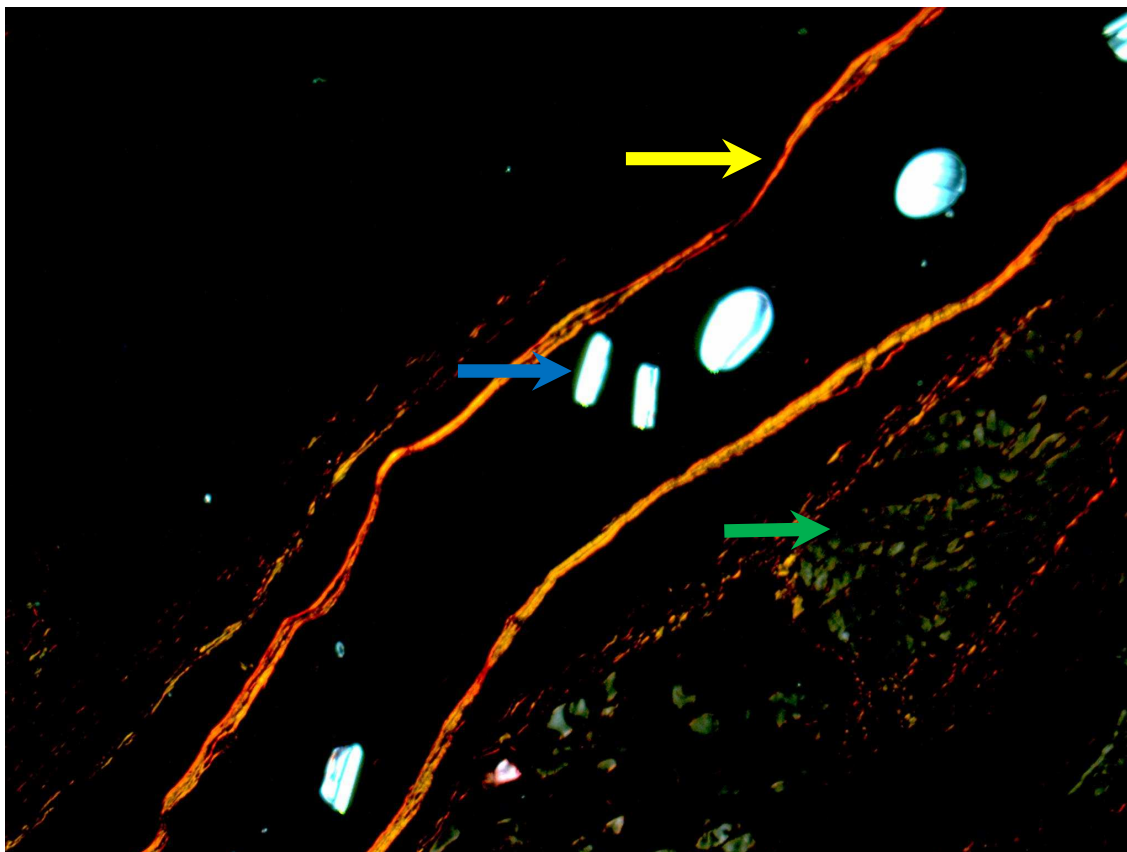


Figura 10: *BMSS revestindo a tela de polipropileno (seta amarela), intensa birrefringência do fio da tela de polipropileno (seta azul), fibras colágenas neoformadas (seta verde). HE 4X0,65.*

Tela de polipropileno não envolvida pela biomembrana: Verificou-se infiltração monocitária menos intensa. Junto aos filamentos da tela de polipropileno os monócitos poderiam ser histiócitos diagnosticados pelo aspecto reniforme do núcleo. Na superfície dos filamentos de polipropileno os histiocitos arranjavam-se de forma a tender encapsular delicadamente os filamentos (Figura 11), sendo observadas, também, células gigantes de corpo estranho (Figura 12). Observou-se, também, fibroblastos, identificados pelo núcleo fusiforme (Figura 13). Em relação ao grupo que foi revestido pela biomembrana, a deposição colágena e neoangiogênese local foi menos intensa.

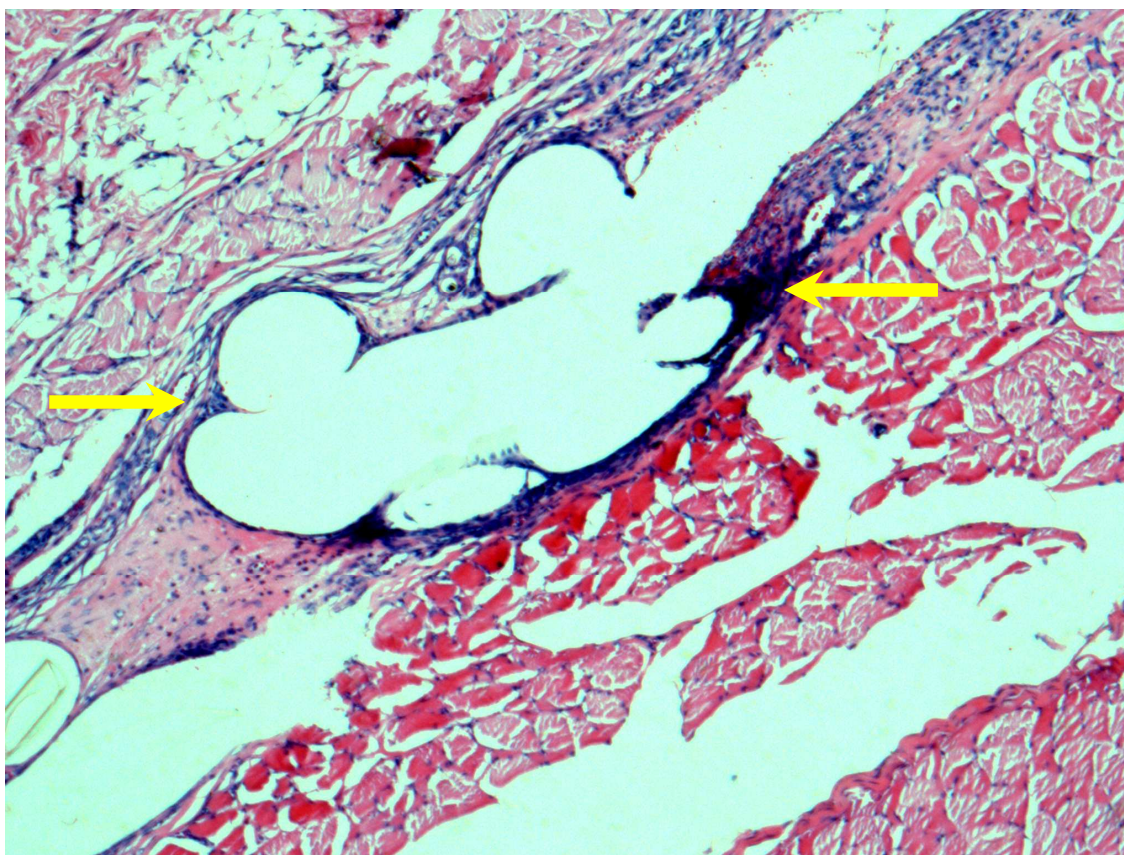


Figura 11: Infiltrado linfomonocitário tendendo a encapsular a tela polipropileno (seta amarela). Grupo com a tela isolada. HE 4X0,65.

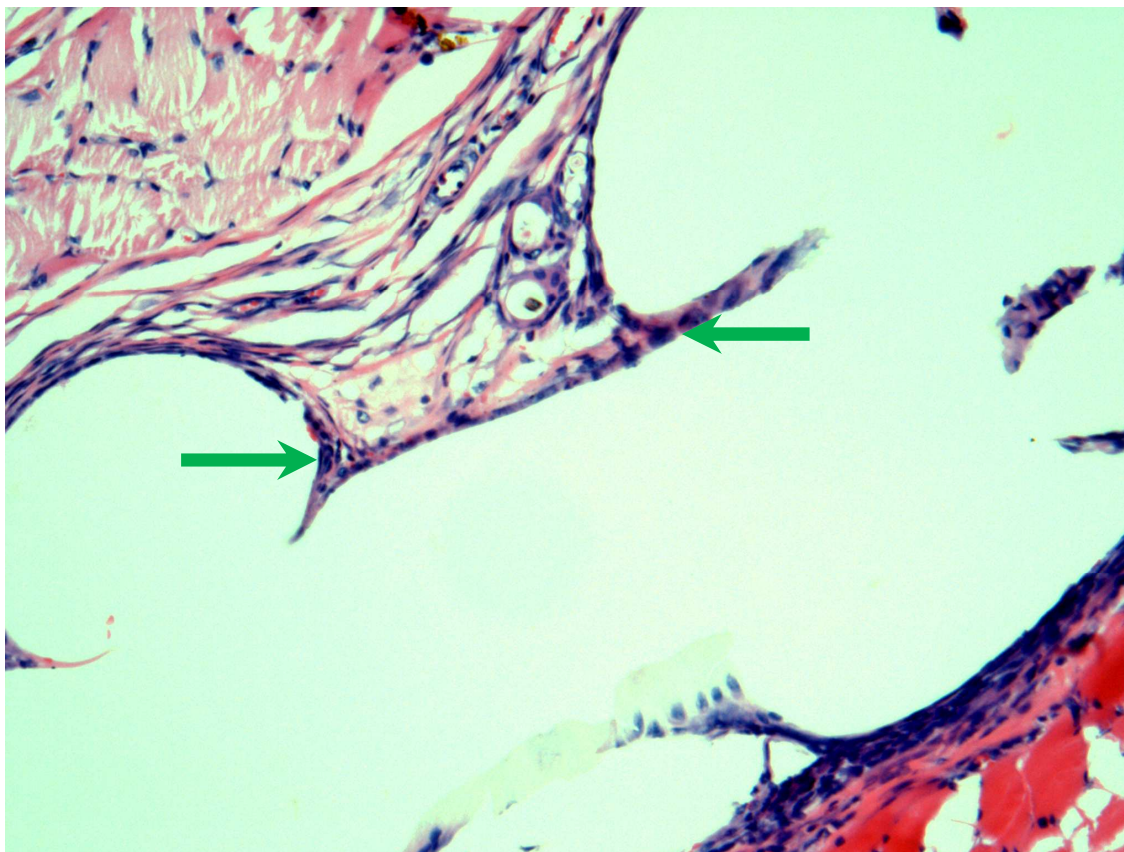


Figura 12: Presença de formação de células gigantes próximas aos fios da tela de polipropileno (seta verde). Grupo com a tela isolada. HE 40X0,65.

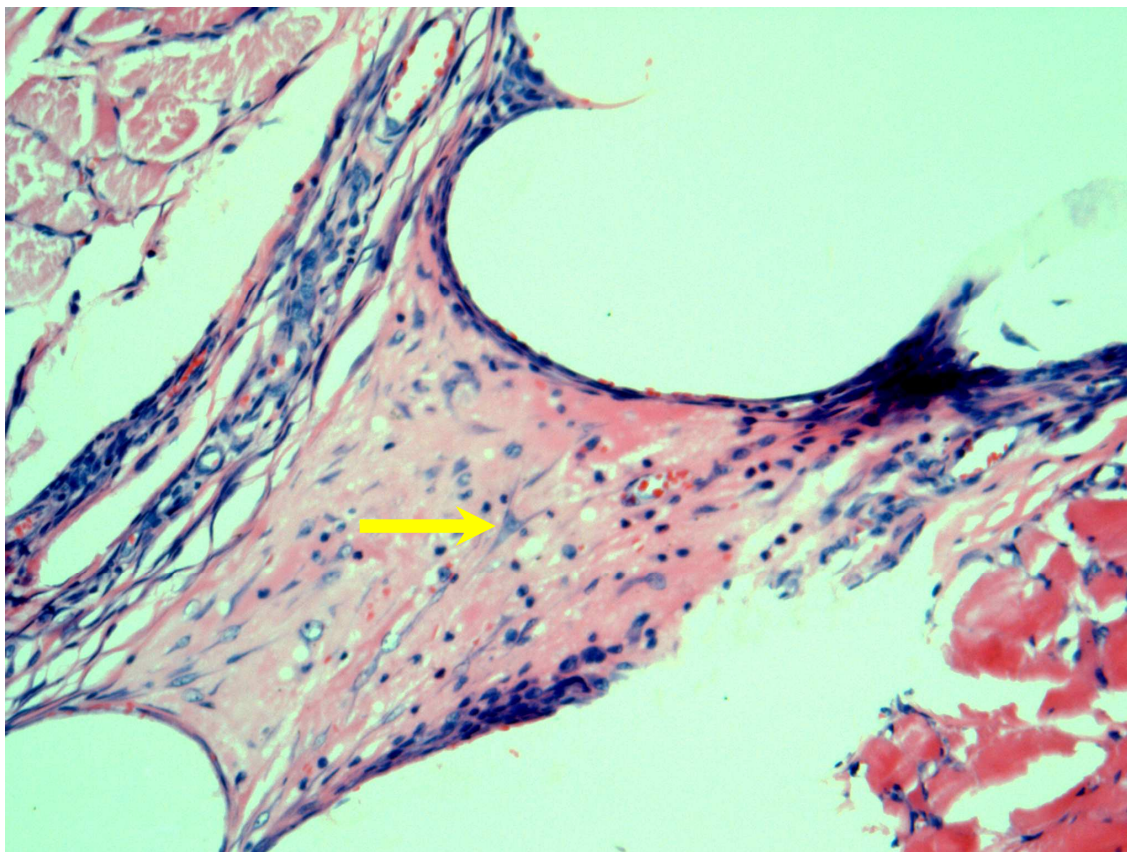


Figura 13: Presença de fibroblastos (núcleos fusiformes) nos espaços compreendidos entre os fios da tela de polipropileno. Grupo com a tela isolada. HE 20X0,65.

4.2. 14º dia pós-operatório

Tela de polipropileno envolvida pela biomembrana de colágeno: A formação de células gigantes não foi verificada de forma acentuada também nessa fase, a exemplo do que já fora observado na avaliação realizada no 7º PO (Figura 14). A infiltração linfocitária observada foi menos intensas que aos 7 dias (Figura 15), e o envoltório fibroblástico apresentou-se melhor organizado. Notou-se a presença de congestão vascular peri-implante (Figura 16).

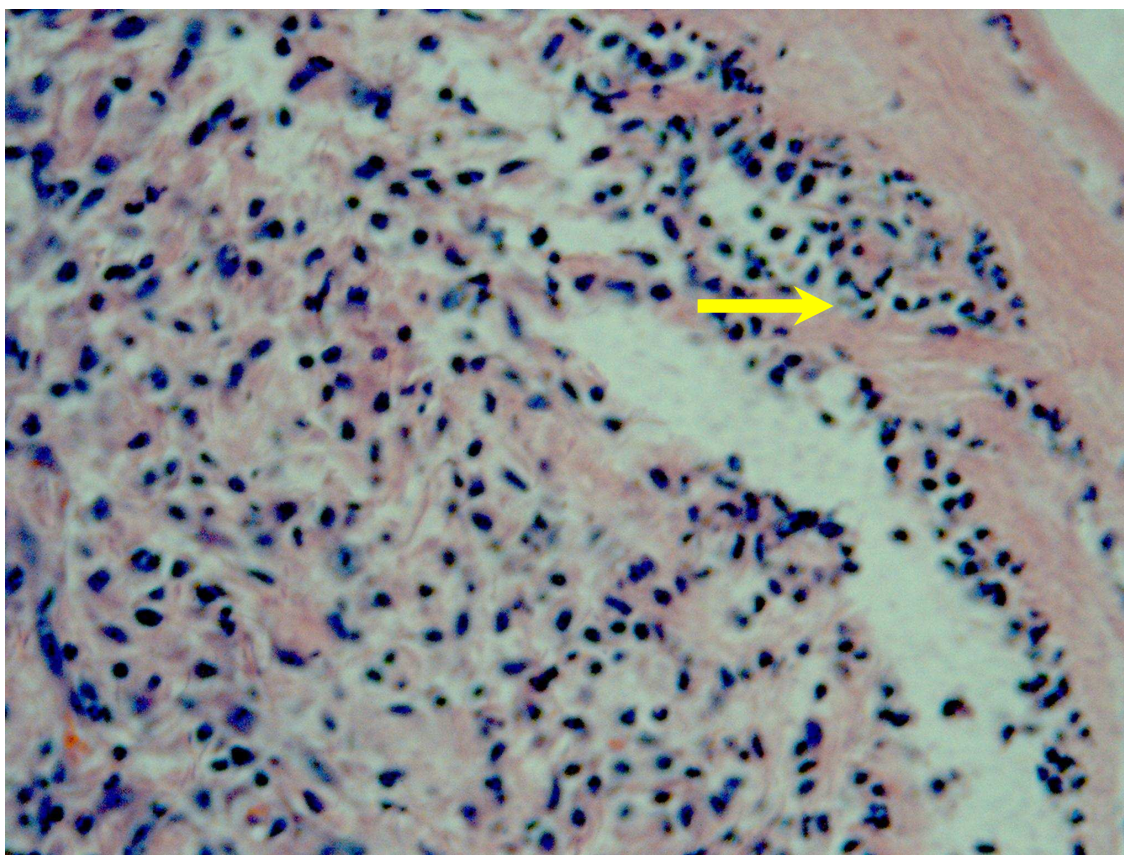


Figura 14: Presença de infiltrado linfomonocitário próximo a biomembrana (seta amarela), mas não há a formação de células gigantes. Grupo com a tela revestida com a BMSS. HE 20X0,65.

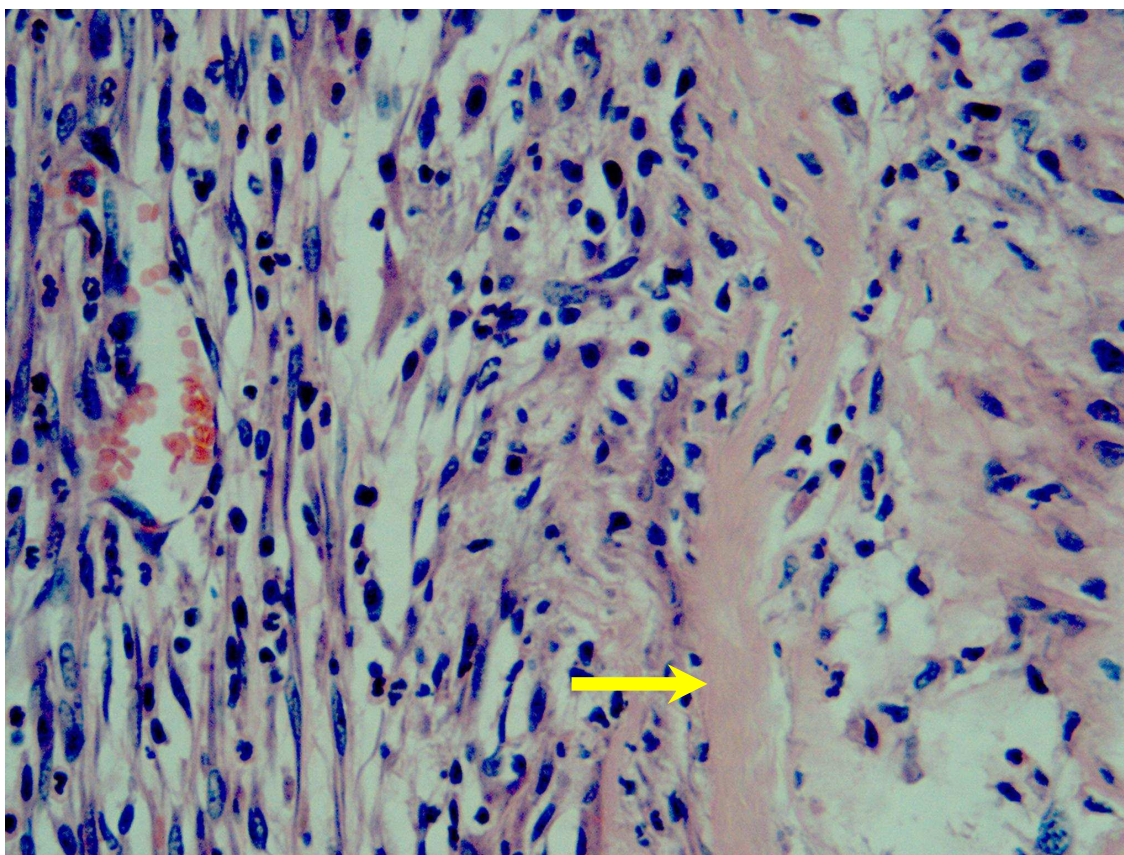


Figura 15: Presença de infiltrado linfomonocitário próximo a biomembrana, mas não há a formação de células gigantes, vaso dilatado próximo à biomembrana (seta amarela). Grupo com a tela revestida com a BMSS. HE 20X0,65.

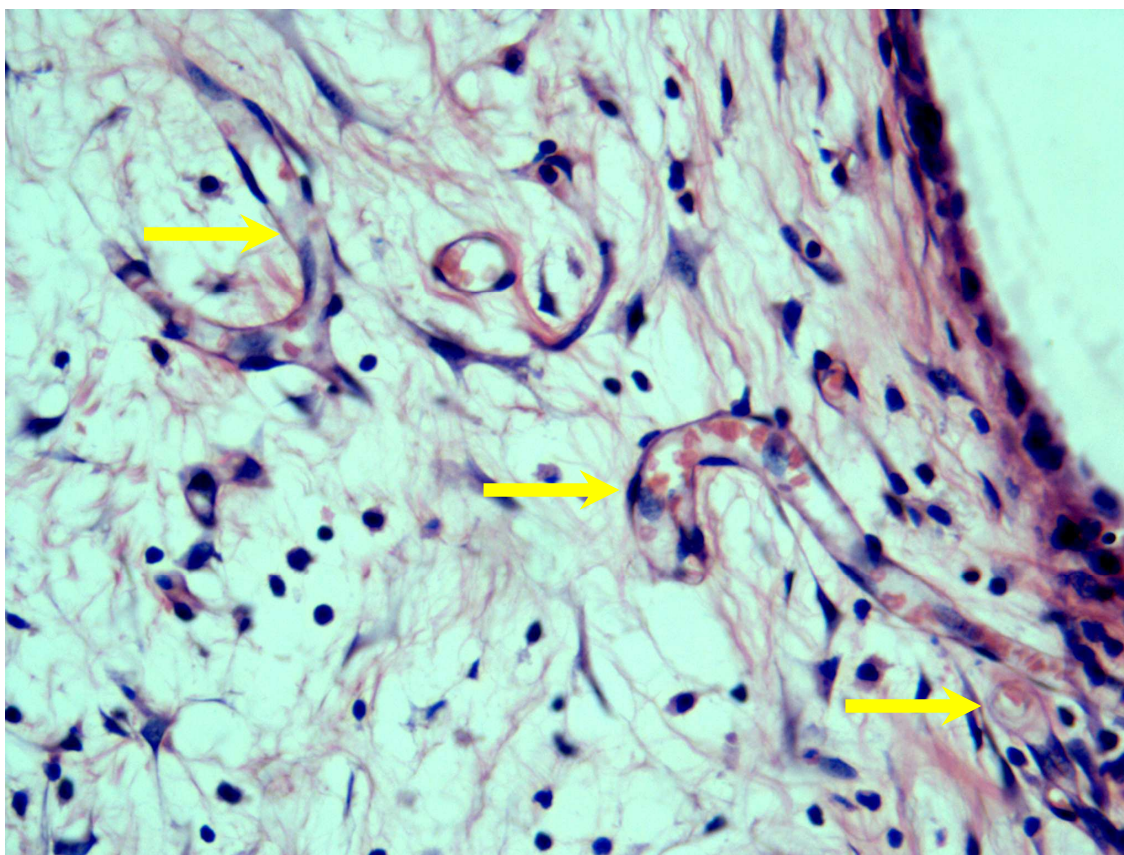


Figura 16: Proliferação e congestão vascular (setas amarelas). Grupo com a tela revestida com a BMSS. HE 20X0,65.

Tela de polipropileno não envolvida pela biomembrana de colágeno: As telas de polipropileno encontravam-se envoltas por células de aspecto fibroblástico (Figura 17). Entretanto, muitas vezes era possível observarem-se acúmulos de núcleos permitindo a inferência de que poderiam existir células gigantes que assumiram aspecto achatado pelo envoltório colagênico fibroblástico (Figura 18). Observaram-se, também, restos de hemácias, e fibras de colágeno novas envolvendo os filamentos de polipropileno, além de fibrócitos e histiócitos. Ausência de infiltrado linfocitário exuberante. Envolvendo a tela de polipropileno também foi observado um tecido frouxo (tipo mixomatoso) com células estreladas, confirmando que não havia predominância de fibras recém elaboradas (Figura 19).

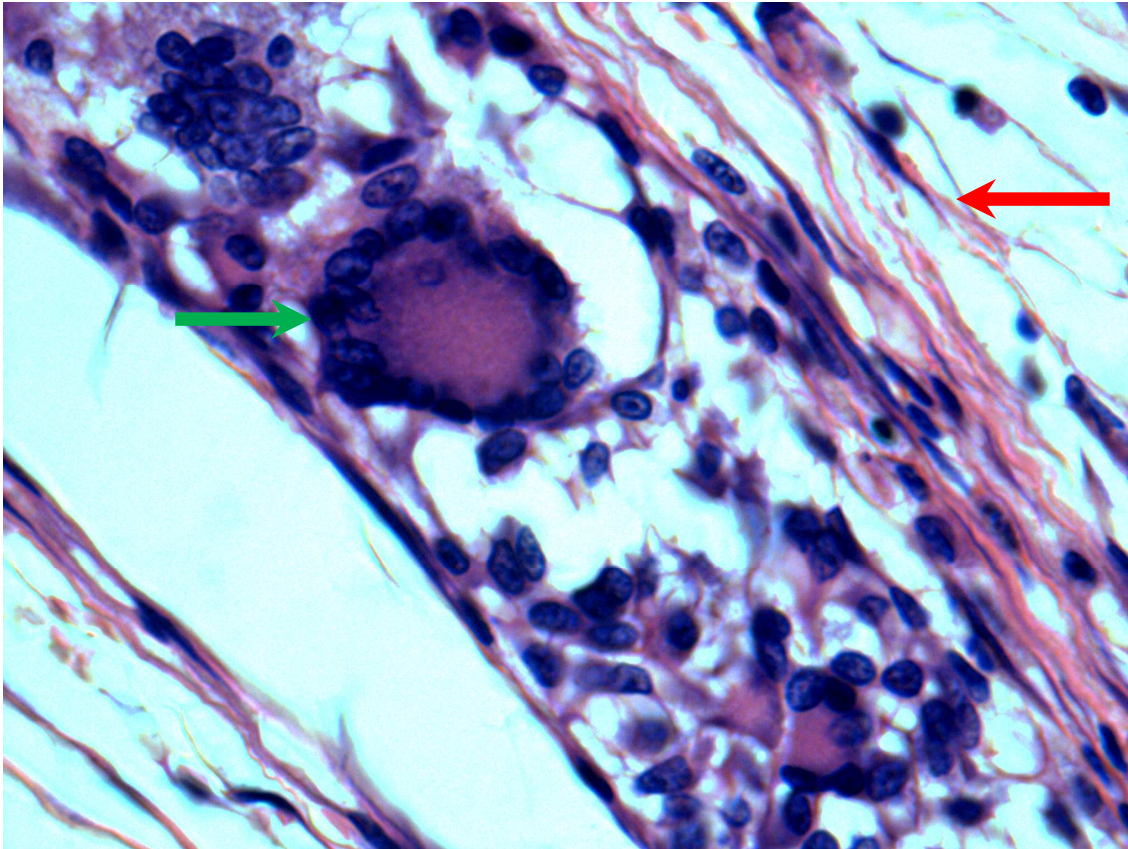


Figura 17: *Envoltório fibroblástico contendo fibroblastos (seta vermelha), e célula gigante próxima ao fio da tela de polipropileno (seta verde). Grupo com a tela isolada. HE 40X0,65.*

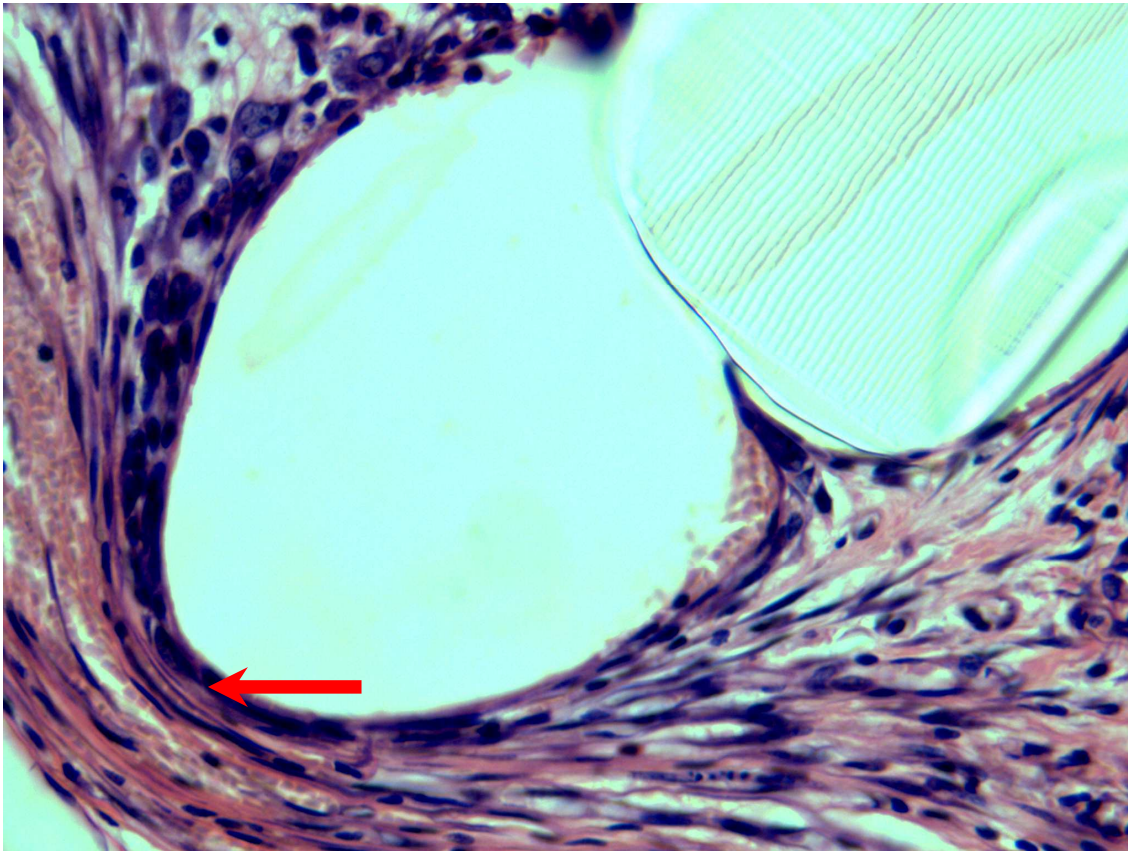


Figura 18: *Envoltório fibroblástico achatando o infiltrado linfomonocitário (seta vermelha). Grupo com a tela isolada. HE 20X0,65.*

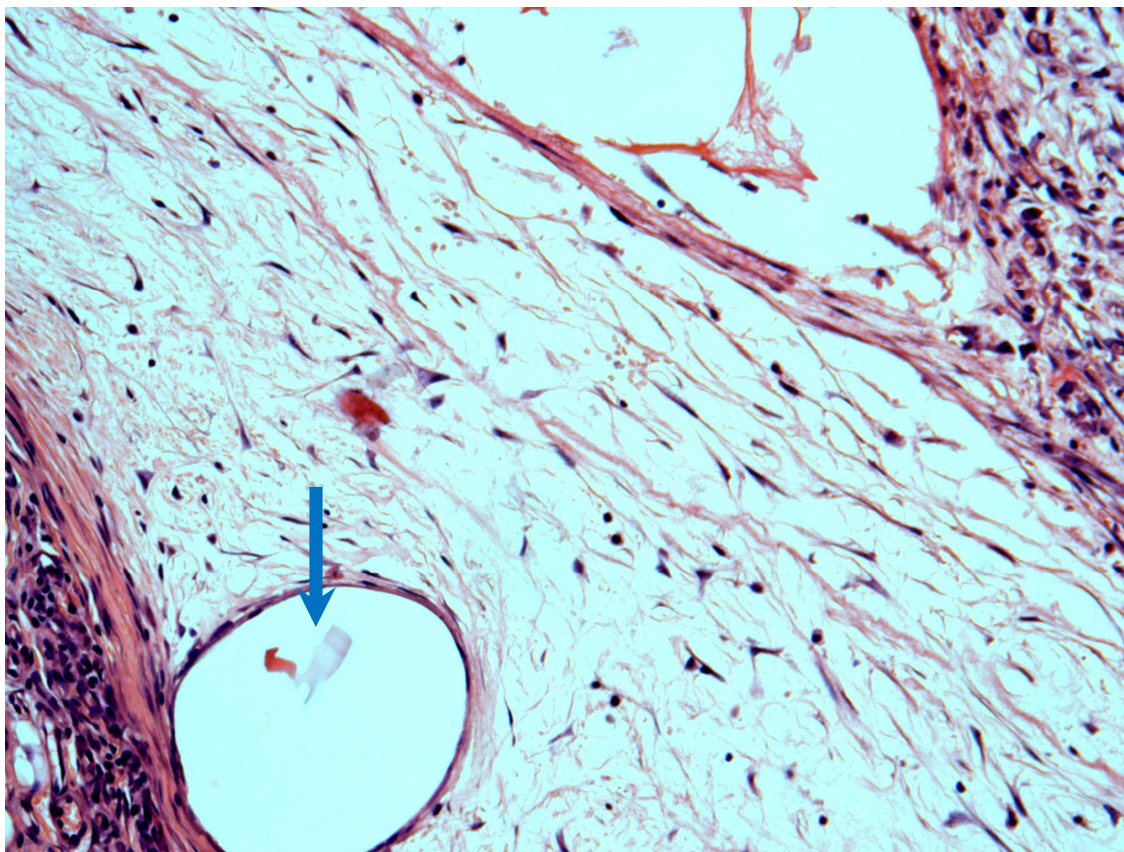


Figura 19: Tecido mixomatoso envolvendo o fio (seta azul) da tela de polipropileno. Grupo com a tela isolada. HE 10X0,65.

4.3. 28º dia de pós-operatório

Tela de polipropileno envolvida pela biomembrana de colágeno: Houve predominância de processo proliferativo fibroblástico, principalmente envolvendo os remanescentes da biomembrana e penetrando entre eles (Figura 20). A compensação da birrefringência permitiu verificar que tratavam-se de fibras neoformadas, que apresentam tonalidade esverdeada quando analisadas por esse método (Figura 21). A neoformação vascular manteve o mesmo padrão dos grupos anteriores (Figura 22).

Observou-se presença de mononucleares de caráter histiocitário. Esse tipo celular penetra entre os filamentos da tela de polipropileno, e poderiam originar células gigantes de corpo estranho junto aos fios da tela de polipropileno, embora esta não tenha sido uma característica comum aos grupos expostos a tela revestida com a BMSS (Figura 23).

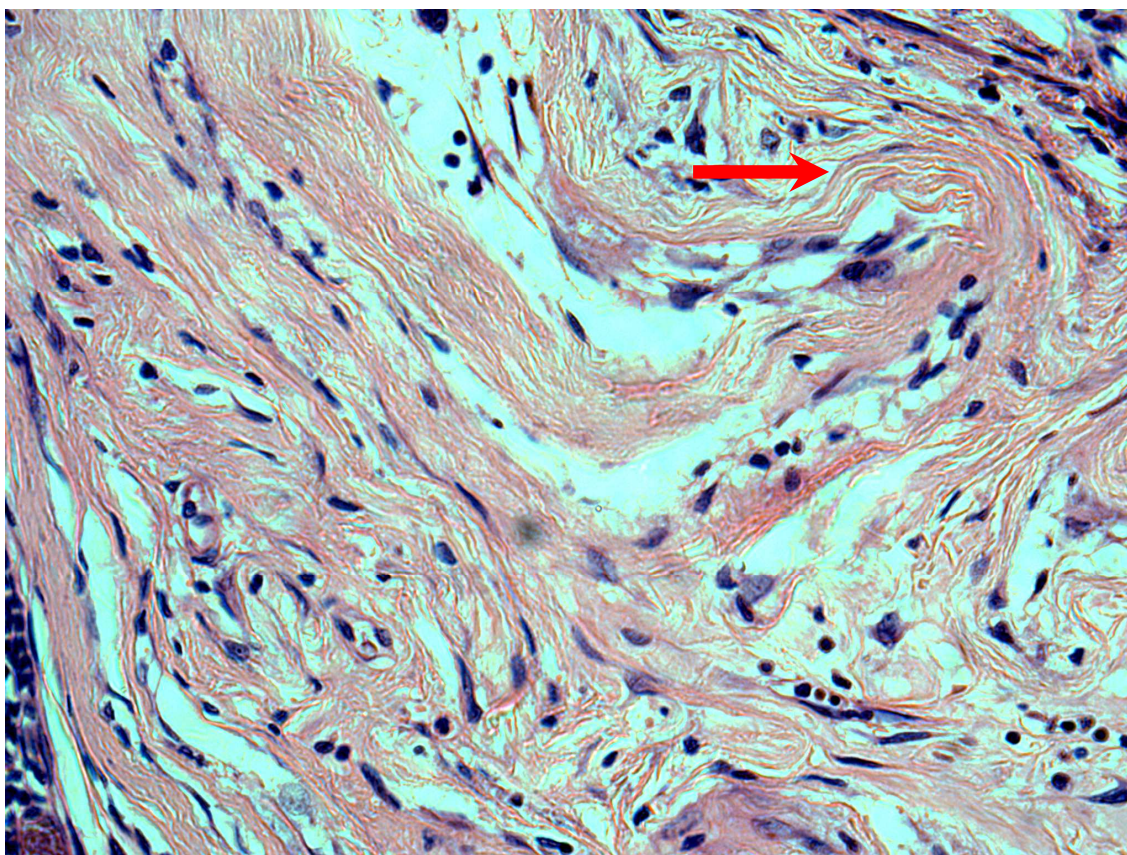


Figura 20: Processo proliferativo fibroblástico (seta vermelha). Grupo com a tela revestida com a BMSS. HE 40X0,65.

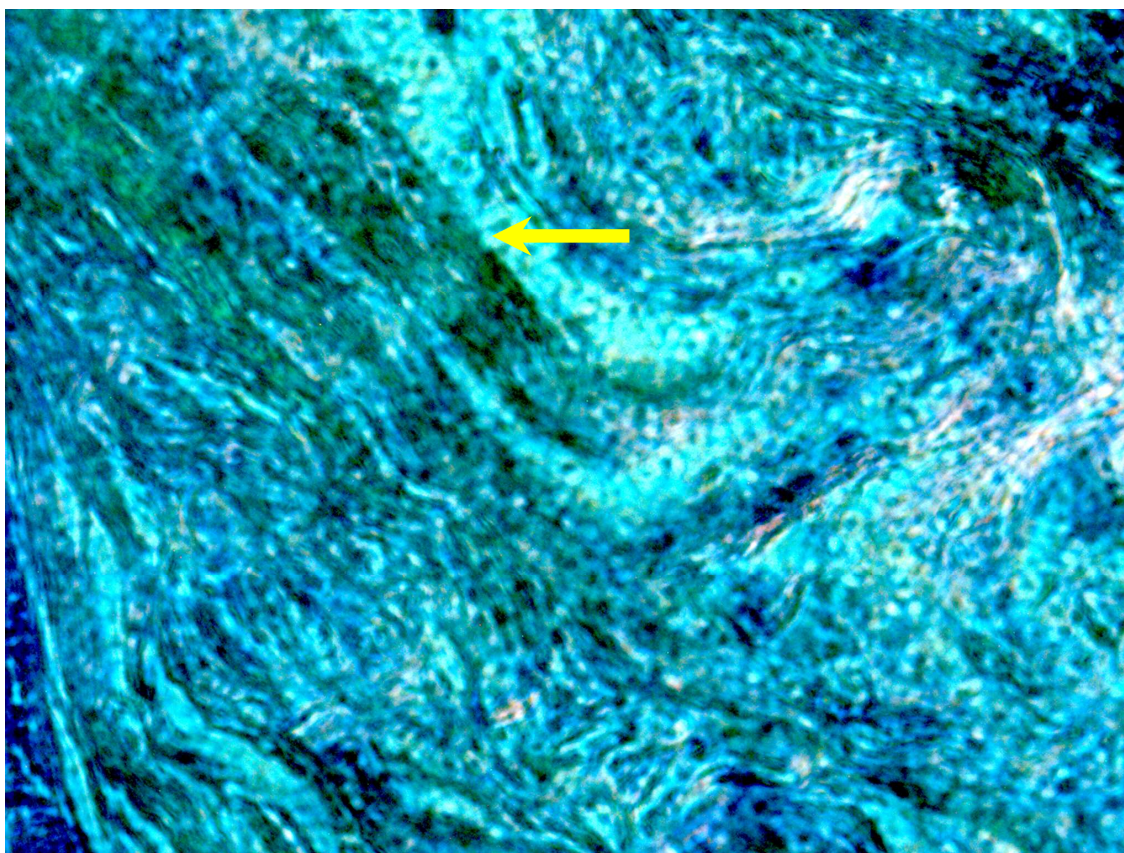


Figura 21: Processo proliferativo fibroblástico, com a birrefringência compensada evidenciado fibras neoformadas substituindo a BMSS (seta amarela). Grupo com a tela revestida com a BMSS. HE 40X0,65.

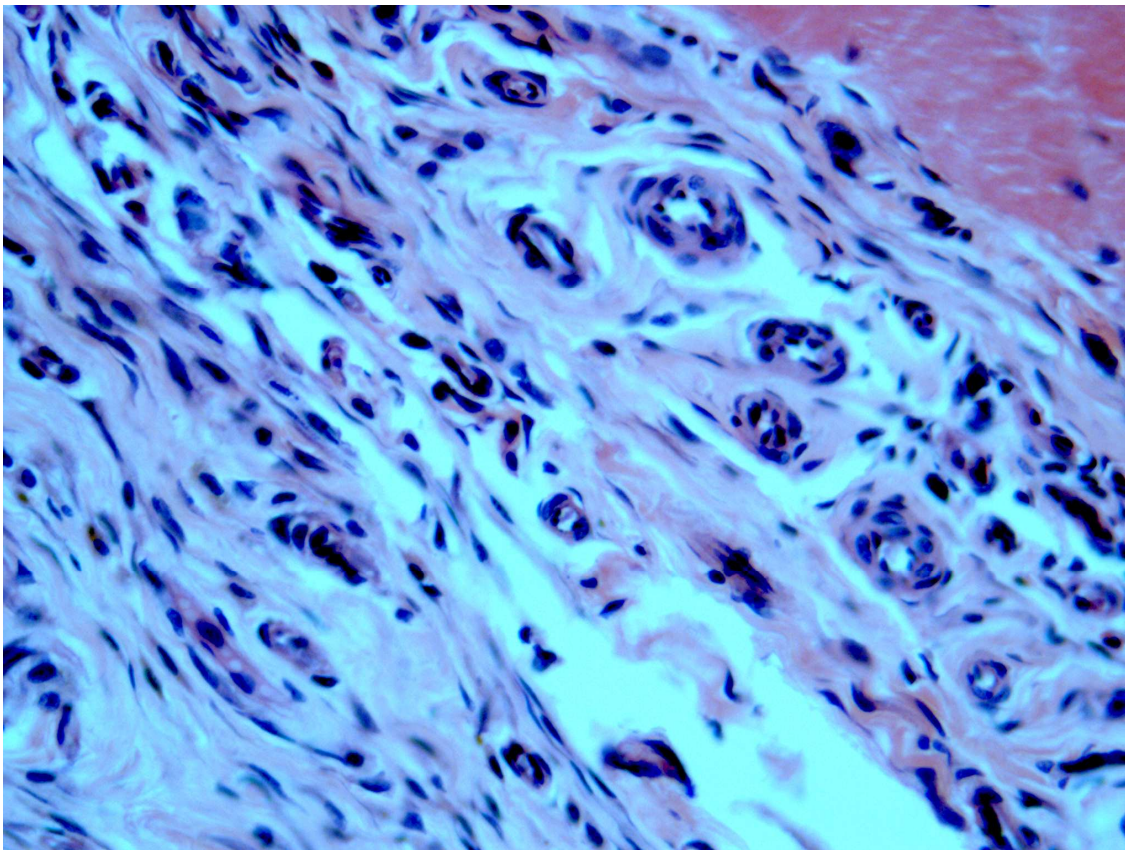


Figura 22: Neoformação vascular. Grupo com a tela revestida com a BMSS. HE 40X0,65.

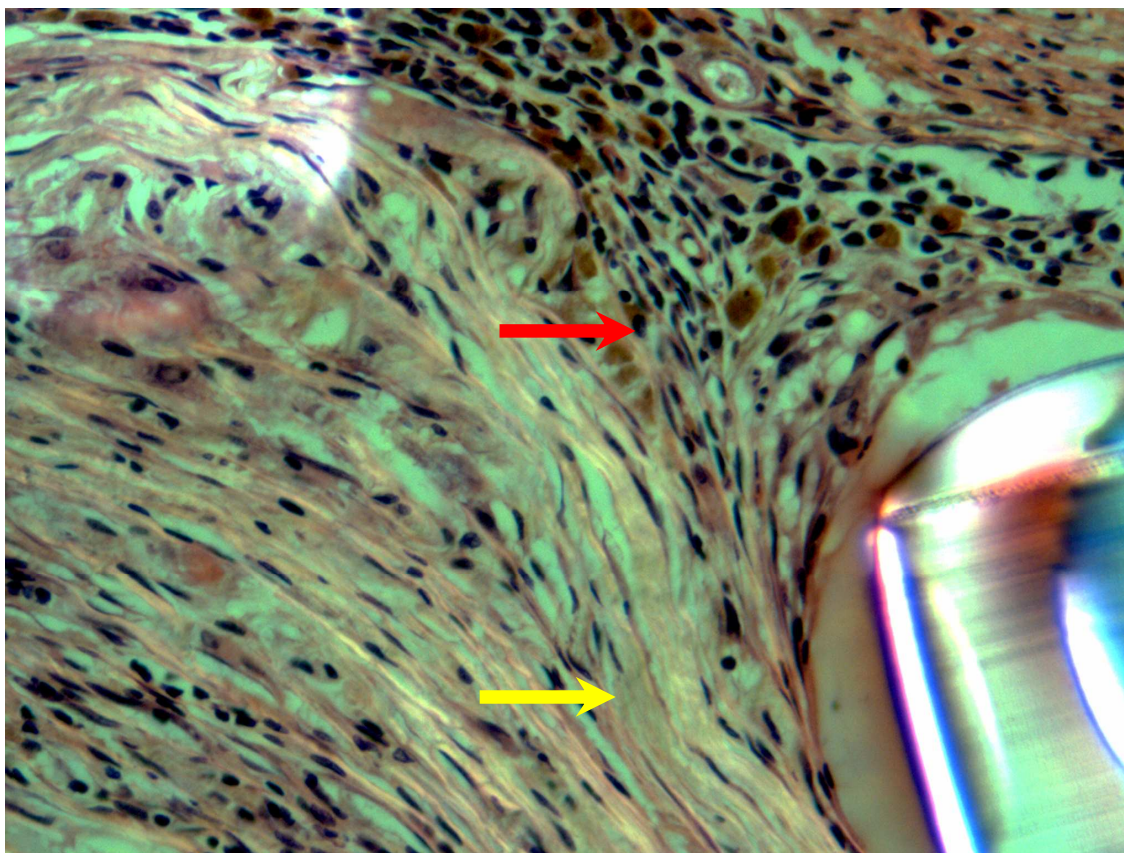


Figura 23: Infiltrado formando granuloma de corpo estranho junto ao fio da tela de polipropileno (seta vermelha), ao lado de fibras colágenas neoformadas identificadas pela sua intensa birrefringência (seta amarela). Grupo com a tela revestida com a BMSS. HE 40X0,65.

Tela de polipropileno não envolvida pela biomembrana de colágeno: No animal número dez deste grupo notou-se abaixo da derme e tecido adiposo uma faixa de tecido muscular estriado avançando à zona do implante de polipropileno e desta está separado por fina camada de tecido fibroso, decorrente da dissecação cirúrgica. A musculatura parece estar finamente aderida ao implante (Figura 24). De forma geral, nesse grupo houve redução intensa do infiltrado inflamatório, o qual permaneceu ainda em torno das fibras de polipropileno, com predomínio de histiócitos (Figura 25). Alguns dos núcleos dessas células associam-se, levando à formação de células gigantes que tentariam envolver o polímero (Figura 26). Típicas células gigantes foram vistas sempre associadas aos filamentos de polipropileno (Figura 27). Fibrócitos típicos também foram observados nesse grupo.

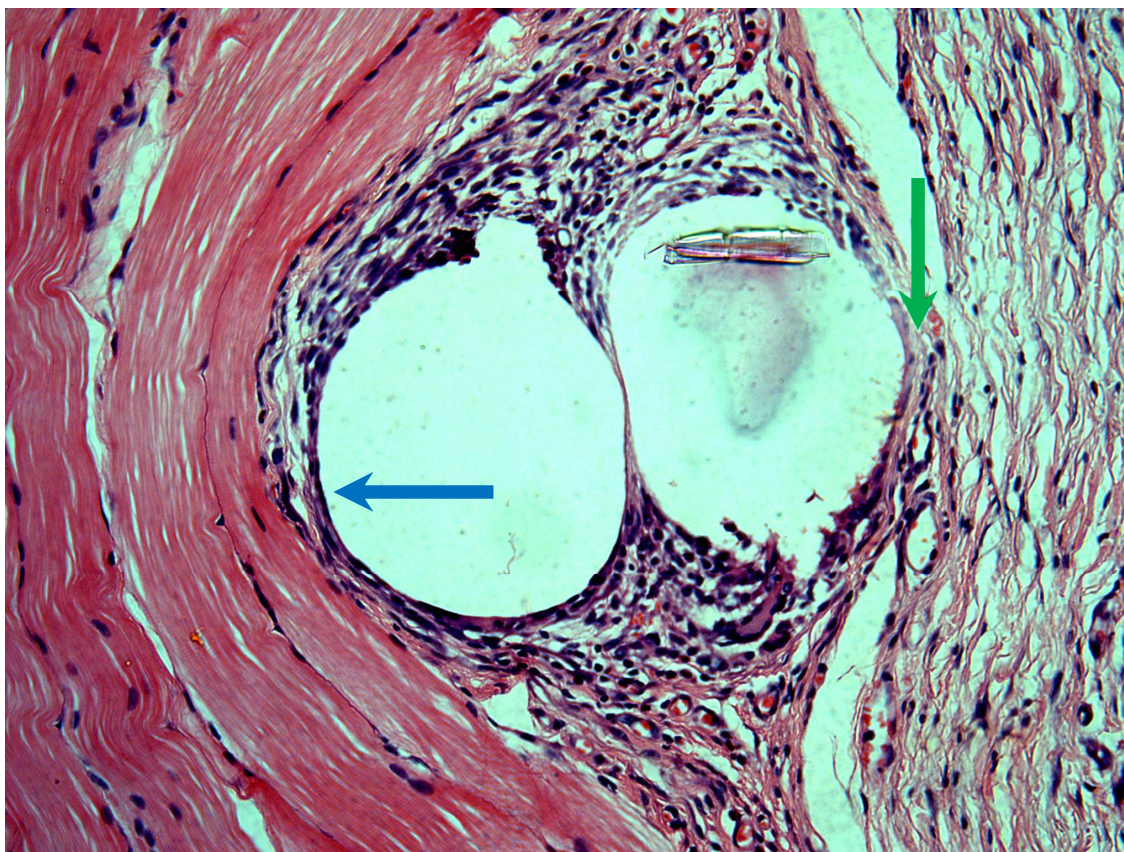


Figura 24: *Musculatura aderida à tela de polipropileno (seta azul) e envoltório linfomonocitário encapsulando o fio de tela de polipropileno (seta verde). Grupo com a tela isolada. HE 40X0,65.*

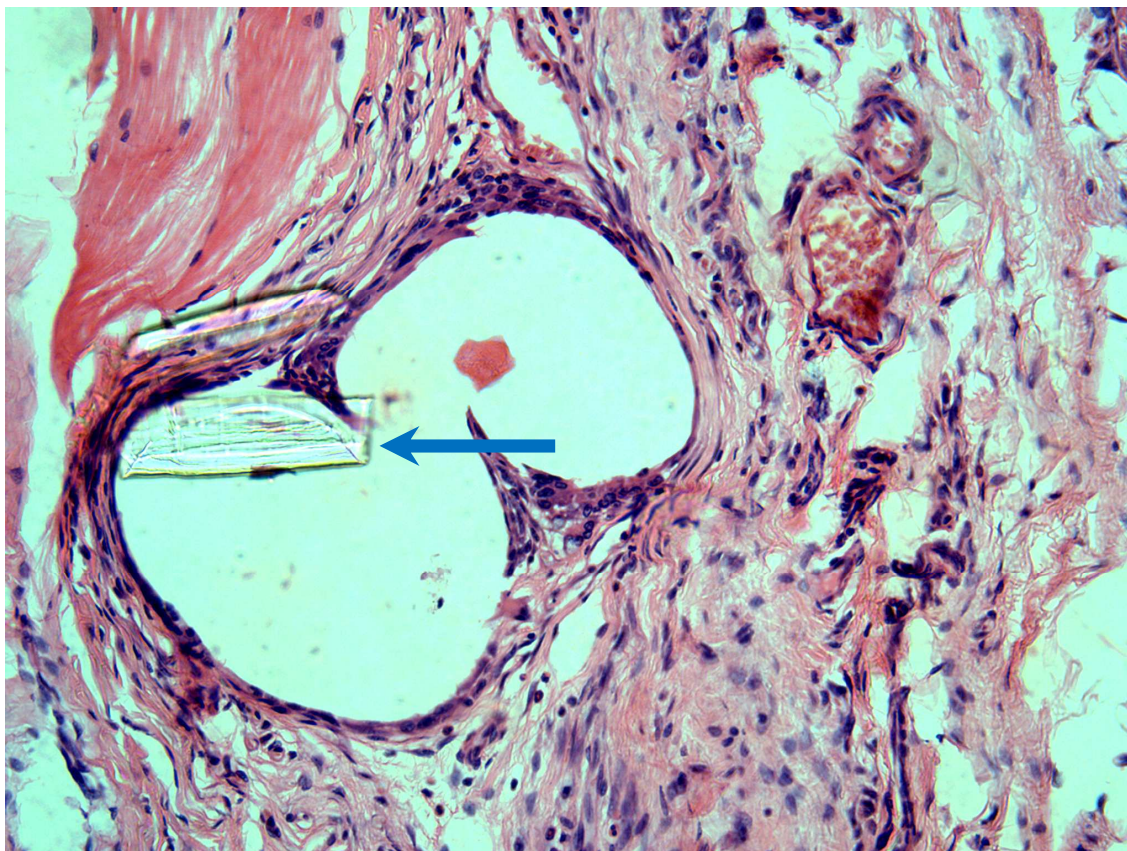


Figura 25: Redução do infiltrado inflamatório, embora este permaneça junto ao fio (seta azul) da tela de polipropileno. Grupo com a tela isolada. HE 40X0,65.

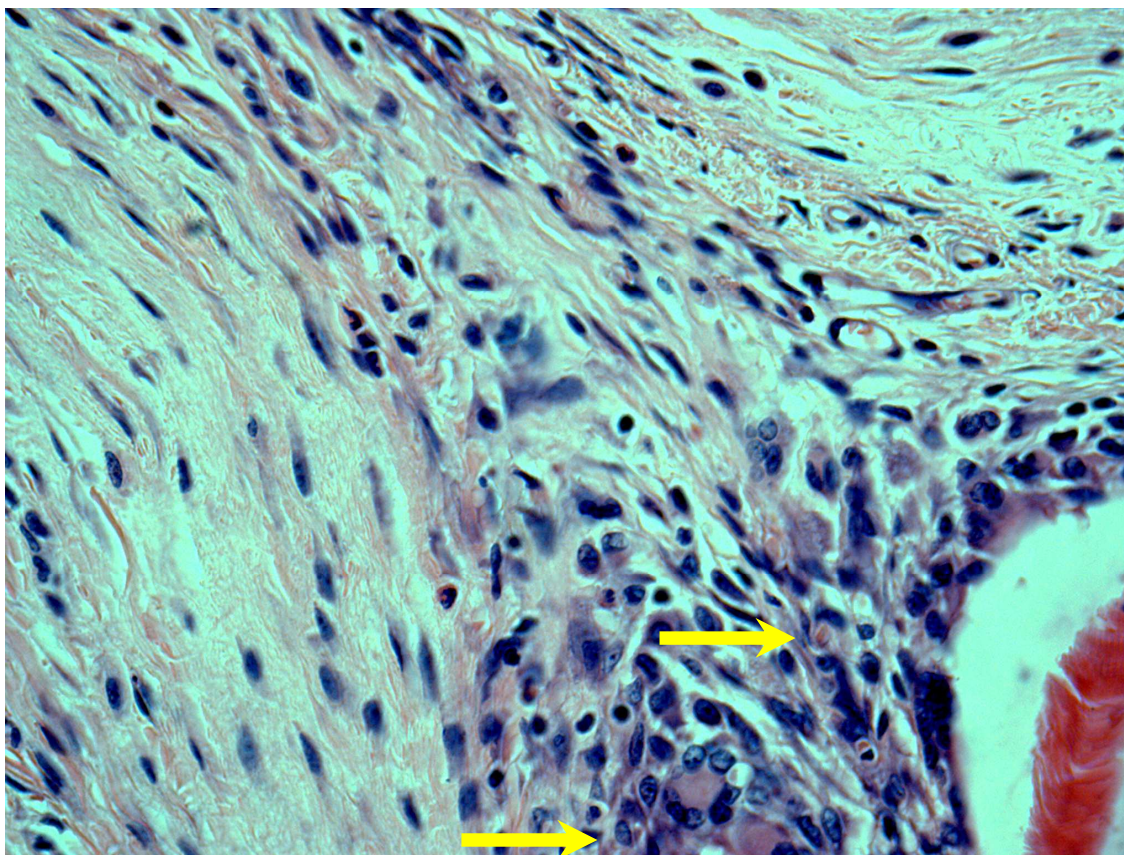


Figura 26: Formação de célula gigante tentando englobar o fio da tela de polipropileno. Grupo com a tela isolada (setas amarelas). HE 40X0,65.

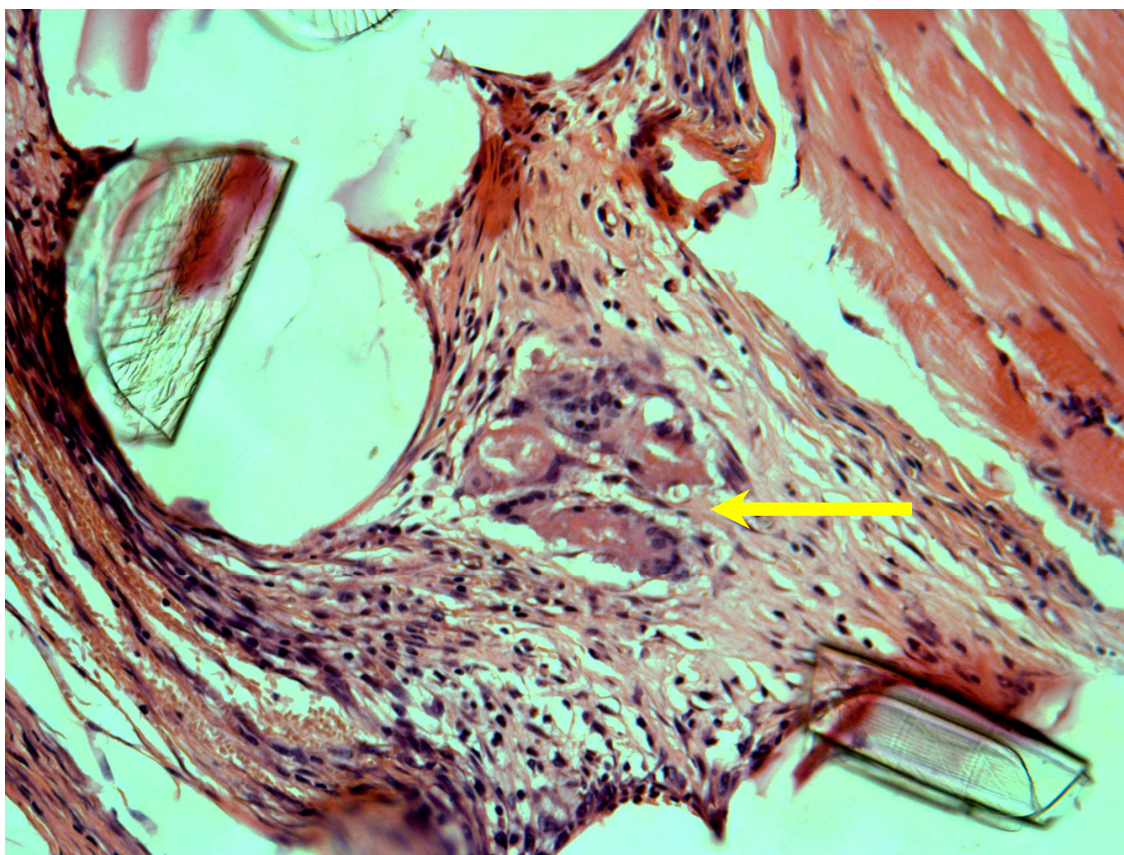


Figura 27: Típica célula gigante junto ao fio da tela de polipropileno (seta amarela). Grupo com a tela isolada. HE 40X0,65.

5. Discussão

5.1. Considerações sobre prolapsos pélvicos e envelhecimento

De 1980 a 2025, na América Latina e Caribe, estima-se que a população com 60 anos de idade dobre de tamanho, e que triplique em mais da metade destes países antes do ano de 2025 (71). Este rápido e acentuado envelhecimento da população terá um impacto significativo nas necessidades sociais, econômicas e na atenção à saúde. As necessidades de atenção à saúde serão aquelas relacionadas às doenças crônicas degenerativas e suas sequelas, assim como outras queixas tais como as relacionadas à incontinência urinária e prolapsos pélvicos (4,72,73,74).

O prolapso pélvico é uma condição comum na população pós-menopausa, e uma importante causa de tratamento cirúrgico nas mulheres. É definido como a herniação do útero, bexiga, intestino delgado ou reto para dentro do canal vaginal. Os principais fatores de risco para esta doença são idade, paridade e peso. Entretanto, a patogênese dos prolapsos pélvicos não é bem compreendida, sendo possíveis causas: a via de parto; fatores congênitos; iatrogênicos; aumento da pressão intra-abdominal decorrente da obesidade e/ou doenças respiratórias obstrutivas crônicas; tabagismo; e constipação (1,2,72,73,74).

A prevalência do prolapso pélvico entre mulheres acima de 60 anos é 25%, e a probabilidade de ser atendida em uma unidade hospitalar em decorrência desta doença é de 2/1000 ao ano. O risco de desenvolver o prolapso pélvico aumenta 10% a cada década de vida, e o risco de uma mulher necessitar tratamento cirúrgico para esta doença durante sua vida é de 11,1%, e o risco de uma segunda intervenção cirúrgica em decorrência de falha na primeira é de 30% (4,5,38,72,73,74).

Sobre essas considerações, podemos acrescentar que as circunstâncias às quais o ser humano está exposto durante a sua vida englobam um conjunto de fatos, cujo controle nem sempre depende exclusivamente do indivíduo. O estilo de vida ao qual nos entregamos é uma escolha pessoal, todavia a influência do meio no qual vivemos é frequentemente determinante para tal escolha. O envelhecimento nos levará invariavelmente a necessidade de tratamentos específicos em algum momento da vida, os quais irão ter seus resultados dependentes de nossa constituição genética, estado biológico atual e do estado de desenvolvimento tecnológico no qual as opções terapêuticas se encontrem.

5.2. Considerações sobre os fundamentos do tratamento cirúrgico atual dos prolapso pélvicos

Estudos prévios demonstraram que a quantidade e qualidade do colágeno presente no tecido de suporte aos órgãos pélvicos de mulheres com prolapso são menores do que naquelas que não apresentam a doença (74,75,76). Também foi demonstrada a relação entre alterações da quantidade e qualidade do

colágeno em mulheres com síndrome de Ehlers-Danlos e Síndrome de Marfans, as quais apresentam maior incidência de prolapso pélvicos (77,78).

O tratamento convencional do prolapso de órgãos pélvicos tem sido caracterizado pela colporrafia anterior, o qual apresenta altas taxas de recorrência, de tal forma que cerca de um terço das pacientes necessitarão de nova abordagem cirúrgica para tratamento de sua doença (17,32,38,79). Estima-se que as taxas de recidiva após correção sem o uso de implantes variam de 30% a 40% nos dois primeiros anos e 50% a 70% após cinco anos da cirurgia (8,33,44,55,80).

Estas considerações evidenciam que o sucesso no reparo cirúrgico dos prolapso da parede vaginal continua sendo um desafio. Os mecanismos e princípios da correção cirúrgica desta doença são similares aos descritos na correção das hérnias abdominais e, nesse sentido as telas passaram a ser propostas para reduzir a recorrência pós-cirúrgica (8,9,19,33,44,55,80,81). Apesar das correções dos defeitos exclusivamente com os tecidos nativos representar, teoricamente a melhor alternativa, no estado atual do desenvolvimento científico ainda não dispomos de maneiras eficientes de melhorar as condições tróficas do tecido envelhecido, seja através de manipulações gênicas ou da bioengenharia. Tal desenvolvimento, embora desejável, demandará grande investimento financeiro e, dessa forma, não se tornará disponível em larga escala num futuro próximo. Portanto, justificam-se os esforços para melhorar aspectos da biocompatibilidade dos implantes disponíveis atualmente e de custo relativamente baixo.

Contudo, os usos dos implantes biológicos ou sintéticos não são isentos de complicações, as quais podem ser minimizadas, mas não eliminadas. Desde o primeiro relato do emprego da tela de polipropileno para correção de prolapsos em 1996, o implante de telas monofilamentares com macroporos vem tornando-se uma indicação cirúrgica cuja utilização é cada vez mais frequente (8,15,17,21,32,33,38,41,44,45,46,55,79,80,81).

Apesar das controvérsias acerca da segurança do emprego das telas no tratamento dos prolapsos pélvicos, parece haver consenso sobre seu papel na diminuição da recidiva do prolapso, particularmente quando se utiliza um implante sintético, sendo o polipropileno o mais amplamente empregado (8,17,18,33,44,46,55). Entre as complicações possíveis, a exposição/erosão da tela para a parede vaginal é uma das mais frequentes, com incidência entre 3,8% a 25% das pacientes submetidas à correção cirúrgica do prolapso de órgãos pélvicos (11,15,17,21,46,82,83,84,85). Considera-se, também, que tal complicação tem relação significativa com a histerectomia concomitante, assim como com lesões vesicais intra-operatórias. Outras complicações relacionadas ao uso dos implantes vaginais são a dispaureunia, desenvolvimento de sintomas da síndrome da bexiga hiperativa, dor nas nádegas entre outras (8,15,17,32,33,38,44,55,79,80,83). Consideramos que todos os sintomas supracitados podem relacionar-se, ainda que indiretamente, com defeitos da integração destes materiais biológicos e/ou sintéticos ao leito tecidual hospedeiro.

5.3. Considerações sobre a integração dos implantes sintéticos e biológicos

O reparo tecidual apresenta diferentes fases, as quais são sequenciais e subentrantes, classificadas em: precoce ou hemostática e inflamatória; intermediária ou proliferativa; final ou de maturação do colágeno (86). O processo de integração das telas de polipropileno segue etapas semelhantes.

O início da reparação tecidual após o implante de uma tela sintética é marcado pelo influxo local de plaquetas, as quais são responsáveis pela hemostasia e disparo da resposta imunológica local. A histamina e as prostaglandinas liberadas nesta fase induzem o aumento da permeabilidade capilar, permitindo assim a migração de células inflamatórias. Sequencialmente, no dia seguinte identificam-se a chegada de neutrófilos, macrófagos e plasmócitos ao local do implante, os quais irão remover o tecido necrótico e impedir a proliferação bacteriana. Concomitantemente iniciam-se a produção de várias substâncias, entre elas os fatores de crescimento e fatores quimiotáticos para fibroblastos. Após 24 horas do implante inicia-se a fase proliferativa, a qual tem por característica a granulação e angiogênese. Neste momento há a formação da matriz colágena local, que dará suporte ao crescimento de tecido conjuntivo assim como sua força ténsil. A síntese e remodelação desta matriz é responsabilidade dos fibroblastos. Por fim a maturação, fase em que ocorre a diminuição da síntese de colágeno, com consequente redução de sua concentração; assim como substituição do colágeno tipo III pelo tipo I (56, 57,87).

Independente do tipo de implante, a duração de cada etapa é dependente de uma série de fatores, tais como: condições do sistema imune do hospedeiro,

grau de contaminação bacteriana local; biocompatibilidade do material implantado e quantidade de tecido desvitalizado. A completa resolução da resposta inflamatória, ou seja, a reconstituição do tecido nativo, eventualmente não é possível, pois a manutenção de fatores agressivos relacionados às propriedades físico-químicas do material implantado não a permitirá. A integração é definida como sendo o produto final da interação entre o implante e o hospedeiro, representada por variados graus de fibrose.

O colágeno e as fibras elásticas, assim como a matriz viscoelástica de proteoglicanas são os elementos que compõem o tecido conjuntivo. As propriedades físicas que este tecido apresenta são determinadas pela relação das fibras com os componentes de sua matriz. As fibras colágenas tipo I e III são importantes elementos da composição de força e tensão dos tecidos do assoalho pélvico (74,88). Na fibrose que se desenvolve no entorno das telas de polipropileno o principal componente é o colágeno tipo I (87).

O processo de cicatrização tecidual é uma sequência de etapas subentrantes, as quais envolvem várias relações teciduais e ambientais, onde o acréscimo de um material exógeno, seja ele sintético ou biológico, irá interferir nesta dinâmica. O adequado controle desta interferência é o desafio apresentado à ciência no momento. Nesse sentido, nos parece útil a associação de material biológico ao sintético na tentativa de modular as fases iniciais da cicatrização, de tal maneira que este processo ocorra em amplitude ideal para obtermos sucesso no tratamento, porém com menor risco às complicações.

5.4. Considerações sobre o emprego de biomembranas nas cirurgias reconstrutivas

Nos primeiros anos deste século aproximadamente 200.000 biomembranas foram implantadas em pacientes nos Estados Unidos, Europa e Austrália (89,90).

As proteínas colagênicas são os constituintes mais abundantes da matriz extracelular (MEC) da maioria dos tecidos de origem animal. As moléculas de colágeno são constituídas, em sua maioria, por três cadeias, denominadas α , arranjadas de tal forma que aproximadamente 95% da molécula corresponda a uma tripla hélice. (70,91,92).

Dentre as proteínas não-colagênicas, a fibronectina localiza-se no plasma e na MEC de tecidos em geral. Apresenta duas cadeias de 235 e 270 kDA cada, e possui funções de modular a diferenciação celular e os arranjos do citoesqueleto das células, alterando as propriedades de adesão e migração celular (91,92).

Testes iniciais em cultura de fibroblastos mostraram que estas células reconhecem e aderem-se às fibras de colágeno da BMSS. Tais qualidades suportam a hipótese de que a BMSS possa ser usada como um arcabouço junto à tela de polipropileno. A BMSS tem uma organização espacial das fibras de colágeno com diâmetros relativamente homogêneos. Estas fibras entrecruzam-se formando uma malha tridimensional. A presença em quantidades reduzidas de proteoglicanos também constitui fator a proporcionar crescimento celular na fase proliferativa (49,50).

Diversas formas de MEC intactas são utilizadas e comercializadas como biomembranas. Estes biomateriais têm sido aplicados com sucesso em cirurgias de reconstrução ligamentar (89,93,94) e tendinosa (51,95,96), de estética facial (94), de reconstrução do trato genito-urinário (50,54,81,98,99,100,101) e das meninges e nervos periféricos (53,102). A MEC que dá origem à biomembrana pode ser obtida a partir de bexiga, pele, fígado, pâncreas, além de outros tecidos. Os métodos de processamento destas biomembranas incluem etapas com tratamentos ácidos, enzimáticos ou outros tratamentos químicos (90,103,104).

Um dos biomateriais mais estudados e comercializados é a biomembrana proveniente da submucosa de intestino delgado (89,90). Essas biomembranas possuem boa maleabilidade, permitindo a sua fixação nos tecidos lesionados. Além disso, são receptivas às células hospedeiras, não são carcinogênicas, são esterilizadas facilmente e possuem resistência a diferentes forças mecânicas (106,107,108). Estudo demonstrou que o processo regenerativo no local de implantação gera um tecido estrutural e funcionalmente similar ao tecido original, sendo mais organizado do que um tecido cicatricial (89).

A associação do colágeno à tela de polipropileno, como fator protetor ao material permanente, de tal maneira a reduzir a tendência a encapsulização e reação inflamatório peri-implante foi demonstrada em estudos experimentais com sucesso (84,85). Modelo animal para o tratamento da hérnia incisional evidenciou redução na formação de aderências intestinais ao polipropileno (105).

Modelos animais para o tratamento do prolapso vaginal utilizando telas de polipropileno revestidas por filme de colágeno foram eficientes na redução da

exposição destas telas (84,85). Entretanto, estudo em coelhos evidenciou reação granulomatosa do tipo corpo estranho, com células gigantes em ambos os tipos de tela na mesma proporção, fato este não coincidente com o presente estudo, tal evento pode estar relacionado a fatores imunológicos dependentes da forma como as biomembranas são sintetizadas. Neste mesmo estudo a apoptose e atividade celular diminuíram em ambos os grupos quando comparados ao tecido vaginal normal, porém a diminuição foi maior no grupo exposto a tela de polipropileno não revestida pelo colágeno (85).

Estudo multicêntrico em humanos envolvendo 143 pacientes, as quais foram tratadas por meio da utilização de um kit comercial para correção dos prolapso pélvicos com telas de polipropileno revestidas por colágeno na face de contato com a mucosa vaginal, evidenciou resultado efetivo na diminuição da morbidade local desencadeada pelo polipropileno ao induzir menor frequência de exposição da tela de polipropileno e dispareunia (83).

No presente estudo a associação da BMSS com o polipropileno desencadeou a formação de tecido cicatricial o qual não apresentou tendência a encapsulação e minimizou a formação de células gigantes de corpo estranho. Consideramos que tal comportamento biológico agregou vantagens potenciais para o seu emprego clínico no assoalho pélvico, no qual a encapsulação, verificada no passado com outros materiais, foi fonte de complicações (109). Ademais, a tendência de resolução mais precoce do processo inflamatório local, observada com o emprego associado da biomembrana com o polipropileno, poderia contribuir para uma efetiva diminuição da tendência a exsudação local e exposição vaginal da tela. A ausência de necrose e infecção local, observadas no

presente experimento, qualifica a proposta de associação da biomembrana com o polipropileno para futuros estudos clínicos.

No presente experimento não houve extrusão da tela em nenhum dos grupos. Tal fato pode ter decorrido do posicionamento do implante no subcutâneo dos animais, que foi concebido de maneira a se evitar o contato direto da tela com a linha de sutura. Isso teve por objetivo evitar que a cicatriz cutânea constituísse fator interveniente na análise da integração dos implantes.

Com respeito às reações imunes, a biomembrana não promove reações de rejeição quando implantadas em ratos, mas foi descrita a existência de resposta imune, ativando células T-helper-2, assim como citocinas, fator de necrose tumoral e interleucinas (IL) I e IV. Tal fato pode decorrer da presença de glicosaminoglicanos, os quais podem ativar citocinas e vários fatores de crescimento que participam dos processos cicatriciais e de revascularização (59,103). Diferentemente das biomembranas disponíveis para uso urológico a BMSS utilizada neste experimento era constituída de uma única camada e, portanto, mais delgada que as comercialmente disponíveis. Além disso, era obtida apenas do jejuno, que apresenta a menor concentração de tecido linfóide em relação ao íleo. Tal fato permite a obtenção de uma MEC com menor concentração de glicoproteínas, as quais poderiam se elevadas, estimular o sistema imunológico do hospedeiro (Patente: PI0902410-7). O polipropileno é reconhecido como desencadeador de processo granulomatoso, porém a sua associação com a BMSS inibiu esta forma de reação tecidual.

Outras importantes características das biomembranas provenientes da MEC de submucosa intestinal é a capacidade de ser degradada rapidamente e completamente depois de implantadas (50,84,85,90,108,110). Em estudo prévio foi demonstrado que o processo de integração das telas de polipropileno estende-se até fases mais tardias (109). Entretanto, como o objetivo do presente experimento era avaliar o comportamento biológico da BMSS, a qual é substituída nas fases iniciais, justificou-se a utilização de um grupo de estudo precoce (7ºPO) o qual permitiu monitorar a substituição da BMSS pelo colágeno nativo (65). Testes para adequar as BMSS em uso clínico revelaram, em implantes experimentais, que membranas com até 10µm de espessura são absorvidos sem induzir processos inflamatórios inadequados nos tecidos hóspedes. A BMSS é rapidamente removida do local do implante, atuando assim como molde para a nova formação de colágeno, o qual permanece modulando as etapas seguintes do reparo tecidual de tal forma que não há o desenvolvimento de processo granulomatoso circundando o polipropileno, enquanto que no grupo cuja tela de polipropileno não foi revestida pela BMSS houve manutenção da reação granulomatosa. As características da deposição colágena observadas no presente estudo, por meio da análise da birrefringência, permitem afirmar que a biomembrana foi substituída em sua maior parte pelo colágeno neoformado pelo hospedeiro. Nesse sentido, a biocompatibilidade da BMSS na presente aplicação pode ser considerada muito elevada.

Assim a busca por materiais híbridos, ou seja, implantes que apresentem componentes absorvíveis ou temporários e componentes não absorvíveis ou

definitivos surgem na literatura médica como uma alternativa que possa minimizar as complicações associadas aos implantes únicos (15,32,81,83,84,85,100,105).

Os resultados obtidos neste modelo experimental demonstraram que o revestimento da tela de polipropileno pela membrana de colágeno obtido a partir da submucosa de intestino delgado suíno melhorou a qualidade do reparo tecidual, com incremento positivo na integração da tela de polipropileno, fato já anteriormente observado em outros tecidos (51,89,96,101), o que qualifica a presente proposta para estudos clínicos subsequentes.

6. Conclusões

O recobrimento da tela de polipropileno monofilamentar, implantada no tecido subcutâneo de ratas, pela biomembrana de submucosa intestinal suína, determinou reação fibroblástica e deposição colágena, as quais foram mais precoces em relação ao implante de tela de polipropileno isolada.

O colágeno sintetizado em torno da tela de polipropileno monofilamentar recoberta pela biomembrana de submucosa intestinal suína apresentou melhor organização molecular espacial, denotada pelas suas características ópticas, quando comparado com aquele depositado em torno da tela de polipropileno implantada isoladamente.

O recobrimento da tela de polipropileno monofilamentar, implantada no tecido subcutâneo de ratas, pela biomembrana de submucosa intestinal suína, determinou reação inflamatória de leve intensidade e duração com predomínio linfomonocitário em relação ao implante de tela de polipropileno isolada na qual predominou reação granulomatosa.

7. Referências Bibliográficas

1. Samuelson EC, Victor AV, Tibblin G, Svardsudd KE. Signs of genital prolapse in a Swedish population of women 20 to 59 years of age and possible related factors. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180(2):299-305.
2. Swift SE. The distribution of pelvic organ support in a population of female subjects seen for routine gynecologic health care. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183(2):277-85.
3. DeCherney,AH, Nathan L. Current obstetric & gynecologic diagnosis and treatment. 9th ed. New York: Mac Graw Hill Companies; 2003.
4. Lewick-Gaupp C, Margulies RU, Larson K, Fenner DE, Morgan DM, DeLancey JO. Self-perceived natural history of pelvic organ prolapse described by women presenting for treatment. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunc* 2009; 20(8):927-31.
5. Ashton-Miller JA, DeLancey JO. On the biomechanicals of vaginal birth and common sequelae. *Ann Rev Biomed Eng* 2009; 11:163-76.

6. Blaivas, Jg; Olsson, CA. Stress incontinence: Classification and surgical approach. *J Urol* 1988; 139:727-30.
7. Colombo M, Vitobello D, Proietti F, Milani R. Randomised comparison of Burch colposuspension versus anterior colporrhaphy in women with stress urinary incontinence and anterior vaginal wall prolapse. *BJOG* 2000; 107:544–51.
8. Maher C, Baessler K. Surgical management of anterior vaginal wall prolapse: an evidencebased review. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunc* 2006;17:195-201.
9. Carey M, Higgs P, Goh J, Lim J, Leong A, Krause H, Cornish A. Vaginal repair with mesh versus colporrhaphy for prolapse: a randomized controlled trial. *BJOG* 2009; 116(10):1380-6.
10. Shull BL, Benn SJ, Kuehl TJ. Surgical management of prolapse of the anterior vaginal segment: an analysis of support defects, operative morbidity, and anatomic outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171:1429-36.
11. Mallipeddi PK, Steele AC, Kohli N, Karram MM. Anatomic and functional outcome of vaginal paravaginal repair in the correction of anterior vaginal wall prolapse. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunc* 2001; 12:83-8.

12. Ho YH, Ang MG, Nyam D, Tan M, Seow-Choen F. Transanal approach to rectocele repair may compromise anal sphincter pressures. *Dis Colon Rectum* 1998; 41(3):354-8.
13. Kahn MA, Stanton SL. Posterior colporrhaply: its effects on bowel and sexual function. *Br J Obstet Gynaecol* 1997; 104(1):82-6.
14. Ballanger P. Surgery for genitourinary prolapses: prosthesis or no prosthesis? *Ann Urol* 2005; 5:132-6.
15. Ganj FA, Ibeanu OA, Bedestani A, Nolan TE, Chesson RR. Complications of transvaginal monofilament polypropylene mesh in pelvic organ prolapse repair. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunc* 2009; 20:919-25.
16. Ridgeway B, Walters MD, Paraiso MF, Barber MD, McAchran SE, Goldman HB, Jelovsek JE. Early experience with mesh excision for adverse outcomes after transvaginal mesh placement using prolapse kits. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 199(6):703-7.
17. Lunardelli JL, Auge APF, Lemos NLB, Carramão SS, Oliveira AL, Duarte A, Aoki A. Polypropylene mesh VS. Site-specific repair in the treatment of anterior vaginal wall prolapse: preliminary results of a randomized clinical Trial. *Rev Col Bras Cir* 2009; 36(3):210-6.

18. Culligan PJ, Littman PM, Salamon CG, Priestley JI, Shariati A. Evaluation of a transvaginal mesh delivery system for the correction of pelvic organ prolapse: subjective and objective findings at least 1 year after surgery. *Am J Obstet Gynecol* 2010; 203(5):506-16.
19. Nieminin K, Hiltunen R, Takala T, Heiskanen E, Merikari M, Niemi K, Heinonen PK. Outcomes after anterior vaginal wall repair with mesh: a randomized, controlled trial with a 3 year follow up. *Am J Obstet Gynecol* 2010; 203(3):235-8.
20. Schultz DG. FDA public health notification: serious complications associated with transvaginal placement of surgical mesh in repair of pelvic organ prolapse and stress urinary incontinence. US Food and Drug Administration [serial on the internet]. 2008 [cited 2008 oct 20]; Available from: http://service.govdelivery.com/service/subscribe.html?code=USFDA_39.
21. Finamore PS, Echols KT, Hunter K, Goldstein HB, Holsberg AS, Vakili B. Risk factors for mesh erosion 3 months following vaginal reconstructive surgery using commercial kits vs. fashioned mesh-augmented vaginal repairs. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunc* 2010; 21:285-91.
22. Julian TM. The efficacy of Marlex mesh in the repair of severe, recurrent vaginal prolapse of the anterior midvaginal wall. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:1472-5.

23. Sand PK, Koduri S, Lobel RW et al. Prospective randomized trial of polyglactin 910 mesh to prevent recurrence of cystoceles and rectoceles. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184:1357-64.
24. Di Vita G, Milano S, Frazzetta M, Patti r, Palazzolo V, Barbera C, Ferlazzo V, Leo P, Cillari E. Tension-free hérnia repair is associated with na increase in inflammatory response markers against the mesh. *Am J Surg* 2000; 180(3):203-7.
25. Di Vita G, Milano S, Patti R, Raimondo D, Di Bella G, D'Agostino P, Leo P, Cillari E. Cytokine modifications after tensio-free hernioplasty or open conventional inguinal hérnia repair. *Am J Surg* 2001; 181(6):487-91.
26. Arnaud JP, Eloy R, Adloff M, Grenier JF. Critical evaluation of prosthetic materials in repair of abdominal wall hernias. *Am J Surg* 1977; 133:338-45.
27. Amid PK, Shulman AG, Lichtenstein IL. Open "Tension-Free" Repair of Inguinal Hernias: The Lichtenstein Technique. *Eur J Surg* 1996; 162:447-53.
28. DeBord JR. The historical development of prosthetics in hernia surgery. *Surg Clin North Am* 1998; 78(6):973-1006.
29. McClusky III DA, Mirilas P, Zoras O, Skandalakis PN, Skandalakis JE. Groin hérnia anatomical and surgical history. *Arch Surg* 2006; 141:1035-41.

30. Debodinance P, Delport P, Engrand JB, Boulogne M. Évolution des matériaux prothétiques vers une meilleure tolérance; application en chirurgie gynécologique. *J Gynecol Obstet Reprod* 2002; 31:527-40.
31. Dietz HP, Vancaille P, Svhela M, Walsh W, Steensma AB, Vancaille TG. Mechanical properties of urogynecology implant materials. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunc* 2003; 14:239-43.
32. Winters JC, Fitzgerald MP, Barner MD. The use of synthetic mesh in female pelvic reconstructive surgery. *BJU International* 2006; 98(1):70-6.
33. Humberto Hott A, Roberto Iglesias R, Emil Schneider B, Denise Anrique C, Carola Villanueva M, Gonzalo Valdevenito A. Reparación de prolapso vaginal anterior com malla de prolene. *Rev Chil Obstet Ginecol* 2007; 72(2):120-4.
34. Afonso JS, Jorge RMN, Martins PS, Soldi MS, Alves OL, Patrício B, Mascarenhas T, Sartori MGF, Girao MJBC. Structural and thermal properties of polypropylene mesh used in treatment of stress urinary incontinence. *Acta Bioeng Biomech* 2009; 11(3):27-33.
35. Pagotto V, Palma P, Riccetto C, Bigozzi M. Colpopexia transcoccígea con malla de polipropileno con orificios facilitadores de la integración en la corrección deo prolapso de la pared posterior de la vagina: esultados anatómicos e funcionales. *Actas Esp Urol* 2009; 33(4):402-9.

36. Lin TY, Su TH, Huang WC. Polypropylene mesh used for adjuvant reconstructive surgical treatment of advanced pelvic organ prolapse. *J Obstet Gynaecol Res* 2010; 36(5):1059-63.
37. Moore RD, Beyer RD, Jacoby K, Freedman SJ, McCammon KA, Gambla MT. Prospective multicenter trial assessing type I, polypropylene mesh placed via transobturator route for the treatment of anterior vaginal prolapse with 2-year follow-up. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunc* 2010; 21(5):545-52.
38. Foon R, Tooze-Hobson P, Latthe PM. Adjuvant materials in anterior vaginal wall prolapse surgery: a systematic review of effectiveness and complications. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunc* 2008; 19:1697-706.
39. Tayrac, Renaud; Picone, Olivier; Chauveaud-Lambling, Aurelia; Fernández, Hervé. A two-year anatomical and functional assessment of transvaginal rectocele repair using a polypropylene mesh. *J Urogynecol* 2005;17:100-5.
40. Tayrac R, Gervaise A, Chauveaud A, Fernandez H. Tension-free polypropylene mesh for vaginal repair of anterior vaginal wall prolapse. *J Reprod Med* 2005; 50:75-80.
41. Rodrigues LV, Bukkapatnam R, Shah SM, Raz S. Transvaginal paravaginal repair of high-grade cystocele central and lateral defects with concomitant

suburethral sling: report of early results, outcomes, and patients satisfaction with a new technique. *Urology* 2005; 66(5):57-65.

42. Navarro GM, Tagle Alegria R, Baeza Prieto N. Reparación del cistocele por vía vaginal con malla subvesical sin tensión: técnica y resultados. *Rev Chil Urol* 2008; 73(2):124-31.
43. Borrell Palanca A, Chicote Perez F, Queipo Zaragoza JA, Beltran Meseguer JF, Esteve Claramunt J, Pastor Sempere F. Cystocele repair with a polypropylene mesh;our experience. *Arch Esp Urol* 2004; 57:391-6.
44. Birch C, Fynes MM. The role of synthetic and biological prosthesis in reconstructive pelvic floor surgery. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2002; 14:527-35.
45. Trabuco EC, Klingele CJ, Gebhart JB. Xenograft use in reconstructive pelvic surgery: a review of the literature. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunc* 2007; 18:555-63.
46. Clavé A, Yahi H, Hammon JC, Montanari S, Gounon P, Clavé H. Polypropylene as a reinforcement in pelvic surgery is not inert: comparative analysis of 100 explants. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunc* 2010; 21:261-70.

47. Shin D, Lipshultz LI, Goldstein M et al. Herniorraphy with polypropylene mesh causing inguinal vasal obstruction: a preventable cause of obstructive azoospermia. *Ann Surg* 2005; 241:553-8.
48. Maciel LC, Glina S, Palma PCR, Costa LFN, Netto Jr. NR. Histopathological alterations of the vas deferens in rats exposed to polypropylene mesh. *BJU Int* 2007; 100:187-90.
49. Schlammadinger J, Joo P, Bogner GI, Módos L. Birefringence of cells grown in vitro and of mitotic chromosomes after staining with picosirius red. *Braz J Morphol Sci* 2005; 22(2):105-11.
50. Kuiper N, Gabriel N, Griffiths S, Tew S. Shaping and sensing the extracellular matrix. *Int J Exp Path* 2008; 89:A1-A29.
51. Louie LK, Yannas IV, Hsu HP, Spector M. Healing tendon defects implanted with a porous collagen-GAG matrix: histological evaluation. *Tissue Eng.* 1997; 3(2):187-96.
52. Gholami SS, Gonzalez-Cadavid NF, Lin CS, Rajfer J, lue TF. Peyronie's disease: a review. *J Urol* 2003; 169(4):1234-41.

53. Oliveira ALR, Vidal BC, Langone F. Naturally supraorganized collagen increase axonal regeneration after tubulization repair. *Braz J Morphol Sci* 2005; 22(3):143-8.
54. Miaadi N, Ferhi K, Descargue G, Grise P. Traitment dès prolapsus vaginaux antérieurs par voi vaginale avec implant de collagène ET fixation transobturatrice. *Prog Urol* 2005; 15:1110-3.
55. Guerrete N, Peterson TV, Aguirre OA, VanDrie DM, Biller DH, Davila GW. Anterior repair with or without collagen matrix reinforcement. A randomized controlled trial. *Obstet Gynecol* 2009;114(1):596-5.
56. Huzoor-Akbar, Ardlie NG. Evidenced that colagen releases human platelet constituents by two different mechanisms. *Br J Haematol* 1976; 34(1):137-46.
57. King GN, King N, Hughes FJ. Effect of two delivery systems for recombinant human bone morphogenetic protein-2 on periodontal regeneration in vivo. *J Periodontal Res* 1998; 33(4):226-36.
58. Wolfensohn S, Lloyd M. Handbook of laboratory animal management and welfare. 2nd ed. London: Ed. Blackwell science; 1998. p.179-87.

59. Hodde JP, Badylak SF, Brightman AO, Voytik-Harbin SL. Glycosaminoglycan content of small intestine submucosa: a bioscaffold for tissue replacement. *Tissue Eng* 1996; 2:209-17.
60. McPherson TG, Badylak SF. Characterization of fibronectine derived from porcine small intestinal submucosa. *Tissue Eng* 1998; 4:75-83.
61. Schmidt CE, Baier JM. Acellular vascular tissue: natural biomaterials for tissue repair and tissue engineering. *Biomaterials* 2000; 21:2215-31.
62. Vidal BC. Evaluation of the carbohydrate role in the molecular order of collagen bundles: microphotometric measurements of textural birefringence. *Cell Mol Bio* 1986; 32(5):527-35.
63. Vidal BC, Mello MLS. *Biologia Celular*. 1a ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 1986.
64. Haskell RC, Carlson FD, Blank OS. Form birefringence of muscle. *Biophys J* 1989; 56(8): 401-13.
65. Vidal BC. Form birefringence as applied to biopolymer and and inorganic material. *Biotechnic and Histochemistry* 2010; 85(6): 365-378.
66. Leal LHM. *Fundamentos de microscopia*. 1a ed. Rio de Janeiro: EdUERJ; 2000.

67. Vidal BC. Image analysis of tendon helical superstructure using interference and polarized light microscopy. *Micron* 2003; 34:423-32.
68. Vidal BC. Image analysis of linear dichroism in collagen-nano-silver complexes. *Microscopy Analysis* 2003; 97:21-3.
69. Vidal BC. Reticulin morphometry and collagen fibers optical anisotropy as assessed by image analysis after silver impregnation. *Braz J Morphol Sci* 2003; 20(3):165-70.
70. Vidal BC, Mello MLS. Structural organization of collagen fibers in chordae tendineae as assessed by optical anisotropic properties and fast fourier transform. *J Struct Bio* 2009; 167:166-75.
71. Palloni A, Pelaez M, Wong R. Introduction: aging among Latin America and Caribbean populations. *J Aging Heath* 2006; 18(2):149-56.
72. Lei L, Song Y, Chen RQ. Biomechanical properties of prolapsed vaginal tissue in pré- and postmenopausal women. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunc* 2007; 18:603-7.
73. Epstein LB, Grahan CA, Heit MH. Systemic and vaginal biomechanical properties of women with normal vaginal support and pelvic organ prolapse. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 197(2):165-6.

74. Kerkhof MH, Hendricks L, Brolman AM. Changes in connective tissue in patients with pelvic organ prolapse – a review of the current literature. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunc* 2009; 20(4):461-74.
75. Makinen J, Kahari VM, Soderstrom KO, Vuorio E, Hirvonen T. Collagen synthesis in the vaginal connective tissue of patients with and without uterine prolapse. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Bio* 1987; 24:319-25.
76. Chen HY, Chung YW, Lin WY, Wang JC, Tsai FJ, Tsai CH. Collagen type 3 alpha 1 polymorphism and risk of pelvic organ prolapse. *Int J Gynaecol Obstet* 2008; 103:55-8.
77. McIntosh LJ, Mllett VT, Frahm JD, Richardson DA, Evans MI. Gynecologic disorders in women with Ehlers-Danlos syndrome. *J Soc Gynecol Investig* 1995; 2:559-64.
78. Carley ME, Schaffer J. Urinary incontinence and pelvic organ prolapse in women with Marfan or Ehlers Danlos syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182:1021-3.
79. Murphy M. Clinical practice guidelines on vaginal graft use from the society of gynecologic surgeons. *Obstet Gynecol* 2008; 112(95):1123-30.

80. Sola V, Pardo J, Ricci P, Guiloff E. Tension free monofilament macropore polypropylene mesh (Gynemesh OS) in femamle genital prolapse repair. *Int Braz J Urol* 2006; 32(4):410-5.
81. Debodinance P, Amblard J, Fatton B, Cosson M, Jacquetin B. Le Kit prothétique dans la cure des prolapsus génitaux: est-ce un gadget? *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 2007; 36(3):267-75.
82. Shaker D. Surgical management of vaginal mesh erosion: an alternative to excision. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunc* 2010; 21(4):499-501.
83. Tayrac R, Devoldere G, Renaudie J, Villard P, Guilbaud O, Eglin G. Prolapse repair by vaginal route using a new protect low-weight polypropylene mesh: 1-year functional and anatomical outcome in a prospective multicentre study. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunc* 2007; 18:251-6.
84. Tayrac R, Alves A, Thérin M. Collagen-coated vs noncoated low-weight polypropylene meshes in a sheep model for vaginal surgery. A pilot study. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunc* 2007; 18:513-20.
85. Huffaker RK, Muir TW, Rao A, Baumann SS, Kuehl TJ, Pierce LM. Histologic response of porcine collagen-coated and uncoated polypropylene grafts in rabbit vagina model. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 198:582.e1-582.e7.

86. Hanson D, Langemo D, Thompson P, Anderson J, Hunter S. Understanding wound fluid and phases of healing. *Adv Skin Wound Care* 2005; 18(7):360-2.
87. Amid PK. Classification of biomaterials and their related complications in abdominal wall hernia surgery. *Hernia* 1997; 1:15-21.
88. Ulmsted U, Falconer C. Connective tissue in female urology incontinence. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1999;11:509-15.
89. Derwin KA, Baker AR, Spragg RK, Leigh DR, Iannotti JP. Commercial extracellular matrix scaffolds for rotator cuff tendon repair: biomechanical, and cellular properties. *J Bone Joint Surg* 2006; 88(12):2665-72.
90. Badylak SF. The extracellular matrix as a biologic scaffold material. *Biomaterials* 2007; 28:3587-93.
91. Van Der Rest M, Garrone R. Collagen family of proteins. *FASEB J*. 1991;5:2814-23. Pimentel ER. Matriz Extracelular. In: A célula. Carvalho HF e Recco-Pimentel SM (editores). 2ed. São Paulo: Manole; 2007. p.276-94.
92. Pimentel ER, Matriz extracelular: In: *A célula*. Carvalho HF e Recco-Pimentel SM (editores). 2ª Ed. São Paulo: Manole. P.276-94.

93. Bigliani LU, Cordasco FA, McIlveen SJ, Musso ES. Operative treatment of failed repairs of the rotatorcuff. *J Bone Joint Surg* 1992; 74(A):1505-15.
94. Aiken SW, Badylak SF, Toombs JP, Shelbourne KD, Hiles MC, Lantz GC, Van Sickle D. Small intestinal submucosa as an intra-articular ligamentous graft material: A pilot study in dogs. *Vet Comp Orthop Trauma* 1994;7:124-8.
95. Badylak SF, Tullius R, Kokine K, Shelbourne KD, Klootwyk T, Voytik SL, Kraine MR, Simmons C. The use of xenogeneic small intestinal submucosa as a biomaterial for achilles tendon repair in a dog model. *J Biomed Mater Res* 1995; 29(8):977-85.
96. Karaoglu S, Fisher MB, Woo SLY, Fu YC, Liang R, Abramowitch SD. Use of a bioscaffold to improve healing of a patellar tendon defect after graft harvest for ACL reconstruction: a study in rabbits. *J Orthop Res* 2008; 26(2):255-63.
97. DeJardin LM, Arnoczky SP, Clarke RB. Use of small intestinal submucosal implants for regeneration of large fascial defects: an experimental study in dogs. *J Biomed Mater Res* 1999; 46(2):203-11.
98. Kropp BP. Small-intestinal submucosa for bladder augmentation: a review of preclinical studies. *World J Urol* 1998;16:262-7.

99. Filipo RE, Yoo JJ, Atala A. Urethral replacement using cell seeded tubularized collagen matrices. *J Urol* 2002; 168(10):1789-93.
100. Moreno-Sierra J, Prieto Nogal SB, Galante Romo MI, Resel Folkersman LE, Silmi Moyano A. New technique for the repair of anterior pelvic floor compartment defects using a synthetic implant with biological coverage: aproach, fixation and transobturator anchoring. *Arch Esp Urol* 2007; 60(1):45-50.
101. Ison-Batz G, Zimmerm PE. Collagen injection for female urinary incontinence after urethral or periurethral surgery. *J Urol* 2009; 181:701-4.
102. Cobb MA, Badylak SF, Janas W, Boop FA,. Histology after dural grafting with small intestinal submucosa. *Surg Neurol* 1996; 46:389-94.
103. Hodde J, Janis A, Ernst D, Zopf D, Sherman D, Johnson C. Effects of sterilization on an extracellular matrix scaffold: part I. Composition and matrix architectur. *J Mater Sci: Mater Med* 2007; 18:537-43.
104. Hodde J, Janis A, Hiles M. Effects of sterilization on an extracellular matrix scaffold: part II. Bioactivity and matrix interaction. *J Mater Sci: Mater Med* 2007; 18:545-50.

105. Van't Riet M, Burger JW, Bonthius 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; 18(4):681-5.
106. Fry DE, Milholen L, Harbrecht PT. Iatrogenic urethral injury, options in management. *Arch Surg* 1986; 118(4):454-7.
107. Dejardin LM, Arnoczky SP, Ewers BJ, Haut RC, Clarke RB. Tissue-engineered rotator cuff tendon using porcine small intestine submucosa: histologic and mechanical evaluation in dogs. *Am J Sports Med* 2001; 29(2):175-84.
108. Badylak SF, Kokine K, Tullius B, Simmons-Byrd A, Morff R. Morphologic study of small intestinal submucosa as a body wall repair device. *J Surg Res* 2002; 103(2):190-202.
109. Riccetto C, Myiaoka R, de Fraga R, Barbosa R, Dambrós M, Teixeira A, Palma P. Impact of the structure of polypropylene meshes in local tissue reaction: in vivo stereological study. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunc* 2008; 19(8):1117-23.

110. Gilbert TW, Stewart-Akers AM, Simonns Byrd A, Badylak SF. Degradation and remodeling of small intestinal submucosa in canines Achilles tendon repair. *J Bone Joint Surg Am* 2007; 89A(3):621-30.