



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA**

**MARCÍLIO ROMERO MACHADO**

---

**UM NOVO MATERIAL USADO COMO ENVOLTÓRIO DE  
REFORÇO URETRAL, EM RATAS, COMO PERSPECTIVA  
DE APLICAÇÃO CLÍNICA, POR OCASIÃO DA  
IMPLANTAÇÃO DE DISPOSITIVOS ANTI-INCONTINÊNCIA  
URINÁRIA**

**RECIFE- 2016**

---

**MARCÍLIO ROMERO MACHADO**

**Um novo material usado como envoltório de reforço uretral, em  
ratas, como perspectiva de aplicação clínica, por ocasião de  
implantação de dispositivos anti-incontinência urinária**

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Cirurgia.

**Orientador**

Salvador Vilar Correia Lima  
Professor Titular do Departamento de Cirurgia  
CCS-UFPE  
Disciplina de Urologia

Recife  
2016

Ficha catalográfica elaborada pela  
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4 1010

M149n Machado, Márcilio Romero.  
Um novo material usado como envoltório de reforço uretral, em ratas, como perspectiva de aplicação clínica, por ocasião de implantação de dispositivos anti-incontinência urinária / Márcilio Romero Machado. – 2016.  
59 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientador: Salvador Vilar Correia Lima.  
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Cirurgia. Recife, 2016.  
Inclui referências e anexos.

1. Incontinência urinária. 2. Esfíncter urinário artificial. 3. Teste de materiais. 4. Uretra. I. Lima, Salvador Vilar Correia (Orientador). II. Título.

617.91      CDD (23.ed.)      UFPE (CCS2016-141)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA**

**MARCÍLIO ROMERO MACHADO**

**NÍVEL DOUTORADO**

APROVADA EM: **22/01/2016**

ORIENTADOR INTERNO:

---

**PROF. DR. SALVADOR VILAR CORREIA LIMA**

COMISSÃO EXAMINADORA:

---

**PROF. DR. JOSÉ LAMARTINE DE ANDRADE AGUIAR (PRESIDENTE)**

---

**PROF. DR. FERNANDO RIBEIRO DE MORAES NETO**

---

**PROF. DR. FLÁVIO KREIMER**

---

**PROF. DR. ARTUR EDUARDO DE OLIVEIRA RANGEL**

---

**PROF. DR. JOÃO LUIZ AMARO**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA  
REITOR**

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

**VICE-REITOR**

Profa. Florisbela de Arruda Câmara e Siqueira Campos

**PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

Prof. Ernani Rodrigues de Carvalho Neto

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DIRETOR**

Prof. Nicodemos Teles de Pontes Filho

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS  
DIRETOR SUPERINTENDENTE  
Dr. Frederico Jorge Ribeiro**

**DEPARTAMENTO DE CIRURGIA  
CHEFE**

Prof. Sílvio da Silva Caldas Neto

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA  
NÍVEL MESTRADO E DOUTORADO**

**COORDENADOR**

Prof. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz

**VICE-COORDENADOR**

Prof. Josemberg Marins Campos

**CORPO DOCENTE**

Prof. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz  
Prof. Carlos Teixeira Brandt  
Prof. Euclides Dias Martins Filho  
Prof. Fernando Ribeiro de Moraes Neto  
Prof. Flávio Kreimer  
Prof. José Lamartine de Andrade Aguiar  
Prof. Josemberg Marins Campos  
Profa. Lilian Ferreira Muniz  
Prof. Lucio Vilar Rabelo Filho  
Profa. Magdala de Araújo Novaes  
Prof. Rodrigo Pessoa Cavalcanti Lira  
Prof. Salvador Vilar Correia Lima  
Prof. Sílvio da Silva Caldas Neto

Ao **Prof. Eleazar Machado**, meu pai,  
pela seriedade e comprometimento pessoal  
e profissional, predicados inabaláveis que  
o acompanharam durante toda sua existência.

*Dedico esta tese*

*A Cledir, esposa e companheira,  
pelo amor e incentivo incessantes.*

*Marcela e Cláudia, filhas prediletas.*

*Aos netos, João Pedro, Artur e  
Maria Clara, dádivas de Deus.*

*À minha mãe, Yvonne, pela sublime  
dedicação à família.*

*Aos meus irmãos, Rachel, Lúcia  
e Alexandre, amigos para sempre.*

## AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Salvador Vilar Correia Lima**, garimpeiro do conhecimento científico, meu maior incentivador

Ao **Prof. José Lamartine de Andrade Aguiar**, pelas sempre oportunas sugestões.

À **Amanda Vasconcelos**, pela ajuda inestimável para a condução e conclusão desse projeto

À **Profª. Flávia Morone**, pela paciência e colaboração permanente, tornou possível este trabalho; eterna gratidão.

Aos que fazem o Núcleo de Cirurgia Experimental da UFPE, **Adriana Ferreira** e o **José Joaquim Alves**, veterinários do biotério, pela solicitude e profissionalismo.

Aos estagiários **Rodrigo Pontes** e **Veridiana Sales**, pessoas que muito me ajudaram.

Ao **Dr. Olávio Campos**, pela confecção das lâminas para estudo histológico.

À **Dra. Mariana Lira**, pela leitura dos achados histológicos, sempre presente na discussão e interpretação dos resultados.

Ao **Dr. Eugênio Soares Lustosa**, mais do que um colega de trabalho, um colaborador.

A **Márcia e Mércia**, pela dedicação na confecção deste trabalho.

Enfim, a **todos** aqueles quando solicitados, deram sua contribuição sem medir esforços.

*“ Eu peço que esta obra seja lida com indulgência e que o  
erros inevitáveis em matéria tão difícil, sejam menos  
assunto de recriminação do que oportunidade para novas  
tentativas e pesquisas mais felizes”*

**Isaac Newton, “ Principia Mathematica”**

## RESUMO

**Introdução:** A incontinência urinária agrega consequências físicas e psíquicas ao seu portador, e sua incidência tem crescido ultimamente, principalmente em decorrência da prostatectomia radical. *Slings* e esfíncteres artificiais são opções terapêuticas usuais no enfrentamento desse problema. O implante desses artefatos traz um alto índice de satisfação, embora se acompanhe de complicações como a atrofia e a erosão uretrais. **Objetivo:** Uma fita de celulose bacteriana, processado a partir da cana-de-açúcar, foi avaliado como envoltório de reforço da parede uretral, em modelo animal, com o fito de possível aplicação na prática clínica, por ocasião do emprego de dispositivos anti-incontinência urinária. **Método:** Neste estudo, 40 ratas Wistar, foram separadas em 4 grupos de 10. O primeiro grupo, chamado de sham, a uretra foi apenas dissecada e deixada em seu leito. O segundo grupo, teve a uretra enrolada com fita de celulose bacteriana, logo abaixo do colo vesical. O terceiro grupo, teve a uretra enrolada nessa mesma posição com fita de silicone. O quarto grupo, teve a uretra enrolada com fita de celulose bacteriana + fita de silicone (duplo implante). As fitas tinham 0,3 cm de largura, sendo que as de silicone foram ancoradas com fio inabsorvível. Metade dos animais de cada grupo foi sacrificado aos 4 meses, e a outra metade, aos 8 meses. Nos sacrifícios, a bexiga e a uretra foram retiradas em bloco, fixados em formalina e preparados em lâminas, coradas pela hematoxilina-eosina e tricrômio de Masson. O comportamento da membrana de celulose bacteriana como instrumento de reforço da parede uretral foi avaliado pela espessura, densidade de vasos sanguíneos e de colágeno (em percentual) e a reação inflamatória (pelo escore: 0=ausente; 1=leve; 2= moderada; 3= severa). **Resultado:** Observou-se aos 4 meses, intensa reação inflamatória, inclusive com presença de linfonodos, com diferença estatística entre o grupo da celulose bacteriana, em comparação ao grupo do silicone e grupo sham. Aos 8 meses, houve atenuação da resposta inflamatória em todos os grupos. O epitélio uretral apresentou encolhimento no grupo da celulose bacteriana e no grupo do duplo implante, em relação ao grupo do silicone, neste tempo de observação. A parede uretral, medida da lâmina própria ao limite externo da camada muscular, mostrou aos 8 meses, ganho estrutural significativo no grupo da celulose bacteriana, quando comparado aos grupos do silicone e do grupo do duplo implante ( $p=0,0249$  e  $p=0,0020$ , respectivamente). A vasculogênese esteve mais presente no grupo da celulose bacteriana isolada, em comparação aos grupos onde se empregou o silicone. A deposição de colágeno variou de leve a moderada no grupo da celulose bacteriana, onde se notava fibras colágenas maduras, porém mostrando-se mais presente nos grupos com silicone, onde se observou formação de cápsula fibrótica aos 4 meses. **Conclusão:** Com base nessas observações, podemos concluir que a membrana de celulose bacteriana, integrou-se ao tecido hospedeiro, em modelo animal, com promoção de remodelação tissular e fortalecimento da arquitetura uretral. **Palavras-chave:** Incontinência urinária; Esfíncter urinário artificial; Teste de Materiais; Uretra.

# ABSTRACT

**Objective:** Urinary incontinence adds physical and psychological disabilities to patients especially in the adult age. Its incidence has grown significantly, mainly due to the growing number of radical prostatectomy performed for the treatment of prostatic cancer. Slings and artificial sphincters are usual therapeutic options to treat this condition. The implant of these devices brings a high level of satisfaction, although it is associated with complications such as atrophy and urethral erosion. A cellulose biopolymer, processed from sugarcane molasses was evaluated as a reinforcing wrap to the urethral wall, in animal models, to investigate the possible application in clinical practice, during the implantation of urinary anti-incontinence devices. **Method:** In this study, 40 Wistar rats were divided into 4 groups of 10. The first group, called sham, the urethra was dissected and only left in its bed. Group 2 had the urethra wrapped with tape cellulosic membrane, just below the bladder neck. Group 3 had the urethra surrounded in the same position with a silicone tape. Group 4 had the urethra wrapped with tape cellulosic membrane + silicone tape (double implants). The strips were 0.3 cm wide, and the silicone were anchored with nonabsorbable sutures. Half of the animals in each group was sacrificed at 4 months and the other half after 8 months. During the sacrifices, the bladder and urethra were removed en bloc, fixed in formalin and prepared on slides, stained with hematoxylin-eosin and Masson trichrome. The cellulosic membrane performance was evaluated comparatively considering the thickness of the urethral wall (in percent) blood vessel density and collagen (in percent) and the inflammatory reaction (by score: 0 = absent; 1 = mild; 2 = moderate; 3 = severe). **Results:** It was observed at 4 months intense inflammatory reaction, even with the presence of lymph nodes, with statistical difference between group 2 compared to group 3 and group 1. At 8 months, there was attenuation of inflammatory response in all groups. The urethral epithelium showed shrinkage in group 2 and group 4 when compared to group 3, at this observation time. The urethral wall, when measured from the lamina propria to the outer limit of the muscular layer, shown at 8 months, significant structural gain in group 2 compared to groups 3 and 4 ( $p = 0.0249$  and  $p = 0.0020$ , respectively). Vasculogenesis was more present in the isolated biopolymer group compared to the group where silicone was used. The collagen deposition ranged from mild to moderate in group 2, being more present in groups with silicone, where it was observed formation of a fibrotic capsule at 4 months. **Conclusion:** Based on these observations, we conclude that the bacterial cellulose membrane was integrated to the host tissue in animal models, to promote tissue remodeling and strengthening of the urethral architecture.

**Keywords:** Urinary incontinence; Urinary Sphincter, Artificial; Materials Testing; Urethra.

# LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Espessura da Parede da Uretra
<b>Tabela 2</b>	Densidade de Vasos Sanguíneos na área do implante
<b>Tabela 3</b>	Resposta inflamatória por grupo
<b>Tabela 4</b>	Deposição de Colágeno na região periuretral

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1      Esfíncter artificial AMS 800
- Quadro 1     Grupos de estudo
- Figura 2      Incisão cutânea abdominal
- Figura 3      Abertura do peritônio e exposição da bexiga
- Figura 4      Dissecção simples de uretra
- Figura 5      Dissecção de uretra. Posicionamento das fitas
- Figura 6      Membrana da celulose bacteriana em sua embalagem
- Figura 7      Parede uretral: CB 8 meses (coloração HE: magnificação 5x)
- Figura 8      Parede uretral: silicone 8 meses (coloração HE: magnificação 5x)
- Figura 9      Parede uretral: CB + silicone 8 meses (coloração HE: magnificação 5x)
- Figura 10     CB 8 meses: Reação inflamatória e vasculogênese (Coloração HE: magnificação 20x)
- Figura 11     Silicone 8 meses: Reação inflamatória e vasculogênese (Coloração HE: magnificação 20x)
- Figura 12     CB 8 meses: Distribuição do colágeno (Coloração HE: magnificação 20x)
- Figura 13     Silicone 8 meses: cápsula fibrosa (Coloração HE: magnificação 20x)

## LISTA DE ABREVIATURAS

AUA	= Associação Americana de Urologia
CCS	= Centro de Ciências da Saúde
CB	= Celulose Bacteriana
CGMN	= Células Gigantes Mononucleadas
EUA	= Esfíncter Urinário Artificial
HE	= Hematoxilina/Eosina
NCE	= Núcleo de Cirurgia Experimental
PPL	= Polipropileno
PTFE	= Politetrafluoroetileno
SIS	= Submucosa Intestinal Suína
TM	= Tricrômio de Masson
TVT	= <i>tension-free vaginal tape</i>
UFPE	= Universidade Federal de Pernambuco
UFRPE	= Universidade Federal Rural de Pernambuco

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>15</b>
1.1 Apresentação do problema	15
1.2 Justificativa	15
<b>2 OBJETIVOS</b>	<b>17</b>
2.1 Objetivo geral	17
2.2 Objetivos específicos	17
<b>3 LITERATURA</b>	<b>18</b>
3.1 Incontinência urinária	18
3.1.1 Dispositivos anti-incontinência urinária	20
3.1.1.1 O tratamento de primeira linha e suas implicações	20
3.1.2 Alternativas para mitigar ou prevenir a erosão uretral	24
3.2 Biomaterial	25
3.3 A celulose bacteriana	26
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>28</b>
4.1 Modelo animal e desenho experimental	28
4.2 Procedimento cirúrgico	28
4.2.1 Anestesia	28
4.2.2 Técnica cirúrgica	29
4.2.3 Cuidados pós-operatórios e sacrifício	31
4.3 Análise histomorfométrica	32
4.3.1 Medição da altura da parede da uretra	32
4.3.2 Densidade dos vasos sanguíneos	33
4.3.3 Resposta Inflamatória	33
4.3.4 Deposição de colágeno	34
4.4 Análise estatística	34
4.5 Considerações éticas	34
<b>5 RESULTADOS</b>	<b>35</b>
5.1 Espessura da parede da uretra	35
5.2 Densidade dos vasos sanguíneos	38
5.3 Resposta inflamatória	40

5.4 Deposição de colágeno/fibrinogênese	42
<b>6 DISCUSSÃO</b>	<b>44</b>
<b>7 CONCLUSÃO</b>	<b>50</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>51</b>
<b>ANEXO</b>	<b>59</b>
ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM ANIMAIS	59

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Apresentação do problema

A incontinência urinária é definida, numa ótica prática e universalmente aceita, como a perda involuntária de urina. Essa perda indesejada de urina vem, algumas vezes, em consequência de insuficiência esfinctérica primária e, em outras, secundariamente, em consequência de cirurgias prostáticas, especialmente a prostatectomia radical, procedimento que tem crescido substancialmente ao longo dos anos<sup>1</sup>.

Nos Estados Unidos, o impacto econômico agregado à condução desse problema e de todas as suas implicações, flutua entre 19 e 32 bilhões de dólares anuais. Porém, o dano maior reside no custo social, psicológico e físico dos portadores dessa doença<sup>2</sup>.

O enfrentamento dessa situação envolve medidas conservadoras ou até abordagem mais agressiva, como o emprego de *sling* suburetral ou do esfíncter urinário artificial(EUA).O implante desses dispositivos anti-incontinência traz um alto percentual de satisfação aos pacientes, embora se acompanhe de complicações,em escala não desprezível, como erosão e atrofia uretrais, às vezes determinando a explantação desses dispositivos<sup>3</sup>.

O problema, especialmente associado ao implante dos esfíncteres artificiais, é que, ao se produzir força de oclusão uretral para obtenção da continência urinária, a parede uretral cronicamente ocluída, sofre enfraquecimento estrutural, concorrendo para o aparecimento de atrofia e erosão<sup>3</sup>.

## 1.2 Justificativa

O comprometimento da parede uretral pelo uso de dispositivos anti-incontinência urinária pode, a princípio, ser minimizado com uso de barreiras que reforcem este tecido e possam prevenir a erosão e a atrofia. Pesquisas recentes, mostram que a Celulose Bacteriana tem demonstrado eficácia como condutor celular e indutor no processo de cicatrização<sup>4,5</sup>, além de ter comprovada segurança<sup>6</sup>.

A celulose bacteriana é exopolissacarídeo obtido por síntese bacteriana (*Zoogloeasp.*) a partir do melaço da cana-de-açúcar, na Estação Experimental de

Carpina, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e que diante de sua versatilidade e biocompatibilidade comprovadas<sup>6</sup>, estabeleceu-se a questão norteadora deste estudo: Seria a membrana de celulose bacteriana, capaz de reforçar a estrutura da parede uretral, ao ponto de prevenir a erosão em situações de oclusão crônica?

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Validar a aplicação da membrana de Celulose Bacteriana como envoltório de reforço uretral, em modelo animal, a fim de consubstanciar sua aplicação clínica no futuro, por ocasião do uso dos dispositivos anti-incontinência urinária.

### 2.2 Objetivos específicos

- Analisar pela histologia, a adesividade e integração da membrana de celulose bacteriana à parede uretral em comparação com a fita de silicone;
- Mensurar, a partir de dados histológicos, a espessura da parede uretral;
- Quantificar, pela histologia, a densidade de vasos sanguíneos (potencial vasculogênico) na região ocupada pelos implantes (membrana de celulose bacteriana e fita de silicone);
- Determinar o padrão de resposta do tecido periuretral à membrana de celulose bacteriana, quanto à densidade de colágeno e à fibrogênese;
- Avaliar, por meio de análise morfológica, a intensidade da resposta inflamatória.

## 3 LITERATURA

### 3.1 Incontinência urinária

A falta de controle sobre o mecanismo natural da continência urinária e a consequente perda de urina involuntariamente, é a definição dada pela Sociedade Internacional de Continência para incontinência urinária<sup>7</sup>. Essa perda pode se dar em estado de repouso ou em consequência de esforço físico, como tossir ou espirrar<sup>1,8</sup>.

Esta afecção representa um problema urológico de prevalente crescimento, afetando cerca de 2,5 a 40% dos indivíduos e, além de determinar um elevado custo econômico às instituições de saúde, se revela como um fenômeno limitante ao seu portador, implicando distúrbios físicos e psíquicos, por afetar a qualidade de vida e a autoestima do paciente, contribuindo para seu isolamento social, familiar, dos amigos e até de seu(sua) parceiro(a)<sup>1,2,9</sup>.

Para manter a continência urinária em condições de esforço, o esfíncter uretral estriado terá que se opor a uma pressão vesical elevada em virtude de aumento da pressão intra-abdominal. É a relação pressão/resistência que vai determinar ou não a continência, e a integridade esfínteriana e do assoalho pélvico são vias mantenedoras dessa relação<sup>10</sup>.

A estrutura uretral é constituída internamente pelas camadas mucosa e submucosa, ricas em fibras elásticas e musculares lisas, circundadas, no homem, pelo corpo esponjoso ricamente vascularizado, com sua porção bulbar envolvida pela musculatura isquiocavernosa e bulboesponjosa<sup>11,12</sup>. Toda essa estrutura é estabilizada por arcabouços externos de sustentação fasciais e ligamentares<sup>10</sup>.

A mucosa e submucosa uretrais, segundo estudo de Garcia Montes *et al.*<sup>13</sup>, possuem uma força passiva de oclusão que contribuem para o selamento da luz uretral. Segundo eles, pacientes com algum dispositivo anti-incontinência implantado e que mantenham boa perfusão uretral, permanecerão continentemente; a isquemia, por sua vez, debilita essa ação selante uretral, precipitando a incontinência.

Preceitualmente, a densidade de colágeno contida no tecido conjuntivo periuretral parece ser determinante na sustentação do trato urogenital, a tal ponto que, mulheres incontinentemente apresentam 30% menos colágeno estrutural em comparação a mulheres continentemente<sup>14</sup>.

A exata disposição da inervação do esfíncter estriado uretral (rabdoesfincter) é ainda foro contestável para boa parte dos anatomistas. Estudos em cadáveres sugerem que esse esfíncter recebe fibras do nervo pélvico e também do nervo pudendo, e que essas fibras se dirigem à uretra passando ao lado do ápice prostático. A dissecação inadvertida desse segmento prostático, por lesar a inervação esfinctérica, reacende a suspeita de que essa seja uma das causas de incontinência urinária após prostatectomia radical<sup>15,16</sup>. Em outro estudo, se observou que a robustez da musculatura lisa periuretral decai com o passar dos anos, comprometendo a pressão de fechamento uretral, sendo um fator de consuetudinário risco para incontinência urinária<sup>17</sup>.

A importância da configuração uretral e das suas estruturas de suporte na eficiente transmissão de fechamento da luz uretral, serviu de elemento para que *Ulmster e Petros*<sup>18</sup> desenvolvessem o conceito da “teoria integral”, no qual a estabilidade véscouretral resulta em continência, nas mulheres. Com base nesse conceito, os autores descreveram um modelo de *sling* sem produzir tensão uretral, o TVT (*tension-free vaginal tape*), possibilitando para que, mais tarde, *Delorme*<sup>19</sup> introduzisse o *sling* transobturatório, sepultando a ideia de que um *sling* para garantir a continência urinária deveria se posicionar como uma tipoia, estrangulando a luz uretral.

Incontinência urinária é um sintoma de diversas causas, e pode estar ligada a disfunção vesical (hiperatividade), debilidade do rabdoesfincter uretral (injúria pela prostatectomia radical ou incontinência urinária de estresse genuína em mulheres) ou por associação dessas (mista)<sup>20</sup>. A fraqueza do esfíncter urinário externo geralmente advém de iatrogenia cirúrgica, também de trauma, condições neurológicas e anomalias congênitas<sup>21</sup>.

A severidade da incontinência por insuficiência esfinctérica, de um modo geral, é quantificada pela história clínica, pelo exame urodinâmico, valorizando-se nesse exame, a pressão de perda pela manobra de Valsalva (<60 cm/H<sub>2</sub>O), e a pressão máxima de fechamento uretral (<20 cm/H<sub>2</sub>O), e também pelo número de absorventes usados diariamente (até 1, leve; > 4/5, grave)<sup>22</sup>.

De posse dessas informações, ao paciente é oferecido um leque de medidas terapêuticas, abrangendo desde medidas conservadoras até abordagens mais invasivas. As medidas conservadoras incluem: restrição hídrica, uso de absorventes, clampe peniano, exercício do assoalho pélvico e biofeedback, condom-cateter e

tratamento farmacológico. As opções cirúrgicas invasivas, solidamente respaldadas pelo FDA, incluem a implantação do *slingsub-uretral* ou do esfíncter urinário artificial, para as incontinências moderadas e severas, e a injeção de agentes expansores periuretrais (macropartículas), para casos leves<sup>23,24</sup>.

### 3.1.1 Dispositivos anti-incontinência urinária

#### 3.1.1.1 O tratamento de primeira linha e suas implicações

Em 1997, a Associação Americana de Urologia (AUA) confere ao *slingsub-uretral*, a condição de tratamento de 1º linha para incontinência urinária de estresse em mulheres, inclusive nas suas formas complexas, quando há obesidade, idade avançada, relato de falha prévia com *sling*, diabetes, prolapso vaginal de órgãos, entre outras<sup>25,26</sup>. O aparecimento do esfíncter urinário artificial no mercado de materiais médicos, historiado com muita propriedade por *Montague*<sup>27</sup> em artigo de revisão, remonta a 1973 quando do lançamento do primeiro modelo, por *Scott*<sup>28</sup>. Nos 10 anos seguintes, o desenho mecânico desse modelo sofreu cinco alterações, até o surgimento do *AMS800* (*American Medical System, Minnetonka-MN, USA*), dispositivo usado até os dias atuais. Esse modelo é constituído por três compartimentos: um manguito de compressão uretral, um reservatório hidráulico e uma bomba de acionamento pontual do conjunto. Nessa revisão de 16 anos com o uso do *AMS800*, os resultados reproduzidos são definidos como plenamente satisfatórios, com alguns pacientes recorrendo ao uso de no máximo um absorvente diário, com taxas de erosão e atrofia uretrais entre 3-10% e 9,6-11,4%, respectivamente.



**Figura 1.** Esfíncter artificial AMS 800

A despeito da recomendação de seu uso para tratamento da incontinência masculina, o esfíncter artificial é também implantado em mulheres incontinentes, muito embora essa indicação tenha testemunhado vertiginosa queda, haja vista a taxa de 1% de implante feminino em 2005, perdendo força para a indicação de *slings* ou de outras formas de tratamento. Em rota oposta da demanda feminina, o implante do EUA em homens passou de 11 casos na América do Norte, em 1975, para 3.762 implantes em 2005, confirmando o interesse crescente pelos urologistas por essa nova ferramenta terapêutica<sup>2</sup>. Outro dispositivo anti-incontinência urinária, concebido e apresentado como alternativa ao EUA debutou, não muito tempo atrás, no mercado de materiais médicos urológicos, com o nome e constritor uretral. Este novo engenho, porém, por exercer pressão uretral contínua e não controlada, forjou-se como aparelho pouco produtor e com elevadas taxas de erosão e atrofia, não resistindo ao teste do tempo<sup>29</sup>.

A uretra bulbar é o segmento preferencial para implantação dos dispositivos anti-incontinência, exigindo-se seu cuidadoso isolamento, e assim evitar perfuração ou adelgaçamento de sua parede. No caso do esfíncter artificial, não há padronização para escolha do tamanho ideal do manguito nem da pressão necessária ao seu reservatório. Manguito muito justo e tenso concorre para atrofia e erosão do sítio de implante. Folgado, resulta em persistência ou retorno da incontinência<sup>30,31</sup>. Os *slings* seguem esse mesmo raciocínio, diferenciando-se pelo material empregado e métodos de ancoragem. Podem ser confeccionados por material autólogo (aponeurótico ou

fascial), homólogo (tecido cadavérico humano), sintético (PTFE, PPL) ou xenólogo (submucosa intestinal ou dermálicas). Pela força de tensionamento da uretra, distinguem-se entre compressivos e de reposicionamento. À maneira dos esfínteres artificiais, a forma de seu ajuste à uretra é o limite entre a erosão e o fracasso terapêutico<sup>32,33</sup>. No entendimento de Comiter<sup>24</sup>, o *sling* por comprimir a superfície ventral da uretra, deixando livre sua porção dorsolateral, os riscos de erosão e atrofia encontram-se subtraídos.

A despeito de considerável taxa de cura clínica e de satisfação pessoal proporcionadas pelos dispositivos anti-incontinência urinária, sua constante pressão sobre a parede uretral, depreende complicações como atrofia e erosão, por vezes, obrigando a explantação desses artefatos, muito embora a real incidência dessas complicações não esteja bem estabelecida, posto que, são geralmente subnotificadas, quando comparadas aos estudos que priorizam a grandeza dos resultados e o sucesso com essa abordagem terapêutica<sup>33,34</sup>.

Tem sido prática conscienciosa, definir atrofia uretral como resultante de compressão crônica exercida sobre a circunferência dessa estrutura, levando à isquemia e, conseqüentemente, redução de seu calibre, denunciada pelo retorno insidioso da incontinência urinária. Conceitua-se erosão, como sendo a migração de um componente do dispositivo anti-incontinência (geralmente o manguito) para a luz uretral (erosão interna) e extrusão, quando o material implantado é expulso de seu sítio de implantação e passa a ser percebido abaixo da pele<sup>34,35</sup>. A suspeita clínica dessas intercorrências se dá pela presença de tumefação e desconforto perineal, secreção vaginal, hematúria, disúria e infecção urinária de repetição<sup>36</sup>. Essas condições podem ser precipitadas pela concomitância com infecção, hipovascularização por várias causas, radioterapia e cirurgia reconstrutora prévia<sup>36,37</sup>. Em artigo de revisão, *Laiet al.*<sup>38</sup>, observaram que pacientes com história de explantação de esfínter artificial, possuem quatro vezes mais chances de erosão com implantação de um novo dispositivo. *Clemenset al.*<sup>39</sup>, analisando casos de insucessos com *slings* ocasionados por erosão, recomendam vigilância clínica rigorosa, especialmente se forem usados materiais sintéticos. Na casuística deles, mais da metade dos pacientes experimentaram retorno da incontinência após a retirada dos *slings*. Seguidores dessa linha de entendimento, *Blaivas e Sandhu*<sup>40</sup>, argumentam que o *sling* sintético, principalmente se for trançado, erode 15 vezes mais do que o confeccionado com material autólogo ou aloplástico. Apesar de informes cognatos contidos na literatura

especializada, *Amundsen et al.*<sup>41</sup> redargam, baseados em suas observações, que erosão é um fenômeno pontual, e que independe do tipo de material empregado na confecção de um *slings*. *Martucciet al.*<sup>42</sup>, opinam que essa celeuma estimula a procura por materiais biocompatíveis, muito embora, em suas pacientes nas quais usaram *slings* confeccionado com pericárdio bovino, as taxas de erosão e infecção foram altas, e que a razão dessas complicações necessitam de investigação mais profunda. *Bent et al.*<sup>43</sup>, em estudo retrospectivo, detectaram rejeição em 23% de mulheres com *slings* sintéticos implantados, e sugerem para minorar esse revés, a colocação de gordura de Martius como entremeio uretra/*slings*.

Com relação aos esfíncteres artificiais, *Martins e Boyd*<sup>44</sup>, verificaram que em 81 pacientes com esfíncteres implantados, 38% sofreram revisão cirúrgica dos dispositivos, sendo que 74% dessas revisões foram motivadas por atrofia uretral e, oferecem como estratégia para contornar esse problema, aumentar a pressão do balão, diminuir o tamanho do manguito, ou por ambos. Também aconselham a insuflação do manguito, 4 semanas após sua implantação na uretra, em casos não complicados, e de 12 semanas de espera para acionamento do manguito em pacientes previamente irradiados, para dar mais tempo à recuperação cirúrgica da uretra.

*Rajet et al.*<sup>45</sup>, revisando 637 pacientes submetidos ao implante do EUA, chegam a uma taxa de erosão e atrofia uretrais na ordem de 2,2% e 8 %, respectivamente. Analisando esses dados, mostram-se inclinados a considerar em pacientes de risco, a desativação noturna do manguito, e se houver necessidade de implantação de um novo esfíncter, que seja aplicado em outro local da uretra e com um intervalo mínimo de 3 meses após retirada do artefato anterior. Há também quem advogue o cuidado de se esvaziar o manguito antes de qualquer manipulação uretral, como forma de prevenir sua erosão traumática<sup>36,37</sup>. *Saffarian et al.*<sup>46</sup>, oferecem outra opção de se lidar com esse problema. Em casos de atrofia uretral pelo esfíncter artificial, defendem a substituição do manguito por outro de tamanho menor, colocando-o por cima da pseudocápsula colagenosa que habitualmente se forma na interface manguito/uretra do primeiro dispositivo. Essa prática usada em 17 pacientes seus, mostrou-se positiva nos quesitos satisfação e continência dos pacientes.

DiMarco e Elliott<sup>47</sup>, em 18 casos de recidiva da incontinência após colocação de esfíncter artificial, optaram pelo implante de um segundo esfíncter artificial, com seu manguito colocado em justaposição ao anterior (1 cm proximal ou distal), deixando-se o dispositivo primitivo em seu sítio de implantação. Definem essa opção

como sendo de salvamento, com resultados consistentes e com o mínimo de complicações.

### 3.1.2 Alternativas para mitigar ou prevenir a erosão uretral

Pacientes quando são candidatos à colocação de um segundo EUA, geralmente, por falta de espaço na uretra proximal, tem seu manguito colocado numa porção mais distal na uretra, justamente num segmento de menor calibre, e isso pode criar uma desproporção entre a espessura uretral e o tamanho do manguito, concorrendo para recidiva da incontinência. A implantação denominada de transcóporal de um novo manguito é um recurso que visa atenuar esse problema. Durante a cirurgia, a túnica vaginal cavernosa é cuidadosamente liberada e com ela envolve-se o sítio uretral sobre o qual se pretende colocar o novo manguito, encorpendo a uretra, adequando-a e protegendo-a da pressão hidráulica oclusiva pelo dispositivo<sup>48,49</sup>.

Souza-Escandón<sup>50</sup>, apresenta uma técnica para proteção uretral, visando minorar os riscos de erosão por ocasião da colocação de *slings* sub-uretral, prática por ele denominada de “sanduíche”, pela qual um retalho pediculado de mucosa vaginal é interposto entre a uretra e o *slings* sub-uretral, funcionando como almofada amortecedora, procedimento que o seu autor qualifica como original, efetivo e simples, indicado também em casos de incontinência grave.

É crescente o interesse pela busca de alternativas que reduzam as taxas de erosão e atrofia uretrais pelo implante dos dispositivos anti-incontinência. A recorrência da incontinência urinária secundária ao implante do esfíncter artificial representa um desafio ao urologista, justamente pelas limitações das opções terapêuticas. O uso de materiais biocompatíveis tem sido estimulado e difundido atualmente. Em 1997, Pope et al.<sup>51</sup>, usaram o SIS, matriz extracelular xenóloga extraída da camada submucosa intestinal suína, para ampliação vesical, em modelo animal, observando-se que esse material serviu como plataforma para crescimento de tecido novo bem incorporado ao tecido receptor.

Grossklauset al.<sup>52</sup>, usaram o SIS como reparo uretral em coelhos, e asseguram seu papel como agente remodelador do tecido uretral, oferecendo boas perspectivas para seu uso em correções de hipospádia em humanos. Em 2005, Rahman et al.<sup>53</sup>, publicaram artigo onde relatam experiência com 5 casos de incontinência urinária

pós-prostatectomia radical, tratados com colocação de EUA, e que, posteriormente, tiveram os esfíncteres artificiais explantados em consequência de atrofia uretral. A estratégia adotada por eles foi o reimplante de um novo esfíncter artificial, onde o segmento uretral atrofiado foi tratado, enrolando-se em torno de sua circunferência, duas faixas da matriz de colágeno suína (SIS), seguida da colocação do novo manguito em torno da uretra agora protegida. Segundo eles, os novos dispositivos foram bem tolerados, reproduzindo resultados clínicos satisfatórios. Dois outros artigos posteriores reafirmam o interesse por essa atitude inovadora. Em 2012, *Trost e Elliott*<sup>54</sup>, e no ano seguinte, *Margreiter et al.*<sup>55</sup>, trilharam por essa mesma linha de conduta de fortalecimento da parede uretral, com a interposição de retalhos de matriz de colágeno, entre a uretra e o manguito do esfíncter artificial implantado, estratégia que segundo eles, é perfeitamente factível, revelando-se como uma opção mitigante à atrofia uretral em pacientes incontinentes tratados com a colocação do esfíncter urinário artificial.

### 3.2 Biomaterial

Biomaterial é qualquer material de origem animal (humano ou não), ou material sintético, utilizado na substituição ou como reforço de tecidos vivos, devendo ser resistentes aos esforços mecânicos, inerte, esterilizável, resistente à infecção, acessível, não devendo ser modificado pelos líquidos teciduais, não promover reação inflamatória ou de corpo estranho, não alergênico e não provocar seu encapsulamento<sup>56</sup>. Os materiais biológicos podem ser definidos, grosso modo, como materiais derivados do todo ou parte de estruturas biomoleculares orgânicas, e aí estão incluídos os polipeptídeos/proteínas, carboidratos lipídeos, ácidos nucleicos<sup>57</sup>. Por outro lado, por serem material estranho ao tecido receptor, o biomaterial induz resposta inflamatória pelo hospedeiro, e a modulação dessa resposta pode trazer impacto ao conceito de biocompatibilidade e segurança do dispositivo empregado na substituição e regeneração de tecidos biológicos<sup>58-60</sup>.

A matriz extracelular comumente utilizada nos dias atuais é a matriz xenóloga de colágeno suína (SIS), ainda assim confiável devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e com baixa imunogenicidade, há mais de dez anos empregada em diversas aplicações da clínica urológica, como na confecção de *sling* uretral, correção de hipospádias, uretroplastias e ampliação vesical<sup>61-63</sup>. Entretanto essa

matriz proteica, segundo algumas publicações, não se configura como material de uso totalmente garantido, como querem seus fabricantes, em virtude de ter sido identificado DNA suíno em sua estrutura, fato que fragiliza o quesito segurança, pelo risco de rejeição e transmissão de patógenos<sup>64,65</sup>.

### 3.3 A celulose bacteriana

A busca por novos biomateriais é hoje foco prioritário da engenharia de tecidos. Esses materiais têm se revelado promissores em suprir a demanda médica no capítulo da reconstrução biológica de tecidos. Os biomateriais, em função de sua biocompatibilidade, estão na vanguarda dessa linha de pesquisas tecnológicas, por prometer um vasto leque de uso em humanos. Também devido à sua biodegradabilidade, permitem mobilização de células indispensáveis ao processo de renovação e reparo de uma estrutura biológica comprometida<sup>66,67</sup>.

A celulose bacteriana, biopolímero extraído da cana de açúcar, foi desenvolvida na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar, da UFRPE, em Carpina, PE, no início dos anos 90. Esse novo material foi obtido da síntese pela bactéria *Zoogloeasp*, tendo como substrato o melão da cana, entrando na sua composição diversos açúcares, com predominância da glicose(85,57%), e em menor proporção outros monossacarídeos como a xilose, ribose, ácido glicurônico, manose, arabinose galactose, ramnose e fucose<sup>67</sup>. Após ensaios laboratoriais, a celulose bacteriana foi tratada e purificada, preparando-a para uso experimental. Esse material quando avaliado no conceito de biocompatibilidade, mostrou bom comportamento, o que permite sua aplicação em experimentos com segurança<sup>4</sup>. Testes biomecânicos demonstraram eficiência dessa celulose, creditando em modelo animal, seu uso como tela de reparo de defeito induzido da parede abdominal<sup>68-70</sup>.

*Marques et al.*<sup>71</sup>, aplicaram essa matriz extracelular como remendo vascular em arterioplastias, em cães, conferindo à celulose bacteriana, qualificação como substituto arterial adequado. Como arcabouço de suporte biológico, em avaliação *in vitro*, a membrana de celulose bacteriana demonstrou bom comportamento, cumprindo esse papel como suporte para desenvolvimento de células-tronco mesenquimais do cordão umbilical humano<sup>66</sup>. Em medicina veterinária, precisamente na reparação de feridas cutâneas em animais, a membrana de celulose bacteriana contribuiu para o controle da infecção, diminuição de tempo de cicatrização, com reconhecida qualidade nesse

contexto<sup>72</sup>. Em outro ensaio com celulose bacteriana, empregada no tratamento de perfuração crônica de membrana timpânica em roedores *Chinchillas*, não se observou diferença de resultados quando comparado com o uso de fásia autóloga<sup>73</sup>. Usado experimentalmente como material de sutura em bexiga de ratos, a celulose bacteriana reproduziu resposta tissular caracterizada por boa integração ao tecido hospedeiro, resultado equivalente quando comparado ao material sintético absorvível tradicional<sup>74</sup>. Lucena<sup>75</sup>, ao utilizar a celulose bacteriana como material de *sling* uretral em ratas, qualifica esse material como, estável, de fácil manipulação, com pobre reação tissular e boa incorporação pelo hospedeiro. Essa reação inflamatória produzida pela celulose bacteriana, principalmente medida pela disposição tissular de fibras colágenas, parece refletir o comportamento cicatricial que ocorre abaixo da uretra, em mulheres submetidas à cura de incontinência urinária por utilização de *slings* sub-uretral<sup>76</sup>. Em recente observação clínica, quando usado em crianças como curativo de cirurgias para cura de hipospádia, a bandagem de biopolímero, comparada ao material sintético similar disponível no mercado, mostrou-se como alternativa prática e barata, com resultado funcional bastante promissor<sup>4</sup>.

Em diversas pesquisas realizadas no Núcleo de Cirurgia Experimental da UFPE, a celulose bacteriana tem sido bem avaliada, sendo este o biomaterial de

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Modelo animal e desenho experimental

Nesta investigação foram selecionadas 40 ratas da linhagem *Wistar*, sadias, pesando entre 205 g e 320 g (média de  $255 \pm 28,36$ g), fornecidas pelo biotério do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), e aclimatadas por 15 dias no Núcleo de Cirurgia Experimental do Hospital das Clínicas da UFPE. Os animais foram mantidos em ambiente de refrigeração controlada, segundo padrões deste biotério, recebendo alimentação regular de ração tipo labina® e água *ad libitum*. O local também dispunha de adequada iluminação.

Os animais (n=40) foram distribuídos em quatro grupos, sendo 10 em cada grupo e assim denominados: Grupo sham; Grupo da celulose bacteriana (CB); Grupo do silicone (Sil); Grupo da membrana bacteriana mais silicone (CB+Sil). Cada grupo foi dividido em dois subgrupos de cinco animais cada, sendo os animais de cada subgrupo operados e sacrificados num mesmo momento, de acordo com a data estipulada. Aos quatro meses (20 ratas) e aos oito meses (20 ratas). As ratas de cada subgrupo foram mantidas na mesma gaiola durante todo o experimento.

### 4.2 Procedimento cirúrgico

Todos os procedimentos tiveram supervisão veterinária, de acordo com normas institucionais do Núcleo de Cirurgia Experimental (NCE), Departamento de Cirurgia, Centro de Ciências da Saúde - CCS, UFPE.

#### 4.2.1 Anestesia

Os animais foram pesados antes do procedimento cirúrgico e adequadamente identificados. O procedimento anestésico seguiu o protocolo estabelecido pelo Núcleo de Cirurgia Experimental (NCE/UFPE): a anestesia foi feita utilizando-se de cloridrato de cetamina (5mg/100g de peso animal), associado ao cloridrato de xilazina (2mg/100g de peso animal). Dez minutos antes do início da anestesia, aplicou-se sulfato de atropina por via intramuscular (0,04mg/100g de peso animal). O animal foi mantido

oxigenado por máscara(0,5ml/min) durante todo o procedimento. Foi considerado anestesiado o animal com respiração regular e com ausência de reflexos e estímulos.

#### 4.2.2 Técnica cirúrgica

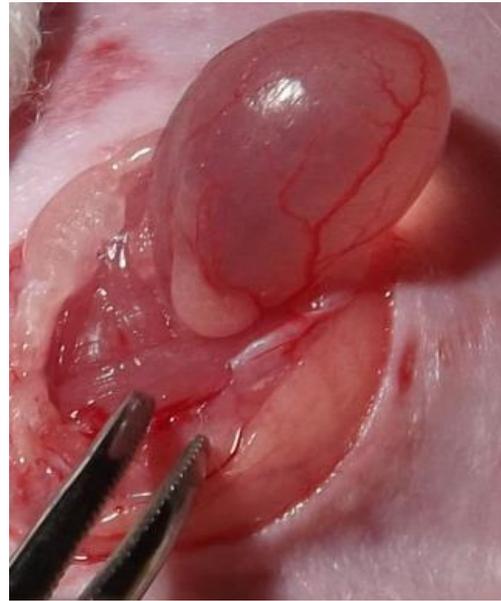
O ato operatório foi realizado na sala de microcirurgia do NCE do Hospital das Clínicas da UFPE. Os animais anestesiados e com tricotomia pronta, eram fixados à mesa de cirurgia, em decúbito dorsal, por meio de fios de algodão amarrados às patas abertas. A antissepsia abdominal foi realizada com solução de clorexidina, e em seguida, colocado campo cirúrgico esterilizado. Procedia-se incisão mediana abdominal de  $\pm 3$  cm, indo até a sínfise púbica. O acesso à cavidade abdominal dava-se por dissecação dos planos anatômicos sequenciais. Em nenhum momento se usou termocautério. Os pontos sangrantes eram prontamente estancados com a leve compressão digital por alguns instantes. A bexiga e a uretra eram então expostas (Figuras 2 e 3).

**Quadro1.** Grupos de estudo

Período de Observação pós-operatório	Denominação	Nº	Procedimento
4 meses	Sham 4	05	Manipulação cirúrgica sem colocação de qualquer material ( <i>sham</i> ).
	CB 4	05	Implante periuretral da membrana de Celulose bacteriana
	Sil 4	05	Implante periuretral da fita de silicone
	CB+Sil 4	05	Implante periuretral da membrana de celulose bacteriana + fita de silicone
8 meses	Sham 8	05	Manipulação cirúrgica sem colocação de qualquer material ( <i>sham</i> ).
	CB 8	05	Implante periuretral da membrana de Celulose bacteriana
	Sil 8	05	Implante periuretral da fita de silicone
	CB+Sil 8	05	Implante periuretral da membrana de celulose bacteriana + fita de silicone

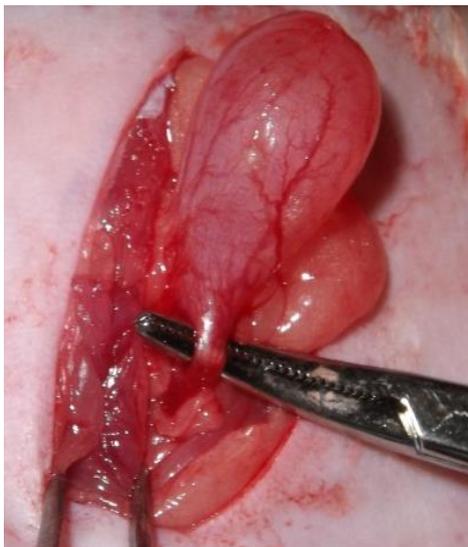


**Figura 2.** Incisão cutânea abdominal

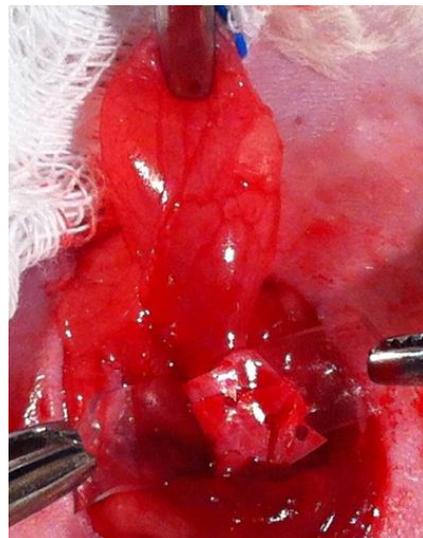


**Figura 3.** Abertura do peritônio e exposição da bexiga

Com uso da tesoura, um pequeno espaço suburetral ( $\pm 5$  mm) era criado, logo abaixo do colo vesical, para dar passagem da fita de silicone e/ou a membrana de celulose bacteriana. Os animais do grupo controle tiveram as uretras isoladas (com pinça de dissecação) e em seguida, deixadas em seus leitos naturais (Figuras 4 e 5).



**Figura 4.** Dissecção simples de uretra



**Figura 5.** Dissecção de uretra. Posicionamento das fitas

As fitas de silicone e da membrana de celulose bacteriana foram padronizadas em 3 mm de largura e 7-10 mm de comprimento, dependendo se eram usadas isoladamente ou em conjunto. A membrana de celulose bacteriana foi enrolada em torno da uretra e, por possuir autoadesividade, não houve necessidade de repará-la com fio de sutura. Ao contrário, as fitas de silicone enroladas em torno da uretra, se soltavam se não fossem ancoradas com nylon 4-0. A parede abdominal era fechada em dois planos com catgut cromado 4-0. Não se fez antibioticoprofilaxia. As fitas de silicone (Medicone, lote T69204), foram esterilizadas em óxido de etileno. As fitas da celulose bacteriana são acondicionadas em álcool isopropílico e depois esterilizadas por radiação gama, no laboratório de Metrologia do Departamento de Energia Nuclear da UFPE (Figura 6).



**Figura 6.** Membrana da celulose bacteriana em sua embalagem

#### 4.2.3 Cuidados pós-operatórios e sacrifício

No período pós-operatório, os animais foram mantidos no biotério, nas mesmas condições anteriores, permitindo-se livre movimentação.

Metade dos animais de cada grupo, cinco ratas por grupo, foi sacrificada quatro meses após a cirurgia. A outra metade (20 ratas), em oito meses após a cirurgia. Obviamente, cada grupo de animais sacrificado em seu devido tempo. O protocolo de

sacrifício segue o modelo adotado pelo NCE. Aos animais é administrado Tiopental sódico por via peritoneal, seguido por dose letal desse barbitúrico por via intracardíaca. Após acesso longitudinal da cavidade abdominal, a bexiga e uretra eram retiradas em bloco. As peças retiradas foram fixadas em formol tamponado a 10%, antes de serem enviadas para o patologista para confecção das lâminas.

### **4.3 Análise histomorfométrica**

O material de estudo foi enviado ao Serviço de Anatomia Patológica do Hospital das Clínicas da UFPE. O processo de preparo das lâminas seguiu a rotina do serviço. O material enviado em formalina e incluído em parafina, foi cortado transversalmente na região da uretralogia abaixo do colo vesical, sendo este segmento exposto ao álcool etílico em concentrações crescentes, diafanizado pelo xilol e impregnado com parafina fundida a 56°C. Os fragmentos foram incluídos e orientados de tal maneira que pudéssemos obter cortes transversais perpendiculares ao maior eixo da uretra. Cortes de 5µm foram obtidos por microtomia. As lâminas foram coradas pela hematoxilina-eosina(HE) e pelo tricrômio de Masson(TM).

A avaliação das lâminas e a captura das imagens foi feita com o microscópio de campo claro e imunofluorescênciaAxioImager. M2m/Zeiss, conectado à câmera digital AxioCamHRc/Zeiss, responsável pela transferência das imagens para um computador. A captura das imagens foi feita por meio do software ZEN-2012/Zeiss.

#### **4.3.1 Medição da espessura da parede da uretra**

Para efetuar as medidas da parede uretral, esta foi dividida em 4 quadrantes, obtendo-se a média de 20 mensurações em cada animal, efetuando-se 5 medições em cada um dos quadrantes. As imagens foram capturadas em aumento de 5 x, em lâminas coradas pela HE. As medidas foram feitas por meio do programa Image J – versão1,45(*NationalInstituteofHealth,Dethesda, MD, USA*). Para os diferentes grupos estudados, a medida da espessura da parede uretral foi feita partindo-se da lâmina própria, da zona em contato íntimo com o urotélio, até a última camada muscular mais externa.

#### 4.3.2 Densidade dos vasos sanguíneos

A densidade dos vasos sanguíneos foi feita de acordo com um método previamente descrito para a quantificação da densidade e desenvolvimento de microvasos em implantes in vivo (*Melero-Martin et al., 2007*)<sup>(77)</sup>. Assim, imagens de cortes da parede do colo vesical foram coradas com HE e capturadas com aumento de 400x e carregadas no *Softwarimage J* versão 1,45. Uma área contígua de implante de 10.000  $\mu\text{m}^2$  foi então traçada usando-se o *image J*, e todos os vasos na região limitada, contendo hemácias em sua luz, foram contados.

A densidade de vasos sanguíneos foi determinada, dividindo-se o número de vasos pela área de implante, e o resultado final expresso como número de vasos/ $\text{mm}^2$ . Em amostras de regiões normais da parede da uretra, a densidade de vasos foi avaliada na lâmina própria, definida como o tecido conjuntivo frouxo entre a membrana basal urotelial e a porção interna da camada muscular.

#### 4.3.3 Resposta Inflamatória

A avaliação microscópica buscou registrar a presença de neutrófilos, linfoplasmócitos, células gigantes multinucleadas (CGMN) e infiltrado granulomatoso, a partir da coloração com HE, em uma análise semiquantitativa. A intensidade da reação inflamatória foi graduada como ausente, leve, moderada e grave. Essa graduação foi pautada no usando-se o critério a seguir<sup>78</sup>:

- 0- Ausente, com menos de 5% da área examinada;
- 1- Leve, reação envolvendo entre 5-25% da área examinada;
- 2- Moderada, comprometendo entre 25-70%;
- 3- grave, reação comprometendo mais de 70% de área examinada.

#### 4.3.4 Deposição de Colágeno

A observação tissular obtida pela coloração com o Tricrômio de Masson, proporcionou a análise da concentração de fibras colágenas presentes na área do tecido periuretral envolvida pelos implantes. A intensidade de colágeno foi avaliada semi-quantitativamente e teve como base os mesmos critérios para análise da resposta inflamatória.

#### 4.4 Análise estatística

As variáveis contínuas paramétricas (espessura do urotélio e da parede uretral) foram comparadas usando o Teste t, enquanto que as não-paramétricas (densidade de vasos sanguíneos), pelo teste de *Mann-Whitney*. Os escores de adesividade e integração tissular, deposição de colágeno e resposta inflamatória foram comparados usando o Teste de Qui-Quadrado de *Pearson*. A significância estatística foi considerada quando  $p \leq 0.05$ . Os testes estatísticos foram realizados usando-se o *GraphPad Prism 5.0 program*® (*GraphPad Software Inc., USA*).

#### 4.5 Considerações éticas

O presente estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Animais do Centro de Ciências Biológicas/UFPE, conforme documento de nº 23076020552/2012-06 (ANEXO A).

## 5 RESULTADOS

Algumas intercorrências cirúrgicas foram registradas durante ou imediatamente após o procedimento: um dos animais do grupo da CB teve a bexiga lesada durante sua dissecação cirúrgica, e como não pode ser reparada, foi sacrificado. Dois animais do Grupo do silicone foram a óbito no período pós-anestésico imediato.

No pós-operatório tardio foram registrados quatro óbitos: Três ratas do grupo do silicone morreram no período entre um e três meses de pós-operatório. Um animal do grupo *sham*, morreu perto de completar oito meses, dias antes da data de seu sacrifício. A necropsia não revelou anormalidades, em nenhum deles, no sítio cirúrgico, não sendo possível identificar a causa da morte. Neste sentido, optou-se pela substituição dos animais, para recompor a população de estudo. Nas dissecações para retirada do bloco bexiga/uretra, notou-se maior aderência aos tecidos adjacentes, inclusive com migração epiploica mais presente, nas ratas dos grupos do silicone. Os animais do grupo sham foram os que apresentaram menor aderência.

### 5.1 Espessura da parede da uretra

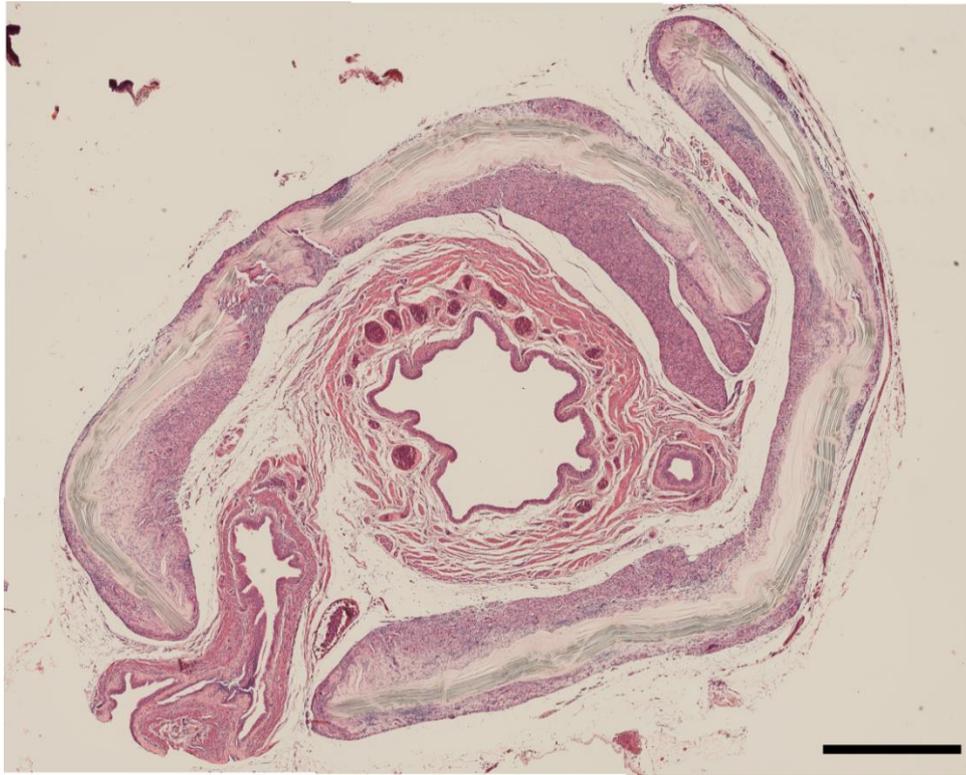
A parede uretral, medida da lâmina própria ao limite externo da camada muscular, mostrou no período mais longo de observação (8 meses), aumento estatisticamente significativo no grupo da CB, em relação ao grupo do silicone isolado ( $p=0,0245$ ) e ao grupo do duplo implante ( $p=0,0020$ ). O epitélio uretral respondeu de forma similar aos dois grupos de materiais, quando aplicados isoladamente, na observação de 4 meses. Aos 8 meses, houve redução de sua espessura no grupo da CB e no grupo do duplo implante, em relação ao grupo onde o silicone foi empregado isoladamente (Tabela 1, Figuras 7 a 9). As fitas de silicone foram dissolvidas pelo xilol, na diafanização. A área destacada é a área ocupada pela fita de silicone



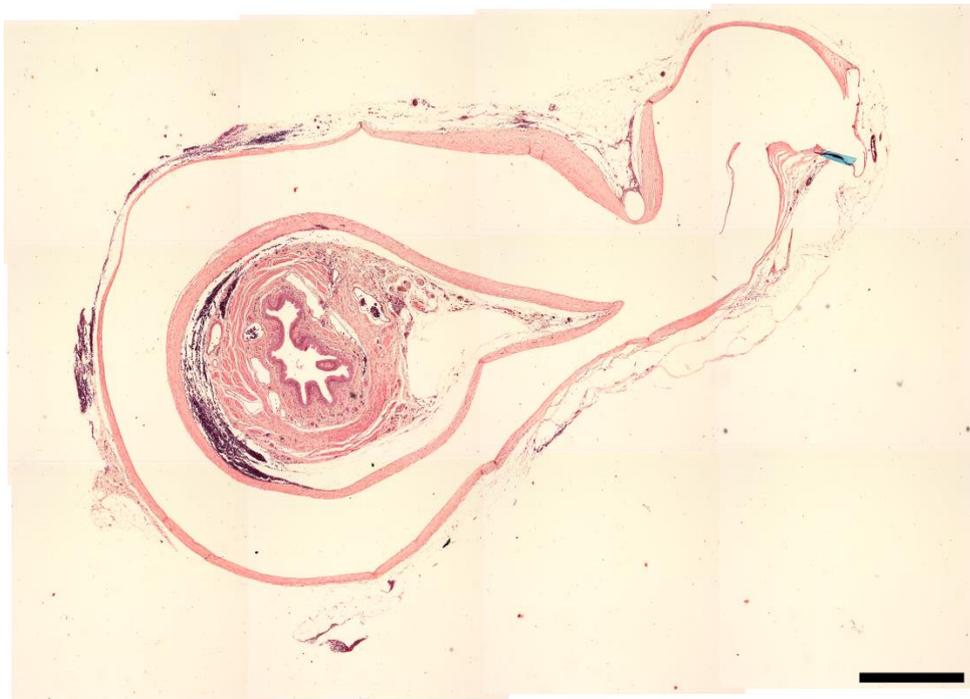
**Tabela1.** Espessura da Parede da Uretra.

Espessura da Parede Uretral (mm)	Sham		Celulose Bacteriana (CB)		Silicone (Sil).		CB + Sil.	
	4 meses	8 meses	4 meses	8 meses	4 meses	8 meses	4 meses	8 meses
	<i>n</i> =05	<i>n</i> =05	<i>n</i> =05	<i>n</i> =05	<i>n</i> =05	<i>n</i> =05	<i>n</i> =05	<i>n</i> =05
Parede	0,40±0,07	0,51±0,15	0,51±0,08	0,53±0,10	0,58±0,12	0,41±0,10	0,50±0,14	0,37±0,11
P valor parede				b=0,02449				D=0,0020 F=0,0414
Epitélio (Urotélio)	0,041±0,003	0,045±0,001	0,041±0,003	0,030±0,001 <sup>a,b</sup>	0,034±0,002	0,051±0,002	0,024±0,001 <sup>d,e,f</sup>	0,033±0,003 <sup>d,e,f</sup>
<i>p</i> valor (urotélio)			b=0,058	<sup>a</sup> P=0,0001 <sup>b</sup> P<0,0001			<sup>d</sup> P=0,0009 <sup>s</sup> P=0,0103 <sup>f</sup> P=0,0037	<sup>d</sup> P=0,3446 <sup>e</sup> P= 0,0020 <sup>f</sup> P= 0,0108

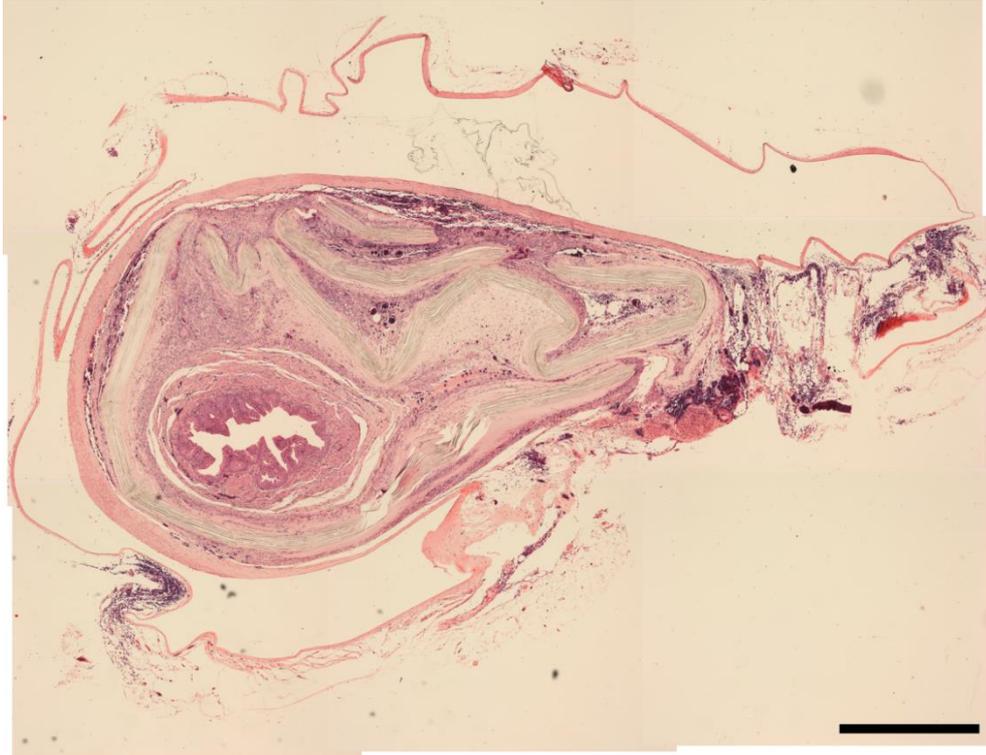
Valores expressos em média±DP; (\*) *Teste t de Student*, considerado significativa se  $p \leq 0.05$ , para <sup>a</sup>Celulosebacteriana#Sham; <sup>b</sup>Celulosebacteriana#Silicone; <sup>c</sup>Silicone#Sham; <sup>d</sup>Celulosebacteriana#CB+Sil.; <sup>e</sup>Silicone#CB+Sil.; <sup>f</sup>CB+Sil.#Sham.



**Figura 7.** Parede uretral: CB 8 meses (coloração HE: magnificação 5x)



**Figura 8.** Parede uretral: grupossilicone 8 meses (coloração HE: magnificação 5x)



**Figura 9.** Parede uretral: CB + silicone 8 meses (coloração HE: magnificação 5x). A fita de celulose bacteriana promoveu a fixação da fita de silicone, permitindo o corte

## 5.2 Densidade dos vasos sanguíneos

Observou-se moderada ( $444 \pm 57 \text{mm}^2$  aos 4 meses) e intensa ( $493 \pm 132 \text{mm}^2$  aos 8 meses) vasculogênese no implante isolado da celulose bacteriana, com característica neovascularização da região periférica em direção a central (centrípeta) do material remanescente, quando comparado ao grupo que recebeu o silicone (4 meses:  $53 \pm 34 \text{mm}^2$ ; 8 meses:  $160 \pm 55 \text{mm}^2$ ), e também no grupo do duplo implante (8 meses:  $104 \pm 43 \text{mm}^2$ ). O grupo do silicone isolado apresentou tímida vasculogênese em comparação aos outros grupos, na observação mais longa (Tabela 2).



**Tabela 2.** Densidade de Vasos Sanguíneos na área do implante.

Densidade de Vasos Sanguíneos na área do Implante (mm <sup>2</sup> )	Sham		Celulose Bacteriana (CB)		Silicone (Sil.)		CB + Sil.			
	4 meses	8 meses	4 meses	8 meses	4 meses	8 meses	4 meses		8 meses	
							CB	Sil.	CB	Sil.
	n=05	n=05	n=05	n=05	n=05	n=05	n=05		n=05	
Vasculogênese	190±36	227±43	444±57 <sup>a,b</sup>	493±132 <sup>b</sup>	53±34	160±55 <sup>c</sup>	576±126 <sup>f</sup>	68±37 <sup>d,e,f</sup>	248±102 <sup>f</sup>	104±43 <sup>d,e,f</sup>
<b>p valor</b>			<sup>b</sup> 0,0357 <sup>a</sup> 0,0159	<sup>b</sup> 0,0571		<sup>c</sup> 0,0286	<sup>f</sup> 0,0159	<sup>d</sup> 0,0079 <sup>e</sup> 0,0357 <sup>f</sup> 0,0032	<sup>f</sup> 0,0159	<sup>d</sup> 0,0357 <sup>e</sup> 0,0159 <sup>f</sup> 0,0317

Valores expressos em média±DP; (\*)*Mann Whitney test*, considerado significativa se  $p \leq 0.05$ , para para<sup>a</sup>Celulosebacteriana≠Sham; <sup>b</sup>Celulosebacteriana≠Silicone; <sup>c</sup>Silicone≠Sham; <sup>d</sup>Celulosebacteriana≠CB+Sil.; <sup>e</sup>Silicone≠CB+Sil.; <sup>f</sup>CB+Sil.≠Sham.NA= Não se Aplica.

### 5.3 Resposta inflamatória

Infiltrados inflamatórios apresentavam-se em sua maioria mais presentes na periferia em relação à porção central do implante de celulose bacteriana (80% das amostras classificadas como grau 2, aos 4 meses), com nódulos linfáticos, sem haver, no entanto, confluência entre os mesmos. Aos 8 meses, a resposta inflamatória foi menos intensa (100% das amostras classificadas como grau 1).

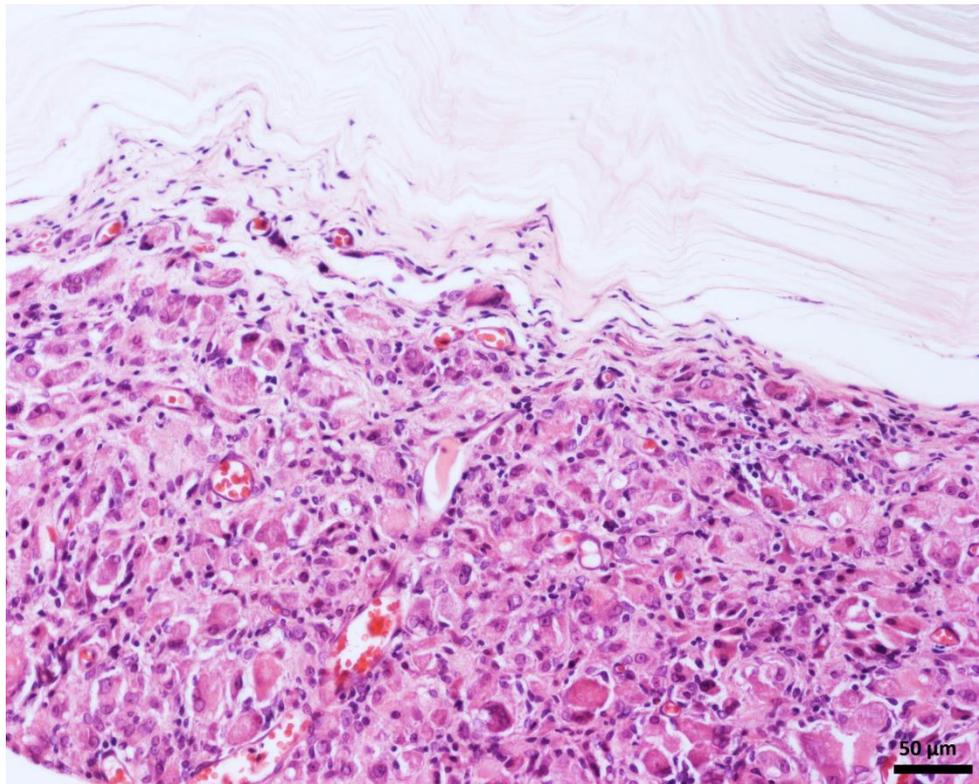
Os tecidos limitados internamente pelo silicone (com 4 ou 8 meses de observação), representados pelos tecidos conjuntivos e parede da uretra, apresentaram células inflamatórias infiltradas e dispersas, apresentando, em sua maioria, escore 0 (67% aos 4 meses e 100% aos 8 meses).

Nos grupos que recebeu a celulose bacteriana mais o silicone, observou-se entre estes materiais, formação intensa de CGMN.

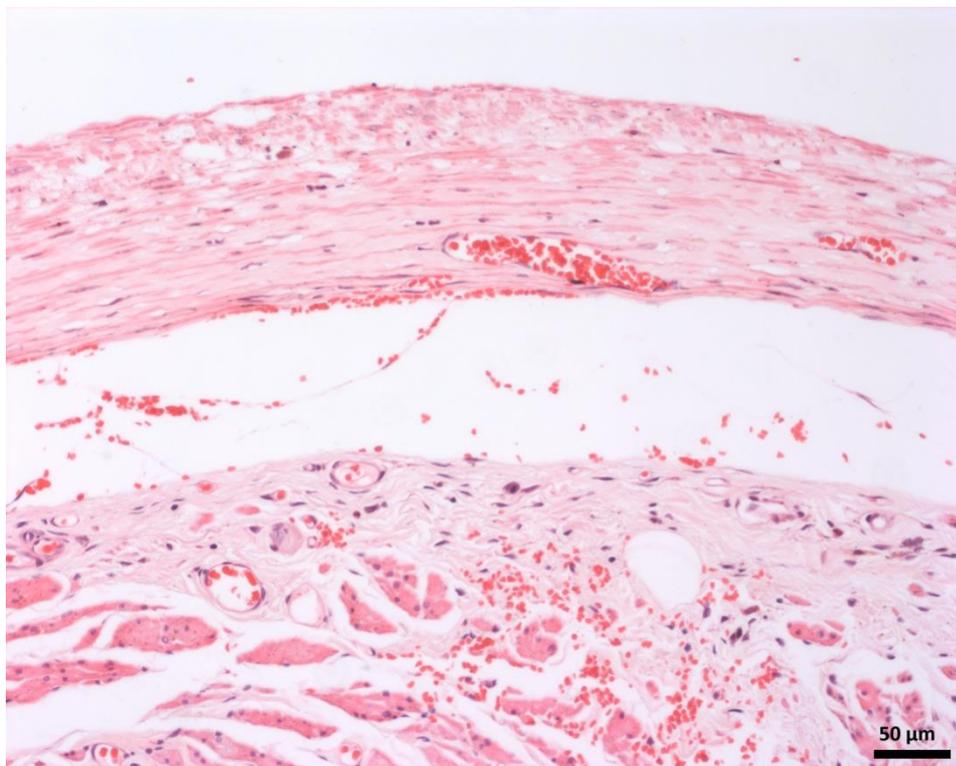
**Tabela 3.** Resposta inflamatória por grupo

Escore (%)	Sham		Celulose Bacteriana (CB)		Silicone (Sil.)		CB + Sil.			
	4	8	4	8	4	8	4 meses		8 meses	
	meses	meses	meses	meses	meses	meses	CB	Sil.	CB	Sil.
	n=05	n=05	n=05	n=05	n=05	n=05	n=05	n=05	n=05	n=05
0	100	100	0	0	67	100	0	25	0	100
1	0	0	20	100	33	0	25	0	20	0
2	0	0	80	0	0	0	75	0	80	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>p valor</b>			<sup>a</sup> 0,0044	<sup>a</sup> 0,0143			<sup>f</sup> 0,0076	<sup>f</sup> <0.0001	<sup>f</sup> 0,0078	<sup>f</sup> <0.0001
			<sup>b</sup> 0,0154	<sup>b</sup> 0,0455						

Valores expressos em n(%); (\*) *Teste de qui-quadrado*, considerado significativa se  $p \leq 0.05$ , para <sup>a</sup>Celulosebacteriana#Sham; <sup>b</sup>Celulosebacteriana#Silicone; <sup>c</sup>Silicone#Sham; <sup>d</sup>Celulosebacteriana#CB+Sil.; <sup>e</sup>Silicone#CB+Sil; <sup>f</sup>CB+Sil.#Sham



**Figura 10.**CB 8 meses: Reação inflamatória e vasculogênese  
(Coloração HE: magnificação 20x)



**Figura 11.** Silicone 8 meses: Reação inflamatória e vasculogênese  
(Coloração HE: magnificação 20x)

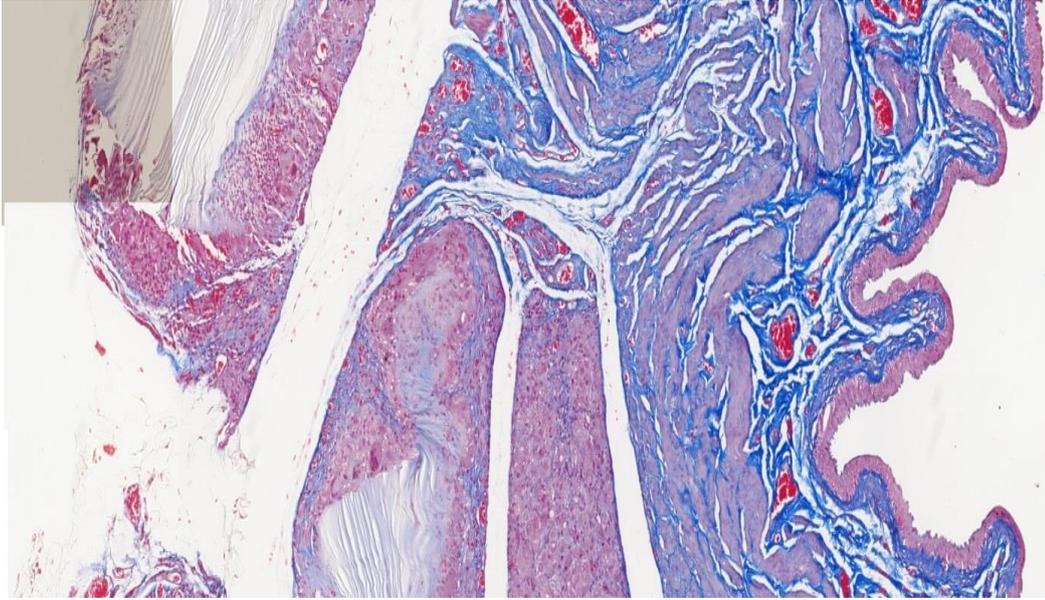
#### 5.4 Deposição de colágeno/fibrinogênese

Nos animais que receberam a celulose bacteriana foi possível observar material remanescente, mesmo aos 8 meses, na área central do implante. Nas regiões mais periféricas, principalmente a periuretral, houve formação Moderada (aos 4 meses) e Intensa (aos 8 meses) de células gigantes multinucleadas (CGMN) e vasos de pequeno a médio calibre. Nos grupos que receberam o silicone, observou-se formação de cápsula fibrosa com presença de CGMN somente aos 4 meses. Histologicamente, foi vista uma maior deposição de colágeno (fibras colágenas maduras delgadas) no grupo com celulose bacteriana, quando comparado ao grupo que recebeu silicone. Havia também, presença intensa não quantificada de fibroblastos principalmente na região mais adjacente à celulose bacteriana remanescente e, leve na cápsula fibrosa que envolvia implante de silicone.

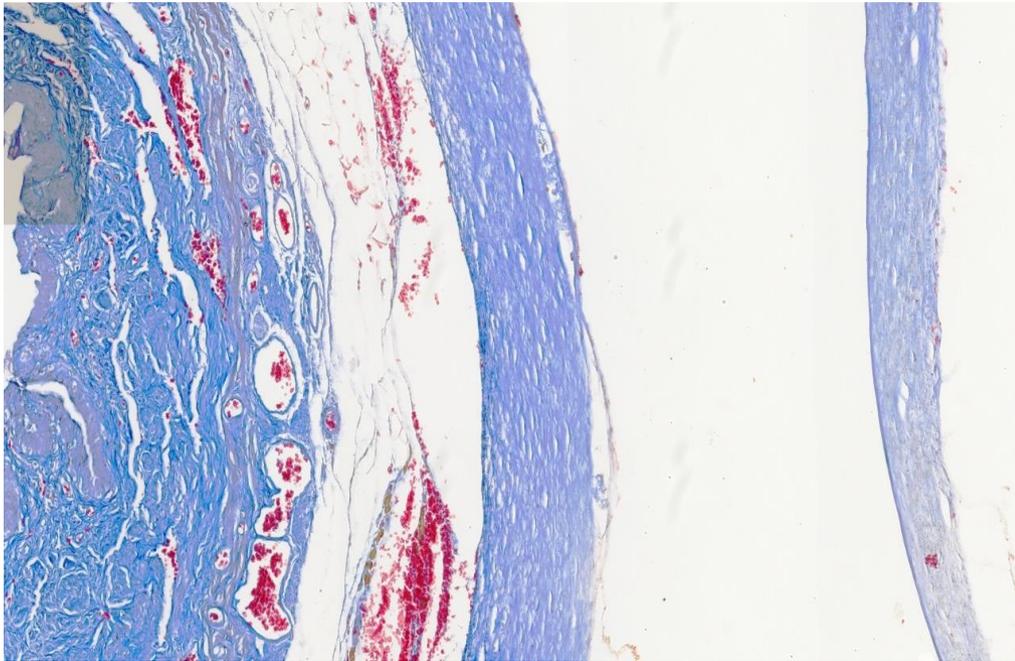
**Tabela 4.** Deposição de Colágeno na região periuretral.

Deposição de Colágeno Periuretral (%)	Sham		Celulose Bacteriana (CB)		Silicone (Sil.)		CB + Sil.				
	4 meses	8 meses	4 meses	8 meses	4 meses	8 meses	4 meses		8 meses		
							CB	SIL	CB	SIL	
	n=05	n=05	n=05	N=05	n=05	n=05	n=05	n=05	n=05	n=05	
0	NA	NA	0	0	0	0	0	0	100	0	
1			100	0	0	0	100	0	0	0	
2			0	100	0	0	0	0	0	0	0
3			0	0	100	100	0	100	0	100	100
<b>p valor</b>			<sup>a</sup> 0,0044 <sup>b</sup> 0,0154	<sup>a</sup> 0,0143 <sup>b</sup> 0,0455			<sup>f</sup> 0,0076	<sup>f</sup> <0.0001	<sup>f</sup> 0,0078	<sup>f</sup> <0.0001	

Valores expressos em n(%); (\*) *Teste de qui-quadrado*, considerado significativa se  $p \leq 0.05$ , para<sup>a</sup>Celulosebacteriana≠Sham; <sup>b</sup>Celulosebacteriana≠Silicone; <sup>c</sup>Silicone≠Sham; <sup>d</sup>Celulosebacteriana≠CB+Sil.; <sup>e</sup>Silicone≠CB+Sil.; <sup>f</sup>CB+Sil.≠Sham. NA= Não se Aplica.



**Figura 12.** CB 8 meses: Distribuição do colágeno  
(Coloração HE: magnificação 20x)



**Figura 13.** Silicone 8 meses: cápsula fibrosa

## 6 DISCUSSÃO

Biomaterial é qualquer substância natural ou sintética com capacidade para integrar-se ao tecido receptor, atendendo a um determinado propósito terapêutico. A procura pelo biomaterial ideal ainda permanece uma lacuna nas pesquisas médicas. O êxito dessa busca passa pelo equacionamento de predicados essenciais ao seu sucesso como ferramenta biotecnológica de substituição funcional ou anatômica de um tecido ou órgão, já referidos anteriormente. E o mais interessante de todos os pré-requisitos, que tenha baixo custo de produção<sup>56,78</sup>.

Os biopolímeros, naturais ou sintéticos, são materiais produzidos a partir de fontes renováveis. No topo das pesquisas biomédicas, estão os polímeros obtidos por ação de microrganismos (geralmente bactérias), resultantes da liberação e aglutinação de suas unidades primárias, os manômeros<sup>79</sup>. Os biopolímeros têm mostrado enormes potencialidades biomecânicas, referendadas em variadas aplicações clínicas. Como exemplo, o colágeno, um biopolímero natural (dito assim por existir naturalmente, e pertencente à mesma categoria dos ácidos nucleicos, proteínas, etc.), desponta como um biomaterial bastante utilizado em intervenções médicas, notabilizando-se segundo os preceitos de biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa antigenicidade, mas de elevado custo de produção<sup>57,60,64</sup>.

Um novo polímero, tendo como substrato o melaço da cana-de-açúcar, matéria-prima abundante, barata e renovável, foi desenvolvido na Estação Experimental de Cana-de-açúcar da UFRPE, em Carpina- PE. Este material, ao passar por todo um processo purificação e aperfeiçoamentos, resulta em uma membrana versátil e resistente, muito bem avaliada em testes biomecânicos e de biocompatibilidade<sup>66,68</sup>, tendo seu uso liberado para ensaios experimentais, estimação necessária para sua aplicabilidade clínica, como de fato já ocorreu<sup>4</sup>. Outra vantagem a ela imputada, está no baixo custo de processamento<sup>6,67</sup>.

No presente estudo, utilizamos a celulose bacteriana como envoltório de reforço uretral, em ratas, avaliando sua integração e remodelação ao tecido receptor. A relevância dessa fase de estudo, reside na possibilidade de sua utilização em humanos, com o mesmo propósito, por ocasião da colocação de um dispositivo anti-incontinência urinária. Pautamos por avaliar a eficácia da celulose bacteriana como reforço da estrutura uretral, quantificando a altura de sua parede. A confirmação da

biocompatibilidade ao material de experimento, foi aferida pela densidade da vasculogênese, reação inflamatória e deposição de colágeno(fibrinogênese).

Nosso primeiro passo, foi mensurar as camadas da parede uretral, do modelo animal, nos dois períodos temporais. Verificou-se que nos animais sacrificados aos 4 meses, não houve diferença estatística da espessura da camada urotelial, entre os grupos da CB e do silicone isolado. O grupo *sham* reproduziu comportamento similar. Essa tendência não se confirmou aos oito meses do sacrifício. Nesse tempo, houve redução da espessuraurotelial nos animais do grupo da CB e do grupo do duplo implante, em relação ao grupo com implante isolado de silicone, como também ao do grupo *sham*. Há uma referencia, na qual seus autores, empregando retalho de submucosa intestinal suína(SIS) como reparo de fístula uretral induzida em coelhos, constataram plena cicatrização do trajeto fistuloso, porém sem detalhar as etapas desse processo, e suas repercussões sobre as camadas da uretra<sup>52</sup>. Também, é conceitual que, o silicone, por provocar reação tissular inflamatória consideravelmente intensa<sup>80</sup>, possa ter contribuído com produção de fatores de crescimento celular, influenciando na resposta da mucosa uretral dos animais do grupo em que foi empregado isoladamente.

A redução da espessuraurotelial nos animais do grupo da CB + silicone, na observação mais longa, pode ser aclarada pelo fato de que, a CB, por ter sido interposta entre a fita de silicone e a uretra, tenha criado uma barreira atenuante da reação inflamatória do hospedeiro ao silicone. A parede uretral, agora medida da lâmina própria ao limite externo da camada muscular, apresentou comportamento bastante distinto. Na avaliação aos oito meses, período em que os resultados dos grupos estudados estão mais consolidados, observou-se ganho estrutural significativo nos animais do grupo da CB isolada, quando comparado ao grupo do silicone( $p=0,0249$ ) e ao grupo do duplo implante( $p=0,0020$ ). Margreiter e colaboradores<sup>55</sup>, relataram resposta similar, ao utilizar o SIS como envoltório uretral, simultaneamente à colocação do esfíncter artificial. A análise histopatológica do material periuretral em um paciente que teve esse artefato explantado aos três meses do implante mostrou tecido conectivo remodelado e com baixa celularidade inflamatória, fortalecendo a ideia de que essa matriz pode servir de suporte para surgimento de um novo tecido.

A vasculogênese mostrou-se consideravelmente presente no grupo da CB, em comparação com os grupos onde o silicone foi empregado, nos dois períodos de

sacrifício, o mesmo acontecendo em relação ao grupo sham, ressaltando-se que essa observação foi mais presente aos 8 meses. Silveira<sup>70</sup>, utilizando telas de CB na correção de falha músculo-aponeurótica aguda induzida em ratos, constatou resposta semelhante, com o diferencial de que, a vasculogênese foi mais evidente com telas multiperfuradas, em relação à forma compacta, sugerindo que a porosidade do material empregado provavelmente interferiu nesse processo. Para Anderson<sup>59</sup>, o depósito consistente e não vascularizado de camada de colágeno é evidência de provável encapsulamento do material implantado. Ainda segundo o autor, a regeneração tissular (fase produtivo-reparativa) se revela pela presença de vascularização (neoangiogênese) e remodelação fibrótica da estrutura parenquimatosa de um órgão ou tecido injuriados. Quando algum material é implantado em um tecido vascularizado, o organismo receptor pode responder com reação de corpo estranho, não produção de neovasos e com formação de cápsula fibrótica no local do implante, ou apresentar um desenho histopatológico favoravelmente oposto, condição essa essencial para a integração e incorporação do material implantado ao hospedeiro<sup>59,60</sup>.

Concomitantemente, o aporte de colágeno no sítio de implante da CB, variou de leve a moderado, nas avaliações temporais, com presença de vasos de pequeno e médio calibres. Vale assinalar que, aos oito meses, ainda se encontrou membrana remanescente, com presença intensa (não quantificada) de fibroblastos. Nos grupos nos quais se empregou silicone, houve marcante deposição de colágeno, nas duas aferições, com formação de cápsula fibrosa já aos quatro meses. Diante desses registros, podemos consentir que houve histocompatibilidade entre a CB e o organismo receptor e a não toxicidade da mesma, confirmando citações prévias<sup>6,81</sup>. As etapas de consolidação da biocompatibilidade, passam primeiramente pelo recrutamento de células inflamatórias no local do implante, condição presumidamente necessária à formação de novos vasos e, com isso, garantir o aporte nutritivo indispensável à sobrevivência e transformação do material implantado<sup>58,59</sup>. Nesse contexto, é importante que a celularidade inflamatória seja gradativamente substituída por fibroblastos, com conseqüente produção equilibrada de colágeno, sem tendência ao encapsulamento, iniciando-se a plataforma para surgimento de uma nova estrutura tissular<sup>54,58,63</sup>. Em nossos animais, com o emprego isolado da membrana celulósica, esse material estimulou o aporte de fibroblastos ao redor do implante, com deposição de colágeno maduro, sem evidencia de formação capsular, cursando com nítida

vasculogênese, cenário não observado com o emprego do silicone. Essa mesma CB, usada como modelo de *slings* sub-uretral, em ratas, reproduziu desenho histopatológico semelhante, sendo interpretado pelo seu autor, como comprobatório de sua assimilação pelo organismo hospedeiro<sup>75</sup>. Em outros ensaios com o uso da CB, seus resultados dão suporte aos relatados acima, para os quais essa membrana estimula reação inflamatória, a qual vai diminuindo com o decorrer do seguimento, concorrendo para o engajamento de fibroblastos e produção de colágeno, como também, estimulando a vasculogênese no local do implante<sup>68,70,74,76</sup>.

A aceitação e incorporação de um material implantado, depende do tipo de reação inflamatória a ser depreendida pelo tecido hospedeiro<sup>58,59,69</sup>. O comportamento da reação inflamatória irá determinar a aceitação ou a rejeição do artefato implantado. Esses eventos são: fase inflamatória (aguda/crônica), fase proliferativa e fase de deposição de colágeno. A extensão de cada uma dessas fases, sofrerá influência de fatores intervenientes, tais como, imunogenicidade do tecido receptor, contaminação bacteriana local e a inverossimilhança da biocompatibilidade do material empregado<sup>58,59</sup>. A fase inflamatória inicia-se com a formação de coágulo e migração de polimorfonucleares (PMN). Aqui, substâncias citoplasmáticas liberadas de células lisadas, agirão como mediadores da cascata inflamatória, concorrendo com a proliferação local de monócitos e linfócitos. Os monócitos se fundirão, originando os macrófagos, células gigantes responsáveis pela “limpeza” fagocitária da ferida. Por sua vez, linfócitos e plasmócitos irão desencadear a resposta imunogênica, caracterizando a fase crônica da inflamação. Esses eventos projetarão variáveis que irão determinar a biossegurança do dispositivo implantado, podendo evoluir, ora com predominância de células gigantes, excessiva granulação e encapsulamento do material, ora garantindo condições ótimas para a sobrevivência do implante, refletidas principalmente na produção harmoniosa de colágeno, vasculogênese, até sua plena incorporação pelo hospedeiro<sup>58,59</sup>. Em nosso ensaio, a fase aguda da resposta inflamatória ao implante da CB não foi priorizada, haja vista esse contexto já se encontrar convenientemente retratado em outras publicações<sup>66,68,69,76</sup>. Outrossim, como o nosso foco em utilizá-la como revestimento uretral, verificando sua aceitação e integração ao tecido receptor, exigiria um período de observação mais longo para confirmação desses questionamentos. Nossos dados são de que a reação inflamatória decaiu de predominantemente moderada para leve, entre os períodos de sacrifício, no grupo da CB isolada, embora exibisse celularidade composta por CGMN

e presença de material celulósico residual aos 8 meses. O comportamento inflamatório decorrente do implante de membrana celulósica mostrou-se uniforme em outros experimentos, e pode ser resumido da seguinte forma. Inicialmente, nota-se uma resposta inflamatória local mais intensa, a qual vai dessorando-se com o tempo, com ativa afluência de fibroblastos e aporte de colágeno<sup>66,68,69</sup>. Em um ensaio em modelo animal, Marques e colaboradores<sup>71</sup>, avaliando o emprego da CB como remendo arterial em cães, sugerem que a presença rara de macrófagos no sítio do implante, confirma o baixo teor antigênico desse material. No nosso estudo, o grupo do silicone isolado, mostrou aos dois tempos de sacrifício, perfil inflamatório menos intenso, comparado com o grupo da CB, embora tenha sido detectada cápsula fibrótica envolvendo esse material, aos 4 meses. O grupo do duplo implante evoluiu com intensa infiltração de CGMN no tecido de entremeio uretra/silicone. O emprego de silicone como material de implante é motivo de controvérsias. Por ser notadamente reativo, induzindo, com relativa frequência, reação de corpo estranho e encapsulamento, teve sua utilização, como *sling* uretral, caído em desuso<sup>82,83</sup>. Entretanto, esse comportamento tem sido detalhadamente relatado quando esse material é empregado na intimidade do tecido hospedeiro, caso do *sling*, diferentemente da maneira como foi utilizado no presente estudo, quando, ao ser ancorado em torno da uretra, o faz como uma circunferência imperfeita.

Até que se alcance o estágio da chamada “cura fisiológica perfeita” da incontinência urinária, termo criado por Imamura e colaboradores<sup>84</sup>, há um longo caminho a ser percorrido. Esses autores, relataram a reconstituição de esfíncteres urinários intencionalmente lesados, em coelhos, com o implante de células-tronco autólogas. As abordagens terapêuticas atuais, buscam meios mais seguros e com menores taxas de complicações, com a utilização dos dispositivos anti-incontinência urinária. Nossa impressão, quando nos debruçamos sobre os dados reproduzidos em nosso experimento, é a de que a membrana celulósica respondeu favoravelmente, segundo os parâmetros de deposição de colágeno, vasculogênese e espessamento da parede uretral, em modelo animal. A resposta inflamatória, inicialmente com infiltrado inflamatório mais consistente, inclusive com presença de alguns linfonodos, mostrou recuo desse padrão em observação mais longa, não afetando a proposta do estudo. Houve integração da CB ao tecido receptor, com promoção de remodelação tissular e fortalecimento da arquitetura uretral. Por conseguinte, entendemos que a membrana celulósica da cana-de-açúcar pode ser uma opção plausível de reforço

uretral, concomitantemente com o uso de dispositivo anti-incontinência urinária em humanos.

## 7 CONCLUSÃO

Membranas de celulose bacteriana aderem e integram-se ao tecido periuretral, induzindo remodelação tecidual e fortalecimento uretral, em ratas.

## REFERÊNCIAS

1. Crites MA, Sorial A, Ghoniem GM. Risk factors for male slings: a comparative study of two techniques. *Urology*. 2011;78(1):192-7.
2. Lee R, Alexis ETE, Kaplan SA, Sandhu JS. Temporal trends in adoption of and indications for the artificial urinary sphincter. *J Urol*. 2009;181(6):2622-7.
3. Mundy AR. Artificial urinary sphincters. *Arch Dis Child*. 1986;61(1):1-3
4. Martins AGS, Lima SVC, De Araújo LAP, Vilar FO, Cavalcante NTP. A wet dressing for hypospadias surgery. *IntBraz J Urol*. 2013;39(3):408-13.
5. Fragoso AS, Silva MB, De Melo CP, Aguiar JLA, Rodrigues CG, De Medeiros PL, Branco Junior JF, Andrade CA, Oliveira MD. Dielectric study of the adhesion of mesenchymal stem cells from human umbilical Cord on a sugarcane biopolymer. *J Master Sci Mater Med*. 2014;25(1):229-3.
6. Castro CMMB, Aguiar JLA, Melo FAD, Silva WTF, Marques E, Silva DB. Citotoxicidade de biopolímero de cana-de-açúcar. *Na FacMedUnivFed Pernamb*. 2004;49(2):119-23.
7. Abrams P, Cardozo L, Fall M, Griffiths D, Rosier P, Ulmsten U, van Kerrebroeck P, Victor A, Wein A. The standardization of terminology of lower urinary tract function: report from the standardization sub-committee of International Continence Society. *NeurourolUrodyn*. 2002;21(2):167-78.
8. Styn R, Mcguire EJ, Latini JM. Bone-anvored sling for male urinary incontinence: assessment of complications. *Urology*. 2011;77(2): 469-73.
9. Kim SP, Sarmast Z, Daignault S, Faeber GJ, Mcguire EJ, Latini JM. Long-term durability and functional outcomes among patients with artificial urinary sphincters: a 10-year retrospective review from the University of Michigan. *J Urol*. 2008;179(5):1912-6.
10. Escobar FR, Bertran PA. Incontinência urinária post-prostatectomia. El esfinter artificial. *ArchEsp Urol*. 2009;62(10):838-44.
11. Tanagho EA. Anatomia do trato geniturinário. 17ª ed. Porto Alegre: AMGH Ed Ltda; 2010. p.14-5.
12. Reis RB, Zequi SC, Zerati Filho M. *Urologia Moderna*. São Paulo: Lema;2013. p.47-7.

13. Garcia Montes F, Mundy AR, Knight SL, Craggs MD. Importancia de la integridad de la mucosa y submucosa uretral en la continencia de los pacientes con esfínteres urinarios artificiales. *Actas Urol Esp.* 2007;31(15):482-7.
14. Falconer C, Gunvor E, Anders M, Ulmsten ULF. Decreased collagen synthesis in stress-incontinence women. *Obstet Gynecol.* 1994;84(4):583-6.
15. Hollabaugh Jr. RS, Dmochowski RR, Steiner MS. Neuroanatomy of the male rhabdosphincter. *Urology.* 1997;49(3):426-34.
16. Narayan P, Konety B, Aslam K, Aboseif S, Blumenfeld W, Tanagho E. Neuroanatomy of the external urethral sphincter: Implications for urinary continence preservation during radical prostate surgery. *J Urol.* 1995;153(2): 337-41.
17. Clobes A, Delancey JOL, Morgan DM. Urethral circular smooth muscle in young and old women. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;198(5):587-95.
18. Ulmsten U, Petros P. Intravaginal slingplasty (IVS): an ambulatory surgical procedure for treatment of female urinary incontinence. *Scand J Urol Nephrol,* 1995;29(1):75-82.
19. Delorme E. Transobturator urethral suspension: mini-invasive procedure in the treatment of urinary incontinence in women. *Prog Urol.* 2001;11(6):1306-13.
20. Mostwin JL. Editorial: urinary incontinence. *J Urol.* 1995;153(2):352-3.
21. Clemens JQ, Schuster TG, Konnac JW, Mcguirre EJ, Faerber GJ. Revision rate after artificial urinary sphincter implantation for incontinence after radical prostatectomy: actuarial analysis. *J Urol.* 2001;166(10): 1372-5.
22. Erickson DR. (Editorial): urinary incontinence. *J Urol.* 1995;153(3):648-9.
23. Flynn BJ, Webster GD. Evaluation and surgical management of intrinsic sphincter deficiency after radical prostatectomy. *Rev Urol,* 2004; 6(4): 180-186.
24. Comiter CV. The male *sling* for stress urinary incontinence: a prospective study. *J Urol.* 2002;167(2):597-601.
25. Lee EW, Nitti VW, Brucker BM. Midurethral slings for all stress incontinence. A urology perspective. *Urol Clin N Am.* 2012;39(1):299-310.
26. Rogo-Gupta L, Litwin MS, Saigal CS, Anger JT and the urologic diseases in America project. Trends in the surgical management of stress urinary incontinence among female medicare beneficiaries, 2002-2007. *Urology.* 2013; 82(1):38-42.

27. Montague DK. Artificial urinary sphincter: long-term results and patient satisfaction. *AdvUrology*. 2012;12(1):1-4.
28. Scott FB, Bradley WE, Timm GW. Treatment of urinary incontinence by implantable prosthetic sphincter. *Urology*. 1973;1(5): 252-9.
29. Lima RS, Barros EGC, Souza CA, Vilar FO, Vilar SCL. Constritor periuretral: resultados tardios do tratamento de incontinência urinária pós prostatectomia. *Braz J Urol*. 2011;37(4):55-9.
30. Peterson AC, Webster GD. Artificial urinary sphincter: lessons learned. *UrolClin N Am*. 2011;38(1):83-8.
31. Rothschild J, Kit LC, Seltz L, Wang L, Kaufman M, Dmochowski R, Milan DF. Difference between urethral circumference and artificial urinary sphincter cuff size, and its effect on postoperative incontinence. *J Urol*. 2014;191(1):138-42.
32. Montague DK. Males *slings*: compressive versus repositioning. *Eur Urol*. 2009;56(1):934-6.
33. Ghoniem G, Stanford E, Kenton K, Ahtari C, Goldberg R, Mascarenhas T, Parekh M, Tamussino K, Tosson S, Lose G, Petri E. Evaluation and outcome measures in the treatment of female urinary stress incontinence: International Urogynecological Association(IUGA) guidelines for research and clinical practice. *IntUrogynecol J*. 2008;19(1):25-33.
34. Hudak SJ, Morey AF. Impact of 3.5 artificial urinary sphincter cuff on primary and revision surgery for male stress urinary incontinence. *J Urol*. 2011;186(11):1962-6.
35. Elizalde-Benito FX, Elizalde-Benito ÁG, Urra-Palos M, Elizalde-Amatria ÁG. Revisión de nuestra experiencia em El tratamiento de La incontinência urinaria em elvarón mediante El esfínter urinário artificial AMS-800. *Rev Mex Urol*. 2013;73(3):125-9.
36. Kowalczyk JJ, Spicer DL, Mulcahy JJ. Erosion rate of the double cuff AMS800 artificial urinary sphincter: long-term followup. *J Urol*. 1996;156(10): 1300-1.
37. Tse V, Stone AR. Incontinence after prostatectomy: the artificial urinary sphincter. *BJU Inter*. 2003;92(1):886-9.
38. Lai HH, Boone TB. Complex artificial sphincter revision and reimplantation cases – how do they fare compared to virgin cases? *J Urol*. 2012;187(3): 951-5.

39. Clemens JQ, Delancey JO, Faerber GJ, Westney OL, Mcguire EJ. Urinary tract erosion after synthetic pubovaginal*slings*: diagnosis and management strategy. *Urology*. 2000;56(1):589-95.
40. Blaivas JG, Sandhu J. Urethral reconstruction after erosion of *slings* In women. *Curr Opin Urol*. 2004;14(1):335-8.
41. Amundsen CL, Flynn BJ, Webster GD. Urethral erosion after synthetic and nonsynthetic pubovaginal*slings*: differences in management and continence outcome. *J Urol*, 2003;170(7): 134-7.
42. Martucci RC, Ambrogini A, Calado AA, Zerati M, Muller M El A. Pubovaginal*sling* with bovine pericardium for treatment of stress urinary incontinence. *Braz J Urol*. 2000; 26(2): 208-14.
43. Bent AE, Ostergard DR, Zwick-Zaffuto M. Tissue reaction to expanded polytetrafluoroethylene suburethral*sling* for urinary incontinence: clinical and histologic study. *Am J Obstet Gynecol*. 1993;169(5):1198-2004.
44. Martins FE, Boyd SD. Artificial urinary sphincter in patients following major pelvic surgery and/or radiotherapy: are they less favorable candidates? *J Urol*. 1996;153(4): 1188-93.
45. Raj GV, Peterson AC, Webster GD. Outcomes following erosions of the artificial urinary sphincter. *J Urol*. 2006;175(6): 2186-90.
46. Saffarian A, Walsh K, Walsh IK, Stone AR. Urethral atrophy after artificial urinary sphincter placement: is cuff downsizing effective? *J Urol*. 2003;169(2): 567-69.
47. DiMarco DS, Elliott DS. Tandem cuff artificial urinary sphincter as a salvage procedure following failed primary sphincter placement for the treatment of post-prostatectomy incontinence. *J Urol*. 2003; 170(10):1252-4.
48. Guralnick ML, Miller E, Toh KL, Webster GD. Transcorporal artificial urinary sphincter cuff placement in cases requiring revision for erosion and urethral atrophy. *J Urol*. 2002;167(5):2075-9.
49. Aarason DS, Elliott SP, McAninch JW. Transcorporal artificial urinary sphincter placement for incontinence in high-risk patients after treatment of prostate cancer. *Urology*. 2008;72(1): 825-7.
50. Sousa-Escandón A. Sandwich technique for suburethral placement of mersilene mesh *sling* during pubovaginal suspension surgery: preliminary results. *Urology*. 2001;57(1):49-54.

51. Pope IV JC, Davis MM, Smith Jr ER, Walsh MJ, Ellison PK, Rink RC, Kropp BP. The ontogeny of canine small intestinal submucosa regenerated bladder. *J Urol.* 1997;158(1):1105-10.
52. Grossklaus DJ, Shappel SC, Adams MC, Brock JW, Pope JC. Small intestinal submucosa as a urethral coverage layer. *J Urol.* 2001;166(10): 636-9.
53. Rahman NU, Minor TX, Deng D, Lue TF. Combined external urethral bulking and artificial urinary sphincter for urethral bulking and artificial urinary sphincter for urethral atrophy and stress urinary incontinence. *BJU Int.* 2005; 95(1):824-6.
54. Trost L, Elliott D. Small intestinal submucosa urethral wrap at the time of artificial urinary sphincter placement as a salvage treatment option for patients with persistent/recurrent incontinence following multiple prior sphincter failures and erosions. *Urology.* 2012;79(1):933-8.
55. Margreiter M, Farr A, Sharma V, Schauer I, Klingler HC. Urethral buttressing in patients undergoing artificial urinary sphincter surgery. *J Urol.* 2013;189(5): 1777-81.
56. Sangster P, Morley R. Biomaterials in urinary incontinence and treatment of their complications. *Indian J Urol.* 2010;26(2): 221-9.
57. Barker TH .Biological biomaterials structure, function, property design across the molecular-nano-micro-macro scales. *ActaBiomaterialia.* 2014;10(1):1487-9.
58. Anderson JM, Rodriguez A, Chang DT. Foreign body reaction to biomaterials. *SeminImmunol.* 2008;20(2): 86-100.
59. Anderson JM. Inflammatory responses to implants. *Asaio Trans.* 1998;34(1):101-7.
60. Vandevord PJ, Broadrick KM, Krishnamurthy B, Singla AK. A comparative study evaluating the vivo incorporation of biological *sling*materials. *Urology.* 2010;75(1):1228-33.
61. Atala A, Guzman L, Retik AB . A novel inert collagen matrix for hypospadias repair. *J Urol.* 1999;162 (9):1148-51.
62. Palma PCR, Dambros M, Riccetto CLZ, Herrmann V, Neto Junior NR. Pubovaginal*sling*using the porcine small intestine submucosa for stress urinary incontinence. *Braz J Urol.* 2001; 27(1):483-8.
63. Santucci RA, Barber TD. Resorbable extracellular matrix grafts in urologic reconstruction. *IntBraz J Urol.* 2005;31(1):192-203.

64. Zheng MH, Chen J, Kirilac Y, Willers C, Xu J, Wood D. Porcine small intestine submucosa(SIS) is not an acellular collagenous matrix and contains porcine DNA: possible implications in human implantation. *ApplBiomater.* 2005; 73(B):61-7.
65. Schreiner L, Carvalho EZ, Dos Santos TG. *Slingsuburetral*: vantagens e desvantagens dos materiais utilizados. *Femina.* 2008; 36(7): 407-12.
66. Barros LA, de Medeiros PL. Avaliação da biocompatibilidade de membranas de biopolímero de cana-de-açúcar como novo suporte no cultivo de células-tronco mesenquimais do cordão umbilical humano. XVIII Conic, II Coriti- UFPE/CTG, 2010; 1(1)24-6.
67. Paterson-Beedle M, Kennedy JF, Melo FAD, Medeiros V. A cellulosic exopolysaccharide produced from sugarcane molasses by a *Zoogloea* sp. *Carbohydrate Polymers.* 2000; 42(1): 375-83.
68. Falcão SC, Coelho ARB, Neto JE. Biomechanical evaluation of microbial cellulose(*Zoogloea sp.*) and expanded polytetrafluoroethylene membranes as implants in repair of produced abdominal wall defects in rats. *Acta Cir Bras,* 2008; 23(2): 184-91.
69. Lima FR, Lima JRA, Hirakawa P, Medeiros Junior MD, Lima FMT, Aguiar LJA. Resposta inflamatória à membrana de biopolímero de cana-de-açúcar e telas de polipropileno® implantados no peritônio parietal de ratos. *AnFacMedUnivFed Pernamb.* 2005;50(1): 37-40.
70. Silveira RK. Eficácia da membrana de celulose produzida pela *Zoogloea* sp na forma multiperfurada comparada à forma compacta e à membrana sintética de politetrafluoretileno expandido na correção cirúrgica de falha músculo-aponeurótica aguda induzida em ratos. [Tese de Doutorado]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2007.
71. Marques SRB, Lins EM, Aguiar JLA, Albuquerque MCS, Rossiter RO, Montenegro LT, Vieira RJ. Um novo substituto vascular: arterioplastia femoral em cães com remendo de membrana de biopolímero de cana-de-açúcar-avaliação hemodinâmica e histopatológica. *J Vasc Bras.* 2007;6(4): 309-15.
72. Coelho MCOC, Carrazoni PG, Monteiro VLC, Melo FAD, Mota RA, Tenório Filho, F. Biopolímero produzido a partir da cana-de-açúcar para cicatrização cutânea. *Acta Cir Bras.* 2002; 17(Suppl1):11-3.

73. Silva DB, Aguiar JLA, Marques A, Coelho ARB, Rolim Filho EL. Miringoplastia com enxerto livre de membrana de biopolímero de cana-de-açúcar e fásia autóloga em *Chinchillalaniger*. *AnFac Med Univ Fed Pernamb*. 2006;51(1):45-51.
74. Carvalho Junior AM, Santos MM, Barkokélis BB, Aguiar JLA, Lima SVC, Dambros M. Characterization of the deposition of collagen fibers and lithogenicpotencial in bladder of rats submitted to a sugar cane biopolymer graft. *Int Braz J Urol*. 2012; 38(4): 544-51.
75. Lucena GR, Lima SVC, Aguiar JLA, Andrade RT, Pinto FCM, Vilar FO. Experimental use of a cellulosic biopolymer as a new material for suburethral sling in the treatment of stress urinary incontinence. *IntBraz J Urol*. 2015;41(1):1-6.
76. Silveira ABFN. Estudo comparativo de reação inflamatória e de deposição de fibras colágenas após o implante de telas de polipropileno monofilamentar e biopolímero de cana-de-açúcar no subcutâneo de ratos adultos. [Tese de Doutorado]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco;2014.
77. Melero-Martin JM, Khan ZA, Picard A, Wu X, Parachuti S, Bischaff J. In vivo vasculogenicpotencial of human blood-derived endothelial progenitor cells. *Blood*. 2007; 109(11): 4761-8.
78. Karlovsky ME, Kuchmer KM, Badlani GH. Synthetic biomaterials for pelvic reconstruction. *Cur UrolRep*. 2005;6(1):376-84.
79. Babu R, O'Connor K, Seeram R. current progress on bio-based polymers and their future trends. *Prog Bio*. 2013;2(1):8-11.
80. Duckett JRA, Constantine G. Complications of silicone sling insertion for stress urinary incontinence. *J Urol*. 2000; 163(6):1835-7.
81. Stanton SL, Brindley FS, Holmes DM. Silastic sling for urethral sphincter incompetence in women. *BJ ObstetGuinaecol*. 1985; 92(7):747-50.
82. Korda A, Peat B, Hunter P. Silastic slings for female incontinence. *J Pelvic Floor Dynfunct*. 1995;102(2):143-7.
83. Pinto FCM, De Oliveira ACAX, De Carvalho RR, Carneiro MRG, Coelho DR, Lima SVC, Paumgarten FJR, Aguiar JLA. Acute toxicity, citotoxicity and antigenotoxic effects of a cellulosic exopolysaecharid obtained from surgacane molasses. *Carbohydrate Polymers*. 2016;137:556-60..
84. Imamura T, Ishizuca O, Kinebuchi Y, KurizakiY, Nakayama T, Ishikawa M, Nishizawa O. Implantation of autologous bone-marrow-derived cells reconstructs

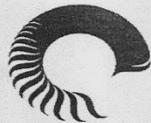
functional urethral sphincters in rabbits. *TissueEngineering*. 2011;17(7-8):1069-81.

# ANEXO

## ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM ANIMAIS

Universidade Federal de Pernambuco  
 Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n  
 50700-400 Recife - PE, Brasil  
 fones: (81) 3126 8840 / 3126 8851  
 fax: (81) 3126 8850  
 www.ccb.ufpe.br



Recife, 24 de outubro de 2012.

Ofício nº 492/12

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE  
 Para: **Profª. Danielly Carla Leal de Lima**  
 Núcleo de Cirurgia Experimental- CCS  
 Universidade Federal de Pernambuco  
 Processo nº 23076.020552/2012-06

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, **“Análise comparativa da qualidade e índice de erosão do esfíncter artificial uretral de biopolímero da cana-de-açúcar em relação à fita de silicone”**.

Concluimos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo International Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

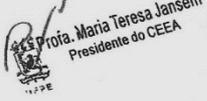
Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados.

Atenciosamente,

Origem dos animais: Biotério do Departamento de Nutrição - UFPE; Animais: ratos; Sexo: fêmeas; Idade: 2 meses; Peso: 350g; Número de animais previsto no protocolo: 40 ratos.

RECEBIDO EM: 12/10/12  
 NOME:  
 ASSINATURA: Danielly Carla L. de Lima

  
  
 Profª. Maria Teresa Jansen  
 Presidente do CEEA