

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**TELAS DE POLIPROPILENO REVESTIDAS POR
QUITOSANA/POLIETILENOGLICOL NA OCORRÊNCIA DE ADERÊNCIAS
PERITONIAIS: ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATAS**

Danilo Ferreira Rodrigues

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Neusa Margarida Paulo

GOIÂNIA

2011

DANILO FERREIRA RODRIGUES

**TELAS DE POLIPROPILENO REVESTIDAS POR
QUITOSANA/POLIETILENOGLICOL NA OCORRÊNCIA DE ADERÊNCIAS
PERITONIAIS: ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATAS**

Dissertação apresentada para obtenção do
grau de Mestre em Ciência Animal junto à
Escola de Veterinária e Zootecnia da
Universidade Federal de Goiás.

Área de concentração:

Patologia, Clínica e Cirurgia Animal

Linha de Pesquisa:

Técnicas cirúrgicas e anestésicas, patologia,
clínica cirúrgica e cirurgia experimental

Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Neusa Margarida Paulo – EVZ/UFG

Comitê de Orientação:

Prof. Dr. Renato Miranda de Melo – FM/UFG

Prof^a. Dr^a. Liliana Borges de Menezes – IPTSP/UFG

GOIÂNIA

2011

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
GPT/BC/UFG**

R696t Rodrigues, Danilo Ferreira.
Telas de polipropileno revestidas por quitosana/polietilenoglicol na ocorrência de aderências peritoneais [manuscrito] : estudo experimental em ratas / Danilo Ferreira Rodrigues. - 2011.
xiii, 58 f. : figs, tabs.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Neusa Margarida Paulo; Co-orientadores: Prof. Dr. Renato Miranda de Melo; Prof^a. Dr^a. Liliana Borges de Menezes.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, 2011.

Bibliografia.

Inclui lista de figuras e tabelas.

Anexos.

1. Biomateriais. 2. Implante. 3. Parede abdominal 4. Reação de corpo estranho 5. Sistema de barreira. I. Título.

CDU: 636.09:616.77

DANILO FERREIRA RODRIGUES

Dissertação defendida e aprovada em 25/02/2011, pela Banca Examinadora constituída pelos professores:


Prof.ª Dra. Neuse Margarida Paulo
(ORIENTADOR (A))


Prof. Dr. Claudemiro Gureze Júnior - FM/UFG


Prof.ª. D.ª. Naida Cristina Borges

Dedico este trabalho aos meus Pais,
Geraldo e Rosilene, minha avó
Felícia e a minha namorada
Fernanda, pelo amor e incentivo nos
momentos fáceis e difíceis da vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, o maior responsável por todas as oportunidades que me fizeram chegar até aqui.

A minha Orientadora, prof^a. Dr^a. Neusa Margarida Paulo, primeiramente por me aceitar como orientado, e pela sua grande amizade, convívio harmonioso, paciência, ensinamentos e imensa contribuição com o meu desenvolvimento profissional.

A toda minha família, especialmente aos meus pais Geraldo Borges Rodrigues e Rosilene Ferreira Rodrigues, e a minha avó Felícia dos Santos Ferreira, pelo amor e apoio nesta minha nova jornada acadêmica.

Ao meu amor, Fernanda Figueiredo Mendes, pelo apoio pessoal e profissional, sem os quais seria impossível a realização deste trabalho, pois quando tudo parecia impossível, eu sempre podia contar com a sua ajuda para deixar a situação sob controle.

Aos meus co-orientadores, prof. Dr. Renato Miranda de Melo e prof^a. Dr^a. Liliana Borges de Menezes, pela amizade e imensa disposição em sempre ajudar no desenvolvimento desta pesquisa.

A prof^a. Dr^a. Ângela Maria Moraes do Departamento de Processos Biotecnológicos da Faculdade de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas por ceder com muito entusiasmo os biomateriais utilizados neste estudo.

Aos meus amigos do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal pelos maravilhosos momentos de estudo e lazer, além de contribuírem direta ou indiretamente com este trabalho, especialmente a Daniel Barbosa da Silva, Saura Nayane de Souza, Talita Dayane Pereira e Silva, Raquel Cunha Ribeiro, Januária Silva Santos, Luciano Schneider da Silva, Luiz Augusto de Souza, Taís Andrade Dias, Tales Dias do Prado, Gisele Bonifácio Neves Mendonça, Marina Zimmermann, Camila França de Paula Orlando e Daniel Silva Goulart.

Aos graduandos em Medicina Veterinária, Ashbel Schneider da Silva, Lorena Lima Barbosa Guimarães, Carolina Castro Lyra da Silva, Caroline Fleury Canesin e Vani Wansoscki, pela imensa ajuda durante o manejo, procedimentos cirúrgicos dos animais e processamento das amostras deste trabalho.

Aos professores da área de Patologia, Clínica e Cirurgia Animal da EVZ/UFG pela amizade e pelos ensinamentos e pela contribuição de alguma forma para a execução desta pesquisa, em especial a Prof^a. Dr^a Maria Clorinda Soares Fioravant, Prof^a. Dr^a Rosângela Alves de Oliveira, Prof. Dr. Luiz Antônio Franco da Silva, Prof^a. Dr^a Naida Cristina Borges, Prof. Dr. Eugênio Gonçalves de Araújo, Prof. Dr. Juan Carlos Duque Moreno, Prof. Dr. Olízio Claudino da Silva, Prof. Dr. Adilson Donizeti Damasceno e Prof^a. Dr^a Veridiana Maria Brianezi Dignani de Moura.

Aos funcionários do Hospital Veterinário/EVZ/UFG, em especial a Vilda Maria dos Santos, Maria do Carmo Marques, Sheila de Almeida Souza e Mario Ferreira, por sempre estarem com muita disposição em me ajudar nas atividades deste trabalho e na rotina do Hospital Veterinário.

A empresa FBM FARMA Indústria Farmacêutica Ltda., Anápolis-Goiás, e principalmente a sua funcionária Wanessa Caldas da Silva Barroso, que se dispôs gentilmente a realizar o processo de esterilização dos biomateriais utilizados nesta pesquisa.

Aos técnicos administrativos do Biotério Central/UFG, Dra. Ekaterina Akimovna Botovchenco Rivera e ao biólogo Lucas Breseghelo do Nascimento, pelo fornecimento dos animais necessários para o desenvolvimento desta pesquisa.

A todos os animais que possibilitaram o nosso aprendizado e crescimento pessoal.

“Não entre em pânico”

Douglas Adams.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	4
2.1 Considerações iniciais sobre as aderências peritoniais.....	4
2.2 Aderências peritoniais na Medicina Veterinária	5
2.3 Fisiopatogenia das aderências peritoniais	6
2.4 Telas cirúrgicas de polipropileno e a formação de aderências	8
2.5 Prevenção das aderências peritoniais	9
2.5.1 Barreiras físicas	10
2.5.2 O potencial da quitosana e do polietilenoglicol na prevenção de aderências	12
2.6 Reações teciduais do hospedeiro ao implante de biomateriais	14
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1 Autorização do Comitê de Ética em Pesquisa	16
3.2 Local de realização do experimento e animais de estudo	16
3.3 Preparação dos biomateriais e pré-operatório	17
3.4 Procedimento cirúrgico	18
3.5 Procedimentos pós-operatórios	20
3.6 Análises macroscópicas.....	20
3.7 Análises histopatológicas.....	21
3.8 Análise estatística	23
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1 Análise macroscópica	24
4.1.1 Tela de polipropileno revestida com quitosana/polietilenoglicol.....	24
4.1.2 Sítio de implantação das telas	25
4.2 Análise Microscópica	34
4.2.1 Tela de polipropileno revestida com quitosana/polietilenoglicol.....	34
4.2.2 Quatro dias após a implantação dos biomateriais	35
4.2.3 45 dias após a implantação dos biomateriais	40
5 CONCLUSÕES.....	45
REFERÊNCIAS.....	46
ANEXOS.....	58
ANEXO I.....	58

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 Procedimento de preparo dos biomateriais. a) hidratação da tela de qp em solução de ringer com lactato. a seta aponta o filme gelatinoso qp obtido pela hidratação; b) tela qp (esquerda) e tela pp (direita); c) tela qp fixada em quatro pontos por fios de polipropileno; d) embalagem da tela qp após a esterilização..... 18
- FIGURA 2 Promoção do defeito abdominal e reconstrução da parede abdominal de ratas com telas: A) incisão mediana retroumbilical; B) divulsão do tecido subcutâneo no lado direito e localização da aponeurose dos músculos reto abdominal e oblíquo abdominal externo; C) excisão da musculatura e peritônio; D) defeito abdominal promovido cirurgicamente; E) ancoragem da tela PP com fios de polipropileno 4-0; F) inserção da tela QP na cavidade abdominal; G) ancoragem da tela em quatro pontos; H) aspecto final do implante no espaço intraperitonal após a fixação. 19
- FIGURA 3 Método de avaliação macroscópica da formação de aderências em ratas por meio do programa imagej: A) rebatimento da pele da parede abdominal; B) incisão da musculatura em “U”; C) obtenção da imagem com câmera digital; D) seleção da área total da tela (linha verde); E) seleção da área da tela envolvida pela aderência. 21
- FIGURA 4 Mensuração da área ocupada por fibras colágenas pelo programa imagej: a) fotomicrografia original da interface tela QP/parede abdominal após 4 dias da implantação na coloração de picrosirius, aumento de 40x; b) exclusão da porção não corada devido à ausência de colágeno; c) conversão da imagem corada para a escala de preto e branco para quantificação de fibras colágenas em pixels..... 23
- FIGURA 5 Tela de polipropileno enrolada após aplicação do revestimento do filme de quitosana/polietilenoglicol..... 24

- FIGURA 6 Aparência macroscópica das feridas abdominais após quatro dias da cirurgia. A e B: feridas abdominais do grupo QP na fase proliferativa da cicatrização. C e D: feridas abdominais do grupo PP na fase inflamatória da cicatrização.26
- FIGURA 7 Incidência de aderências em porcentagem (%) (eixo Y) de acordo com as estruturas abdominais envolvidas (eixo X) e biomaterial implantado em ratas (Grupo QP, telas de polipropileno revestidas por quitosana/polietilenoglicol e grupo PP, telas de polipropileno). 27
- FIGURA 8 Tipos de aderências de acordo com os biomateriais implantados na parede abdominal de ratas. A) Aderência de omento em menos de 25% na superfície do biomaterial, grupo QP. B) Aderência de omento na borda da tela QP. C) Aderência de mesentério na borda da tela QP (seta). D) Aderência de omento em até 50% da superfície do biomaterial, grupo PP. E) Aderência de omento mais de 50% da superfície da tela PP. F) Aderência de omento e mesentério sobre a tela PP (seta).28
- FIGURA 9 Área da tela envolvida pela aderência em porcentagem (%) (eixo Y) observada em ratas submetidas à implantação intraperitoneal de telas (eixo X) de acordo com os grupos experimentais (Grupo QP, telas de polipropileno revestidas por quitosana/polietilenoglicol e Grupo PP e telas de polipropileno).29
- FIGURA 10 Fotomicrografias do sítio de implantação de telas de polipropileno revestidas com filme à base de quitosana e polietilenoglicol no espaço intraperitoneal em ratas (HE, 10x). A: filme a base de quitosana e polietilenoglicol íntegro (seta) envolvendo os monofilamentos de polipropileno (estrela) após quatro dias do procedimento. B: filme QP degradado (seta) envolvendo os monofilamentos de polipropileno (estrela) após 45 dias da implantação.34

- FIGURA 11 Fotomicrografias do sítio de implantação de telas QP e telas PP no espaço intraperitoneal de ratas após quatro dias da implantação (HE, 40x). A: amostra do animal do grupo QP na região do monofilamento evidenciando a presença acentuada de fibrina (estrela) e neutrófilos (seta preta). B: amostra do grupo PP na região do monofilamento da tela com presença de macrófagos (seta verde), célula gigante (seta preta) e angiogênese (seta amarela).....36
- FIGURA 12 Fotomicrografias em luz polarizada da região de interface tela/parede abdominal de ratas após quatro dias da implantação dos biomateriais no espaço intraperitoneal (picrosirius, 40x). A: amostra do grupo QP indicando melhor orientação das fibras colágenas tipo I (em vermelho). B: amostra do grupo PP com fibras colágenas pouco organizadas.....39
- FIGURA 13 Fotomicrografias do sítio de implantação de telas QP e telas PP no espaço intraperitoneal de ratas na zona de monofilamentos das telas após 45 dias da cirurgia (HE, 40x). A: Amostra do grupo QP, evidenciando a presença de uma célula gigante (seta preta) e angiogênese (seta amarela). B: amostra do grupo PP indicando a presença de células gigantes (seta preta) e angiogênese (seta amarela).....41
- FIGURA 14 Fotomicrografias do sítio de implantação de telas QP (A) e telas PP (B) no espaço intraperitoneal de ratas na zona de monofilamentos das telas após 45 dias do procedimento cirúrgico indicando a presença do neoperitônio (seta preta) (HE, 20x).....42
- FIGURA 15 Fotomicrografias em luz polarizada da região de interface tela/parede abdominal de ratas após 45 dias da implantação dos biomateriais (picrosirius, 40x). A: amostra do grupo QP indicando melhor orientação das fibras colágenas tipo I (em vermelho). B: amostra do grupo PP com fibras colágenas pouco organizadas. ...44

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Descrição dos tipos de aderências em escores* provocadas pelos implantes de telas PP e QP em ratos.....	32
TABELA 2	Variáveis histopatológicas do sítio de implantação de telas de PP e QP em ratos após quatro dias do procedimento cirúrgico.....	35
TABELA 3	Área ocupada por de fibras colágenas totais em megapixels (MP ²) e tipificação colágena no sítio de implantação de telas PP e QP em ratos após quatro dias do procedimento cirúrgico.....	38
TABELA 4	Variáveis histopatológicas do sítio de implantação de telas de PP e QP em ratos após 45 dias do procedimento cirúrgico.....	40
TABELA 5	Área ocupada por fibras colágenas totais em megapixels ² (MP ²) e tipificação colágena no sítio de implantação de telas PP e QP em ratos após 45 dias.....	43

RESUMO

As aderências peritoniais possuem grande importância na prática clínico-cirúrgica pela possibilidade de causarem sequelas como dor abdominal crônica, infertilidade e obstrução intestinal, portanto a prevenção do desenvolvimento deste processo torna-se um desafio para os cirurgiões. Devido às propriedades de biocompatibilidade, bioabsorção, cicatrizante e antimicrobiana, a quitosana é um polímero que tem despertado interesse no estudo da prevenção de aderências peritoniais. O objetivo com esta pesquisa foi verificar se o implante intraperitoneal de telas de polipropileno revestidas com o filme de quitosana/polietilenoglicol é eficiente na prevenção de aderências em ratos com defeitos abdominais induzidos, além de caracterizar as reações teciduais nas fases aguda e crônica do processo de inflamação e reparo tecidual desencadeadas por este biomaterial, e a tela de polipropileno sem revestimento. Foram realizados defeitos na parede abdominal de aproximadamente 1cm, tendo como referência anatômica a aponeurose das fáscias externas dos músculos reto abdominal e oblíquo abdominal externo, seguida da implantação de telas de polipropileno revestidas com quitosana/polietilenoglicol (Grupo QP, $n=12$) e telas de polipropileno sem revestimento (Grupo PP, $n=12$). Seis animais de cada grupo foram submetidos à eutanásia aos quatro e 45 dias após o implante, e foram avaliadas a área de envolvimento da tela pela aderência, o tipo de aderência, o processo de inflamação e reparo tecidual, além da quantificação e tipificação de fibras colágenas. A média das telas envolvidas pelas aderências no grupo QP foi de 39,088% e de 84,024% no grupo PP e a estrutura abdominal envolvida nas aderências no grupo QP geralmente consistiam pelo omento ao redor do implante, no grupo PP, as aderências geralmente estavam na superfície da tela. Após quatro dias do procedimento cirúrgico, a quantidade de células mononucleares foi menor no grupo QP, porém a quantidade de células polimorfonucleares, fibrina e fibras colágenas estavam em maior quantidade nesse grupo, além desta última variável apresentar melhor organização espacial. Após 45 dias da implantação dos biomateriais, houve a redução na quantidade de células inflamatórias, e a organização espacial das fibras colágenas no grupo QP foi permaneceu acentuada. Conclui-se que as telas revestidas com o filme à base de quitosana/polietilenoglicol não preveniram a formação de aderências, porém minimizaram significativamente a gravidade deste processo. Na fase aguda do processo de inflamação e reparo tecidual, a reação de corpo estranho foi menos intensa no grupo que recebeu a tela de polipropileno com revestimento, porém as reações teciduais provocadas pelos biomateriais analisados foram similares na fase crônica. A tela revestida com o filme à base de quitosana/polietilenoglicol estimulou a maior produção e melhor orientação de fibras colágenas tipo I na fase aguda do processo de inflamação e reparação tecidual, e melhor orientação de fibras colágenas na fase crônica deste processo.

Palavras-chave: biomateriais, implante, parede abdominal, reação de corpo estranho, sistema de barreira

ABSTRACT

Peritoneal adhesions are highly important in clinical and surgical practice because of the potential to cause sequelae such as chronic abdominal pain, infertility and bowel obstruction; thus, preventing the formation of this process becomes a challenge for surgeons. Due to biocompatibility, bioabsorption, healing and antimicrobial properties, chitosan is a polymer which has aroused interest of researchers studying the prevention of peritoneal adhesions. The objective of this research was to determine whether the intraperitoneal implantation of polypropylene mesh coated with a film of chitosan/polyethylene glycol is effective for the prevention of adhesions in rats with induced abdominal defects. We sought to further characterize the tissue reactions in acute and chronic phases of the inflammation process, and the tissue repair processes triggered by this biomaterial and the polypropylene mesh without coating. Defect of about 1cm was made in the abdominal wall, with reference to anatomical aponeurosis of the fascia of the rectus abdominis and obliquus externus abdominis muscles, followed by the implantation of polypropylene meshes coated with chitosan / polyethylene glycol (QP Group, $n= 12$) and uncoated polypropylene meshes (PP group, $n= 12$). Six animals from each group were euthanized at four and 45 days after implantation and the involvement of the mesh area by the adhesion, the type of adhesion, the inflammation process and tissue repair, and the quantification and characterization of collagen fibers were evaluated. The average of the meshes involved by adhesions in the QP and PP groups was 39.088% and 84.024%, respectively, and the structure involved in abdominal adhesions in the QP group usually consisted of the omentum around the implant, while in the PP group, adhesions were usually on the surface of the mesh. After four days of surgery, the amount of mononuclear cells was lower in QP, but the amount of polymorphonuclear cells, fibrin and collagen fibers was in greater quantity in this group; besides, the later variable showed better spatial organization. After 45 days of biomaterials implantation, there was a reduction in the amount of inflammatory cells, and spatial organization of collagen fibers in the QP group remained strong. It is concluded that the meshes coated with the film based on chitosan/polyethylene glycol did not prevent adhesion formation, but significantly minimized the seriousness of this process. In the acute phase of inflammation and tissue repair, the foreign body reaction was less intense in the group receiving the coated polypropylene mesh, but the tissue reactions caused by the studied biomaterials were similar to the chronic phase. The mesh coated with film-based chitosan/polyethylene glycol stimulated higher production and better orientation of collagen type I in the acute phase of inflammation and tissue repair, and better orientation of collagen fibers in the chronic phase of this process.

Keywords: abdominal wall, barrier system, biomaterials, foreign body reaction, implants

1 INTRODUÇÃO

Extensos defeitos na parede abdominal decorrentes de traumas, tumores e hérnias podem necessitar da utilização de telas cirúrgicas para sua correção. Este biomaterial atua como uma barreira física que confere resistência tênsil ao abdome e reduz a tensão da sutura entre as bordas da ferida, os quais minimizam a recidiva do problema. Porém, a tela comumente utilizada, composta por polipropileno, está associada ao desenvolvimento frequente de aderências peritoniais.

As aderências peritoniais são conexões fibrinosas ou fibrosas formadas entre as superfícies de órgãos da cavidade abdominal, parede abdominal, ou ambos (DIAMOND & FREEMAN, 2001; HAMMOUD et al., 2004). A incidência deste processo está acima de 90% em pacientes humanos submetidos à laparotomias e as principais sequelas associadas a este processo são a dor abdominal crônica, infertilidade e obstrução intestinal, além de acarretar em elevados prejuízos econômicos ao sistema de saúde decorrentes de hospitalizações e cirurgias (BASILIO, 2003; DWIVEDI et al., 2004; MOLINAS et al., 2006; van der WAL, 2006; YEO & KOHANE, 2008; PETTER-PUCHNER et al., 2008).

Injúrias peritoniais desencadeiam reações inflamatórias que promovem a deposição de fibrina sobre a superfície lesada (SCHNÜRIGER et al., 2010). Dependendo do equilíbrio entre os componentes do sistema plasminogênio poderá ocorrer a lise da fibrina, ou esta atuará como um arcabouço para o crescimento de fibroblastos, deposição de matriz extracelular e angiogênese, resultando na formação de aderência (diZEREGA & CAMPEAU, 2001).

Na Medicina Veterinária, a pesquisa das aderências peritoniais ainda é pouco valorizada, devido em parte à carência do conhecimento adequado deste assunto por médicos veterinários, e ao fato de algumas espécies, como cães e gatos, possuírem um sistema fibrinolítico eficiente. Contudo, os equinos são frequentemente acometidos pelas consequências das aderências peritoniais (LOPES et al., 1998). Esta espécie possui um sistema fibrinolítico pouco eficiente (CALDWELL & MUELLER, 2010), o que resulta no desenvolvimento frequente de aderências após laparotomias, que podem ser assintomáticas ou levar o animal

ao quadro clínico de cólica e obstrução intestinal com elevado índice de mortalidade (LOPES et al., 1998).

Vários métodos para a prevenção do desenvolvimento de aderências têm sido desenvolvidos, porém nenhum foi completamente eficaz. As principais estratégias incluem a realização de técnicas cirúrgicas adequadas, a utilização de agentes farmacológicos e a sobreposição de barreiras físicas à superfície peritoneal lesada (ERGUL & KORUKLUOGLU, 2008). No intuito de promover a separação das superfícies peritoneais, este último tratamento é o que tem apresentado melhor eficácia para minimização da formação de aderências.

Os avanços de pesquisas sobre biomateriais mostram o grande potencial de diversos polissacarídeos para o uso médico. Um biomaterial que vem ganhando destaque na área da saúde devido as suas propriedades antimicrobiana, cicatrizante, atóxica, além de biocompatibilidade e biodegradabilidade, é a quitosana (HONARKAR & BARIKANI, 2009). Este polímero é obtido por meio da desacetilação da quitina, proveniente principalmente de crustáceos e insetos, em soluções básicas como o hidróxido de sódio ou de potássio. Durante o processo, ligações N-acetil do polímero quitina se rompem e originam a D-glicosamina que possui o grupo amino livre, sendo caracterizada como quitosana o polímero que possuir o nível de desacetilação superior a 50% (DALLAN, 2005).

A quitosana sob diferentes apresentações farmacológicas, como solução, hidrogel e membranas apresentou certa eficiência em vários estudos relacionados à prevenção de aderências peritoneais, como os desenvolvidos por KENNEDY et al. (1996), CETIN et al. (2003), PAULO et al. (2009) e LAUDER et al. (2010). Porém, o mecanismo de ação deste agente na prevenção do processo de formação de aderências ainda não está completamente esclarecido.

Outro polímero que minimizou o desenvolvimento de aderências peritoneais em estudos anteriores foi o polietilenoglicol (DUNN et al., 2001; FERLAND et al. (2001). Este agente gelatinoso sintético possui teor de água superior a 90% e é um péssimo meio de cultura bacteriana, atuando como uma barreira física que promove o isolamento da lesão tecidual aos tecidos adjacentes e permanece no período crítico do desenvolvimento de aderências (DUNN et al., 2001).

O biomaterial ideal para evitar a ocorrência de aderências peritonias ainda não existe. Porém, estudos nessa área estão em crescente desenvolvimento com o objetivo de reduzir a incidência desse processo e compreender o mecanismo de prevenção do mesmo, contribuindo para a melhoria da qualidade de vida de inúmeros pacientes e a redução dos elevados prejuízos econômicos advindos das aderências. Devido à minimização da formação de aderências peritonias promovidos pela quitosana e o polietilenoglicol, e a redução da recidiva de hérnias pelo uso de telas de polipropileno em estudos anteriores, criou-se a hipótese de que o revestimento de telas de polipropileno por um filme antiaderente, composto pelos polímeros de quitosana e polietilenoglicol, poderia ser eficaz na prevenção de aderências peritonias em defeitos da parede abdominal.

O objetivo com esta pesquisa foi determinar se telas de polipropileno revestidas com o filme de quitosana associada ao polietilenoglicol são eficientes para a prevenção de aderências peritonias, quando implantadas no espaço intraperitoneal de ratas da linhagem Wistar com defeitos abdominais promovidos cirurgicamente, além de caracterizar as reações teciduais nas fases aguda e crônica do processo de inflamação e reparo tecidual promovidas pelos biomateriais em estudo.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Considerações iniciais sobre as aderências peritoniais

O peritônio é uma membrana serosa constituída por uma camada de células mesoteliais que repousa sobre uma camada basal (MICHAILOVA & USUNOFF, 2006). Esta membrana pode ser classificada em peritônio parietal, que consiste na membrana serosa que recobre a parede da cavidade abdominal, e peritônio visceral, que envolve os órgãos abdominais com exceção dos rins (ROSIN, 2005; TANK, 2008). O fluido seroso produzido pelo peritônio contém células livremente flutuantes que incluem macrófagos, células mesoteliais descamadas e pequenos linfócitos (ROSIN, 2005). A redução da fricção entre as vísceras abdominais é uma das principais funções do peritônio (CARTUCHO, 2008). Diante de qualquer lesão do peritônio parietal ou visceral, o processo de cicatrização pode evoluir para recuperação fisiológica peritonial ou para o desenvolvimento de aderências (DURON, 2007; KAMEL, 2010).

As aderências são consideradas como o processo patológico da cicatrização peritonial segundo DIAMOND & FREEMAN (2001) e são definidas como conexões entre superfícies de órgãos internos, parede abdominal, ou ambos, em locais onde essas conexões deveriam estar ausentes. Neste processo, as superfícies dos órgãos abdominais podem estar ligadas por uma fina película de tecido conjuntivo, por uma faixa fibrosa que possui vascularização e inervação, ou mesmo pelo contato direto entre duas ou mais superfícies de órgãos (DIAMOND & FREEMAN, 2001; HAMMOUD et al., 2004).

Em contraposição, BAXTER (1991) descreve as aderências como um fenômeno cicatricial, ou seja, um mecanismo reparador fisiológico. O que justifica a maioria das aderências serem assintomáticas, sendo que os benefícios promovidos pelas aderências incluem a revascularização de tecidos isquêmicos, isolamento de áreas necrosadas, corpos estranhos e microrganismos, obliterações de soluções de continuidade e a prevenção do deslocamento do cólon maior esquerdo.

Embora as aderências possam causar poucos ou nenhum efeito nocivo ao paciente, em uma proporção de casos há graves consequências a curto e a longo prazo (DeWILDE & TREW, 2007). Portanto, tornam-se complicações pós-operatórias de grande importância na prática clínico-cirúrgica devido ao risco do paciente desenvolver sequelas como a dor abdominal crônica, infertilidade, obstrução intestinal, dificultar a realização de reintervenções cirúrgicas (BASILIO, 2003; MOLINAS et al., 2006; van der WAL, 2006; YEO & KOHANE, 2008; PETTER-PUCHNER et al., 2008), além de acarretar em elevados prejuízos econômicos (DWIVEDI et al., 2004).

Quanto a dor promovida pelas aderências, acredita-se que seja ocasionada pela presença de fibras nervosas nestas formações, tração exercida pelas aderências sobre o peritônio parietal ou órgãos abdominais, ou combinação de ambos (van der WAL et al., 2006), além da desordem anatômica causada pela aderência (HAMMOUD et al., 2004; MOLINAS et al., 2006).

A infertilidade em decorrência de aderências pós-operatórias possui incidência de 15 a 40% em mulheres (MILINGOS et al., 2000; VRIJLAND et al., 2003). Esta consequência dependerá do grau do processo, que pode variar desde a formação de uma película avascular unindo a fimbria à parede pélvica lateral, até a formações densas, em que um emaranhado de estruturas pode acarretar em hidrosalpinge ou na completa obstrução da tuba uterina (DIAMOND, 2000).

No início do século 20, as hérnias eram a principal causa de obstrução intestinal devido ao estrangulamento de alças. Porém, com o aumento de cirurgias abdominais na rotina, a frequência de casos de obstrução intestinal por aderências peritoniais ultrapassou a incidência de obstruções causadas secundariamente por hérnias (DIAMOND, 2000).

2.2 Aderências peritoniais na Medicina Veterinária

Devido ao fato de os caninos e felinos possuírem o sistema fibrinolítico muito eficiente na prevenção da formação de aderências, a incidência de complicações pós-operatórias deste processo é baixa nestas espécies (BROWN, 2002). Porém, casos de complicações decorrentes de aderências peritoniais

nestas espécies foram documentadas por COOLMAN et al. (1999), em duas cadelas e uma gata que apresentaram obstrução parcial do cólon por aderências após ovário-salpinge-histerectomia, e por WEBER (2000), que observou um cão tratado de hérnia diafragmática que apresentou torção esplênica decorrente de aderências.

Diferentemente dos cães e gatos, as aderências formam-se frequentemente em equinos após laparotomias e podem ser assintomáticas ou causar complicações como a cólica e obstrução intestinal (LOPES et al., 1998). Segundo CALDWELL & MUELLER (2010), a resposta peritoneal do equino após lesões cirúrgicas é muito semelhante a da espécie humana, possuindo baixa atividade fibrinolítica. Segundo os mesmos autores o trauma cirúrgico é o principal fator desencadeador de aderências, possuindo incidência de 32,3% em seu estudo, em que 84,4% destas aderências levaram à obstrução intestinal em equinos.

2.3 Fisiopatogenia das aderências peritoneais

O tipo e a magnitude da lesão peritoneal são de grande importância na formação das aderências, pois quanto maior a área de isquemia e lesão tecidual, maior será a probabilidade da formação das aderências peritoneais (DEL CARLO et al., 1997; diZEREGA & CAMPEAU, 2001). Os fatores de risco para o desenvolvimento deste processo incluem: a manipulação excessiva dos tecidos durante o procedimento cirúrgico; hipóxia tecidual devido à isquemia; abrasão da camada serosa; infecção no sítio de lesão e doenças inflamatórias; presença de corpos estranhos e coágulos na cavidade peritoneal (KAMEL, 2010).

O processo de formação das aderências peritoneais se inicia no momento em que ocorre a lesão do peritônio, quando é iniciada a resposta endócrino-metabólica nas células para promover o reparo da lesão (BASILIO, 2003). A cicatrização do peritônio é um processo complexo que envolve diferentes tipos celulares, citocinas, fatores de coagulação e proteases, todos ativados conjuntamente para restaurar a integridade peritoneal (HOLMDAHL & IVARSSON, 1999). Sendo que uma interação complexa de eventos bioquímicos envolvidos na

inflamação, angiogênese e reparo tecidual controla o processo da formação de aderências (REED et al., 2002).

Imediatamente após a injúria peritoneal ocorre hemorragia e aumento da permeabilidade vascular com extravasamento de fluidos ricos em fibrinogênio na superfície lesada (SCHNÜRIGER et al., 2010), associados à resposta inflamatória com migração de células inflamatórias, liberação de citocinas e ativação da cascata de coagulação, que resulta na formação de trombina necessária para a conversão do fibrinogênio em fibrina (REIJNEN, et al., 2003).

O fibrinogênio inativo se transforma em uma matriz de fibrina, onde leucócitos, hemácias, plaquetas, mastócitos e debris cirúrgicos se reúnem para se fixarem nas superfícies lesadas adjacentes. Nesta fase, por meio da atividade fibrinolítica peritoneal, a plasmina, protease derivada da ação do ativador de plasminogênio tecidual (t-PA) e do ativador de plasminogênio tipo uroquinase (u-PA) sobre o plasminogênio inativo, degradam a matriz de fibrina e promovem a cicatrização normal do peritônio (KAMEL, 2010). Porém, sob condições de isquemia em decorrência do trauma cirúrgico, a atividade fibrinolítica é suprimida e resulta na permanência da fibrina. Uma vez que essa fibrina é infiltrada por fibroblastos, ela se organizará em aderências (diZEREGA & CAMPEAU, 2001).

Células mesoteliais participam do processo de cicatrização do peritônio por re-epitelizarem a superfície peritoneal lesada. O tempo necessário para a regeneração completa é em torno de oito a dez dias após a lesão. O mecanismo pelo qual as células mesoteliais peritoneais respondem ao trauma cirúrgico por recolonização da área lesada ainda não é completamente compreendido, porém existem hipóteses que tentam explicar este processo (KAMEL, 2010).

JACQUELINE & DIAMOND (1997) referem que as células mesoteliais podem ser originadas de células mesenquimais primitivas presentes na periferia do defeito, de fibroblastos diferenciados de células mesenquimais primitivas, ou de fibroblastos subperitoneais. Porém MUTSAERS et al. (2000), ressaltam que as células mesoteliais podem advir do crescimento das células periféricas mesoteliais, da transformação das células mesenquimais pluripotenciais ou células sanguíneas, da transplantação de células mesoteliais *free-floating* de tecidos adjacentes, ou da diferenciação de células do fluido peritoneal.

A melhor compreensão dos eventos fisiopatológicos e dos fatores envolvidos no processo de formação de aderências é crucial em qualquer tentativa de controlar esse fenômeno e suas consequências (DURON, 2007).

2.4 Telas cirúrgicas de polipropileno e a formação de aderências

Grandes defeitos da parede abdominal decorrentes de traumas, hérnias e tumores, frequentemente impedem a aproximação adequada das bordas da ferida devido à grande extensão do defeito, deficiência de tecidos viáveis e excesso de tensão na sutura. Porém, esses fatores agravantes podem ser contornados por meio da implantação de telas (LAMONT & ELLIS, 1988; ROSIN, 2005).

Inicialmente, o reparo de hérnias era realizado por meio da aproximação das bordas do defeito abdominal e posterior sutura do mesmo, porém este tipo de reparo exerce grande tensão nas bordas da ferida, o que pode resultar em isquemia, deiscência e reincidência da hérnia (READ 2005). Por essas razões, inúmeras técnicas foram desenvolvidas, e dentre elas, a implantação de telas cirúrgicas foi responsável pela redução significativa das taxas de recorrência das hérnias. Entretanto, muitas complicações foram associadas ao implante (COSTELLO et al., 2007).

A tela de polipropileno é o biomaterial mais utilizado para correção de defeitos da parede abdominal (CONZE et al., 2004; de VRIES REILINGH et al., 2004; SCHÖNLEBEN et al., 2006; ANSALONI et al., 2009). Esta tela mantém a força tênsil na parede abdominal, possui excelente capacidade de integração, fácil manuseio e baixo custo (LEBER et al., 1998; VAZ et al. 2009). Todavia, uma de suas grandes desvantagens é o seu potencial adesiogênico (DIOGO-FILHO et al., 2004; ANSALONI et al., 2009), sendo geralmente toda a superfície deste biomaterial recoberta por aderências (MARTÍN-CARTES et al., 2006).

Embora as telas de polipropileno possam ser incorporadas pelo tecido hospedeiro, este biomaterial pode desencadear reação de corpo estranho que resulta em intensa fibrose, e favorece o desenvolvimento de aderências, fístulas entero-cutâneas, migração da prótese e lesões viscerais (BAPTISTA et al., 2000;

LOSANOFF et al., 2002; FELEMOVICIUS et al., 2004; de VRIES REILINGH et al., 2004; HALM et al., 2007).

Diante da constatação da capacidade adesiogênica das telas de polipropileno, outros biomateriais como derivados da celulose (FELEMOVICIUS et al., 2004), quitosana (PAULO et al., 2009), politetrafluoretileno expandido (KAPAN et al. 2003), fluoreto de polivinilideno (ZINTHER et al., 2010) e até mesmo o omento (BLEICHRODT et al., 2007), têm sido associados a estas telas para a abolição ou minimização desta propriedade indesejável.

A nova geração de biomateriais para o reparo de defeitos da parede abdominal foi projetada para ser menos densa, possuir maiores poros do que as telas de polipropileno convencionais e manter a fisiologia normal da parede abdominal (BELLÓN et al., 2009). Contudo, segundo estes autores, a integração, força de tensão e a propensão ao desenvolvimento de aderências de telas de polipropileno de baixa gramatura e alta gramatura são similares.

2.5 Prevenção das aderências peritoniais

As estratégias para a redução da formação de aderências incluem a melhoria de técnicas cirúrgicas, administração de fármacos que minimizem a resposta inflamatória e a deposição de fibrina, e a utilização de barreiras físicas. Todas essas técnicas apresentaram algum sucesso na prevenção de aderências, porém nenhuma aboliu completamente o desenvolvimento das mesmas (ERGUL & KORUKLUOGLU, 2008).

Segundo DEL CARLO et al. (1997), as principais técnicas a serem adotadas pelos cirurgiões com o objetivo de minimizar a formação de aderências peritoniais incluem: o manuseio meticuloso dos tecidos; uso apropriado de esponjas e compressas; remoção de sangue livre, depósito de fibrina e corpos estranhos sobre as superfícies serosas; evitar a isquemia tecidual e o uso excessivo de hemostáticos; e posicionar o omento de forma a orientar as aderências nas situações em que são desejáveis.

Dentre outros meios para a minimização da formação de aderências, a administração de fármacos como anti-inflamatórios não esteróides (MUZII et al.,

1998), anticoagulantes (ARIKAN et al., 2005; KEMENT et al., 2010), agentes fibrinolíticos (KAMEL, 2010), antibióticos (ONCEL et al., 2001; BÖLGEN et al., 2006); vitamina E (YETKIN et al., 2009; MAKARSKA et al., 2010), azul de metileno (HEYDRICK et al., 2007; MAHDY, et al., 2008), ácido hialurônico (HIMEDA et al., 2004; METWALLY et al., 2007) e mel (SABER, 2010) podem ser empregados.

2.5.1 Barreiras físicas

Em teoria, materiais que previnem o contato direto entre as superfícies serosas lesadas nos primeiros dias após a injúria peritonial, protegeriam o local de cicatrização e impediriam o desenvolvimento de aderências (SCHNÜRIGER et al., 2010). Porém, nenhum biomaterial foi eficaz em impedir completamente este processo (ERGUL & KORUKLUOGLU, 2008).

Diversos biomateriais foram testados na prevenção de aderências peritoniais como membranas compostas por derivados da celulose (KHAITAN et al., 2003; ONCEL et al., 2003; TARHAN et al., 2005; CORRALES, 2006; FAZIO et al., 2006; LALOUNTAS et al., 2010; RAJAB et al., 2010), derivados da quitosana (ZHOU et al., 2007; PAULO et al., 2009; WEI et al., 2009a; GWON et al., 2010), politetrafluoretileno expandido (DeMARIA et al., 2000; KAPAN et al., 2003; PUTTINI, 2006), submucosa suína (SCALCO et al., 2008). Contudo, as barreiras mais utilizadas na prevenção de aderências são as absorvíveis compostas por carboximetilcelulose/ácido hialurônico e celulose regenerada oxidada (SCHNÜRIGER et al., 2010).

As membranas de carboximetilcelulose/ácido hialurônico em torno de 24 horas após sua aplicação transformam-se gradativamente em gel hidratado que será lentamente absorvido em sete dias e excretado pelo organismo em 28 dias (REIJNEN et al., 2003; CORRALES, 2006). Durante o implante deste biomaterial, o mesmo deve ser manuseado cuidadosamente devido à sua fragilidade, sendo mais indicado em cirurgias abertas quando a manipulação é mais precisa (RAJAB et al., 2010).

Os mecanismos que podem estar envolvidos na redução de aderências pós-operatórias por agentes baseados em carboximetilcelulose/ácido hialurônico são a melhoria da cicatrização peritonial, aumento da fibrinólise e a separação mecânica das superfícies da ferida, sendo provavelmente este último o principal mecanismo de prevenção das aderências (REIJNEN et al., 2003). De acordo com TARHAN et al. (2005), a prevenção da formação de aderências obtidas pela membrana de carboximetilcelulose/ácido hialurônico decorre de suas propriedades físicas (barreira mecânica e efeito deslizante), porém segundo o mesmo autor, níveis elevados do ativador de plasminogênio tipo uroquinase (u-PA) podem ser observados.

MORSE et al. (2005) relataram uma técnica de indução de aderências peritoneais por abrasão em ratos e a capacidade de prevenção destas com o implante da membrana de carboximetilcelulose/ácido hialurônico, em que a redução de aderências foi de 50% nos animais que receberam este biomaterial.

A eficiência das membranas de carboximetilcelulose/ácido hialurônico, membranas de carboximetilcelulose/óxido de polietileno, solução isotônica de icodextrina a 5% e o gel spray de polietilenoglicol na prevenção de aderências foi demonstrada por RAJAB et al. (2010) em ratos, tendo a membrana de carboximetilcelulose/ácido hialurônico apresentado melhores resultados.

Segundo BAPTISTA et al. (2000), a utilização de telas de polipropileno recobertas por membranas carboximetilcelulose/ácido hialurônico implantadas no espaço intraperitoneal para redução de defeitos induzidos na parede abdominal de ratos resulta na significativa redução da formação de aderências.

A celulose regenerada oxidada é uma camada gelatinosa de proteção que é absorvida dentro de duas semanas. Este biomaterial tem-se mostrado eficiente quanto à prevenção de aderências em vários estudos prospectivos randomizados em cirurgias ginecológicas abertas ou laparoscópicas em pacientes humanos (SCHNÜRIGER et al., 2010).

De acordo com GAGO et al. (2006) o efeito biológico da membrana de celulose regenerada oxidada é elevar a expressão de ativador do plasminogênio tecidual (t-PA) nas células mesoteliais, e a proporção de tPA/PAI-1 (inibidor do ativador de plasminogênio-1), que resulta na dissolução da fibrina e cicatrização sem o desenvolvimento de aderências.

2.5.2 O potencial da quitosana e do polietilenoglicol na prevenção de aderências

A quitosana é a substância obtida por meio da desacetilação da quitina proveniente do exoesqueleto de crustáceos, insetos e outras fontes (HONARKAR & BARIKANI, 2009). Sua estrutura química assemelha-se à celulose, e devido a este polímero possuir diversas possibilidades estruturais por modificações químicas e mecânicas, torna-se possível gerar novas propriedades, funções e aplicações em diversas áreas, e em especial na área biomédica (PILLAI et al., 2009).

Por ser um polímero natural biodegradável, biocompatível e atóxico, esta substância tem sido utilizada como membrana, sistema de distribuição de fármacos, hidrogéis, além do seu emprego no tratamento de água e embalagens de alimentos (HONARKAR & BARIKANI, 2009).

As principais aplicações biomédicas da quitosana incluem: enxerto de pele artificial, agente anti-viral, inibidor da placa dentária, auxiliar na cicatrização óssea, agente cicatrizante, hemostático, antibacteriano, antifúngico e auxílio na perda de peso de pacientes (ŞENEL & McCLURE, 2004).

Devido à solubilidade da quitosana em alguns ácidos orgânicos é possível a obtenção de derivados sob a apresentação de géis, filmes e membranas, na forma pura ou combinada a outras substâncias, o que torna possível empregá-la no recobrimento de biomateriais como telas de polipropileno (RAMMAZINA FILHO et al. 2010).

Os derivados da quitosana foram utilizados em vários estudos na prevenção de aderências peritoniais (KENNEDY et al., 1996; CETIN et al., 2003; DURAN et al., 2003; PAULO et al., 2009; WEI et al., 2009a; GWON et al., 2010; LAUDER et al., 2010).

De acordo com CETIN et al. (2003) o gel de N,O-carboximetilquitosana 2% pode ser considerado como adjuvante seguro e eficaz na prevenção de aderências peritoniais. Acredita-se que este biomaterial minimize o desenvolvimento de aderências por revestir as lesões peritoniais, além promover a diluição da fibrina.

A quitosana em concentrações acima de 0,1% estimula a proliferação fibroblástica. Quando este polímero encontra-se na forma de hidrogel, a

prevenção da formação de aderências ocorre devido a sua propriedade bioativa de estimulação de proliferação fibroblástica, que acelera o processo de cicatrização, associada ao mecanismo de barreira física do hidrogel, que impede o contato da lesão com as vísceras abdominais (WEI et al., 2009a).

ZHOU et al. (2004) utilizaram a N,O-carboximetilquitosana a 1% sob a apresentação de gel no local de indução da aderência e a 2% como solução na cavidade abdominal para prevenção de aderências induzidas no intestino grosso e parede abdominal de coelhos. Constataram que esta associação promove a não adesão de fibroblastos sobre as superfícies revestidas com o produto e assim reduz a formação de aderências.

Segundo LAUDER et al. (2010), a utilização do gel de quitosana/dextrano, foi eficiente na redução da formação de aderências em ratos submetidos a enterotomia e abrasão cecal e não provocou efeitos adversos no processo de cicatrização peritonial. O mecanismo pelo qual o gel de quitosana/dextrano minimiza a formação de aderências é multifatorial, e inclui a inibição da proliferação de fibroblastos, a separação física das superfícies lesadas da cavidade peritonial, e à sua atividade hemostática e antibacteriana.

O hidrogel de hidroxibutil-quitosana termosensível foi eficiente na redução da formação de aderências pós-operatórias em camundongos submetidos à abrasão cecal. Este produto encontra-se na forma líquida em baixas temperaturas, porém quando entra em contato com o tecido animal resulta na formação do hidrogel, o que o torna de fácil aplicação. Outra vantagem desta substância é que seu período de absorção é longo (pode durar mais de quatro semanas), tempo mais que suficiente para a cicatrização peritonial (WEI et al., 2009b).

A minimização da formação de aderências promovida pelo filme à base de quitosana também foi evidenciada por PAULO et al. (2009). Telas de polipropileno recobertas por uma membrana de quitosana foram implantadas no espaço intraperitoneal de ratos. Além da redução na formação de aderências peritoneais, a quitosana não desenvolveu reações teciduais compatíveis com toxicidade.

O polietilenoglicol é um polímero sintético que possui importantes propriedades para a prevenção de aderências: não é um bom meio para o

crescimento de bactérias devido a sua origem sintética; o seu perfil de absorção foi desenvolvido para permanecer no período crítico da formação de aderências; forma uma barreira entre a lesão e os tecidos adjacentes; possui elevado teor de água (maior que 90%), o que lhe confere uma superfície altamente lubrificada e biocompatível com o sítio hospedeiro (DUNN et al., 2001).

No experimento realizado por FERLAND et al. (2001), a incidência de aderências foi de 30%, em suínos submetidos a transecção e anastomose dos cornos uterinos, tratadas com polietilenoglicol. No grupo controle, a incidência de aderências foi de 90%. O polietilenoglicol foi utilizado por METTLER et al. (2003) em mulheres para a avaliação da prevenção de aderências peritonais. Foi verificado que o polietilenoglicol preveniu a formação de aderências em 27,8% das pacientes, contra 7,7% do grupo controle, sendo menor a gravidade das aderências no grupo que recebeu o polietilenoglicol. Em outro estudo, ALTINLI et al. (2011) utilizaram o polietilenoglicol como revestimento de telas de polipropileno para a correção de defeitos abdominais promovidos cirurgicamente em ratos Wistar e verificaram que este polímero atuou como uma barreira eficaz na redução do desenvolvimento de aderências peritonais.

2.6 Reações teciduais do hospedeiro ao implante de biomateriais

A implantação de um biomaterial promove uma resposta inflamatória de forma específica conhecida como reação ao corpo estranho (PUTTINI, 2006). Este tipo de reação desencadeia uma séria de eventos inflamatórios que podem culminar na expulsão do material por meio da formação de uma fístula, ou intensa deposição de tecido fibroso no intuito de encapsular e isolar o material (WILLIAMS, 2003).

A reação ao biomaterial dependerá de características, como: composição química, porosidade, aspereza, tamanho, forma, carga elétrica e energia livre de superfície e também do tamanho e tipo de lesão criada para a implantação deste (BABENSEE et al., 1998).

Biomateriais mais reativos ou com características físicas que promovem lesões, induzem a formação de uma cápsula fibrosa mais espessa, o

que pode resultar em zonas de tensão localizadas que podem ocasionar danos mecânicos e conseqüentemente funcionais ao tecido hospedeiro. Além disso, cápsulas fibrosas muito espessas podem causar isquemia tecidual e acúmulo de resíduos bioquímicos potencialmente tóxicos no tecido (BELLÓN et al.,2001).

Um biomaterial ideal deve liberar o mínimo de resíduos durante sua vida útil no organismo, pois estes serão fagocitados pelas células de defesa. Ocorrerá a ativação do metabolismo dos lisossomos que levará a célula a de produção espécies reativas de oxigênio, as quais são lesivas aos tecidos, o que pode resultar em reativações crônicas da inflamação e citotoxicidade (WILLIAMS, 2003, PUTTINI, 2006).

Após a implantação de um biomaterial com características adequadas e livre de contaminação, ocorrerá uma resposta inflamatória aguda. Surge então um arcabouço de fibrina e migração de mono e polimorfonucleares por quimiotaxia que tentam fagocitar o corpo estranho, liberando citocinas quimiotáticas e substâncias que auxiliam na fagocitose como as opsoninas. Dentre essas células, os macrófagos possuem maior destaque por serem os responsáveis pela liberação de fatores de crescimento para a formação de tecido de granulação e regeneração tecidual. Ocorrerá a migração e proliferação de fibroblastos que irão sintetizar colágeno no sítio de implante. Concomitantemente, será iniciada a neovascularização e a formação do tecido de granulação característico do processo inflamatório crônico, e assim ocorrerá a formação da fibrose que visa a cicatrização do tecido e o isolamento do biomaterial (BABENSEE et al.,1998; JONES et al., 2000; VAZ et al., 2009).

Os macrófagos também se destacam na reação tecidual aos biomateriais por se fundirem entre si, o que resulta na formação de uma célula multinucleada, conhecida como célula gigante, com capacidade de fagocitar corpos estranhos maiores. Estas células persistem enquanto o implante estiver presente no hospedeiro. Após a resolução da cicatrização, ainda pode ocorrer a reativação crônica da inflamação. O que pode explicar o surgimento de complicações a longo prazo decorrente da implantação de biomateriais (ZELLER, 1983; WILLIAMS, 2003; RATNER & BRYANT, 2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Autorização do Comitê de Ética em Pesquisa

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Goiás (UFG), com protocolo nº165/2010 (Anexo I) e os procedimentos foram delineados conforme orientação da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL).

3.2 Local de realização do experimento e animais de estudo

Este experimento foi desenvolvido na UFG nas dependências da Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ) e Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), com participação do Departamento de Processos biotecnológicos da Faculdade de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas (FEQ/UNICAMP) no desenvolvimento das telas revestidas. Os animais foram alojados no biotério de experimentação em roedores da EVZ e os procedimentos cirúrgicos foram realizados no bloco cirúrgico da disciplina de Técnica Operatória. Os exames macroscópicos foram realizados no Setor de Patologia Animal e os exames histopatológicos foram conduzidos no IPTSP.

Foram utilizadas 24 ratas jovens da linhagem Wistar, provenientes do Biotério Central/UFG com peso médio de 250g. Os animais foram distribuídos em dois grupos ($n=12$) de acordo com o biomaterial a ser implantado: Grupo QP (tela de polipropileno revestida por quitosana/polietilenoglicol), e Grupo PP (tela de polipropileno), controle positivo para formação de aderências. Cada grupo foi distribuído em dois subgrupos ($n=6$) de acordo com o período de avaliação macroscópica e microscópica pós-operatória, aos quatro dias e aos 45 dias.

Os animais foram alocados em gaiolas com capacidade máxima de seis roedores, e submetidos ao período de aclimação mínimo de 15 dias antes da intervenção cirúrgica com ciclo de claro-escuro de 12 horas, temperatura ambiente com variação de 22 a 26°C, fornecimento de água e alimentação específica para a espécie *ad libitum*, com higienização das gaiolas a cada 72hs.

3.3 Preparação dos biomateriais e pré-operatório

O Departamento de Processos biotecnológicos da Faculdade de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) foi o responsável pelo revestimento da tela de polipropileno (PP) pelo filme à base de quitosana e polietilenoglicol (QP). As telas de PP (Intracorp®) de 163g/m² foram recortadas nas dimensões de 6x2cm. As amostras foram posicionadas sobre 95mL da solução de quitosana com nível de desacetilação de 95% e polietilenoglicol a 1% em uma placa de Petri durante quatro horas. Posteriormente o conjunto tela/recobrimento foi seco à temperatura ambiente por 72 horas, formando o filme de cobertura na superfície de uma face da tela. Em seguida, adicionou-se 20 mL de NaOH a 1M a cada conjunto de quatro amostras que permaneceu em repouso durante 15 minutos, com posterior imersão em água deionizada duas vezes, e secagem final em temperatura ambiente.

Na EVZ, as telas de polipropileno recobertas com quitosana/polietilenoglicol (tela QP) foram hidratadas (figura 1A) em solução de ringer com lactato e recortadas em retângulos de cantos arredondados nas dimensões de ±20x16mm (figura 1B). Em seguida, um fio de polipropileno 4-0 foi fixado nos quatro vértices da tela e as pontas de seus cabos foram inseridas em uma agulha hipodérmica 25x7G encurvada (figura 1C). Posteriormente o biomaterial foi seco à temperatura ambiente e esterilizado em óxido de etileno por empresa privada (FBM FARMA Indústria Farmacêutica Ltda, Anápolis-Goiás) (figura 1D).

Os animais receberam cloridrato de xilazina (2,5mg/kg) e sulfato de morfina (5,0mg/kg), por via intramuscular, como medicação pré-anestésica. Após dez minutos foi realizada a tricotomia da região ventral do abdome, seguida da indução e manutenção anestésica com isoflurano em fluxo diluente de 2L/min de O₂ em circuito sem reinalação de gases com auxílio de máscara para roedores. Os animais foram monitorados até o seu completo retorno anestésico.

As telas foram imersas em solução de ringer com lactato para hidratação durante 15 minutos antes do procedimento cirúrgico. Após a constatação da perda da sensibilidade dolorosa por meio da compressão da cauda com pinça hemostática, foi realizada a anti-sepsia com polivilpirrolidona-iodo, seguida do procedimento cirúrgico.

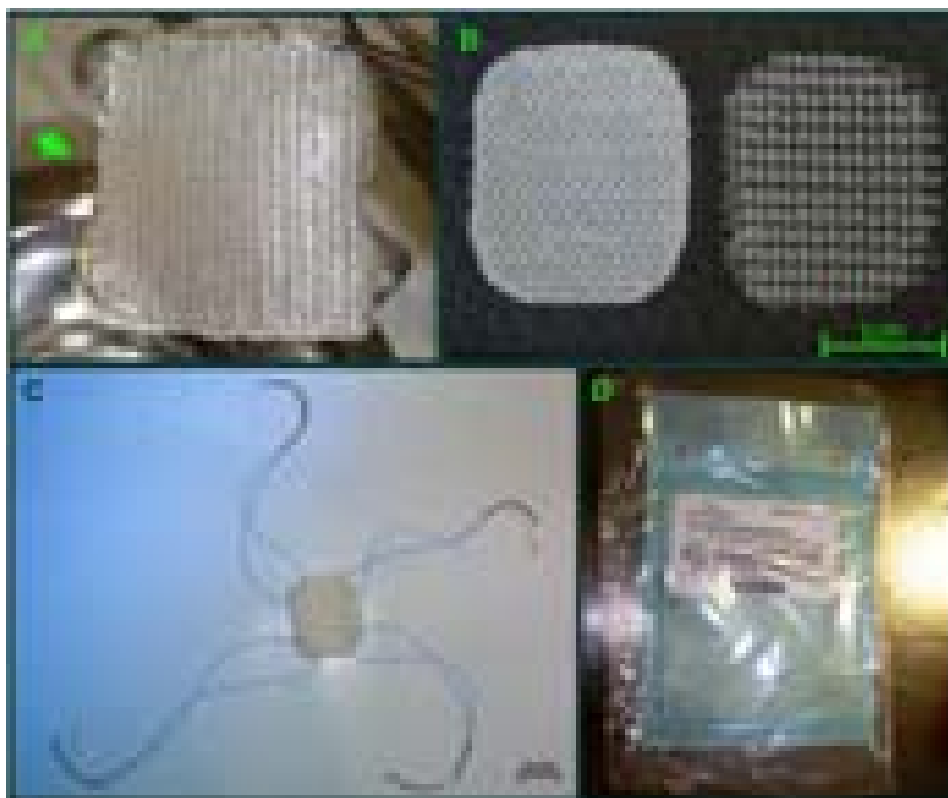


FIGURA 1 - Procedimento de preparo dos biomateriais. A) hidratação da tela de QP em solução de ringier com lactato. A seta aponta o filme gelatinoso QP obtido pela hidratação; B) tela QP (esquerda) e Tela PP (direita); C) tela QP fixada em quatro pontos por fios de polipropileno; D) embalagem da tela QP após a esterilização.

3.4 Procedimento cirúrgico

Os procedimentos de promoção do defeito abdominal e sua correção com telas foi o mesmo em ambos os grupos (figura 2). Foi realizada uma incisão cutânea mediana retroumbilical seguida da divulsão do tecido subcutâneo no lado direito. Posteriormente foi efetuada a excisão em bloco da aponeurose, musculatura e peritônio de ± 1 cm na região da aponeurose das fáscias externas dos músculos reto e oblíquo externo do abdome. Para a reconstrução da parede abdominal, o biomaterial sorteado para cada animal foi inserido no espaço intraperitoneal e fixado por meio de quatro pontos equidistantes em padrão separado simples com fio de polipropileno 4-0 agulhado fixado na tela, com posterior dermorráfia com fio de polipropileno 4-0 em padrão contínuo simples.

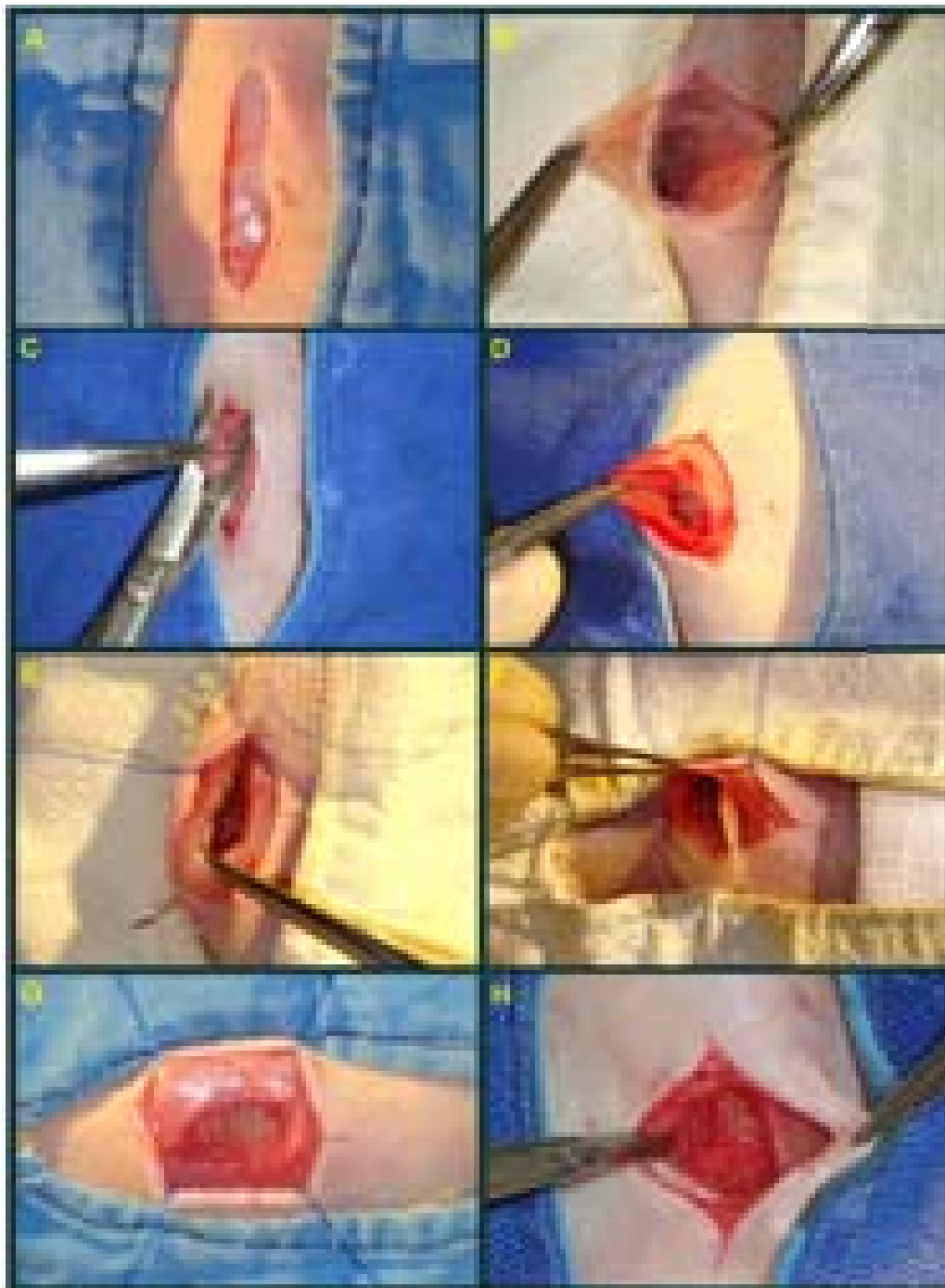


FIGURA 2 - Promoção do defeito abdominal e reconstrução da parede abdominal de ratas com telas: A) incisão mediana retroumbilical; B) divulsão do tecido subcutâneo no lado direito e localização da aponeurose dos músculos reto abdominal e oblíquo abdominal externo; C) excisão da musculatura e peritônio; D) defeito abdominal promovido cirurgicamente; E) ancoragem da tela PP com fios de polipropileno 4-0; F) inserção da tela QP na cavidade abdominal; G) ancoragem da tela em quatro pontos; H) aspecto final do implante no espaço intraperitônioal após a fixação.

3.5 Procedimentos pós-operatórios

Os animais receberam 5mg/kg de sulfato de morfina por via subcutânea a cada oito horas para analgesia pós-operatória durante 72 horas e foram mantidos sob as mesmas condições no biotério. A eutanásia foi efetuada nos períodos pré-estabelecidos (quatro e 45 dias), por meio da inalação de dióxido de carbono em câmara fechada.

3.6 Análises macroscópicas

Foi realizado o rebatimento da pele da parede abdominal seguida da incisão da musculatura abdominal em “U” (figura 3A e 3B). O sítio de implante de cada animal foi fotografado com câmera digital (DSC-w130, Sony) em posição estática e a avaliação da formação de aderências consistiu na mensuração em megapixels² da área de aderência sobre o biomaterial pelo programa ImageJ (versão 1.36b). Para a determinação do tipo de aderência utilizou-se os escores adaptados de GRECA et al. (2001) (figura 3C, 3D e 3E e quadro 1).

QUADRO 1 - Descrição do tipo de aderência adaptado de GRECA et al. (2001).

Tipo da aderência	Descrição
0	Ausência de aderência
1	Aderência de omento na zona de sutura
2	Aderência de omento em até 50% da superfície do material
3	Aderência de omento em mais 50% da superfície do material
4	Aderência visceral na zona de sutura
5	Aderência visceral na superfície do material

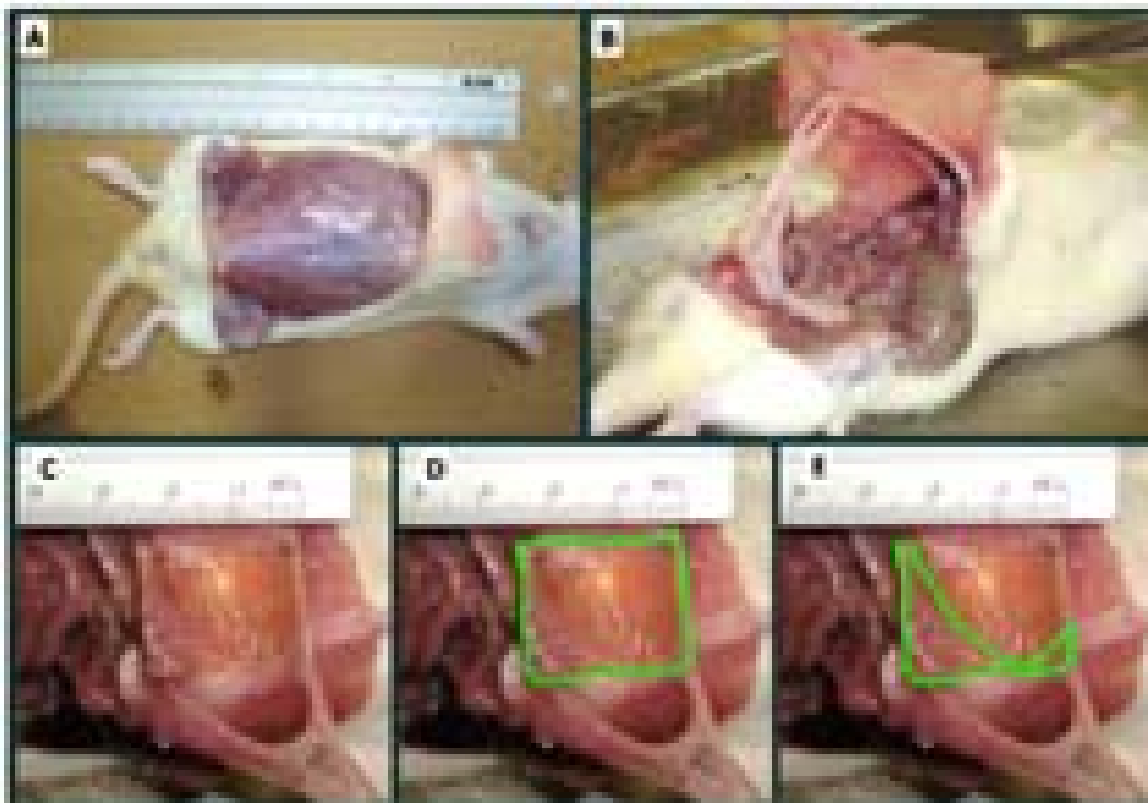


FIGURA 3 - Método de avaliação macroscópica da formação de aderências em ratas por meio do programa ImageJ: A) rebatimento da pele da parede abdominal; B) incisão da musculatura em “U”; C) obtenção da imagem com câmera digital; D) seleção da área total da tela (linha verde); E) seleção da área da tela envolvida pela aderência.

3.7 Análises histopatológicas

Um fragmento do sítio de implante constituído pela parede abdominal, tela e possível aderência foi colhido de cada animal aos quatro e 45 dias após a implantação dos biomateriais, e fixado em formol tamponado a 10% durante 24 horas, seguido do processamento para a coloração de hematoxilina e eosina (HE) (LUNA 1968), e picrossirius.

As amostras coradas em HE e picrossirius foram visualizadas em microscópio óptico e microscópio óptico com luz polarizada respectivamente no aumento de 40x, por um único avaliador com experiência na leitura de lâminas de biomateriais implantados na parede abdominal. Foram analisadas duas regiões de cada amostra: região tecidual próxima ao monofilamento e a região de

interface entre o biomaterial e a parede abdominal, sendo escolhidos aleatoriamente cinco campos de cada região para representar os resultados.

Os indicadores do processo de inflamação e reparo foram classificados qualitativamente conforme descrito por BEETS et al. (1998) (quadro 2), em seguida os valores de cada região foram somados para conversão em escores representados no quadro 3. A área representada por fibras colágenas totais foi mensurada pelo ImageJ em megapixels² (figura 4).

QUADRO 2 – Classificação dos indicadores do processo de inflamação e reparo modificado de BEETS et al. (1998).

Achados histopatológicos	Escore	Significado
Infiltrado inflamatório - Mononuclear - Polimorfonuclear Angiogênese* Colágeno Tipo I Colágeno Tipo III Fibrina	0	Ausência de alteração
	1	Discreta (presente em menos de 25% do campo)
	2	Moderada (presente em 26% a 50% do campo)
	3	Acentuada (presente em 51% a 100% do campo)
Tecido Conjuntivo - Frouxo - Denso	0	Ausência de tecido conjuntivo
	1	Presença de tecido conjuntivo
Células gigantes	0	Ausência de células gigantes
	1	Discreta (presença de 1 a 3 em torno do implante)
	2	Moderada (presença de 3 a 4 em torno do implante)
	3	Acentuada (presença maior que 4 em torno do implante)

* Para a avaliação da angiogênese foi realizada a contagem total de vasos sanguíneos por campo.

Quadro 3 – Conversão do somatório dos resultados dos indicadores do processo de inflamação e reparo em escores.

Valor da soma dos escores	Descrição	Escore
0	Ausente	0
De 1-7	Discreta	1
De 8-12	Moderada	2
Acima de 13	Acentuada	3

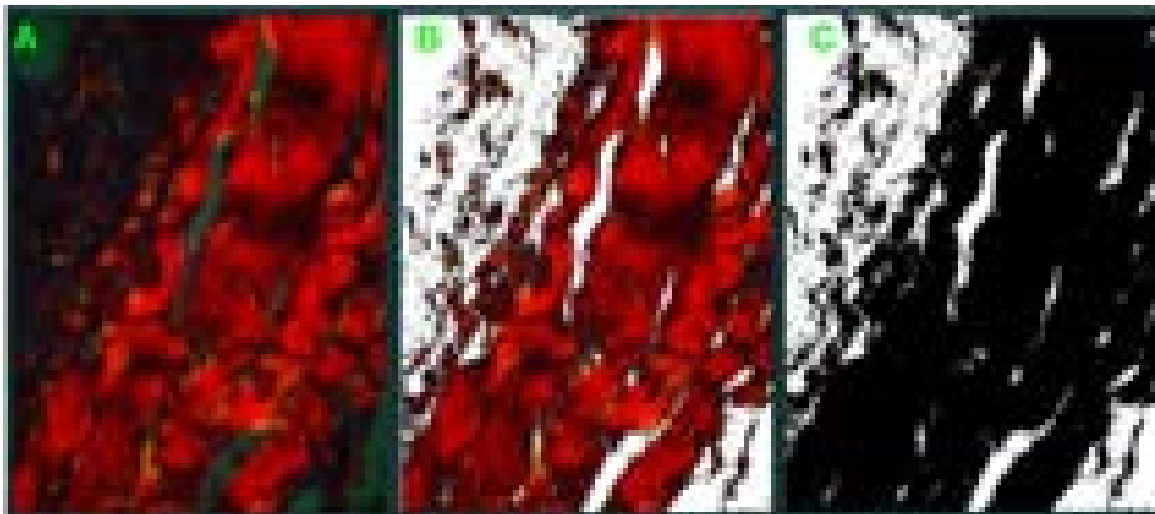


FIGURA 4 - Mensuração da área ocupada por fibras colágenas pelo programa ImageJ: a) fotomicrografia original da interface tela QP/parede abdominal após 4 dias da implantação na coloração de picosirius, aumento de 40x; b) exclusão da porção não corada devido à ausência de colágeno; c) conversão da imagem corada para a escala de preto e branco para quantificação de fibras colágenas em pixels.

3.8 Análise estatística

Foi utilizado o programa XLSTAT (versão 2011.1.01) com nível de significância de 5% ($p < 0,05$) para todos os testes estatísticos. Para a análise das variáveis quantitativas de porcentagem da tela envolvida pela aderência e quantificação de vasos neoformados e área ocupada por fibras colágenas, foi utilizado o teste t. Para as variáveis qualitativas de tipo de aderência, e processo de inflamação e reparo (mononucleares, polimorfonucleares, angiogênese, fibrina, colágeno tipo I e III), foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Na análise do tecido conjuntivo formado foi utilizada a estatística descritiva em porcentagem.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise macroscópica

Devido ao processo de formação de aderências iniciar imediatamente após a lesão e as aderências serem evidenciadas após 72 horas da injúria tecidual, não houve a distribuição em subgrupos para as análises macroscópicas, ou seja, o número de unidades experimentais para cada grupo foi de 12.

4.1.1 Tela de polipropileno revestida por quitosana/polietilenoglicol

O revestimento das telas de PP por quitosana/polietilenoglicol aparentou ser homogêneo e livre de irregularidades, não sendo observada a retenção de bolhas de ar. Após a secagem deste biomaterial houve o enrolamento do mesmo (figura 5) e aumento da rigidez e da espessura do conjunto tela/filme. Porém, não foram considerados como efeitos adversos, pois a hidratação do conjunto em solução de ringer com lactato realizada antes da implantação do biomaterial restabeleceu o aspecto plano e maleável da tela, em decorrência do caráter hidrofílico da quitosana e do polietilenoglicol descritos por ASSIS (2010) e DUNN et al. (2001) respectivamente, e possivelmente não acarretaria em desconforto ao organismo.



FIGURA 5 - Tela de polipropileno enrolada após aplicação do revestimento do filme de quitosana/polietilenoglicol.

Apesar da hidratação durante o preparo para implantação do biomaterial causar o intumescimento do revestimento da tela, este procedimento permitiu o fácil manuseio durante a implantação, característica desejável de telas cirúrgicas segundo GOLDSTEIN (1999).

Outro achado interessante foi que a tela QP apresentou-se semelhante às telas de dupla-composição. Estas telas possuem uma face composta por um material preferencialmente macroporoso, que permanece voltado para a parede abdominal, com o objetivo de manter a resistência da parede, e a outra face composta por um material microporoso ou laminar, que deverá estar voltada às vísceras abdominais, porém sem induzir aderências (ARAÚJO et al., 2010). No biomaterial empregado neste estudo, a face laminar correspondeu ao filme QP e a face macroporosa à tela de polipropileno.

Após quatro dias do procedimento cirúrgico, foi possível verificar a presença do filme à base de quitosana/polietilenoglicol na superfície das telas de polipropileno. Aos 45 dias da implantação não foi possível evidenciar a presença do filme devido à incorporação e mesotelização do biomaterial. Porém este último achado não acarretaria em problemas quanto à prevenção de aderências, pois o filme à base de QP permaneceu o período mínimo para a prevenção do desenvolvimento de aderências, que segundo HARRIS et al. (1995) é de 36 horas após sua implantação.

4.1.2 Sítio de implantação das telas

Um animal do grupo PP de 45 dias apresentou deiscência da ferida operatória após cinco dias da implantação da tela e foi submetido à eutanásia devido à evisceração. Os outros animais não apresentaram complicações decorrentes da cirurgia e não foi observada infecção no sítio de implantação.

Durante as necropsias foram observadas diferenças macroscópicas de cicatrização no defeito da parede abdominal após quatro dias da implantação das telas. As feridas cirúrgicas da parede abdominal dos animais do grupo QP apresentaram-se na fase proliferativa do processo de cicatrização (figura 6), pois houve o fechamento do defeito abdominal por tecido de granulação em todos os

animais (100%), contra nenhum no grupo PP. Neste segundo grupo, o defeito abdominal ainda era bastante evidente aos quatro dias após o procedimento cirúrgico, e continham exsudato, caracterizando a fase inflamatória da cicatrização.

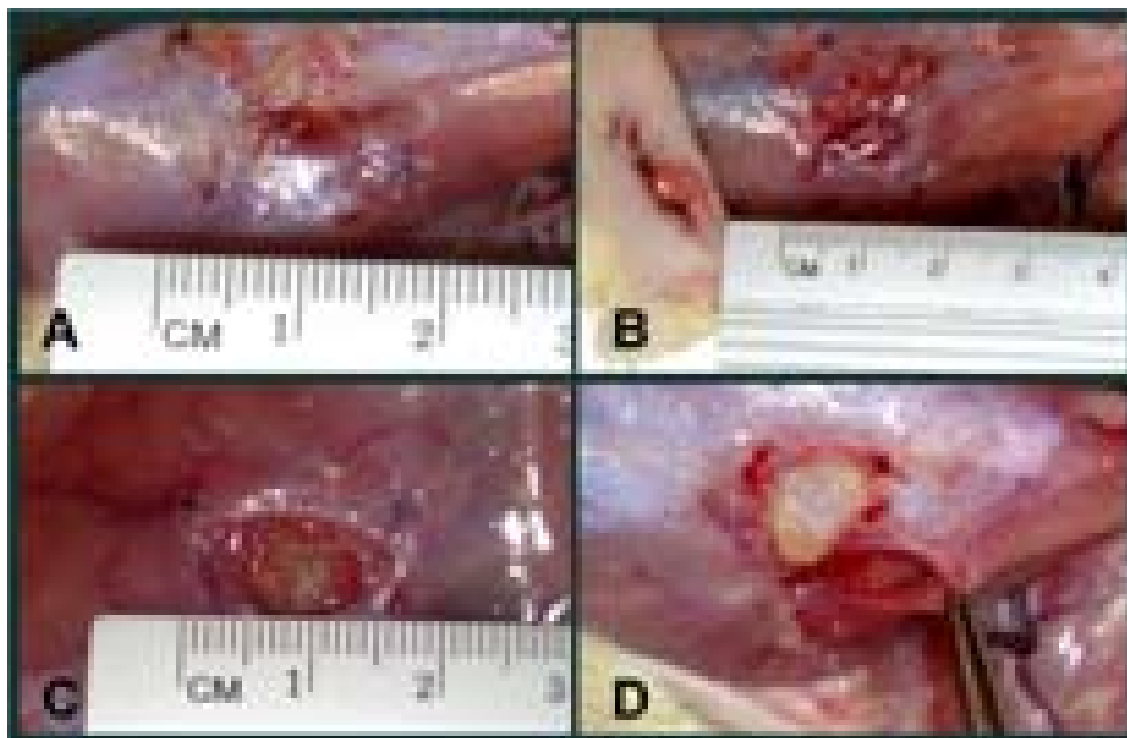


FIGURA 6 - Aparência macroscópica das feridas abdominais de ratas após quatro dias da cirurgia. A e B: feridas abdominais do grupo QP na fase proliferativa da cicatrização. C e D: feridas abdominais do grupo PP na fase inflamatória da cicatrização.

Segundo SAHOTA et al. (2004), a fase proliferativa caracteriza-se macroscopicamente pela presença de tecido de granulação e contração da ferida e predomina entre o 7º e 14º dia da cicatrização, porém estes achados foram observados no grupo QP aos quatro dias após o procedimento cirúrgico. A presença precoce da fase proliferativa observada no 4º dia nos animais do grupo QP pode ser atribuída a propriedade cicatrizante da quitosana descrita por SHIGEMASA & MINAMI (1996), ŞENEL & McCLURE (2004), PAULO et al. (2007) e LAUDER et al. (2010), cujo principal mecanismo de ação desta no processo cicatricial é a estimulação da proliferação fibroblástica (UENO et al., 2001; MINIGAWA et al., 2007; ALEKSEEVA et al., 2010).

PAULO et al. (2007) relataram a eficiência do filme a base de quitosana no processo cicatricial em uma gata com extensa lesão cutânea, na qual após 72 horas já havia a presença de tecido de granulação, similarmente ao observado no grupo QP deste estudo, porém em outro local (musculatura abdominal) em que o tecido de granulação estava presente após 96 horas da implantação. Em outros estudos, como os desenvolvidos por CHEN et al. (2002), ALTIOK et al. (2010), LIMA (2010), GUO et al. (2011), o potencial cicatrizante de produtos a base de quitosana também foi comprovado, o qual reforça a possibilidade do filme QP atuar como adjuvante no processo cicatricial.

Quanto à avaliação da formação de aderências, todos os animais (100%) desenvolveram aderências peritoniais (figura 7), que variou conforme os tratamentos empregados (figura 8). No grupo QP, dez animais (83,33%) desenvolveram aderências do omento e dois (16,67%) aderências de mesentério. No grupo PP, nove ratos (81,9%) apresentaram aderências constituídas pelo omento, um (9,05%) por intestino delgado e um (9,05%) por intestino delgado e mesentério.

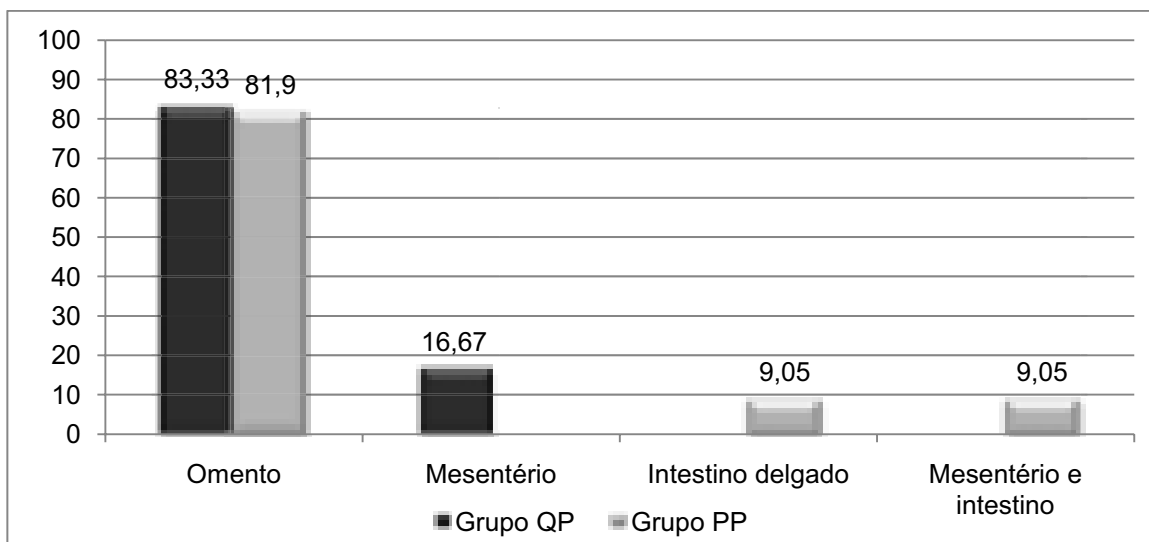


FIGURA 7 - Incidência de aderências em percentagem (%) (eixo Y) de acordo com as estruturas abdominais envolvidas (eixo X) e biomaterial implantado em ratas (Grupo QP, telas de polipropileno revestidas por quitosana/polietilenoglicol e grupo PP, telas de polipropileno).

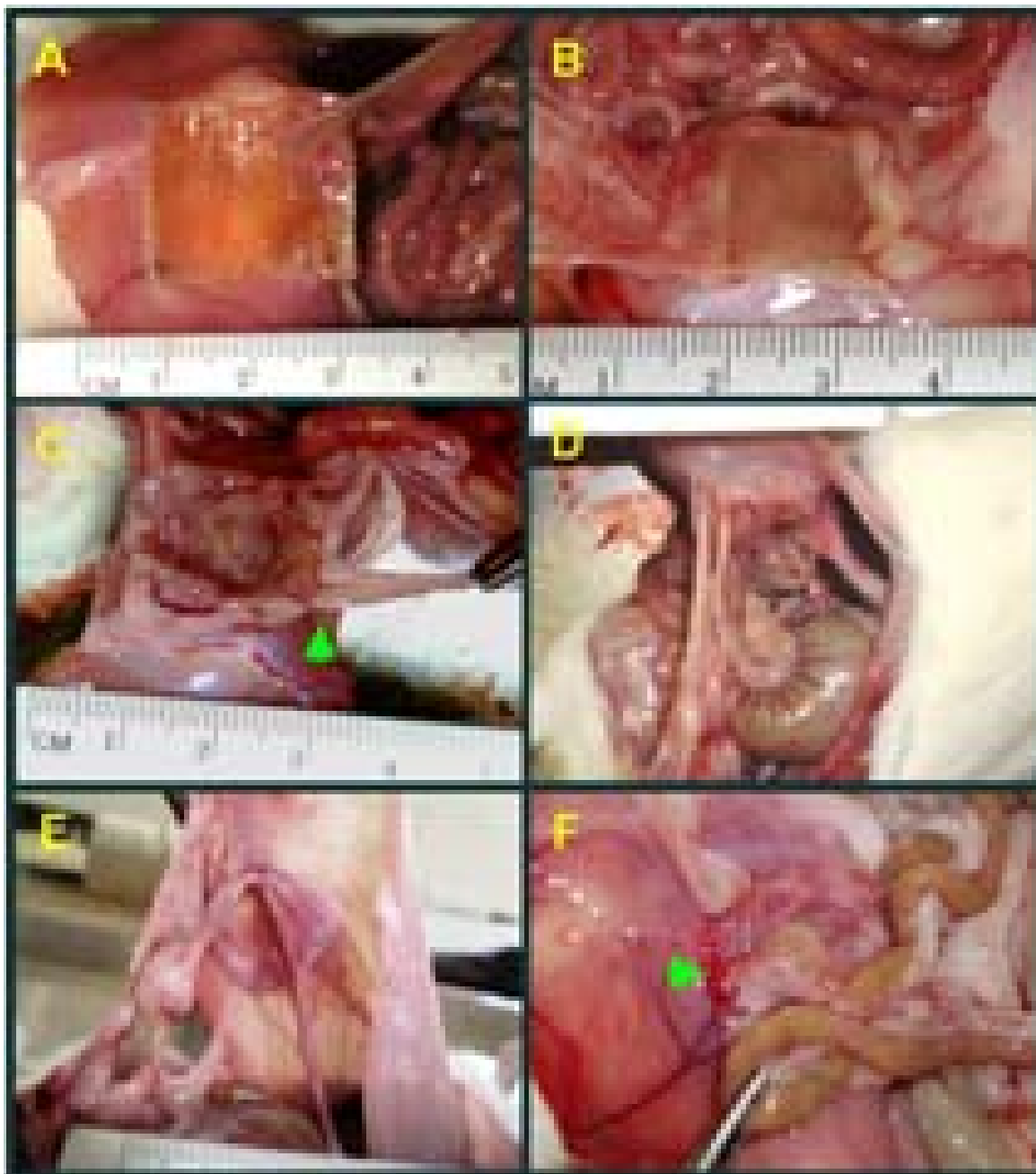


FIGURA 8 -Tipos de aderências de acordo com os biomateriais implantados na parede abdominal de ratas. A) Aderência de omento em menos de 25% na superfície do biomaterial, grupo QP. B) Aderência de omento na borda da tela QP. C) Aderência de mesentério na borda da tela QP (seta). D) Aderência de omento em até 50% da superfície do biomaterial, grupo PP. E) Aderência de omento mais de 50% da superfície da tela PP. F) Aderência de omento e mesentério sobre a tela PP (seta).

Os resultados deste experimento quanto as estruturas abdominais aderidas ao biomaterial são similares aos obtidos por AUDEBERT & GOMEL (2000), TARHAN et al. (2005), SUFIYAROV (2007), PAULO et al. (2009) e

SABER (2010), nos quais as estruturas geralmente envolvidas nas aderências da cavidade abdominal compreendiam o omento e intestinos. A presença do omento sobre os biomateriais na maioria dos animais é justificada pela capacidade desta estrutura de encapsular o foco da inflamação e promover uma barreira contra a disseminação de infecções na cavidade abdominal (LIEBERMANN-MEFFERT, 2000). Entretanto, as aderências de omento possuem pouca relevância clínica segundo PAULO et al. (2009), por outro lado, as maiores complicações estão associadas a aderências de intestino, devido ao maior risco de obstrução intestinal descritos por MILLER (2000) e MORAN (2007).

A figura 9 apresenta os resultados da porcentagem da área da tela envolvida pelas aderências pós-operatórias nos grupos QP e PP. No grupo QP, a média da área de aderências sobre o biomaterial foi de 39,088%, e de 84,024% no grupo PP. Estes resultados permitiram uma diferença estatística significativa ($p < 0,0001$).

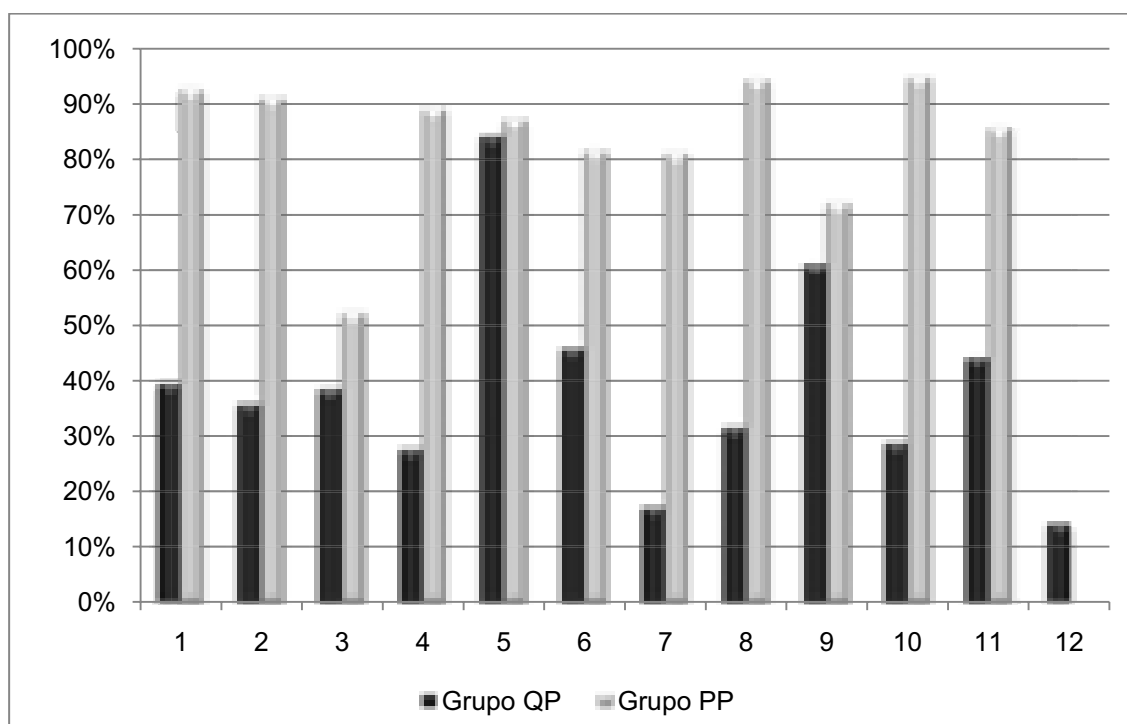


FIGURA 9 - Área da tela envolvida pela aderência em porcentagem (%) (eixo Y) observada em ratos submetidas à implantação intraperitoneal de telas (eixo X) de acordo com os grupos experimentais (Grupo QP, telas de polipropileno revestidas por quitosana/polietilenoglicol e Grupo PP e telas de polipropileno).

Em 10 animais (83,33%) do grupo QP, as aderências envolveram menos que 50% da tela. No grupo PP, todos os animais (100%) apresentaram mais de 50% da tela envolvida pelos diferentes tipos de aderências. Houve diferença estatística significativa entre os grupos para a variável área da tela envolvida pela aderência ($p < 0,0001$). A menor média da área da tela envolvida pela aderência no grupo QP pode ser justificada pela capacidade na minimização da formação de aderências da quitosana (ZHOU et al., 2004; PAULO et al., 2009; LAUDER et al., 2010) e do polietilenoglicol (DUNN et al., 2001; FERLAND et al., 2001, METTLER et al., 2003; SCHNÜRIGER et al., 2010).

Produtos à base de quitosana preveniram ou reduziram a formação de aderências peritoniais nos estudos desenvolvidos por KENNEDY et al. (1996), CETIN et al. (2003), DURAN et al. (2003), ZHOU et al. (2004), PAULO et al. (2009), WEI et al. (2009a), WEI et al. (2009b) e LAUDER et al. (2010). Porém, na maioria desses estudos os produtos a base de quitosana apresentavam-se na forma de solução ou gel. O método de prevenção de aderências pela quitosana que mais se assemelhou a este estudo foi o desenvolvido por PAULO et al. (2009), em que telas de polipropileno foram recobertas por uma membrana de quitosana fixada por fios de ácido poliglicólico, e implantadas no espaço intraperitonal de ratos submetidos a abrasão cecal como método de indução de aderências. Diferentemente dos resultados obtidos por PAULO et al. (2009), em que 20% dos animais não desenvolveram aderências pela utilização da quitosana, a tela QP não foi capaz de prevenir a formação de aderências e sim minimizar a gravidade destas.

Contudo, deve-se ressaltar que o defeito abdominal induzido neste experimento foi muito mais traumático do que a abrasão cecal, o que pode ter minimizado a eficácia da tela QP na prevenção de aderências, pois segundo DEL CARLO (1997) e diZEREGA & CAMPEAU (2001), quanto maior a lesão, maior será a área de isquemia e deposição de fibrina, e conseqüentemente maior as chances do desenvolvimento de aderências. O defeito cirúrgico induzido neste experimento foi com o objetivo de simular um grande trauma na parede abdominal que só pudesse ser reparado pela implantação de uma tela cirúrgica, os quais resultariam na estimulação da formação de aderência mais acentuada devido à perda de uma grande porção do peritônio e musculatura abdominal, além da

presença de corpo estranho, tendo como base os estudos realizados por BAPTISTA et al. (2000), BELLÓN et al. (2002), KAPAN et al. (2003) e PAULO et al. (2009), que criaram extensos defeitos na parede abdominal de ratos para implantação de diferentes biomateriais que atuassem como barreira física na prevenção de aderências.

Os achados deste experimento quanto a formação de aderências estão de acordo aos obtidos por BAPTISTA et al. (2000), que relataram a presença de aderências peritoniais na superfície de telas de polipropileno em ratos após 24 horas do procedimento cirúrgico, e que a média da área envolvida pela aderência foi de aproximadamente 90% entre o primeiro e nono dia pós-operatório, além das áreas livres de aderências após quatro dias da implantação da tela continuarem livres deste processo após 10 meses. Portanto, as aderências não se desfazem fisiologicamente após a sua ocorrência. Como descrito por BASILIO (2003), o processo de formação de aderências se inicia imediatamente após a lesão peritoneal, e uma vez que a fibrina decorrente da lesão seja infiltrada por fibroblastos, ela se organizará em aderências (diZEREGA & CAMPEAU, 2001).

Os mecanismos propostos para a minimização da formação de aderências pela quitosana é a sua atuação como barreira física entre a lesão peritoneal e as estruturas abdominais, e sua propriedade cicatrizante (WEI et al., 2009a). Já o polietilenoglicol atuaria na prevenção das aderências por possuir elevado teor de água (maior que 90%), o qual lhe confere uma superfície altamente lubrificada, responsável pelo efeito deslizante entre sua superfície e as estruturas abdominais, além de isolar o sítio de lesão e tecidos adjacentes, e permanecer no período crítico da formação de aderências antes de sua completa absorção (DUNN et al., 2001). Portanto, é possível que a associação da quitosana ao polietilenoglicol, no revestimento de telas de polipropileno, minimize o desenvolvimento de aderências devido a estas propriedades físicas.

Quanto ao tipo de aderências desenvolvidas neste estudo, seis animais do grupo PP/QP (50%) desenvolveram aderências de omento apenas na borda da tela (grau 1), seguida de aderências de omento em até 50% da tela (grau 2) em três animais (25%), aderência de omento em mais de 50% da tela (grau 3) em uma unidade experimental (8,33%) e aderência visceral na borda do biomaterial (grau 4) em 16,67% do grupo. No grupo PP, um animal (9,1%) desenvolveu

aderências grau 2, seguida de grau 3 em 8 animais (72,72%) do grupo, grau 4 em um (9,1%) e aderência visceral sobre a tela (grau 5) em um animal (9,08%) do grupo. Houve diferença estatística significativa na variável tipo de aderência, onde as aderências no grupo PP/QP apresentaram-se com menor gravidade em relação ao grupo que recebeu a tela de polipropileno sem revestimento (tabela 1). Houve diferença estatística entre os tratamentos ($p=0,01$).

TABELA 1 – Descrição dos tipos de aderências em escores* provocadas pelos implantes de telas PP e QP em ratos.

Animal	Grupo	
	QP	PP
1	1	3
2	4	3
3	1	3
4	1	5
5	4	3
6	3	3
7	1	2
8	2	4
9	2	3
10	1	3
11	2	3
12	1	-
<i>P</i> (Mann-Whitney)		0,01

*Escore adaptado de GRECA et al. (2001): 0= ausência de aderência; 1= aderência de omento na zona de sutura; 2= aderência de omento em até 50% da tela; 3= aderência de omento em mais 50% da tela; 4= aderência visceral na zona de sutura; 5= aderência visceral na superfície do material.

A tela de polipropileno é sabidamente grande desencadeadora de aderências peritoniais (DIOGO-FILHO et al., 2004; MARTÍN-CARTES et al., 2006; ANSALONI et al., 2009). Já a quitosana e o polietilenoglicol são conhecidos por minimizar a formação de aderências (DUNN et al., 2001; CETIN et al., 2003; METTLER et al., 2003; PAULO et al., 2009; WEI et al., 2009a; GWON et al., 2010; LAUDER et al., 2010; RAJAB et al., 2010). BAPTISTA et al. (2000), KAPAN et al. (2003), BLEICHRODT et al. (2007), PAULO et al. (2009) e ZINTHER (2010)

utilizaram telas de PP revestidas com diferentes biomateriais, como os derivados da celulose, quitosana, politetrafluoretileno expandido, fluoreto de polivinilideno e até mesmo o omento, e relataram que estes biomateriais foram responsáveis pela redução da formação de aderências em comparação as telas sem revestimento.

Quando a tela de PP revestida com quitosana/polietilenoglicol foi umedecida em solução de ringer com lactato, o revestimento apresentou o aspecto de filme gelatinoso pouco aderente e lubrificante na superfície da tela. Esta característica poderia justificar a redução da formação de aderências, por promover o deslizamento das vísceras sobre o biomaterial, bem como a menor gravidade das aderências formadas no grupo QP. A prevenção de aderências pelos mecanismos de barreira física e efeito deslizante já foram relacionadas a outros biomateriais, como as membranas de carboximetilcelulose/ácido hialurônico (MORSE et al., 2005; TARHAN et al., 2005; RAJAB et al., 2010), celulose regenerada (GAGO et al., 2006; SCHNÜRIGER et al., 2010) e o politetrafluoretileno expandido (KAPAN et al., 2003; RAPTIS et al., 2010).

Como o revestimento de quitosana/polietilenoglicol da tela de polipropileno adquiriu um aspecto de um filme gelatinoso, a capacidade de diluição da fibrina e hidroflotação da quitosana, descrita por DURAN et al. (2003) e WEI et al. (2009a) da quitosana na forma de solução ou gel, é pouco provável nesta situação, uma vez que o biomaterial em estudo corresponde a um filme que possivelmente não se dispersa na cavidade abdominal.

Foi observado que durante o recorte da tela QP antes de sua implantação no espaço intraperitoneal, o revestimento conferido pelo filme de quitosana e polietilenoglicol impediu o desfiamento nas bordas da tela, e conseqüentemente haveria menor superfície de contato de corpo estranho com as estruturas abdominais. Esta condição pode ter contribuído para os achados relativos a aderências. Segundo KAMEL (2010), a presença de corpos estranhos é outro grande desencadeador de aderências peritoneais. O acréscimo de um corpo estranho como o fio de sutura pode estar relacionado à presença de aderências próxima às zonas de sutura da tela à parede abdominal. Como descrito por BORRAZO et al. (2004) e BRITO E SILVA (2009), o fio cirúrgico utilizado para a ancoragem da tela estimula a inflamação por acrescentar mais um corpo estranho ao local de implante, o qual favorece desenvolvimento de

aderências. Esses resultados estão próximos aos obtidos por PAULO et al. (2009), em que a maioria dos animais que receberam a tela de polipropileno revestida pela quitosana desenvolveram aderências de omento na sutura de fixação da tela, e as aderências no grupo que recebeu apenas a tela de polipropileno se desenvolveram na superfície do biomaterial.

4.2 Análise Microscópica

4.2.1 Tela de polipropileno revestida com quitosana/polietilenoglicol

No período de análise de quatro e 45 dias, o filme QP foi evidenciado envolvendo os monofilamentos de polipropileno (figura 10A). Porém após 45 dias do procedimento cirúrgico, foi observado que a constituição do filme aparentava estar degradada (figura 10B). O que talvez seja atribuído à ausência de perda de massa apreciável da quitosana nos primeiros sete dias, como descrito por RAMMAZZINA FILHO et al. (2010), e ao polietilenoglicol permanecer praticamente intacto até o sétimo dia da sua aplicação na cavidade abdominal (METTLER et al. 2003).

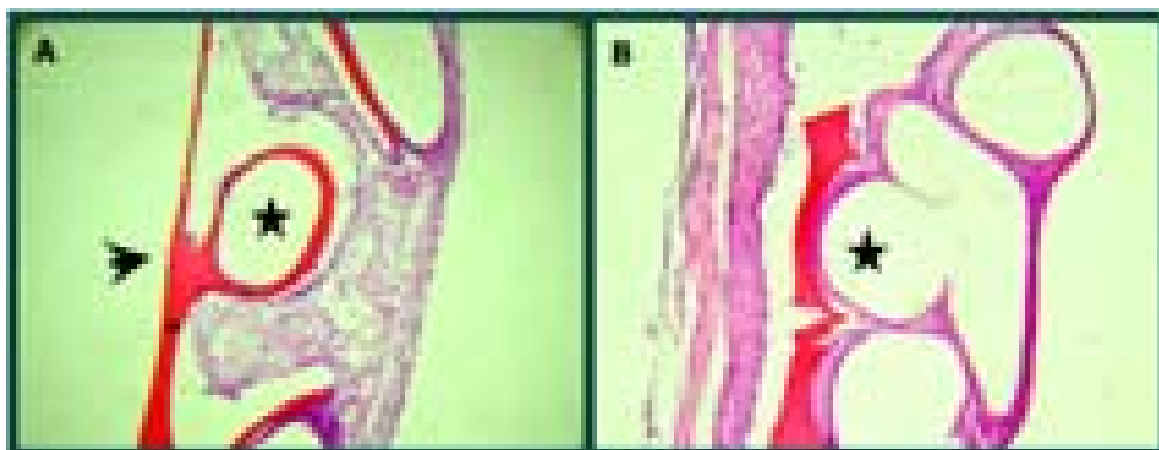


FIGURA 10 - Fotomicrografias do sítio de implantação de telas de polipropileno revestidas com filme à base de quitosana e polietilenoglicol no espaço intraperitoneal em ratas (HE, 10x). A: filme a base de quitosana e polietilenoglicol íntegro (seta) envolvendo os monofilamentos de polipropileno (estrela) após quatro dias do procedimento. B: filme QP degradado (seta) envolvendo os monofilamentos de polipropileno (estrela) após 45 dias da implantação.

4.2.2 Quatro dias após a implantação dos biomateriais

Na tabela 2 estão os resultados referentes à caracterização da presença de células mononucleares, células gigantes, células polimorfonucleares, fibrina, e a quantificação da angiogênese após quatro dias da cirurgia.

TABELA 2 – Variáveis histopatológicas do sítio de implantação de telas de PP e QP em ratos após quatro dias do procedimento cirúrgico.

Animal	MN		Cel G		PMN		Fib		Ang	
	QP	PP	QP	PP	QP	PP	QP	PP	QP	PP
1	1	3	1	1	2	1	2	1	20	77
2	2	3	1	1	2	1	2	1	102	61
3	2	2	1	1	3	1	2	1	58	75
4	1	2	1	0	2	1	2	2	53	75
5	1	2	1	0	3	1	2	2	100	35
6	1	2	1	1	3	1	2	1	46	41
<i>P</i> (Mann-Whitney)	0,018		0,174		0,002		0,025		0,872 (t student)	

MN=células mononucleares. Cel G.=células gigantes. PMN=células polimorfonucleares. Fib=fibrina. Ang=angiogênese.

A presença de células mononucleares após quatro dias do procedimento cirúrgico foi de discreta a moderada no grupo QP e de moderada a acentuada no grupo PP ($p=0,018$) (figura 11). Quanto à presença de células gigantes, tanto no grupo QP quanto no grupo PP, esta variável foi predominantemente discreta. Já a presença de células polimorfonucleares foi de moderada a acentuada no grupo QP, e principalmente discreta no grupo PP ($p=0,002$) (figura 11). A intensidade de fibrina foi predominantemente moderada no grupo QP e discreta no grupo PP ($p=0,025$) (figura 11). A quantidade média de vasos neoformados foi de 63,16 no grupo QP e 60,66 no grupo PP, sendo caracterizada como acentuada, porém estava mais presente na região de interface tela/parede abdominal e não houve diferença estatística entre os grupos.

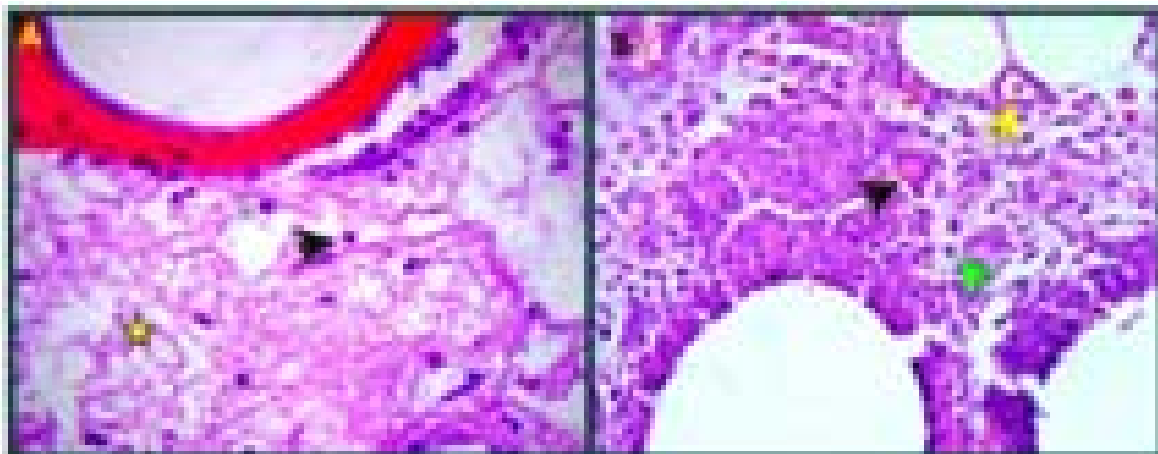


FIGURA 11 - Fotomicrografias do sítio de implantação de telas QP e telas PP no espaço intraperitoneal de ratas após quatro dias da implantação (HE, 40x). A: amostra do animal do grupo QP na região do monofilamento evidenciando a presença acentuada de fibrina (estrela) e neutrófilos (seta preta). B: amostra do grupo PP na região do monofilamento da tela com presença de macrófagos (seta verde), célula gigante (seta preta) e angiogênese (seta amarela).

As células mononucleares predominantes observadas em ambos os grupos foram os macrófagos, possivelmente devido à sua função de eliminar corpos estranhos por meio da fagocitose e degradação extracelular pela liberação de enzimas, além de modular o crescimento e a ativação de fibroblastos, como descrito por XIA & TRIFFITT (2006).

Entretanto, estas células estiveram em menor quantidade no grupo QP em ambas as zonas de avaliação, principalmente na região dos monofilamentos da tela. Existem duas hipóteses que talvez justifiquem este achado: na primeira, a tela QP possivelmente desencadeou menor reação de corpo estranho em relação ao grupo PP devido à presença da quitosana, que segundo SHI et al. (2006), desencadeia mínima reação ao corpo estranho; na segunda hipótese, a quitosana minimizou a adesão de macrófagos na superfície de polipropileno, similarmente ao descrito por ZHOU et al. (2008), em que o derivado da quitosana carboximetilquitosana foi capaz de minimizar a adesão de macrófagos e fibroblastos à superfícies plásticas recobertas por este produto, embora o mecanismo exato desta propriedade não seja esclarecido, os autores acreditam que a carga de superfície negativa deste biomaterial promova esta propriedade.

Como o monofilamento dos biomateriais era maior que a capacidade de fagocitose dos macrófagos, a presença de células gigantes ao redor dos monofilamentos pode ser atribuída ao processo de fusão de macrófagos para originar células multinucleadas com a função de degradar partículas maiores. Conforme relatado por WILLIAMS (2003), RATNER & BRYANT (2004) e XIA & TRIFFITT (2006), as células multinucleadas formadas pela fusão de macrófagos conhecidas como células gigantes, eliminam as partículas maiores que 10µm por meio da liberação de enzimas que promovem a degradação das mesmas.

A intensidade de moderada à acentuada de polimorfonucleares observada no grupo QP, talvez seja atribuída à estimulação da migração deste tipo celular pela quitosana, como descrito por UENO et al. (1999). Conforme salientado por KWIATKOWSKA & SOBOTA (1999), esses fagócitos são responsáveis pela remoção de microrganismos, partículas poluidoras, células lesadas e apoptóticas.

No grupo QP, houve maior deposição de fibrina. Após a injúria peritonial, sabe-se que a presença de fibrina é grande responsável pela formação de aderências (diZEREGA & CAMPEAU, 2001; DAVEY & MAHER, 2007), mas também possui grande importância no processo cicatricial, pois servirá de arcabouço para a migração celular (MUNIREDDY et al., 2010). Apesar da maior quantidade de fibrina no grupo QP, a formação de aderências graves foi mínima, o que talvez seja atribuído ao filme de quitosana/polietilenoglicol formar uma barreira entre o sítio de lesão e as estruturas abdominais, fazendo com que a fibrina se deposite entre o sítio de lesão e a tela QP, e não sobre a face voltada à cavidade abdominal, como em outros sistemas de barreira compostos por quitosana desenvolvidos por PAULO et al. (2009) e WEI et al. (2009a).

Apesar de UENO et al. (2001) relatarem que a quitosana estimula a angiogênese por meio da liberação de interleucina-8 nos fibroblastos, não houve diferença quanto a angiogênese entre os grupos. Contudo, deve-se ressaltar que as propriedades da quitosana dependem muito da sua formulação e do grau de desacetilação (KHAN et al., 2000; ŞENEL & McCLURE, 2004). Neste caso, o grau de desacetilação da quitosana foi de 95% da tela QP.

A baixa adesão de macrófagos e tecido conjuntivo frouxo ao redor dos monofilamentos da membrana QP talvez seja similar a propriedade descrita por

PARK et al. (2007) sobre o filme de polietilenoglicol/ácido lático-co-ácido-glicólico, produto que possui polietilenoglicol em sua formulação, responsável pela minimização da adesão celular. Apesar do mecanismo para esta propriedade não ser definido, acredita-se que envolva fenômenos de cargas de superfície do biomaterial e hidrofiliabilidade.

A formação do neoperitônio sobre as telas em ambos os grupos não foi evidenciada após quatro dias da implantação. No experimento realizado por PAULO et al. (2009), após oito dias da implantação de telas de PP revestidas com membranas de quitosana no espaço intraperitoneal de ratos, este neoperitônio estava presente. Possivelmente, o período de quatro dias após a implantação para a mesotelização da tela seja insuficiente.

Na tabela 3 estão os resultados referentes à mensuração da área ocupada por fibras colágenas e a caracterização da presença do colágeno tipo I e tipo III após quatro dias do procedimento cirúrgico.

TABELA 3 – Área ocupada por de fibras colágenas totais em megapixels (MP²) e tipificação colágena no sítio de implantação de telas PP e QP em ratos após quatro dias do procedimento cirúrgico.

Animal	Fibras colágenas totais em MP ²		Colágeno tipo I		Colágeno tipo III	
	QP	PP	QP	PP	QP	PP
1	629,317	47,805	3	1	1	1
2	798,575	238,116	3	2	1	1
3	203,152	339,843	2	2	1	1
4	485,241	186,680	3	2	1	1
5	334,154	287,547	3	2	1	1
6	264,066	195,198	2	2	2	1
Média	452,417	215,864				
<i>P</i>	0,043 (t de Student)		0,022 (Mann-Whitney)		0,405 (Mann-Whitney)	

A quantidade de fibras colágenas totais foi maior no grupo QP em relação ao grupo PP ($p=0,043$). Porém, na região de monofilamento estas fibras estavam pouco presentes no grupo QP. Também foi observada maior quantidade

de fibras colágenas tipo I no grupo QP ($p=0,022$), além de melhor histoarquitetura tecidual destas fibras (figura 12). Entretanto, a presença de colágeno tipo III foi discreta em ambos os grupos. A presença de tecido conjuntivo frouxo e denso foi presente em ambos os grupos (100%), porém o tecido conjuntivo denso não foi evidenciado na região de monofilamento da tela em ambos os grupos.

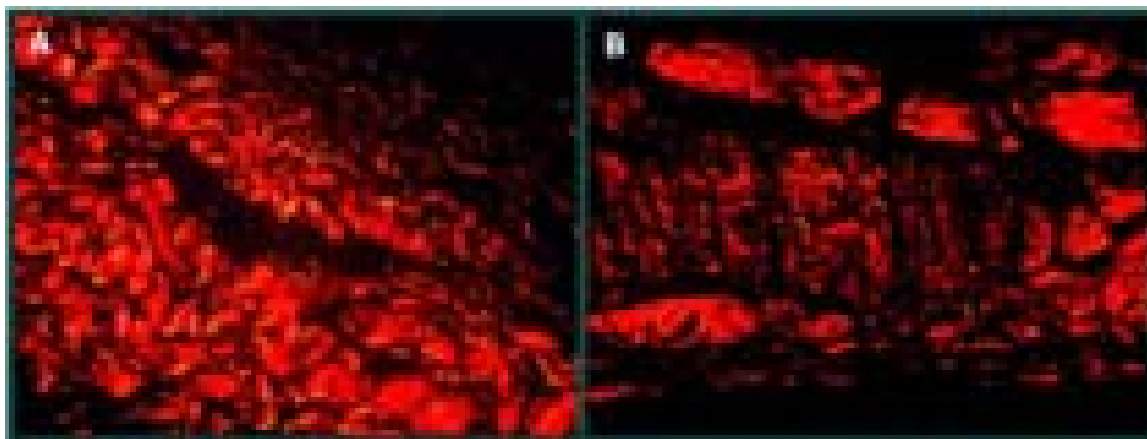


FIGURA 12 - Fotomicrografias em luz polarizada da região de interface tela/parede abdominal de ratas após quatro dias da implantação dos biomateriais no espaço intraperitoneal (picosirius, 40x). A: amostra do grupo QP indicando melhor orientação das fibras colágenas tipo I (em vermelho). B: amostra do grupo PP com fibras colágenas pouco organizadas.

A quantidade de fibras colágenas representadas principalmente pelo tipo I no grupo QP, talvez seja decorrente da capacidade cicatrizante da quitosana. Como descrito por UENO et al. (2001) e SILVA et al. (2006), este polímero pode estimular a proliferação fibroblástica e produção de colágeno. Porém, o grupo PP apresentou maior quantidade de fibroblastos em relação ao grupo QP na zona de interface tela/parede abdominal e apresentou menor produção de colágeno tipo I. Pode-se inferir que a quitosana tenha desencadeado uma maior resposta apenas para a produção de colágeno pelos fibroblastos no grupo QP.

O colágeno tipo I é o colágeno maduro e confere maior resistência tênsil ao tecido (JONES et al., 2000) e possivelmente a resistência à tração no grupo QP seria maior devido à maior prevalência deste tipo de colágeno. A presença de colágeno tipo III é mais característica no processo inicial da cicatrização (JONES et al., 2000) o que provavelmente justifica este achado aos

quatro dias do procedimento de implantação. A melhor histoarquitetura de fibras colágenas observada no grupo QP, talvez seja atribuída à capacidade da quitosana em promover uma matriz não protéica tridimensional para o crescimento tecidual (MUZZARELLI et al. 1988).

4.2.3 45 DIAS após a implantação dos biomateriais

Os resultados referentes à caracterização da presença de células mononucleares, células gigantes, células polimorfonucleares, fibrina, e a quantificação da angiogênese após 45 dias do procedimento cirúrgico estão descritos na tabela 4.

TABELA 4 – Variáveis histopatológicas do sítio de implantação de telas de PP e QP em ratos após 45 dias do procedimento cirúrgico.

Animal	MN		Cel G		PMN		Fib		Ang	
	QP	PP	QP	PP	QP	PP	QP	PP	QP	PP
1	1	1	1	1	1	1	0	0	35	64
2	1	1	1	1	1	1	0	0	42	75
3	1	1	1	1	1	1	0	0	30	71
4	1	1	1	1	0	1	0	0	61	44
5	1	1	1	1	0	0	0	0	38	36
6	2		1		0		0		79	
<i>P</i> (Mann-Whitney)	0,465		-		0,383		-		0,362(t de student)	

Após 45 dias do procedimento cirúrgico, a presença de mononucleares foi predominantemente discreta em ambos os grupos. Células polimorfonucleares, representadas principalmente por neutrófilos, foram pouco evidenciadas. A fibrina estava ausente em ambos os grupos. A quantidade de vasos presentes neste período continuou acentuada, porém apenas na região dos monofilamentos da tela, e discreta na região de interface tela/parede abdominal. Em comparação com a reação desencadeada aos quatro dias da lesão, houve a redução da

intensidade de todas as variáveis aos 45 dias, com exceção da angiogênese e da presença de células gigantes no grupo PP que se mantiveram com a mesma intensidade na zona de monofilamentos da tela (figura 13).

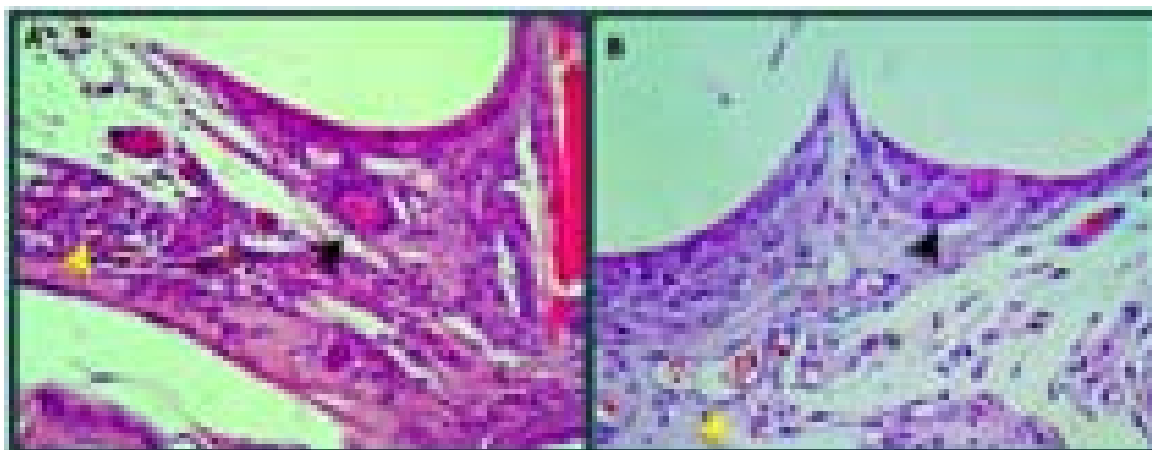


FIGURA 13 - Fotomicrografias do sítio de implantação de telas QP e telas PP no espaço intraperitoneal de ratas na zona de monofilamentos das telas após 45 dias da cirurgia (HE, 40x). A: Amostra do grupo QP, evidenciando a presença de uma célula gigante (seta preta) e angiogênese (seta amarela). B: amostra do grupo PP indicando a presença de células gigantes (seta preta) e angiogênese (seta amarela).

A quantidade de células inflamatórias, com exceção das células gigantes, aos 45 dias quando comparadas aos quatro dias da implantação em ambos os grupos foi menor, sendo sugestiva de inflamação crônica ativa. Este achado é condizente ao observado por VAZ et al. (2009) e BELLÓN et al. (2009), em que a quantidade de células inflamatórias foi menor após longos períodos da implantação de telas de polipropileno.

A presença de células gigantes após 45 dias da implantação das telas em ambos os grupos pode ser atribuída ao comportamento natural destas células em resposta a um corpo estranho, no qual este tipo celular pode perdurar durante todo o período em que o biomaterial estiver presente no hospedeiro, sendo que após a resolução da cicatrização ainda pode ocorrer a reativação crônica da inflamação (WILLIAMS, 2003; RATNER & BRYANT, 2004).

A angiogênese acentuada no 45º dia pode ser um resultado pouco comum, pois como salientaram BALBINO et al. (2005), a angiogênese eleva-se

no período inicial da lesão e reduz no decorrer da cicatrização. O que talvez explique esse achado é que a resposta celular a telas de polipropileno promova a liberação de radicais livres que resultam na oxidação do biomaterial, e liberação de monômeros residuais que podem reativar o processo inflamatório inúmeras vezes (COSTELLO et al., 2007).

Após 45 dias da implantação das telas QP e PP foi possível evidenciar o neoperitônio na superfície das telas em áreas livres de aderência (figura 14), sendo melhor visualizado no grupo QP em decorrência da menor quantidade de aderências. Quando uma tela é implantada na parede abdominal, haverá a tendência da formação do neoperitônio sobre a superfície da mesma, porém esta formação dependerá da estrutura e porosidade do biomaterial implantado, pois telas com maiores poros, tenderão ao desenvolvimento de um neoperitônio estruturalmente irregular, e com maior propensão ao desenvolvimento de hemorragias e aderências. Já em telas laminares ou microporosas, a formação do neoperitônio tenderá a ser estruturalmente linear (BELLÓN et al., 2001).

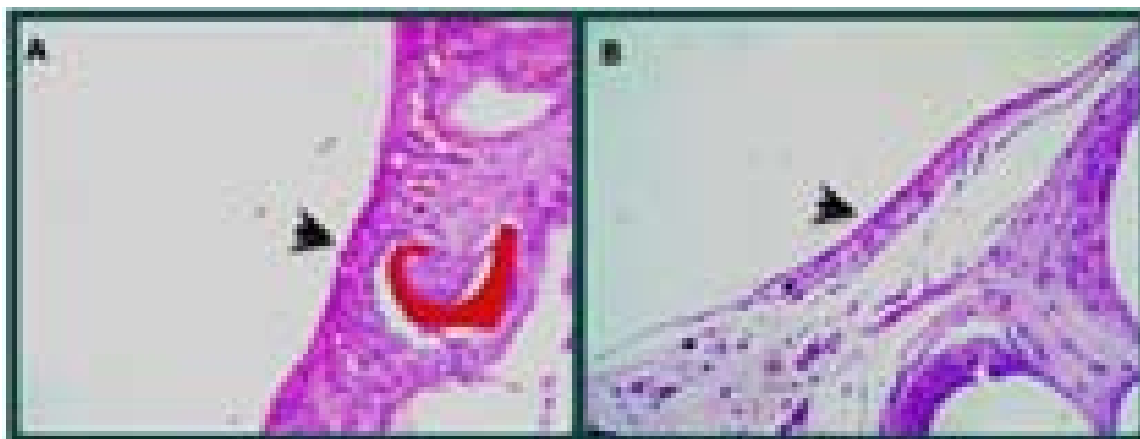


FIGURA 14 - Fotomicrografias do sítio de implantação de telas QP (A) e telas PP (B) no espaço intraperitoneal de ratas na zona de monofilamentos das telas após 45 dias do procedimento cirúrgico indicando a presença do neoperitônio (seta preta) (HE, 20x).

Os resultados das mensurações das áreas ocupadas por fibras colágenas totais após quatro e 45 dias do procedimento cirúrgico estão descritos na tabela 5.

TABELA 5 – Área ocupada por fibras colágenas totais em megapixels² (MP²) e tipificação colágena no sítio de implantação de telas PP e QP em ratas após 45 dias.

Animal	Quantificação de fibras colágenas em MP ²		Colágeno tipo I		Colágeno tipo III	
	QP	PP	QP	PP	QP	PP
1	812,928	1167,022	3	3	1	1
2	917,743	799,032	3	3	1	1
3	911,307	436,665	3	2	1	1
4	675,173	526,645	3	3	2	2
5	714,232	672,387	3	3	1	1
6	817,213		3		1	
Média	808,099	720,350				
<i>P</i>	0,496 (t de Student)		0,361 (Mann-Whitney)		1 (Mann-Whitney)	

A quantidade de fibras colágenas totais representada pela área mensurada em megapixels² aumentou após 45 dias da cirurgia em ambos os grupos, sendo que não houve diferença entre os mesmos. Porém as fibras colágenas estavam mais organizadas no grupo QP (figura 15). A presença de colágeno tipo I foi acentuada em ambos os grupos, tanto na área de monofilamento da tela, quanto na de interface tela/parede abdominal. O colágeno tipo III também foi evidenciado, mas em quantidade menor em relação ao tipo I. Não houve diferença entre os grupos para a presença de colágeno tipo I e III. Neste período, foi evidenciada a presença de tecido conjuntivo frouxo e denso em ambos os grupos (100%) na região de monofilamento das telas e interface tela/parede abdominal.

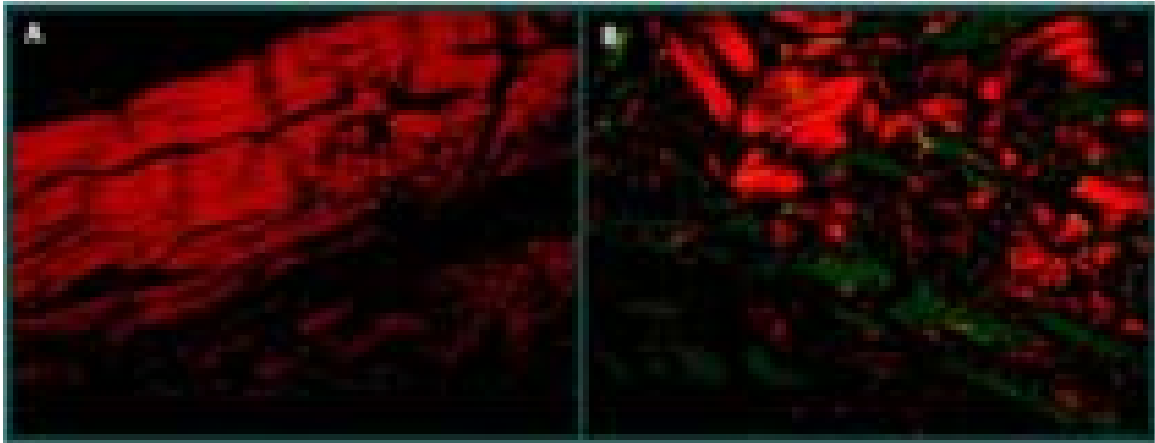


FIGURA 15 - Fotomicrografias em luz polarizada da região de interface tela/parede abdominal de ratas após 45 dias da implantação dos biomateriais (picrosirius, 40x). A: amostra do grupo QP indicando melhor orientação das fibras colágenas tipo I (em vermelho). B: amostra do grupo PP com fibras colágenas pouco organizadas.

A maior de quantidade de fibras colágenas, principalmente do tipo I, no 45º dia em relação ao quarto dia pós-operatório tanto no grupo QP quanto no grupo PP pode ser justificada com base nos achados de VAZ et al. (2009). Nesse estudo, a quantidade de fibras colágenas foi crescente até o 21º dia da implantação de telas de PP e a partir deste período a quantidade de colágeno tipo I e tipo III decaiu gradativamente.

5 CONCLUSÕES

- As telas de polipropileno revestidas com o filme à base de quitosana e polietilenoglicol não previnem a formação de aderências peritoniais, porém minimizam significativamente a gravidade deste processo.

- A reação de corpo estranho promovida por telas de polipropileno recobertas com o filme a base de quitosana e polietilenoglicol é menos intensa do que as desencadeadas por telas de polipropileno sem revestimento na fase aguda do processo de inflamação e reparo tecidual.

- Não há diferença entre as reações teciduais provocadas pelas telas de polipropileno revestidas com o filme a base de quitosana e polietilenoglicol e telas de polipropileno sem revestimento na fase crônica do processo de inflamação e reparo tecidual.

- As telas revestidas com o filme a base de quitosana/polietilenoglicol estimulam a maior produção e melhor orientação de fibras colágenas tipo I na fase aguda do processo inflamatório em comparação as telas de polipropileno, porém na fase crônica do processo de inflamação e reparo tecidual promovem apenas a melhor orientação de fibras colágenas.

REFERÊNCIAS

1. ALEKSEEVA, T. P.; RAKHMETOVA, A. A.; BOGOSLOVSKAYA, O. A.; OLKHOVSKAYA, I. P.; LEVOV, A. N.; IL'INA, A. V.; VARLAMOV, V. P.; BAITUKALOV, T. A.; GLUSHCHENKO, N. N. Wound healing potential of chitosan and N-sulfosuccinoyl chitosan derivatives. **Biology Bulletin**, Woods Hole, v. 37, n. 4, p. 339-345, 2010.
2. ANSALONI, L.; CATENA, F.; COCCOLINI, F.; FINI, M.; GAZZOTTI, F.; GIARDINO, R.; PINNA, A. D. Peritoneal Adhesions to Prosthetic Materials: An Experimental Comparative Study of Treated and Untreated Polypropylene Meshes Placed in the Abdominal Cavity. **Journal of Laparoendoscopic & Advanced Surgical Techniques**, New York, v. 19, n. 3, 369-374, 2009.
3. ARAÚJO, U. R. M. F.; CZECZKO, N. G.; DEALLARMI, A.; HEMOVISKI, F. E.; ARAÚJO, H. V. C. P. Escolha do material da tela para disposição intra-peritoneal na correção cirúrgica de defeitos herniários da parede abdominal. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 118-121, 2010.
4. ARIKAN, S.; ADAS, G.; BARUT, G.; TOKLU, A. S.; KOCAKUSAK, A.; UZUN, H.; KEMIK, O.; DADUK, Y.; AYDIN, S.; PURISA, S. An evaluation of low molecular weight heparin and hyperbaric oxygen treatment in the prevention of intra-abdominal adhesions and wound healing. **The American Journal of Surgery**, New York, v. 189, p. 155-160, 2005.
5. ASSIS, O. B. G. Alteração do caráter hidrofílico de filmes de quitosana por tratamento de plasma de HMDS. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 603-606, 2010.
6. ALTINLI, E.; SÜMER, A.; KÖKSAL, N.; ONUR, E.; SENGER, S.; EROĞLU, E.; ÇELİK, A.; GÜMRÜKÇU, G. Prevention of peritoneal adhesion to prosthetic mesh: comparison of oxidized generated cellulose, polyethylene glycol and hylan G-F 20. **Turkish Journal of Trauma & Emergency Surgery**, Istanbul, v. 17, n. 15, p.377-382, 2011.
7. BABENSEE, J. E.; ANDERSON, J. M.; MCINTIRE, L. V.; MIKOS, A. G. Host response to tissue engineered devices. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Amsterdam, v.33, p.114, 1998.
8. BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURTI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.41, n.1, p.27-51, 2005.
9. BAPTISTA, M. L.; BONSACK, M. E.; DELANEY, J. P. Seprafilm reduces adhesions to polypropylene mesh. **Surgery**, Oxford, v. 128, n. 1, p. 86-92, 2000.
10. BASILIO, P. C. Obstrução intestinal por aderências: utilização de membrana bio-reabsorvível (hialuronato de sódio + carboximetilcelulose) seprafilm® na profilaxia de complicações em reoperações abdominopélvicas. **Revista Brasileira de Coloproctologia**, Rio de Janeiro, v.3, n. 3, p. 168-171, 2003.

11. BAXTER, G. M. Intraabdominal adhesions in horses. **The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, Princenton, v. 13, p.1587-1597, 1991.
12. BEETS, G. L.; van MAMEREN, H.; GO, P. M. N. Y. H. Long-term foreign-body reaction to preperitoneal polypropylene mesh in the pig. **Hernia**, Paris, v.2, p.153-155, 1998.
13. BELLÓN, J. M.; GARCÍA-CARRANZA, A.; JURADO, F.; GARCÍA-HONDUVILLA, N.; CARRERA-SAN, M. A.; BUJÁN, J. Peritoneal regeneration after implant of a composite prosthesis in the abdominal wall. **World Journal of Surgery**, Beijing, v. 25, p. 147-152, 2001
14. BELLÓN, J. M.; RODRÍGUEZ, M.; GARCÍA-HONDUVILLA, N.; GÓMEZ-GIL, V.; PASCUAL, G.; BUJÁN, J. Comparing the Behavior of Different Polypropylene Meshes (Heavy and Lightweight) in an Experimental Model of Ventral Hernia Repair. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, Hoboken, v.89B, p. 448-455, 2009.
15. Bleichrodt, R. P.; Malyar, A. W.; de VRIES REILINGH, T. S.; BUYNE, O.; BONENKAMP, J. J.; van GOOR, H. The omentum–polypropylene sandwich technique: an attractive method to repair large abdominal-wall defects in the presence of contamination or infection. **Hernia**, v. 11, p. 71-74, 2007.
16. BÖLGEN, N.; VARGEL, I.; KORKUSUZ, P.; MENCELOĞLU, Y. Z.; PIŞKIN. In Vivo Performance of Antibiotic Embedded Electrospun PCL Membranes for Prevention of Abdominal Adhesions. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, Hoboken, v. 81B, p. 530-543, 2007.
17. BORRAZO, E. C.; BELMONT, M. F.; BOLFA, D.; FOWLER, D. L. Effect of prosthetic material on adhesion formation after laparoscopic ventral hernia repair in a porcine model. **Hernia**, Paris, v. 8, p. 108-112, 2004.
18. BRITO E SILVA, M. S. **Sistema de barreira com filme de hidrogel e poli(2-hidroxietilmetacrilato) na prevenção de aderências peritoniais : estudo experimental em ratas e cadelas**. 2009. 59 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
19. BRITO E SILVA, M. S.; MELO, R. M.; MENEZES, L. B.; MALMONGE, S. M.; FRANCO, L.G.; PAULO, N. M. 2-hydroxyethyl methacrylate composite - polypropylene mesh for preventing peritoneal adhesions in female dogs. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 25, n. 4, p.342-346, 2010.
20. BROWN, D. C. Small Intestines. In: SLATTER, D. H. **Textbook of small animal surgery**. 3 ed. Philadelphia: Saunders, 2002. 2896 p.
21. CALDWELL, F. J. MUELLER, E. Fibrinolytic Responses of the Equine Peritoneum to Abdominal Surgery, Surgical Trauma, and Intraperitoneal Sodium Hyaluronate. **Journal of Equine Veterinary Science**, Wildomar, v. 30, n. 6, p.298-304, 2010.
22. CARTUCHO, D. Bidas e aderências intestinais: visão histórica de um problema que se mantém actual. **Barlavento Médico**, Portimão, v. 1, n.1, p. 34-39, 2008.

23. CETIN, M.; AK, D.; DURAN, B.; CETIN, A.; GUVENAL, T.; YANAR, O. Use of methylene blue and N,O-carboxymethylchitosan to prevent postoperative adhesions in a rat uterine horn model. **Fertility and Sterility**, Birmingham, v. 80, suplemento 2, p. 698-701, 2003.
24. CHEN, X. G.; WANG, Z.; LIU, W. S.; PARK, H.J. The effect of carboxymethylchitosan on proliferation and collagen secretion of normal and keloid skin fibroblasts. **Biomaterials**, Surrey, v. 23, p. 4609-4614, 2002.
25. CONZE, J.; ROSCH, R.; KLINGE, U.; WEISS, C.; ANUROV, M.; TITKOWA, OETTINGER, A.; SCHUMPELICK, V. Polypropylene in the intra-abdominal position: Influence of pore size and surface area. **The World Journal of Hernia and Abdominal Wall Surgery**, Paris, v.8, p. 365-372, 2004.
26. COOLMAN, B. R.; MARRETTA, S. M.; DUDLEY, M. B.; AVERILL, S. M. Partial colonic obstruction following ovariectomy: A report of three cases. **Journal of the American Animal Hospital Association**, Lakewood, v. 35, n. 2, p. 169-172, 1999.
27. CORRALES, F. **Uso intraperitoneal de carboximetilcelulose/hialuronato de sódio e da vitamina E na prevenção de aderências pós-operatórias: estudo experimento em ratos**. 2006. 52 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia) – Faculdade de Medicina, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul.
28. COSTELLO, C. R.; BACHMAN, S. L.; RAMSHAW, B. J.; GRANT, S. A. Materials Characterization of Explanted Polypropylene Hernia Meshes. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, Hoboken, v. 83B, p. 44-49, 2007.
29. DAVEY, A. K.; MAHER, P. J. Surgical adhesions: A timely update, a great challenge for the future. **The Journal of Minimally Invasive Gynecology**, Philadelphia, v. 14, p. 15-22, 2007.
30. de VRIES REILINGH, T. S.; van GELDERE, D.; LANGENHORST, B. L. A. M.; de JONG, D.; van der WILT, G. J.; van GOOR, H.; BLEICHRODT, R. P. Repair of large midline incisional hernias with polypropylene mesh: Comparison of three operative techniques. **Hernia**, Paris, v. 8, p. 56-59, 2004.
31. DEL CARLO, R. J.; GALVÃO, S. R.; RIO TINTO, J. J.; PONTINI, A. C. G.; LOPES, M. A. F. Estudo macroscópico das aderências peritoneais provocadas experimentalmente em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 27, n. 2, p. 273-278, 1997.
32. DeMARIA, E. J.; MOSS, J. M.; SUGERMAN, H. J. Laparoscopic intraperitoneal polytetrafluoroethylene (PTFE) prosthetic patch repair of ventral hernia. Prospective comparison to open prefascial polypropylene mesh repair. **Surgical Endoscopy**, Amsterdam, v. 14, p.326-329, 2000.
33. DeWILDE, R. L.; TREW, G. Postoperative abdominal adhesions and their prevention in gynaecological surgery. Expert consensus position. **Gynecological Surgery**, Berlin, v.4, p. 161-168, 2007.
34. DIAMOND, M. P.; FREEMAN, M. L. Clinical implications of postsurgical adhesion. **Human Reproductive Update**, Oxford, v. 7, n. 6, p. 567-576, 2001.

35. DIOGO-FILHO, A.; LAZARINI, B. C. M.; VIEIRA-JUNYOR, F.; SILVA, G. J.; GOMES, H. L. Avaliação das aderências pós-operatórias em ratos submetidos a peritonostomia com tela de polipropileno associada à nitrofurazona. **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, v. 41, p. 245-249, 2004.
36. diZEREGA, G. S.; CAMPEAU, J. D. Peritoneal repair and post-surgical adhesion formation. **Human Reproduction Update**, Oxford, v. 7, n. 6, p. 547-555, 2001.
37. DUNN, R.; LYMAN, M. D.; EDELMAN, P. G.; CAMPBELL, P. K. Evaluation of the SprayGel™ adhesion barrier in the rat cecum abrasion and rabbit uterine horn adhesion models. **Fertility and Sterility**, Birmingham, v. 75, n. 2, p.411-416, 2001.
38. DURAN, B.; DOGAN, A.; CETIN, A.; GUVENAL, T.; MERAL, C.; IMIR, A. G. Reduction of postoperative adhesions by N,O-carboxymethylchitosan and spermine NONOate in rats. **Experimental Animals**, Tokyo, v. 52, n. 4, p. 267-272, 2003.
39. DURON, J. J. Postoperative intraperitoneal adhesion pathophysiology. **The Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland**, London, v. 9, suplemento 2, p. 14-24, 2007.
40. DWIVEDI, A. J.; KUWAJERWALA, N. K.; SILVA, Y. J.; TENNENBERG, S. D. Effects of surgical gloves on postoperative peritoneal adhesions and cytokine expression in a rat model. **The American Journal of Surgery**, New York, v. 188, p. 491-494, 2004.
41. ERGUL, E.; KORUKLUOGLU, B. Peritoneal adhesions: facing the enemy. **International Journal of Surgery**, London, v. 6, p. 253-260, 2008.
42. ERIKSEN, J. R. Fixation of mesh to the peritoneum using a fibrin glue: investigations with a biomechanical model and an experimental laparoscopic porcine model. **Surgical Endoscopy**, New York, v.24, p. 1501-1502, 2010.
43. FAZIO, V. W.; COHEN, Z.; FLESHMAN, J.W.; VAN GOOR, H.; BAUER, J. J.; WOLFF, B. G.; CORMAN, M.; BEART JR, R. W.; WEXNER, S. D.; BECKER, J. M.; MONSON, J. R. T.; KAUFMAN, H. S.; BECK, D. E.; BAILEY, H. R.; LUDWIG, K. A.; STAMOS, M. J.D.; DARZI, A.; BLEDAY, R.; DORAZIO, R.; MADOFF, R. D.; SMITH, L. E.; GEARHART, S.; LILLEMOR, K.; GÖHL, J. Reduction in Adhesive Small-Bowel Obstruction by Seprafilm® Adhesion Barrier After Intestinal Resection. **Diseases of the Colon & Rectum**, Philadelphia, v. 49, n. 1, p. 1-11, 2006.
44. FELEMOVICIUS, I.; BONSACK, M. E.; HAGERMAN, G.; DELANEY, J. P. Prevention of adhesions to polypropylene mesh. **Journal of the American College of Surgeons**, Chicago, v. 198, p. 543-548, 2004.
45. FERLAND, R.; MULANI, D.; CAMPEBELL, P. K. Evaluation of a sprayable polyethylene glycol adhesion barrier in a porcine efficacy model. **Human Reproduction**, Oxford, v. 16, n. 12, p. 2718-2723, 2001.
46. GAGO, L. A.; SAED, G.; ELHAMMADY, E.; DIAMOND, M.P. Effect of oxidized regenerated cellulose (Interceed®) on the expression of tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in human peritoneal fibroblasts and

mesothelial cells. **Fertility and Sterility**, Birmingham, v. 86, suplemento 3, p. 1223-1227, 2006.

47. GOLDSTEIN, H. S. Selecting the right mesh. **Hernia**, Paris, v.3, p.23–26, 1999.

48. GORVY, D. A.; EDWARDS, G. B.; PROUDMAN, C. J. Intra-abdominal adhesions in horses: A retrospective evaluation of repeat laparotomy in 99 horses with acute gastrointestinal disease. **The Veterinary Journal**, London, v. 175, p. 194-201, 2008.

49. GRECA, F. H.; PAULA, J. B.; BIONDO-SIMÕES, M. L. P.; COSTA, F. D.; SILVA, A. P. G.; TIME, S.; MANSUR, A. The influence of differing pore sizes on the biocompatibility of two polypropylene meshes in the repair of abdominal defects. **Hernia**, Paris, v. 5, p. 59-64, 2001.

50. GWON, H. J.; LIM, Y. M.; CHANG, H. N.; NHO, Y. C. Reduction of Postsurgical Adhesion Formation with CM-Chitosan Hydrogel Barriers Prepared by Using γ -Irradiation. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v. 116, p. 3682–3687, 2010.

51. HALM, J. A.; DE WALL, L. L.; STEYERBERG, E. W.; JEEKEL, J.; LANGE, J. F. Intraperitoneal Polypropylene Mesh Hernia Repair Complicates Subsequent Abdominal Surgery. **World Journal of Surgery**, Beijing, v. 31, p. 423-429, 2007.

52. HAMMOUD, A.; GAGO, L. A.; DIAMOND, M. P. Adhesions in patients with chronic pelvic pain: a role for adhesiolysis?. **Fertility and Sterility**, Birmingham, v. 82, n. 6, p.1483-1491, 2004.

53. HEYDRICK, S. J.; REED, K. L.; COHEN, P. A.; AARONS, C. B.; GOWER, A. C.; BECKER, J. M.; STUCCHI, A. F. Intraperitoneal Administration of Methylene Blue Attenuates Oxidative Stress, Increases Peritoneal Fibrinolysis, and Inhibits Intraabdominal Adhesion Formation. **Journal of Surgical Research**, New York, v. 143, p. 311-319, 2007.

54. HIMEDA, Y.; UMEDA, T.; MIYATA, Y.; MIYOSHI, T. Application of Biocompatible Gel of Hyaluronic Acid in Adhesion Prevention. **Journal of Gynecologic Surgery**, New York, v. 20, n. 2, p.30-46, 2004.

55. HOLMDAHL, L.; IVARSSON, M. L. The role of cytokines, coagulation, and fibrinolysis in peritoneal tissue repair. **European Journal of Surgery**, Stockholm, v. 165, p. 1012-1019, 1999.

56. HONARKAR, H.; BARIKANI, M. Applications of biopolymers I: chitosan. **Monatshefte für Chemie / Chemical Monthly**, Berlin, v. 140, n. 12, p. 1403-1420, 2009.

57. JACQUELINE, N.G.; DIAMOND, M. P. Principles of Laparoscopic Microsurgery and Adhesion Prevention. In: AZZIZ, R.; MURPHY, A. **Practical manual of operative laparoscopy and hysteroscopy**. 2 ed., New York Inc: Springer-Verlag; 1997. 347 p.

58. JENKINS, E. D.; MELMAN, L.; DESAI, S.; BROWN, S. R.; FRISELLA, M. M.; DEEKEN, C. R.; MATTHEWS, B. D. Evaluation of intraperitoneal placement of absorbable and nonabsorbable barrier coated mesh secured with fibrin sealant in

- a New Zealand white rabbit model. **Surgical Endoscopy**, New York, v. 25, n. 2. p. 14-17, 2010.
59. JIN, J.; VOSKERICIAN, G.; HUNTER, S. A.; McGEE, M. F.; CAVAZZOLA, L. T.; SCHOMISCH, S.; HARTH, K.; ROSEN, M. J. Human Peritoneal Membrane Controls Adhesion Formation and Host Tissue Response Following Intra-Abdominal Placement in a Porcine Model. **Journal of Surgical Research**, New York, v. 156, p. 297-304, 2009.
60. JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia veterinária**. São Paulo: Manole, 2000. 1415 p.
61. KAMEL, R. M. Prevention of postoperative peritoneal adhesions. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, Amsterdam, v. 150, p. 111–118, 2010.
62. KAPAN, S.; KAPAN, M.; GOKSOY, E.; KARABICAK, I.; OKTAR, H. Comparison of PTFE, pericardium bovine and fascia lata for repair of incisional hernia in rat model, experimental study. **Hernia**, Paris, v. 7, p. 39-43, 2003.
63. KEMENT, M.; CENSUR, Z.; ONCEL, M.; BUYUKOKUROGLU, M. E.; GEZEN, F. C. Heparin for adhesion prevention: Comparison of three different dosages with Seprafilm in a murine model. **International Journal of Surgery**, London, p. 1-4, 2010.
64. KENNEDY, R.; COSTAIN, D. J.; McALISTER, V. C.; LEE, T. D. G. Prevention of experimental postoperative peritoneal adhesions by N,O-carboxymethyl chitosan. **Surgery**, Oxford, v. 120, p. 866-870, 1996.
65. KHAITAN, L.; SCHOLZ, S.; HOUSTON, H. L., RICHARDS, W. O. Results after laparoscopic lysis of adhesions and placement of Seprafilm for intractable abdominal pain. **Surgical Endoscopy**, New York, v. 17, p. 247-253, 2003.
66. KHAN, T. A.; PEH, K. K.; CH'NG, H. S. Mechanical, bioadhesive strength and biological evaluations of chitosan films for wound dressing. **Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, Edmonon, v. 3, n. 3, p. 303-311, 2000.
67. KUCUK, H. F.; KAPTANOGLU, L.; KURT, N.; UZUN, H.; ESER, M.; BINGUL, S.; TORLAK, O. A.; AKYOL, H. The Role of Simvastatin on Postoperative Peritoneal Adhesion Formation in an Animal Model. **European Surgical Research**, Basel, v. 39, p. 98-102, 2007.
68. KWIATKOWSKA, K.; SOBOTA, A. Signaling pathways in phagocytosis. **BioEssays**, Cambridge, v. 21, p. 422-431, 1999.
69. LALOUNTAS, M. A.; BALLAS, K. D.; SKOURAS, C.; ASTERIOU, C.; KONTOULIS, T.; PISSAS, D.; TRIANTAFYLLOU, A.; SAKANTAMIS, A. K. Preventing intraperitoneal adhesions with atorvastatin and sodium hyaluronate/carboxymethylcellulose: a comparative study in rats. **The American Journal of Surgery**, New York, v. 200, p. 118-123, 2010.
70. LAMONT, P. M.; ELLIS, H. Incisional hernia in re-opened abdominal incisions: an overlooked risk factor. **British Journal of Surgery**, Oxford, v.75, p.374-376, 1988.

71. LAUDER, C. I. W.; GARCEA, G.; STRICKLAND, A.; MADDERN, G. J. Abdominal Adhesion Prevention: Still a Sticky Subject? **Digestive Surgery**, Basel, v. 27, p.347-358, 2010.
72. LEBER, G. E.; GARB, J. L.; ALEXANDER, A. I. Long-term complications associated with prosthetic repair of incisional hernias. **Archives of Surgery**, Chicago, v. 133, p. 378-382, 1998.
73. LIMA, C. R. O. **Reparação de feridas cutâneas incisionais em coelhos após tratamento com barbatimão e quitosana**. 2010. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
74. LOPES, M. A. F.; DEARO, A. C. O.; IAMAGUTI, P.; THOMASSIAN, A.; FIGUEIREDO, L. M. A. Aderências peritoneais em equinos: tratamento profilático com carboximetilcelulose. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, n. 3, p. 423-430, 1998.
75. LOSANOFF, J. E.; RICHMAN, B. W.; JONES, J. W. Entero-colocutaneous fistula: A late consequence of polypropylene mesh abdominal wall repair: Case report and review of the literature. **Hernia**, Paris, v. 6, p. 144-147, 2002.
76. LUNA, L.G. **Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. 3.ed. New York: McGraw-Hill, 1968. 258p.
77. MAHDY, T.; MOHAMED, G.; ELHAWARY, A. Effect of methylene blue on intra-abdominal adhesion formation in rats. **International Journal of Surgery**, London, v. 6, p. 452-455, 2008.
78. MAKARSKA, J.; SOSADA, K.; STĘPIEŃ, T.; BUCKI, B.; ZURAWIŃSKI, W. Influence of vitamin E given intraperitoneally to prevent peritoneal adhesions in rats. **Polish Journal of Surgery**, Druga Poprzeczna, v. 82, n. 10, p. 547-552, 2010.
79. MANDELBAUM, S. H.; DISANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte I. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v.78, n.4, p.393-410, 2003.
80. MARTÍN-CARTES, J. A.; MORALES-CONDE, S.; SUÁREZ-GRAU, J. M.; BUSTOS-JIMÉNEZ, M.; CADET-DUSSORT, H.; SOCAS-MACIÁS, M.; LÓPEZ-BERNAL, F.; ÁLAMO-MARTÍNEZ, J. M.; TUTOSAUS-GÓMEZ, J. D.; MORALES-MÉNDEZ, S. Prevención de adherencias peritoneales a las prótesis intraperitoneales. Estudio experimental en cerdos. **Cirugía Española**, Madrid, v. 80, n. 4, p. 214-219.
81. METTLER, L.; AUDEBERT, A.; LEHMANN-WILLENBROCK, E.; SCHIVE, K.; JACOBS, V. R. Prospective Clinical Trial of SprayGel as a Barrier to Adhesion Formation: An Interim Analysis. **The Journal of the American Association of Gynecologic Laparoscopists**, Santa Ana, v. 10, n. 3, p. 339-344, 2003.
82. METWALLY, M.; GORVY, D.; WATSON, A.; Li, T. C. Hyaluronic acid fluid agents for the prevention of adhesions after fertility-preserving gynecological surgery: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Fertility and Sterility**, Birmingham, v. 87, p.1139-1146, 2007.

83. MICHAILOVA, K. N.; USUNOFF, K.G. **Serosal membranes (pleura, pericardium, peritoneum): normal structure, development and experimental pathology**. New York: Springer, 2006. 144 p.
84. MILINGOS, S.; KALLIPOLITIS, G.; LOUTRADIS, D. Adhesions: laparoscopic surgery versus laparotomy. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 900, p. 272-285, 2000.
85. MILLER, G.; BOMAN, J.; SHRIER, I.; GORDON, P. H. Etiology of Small Bowel Obstruction. **The American Journal of Surgery**, New York, v. 180, p. 33-36, 2000.
86. MINAGAWA, T.; OKAMURA, Y.; SHIGEMASA, Y.; MINAMI, S.; OKAMOTO, Y. Effects of molecular weight and deacetylation degree of chitin/chitosan on wound healing. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 67, p. 640-644, 2007.
87. MOLINAS, C. R.; BINDA, M. M.; KONINCKX, P. R. Angiogenic factors in peritoneal adhesion formation. **Gynecological Surgery**, Berlin, v. 3, p. 157-167, 2006.
88. MORAN, B. J. Adhesion-related small bowel obstruction. **Colorectal disease**, New Jersey, London, v. 9, suplemento 2, p. 39-44, 2007.
89. MORSE, A. N.; HAMMER, R. A.; CORNELLA, J. L.; LOFTUS, J. C. Validation of a Mouse Adhesion Reduction Model Using Seprafilm[®]. **Journal of Gynecologic Surgery**, New York, v. 21, n. 4, p. 148-153, 2005.
90. MUNIREDDY, S.; KAVALUKAS, S. L.; BARBUL, A. Intra-abdominal Healing: Gastrointestinal Tract and Adhesions. **Surgical Clinics of North America**, Philadelphia, v. 90, p. 1227-1236, 2010.
91. MUTSAERS, S. E.; WHITAKER D.; PAPADIMITRIOU, J. M.; Mesothelium regeneration is not dependant on subserosal cells. **The Journal of Pathology**, Sussex, v. 190, p. 86-92, 2000.
92. MUZII, L.; MARANA, R.; BRUNETTI, L.; MARGUTTI, F.; VACCA, M.; MANCUSO, S. Postoperative adhesion prevention with low-dose aspirin: effect through the selective inhibition of thromboxane production. **Human Reproduction**, Oxford, v.13, n.6, p. 1486-1489, 1998.
93. MUZZARELLI, R.; BALDASSARRE, V.; CONTI, F.; FERRARA, P.; BIAGINI, G.; GAZZANELLI, G.; VASI, V. Biological activity of chitosan: ultrastructural study. **Biomaterials**, Surrey, v. 9, n. 5, p.247-252, 1988.
94. ONCEL, M.; KURT, N.; REMZI, F. H.; SENSU, S. S.; VURAL, S.; GEZEN, C. F.; CINCIN, T. G.; OLCAY, E. The Effectiveness of Systemic Antibiotics in Preventing Postoperative, Intraabdominal Adhesions in an Animal Model. **Journal of Surgical Research**, New York, v. 101, p. 52-55, 2001.
95. ONCEL, M.; REMZI, F. H.; SENAGORE, A. J.; CONNOR, J. T.; FAZIO, V. W. Comparison of a Novel Liquid (Adcon-P[®]) and a Sodium Hyaluronate and Carboxymethylcellulose Membrane (Seprafilm[™]) in Postsurgical Adhesion Formation in a Murine Model. **Diseases of the Colon & Rectum**, Philadelphia, v. 46, n. 2, p. 187-191, 2003.
96. PARK, S. N.; JANG, H.J.; CHOI, Y. S.; CHA, J. M.; SON, S. Y.; HAN, S. H.; KIM, J. H.; LEE, W. J.; SUH, H. Preparation and characterization of biodegradable

anti-adhesive membrane for peritoneal wound healing. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, London, v. 18, p. 475-482, 2007.

97. PAULO, N. M.; CONCEIÇÃO, M.; BUENO, I. A.; BRITO E SILVA, M. S.; MENEZES, L. B.; MORAES, A. M.; RODRIGUES, A. P. Chitosan film for treatment of cutaneous wound in a female cat. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 35, n. 3, p.381-383, 2007.

98. PAULO, N. P.; BRITO E SILVA, M. S.; MORAES, A. M.; RODRIGUES, A. P.; MENEZES, L. B.; MIGUEL, M. P.; LIMA, F. G.; FARIA, A. M.; LIMA, L. M. L. Use of Chitosan Membrane Associated With Polypropylene Mesh to Prevent Peritoneal Adhesion in Rats. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, Hoboken, v. 91B, p. 221-227, 2009.

99. PETTER-PUCHNER, A. H.; WALDER, N.; REDL, H.; SCHWAB, R.; ÖHLINGER, W.; GRUBER-BLUM, S.; FORTELYNY, R. H. Fibrin sealant (Tissucol®) enhances tissue integration of condensed polytetrafluoroethylene meshes and reduces early adhesion formation in experimental intraabdominal peritoneal onlay mesh repair. **Journal of Surgical Research**, New York, v. 150, p.190–195, 2008.

100. PILLAI, C. K. S.; PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. **Progress in Polymer Science**, London, v. 34, p. 641-678, 2009.

101. PUTTINI, S. M. B. **Avaliação da resposta inflamatória desencadeada pelas telas de polipropileno e politetrafluoretileno expandido implantadas no espaço intraperitoneal. Estudo experimental em camundongos.** 2006. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília.

102. RAJAB, T. R.; CHIR, B.; WALLWIENER, M.; PLANCK, C.; BROCHHAUSEN, C.; KRAEMER, B.; WALLWIENER, C. W. A Direct Comparison of Seprafilm, Adept, Intercoat, and Spraygel for Adhesion Prophylaxis. **Journal of Surgical Research**, New York, v. 161, p. 246-249, 2010.

103. RAMMAZZINA FILHO, W. A.; GIRATA, A. K.; PAULO, N. M.; MORAES, A. M. recobrimento de telas de polipropileno com quitosana por imersão para uso em cirurgias de hérnia. In: XVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 2010, Foz do Iguaçu. **Anais...Foz do Iguaçu: COBEQ**, 2010.

104. RAPTIS, D. A.; VICHOVA, B.; BREZA, J.; SKIPWORTH, J.; BARKER, J. A Comparison of Woven Versus Nonwoven Polypropylene (PP) and Expanded Versus Condensed Polytetrafluoroethylene (PTFE) on Their Intraperitoneal Incorporation and Adhesion Formation. **Journal of Surgical Research**, New York, p. 1-6, 2010.

105. RATNER, B. D.; BRYANT, S. J. Biomaterials: Where we been and where we are going. **Annual Review of Biomedical Engineering**, Palo Alto, v.6, p.41-75, 2004.

106. READ, R. The contributions of Usher and others to the elimination of tension from groin herniorrhaphy. **Hernia**, Paris, v. 9, p. 208-211, 2005.

107. REED, K. L.; FRUIN, A. B.; BISHOP-BARTOLOMEI, K. K. Neurokinin-1receptor and substance P messenger RNA levels increase during intraabdominal adhesion formation. **Journal of Surgical Research**, New York, v. 108, p.165–72, 2002.
108. REIJNEN, M. M. P. J.; BLEICHRODT, R. P.; van GOOR, H. Pathophysiology of intra-abdominal adhesion and abscess formation, and the effect of hyaluronan. **British Journal of Surgery**, Guildford, v. 90, p. 533-541, 2003.
109. ROSIN, E. Peritônio e parede abdominal. In: BOJRAB, M.J. **Técnicas atuais em cirurgia de pequenos animais**. 3. Ed. São Paulo: Roca, 2005. Cap. 18, p. 298-303.
110. SABER, A. Effect of honey versus intergel in intraperitoneal adhesion prevention and colonic anastomotic healing: A randomized controlled study in rats. **International Journal of Surgery**, London, v. 8, p. 121-127, 2010.
111. SAHOTA, P. S.; BURN, J. L.; BROWN, N. J.; MACNEIL, S. Approaches to improve angiogenesis in tissue-engineered skin. **Wound Repair and Regeneration**, Denmark, v. 12, n. 6, p. 635-642, 2004.
112. SCALCO, P. P. C.; COSTA, R. G.; LONTRA, M. B.; JOTZ, G. P. MARQUES, F. B.; CAVAZOLLA, L. T. Comparação entre a tela de submucosa intestinal suína acelular (surgisis®) e a tela polipropileno (marlex®) na formação de aderências peritoneais – estudo experimental em ratos. **Revista da Associação Médica do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, v. 52, n. 3, p. 197-203, 2008.
113. SCHNÜRIGER, B.; BARMPPARAS, G.; BRANCO, B. C.; LUSTENBERGER, T.; INABA, K.; DEMETRIADES, D. Prevention of postoperative peritoneal adhesions: a review of the literature. **The American Journal of Surgery**, New York, v. xx, n. x, p. 1-11, 2010.
114. SCHÖNLEBEN, F.; RECK, T.; TANNAPFEL, A.; HOHENBERGER, W.; SCHNEIDER, I. Collagen foil (TissuFoil E) reduces the formation of adhesions when using polypropylene mesh for the repair of experimental abdominal wall defects. **The International Journal of Colorectal Disease**, Berlin, v. 21, p. 840-846, 2006.
115. ŞENEL, S.; McCLURE, S. J. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Berlin, v. 56, p. 1467-1480, 2004.
116. SHI, C.; ZHU, Y.; RAN, X.; WANG, M.; SU, Y.; CHENG, T. Therapeutic potential of chitosan and its derivatives in regenerative medicine. **Journal of Surgical Research**, New York, v. 133, p. 133-192, 2006.
117. SHIGEMASA, Y.; MINAMI, S. Applications of chitin and chitosan for biomaterials. **Biotechnology & Genetic Engineering Reviews**, Newcastle, v. 17, p. 413-420, 1996.
118. SILVA, H.S.R.C., Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 776-785, 2006.
119. SUFIYAROV, I. F. Experimental Validation for the Use of a Film on the Basis of Modified Hyaluronic Acid for Prevention of Postoperative Peritoneal Adhesions.

Bulletin of Experimental Biology and Medicine, New York, v.144, n. 2, p.269-271, 2007.

120. TANK, P. W. **Grant's dissector**. Philadelphia: Lippincott USA, 2008. 304 p.
121. TARHAN, O. R.; EROGLU, A.; CETIN, R. YNCE, A.; BULBUL, M.; ALTUNTAS, Y. Effects of seprafilin on peritoneal fibrinolytic system. **ANZ Journal of Surgery**, Malden, v. 75, p. 690-692, 2005.
122. UENO, H.; MORI, T.; FUJINAGA, T. Topical formulations and wound healing applications of chitosan. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Berlin, v. 52, p. 105-115, 2001.
123. UENO, H.; YAMADA, H.; TANAKA, I. KABA, N.; MATSUURA, M.; OKUMURA, M.; KADOSAWA, T.; FUJINAGA, T. Accelerating effects of chitosan for healing at early phase of experimental open wound in dogs. **Biomaterials**, Surrey, v. 20, p. 1407-1414, 1999.
124. VAZ, M.; KREBS, R. K.; TRINDADE, E. N.; TRINDADE, M. R. M. Fibroplasia after polypropylene mesh implantation for abdominal wall hernia repair in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.24, n.1, p.19-25, 2009.
125. VRIJLAND, W. W.; JEEKEL, J.; van GELDORP, H. J. Abdominal adhesions: intestinal obstruction, pain, and infertility. **Surgical Endoscopy**, New York, v. 17, p. 1017-1022, 2003.
126. WEBER, N. A. Chronic primary splenic torsion with peritoneal adhesions in a dog: Case report and literature review. **Journal of the American Animal Hospital Association**, Lakewood, v. 36, n. 5, p. 390-394, 2000.
127. WEI, C. Z.; HOU, C. L.; GU, Q. S.; JIANG, L. X.; ZHU, B.; SHENG, A. L. A thermosensitive chitosan-based hydrogel barrier for post-operative adhesions' prevention. **Biomaterials**, Surrey, v. 30, p. 5534-5540, 2009.
128. WEI, C. Z.; HOU, C. L.; GU, Q. S.; JIANG, L. X.; ZHU, B.; SHENG, A. Efficacy of Thermosensitive Hydroxybutyl Chitosan in Prevention of Post-operative Abdominal Adhesions in a Rat Model. **Iranian Polymer Journal**, Tehran, v. 18, n. 5, p. 355-364, 2009.
129. WILLIAMS, D. F. Biomaterials and tissue engineering in reconstructive surgery. **Sādhanā**, Bangalore, v.28, p.563-574, 2003.
130. XIA, Z.; TRIFFITT, J. T. A review on macrophage responses to biomaterials. **Biomedical Materials**, **Bristol**, v. 1, p. R1-R9, 2006.
131. YANG, B.; GONG, C. Y.; QIAN, Z.; ZHAO, X. LI, Z.; QI, X. ZHOU, S.; ZHONG, Q; LUO, F.; WEI, Y. Prevention of post-surgical abdominal adhesions by a novel biodegradable thermosensitive PECE hydrogel. **BioMed Central Biotechnology**, London, v. 10, n. 65, p. 1-8, 2010.
132. YEO, Y.; KOHANE, D. S. Polymers in the prevention of peritoneal adhesions. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, London, v. 68, p. 57-66, 2008.
133. YETKIN, G.; ULUDAG, M.; CITGEZ, B.; KARAKOC, S.; POLAT, N.; KABUKCUOGLU, F. Prevention of peritoneal adhesions by intraperitoneal

administration of vitamin E and human amniotic membrane. **International Journal of Surgery**, London, v. 7, p. 561-565, 2009.

134. ZELLER, J. M. Surgical Implants. Physiological response. **AORN Journal**, New York, v.7, p.1284-1291, 1983.

135. ZHOU, J.; ELSON, C.; LEE, T. D. G. Reduction in postoperative adhesion formation and re-formation after an abdominal operation with the use of N, O-carboxymethyl chitosan. **Surgery**, Oxford, v. 135, n. 3, p. 307-312, 2004.

136. ZHOU, J.; LIWSKI, R. S.; ELSON, C.; LEE, T. D. G. Reduction in postsurgical adhesion formation after cardiac surgery in a rabbit model using N,O-carboxymethyl chitosan to block cell adherence. **The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, Saint Louis, v. 135, p. 777-783, 2008.

137. ZHOU, X. L.; CHEN, S. W.; LIAO, G. D.; SHEN, Z. J.; SUN, L.; YU, Y. J.; HU, Q. L.; JIN, X. D. Preventive effect of gelatinizedly-modified chitosan film on peritoneal adhesion of different types. **World Journal of Gastroenterology**, Beijing, v.13. n. 8, p.1262-1267, 2007.

138. ZINTHER, N. B.; WARAS, P.; FRIIS-ANDERSEN, H. Intraperitoneal onlay mesh: an experimental study of adhesion formation in a sheep model. **Hernia**, Paris, v. 14, p. 283–289, 2010.

ANEXO I



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
 UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
 PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
 COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



PROTÓCOLO
 145/2011

Goiania, 07 de Setembro de 2011

PARECER CONSUBSTANCIADO

1. IDENTIFICAÇÃO:

Título do projeto: "Efeitos citológicos de polipropileno revestido com quitosana/polihidroxiglucol: reação tecidual e prevenção de aderências peritoneais em ratos"

Pesquisador Responsável: Danilo Francisco Rodrigues

Pesquisadores Participantes: Nayara Margarida Paula, Renato Miranda de Melo, Liliane Borges de Moraes, Fernanda Figueiredo Mendes, Daniel Barbosa da Silva, Carolina Castro Lyra da Silva, Carolina Firmy Carreira, Adilson Schneider da Silva

Local de realização: INCT

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás, após análise das adequações no Título Apresentado, o projeto acima referido, e o mesmo foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes.

O pesquisador responsável deverá apresentar ao CEP/UFG, relatórios de pesquisa, mensalmente, incluindo (brev) e publicação (brev) de acordo com as recomendações da Resolução 196/96.

Prof. João Carlos de Fátima Medrado
 Coordenador do CEP/UFG