Roberto Gonçalves de Lucena

Utilização do biopolímero de cana-de-açúcar como novo material para *sling* pubo vaginal: análise estereológica

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-Interno

Prof. Dr. Salvador Vilar Correia Lima

Professor Adjunto de Cirurgia Urológica – CCS, UFPE

Orientador-Externo

Prof. Dr. Luiz Alberto Pereira de Araújo

Professor Adjunto de Cirurgia Pediátrica – CCS, UFPE

Trabalho financiado pelo CNPq
Projeto de Pesquisa - Processo nº 620131/2004-7 - ACT

RECIFE
2007

Lucena, Roberto Gonçalves de

Utilização do biopolímero de cana-de-açúcar como novo material para sling pubo vaginal: análise estereológica / Roberto Gonçalves de Lucena. – Recife: O Autor, 2007.
109 folhas; il., fig., gráf., tab.,

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Cirurgia, 2007.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Biopolímero de cana-de-açúcar. 2. Sling. 3. Pubo vaginal. I. Título.

616.289	CDU (2.ed.)	UFPE
617.89	CDD (20.ed.)	CCS2007-143

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

Relatório da Defesa de Tese do Doutor Roberto Gonçalves de Lucena, Aluno do Programa de Pós-graduação em Cirurgia, Área de Concentração: Cirurgia: Clínica e Experimental. Turma iniciada em 2003.

Às oito horas do dia vinte e seis de dezembro de dois mil e sete no Núcleo de Telesáude do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco, tiveram início os trabalhos de defesa de tese do Doutor Roberto Gonçalves de Lucena, para obtenção do grau de Doutor em Cirurgia. A comissão Julgadora – eleita pelo Colegiado do Programa e homologada pela Câmara de Pesquisa e Pós-graduação – foi integrada pelos Professores: Dr. José Lamartine de Andrade Águiar (Presidente da Banca Examinadora), Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE; Dr. Frederico Teixeira Brandt, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE; e Dr. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE; Dr. Miguel Arcanjo dos Santos Júnior, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE; e Josemberg Marins Campos, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE; e para suplentes: interno: Edmundo Machado Ferraz, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE, e, finalmente, externo, o Prof. Dr. Cássio Luís Zanettini Riccetto, Livre Docente da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas; tendo, como orientador interno, o Dr. Salvador Vilar Correia Lima, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE e orientador externo, o Dr. Luiz Alberto Pereira de Araújo, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE. A tese apresentada pelo doutorando Roberto Gonçalves de Lucena versou sobre: "UTILIZAÇÃO DO BIOPOLÍMERO DE CANA-DE-AÇÚCAR COMO NOVO MATERIAL PARA *SLING* PUBO VAGINAL: ANÁLISE ESTEREOLÓGICA". Após, a explanação de 30(trinta) minutos, pelo candidato, justificando a escolha, o objetivo da pesquisa, a metodologia empregada e os resultados obtidos, baseados na análise estatística, ilustrados com data show, foram realizados as argüições na seguinte ordem: Prof. Dr. Josemberg Marins Campos, Prof. Dr. Miguel Arcanjo dos Santos Júnior, Prof. Dr. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz, Prof. Dr. Frederico Teixeira Brandt, e Prof. Dr. José Lamartine de Andrade Aguiar (Presidente da Banca Examinadora); todas as argüições foram feitas no tempo regulamentar, e respondidas pelo candidato. Ao término das mesmas, a Comissão Julgadora proferiu o seguinte resultado: Prof. Dr. José Lamartine de Andrade Aguiar, menção "Aprovado", Prof. Dr. Frederico Teixeira Brandt, menção "Aprovado", Prof. Dr. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz, menção "APROVADO", Prof. Dr. Miguel Arcanjo dos Santos Júnior, menção "Aprovado", Prof. Dr. Josemberg Marins Campos, menção "APROVADO". Conclusão, o candidato, foi aprovada com menção "Aprovado". Nada mais havendo a registrar foram encerrados os trabalhos do que, para constar, elaborei o presente relatório que vai por mim, Niége Maria de Paiva Melo, Secretária, assinados depois do Senhor Presidente, e demais integrantes da Comissão Examinadora. Recife, 26 de dezembro de 2007.

Prof. José Lamartine de Andrade Aguiar (Presidente)
Prof. Frederico Teixeira Brandt
Prof. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz
Prof. Miguel Arcanjo dos Santos Júnior
Prof. Josemberg Marins Campos
Sra. Niége Maria de Paiva Melo (secretária)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR
Prof. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR
Prof. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DIRETOR
Prof. José Thadeu Pinheiro

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
DIRETOR SUPERINTENDENTE
Prof. George da Silva Telles

DEPARTAMENTO DE CIRURGIA
Prof. Marcelo Salazar da Veiga Pessoa

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA
COORDENADOR
Prof. Carlos Teixeira Brandt

VICE-COORDENADOR
Prof. José Lamartine de Andrade Aguiar

CORPO DOCENTE
Prof. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz
Prof. Carlos Teixeira Brandt
Prof. Cláudio Moura Lacerda de Melo
Prof. Edmundo Machado Ferraz
Prof. Frederico Teixeira Brandt
Prof. José Lamartine de Andrade Aguiar
Prof. Salvador Vilar Correia Lima
Prof. Sílvio Caldas Neto

DEDICATÓRIA

*À **Patrícia**, **Gabriel** e*
***Maria Clara** com quem*
dedico mais esta etapa
das nossas vidas.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Nelson Rodrigues Netto Jr,

meu mentor e grande incentivador da pesquisa.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Salvador Vilar Correa Lima,

pelos ensinamentos a mim conferidos, incentivo e orientação.

Ao Prof. José Lamartine de Andrade Aguiar, pela inestimável dedicação a este projeto.

A todos os que fazem o Núcleo de Cirurgia Experimental (NCE) da UFPE, Dr. Antonio Roberto de Barros Coelho, Dra Adriana Ferreira, Dr. José Joaquim, pela cooperação com os experimentos.

Ao Prof. Dr. Alen Cowley Jr. e Dra. Nancy Rusch,

pela orientação durante o início da minha atividade acadêmica.

Aos residentes da Disciplina de Urologia da UFPE,

pelo apoio quando solicitado.

Aos Professores e assistentes da Disciplina de Urologia da Unicamp, pelo ensinamento em importante etapa da minha formação.

À Profa. Ana Patrícia Cavalcanti, pela revisão ortográfica.

SUMÁRIO

Página

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS VII
LISTA DE FIGURAS VIII
LISTA DE GRÁFICOS IX
RESUMO X
ABSTRACT XI

1. INTRODUÇÃO 01
    1. Apresentação do problema 05

2. OBJETIVOS 07
    2.1 Geral 08
    2.2 Específicos

2. LITERATURA 09

3. MÉTODOS 24
    3.1 População e local do estudo 25
    3.2 Seleção dos grupos 25
    3.3 Procedimentos 25
    3.3.1 Preparo pré-operatório 25
    3.3.2 Anestesia 26
    3.3.3 Técnica cirúrgica 26
    3.4 Confecção do biopolímero 28
    3.5 Sacrifício 30
    3.6 Confecção das lâminas 32
    3.7 Análise estereológica 32
    3.8 Análise estatística 35
    3.9 Considerações éticas 36

Página

4. RESULTADOS 37
4.1 Estudo biomecânico 44

5. DISCUSSÃO 46
5.1 Perspectiva futura 53

6. CONCLUSÕES 54

REFERÊNCIAS 56

Anexo 70
Anexo 1. Normatização da Tese 71

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DPU	distância pubouretral
DSC	diferencial exploratória
DV	densidade voluntária
EECA	Estação Experimental de Cana-de-Açúcar
FDA	*Food Drug Administration*
FMT	força máxima de tração
GLP	glicose, levedura e peptona
IUE	incontinência urinária de esforço
JUV	junção uretrovesical
JUV-SP	junção uretrovesical sínfise púbica
NEC	Núcleo de Cirurgia Experimental
Pt	pontos testados
PTFE	polytetrafluoreethylene
PVP	polivinilpirrolidona
SIC	Sociedade Internacional de Continência
SIS	small intestine submucosa
SPARC	suprapubic arch
TVT	tension–free vaginal tape
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Seqüência demonstrando dissecção da região sub-uretral com colocação e posterior fixação do *sling* de polímero em ratas	27
Figura 2	Armazenamento para esterilização	29
Figura 3	Tipos de membranas de biopolímero: contínua e perfurada (fenestrada)	29
Figura 4	No momento do sacrifício, parede abdominal rebatida mostrando *sling* de biopolímero e sua localização	31
Figura 5	Após retirada da parede abdominal, local identificado mostra ponto onde era realizado corte para estudo histológico	31
Figura 6	Observação de estruturas tridimensionais em cortes bidimensionais. O volume aparece como área; a área aparece como linha e a linha aparece como ponto	33
Figura 7	Sistema-Teste triangular M-42 de “multiuso”. O sistema tem 21 linhas com comprimento conhecido (d) e 2 pontos de teste em cada extremidade (total de 42 pontos-teste).	34
Figura 8	No sistema M-42, apenas os círculos brancos são contados (não tocam a linha grossa proibida).	34
Figura 9	Incorporação do material de biopolímero	39
Figura 10	*Sling* de biopolímero implantado sem evidenciar complicações teciduais agudas e boa incorporação à parede abdominal	39
Figura 11	Polímero circundado por células gigantes de tipo corpo estranho (fase mais precoce)	40
Figura 12	Polímero no espaço sub-uretral	41
Figura 13	Evidenciamos a membrana de biopolímero com intenso infiltrado inflamatório	42
Figura 14	Membrana de biopolímero com pequena neoformação vascular	43

LISTA DE GRÁFICOS

.

		Página
Gráfico 1	Análise da deposição de fibras colágenas no tecido sub-aponeurótico de ratos onde um grupo recebeu tela de polipropileno – controle e outro grupo recebeu membrana de polímero de cana-de-açúcar. p > 0,05.	38
Gráfico 2	Análise da deposição de fibras colágenas no tecido sub-uretral de ratos onde um grupo recebeu tela de polipropileno – controle e outro grupo recebeu membrana de polímero de cana-de-açúcar. * p < 0,05.	41
Gráfico 3	Médias da força máxima de tensão, segundo o tipo de tela e o grupo	45

RESUMO

Introdução e Objetivos: O entendimento universal que os *slings* sub-uretrais representam o padrão-ouro no tratamento da incontinência urinária feminina, leva a busca de um material heterólogo adequado para esta finalidade. Um polissacarídeo extracelular obtido por síntese a partir do melaço de cana-de-açúcar produzido no Laboratório de Microbiologia Experimental da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Depois de purificado, é um produto transformado em uma película estável, sendo utilizado em diversos protocolos desenvolvidos pelos grupos de pesquisa, os quais estão servindo de base para diversas aplicações clínicas. O objetivo deste estudo é analisar os resultados da interação do biopolímero com o hospedeiro, analisando a reação inflamatória causada pelo novo material, utilizando a ferramenta da estereologia para sua quantificação e comparando com material sintético de comportamento já conhecido. **Materiais e Métodos**: Foram utilizadas 40 (quarenta) ratas, variando de 200 a 300 gramas, que foram anestesiadas conforme protocolo do núcleo de cirurgia experimental do Departamento de Cirurgia. Nos grupos A e B, foi utilizado o *sling* de biopolímero e, nos grupos C e D, tela de prolene. O sacrifício foi realizado após 30 e 90 dias. Após o sacrifício, a bexiga e uretra eram retiradas em bloco, junto com a parede abdominal anterior, para que, após a fixação com formol 10% tamponado, fossem realizadas secções com zona de interesse na região sub-uretral e inserção do *sling* na parede abdominal. As lâminas foram coradas com hematoxilina – eosina e picro sirius. **Resultados e conclusões:** O material implantado mostrou-se absolutamente inerte e preservado na região implantada. Não observamos alteração morfológica ao nível da membrana de celulose, porém nas suas adjacências, vimos discretas reação tipo corpo estranho, que foram encontradas eventualmente. Em algumas áreas, observou-se processo de neovascularização, quando avaliado quantitativamente, e verificou-se presença de maior quantidade de fibras colágenas na região sub uretral no grupo que utilizou o *sling* de polímero. Na região sub aponeurótica, foi observada presença de colágeno semelhante entre os grupos sem significância estatística. A membrana de biopolímero mostrou-se no presente estudo, ser material estável, de fácil manipulação, com reação tissular mínima, com boa incorporação ao hospedeiro. Ocorre maior reação inflamatório na região sub uretral, porém sem causar erosão.

Descritores: *Sling*; Incontinência urinária feminina; Biopolímero.

ABSTRACT

Introduction and objectives: Since the universal acceptance of the sling operation as the gold standard for the treatment of female stress urinary incontinence the search for the ideal heterologous material for this purpose has been constant. Various materials have been tested during the past 15 years. An extracellular polysaccharide has been produced trough the action of the bacteria Zogloeae sp which was isolated at the experimental microbiological laboratory of the Universidade Rural de Pernambuco. This biopolymer after purification is transformed in a stable pellicle which has been used in various protocols that are the basis for research in different experimental and clinical protocols. The objective of this study is to analyze the results of interaction of this biopolymer with the host looking at the inflammatory reaction using the tool of stereology to quantify this reaction and comparing with a synthetic material already used with this purpose. **Materials and Methods**: Fourty Wistar rats weighing between 300 and 350 grams were used for this purpose. Animals were anesthetized according to the protocol of the Núcleo de Cirurgia Experimental da Universidade Federal de Pernambuco. In groups A and B the biopolymer was used and sacrifice was done at 30 and 90 days. Similar procedure was used in groups C and D using a polypropylene mesh. After sacrifice bladder and urethra were removed including the musculature of the anterior abdominal wall. After fixation with 10% formalin the material was sent for histological analysis. Studies of stereology and tensilometry were also done to test the amount of inflammatory reaction and material resistance. Haematoxilin-Eosin and picro Sirius were used for stainig. **Results and conclusions:**The implanted material shown to be inert and well preserved at the implanted region at the time of examination.Morphologic alterations were not found at the membrane level but some ractions foreign body type were observed at the adjacent structures. In some areas a process of neovascular formation was observed. Histologically was seen a greater amount of collagen fibers at the sub urethral region in the group utilizing the biopolymer. Similar collagen collection was also found at the subaponeurotic region but this had not statistical significance. The biopolymer membrane has shown in the present study to be a material of easy manipulation with a minimum tissue reaction and good incorporation to the host organism.

Keywords: *Sling*; Female stress urinary incontinence; Biopolymer.

INTRODUÇÃO

1.1 **Apresentação do problema**

A incontinência urinária feminina atinge milhões de mulheres e tem alta prevalência no mundo, chegando a 28% em alguns países da Europa[1]. A prevalência global da incontinência urinária feminina varia de 10 a 52% das mulheres adultas[2]. Trata-se, portanto, de um problema de saúde pública que afeta a auto-estima, levando ao isolamento social e repercutindo sobre a qualidade de vida das mulheres.

Diversos procedimentos cirúrgicos têm sido propostos no tratamento da incontinência urinária de esforço (IUE) feminina. Muitos apresentam falha ao longo do tempo. Os *slings* pubovaginais têm se mostrado eficazes e a utilização do *sling* fascial autólogo foi largamente empregado e se tornou o tratamento de eleição da IUE nas mulheres[3,4]. Petros & Ulmsten descreveram o TVT (tension–free vaginal tape), técnica que se baseava na teoria integral e na utilização de material permanente sem a utilização da tensão sub-uretral e pequenas incisões, com o intuito de diminuir a morbidade desses procedimentos[5].

Vários materiais são utilizados na confecção dos *slings* pubo-vaginais. As opções incluem materiais sintéticos, enxertos alográficos e tecidos autólogos. Os *slings* sintéticos são materiais inabsorvíveis, estão disponíveis em vários tamanhos, e, geralmente, com dispositivos que facilitam sua inserção, minimizando o tempo da cirurgia. Entretanto, o risco de erosão e de infecção do material sintético ainda é uma preocupação. Recente publicação traz à comunidade científica alto índice de erosão vaginal e extrusão de determinado *sling* utilizado na IUE, o que torna ainda mais atual a procura de um material com melhores características para ser utilizado nos *slings* pubovaginais[6].

O exopolissacarídeo desenvolvido e sintetizado na estação experimental de cana-de-açúcar de Carpina (PE), da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), a partir da bactéria *Zoogloea sp,* utilizando o melaço da cana-de-açúcar como substrato, tem sido objeto de estudo experimental, com o objetivo de desenvolver produtos biocompatíveis e que possam, após aperfeiçoados, serem utilizados em ensaios e prática clínica[7,8].

Esta pesquisa foi realizada como uma etapa de investigação de utilização como *sling* no tratamento da incontinência urinária de esforço, à medida que o biopolímero apresenta baixa citotoxicidade e biocompatibilidade, mostrou-se eficaz, quando utilizado em áreas correlatas, como uretra e em vasos sangüíneos[9].

OBJETIVOS

2.2.1 **Geral**

- Avaliar a utilização da membrana de biopolímero de cana-de-açúcar como *sling* pubo-uretral em ratas.

2.2.2 **Específicos**

- identificar reações teciduais agudas, como formação de abscessos e fístulas decorrentes da utilização do biomaterial;
- estudar a resposta inflamatória tecidual do hospedeiro ao biopolímero e ao material controle;
- quantificar a formação de fibrose, comparando o material estudado e o material controle;
- avaliar a presença de erosão sub-uretral, relacionando-a ao material estudado e ao material controle.

LITERATURA

A continência urinária na mulher é uma complexa coordenação entre bexiga, uretra, músculos do assoalho pélvico e tecido conjuntivo que circunda essas estruturas. O comprimento de 03 a 04cm da uretra mantém a pressão suficiente para evitar a passagem de urina durante os períodos fisiológicos de aumento da pressão vesical, principalmente durante tosse, espirro e atividades físicas[5,10].

O músculo esquelético na uretra feminina (rabdoesfincter) é composto por pequenas fibras tipo I, localizadas predominantemente, no terço médio. O músculo liso uretral é disposto em fibras longitudinais e circulares. E ambos, tanto a musculatura lisa como esquelética, são responsáveis pela manutenção do tônus, sendo, entretanto, a musculatura esquelética a responsável pela continência, quando ocorre aumento da pressão abdominal. A musculatura pélvica tem grande importância no mecanismo de continência. A contração da musculatura elevadora do ânus contra a sínfise púbica funciona como anteparo à perda urinária e comprime a parede uretral, prevenindo a eliminação da urina durante o aumento da pressão abdominal[5,10,11].

A continência urinária não depende apenas da localização anatômica da uretra proximal, não sendo um processo passivo, mas conseqüência da insuficiência da ação dos músculos pubo-coccígeos, do elevador do ânus e do relaxamento do ligamento pubo-uretral, deixando a área aberta ao esforço. Além disso, outro fator considerável seria o enfraquecimento da parede vaginal, responsável pelo suporte das terminações nervosas do colo vesical e pela transmissão das forças geradas pelos músculos do assoalho pélvico[10-12].

A Sociedade Internacional de Continência (SIC) definiu a nomenclatura para incontinência urinária, como sendo qualquer perda involuntária de urina[13]. Sua prevalência depende da intensidade e da freqüência em que ocorre. Quando

estudada qualquer tipo de perda, sua predominância chega a 29% (11-72%) e, quando se avaliam perdas graves e diárias, a prevalência varia de 03 a 17% (média 07%)[14].

A incontinência urinária grave ocorre em 25% dos casos e sua preponderância em instituições de suporte ao idoso chega a 50%. Esse elevado índice pode causar surpresa a alguns profissionais de saúde, já que muitas mulheres não relatam a sintomática delas, demoram a procurar ajuda, provocando, com isso, um atraso no tratamento e uma piora significativa na qualidade de vida[15,16].

Apesar de alguns estudos apresentarem índices semelhantes de prevalência entre mulheres brancas e negras[17,18], outros demonstram uma maior prevalência em mulheres brancas[19]. Quando avaliados os fatores de risco, os que se relacionam diretamente com uma maior incidência de incontinência urinária têm-se paridade, obesidade e parto vaginal, sendo este último o mais importante fator relacionado à perda urinária em mulheres[20,21]. Cerca de 30% delas tornam-se incontinentes após o primeiro parto vaginal e estudos demonstraram que episiotomia não protege desse risco[22] o que parece ocorrer com o parto cesariano[23].

Apesar da incontinência urinária não ser conseqüência inevitável da idade, isso identifica presença de fatores importantes relacionados à perda de urina, como a obesidade e a privação hormonal, além de observarmos, nessa população, uma maior incidência de bexiga hiperativa[24]. O papel da reposição hormonal ainda é controverso em relação aos benefícios no padrão de continência da mulher[25].

A maioria dos casos de incontinência urinária é diagnosticada pela história clínica, a qual fornece informações relevantes na avaliação da mulher incontinente, que, posteriormente, são associadas a sinais clínicos e a exames complementares.

A utilização de questionários pode ser útil, principalmente para avaliar a gravidade e a resposta ao tratamento utilizado[26].

O *pad test* tem importância na quantificação da perda de urina, apesar de pouco preciso, pode demonstrar quão grave é essa perda e também pode ser utilizado como comparativo após o tratamento[27].

O estudo urodinâmico é importante etapa na avaliação da mulher incontinente. Este não necessita ser realizado em todas as mulheres, principalmente quando a perda urinária típica é associada aos esforços, sem qualquer outro sintoma miccional em paciente que não tenha sido submetida a tratamento prévio. Consiste no cateterismo vesical e retal, com posterior infusão de soro fisiológico, medição das pressões abdominais e vesicais e identificação de perda durante esforço, entre outras alterações vesicais. Tal estudo visa quantificar a pressão vesical em que ocorre perda da urina, sendo importante na classificação da incontinência urinária[28].

Estudo comparativo entre o diagnóstico clínico e a avaliação urodinâmica mostrou que o custo-benefício de ambos não justifica o uso indiscriminado do estudo urodinâmico, na avaliação pré-operatória da incontinência urinária de esforço típica[29].

Alternativas não-invasivas, como a ultra-sonografia transvulvar, passaram a ser objeto de estudo na avaliação da IUE, através das medidas da distância entre o púbis e a uretra, chamada distância pubouretral (DPU) e da distância longitudinal entre a junção uretro vesical (JUV) e a sínfise púbica (JUV-SP), visto que permite a visualização da sínfise púbica, da JUV e da uretra proximal na mesma incidência. Essas distâncias servem para determinar as posições da JUV e da uretra proximal,

diretamente envolvidas com a funcionalidade da continência e da micção e com a incontinência urinária[30].

O tratamento clínico da incontinência urinária baseia-se em diminuir a atividade do detrusor, aumentar o tônus do sistema pseudo-esfincteriano da uretra, ou o tônus e o trofismo dos elementos do assoalho pélvico. As principais formas terapêuticas são baseadas em uso de estrogênios orais ou locais; no uso de anticolinérgicos; antidepressivos tricíclicos; agonistas alfa-adrenérgicos e através da fisioterapia da musculatura pélvica, eletro estimulação dos músculos do assoalho pélvico e do *biofeedback*[31,32].

Inúmeros procedimentos cirúrgicos têm sido descritos para o tratamento da IUE. A uretropexia de Burch é o procedimento cirúrgico mais estudado, com longos seguimentos. Estão descritas taxas de cura de 75 a 90%[33]. Existem evidências de declínio nessas taxas ao longo do tempo, posteriormente, com o surgimento da técnica laparoscópica e houve uma maior procura inicialmente por esta via, porém, foi demonstrado que não existe diferença nos resultados clínicos entre a cirurgia de Burch via laparoscópica e convencional[34].

A cirurgia de Kelly-Kennedy ou colporrafia anterior é, sem dúvida, a técnica mais difundida e aceita no mundo, principalmente entre os ginecologistas. Consiste na plicatura da fáscia periuretral, acompanhada do ponto duplo de Kennedy na altura do colo vesical, tendo índice de sucesso de 63% , decaindo para 37% após 05 anos[35].

A uretrocistopexia foi iniciada em 1959, recebendo posteriormente várias modificações, inclusive outras técnicas. De forma geral, essas técnicas utilizam a passagem de uma agulha através de uma incisão abdominal e fixação de suturas na

aponeurose do músculo reto abdominal. Os índices de sucesso em curto prazo ficam em torno de 87%, chegando a 47%, em 05 anos[36].

A IUE também tem sido tratada com injeções de substâncias biocompatíveis como teflon, gordura autóloga, colágeno, silicone (macroplastique), balões sub-uretrais, *durasphere*, entre outras. Aplica-se na submucosa da região do colo vesical 03 a 06mL destas substâncias, até que haja aproximação das paredes do mesmo, provocando obstáculo ao fluxo urinário. Estes procedimentos têm eficácia e aplicabilidade limitadas e ficam reservados para casos de falha nos tratamentos anteriores ou quando a cirurgia é contra indicada [37.]

O interesse pelos procedimentos de *sling* teve início a partir de 1978, em um estudo autores avaliaram 52 pacientes através de abordagem abdominal e vaginal combinada, utilizando a fáscia do músculo reto abdominal[38].

Vários tecidos autólogos podem ser utilizados para confecção do *sling* com resultados satisfatórios e índices de cura em torno de 90%. Algumas modificações técnicas têm sido introduzidas, ao longo dos anos, por diversos autores, com intuito da diminuição da morbidade e aproveitamento de outros tecidos, como a própria parede vaginal e a fáscia lata, com elevados índices de cura[38,39].

O uso de tecidos heterólogos ou sintéticos foi proposto como alternativa para diminuição ainda mais significativa da morbidade cirúrgica e simplificação da técnica. Entre os materiais disponíveis, existem o xenoenxerto de submucosa de suíno, fita de propileno, polytetrafluoreethylene (PTFE), silicone, entre outros. Cada material tem suas características, sendo as telas de polipropileno popularizadas através do TVT e, posteriormente, disponíveis com outras variações comerciais, com algumas diferenças de porosidade, medidas e vias de acesso[39].

A discussão a respeito de qual seria o melhor material para a utilização na IUE para o implante transvaginal ainda é bastante atual. Infelizmente, estudos controlados ainda apresentam dados controversos sobre as diversas questões.

O material ideal para utilização de *sling* deveria ser inerte, estéril, durável, não carcinogênico e deveria causar o mínimo de reação inflamatória e imunológica. Além disso, deveria ter baixo custo, facilmente acessível e de fácil manuseio[40].

Quando consideramos os princípios básicos da prevenção de infecção e a integração tecidual no hospedeiro, parece claro que, teoricamente, as características seriam a favor da utilização da tela sintética tipo I. Esse material promove rápida infiltração tecidual e ativação do mecanismo de defesa do hospedeiro, sendo que os maiores diâmetros dos poros reduzem a rigidez do material e facilitam a incorporação nos procedimentos de reconstrução. Até o momento, a tela mais freqüentemente utilizada pelos cirurgiões nos procedimentos de *sling* é a de polipropileno[41,42].

As experiências iniciais com as telas sintéticas tipo II e III, nas cirurgias de *sling* pubovaginal e de prolapso, têm sido associadas a um alto índice de complicações relacionadas à tela, sendo um quantitativo de erosão em torno de 20 a 30% dos pacientes que utilizaram o mersilene e dacron[43,44]. Nesta experiência inicial, as incisões maiores, relacionadas a uma maior dissecção e tensão maior aplicada aos *slings*, podem ser o fator associado à isquemia, com aumento do potencial e infecção e exposição do material.

O *sling* com TVT foi o protótipo dessa nova classe de *slings* sintéticos, designado de acordo com a teoria integral. Seus resultados iniciais animadores estimularam outras indústrias a desenvolverem dispositivos minimamente invasivos pela abordagem uretral média[45,46].

As complicações relacionadas à abordagem retropúbica dos procedimentos fomentaram o desenvolvimento da via transobturatória para minimizar tais complicações[47].

A perfuração vesical intraoperatória é a complicação mais freqüentemente observada na abordagem suprapúbica de inserção do TVT, variando de 0 a 25%. Abouassaly et al[48]., em uma revisão de 241 pacientes, observaram um índice de perfuração de 5,8%[48]. Em outro estudo, envolvendo 2.500 pacientes, evidenciou-se um índice de lesão vesical de 4,4% nos pacientes que tinham procedimento prévio para incontinência, sendo este número reduzido para 2% nas pacientes sem cirurgia prévia[49].

Trabalho multicêntrico de 38 hospitais na Finlândia com 1.455 pacientes identificou 3,8% de perfuração vesical[50]. Lesões em outros órgãos, apesar de raras, podem ocorrer. Lesões intestinais já foram descritas e ocorrem com maior freqüência em pacientes com múltiplas cirurgias[51].

O sangramento é uma das complicações da abordagem retropúbica, sendo difícil definir o que seria um sangramento significativo. Abouassaly et al[48]. definiram em seu estudo como sendo aquele maior que 500mL e que atinge um índice de 2,5% dos pacientes, não havendo necessidade de transfusão em nenhum deles[48].

Como conseqüência do sangramento, a formação de hematoma retropúbico é um dos achados dessa abordagem. Estudo utilizando o *suprapubic arch* (SPARC) observou a redução do hematócrito entre 01 a 14% e descreve um índice de reintervenção como conseqüência do sangramento de 2,9%[52]. Em recentes séries publicadas, a formação de hematoma retropúbico varia de 1,5 a 1,9%[40,52,53].

Meschia et al.[54] demonstraram que apenas 0,5% de uma série de 404 pacientes requereram reintervenção como conseqüência de hematoma

retropúbico[54]. Lesão em grandes vasos e nervos são raras. Kuava & Nilsson[50] evidenciaram uma incidência de 0,1% num estudo de 1.455 pacientes [50].

As complicações relatadas pela abordagem retropúbica serviram de estímulo para a procura de uma técnica que minimizasse esses riscos, a via transobturatória surgiu como nova opção em que o *sling* servia de suporte para uretra e passava através do forame obturatório, com a grande vantagem que o espaço retropúbico não era violado e os potenciais riscos de lesão vesical, peritoneal e de grandes vasos seriam minimizados, além do menor risco pela passagem retropúbica nos pacientes com cirurgia pélvica e nas pacientes obesas[55].

Inicialmente descrito por Delorme, nesse procedimento, através de uma incisão vaginal, uma agulha especial é levada até a membrana obturatória, a qual atravessa o forame obturatório medialmente e é exteriorizada na porção medial da coxa[47]. De Leval utiliza o mesmo trajeto, entretanto, no sentido inverso para utilização do TVT pela via transobturatória, teoricamente, no sentido de dentro para fora, existe menor possibilidade de lesão inadvertida da uretra, bexiga e vagina[56]. Os resultados iniciais e com pequeno seguimento demonstram resultados similares aos procedimentos retropúbicos[57,58.] Estudo com seguimento mínimo de um ano, mostrou 80% de pacientes sem perda e 12% com melhora significativa e relata importante dado que paciente com pressão de perda menor que 30cm / H_2O não apresentou bom resultado[59].

Continuam os questionamentos sobre a eficácia destes procedimentos em casos complicados de IUE associada à insuficiência esfincteriana e presença de uretras fixas com falhas de procedimentos prévios[59,60]. Nesses casos, uma possibilidade seria a utilização de *sling* híbrido, o BioArc® (*American Medical Systems*), e uma sistema minimamente invasivo em que o cirurgião pode interpor

material autólogo integrado ao sistema, podendo utilizar a via transobturatória. Anger et al[61]. demonstraram que o BioArc® foi uma solução efetiva em mulheres com IUE grave e que requeriam um *sling* com maior coaptação da uretra[61]. Eisenberg & Badlani[62] utilizaram o BioArc® em mulheres com IUE e prolapso vaginal[62]. Apesar dos resultados iniciais e de curto seguimento, podem ser uma opção para essas pacientes com IUE complicada e que necessitam uma maior coaptação uretral.

Urgência miccional "de novo" e retenção urinária são complicações que podem ser evidenciadas em conseqüência da maioria dos procedimentos para IUE. O índice de urgência miccional, em geral para procedimentos de *sling,* fica em torno de 20%[63]. Predizer os pacientes com maior risco de desenvolver urgência pós-operatória nem sempre é possível, esses sintomas geralmente são uma conseqüência de um certo grau de obstrução e sintomas irritativos pela presença do *sling*. Teoricamente, procedimentos como o TVT têm pequena chance de causar urgência, devido a não produção de tensão sub-uretral e, sim, apenas suporte para minimizar os riscos de obstrução.

Estudo, usando ultra-sonografia transperineal antes e depois da colocação do TVT, revelou certo grau de elevação do colo vesical[64]. Alguns estudos demonstraram a incidência de 06 a 15% de desenvolvimento de urgência pós TVT[48,65,66].

A retenção urinária depende de fatores intraoperatórios, como a colocação e tensão dada ao *sling*. A incidência de retenção urinária prolongada por *sling* pubovaginal autólogo varia de 02 a 12%[67,68]. Um grande estudo multicêntrico apresentou uma incidência prolongada de retenção urinária que necessitou de cateterismo vesical por mais de quatro semanas em 03 % dos pacientes[69].

A incidência pós-operatória de retenção urinária por TVT varia de 02 a 09 %, que é similar à colocação de *sling* autólogo[70-72]. deTayrac et al.[71] evidenciaram que 25% dos seus pacientes desenvolveram retenção urinária transitória, com resolução dos sintomas com prolongamento da cateterização vesical e nenhum dos pacientes necessitou intervenção cirúrgica[71],[73].

Tradicionalmente, urofluxometria, avaliação urodinâmica e cistoscopia são usadas para diagnosticar complicações obstrutivas da cirurgia de *sling.* Lorenzo et al.[74] utilizaram a ressonância nuclear magnética com *bobina* endoretal, para avaliar a região periuretral, e fibrose retropúbica como exame prévio para programação de uretrólise[74].

O manuseio da obstrução urinária iatrogênica por procedimento de tratamento de IUE continua um desafio. Muitas técnicas foram desenvolvidas, incluindo dilatação uretral, incisão do *sling* e uretrólise[75]. Mais recentemente, procedimentos menos invasivos com apenas abordagem transvaginal e incisão da fita de polipropileno têm alcançado índices de sucesso, variando de 93 a 100%. Esses procedimentos parecem estar associados à mínima morbidade e a índices aceitáveis de recorrência da IUE[76-78].

As erosões vaginal e uretral são as mais importantes e potencialmente complexas complicações ao uso de *slings* sintéticos na cirurgia de tratamento da IUE. Numerosos fatores estão implicados na erosão causada pelo *sling*, incluindo fatores iatrogênicos como o traumatismo uretral durante o cateterismo vesical, tensão excessiva aplicada ao *sling* durante sua colocação. Outros fatores inerentes ao paciente devem ser considerados, como a pobre irrigação sangüínea da uretra secundária, a radioterapia ou deficiência estrogênica, infecção e rejeição de corpo

estranho. Os sintomas presentes podem ser: presença de secreção vaginal, infecção urinária, hematúria, dor vaginal e uretral ou sintomas urinários irritativos[79-81].

O interesse inicial pelos materiais sintéticos para IUE iniciou-se com o PTFE, que apresentou alto índice de erosão variado de 11a 16%. Com a introdução das novas telas de polipropileno (TVT, SPARC), já se esperava uma melhora nos resultados, pois esses materiais eram mais biocompatíveis. Um estudo interessante de Gilleran et al.[79] apresentou um declínio de 27 para 12 % na erosão causada pelo polyethyleno, e de 31 para 2% do PTFE, quando analisados períodos entre 1991-1993 e 1994-1998. Ele sugere que essa melhora seria pela qualidade técnica de desinfecção vaginal e antibiótico profilaxia[79].

A erosão dos *slings* sintéticos, nas séries contemporâneas, varia de 0,3 a 4,4%, o que reitera a importância da técnica cirúrgica e do controle da infecção para o combate e redução dos níveis desta complicação[80,81].

Foi observada uma demora na identificação e, conseqüentemente, no tratamento da erosão dos *slings* sintéticos, variando de 9 a 10 meses[70,81]. O manuseio ideal dessa complicação está associado à completa remoção do material, tanto por endoscopia como pela abordagem transvaginal, e posterior avaliação quanto à necessidade de tratamento da incontinência. Kobashi & Govier[80] sugerem quando a erosão é limitada, há possibilidade de secção parcial do material com bom índice de sucesso[80].

Os biopolímeros são macromoléculas de alto peso molecular, formados pela repetição de unidades fundamentais unidos numa seqüência e produzidos por várias espécies de sistemas biológicos. Os diferentes grupos funcionais dos polímeros podem se envolver em uma grande variedade de reações químicas[82,83].

Muitas bactérias produzem polímeros extracelulares independentemente de elas se propagarem em culturas de suspensão ou biofilmes. No último caso, os polímeros bacterianos apresentam-se capsulares altamente hidratados, anexados às células. Os polímeros bacterianos, quase exclusivamente polissacarídeos, têm sido estudados em virtude de sua aplicação industrial[82,83].

Polímeros extracelulares microbianos são importantes principalmente, pois a interação entre a célula bacteriana e o substrato, conduzindo para uma adesão irreversível, que é determinada pelas propriedades físicas das macromoléculas na superfície da célula e são freqüentemente observados por microscopia eletrônica como matriz extracelular, responsável pela integridade do biofilme. Em tais casos, os polímeros aparecem como fibras condensadas se estendendo da célula[83,84].

A produção de exopolissacarídeos através da síntese biológica “in vivo” envolve macromoléculas como proteínas, ácidos nucléicos e polissacarídeos[85]. Os exopolissacarídeos são produzidos largamente por bactérias e microalgas e, menos freqüentemente, por leveduras e fungos. Os polímeros de origem bacteriana apresentam maior viabilidade industrial e comercial. Entretanto, apenas uma pequena fração tem sido comercializada apesar da potencialidade para substituir as gomas obtidas a partir de plantas e algas marinhas[83,86,87].

Atualmente, tem-se verificado o interesse pelo uso da celulose da origem bacteriana. Algumas bactérias Gram-negativas, tal como *acetobacter xylinium*, têm a capacidade de produzir celulose. Essa produção se dá na forma de uma película extracelular que rapidamente se agrega em microfibrilas celulósicas[87].

Algumas das características de polímeros contendo carboidratos são elas a sua potencial biocompatibilidade, o que viabiliza a sua aplicação farmacológica e biomédica. Algumas destas aplicações, como a utilização em sistema de liberação

de drogas, utilização em curativos e dispositivos para implantes cirúrgicos já foram descritas[88-91].

Os biopolímeros de maior interesse são os extracelulares, devido a sua maior facilidade de extração e purificação. Em geral, os exopolissacarídeos não contêm combinações orgânicas voláteis ou substâncias químicas tóxicas e podem ser sintetizados por fermentação de recursos renováveis, que incluem produtos de desperdícios orgânicos, como subprodutos derivados da cana-de-açúcar, existindo atualmente a tecnologia eficiente para ampla produção destes exopolissacarídeos[91-93].

A *Zoogloea ramifera* 115, uma bactéria Gram-negativa, foi primeiramente isolada por Friedman & Dugan em 1968, produziu um exopolissacarídeo denominado de *Zooglan*, demonstrando uma forte afinidade por íons metálicos e aminoácidos, apresentando um comportamento reológico peculiar. Investigações estruturais nesse biopolímero estabeleceram que o *Zooglan* é um exopolissacarídeo altamente ramificado composto de D-glicose, D-galactose e ácido pirúvico[85,94,95].

O microorganismo isolado na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar (EECA) de Carpina-UFRPE e identificado no Departamento de Antibiótico da UFPE, *Zoogloea sp*. cultivada em meio rico de carboidratos como o melaço, obtêm-se um biopolímero com taxa de conversão de 50%[96]. O biopolímero recebeu tratamento químico de purificação e apresentou-se com propriedades físicas e químicas adequadas para a produção de próteses. O novo material apresenta baixa citotoxicidade, assim, tem sido utilizado como produtos para aplicação biológica entre as quais: prótese arterial, reconstrução de membrana timpânica e condutor de células em cultura[9,83,97,98].

O biopolímero de cana-de-açúcar tem sido uma importante linha de pesquisa da Pós-Graduação em Cirurgia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, e tem sido objeto de estudos em teses de mestrado e doutorado, sendo instrumento de pesquisa e suas aplicações já avaliadas na cicatrização das feridas e no tratamento da doença de Peyronie[9,96].

MÉTODOS

3.1 **População e local do estudo**

Nesta investigação, foram estudadas 40 ratas de linhagem Wistar, sadias, procedentes do biotério do Departamento de Nutrição e aclimatadas por 15 dias no Núcleo de Cirurgia Experimental do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco.

Todas receberam alimentação padrão tipo Labina® e água *ad libitum*, até o início dos experimentos.

3.2 **Seleção dos grupos**

Foram utilizados 40 animais, divididos em quatro grupos, alocados para colocação cirúrgica do *sling* conforme descrição abaixo:

Grupo A – *sling* com biopolímero

Grupo B – *sling* com biopolímero

Grupo C – *sling* com tela de polipropileno

Grupo D – *sling* com tela de polipropileno

3.3 **Procedimentos**

3.3.1 **Preparo pré-operatório**

Consistiu na suspensão da dieta, imediatamente, antes do procedimento cirúrgico, e tricotomia abdominal, após a indução anestésica.

3.3.2 **Anestesia**

Os animais foram anestesiados com cloridrato de Xylazina 2% e Ketamina por via intramuscular, conforme protocolo do Núcleo de Cirurgia Experimental da UFPE[99]. O nível de anestesia foi determinado pela observação dos reflexos palpebrais, movimentos respiratórios e estímulos cutâneos. Foi considerado anestesiado o animal com respiração regular e com ausência de reflexos a estímulos.

3.3.3 **Técnica cirúrgica**

O ato cirúrgico foi realizado na sala de microcirurgia do Núcleo de Cirurgia Experimental (NCE) da UFPE. Após anestesia, foi realizada tricotomia abdominal ampla e fixação do animal à mesa cirúrgica por meio de fitas elásticas, com os membros em extensão, procedendo-se, a seguir, anti-sepsia adequada da parede abdominal da rata, com solução de polivinilpirrolidona (PVP a 1% de iodo ativo) e colocação de campo cirúrgico esterilizado, com incisão de 03 cm na linha média infra-umbilical. Abertura da aponeurose e peritônio com hemostasia, utilizando-se eletrocautério.

A bexiga e a uretra foram visualizadas e utilizando tesoura de metzenbaum, criando um espaço de, aproximadamente, 0,5cm posterior a uretra, imediatamente abaixo do colo vesical era introduzido os *slings* confeccionados a partir de biopolímero e polipropileno, medindo 0,3cm de largura por 05cm de comprimento. Os *slings* era fixado nas extremidades à aponeurose do reto abdominal com fio de vicryl 6-0, permitindo o mínimo de tensão. No período pós- operatório, os animais eram mantidos com a mesma alimentação e era permitida livre movimentação (figura 1).

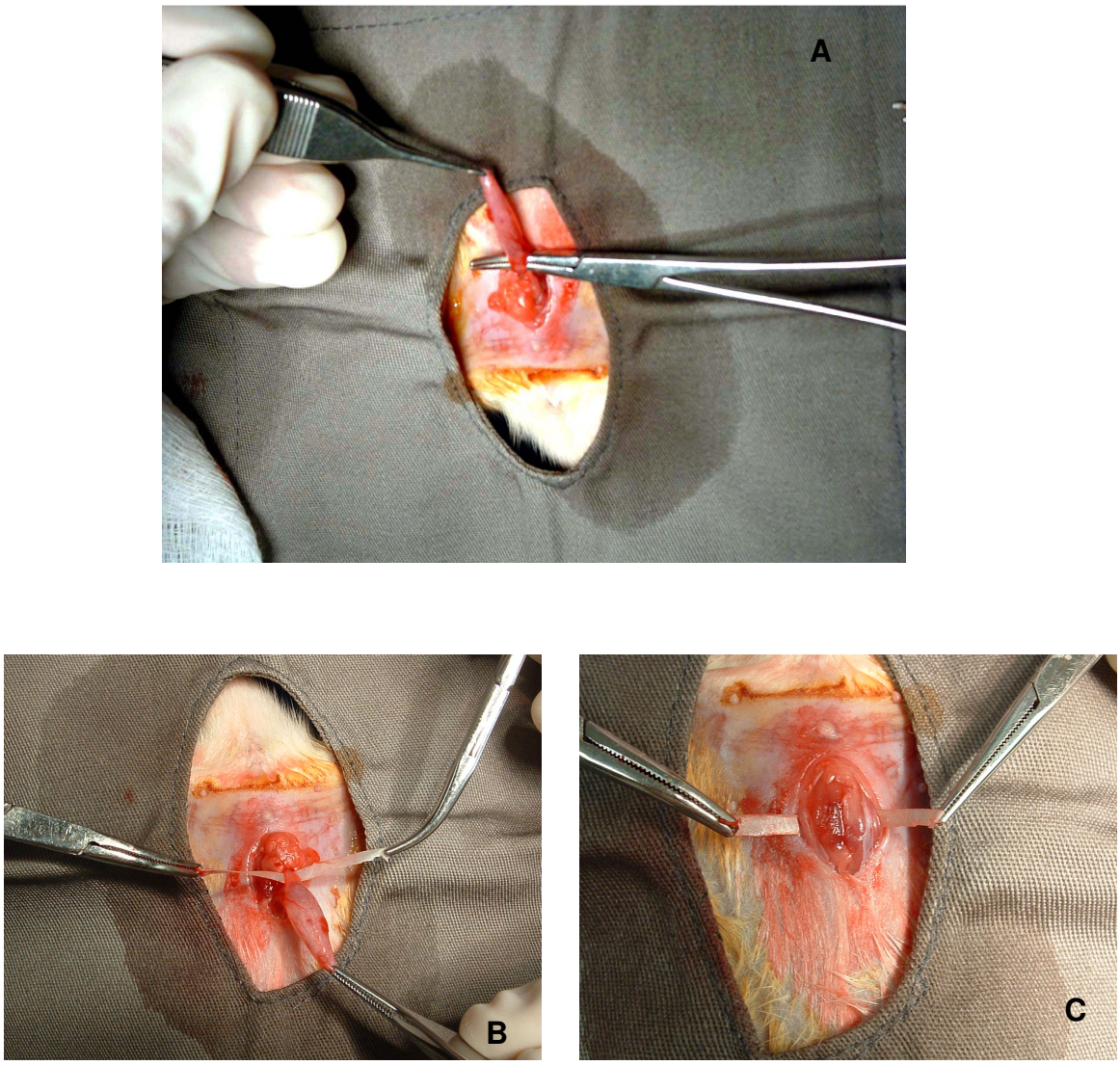

Fig. 1. Seqüência demonstrando dissecção da região sub-uretral, com colocação e posterior fixação do *sling* de polímero na parede abdominal.

3.4 **Confecção do biopolímero**

Membranas de biopolímeros contínuas e fenestradas foram produzidas pelo grupo de pesquisa do biopolímero de cana-de-açúcar. O processo de produção foi desenvolvido no laboratório de Cana-de-Açúcar da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), o qual disponibilizou as membranas em sua forma "bruta", sendo, posteriormente, padronizadas no Núcleo de Cirurgia Experimental para adquirirem forma e tamanho adequados para a utilização no experimento e, vedadas em álcool isopropílico (figura 2) no serviço de esterilização do Hospital das Clínicas de Pernambuco. A esterilização foi feita com radiação gama (γ), no Laboratório de Metrologia do Departamento de Energia Nuclear da UFPE, visando atender conceitos pré-estabelecidos de assepsia cirúrgica.

Para uniformização das membranas de biopolímero, todas as amostras foram obtidas de um único lote. As membranas foram cortadas em diversos fragmentos de 05 x 02 cm, obtendo-se 48 amostras fenestradas (perfuradas) e 48 contínuas (figura 3). Dos lotes de membranas perfuradas e contínuas, foram tomadas amostras para realização de teste tensilométricos antes da implantação *in vivo*, designando-as de "membranas controles" (R_nCP as perfuradas e R_nCC as contínuas). As amostras restantes, nomeadas de "membranas experimentais" (R_nP ou R_nC).

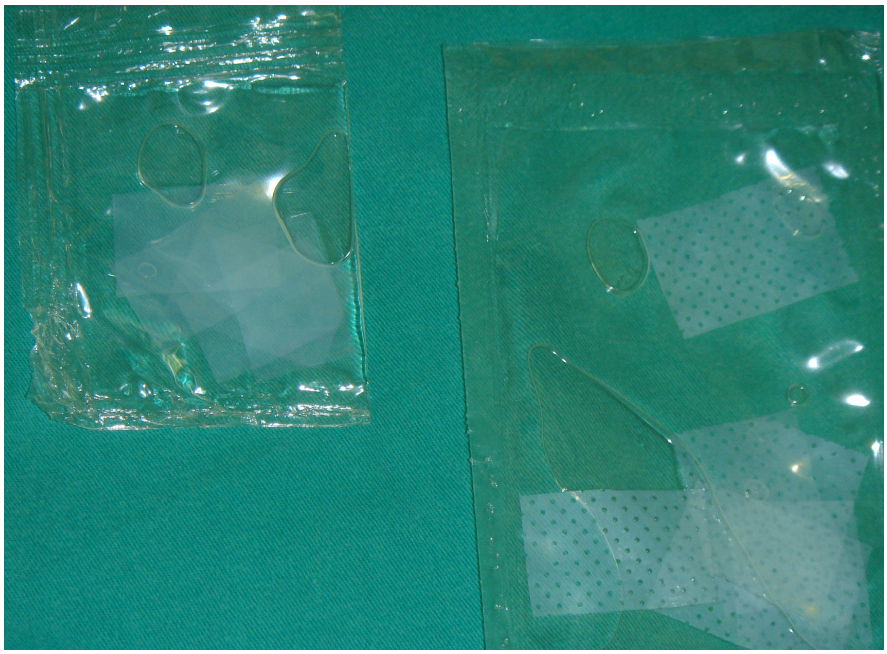

Figura 2. Membrana de biopolímero de cana-de-açúcar envasada em álcool isopropílico

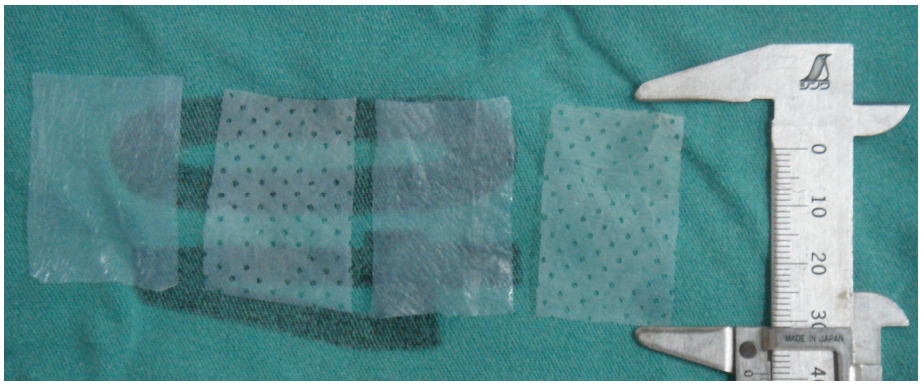

Figura 3. Membranas de biopolímero: contínua e perfurada

O referido biopolímero apresentou elasticidade, resistência à tração e flexibilidade, podendo ser modelado em diferentes formas. Através do método de colorimetria diferencial exploratória (DSC), a biomembrana apresentou uma temperatura de fusão cristalina bem definida (118ºC), propriedade que indica a relativa pureza do material[83].

A citotoxicidade da biomembrana produzida por via microbiológica, através da bactéria *Zoogloea sp*, por meio do índice de adesividade de macrófagos, de morte celular e produção de óxido nítrico, na qual o biopolímero apresentou uma alta biocompatibilidade frente aos três ensaios, confirmou, assim, a baixa citotoxicidade a um nível que permite a sua aplicação experimental com segurança[98].

A bactéria *Zoogloea sp.* foi utilizada no meio GLP, que consiste nos seguintes reagentes por litro: glicose (20,0g), extrato de levedura (5,0g), peptona (3,0g) e Agar (15,0g). A matéria-prima utilizada foi o melaço produzido por empresas açucareiras do estado, sendo o material ajustado a brix 15%, Ph=5.

A cultura foi inoculada em erlenmeyers a 30ºC, com o período máximo de processo em torno de sete dias. O material produzido foi seco em estufa, com circulação de ar e, posteriormente, esterilizado em autoclave a 120ºC, 30 minutos, resultando em películas com espessura aproximada entre 0,3mm.

3.5 **Sacrifício**

Os animais dos grupos A e C foram sacrificados quatro semanas após o implante e os grupos B e D 12 semanas após. Conforme o protocolo de cada grupo, os animais eram sacrificados como preconizado pelo Núcleo de Cirurgia Experimental da UFPE e, posteriormente, com incisão abdominal ampla, era retirada, em bloco, a parede abdominal com a bexiga, com visualização do *sling*. O material era armazenado em formol tamponado a 10% e, após 15 dias de fixação, eram realizados cortes percorrendo toda extensão do sling e em pontos principais de observação, na região sub-uretral e na inserção do sling na parede abdominal (figuras 4 e 5).

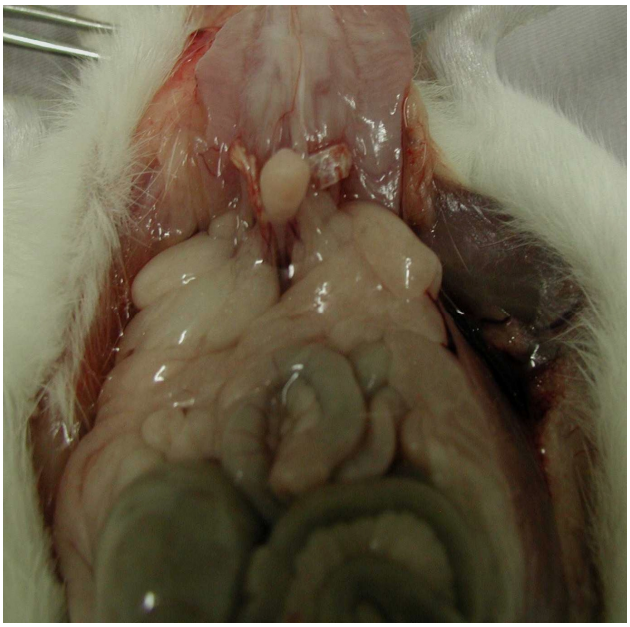

Fig 4. Parede abdominal rebatida
mostra *sling* de biopolímero e sua localização

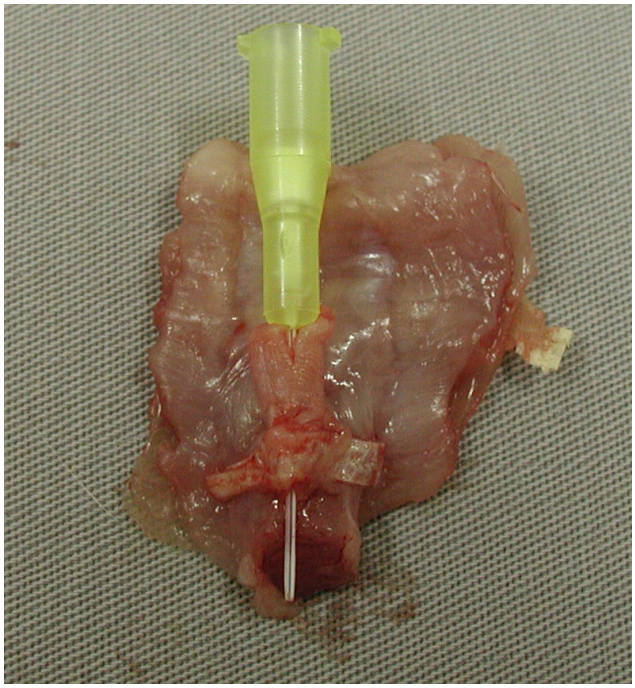

Fig. 5. Após retirada da parede abdominal, local identificado
mostra o ponto onde era realizado corte para estudo histológico

3.6 **Confecção das lâminas**

Após a inclusão em parafina, com a utilização do micrótomo para realizar cortes de 05 micras e posterior confecção de lâminas com a coloração hematoxilina eosina foi utilizada para avaliação quantitativa da reação inflamatória: ausente (ausência de inflamação ou < 05% na área analisada), leve (reação inflamatória entre 05-25% na área), moderada (25-70% área), intensa (> 70% da área). Para análise estereológica, as lâminas foram coradas com Picro-sirius, em cortes histológicos de 07 micras. Todas as amostras foram avaliadas pelo mesmo patologista utilizando magnificação 400X.

3.7 **Análise estereológica**

As fibras colágenas foram quantificadas, usando o método estereológico com determinação tridimensional das estruturas anatômicas, baseada em cortes bidimensionais. Esta teoria baseia-se no princípio de Delesse, o qual determina que a relação entre a área superficial do órgão e o corte da estrutura é a mesma que sua relação entre o volume da estrutura e de todo o órgão[100]. A metodologia estereológica determina medidas volumétricas, com a obtenção de secções planas (figura 6).

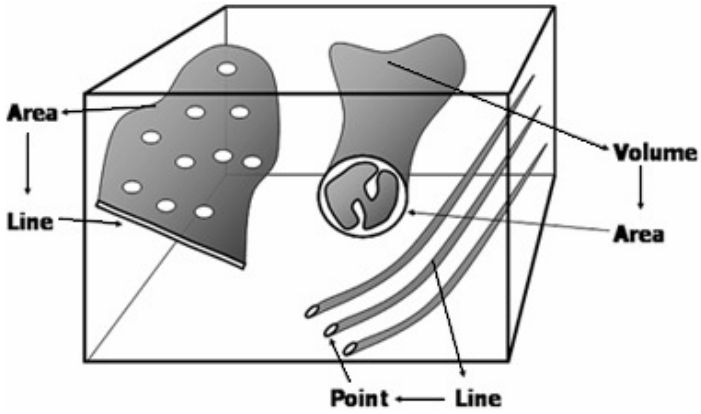

Figura 6. Observação de estruturas tridimensionais em cortes bidimensionais[101]

Os dois conceitos básicos da estereologia são: determinações “sem desvio” (sem viés e pouca variabilidade). Nas técnicas morfométricas, as estruturas anatômicas são medidas com escalas aferidas, já a estereologia baseia-se fundamentalmente, em princípios geométricos e estatísticos. A determinação da amostra a ser estudada estereologicamente é o momento mais importante deste tipo de pesquisa.

Em síntese, pode-se afirmar que, na estereologia, o objetivo é estudar determinada amostra de cortes aleatórios e uniformemente isotrópicos. A estereologia tem vantagens científicas sobre estudos qualitativos. Os resultados são numéricos e, por isso, reproduzíveis em qualquer outro laboratório. Existe fundamento estatístico bem estabelecido que respalda esse método e o treinamento de novos cientistas é mais rápido nesse processo. E, finalmente, o custo dos equipamentos é baixo.

Sistema-teste é um conjunto de linhas (retas ou curvas) e pontos. Este sistema deve ser superposto à imagem estereológica, com arranjo regular ou não (isto é, aleatório). Existem diversos sistemas-teste propostos para variados fins.

Tradicionalmente, os sistemas-teste são desenhados com retas, ou segmentos de reta, apresentando os arranjos geométricos triangular, quadrado ou hexagonal. Cada um destes arranjos determina as características básicas do sistema-teste[101].

O sistema-teste de arranjo triangular é o que apresenta melhor distribuição de pontos, com mais pontos-teste por unidade de área (mais pontos = mais precisão) (figuras 7 e 8).

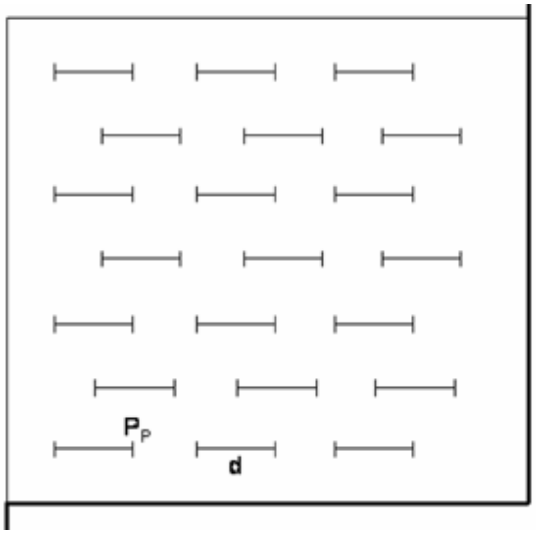

Figura 7 - Sistema-Teste triangular M-42 de "multiuso". O sistema tem 21 linhas com comprimento conhecido (d) e 2 pontos de teste em cada extremidade[101].

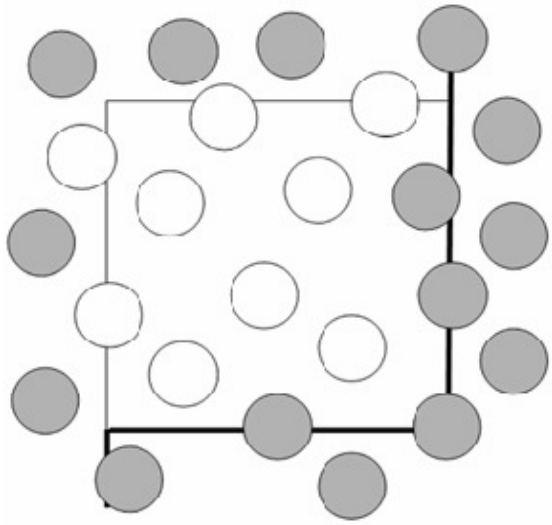

Figura 8 - No sistema M-42, apenas os círculos brancos são contados (não tocam a linha grossa proibida)[101].

A densidade volumétrica das fibras colágenas foi quantificada estereologicamente com a superposição do sistema M-42 (Tombridge, UK) na imagem morfológica do corte. A densidade volumétrica corresponde com a concentração relativa da estrutura ou amostra do tecido.

A fórmula v= (Pp/Pt) x 100% foi usada para calcular a densidade volumétrica (DV) das fibras colágenas, nas quais Pp é o número de pontos na estrutura (fibras colágenas) e Pt, o número de postos testados (42, neste caso). A avaliação quantitativa foi obtida usando um microscópico ótico e as fibras quantificadas em 400x de magnificação em 10 campos microscópicos randomizados cada grupo.

3.8 **Análise estatística**

Devido à comparação, os materiais produzidos de amostras independentes (obtidas de ratas diferentes), o teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para avaliar diferenças entre variáveis e o qui-quadrado, para testar a hipótese, envolvendo tabelas de contingência (presença ou ausência de inflamação).No estudo biomecânico foi utilizado o teste “t” de Student. Em todos os testes, $p<0.05$, era considerado diferença significativa.

3.8 **Considerações éticas**

Esta pesquisa seguiu os princípios que regem o Código de Ética experimental e as leis de proteção dos animais, de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei nº 9.605 – art. 32, e Decreto nº 3.179 – art. 17, de 21/09/1999, que tratam da questão do uso de animais para fins científicos. Além disso, teve aprovação integral do Comitê de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da UFPE, inclusive concordando com o fato de que a morte dos animais utilizados neste estudo justifica-se por não existirem recursos alternativos para a realização do procedimento científico.

RESULTADOS

Num total de 40 animais estudados, nenhuma apresentou complicação cirúrgica pós-operatória e seus pesos variaram de 215 a 297 gramas. No momento do sacrifício, não foi observada nenhuma reação tecidual atípica, ou seja, formação de fístulas ou abscessos no local do implante.

Macroscopicamente, foi observada uma boa incorporação do material testado e do grupo controle a parede abdominal (figuras 9 e 10).

Nos grupos B e D, ou seja, os grupos sacrificados 12 semanas após o experimento com utilização de biopolímero e tela de polipropileno. Após preparo histológico adequado, observou-se uma maior presença de fibras colágenas no tecido subaponeurótico das ratas, no qual foi utilizado o biopolímero de cana-de-açúcar. O método da estereologia foi utilizado para quantificar comparativamente a presença das fibras e o resultado não foi significante com p>0,05 (gráfico 1).

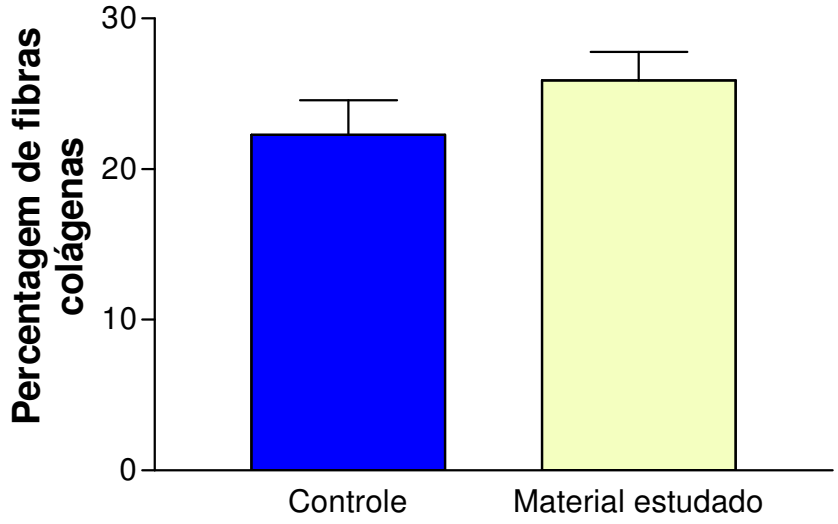

Gráfico 1. Análise da deposição de fibras colágenas no tecido sub-aponeurótico de ratos, em que um grupo recebeu tela de polipropileno – controle e outro grupo recebeu membrana de polímero de cana-de-açúcar. p> 0,05.

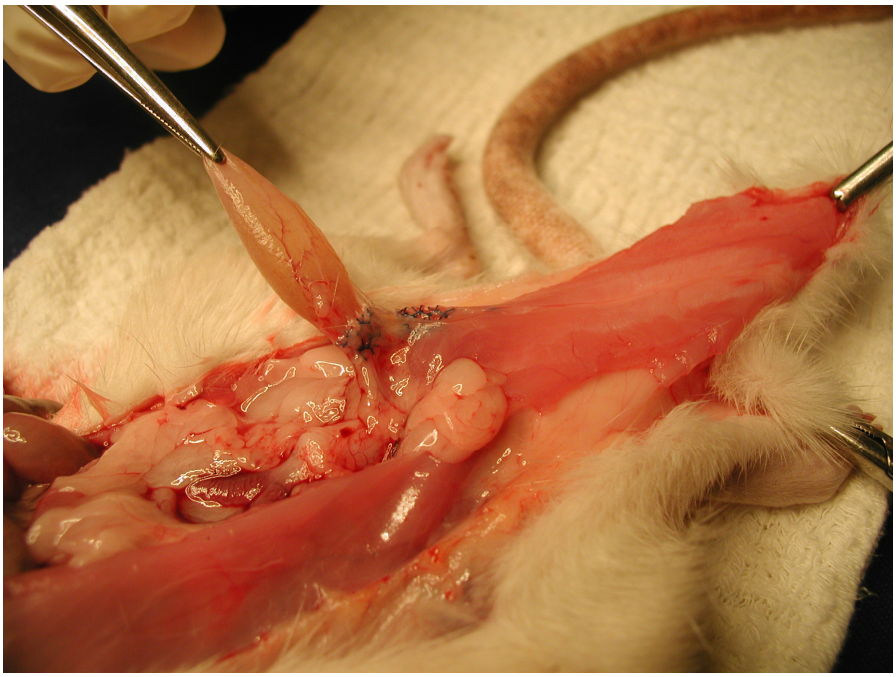

Figura 9. Incorporação do material de tela de polipropileno

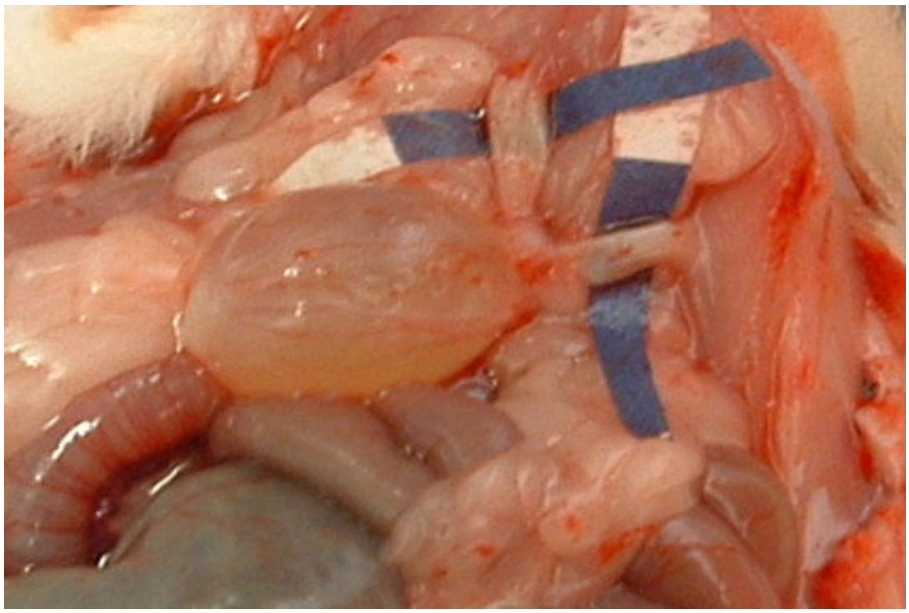

Fig. 10. *Sling* de biopolímero implantado sem evidenciar complicações teciduais agudas e com boa incorporação à parede abdominal

Nos grupos A e C, no qual o sacrifício ocorreu 30 dias após o implante do *sling* de biopolímero e tela de polipropileno, observou-se reação inflamatória intensa com riqueza de polimorfonucleares, contudo sem qualquer formação atípica ou complicação tecidual do novo material (figura 11). Os achados foram semelhantes quando avaliados os dois grupos.

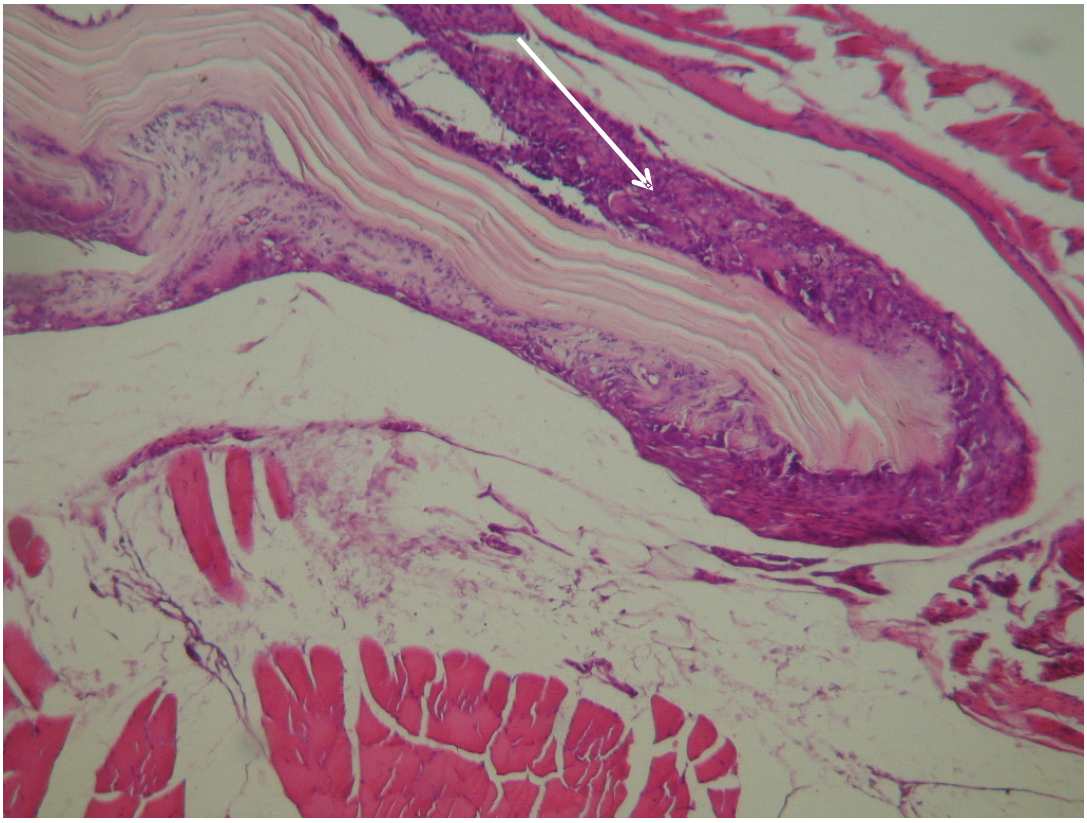

Figura 11. Polímero circundado por células gigantes de tipo corpo estranho (fase mais precoce)

A análise do material na região sub-uretral mostrou uma presença de fibras de colágenas também em número significantemente superior no grupo que utilizou o biopolímero (gráfico 2). Porém, em nenhum animal, observou-se presença de erosão causada pelo material (figura 12). Fato a se notar também é que na região sub-

uretral foi observado uma maior deposição do colágeno, em relação à região sub-aponeurótica, independente do material utilizado.

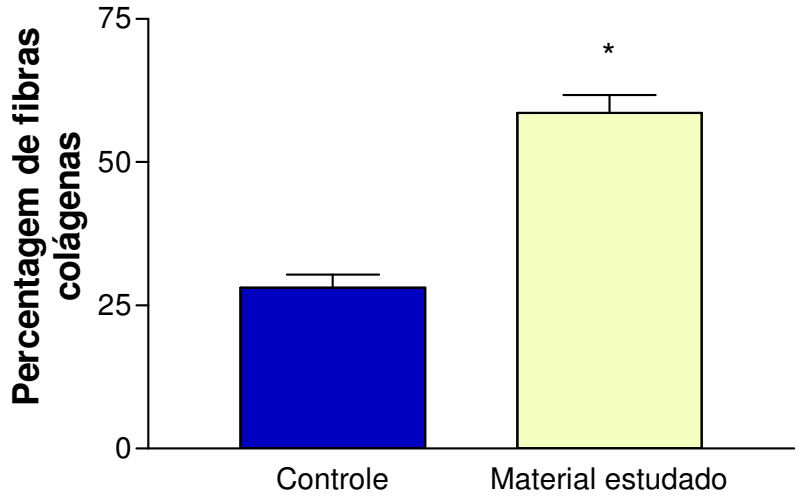

Gráfico 2. Análise da deposição de fibras colágenas no tecido sub-uretral de ratas, na qual um grupo recebeu tela de polipropileno – controle e outro grupo recebeu membrana de biopolímero de cana-de-açúcar. * p < 0,05.

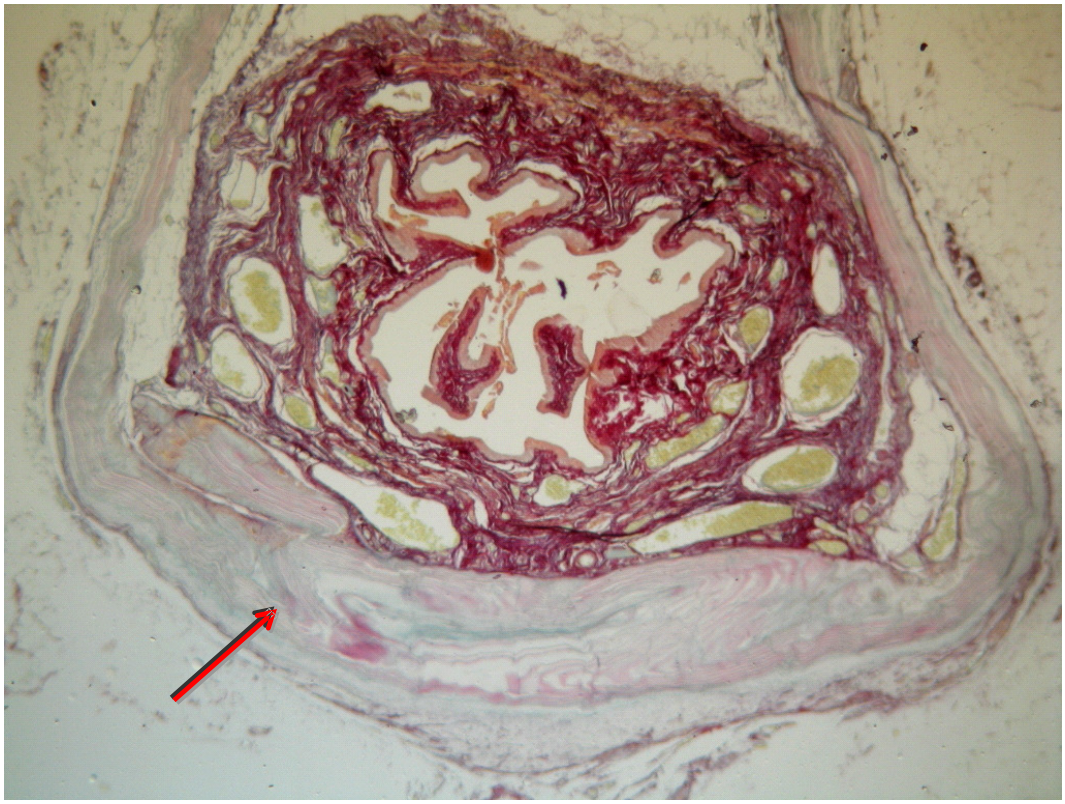

Figura 12. Polímero no espaço sub-uretral

A reação inflamatória causada pelo *sling* de biopolímero apresenta uma riqueza de polimorfonucleares mesmo na fase tardia, porém evidenciou-se uma tímida neovascularização penetrando o biomaterial. Apesar dessa pobre neovascularização, não observou-se formação de cápsula na membrana em torno do material (figuras 13 e 14).

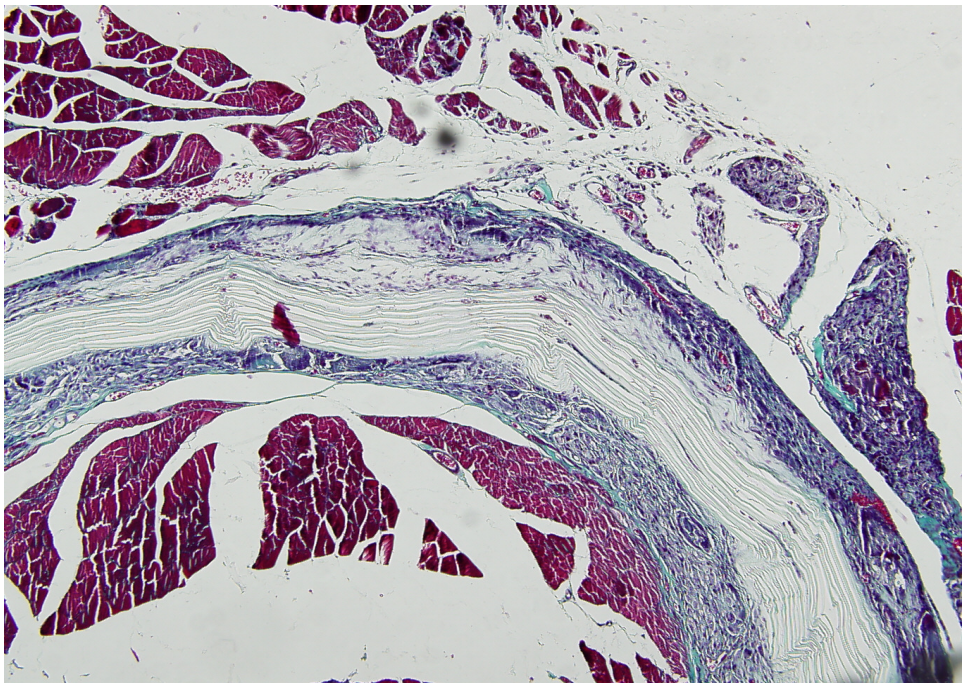

Fig. 13. Membrana de biopolímero com intenso infiltrado inflamatório

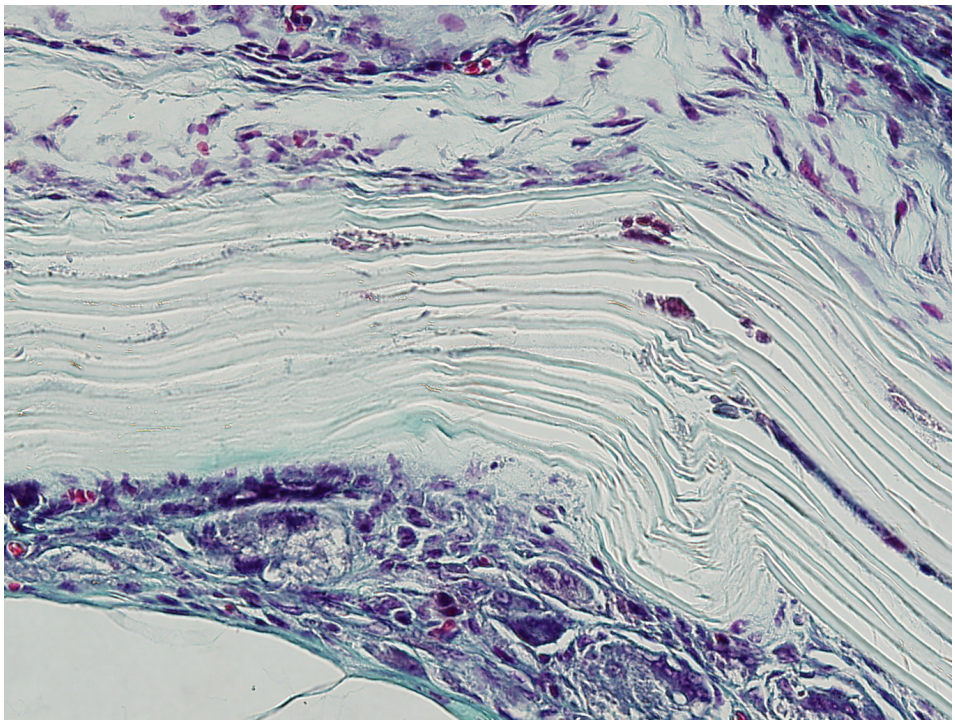

Fig 14. Membrana de biopolímero com pequena neoformação vascular

A análise subjetiva do processo inflamatório e grau de necrose, tanto na região sub-uretral com sub-aponeurótica foi muito semelhante, apenas na região sub-uretral notamos um maior grau de inflamação no material estudado, em relação ao grupo controle (tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Análise do processo inflamatório e grau de necrose na região sub-uretral após 90 dias do implante

	Grau de inflamação	**Grau de necrose**
Grupo controle	<25%	<25%
Material estudado	25 a 70%	<25%

Tabela 2. Análise do processo inflamatório e grau de necrose na região sub-aponeurótica após 90 dias do implante

	Grau de inflamação	Grau de necrose
Grupo controle	<25%	<25%
Material estudado	<25%	<25%

4.1 **Estudo biomecânico**

Os resultados obtidos com os grupos complementares de biomecânica demonstraram que a força máxima de tração (FMT) é semelhante nas duas membranas, contínua e perfurada, após a sua implantação, entretanto, a força da contínua é maior antes da implantação. Quando se comparou membrana experimental perfurada com controle perfurada, houve uma pequena diferença em favor da experimental, embora sem significância estatística, mostrando tendência de aumento da resistência à tração da amostra pós-implante; esse padrão não se verificou entre as membranas contínuas (nessas, notou-se controle maior que experimental) e isso, provavelmente, deve-se à porosidade das membranas perfuradas em permitir maior fixação fibrinosa, com maior incorporação de colágeno. Esta hipótese pode ser definida com estudo histológico (tabelas 3 e gráfico 3).

Tabela 3. Estatística da força máxima de tensão (N) segundo o tipo de tela e o grupo

	Estatística	Grupo		Valor de p
		Controle	Experimental	
Perfurada	Média	9,35	10,71	$p^{(2)}$=0,510
	Mediana	7,86	9,09	
	Desvio padrão	6,19	3,99	
	Mínimo	2,71	6,20	
	Máximo	21,98	18,52	
Contínua	Média	17,46	12,50	$p^{(2)}$=0,510
	Mediana	18,54	10,72	
	Desvio padrão	10,48	5,90	
	Mínimo	2,66	6,68	
	Máximo	36,83	26,53	
Valor de p		$p^{(1)}$=0,025*	$p^{(3)}$=0,332	

(*)Diferença significante a 5,0%.
(1)Através do teste t-Student com variâncias desiguais.
(2)Através do teste t-Student com variâncias iguais.
(3)Através do teste t-Student pareado.

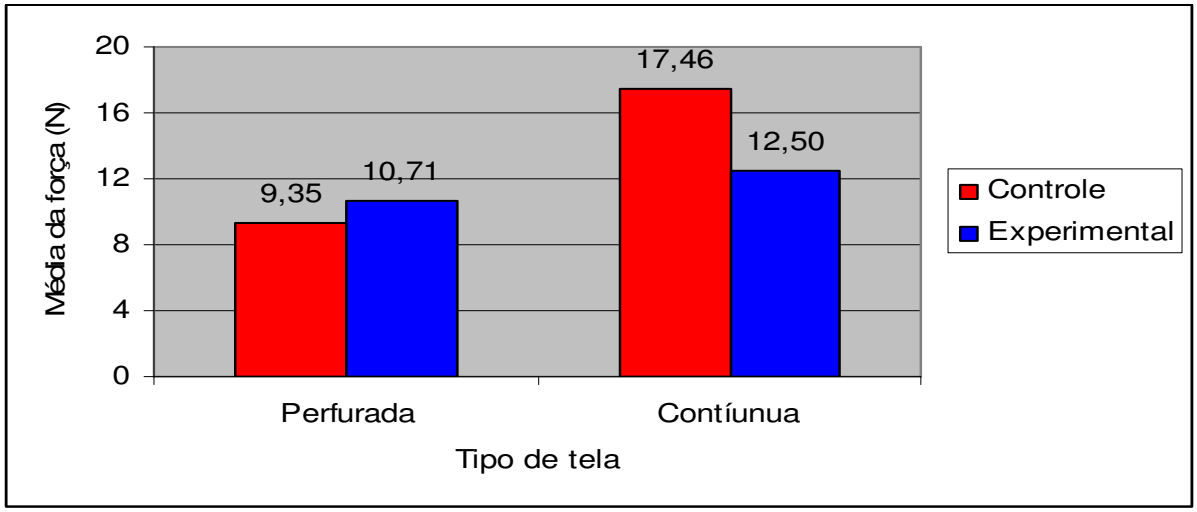

Gráfico 3. Médias da força máxima de tensão, segundo o tipo de tela e o grupo

DISCUSSÃO

A avaliação da resposta inflamatória e posterior agregação de um material sintético ao modelo animal é uma importante etapa para sua posterior utilização em estudo clínico. Vários materiais já foram utilizados, como *sling* na incontinência urinária feminina e, atualmente, as telas de polipropileno incorporadas a diversos mecanismos industriais de introdução são largamente utilizadas na prática clínica[4,52]. A proposta de avaliar um novo material tem a relevância desse objeto ser desenvolvido em uma instituição regional, utilizando uma matéria-prima abundante e de baixíssimo custo.

Polímeros sintéticos ou naturais podem ser obtidos com uma extensa variação de propriedades como rigidez, resistência mecânica, densidade e resistência térmica. A ciência dos polímeros e suas aplicações levam em consideração, como ponto de partida, a compreensão de como estes materiais são sintetizados. A síntese de polímeros revela um complexo procedimento que é determinante para a sua estrutura[102].

O exopolissacarídeo produzido pela *Zogloea sp.* tem propriedades físicas como elasticidade, resistência à tração e à flexibilidade, podendo ser modelado em diferentes formas, o que possibilita sua utilização como *sling* com fácil manuseio. A resposta inflamatória à membrana de biopolímero e telas de polipropileno, um polímero sintético, implantadas no peritônio de ratos foi avaliada por Lima et al[103]., em 2005.

No estudo, foi observado que, em todos os animais, houve incorporação das próteses implantadas ao peritônio não sendo encontradas coleções, exudato livre e fístulas, mostrando-se comparável ao polipropileno para a confecção de telas para próteses cirúrgicas[103].

Os biomateriais devem ser submetidos a testes de biocompatibilidade para avaliar como eles e seus extratos interagem com os diversos sistemas do corpo. Um material, para ser considerado biocompatível, não deve causar reações adversas após implantado, tais como: irritação, inflamação, reação imunológica e desprender componentes. De acordo com o *Food Drug Administration* (FDA), os dispositivos médicos implantáveis e seus constituintes não devem produzir reação adversa local ou sistêmica, ser carcinogênico, produzir efeitos adversos ao sistema reprodutivo e desenvolvimento[104].

A membrana de biopolímero já foi testada em relação à citotoxicidade, avaliada por índice de adesão, produção de óxido nítrico e viabilidade celular de macrófagos alveolares em ratas e não apresentou resposta tóxica para as células da cultura. O biopolímero de cana-de-açúcar evidenciou alta biocompatibilidade frente aos três ensaios de citotoxicidade[98].

Com a utilização industrial de vários materiais como *sling* sub-uretral, entre outros, os perigos de aplicação têm sido estudados, uma vez que o uso deles, no corpo humano, traz sempre a preocupação em relação à biocompatibilidade e os riscos associados com erosão e infecção[102].

Estudos prévios demonstram uma reação tecidual intensa, com infiltrado inflamatório significativo nos primeiros 30 dias. A reparação tecidual é propriedade de todos os tecidos vascularizados e é constituída por eventos comuns a todos os órgãos.

Inicialmente, acontece a ativação da coagulação, da agregação plaquetária e a invasão desta rede por neutrófilos, monócitos, macrófagos e fibroblastos, fenômeno conhecido como quimiotaxia. A migração de células endoteliais contribui para formação de vasos sanguíneos (angiogênese) e de tecido fibroso, regulado

pelos miofibroblastos[102], o que foi observado no nosso material, no qual se observa uma presença de polimorfonucleares, que se fixam à parede da bexiga e na região de fixação do material à aponeurose. Neste período inicial, observa-se um alto nível de infiltração de granulócitos e é elevada a presença de fibroblastos.

Um estudo comparativo em que se analisam grupos com vários tipos de tela de prolene e outros materiais como fáscia cadavérica mostra uma maior reação tecidual, dessa fáscia, a exemplo da membrana de biopolímero, a qual não mostra diferença na fase inicial do processo de cicatrização e de incorporação do novo material[105].

O *small intestine submucosa* (SIS) surgiu recentemente como opção de biomaterial para utilização de *sling* na incontinência urinária da mulher. Este material é uma matrix acelular produzida através da submucosa de intestino de porco, composta apenas por colágeno, fatores de crescimento (fator de crescimento alfa; fator-2 de crescimento de fibroblastos), glicosaminoglicanas e glicoproteínas sua porosidade é microscópica[106,107]. Devido a sua composição, o SIS é infiltrado por células do hospedeiro, que proliferam rapidamente e resultam em restauração do tecido local, de maneira organizada .

Na biópsia de mucosa vaginal de três pacientes, re-operadas após o emprego do SIS, encontrou-se mínimo resíduo do material, ausência de reação inflamatória ou reação de corpo estranho. Os autores concluíram que houve absorção completa do *sling,* devido a sua excepcional biocompatibilidade[107]. Entretanto, todas as pacientes evoluíram com incontinência, provavelmente pela absorção do material e pelo suporte uretral inadequado, o que, apesar de estudos clínicos ainda não realizados, mas, com o embasamento teórico suportado por este estudo, percebe-se a permanência do material intacto, ao final de 12 semanas. E,

ainda, avaliando alguns animais com persistência do material por 24 semanas, sem alterações significativas, demonstrou uma estabilidade deste recurso.

Pesquisas iniciais para avaliação das características biomecânicas da membrana de biopolímero destacam que, após sua implantação, ocorre aumento da força máxima de sua tração, ou seja, o material implantado, além de permanecer no local do implante durante o período estudado, modifica suas características de defesa, aumentando a sua resistência à tração, o que poderia beneficiar o suporte uretral e evitar uma piora nos índices de continência pós-operatórios[108].

No presente estudo, houve apenas uma maior reação inflamatória sub-uretral no material analisado, comparando com o controle, sem a observação da erosão sub-uretral. É importante salientar que essa pesquisa não objetivou a avaliação funcional do material, o qual não foi submetido a qualquer tensão. Isso impossibilitaria qualquer conclusão mais definitiva, em relação à presença de erosão sub-uretral, mas permitiria a observação e a análise do comportamento do material e a reação local, com suas possíveis reações teciduais.

A reação tissular já foi avaliada em três tipos diferentes de *sling* de polipropileno, que diferem na estrutura e no tamanho dos poros. A presença de numerosos e pequenos poros, como é o caso do *obtape* e IVS, dificulta a formação de fibrose integrada. Quando o diâmetro do poro é maior, ocorre o contrário[105].

Estudos anteriores enfatizam a importância dos poros das telas para o preenchimento com tecido conectivo, migração de células imunocompetentes e angiogênese[100]. Os materiais macroporosos apresentam maior permeabilidade molecular e, conseqüentemente, mais rápida fixação fibrinosa. Funcionam assim como cola biológica, prevenindo o acúmulo de secreções[3]. A análise histológica

demonstra a uma diminuição na reação inflamatória e fibrose quando utilizadas telas de maior porosidade[100].

Telas com poros maiores que 100μm facilitam o acesso e a adesão do tecido fibroso. Telas com menor porosidade podem facilitar a formação de cápsula[104], o que não ocorreu com a membrana de biopolímero, que tem sua porosidade determinada por microscopia eletrônica. Porém, por ela ser matriz acelular, facilita sua incorporação ao hospedeiro, já sendo demonstrada presença de pequena neoformação vascular em tecido recoberto pela membrana de biopolímero. Inclusive, nos cortes histológicos, observou-se presença de neo-vascularização no interior da membrana, sem qualquer característica histológica de formação de cápsula, ou seja, apesar de microporosidade, o material tende a ser incorporado ao hospedeiro.

A utilização de *sling* polipropileno multifilamentar, em estudos experimentais, revela que este material não permite adequada infiltração de células do hospedeiro e a reação ao redor do *sling* é mais intensa. Siegel et al.[6] demonstraram não existir adequado processo de remodelação tecidual com este material). Neste estudo, utilizou-se como grupo comparativo o polipropileno monofilamentar, que é o material atualmente mais utilizado com *sling* no tratamento da incontinência urinária feminina e já é conhecido por apresentar uma maior força de adesão ao tecido periuretral, a qual é importante para a estabilidade da tela, relacionando-se diretamente com o resultado do procedimento. A reação inflamatória local, apesar de ser um pouco mais significativa com o uso do biopolímero, nenhum dano ao tecido periuretral foi detectado.

A importância na quantificação da reação inflamatória, através da mensuração da presença das fibras colágenas, tem grande relevância nos estudos

comparativos de diferentes materiais e suas conseqüências sobre os tecidos. Através desta quantificação, saímos da subjetividade das análises a passamos a comparar valores numéricos e probabilidades estatísticas. A quantificação das fibras colágenas com a utilização de métodos colorimétricos, com ajuda de sistemas computadorizados, pode induzir a erros na quantificação devido às diferentes tonalidades e à dificuldade de análise.

A ferramenta da estereologia visa trazer uma importante informação da quantificação das alterações celulares observadas no tecido. E seu principal desafio é traduzir as características de uma estrutura tridimensional, baseadas na análise de lâminas, que trazem apenas dados bidimensionais, utilizando princípios geométricos e a probabilidade estatística.

A utilização da estereologia traz importantes vantagens sobre o estudo qualitativo: os resultados são numéricos e não subjetivos, podem ser reproduzidos e facilmente confirmados por outro laboratório a qualquer momento. A facilidade para seu aprendizado permite a difusão entre jovens pesquisadores e, finalmente, a pequena necessidade de equipamento reduz o custo de utilização. Um conjunto de ações é necessário para quantificar estruturas morfológicas adequadamente. Amostragem correta, cortes aleatórios e uniformemente isotrópicos (princípio de Delesse), são ferramentas estereológicas atualizadas, quando usadas corretamente, podendo-se realizar estudos quantitativos com pouco esforço. Eficiência em estereologia significa contar com uma amostra de cortes mínima, gastando pouco, mas com boa acurácia.

5.1 **Perspectivas futuras**

Os estudos experimentais até agora realizados permitem-nos projetar a perspectiva de realização de ensaios clínicos com o presente material e, com isso, introduzir a possibilidade de um novo material, no tratamento de uma condição que afeta significativamente a mulher adulta, que é a incontinência urinária.

As características de obtenção e produção representam, por outro lado, um diferencial importante, por conta da natureza inesgotável da fonte de produção do material do biopolímero. Por tratar-se de um instrumento cuja natureza não provoca poluição ou degradação no decorrer do processo de industrialização pode também ser considerado como ecologicamente correto.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados do presente estudo, pode-se concluir que:

- A membrana de biopolímero de cana-de-açúcar mostrou-se adequada quando utilizada como *sling* em ratas;
- A utilização do biopolímero não apresentou complicações agudas como formação de abscessos ou processos de extrusão e fístulas reativas ao implante deste material;
- O biopolímero provocou uma reação inflamatória aguda tipo corpo estranho, porém não exuberante;
- A reação inflamatória aguda foi maior no material estudado em relação ao grupo controle, porém sem a formação de cápsula;
- Não observou-se erosão sub uretral em nenhum dos grupos estudados.

REFERÊNCIAS

1. Diokno AC, Brock BM, Brown MB, Herzog AR. Prevalence of urinary incontinence and other urological symptoms in the noninstitutionalized elderly.J Urol. 1986 Nov;136(5):1022-5.
2. McCormick KA, Newman DK, Colling J, Pearson BD. Urinary incontinence in adults. Am J Nurs. 1992 Oct;92(10):75-88.
3. Chaikin DC, Rosenthal J, Blaivas JG. Pubovaginal fascial sling for all types of stress urinary incontinence: long-term analysis.J Urol. 1998 Oct;160(4):1312-6.
4. Cross CA, Cespedes RD, McGuire EJ. Our experience with pubovaginal slings in patients with stress urinary incontinence. J Urol. 1998 Apr;159(4):1195-8.
5. Petros PE, Ulmsten UI. An integral theory of female urinary incontinence. Experimental and clinical considerations. Acta Obstet Gynecol Scand Suppl. 1990; 153:7-31.
6. Siegel AL, Kim M, Goldstein M, Levey S, Ilbeigi P. High incidence of vaginal mesh extrusion using the intravaginal slingplasty sling. J Urol. 2005 Oct;174(4 Pt 1):1308-11.
7. Vilar F, Aguiar JL, Lima SV, Machado M, Pontes F, Lucena R, et al. Doença de Peyonie: estudo de um novo material com perspectiva de aplicação clínica. Int Braz J Urol. 2006 Jun; 32(2): 167-7.
8. Lima SV, Aguiar JLA, Pereira LA, Machado M, Andrade R, Lima R. A new dressing for hypospadias surgery. Int Braz J Urol. 2006 Jun; 32(2): 189-9.
9. Lins EM. Membrana de biopolímero de cana-de-açúcar como remendo em arterioplastias femorais em cães. [Tese Doutorado] Recife-PE. Universidade Federal de Pernambuco; 2007.

10. DeLancey JO. Structural support of the urethra as it relates to stress urinary incontinence: the hammock hypothesis. Am J Obstet Gynecol. 1994 Jun;170(6):1713-20.

11. Handa VL, Jensen JK, Germain MM, Ostergard DR. Banked human fascia lata for the suburethral sling procedure: a preliminary report. Obstet Gynecol. 1996 Dec;88(6):1045-9.

12. Amundsen C, Ruiz H, Visco A, Webster G. Outcome in 105 pubovaginal slings using freeze dried allograft *fascia lata* from a sling tissue bank. Int Urogyn J. 1999 Out; 10(Suppl 1): S144.

13. Abrams P, Cardozo L, Fall M, Griffiths D, Rosier P, Ulmsten U, et al.. The standardisation of terminology of lower urinary tract function: report from the Standardisation Sub-committee of the International Continence Am J Obstet Gynecol. 2002 Jul;187(1):116-26.

14. Hannestad YS, Rortveit G, Sandvik H, Hunskaar S. A community-based epidemiological survey of female urinary incontinence: the Norwegian EPINCONT study. Epidemiology of Incontinence in the County of Nord-Trondelag. J Clin Epidemiol. 2000 Nov;53(11):1150-7.

15. Norton PA, MacDonald LD, Sedgwick PM, Stanton SL. Distress and delay associated with urinary incontinence, frequency, and urgency in women. BMJ. 1988 Nov 5;297(6657):1187-9

16. Hägglund D, Walker-Engström ML, Larsson G, Leppert J. Reasons why women with long-term urinary incontinence do not seek professional help: a cross-sectional population-based cohort study. Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct. 2003 Nov;14(5):296-304.

17. Howard D, Delancey JO, Tunn R, Ashton-Miller JA. Racial differences in the structure and function of the stress urinary continence mechanism. Obstet Gynecol. 2000 May;95(5):713-7.

18. Sampselle CM, Harlow SD, Skurnick J, Brubaker L, Bondarenko I. Urinary incontinence predictors and life impact in ethnically diverse perimenopausal women.Obstet Gynecol. 2002 Dec;100(6):1230-8.

19. Bump RC. Racial comparisons and contrasts in urinary incontinence and pelvic organ prolapse. Obstet Gynecol. 1993 Mar;81(3):421-5.

20. Bump RC. Norton PA. Epidemiology and natural history of pelvic floor dysfunction. Obstet Gynecol Clin North Am. 1998 Dec;25(4):723-46.

21. Farrell SA, Allen VM, Baskett TF. Parturition and urinary incontinence in primiparas.Obstet Gynecol. 2001 Mar;97(3):350-6.

22. Thom DH, van den Eeden SK, Brown JS. Evaluation of parturition and other reproductive variables as risk factors for urinary incontinence in later life. Obstet Gynecol. 1997 Dec;90(6):983-9.

23. Rortveit G, Daltveit AK, Hannestad YS, Hunskaar S. Urinary incontinence after vaginal delivery or cesarean section. N Engl J Med. 2003 Mar 6;348(10):900-7.

24. Dwyer PL, Lee ET, Hay DM. Obesity and urinary incontinence in women. Br J Obstet Gynaecol. 1988 Jan;95(1):91-6.

25. Grady D, Brown JS, Vittinghoff E, Applegate W, Varner E, Snyder T. Postmenopausal hormones and incontinence: the Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study. Obstet Gynecol. 2001 Jan;97(1):116-20.

26. Donovam JL, Badia X, Corcos J. Sympton and gavity of life assessment in incontinence. In: Abrams P, Cardozo L, Thoury S, editors. Second.

consultations on incontinence ply mouth: New York: Ply Bridge Distributors; 1999. p.279-305.

27. Paick JS, Ku JH, Shin JW, Park K, Son H, Oh SJ, et al. Significance of pad test loss for the evaluation of women with urinary incontinence. Urodyn. 2005 Jan; 24(1): 29-43.
28. McGuire EJ, Lytton B, Kohorn EL, Pepe V. The value of urodinamic testing in stress urinary incontinence. J Urol. 1980 Aug; 124(2): 256-8.
29. Weber AM, Taylor RJ, Wey JT, Lemach G, Piedmonte MR, Walters MD. The cost effect venues of prospective testing basic office assessment us urodynames for stress urinary incontinence in women. BJU Int. 2002 Mar; 89(3): 356-63.
30. Koelbl H, Bernascher G, Deutiger J. Assessment of female urinary incontinence by introit sonography. Clin Ultrasound. 1990 May; 18(4): 370-4.
31. Brandt FT, Albuquerque CDC. Eletroestimulação no tratamento alternativo da incontinência urinária feminina. J Bras Ginecol. 1995; 105: 501-3.
32. Amaro JL, Oliveira Gameiro MO, Padovani CR. Treatment of urinary stress incontinence by intravaginal electrical stimulation and pelvic floor physiotherapy. Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct. 2003 Aug;14(3):204-8.
33. Burch JC. Cooper's ligament urethrovesical suspension for stress incontinence. Nine years' experience--results, complications, technique. Am J Obstet Gynecol. 1968 Mar 15;100(6):764-74.
34. Huang WC, Yang JM. Anatomic comparison between laparoscopic and open Burch colposuspension for primary stress urinary incontinence. Urology. 2004 Apr;63(4):676-81.

35. Raz S, Litne NA, Juma S. Female urology. In: Walsh PC, Retik AB, Staney TA, Vaughan Jr. ED, editors. Campbell´s Urology. New York: WB Sauders; 1992. p. 2782-50.

36. Bidmead J, Cardozo L. Four decades of needle bladder neck suspension. Br J Urol. 1998 Aug;82(2):171-3.

37. Harris DR, Lalovou JW, Lemberger RJ. Peri-Urethral silicone microimplants (macropalstique) for the treatment of lenine stress incontinence. Br J Urol. 1996 Aug; 78(7): 722-8.

38. McGuire EJ, Lytton B. Pubovaginal sling procedure for stress incontinence. J Urol. 1978 Jan; 119(1): 82-9.

39. McBride AW, Ell ER, Kimann RM, Bent AE, Melick CF. Comparison of long term out comes of autologous fascia lata sling with suspend tutoplasti fascia lata allograft slings for stress incontinenses. Am J Obstet Gynecol. 2005 May; 192(5): 1677-81.

40. Karlovsky ME, Thakre AA, Rastinehad A, Kushner L, Badlani GH. Biomaterials for pelvic floor reconstruction. Urology. 2005 Sep;66(3):469-75.

41. Bukkapatnam R, Rodríguez LV. Synthetic sling options for stress urinary incontinence. Curr Urol Rep. 2004 Oct;5(5):374-80.

42. Gomelsky A, Scarpero H, Dmochowski R. Sling surgery for stress urinary incontinence in the female: what surgery, which material? AUA Update Series. 2003; 22(4): 34-4.

43. Julian TM. The efficacy of Marlex mesh in the repair of severe, recurrent vaginal prolapse of the anterior midvaginal wall.Am J Obstet Gynecol. 1996 Dec;175(6):1472-5.

44. Debodinance P, Cosson M, Burlet G, Engrand JB, Delporte P, Boulogne M, et al. Tolerance of synthetic tissues and vaginal surgery. Report of 287 cases. J Gynecol Obstet Biol Reprod. 1999 Jun;28(3):216-24.

45. Ulmsten U, Henriksson L, Johnson P, Varhos G. An ambulatory surgical procedure under local anesthesia for treatment of female urinary incontinence. Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct. 1996 Fev;7(2):81-5.

46. Hijaz A, Bena J, Daneshgari F. Long-term efficacy of a vaginal sling procedure in a rat model of stress urinary incontinence. J Urol 2005 May; 173(5): 1817-9.

47. Delorme E. Transobturator urethral suspension: mini-invasive procedure in the treatment of stress urinary incontinence in women. Prog Urol. 2001 Dec;11(6):1306-13.

48. Abouassaly R, Steinberg JR, Lemieux M, Marois C, Gilchrist LI, Bourque JL, et al. Complications of tension-free vaginal tape surgery: a multi-institutional review. BJU Int. 2004 Jul;94(1):110-3.

49. Tamussino K, Hanzal E, Kölle D, Ralph G, Riss P. The Austrian tension-free vaginal tape registry. Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct. 2001;12(Suppl 2):S28-9.

50. Kuuva N, Nilsson CG. A nationwide analysis of complications associated with the tension-free vaginal tape (TVT) procedure. Acta Obstet Gynecol Scand. 2002 Jan;81(1):72-7.

51. Leboeuf L, Mendez LE, Gousse AE. Small bowel obstruction associated with tension-free vaginal tape. Urology. 2004 Jun;63(6):1182-4.

52. Kobashi KC, Govier FE. Perioperative complications: the first 140 polypropylene pubovaginal slings. J Urol. 2003 Nov;170(5):1918-21.

53. Karram MM, Segal JL, Vassallo BJ, Kleeman SD. Complications and untoward effects of the tension-free vaginal tape procedure. Obstet Gynecol. 2003 May;101(5 Pt 1):929-32.

54. Meschia M, Pifarotti P, Bernasconi F, Guercio E, Maffiolini M, Magatti F, et al. Tension-Free vaginal tape: analysis of outcomes and complications in 404 stress incontinent women. Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct. 2001;12 Suppl 2:S24-27.

55. Shindel AW, Klutke CG. Urethral slings placed by the transobturator approach: evolution in the technique and review of the literature. Curr Urol Rep. 2005 Sep;6(5):385-92.

56. De Leval J. Novel surgical technique for the treatment of female stress urinary incontinence: transobturator vaginal tape inside-out. Eur Urol 2003;44:724-30.

57. Delorme E, Droupy S, de Tayrac R, Delmas V. Transobturator tape (Uratape). A new minimally invasive method in the treatment of urinary incontinence in women. Prog Urol. 2003 Sep;13(4):656-9

58. Costa P, Grise P, Droupy S, Monneins F, Assenmacher C, Ballanger P, et al. Surgical treatment of female stress urinary incontinence with a trans-obturator-tape (T.O.T.) Uratape: short term results of a prospective multicentric study. Eur Urol. 2004 Jul;46(1):102-6.

59. Roumeguère T, Quackels T, Bollens R, de Groote A, Zlotta A, Bossche MV, et al. Trans-obturator vaginal tape (TOT) for female stress incontinence: one year follow-up in 120 patients. Eur Urol. 2005 Nov;48(5):805-9.

60. Rezapour M, Falconer C, Ulmsten U. Tension-Free vaginal tape (TVT) in stress incontinent women with intrinsic sphincter deficiency (ISD) a long-term follow-up. Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct. 2001;12 (Suppl 2):S12-14.

61. Anger J, Amundsen C, Webster G. The use of a polypropylene mesh sling with suburethral insert of biologic material: a minimally invasive approach to treating intrinsic sphincteric deficiency with minimal urethral mobility. J Urol. 2004; 171(Suppl 4): A124.

62. Eisenberg E, Badlani G. Bioarc TM. A versatile and minimally invasive sling system for stress urinary incontinence and pelvic prolapse. J Urol. 2004; 171: (Suppl 4): V936.

63. Haab FM Trockman BA, Zimmern PE. Results of pubovaginal sling for the treatment of intrinsic sphincteric deficienty determined by questionnaire analysis. J Urol. 1997 Nov; 158(5):1738-41.

64. Atherton MJ, Stanton SL. A comparison of bladder neck movement and elevation after tension-free vaginal tape and colposuspension. BJOG. 2000 Nov;107(11):1366-70.

65. Levin I, Groutz A, Gold R, Pauzner D, Lessing JB, Gordon D. Surgical complications and medium-term outcome results of tension-free vaginal tape: a prospective study of 313 consecutive patients. Neurourol Urodyn. 2004 Jan; 23(1): 7-9.

66. Rodrigues LV, Raz S. Prospective analysis of patients treated with a distal urethral polypropylene sling for symptoms of stress urinary incontinence: surgical outcome and satisfaction determined by patient driven questionnaires.. J Urol. 2003 Sep;170(3):857-63

67. Govier FE, Gibbons RP, Correa RJ, Weissman RM, Pritchett TR, Hefty TR. Pubovaginal slings using fascia lata for the treatment of intrinsic sphincter deficiency. J Urol. 1997 Jan;157(1):117-21.

68. Morgan TO Jr, Westney OL, McGuire EJ. Pubovaginal sling: 4-YEAR outcome analysis and quality of life assessment. J Urol. 2000 Jun;163(6):1845-8.

69. Ward K, Hilton P. Prospective multicentre randomised trial of tension-free vaginal tape and colposuspension as primary treatment for stress incontinence. BMJ. 2002 Jul 13;325(7355):67.

70. Tsivian A, Kessler O, Mogutin B, Rosenthal J, Korczak D, Levin S, et al. Tape related complications of the tension-free vaginal tape procedure. J Urol. 2004 Feb;171(2 Pt 1):762-4.

71. deTayrac R, Deffieux X, Droupy S, Chauveaud-Lambling A, Calvanèse-Benamour L, Fernandez H. A prospective randomized trial comparing tension-free vaginal tape and transobturator suburethral tape for surgical treatment of stress urinary incontinence.Am J Obstet Gynecol. 2004 Mar;190(3):602-8.

72. Hung MJ, Liu FS, Shen PS, Chen GD, Lin LY, Ho ES. Analysis of two sling procedures using polypropylene mesh for treatment of stress urinary incontinence. Int J Gynaecol Obstet. 2004 Feb;84(2):133-41.

73. Dietz HP, Ellis G, Wilson PD, Herbison P. Voiding function after tension-free vaginal tape: a longitudinal study. Aust N Z J Obstet Gynaecol. 2004 Apr;44(2):152-5.

74. Lorenzo AJ, Zimmern P, Lemack GE, Nurenberg P. Endorectal coil magnetic resonance imaging for diagnosis of urethral and periurethral pathologic findings in women. Urology. 2003 Jun;61(6):1129-33.

75. Leach GE, Raz S. Modified Pereyra bladder neck suspension after previously failed anti-incontinence surgery. Surgical technique and results with long-term follow-up. Urology. 1984 Apr;23(4):359-62.

76. Carey JM, Chon JK, Leach GE. Urethrolysis with Martius labial fat pad graft for iatrogenic bladder outlet obstruction. Urology. 2003 Apr;61(4 Suppl 1):21-5.

77. Goldman HB. Simple sling incision for the treatment of iatrogenic urethral obstruction. Urology. 2003 Oct;62(4):714-8.

78. Croak AJ, Schulte V, Peron S, Klingele C, Gebhart J, Lee R. Transvaginal tape lysis for urinary obstruction after tension-free vaginal tape placement. J Urol. 2003 Jun;169(6):2238-41.

79. Gilleran JP, Zimmern P. An evidence-based approach to the evaluation and management of stress incontinence in women. Curr Opin Urol. 2005 Jul; 15(4):236-43.

80. Kobashi KC, Govier FE. Management of vaginal erosion of polypropylene mesh slings. J Urol. 2003 Jun;169(6):2242-3.

81. Amundsen CL, Flynn BJ, Webster GD. Urethral erosion after synthetic and nonsynthetic pubovaginal slings: differences in management and continence outcome. J Urol. 2003 Jul;170(1):134-7

82. Francolini I, Norris P, Piozzi A, Donelli G, Stoodley P. Usnic acid, a natural antimicrobial agent able to inhibit bacterial biofilm formation on polymer surfaces. Antimicrob Agents Chemother. 2004 Nov;48(11):4360-5.

83. Melo FAD. Contribuição ao estudo cinético da produção de polissacarídeos extracelulares por *Zoogloea* sp em melaço de cana-de-açúcar. [Dissertação Mestrado]. Recife-PE: Universidade Federal de Pernambuco; 2003.

84. Okiyama AM, Motoki K, Yamnanak M. Bacterial cellulose II. Processing of the gelatinous cellulose for food materials. Food Hydr. 1992 May; 6(5): 479-87.

85. Paterson-Beedle M, Kennedy JF, Melo FAD, Lloyd LL, Medeiros V. A cellulosic exopolysaccharide produced from sugarcane molasses by a *Zoogloea sp*. Carbhydr Polym. 2000; 42: 375-83.

86. Madla S, Methacanonb P, Prasitsilb M, Kirtikara K. Chararacterization of biocompatible fungi-derivad polymers that induce IL-8 production. Carbohydr Polym. 2005; 59: 275-80.

87. Sutherland IW. Polysaccharase for microbial exopolysaccharides. Carbohydr Polym. 1999; 38(8): 319-28.

88. Carneiro MJ, Fernandes A, Figueiredo CM, Fortes AG, Freitas AM. Synthesis of carbohydrate based polymers. Carbohydr Polym. 2001; 45: 135-8.

89. Varma AJ, Kennedy JF, Galgali P. Syntetic polymers functionalized by carbhoydrates: a review. Carbhydr Polym. 2004; 56: 429-45.

90. Czaja W, Krystynowicz A, Bielecki S, Brown RM Jr. Microbial cellulose--the natural power to heal wounds. Biomaterials. 2006 Jan;27(2):145-51.

91. Néris AM.. Desenvolvimento e caracterização de gel de biopolímero produzido pela fermentação de melaço de cana-de-açúcar pelo microorganismo Zoogloea sp. contendo ácido único. [Dissertação Mestrado]. Recife-SP: Universidade Federal de Pernambuco; 2007.

92. Padilha FF, Dellagostin OA, Vendruscolo CT. Composição química do biopolímero de Beijerinckia sp 7070 por cromatografia em camada delgada. Rev Bras Agroc. 1998 Set-Dez; 4(3): 231-3.

93. Haag AP, Mairec RM, Combied J, Geeseya GG. Bacterially derived biopolymers as wood adhesives. In J Adh & Adh. 2004; 24: 495-502.

94. Troyano E, Lee SP, Rhab CK, Sinskey AJ. Presence of acetate and succinate in exopolysaccharide produced by *Zoogloea Ramigera*. Carbohydr Polym. 1996; 31: 35-40.

95. Cavalcante AHM, Carvalho Jr. LB, Carneiro da Cunha MG. Cellulosic Exopolysaccharide produced by *Zoogloea sp* as a film support for trypsin immobilisation. Bio Eng J. 2006 Mar; 29(3):258-61.

96. Coelho MCOC, Carrazoni PG, Monteiro VLC, Melo FAD, Mota R, Tenório filho, F. Biopolímero produzido a partir da cana-de-açúcar para cicatrização cutânea. Acta Cir Bras. 2002; 17(Suppl. 1):1-7.

97. Barros da Silva D, Aguiar JLA, Marques E, Barros Coelho AR. Rolim Filho, EL. Miringoplastia com enxerto livre de membrana de biopolímero de cana de açúcar e fascia autóloga em chichilla laniger. An Fac Med Fed Pernamb. 2006 Jan; 51 (1):45-51.

98. Castro CMMB, Aguiar JLA, Melo FAD, Silva WTF, Marques E, Silva DB. Citotoxicidade de biopolímero de cana-de-açúcar. An Fac Med Univ Fed Pernamb. 2004 Jun; 49(2):119-23.

99. Massone F. Anestesiologia Veterinária: Farmacologia e Técnicas. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A; 2003. 252p.

100. Thiel M. Análise quantitativa da fibrose e semiquantitativa da reação inflamatória de quatro diferentes slings sintéticos. [Tese Doutorado]. Campinas-SP: Universidade Estadual de Campinas; 2006.

101. Weibel ER, Kistler GS, Scherle WF. Practical stereological methods for morphometric cytology.J Cell Biol. 1966 Jul;30(1):23-38.

102. Yildirim A, Bosok EK, Gulpinar T, Gurbuz C, Zemheri E, Tokuc R. Tissue reactions of 5 sling materials and tissue material detachment strength of 4 synthetic mesh materials in a rabbit model. J Urol. 2005 Nov; 174(11):2037-40.

103. Lima FR, Lima JRA, Hirakawa P, Medeiros Jr. MD, Lima FMT, Aguiar JLA. Resposta inflamatória a membrana de biopolímero de cana-de-açúcar e telas de Polipropileno implantas no peritôneo parietal de ratos. An Fac Méd Univ Fed Pernamb. 2005 Jan; 50(1): 37-40.

104. US Food and Drug Administration. Electronic and information technology accessibility standards economic assessment. [serial Internet]. Nov 2000. [citado em 2007 Out 11]. Available from: www.fda.gov/accessibility.html.

105. Slack M, Sandhu JS, Staskin DR, Grant RC. In vivo comparison of suburethral sling materials. Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct. 2006 Feb;17(2):106-10.

106. Rutner AB, Levine SR, Schmaelzle JF. Processed porcine small intestine submucosa as a graft material for pubovaginal slings: durability and results. Urology. 2003 Nov;62(5):805-9

107. Wiedemann A, Otto M. Small intestinal submucosa for pubourethral sling suspension for the treatment of stress incontinence: first histopathological results in humans. J Urol. 2004 Jul;172(1):215-8.

108. Silveira AA, Dantas MLM, Almeida YMB, Aguiar JLA. Estudo biomecânico de membranas de biopolímero de cana-de-açúcar perfuradas e contínuas implantadas no celular subcutâneo da parede abdominal de ratos. An Fac Med Fed Pernamb. 2007 Jan; 52(1): 55-9.

ANEXO

Anexo 1

Normatização da Tese

Esta tese está de acordo com:

International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver)

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Sample References

Updated February 2006

Last reviewed: 22 May 2007
Last updated: 25 April 2007
First published: 09 July 2003
Metadata| **Permanence level:** Permanent: Dynamic Content

Copyright, Privacy, Accessibility
U.S. National Library of Medicine, 8600 Rockville Pike, Bethesda, MD 20894
National Institutes of Health, Health & Human Services

www.icmje.org/

www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html