Elisio Rodrigues Coelho Júnior

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Cirurgia

PREVENÇÃO DE ADERÊNCIAS PERITONEAIS UTERINAS COM GEL DE BIOPOLÍMERO DE CANA-DE-AÇÚCAR EM RATAS

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
Dr. José Lamartine de Andrade Aguiar
Prof. Associado do Depto. de Cirurgia, CCS-UFPE

Orientador-Externo
Dra. Laura Olinda Brigieiro Costa
Profa. Adjunta do Depto. de Tocoginecologia, UPE

RECIFE
2012

Catalogação na fonte
Bibliotecária Giseani Bezerra, CRB4-1738

C672p Coelho Júnior, Elisio Rodrigues.
Prevenção de aderências peritoneais uterinas com gel de biopolímero de cana-de-açúcar em ratas / Elisio Rodrigues Coelho Júnior. – Recife: O autor, 2012.
xvi + 101 folhas : il. ; 30 cm.

Orientador: José Lamartine de Andrade Aguiar.
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Cirurgia, 2012.
Inclui bibliografia, apêndices e anexos.

1. Biopolímeros. 2. Hidrogel. 3. Celulose oxidada. 4. Ratos. 5. Cana-de-açúcar. I. Aguiar, José Lamartine de Andrade (Orientador). II. Título.

617.91 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2012-118)

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

Relatório da Defesa de Tese de ELÍSIO RODRIGUES COELHO JÚNIOR, Aluno de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Cirurgia, Área de Concentração: Cirurgia Clínica e Experimental.

Às oito horas do dia oito de março de dois mil e doze, no Auditório Murilo La Greca no Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, tiveram início os trabalhos de defesa de Tese de ELÍSIO RODRIGUES COELHO JÚNIOR 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. SALVADOR VILAR CORREIA LIMA, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE; Dr. JOSEMBERG MARINS CAMPOS, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE; Dr. FÁBIO DE OLIVEIRA VILAR, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE; Dr. PETRUS AUGUSTO DORNELAS CÂMARA, Doutor do Departamento Materno Infantil do CCS/UFPE; Dr. HÉLIO DE LIMA FERREIRA FERNANDES COSTA, Doutor do Departamento Materno Infantil da UPE; e, para suplentes: interno: Dr. ÁLVARO ANTONIO BANDEIRA FERRAZ, Doutor da Universidade Federal de Pernambuco; e, finalmente, externo, JOSÉ GUIDO CORREIA DE ARAÚJO, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE; tendo, como orientador interno, o Dr. JOSÉ LAMARTINE DE ANDRADE AGUIAR, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE. A Tese apresentada por **ELÍSIO RODRIGUES COELHO JÚNIOR** versou sobre: **"PREVENÇÃO DE ADERÊNCIAS PERITONEAIS UTERINAS COM GEL DE BIOPOLÍMERO DE CANA-DE-AÇÚCAR EM RATAS"**. 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 realizadas as argüições na seguinte ordem: Prof. Dr. SALVADOR VILAR CORREIA LIMA (Presidente da Banca Examinadora), Prof. Dr. JOSEMBERG MARINS CAMPOS, Prof. Dr. FÁBIO DE OLIVEIRA VILAR; Prof. Dr. PETRUS AUGUSTO DORNELAS CÂMARA; Prof. Dr. HÉLIO DE LIMA FERREIRA FERNANDES COSTA; 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. SALVADOR VILAR CORREIA LIMA (Presidente da Banca Examinadora), menção "aprovado", Prof. Dr. JOSEMBERG MARINS CAMPOS, menção "APROVADO", Prof. Dr. FÁBIO DE OLIVEIRA VILAR, menção "APROVADO", Prof Dr. PETRUS AUGUSTO DORNELAS CÂMARA, menção "APROVADO", Prof. Dr. HÉLIO DE LIMA FERREIRA FERNANDES COSTA, menção "APROVADO". Nada mais havendo a registrar foram encerrados os trabalhos e, para constar, elaborei o presente relatório que vai por mim, Isabela Nogueira Pimentel, Técnica em assuntos Educacionais, assinado depois do Senhor Presidente, e demais integrantes da Comissão Examinadora. Recife, 08 de Março de 2012.

Prof. SALVADOR VILAR CORREIA LIMA
Prof. JOSEMBERG MARINS CAMPOS
Prof. FÁBIO DE OLIVEIRA VILAR
Prof. PETRUS AUGUSTO DORNELAS CÂMARA
Prof. HÉLIO DE LIMA FERREIRA FERNANDES COSTA
Sra. ISABELA NOGUEIRA PIMENTEL (Técnica em assuntos educacionais)

Universidade Federal de Pernambuco

REITOR
Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR
Prof. Sílvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Prof. Francisco de Souza Ramos

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DIRETOR
Prof. José Thadeu Pinheiro

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
DIRETOR SUPERINTENDENTE
Prof. George da Silva Telles

DEPARTAMENTO DE CIRURGIA
CHEFE
Prof. Salvador Vilar Correia Lima

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA
NÍVEL MESTRADO E DOUTORADO

COORDENADOR
Prof. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz

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. Fábio de Oliveira Vilar
Prof. Fernando Ribeiro de Moraes Neto
Prof. José Lamartine de Andrade Aguiar
Prof. Josemberg Marins Campos
Profa. Magdala de Araújo Novaes
Prof. Salvador Vilar Correia Lima
Prof. Sílvio Caldas Neto

Normas adotadas para esta Tese

VANCOUVER

O estilo Vancouver foi utilizado como norma para apresentação desta tese. O estilo foi embasado em requisitos para uniformizar os manuscritos apresentados às revistas biomédicas estabelecidos pela American National Standards Institute (ANSI) adaptado pela US National Library of Medicine (NLM), publicado em 1978. Adotando-se sua última versão revisada em 2007, disponível no endereço eletrônico do ICMJE: http://www.icmje.org.

Para abreviatura dos títulos dos periódicos foi consultado "List of Journals Indexed in Index Medicus", publicado pela NLM, através do endereço eletrônico: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=journals.

"Vale à pena sonhar.

Quando se sonha só, se tem apenas um sonho.

Quando se sonha com alguns, se tem uma ideia.

Quando se sonha com muitos, se tem a realidade".

Dom Hélder Câmara

Dedicatória

À minha esposa Ana Paula e aos meus filhos, Henrique e Beatriz, que com amor compartilham comigo todos os momentos, me fortalecendo e tornando nossa casa meu porto seguro, possibilitando a realização desse sonho.

Aos meus pais, Elísio e Adelaide, pelo exemplo, pelo amor, pela renúncia ao convívio em prol da busca da felicidade e do crescimento profissional.

Aos meus irmãos, que compartilham da minha vida mesmo a distância, e sempre buscam o sucesso através do mérito.

Agradecimentos

Ao meu orientador, Professor José Lamartine de Aguiar, pela valiosa contribuição à realização desta pesquisa e pela análise crítica do texto final.

À minha Coorientadora, Professora Laura Olinda Brigieiro F. Costa, pelas observações sempre pertinentes e fundamentais na conclusão desta tese.

Ao Professor Carlos Teixeira Brandt, por sua dedicação, compromisso, carinho, ética e sabedoria dedicadas a nós, do Programa de Pós-graduação em Cirurgia, fundamentais à conclusão desta tese.

Ao Professor Arinaldo Vasconcelos de Alencar, amigo e colega da Universidade de Pernambuco, que me incentivou na realização do doutorado, e prestou contribuições pertinentes e imprescindíveis à conclusão desta tese.

Ao patologista, Dr. Horácio Fittipaldi, pelo grande desprendimento na realização da histologia, sem ônus, em sua clínica privada, possibilitando a conclusão desta tese.

Aos Professores Antônio Roberto de Barros Coelho e Renato Dornelas Câmera, respectivamente Coordenador e Vice-Coordenador do Núcleo de Cirurgia Experimental da UFPE, por terem cedido as instalações e pelo apoio à execução do projeto.

À Professora Adriana Cruz (Veterinária), pela importante contribuição na anestesia e seleção dos animais, fundamentais na execução do projeto.

A Gustavo Nery, estudante de Medicina, que me auxiliou nos procedimentos cirúrgicos.

A Paulo Antônio Barbosa (Auxiliar Operacional) e Maria de Lourdes Cordeiro da Silva (Técnica de Enfermagem), imprescindíveis nos procedimentos cirúrgicos e manutenção dos animais.

Aos Professores e amigos, Marcelo Valença e Luciana Valença, que me deram contribuição de extrema valia no valor científico desta pesquisa.

A todos os funcionários do NCE e do Programa de Pós-graduação em Cirurgia, pela ajuda e pelo carinho que sempre me dedicaram.

Aos professores da Pós-graduação, pelo excelente nível das aulas ministradas.

Aos colegas de doutorado, pelos momentos de evolução científica, espiritual e de sentimentos compartilhados.

Ao estatístico, Sr. Felipe Machado, pela realização das análises estatísticas da pesquisa.

A Márcia & Mércia, pela digitação da dissertação.

Sumário

LISTA DE ABREVIATURAS **xi**
LISTA DE TABELAS **xii**
LISTA DE FIGURAS **xiii**
LISTA DE QUADROS **xiv**
RESUMO **xv**
ABSTRACT **xvi**

1. INTRODUÇÃO **01**
1.1 Objetivos 05
1.1.1 Objetivo geral 05
1.1.2 Objetivos específicos 05
2. REVISÃO DA LITERATURA **07**
2.1 Conceito e fatores predisponentes 08
2.2 Fisiopatologia das aderências abdominais 08
2.2.1 Cicatrização peritoneal normal – regeneração mesotelial 08
2.2.2 Reparo peritoneal e formação de aderências 09
2.2.3 Avaliação experimental das aderências 11
2.2.4 Condutas para reduzir a formação de aderências 12
2.2.5 Agentes para prevenção de aderências 13
2.2.5.1 Farmacológicos 13
2.2.5.2 Barreiras sólidas 13
2.2.5.3 Interceed® 14
2.2.5.4 Outras barreiras sólidas 15
2.2.5.5 Géis e instilados intraperitoneais 15
2.2.5.6 Biopolímero de melaço da cana-de-açúcar 17
3. MATERIAL E MÉTODOS **20**
3.1. População de estudo 21
3.2. Desenho de estudo 21

3.3 Variáveis 22
3.3.1. Variáveis independentes 22
3.3.2. Variáveis dependentes 22
3.3.3. Definição das variáveis dependentes 22
3.3.4. Variáveis potencialmente de confusão 26
3.4 Procedimentos 26
3.4.1 Confecção do biopolímero da cana-de-açúcar 26
3.4.2 Procedimento anestésico 27
3.4.3 Procedimentos cirúrgicos 27
3.4.4 Procedimento cirúrgico – segunda intervenção 30
3.4.5 Eutanásia 30
3.4.6. Avaliação histológica – confecção das lâminas 30
3.4.7 Metodologia estatística 31
3.4.8. Procedimentos éticos 31
4. RESULTADOS **32**
5. DISCUSSÃO **44**
6. CONCLUSÕES **54**
REFERÊNCIAS **57**
APÊNDICES **77**
Apêndice A – Bases de dados dos pacientes estudados 78
ANEXOS **79**
Anexo A – Aprovação do Comitê de Ética 80
Anexo B – Artigo Original da Tese 81

Lista de Siglas e Abreviaturas

CMC	carboximetilcelulose
e-PTFE	politetrafluoroetileno expandido
EUA	Estados Unidos da América
GnRH	Hormônio liberador de gonadotropina
HA	hialuronato de sódio
NCE	Núcleo de Cirurgia Experimental
OR	*odds ratio*
ORC	celulose oxidada regenerada
PAI-1	Inibidor do ativador do plasminogênio 1
PEO	óxido de polietileno
SCAR	*Surgical and Clinical Adhesions Research*
TGF-β1	Fator transformador de crescimento beta 1
tPA	ativador plasminogênio tecidual
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco

Lista de Tabelas

Tabela 1	Distribuição do peso dos animais após o procedimento antes da segunda intervenção nos grupos 1, 2 e 3.	34
Tabela 2	Número absoluto e proporção de casos de aderências nos grupos 1, 2 e 3	34
Tabela 3	Graduação da intensidade das aderências nos grupos 1, 2 e 3 por meio do sistema de escore numérico das aderências, e OR para presença de aderências em relação ao grupo	35
Tabela 4	Comparação da presença das aderências através da análise qualitativa (tipo e tenacidade) das aderências entre os grupos 1, 2 e 3	37
Tabela 5	Estatísticas descritivas da intensidade das aderências entre os grupos 1, 2 e 3	37
Tabela 6	Classificação das aderências sítio-específica em percentual de ocorrência	39
Tabela 7	Estatísticas descritivas do Escore multidimensional das aderências nos grupos 1, 2 e 3	39
Tabela 8	Medidas descritivas da extensão das aderências em cada grupo em cm^3, medido a partir do software de CAD	41
Tabela 9	Distribuição da fibrose nos grupos 1, 2 e 3	42
Tabela 10	Distribuição da reação inflamatória nos grupos 1, 2 e 3	43
Tabela 11	Distribuição da proliferação vascular nos grupos 1, 2 e 3	43

Lista de Figuras

Figura 1	Imagem da linha de sutura uterina antes do AutoCAD	25
Figura 2	Imagem da linha de sutura uterina em escala gráfica ao AutoCAD	25
Figura 3	Apresentação do gel na embalagem original	26
Figura 4	Apresentação do gel - aspecto físico	26
Figura 5	Gel aplicado sobre a linha de sutura do útero	26
Figura 6	Gel aplicado sobre a linha de sutura do útero	28
Figura 7	Incisão no corno uterino	28
Figura 8	Sutura da incisão uterina	28
Figura 9	Apresentação do Interceed® na embalagem original e aspecto físico	28
Figura 10	Interceed® aplicado sobre a linha de sutura uterina	28
Figura 11 – A, B e C	Imagens representativas da formação de aderências extensas sobre o corno uterino no grupo tratado com soro fisiológico	33
Figura 12 - A e B	Imagens representativas da formação de aderências graus 0 e 1, segundo Wallviener[25], sobre o corno uterino no grupo tratado com Interceed®	35
Figura 13 – A, B e C	Imagens representativas da formação de aderências graus 0 e 1, segundo Wallviener[25], sobre o corno uterino no grupo tratado com Gel do Biopolímero	36
Figura 14	Gráfico de Intervalo de Confiança de 95% para as médias da Intensidade da Aderência nos grupos 1, 2 e 3	38
Figura 15	Gráfico de Intervalo de Confiança de 95% para as médias do escore Multidimensional das aderências nos grupos 1, 2 e 3	40
Figura 16	Gráfico de Intervalo de Confiança de 95% para as médias da Extensão nos grupos 1, 2 e 3	41
Figura 17	Imagem representativa de fibrose mínima no grupo C (áreas em azul) (tricrômico de Masson 100X)	42
Figura 18	Imagem representativa de fibrose moderada no grupo B (áreas em azul) (tricrômico de Masson100X)	42
Figura 19	Imagem representativa de proliferação vascular grau 2 (HE 400X) do grupo 3	44
Figura 20	Imagem representativa de reação inflamatória grau 1 (HE 100X) do grupo 3	44
Figura 21	Imagem representativa de reação inflamatória grau 2 com agregados de macrófagos (HE 100X) do grupo 2	44

Lista de Quadros

Quadro 1 Grau das aderências 23

Quadro 2 Classificação das aderências sítio-específicas 24

Quadro 3 Parâmetros avaliados na histologia 25

Quadro 4 Definição das variáveis potencialmente de confusão 26

Resumo

Objetivo: Comparar a efetividade do Gel do Biopolímero da cana-de-açúcar com o Interceed®, tendo como controle o soro fisiológico, na prevenção da formação de aderências peritoneais uterinas, em ratas. **Métodos:** Quarenta e cinco ratas da raça Wistar foram submetidas a laparotomia, com indução à formação de aderências por incisão uterina com eletrocautério e sutura. Os animais foram divididos em 3 grupos com 15 animais e tiveram a área do trauma cirúrgico recoberta por: grupo 1, controle – soro fisiológico; grupo 2, Interceed®; grupo 3, Gel do Biopolímero da cana-de-açúcar. Após 45 dias, as aderências foram classificadas e mensuradas. **Resultados:** Em relação ao grupo controle, tanto o tratamento com Gel (p=0,002 no teste exato de Fisher), como com Interceed® (p=0,0421 no teste exato de Fisher) resultaram em um menor número de animais apresentando aderências. Porém, sem diferença estatística entre os grupos tratados com gel e Interceed® (p=0,4621 no teste exato de Fisher). Utilizando o cálculo da OR (*odds ratio*), foi identificado que a chance de um animal que recebeu tratamento com Interceed® e Gel do Biopolímero da cana-de-açúcar desenvolverem aderências classificadas como 2 ou 3 foi 86,4% e 93,2% menor que em relação ao soro fisiológico, respectivamente. Avaliando as aderências sítio-específicas pelo escore multidimensional das aderências e pelo AutoCAD, verificou-se que os grupos do Gel do Biopolímero e do Interceed® apresentaram valores médios inferiores aos do grupo do soro fisiológico (p<0,05), contudo, sem diferença entre eles (p=0,487). Na avaliação histológica, a maioria dos animais do grupo 3 (80%) tiveram fibrose classificada como mínima; no grupo 2, a maioria (80%) teve fibrose classificada como moderada, e no grupo 1, não houve diferença entre as classificações mínima e moderada. No tocante à reação inflamatória e à proliferação vascular, não foi observada nenhuma relação estatisticamente significativa entre os grupos. **Conclusão:** Os dados sugerem que o Gel do Biopolimero da cana-de-açúcar é tão efetivo quanto o Interceed® na prevenção de aderências pós-operatórias sítio-especifícas, em ratas, com menor fibrose.

Descritores: Aderência; antiaderência; biopolímero; cana-de-açúcar; hidrogel; celulose oxidada regenerada.

Abstract

Objectives: The aim of this study was to compare the effectiveness of **s**ugarcane Biopolymer Gel with Interceed® in preventing postoperative intraperitoneal adhesion formation in rats. **Methods:** Forty-five Wistar rats underwent a laparotomy, and adhesions were induced by uterine incision and suture. The animals were divided into 3 groups: group 1, control – saline; group 2, Interceed®; and group 3, sugarcane Biopolymer Gel. After 45 days, the adhesions were classified. **Results:** Compared with the control group, both the treatment with gel ($p=0.002$ on Fisher's exact test) and Interceed® ($p=0.0421$ on Fisher's exact test) resulted in a smaller number of animals with adhesions. However, there was no statistical difference between the groups treated with gel and Interceed® ($p=0.4621$ on Fisher's exact test). The odds ratio was calculated to show that the likelihood of animals treated with Interceed® and sugarcane Biopolymer Gel developing adhesions classified as type 2 or 3 was 86.4% and 93.2% less respectively than those receiving saline. Assessing site-specific adhesions using the multidimensional adhesion score and AutoCAD, it was found that the groups receiving sugarcane Biopolymer Gel and Interceed® presented lower mean values than the saline group ($p<0.05$), with no difference between the two treatments ($p=0.487$). Histological examination showed that most of the animals in Group 3, 80%, had presented fibrosis that was classified as minimal, while 80% of those in group 2 presented moderate fibrosis, and there was no difference in Group 1 between the minimal and moderate classifications. In relation to the inflammatory reaction and vascular proliferation, no statistically significant relation was found. **Conclusions:** These data suggest that sugarcane Biopolymer Gel is as effective as Interceed®, for preventing postoperative adhesions in rats, with additional effect in fibrosis.

Keywords: Adhesion; anti-adhesion; sugarcane biopolymer gel; hydrogel; oxidized regenerated cellulose barrier.

INTRODUÇÃO

A aderência pós-operatória é uma das mais frequentes complicações da cirurgia abdominal e representa um problema ainda não resolvido na medicina atual[1]. Análise prospectiva de 210 pacientes submetidas à laparotomia, que tinham sido previamente submetidas a um ou mais procedimentos, mostrou que 93% tinham aderências relacionadas à cirurgia prévia[2]. Na área de ginecologia, as aderências intra-abdominais ocorreram em 60-90% das mulheres que se submeteram a procedimentos ginecológicos de maior complexidade[3]. Revisão retrospectiva avaliando a história natural das pacientes com obstrução do intestino delgado mostrou que procedimentos ginecológicos foram a segunda causa mais frequente de aderências (22%), inferior apenas aos procedimentos colorretais (24%)[4].

As aderências representam risco de 19% de enterotomia involuntária durante reoperação laparatômica e 50% delas ocorreram quando as aderências foram liberadas no abdome inferior e pelve[5], e risco de 10-25% de lesão intestinal durante adesiólises laparoscópicas[6,7]. Pacientes submetidas a procedimento cirúrgico aberto em cólon e reto[8] e trompas de Falópio e ovários[9] tinham maior risco de readmissão relacionada com aderências.

Mesmo quando desfeitas cirurgicamente, as aderências têm uma grande propensão a se refazer. Autores observaram que a recidiva das aderências pós-operatórias ocorreu em 55-100% dos casos, com uma incidência média de 85%, independentemente de suas características iniciais e se a adesiólise foi realizada por laparotomia ou laparoscopia[10].

Um estudo epidemiológico inicial do grupo *Surgical and Clinical Adhesions Research* (*SCAR*), que investigou as repercussões das aderências pós-cirúrgicas por análise das readmissões hospitalares em 10 anos nas pacientes submetidas à cirurgia abdominopélvica aberta no ano de 1986, incluiu uma avaliação do impacto das aderências após uma cirurgia ginecológica aberta em uma cohort de 8.849 mulheres**.** No total, 34,5% das pacientes foram readmitidas em média, 1,9 vezes durante os 10 anos posteriores à cirurgia inicial, ou por problemas potencialmente relacionados com as aderências ou por outras intervenções cirúrgicas potencialmente complicadas pelas aderências; e as readmissões diretamente relacionadas às aderências ocorreram em 4,5%[9].

Subsequentemente, dados avaliados também pelo grupo *SCAR* mostraram que, com exceção das esterilizações tubárias laparoscópicas, o risco de readmissão relacionada com as aderências após os mais comuns procedimentos laparoscópicos ginecológicos era comparável aos procedimentos similares realizados por laparotomia[11].

Em meta-análise aplicada ao estudo das aderências foi confirmado que os resultados são comparáveis para cirurgia aberta e laparoscópica, tanto para a formação de novas aderências, como para a reformação depois da adesiólise[12].

Estudo sobre os cuidados hospitalares e os gastos associados com procedimentos para liberação de aderências, nos Estados Unidos, realizado em 1994, constatou que a adesiólise contabilizou 303.836 internações (1% das internações nos Estados Unidos) e 1,33 bilhões de dólares em despesas médico-hospitalares[13]. O estudo *SCAR*-3 encontrou um risco de 5% de readmissão diretamente relacionada às aderências, em cinco anos, após cirurgia abdominal aberta (excluindo apendicectomia)[14].

Aderências intra-abdominais se formam no período pós-operatório precoce e pesquisas estão direcionadas ao desenvolvimento de barreiras físicas e biodegradáveis[15].

Uma variedade de técnicas cirúrgicas e agentes é preconizada para prevenção de aderências intraperitoneais. A separação mecânica das faces peritoneais dos órgãos pélvicos o mais cedo possível no processo de cicatrização pós-operatória[15-18] é uma opção prática para prevenção de aderências pós-operatórias. Esta separação pode ser acompanhada por instilação intra-abdominal de líquido e por barreiras sólidas (tecido endógeno ou materiais exógenos)[15].

Avanços foram feitos com a introdução e avaliação de vários produtos para reduzir a ocorrência de aderências. Os polímeros sintéticos absorvíveis utilizados como barreira são fáceis de manusear, sem contaminantes biológicos, menos imunogênicos e têm melhores propriedades mecânicas. Vários estudos dão respaldo à utilização de materiais como a celulose oxidada regenerada (Interceed® Absorbable Adhesion Barrier; Ethicon, Inc., Somerville, NJ)[19-21] e o ácido hialurônico-carboximetilcelulose (Seprafilm®; Genzyme Corp., Cambridge, MA)[22-24]. Entretanto, o

Interceed® tem sua eficácia reduzida na presença de sangue[25-29], e o Seprafilm® é de difícil aplicação pela laparoscopia[16,26-30], bem como para se amoldar à forma dos órgãos pélvicos. Barreira líquida, como o polietileno glicol SprayGel (Covidien, Ltd., Mansfield, MA), embora promissor[31], apresenta complexidade da configuração do equipamento e alto custo. O hialuronato ferroso (Intergel Adhesion Prevention Solution; Lifecore Biomedical, Inc., Chaska, MN), fácil de aplicar e um tanto quanto eficaz, foi retirado do mercado, devido às reações teciduais e potencialização de infecção[32]. Instilados intra-abdominais, como a icodextrina (Adept Adhesion Reduction Solution: Baxter International Inc., Deerfield, IL), apresentaram efeitos adversos, em torno de 30%, na laparotomia[33].

A partir de 1990, na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), foram realizados estudos experimentais com o biopolímero de melaço da cana-de-açúcar. A síntese do biopolímero foi sistematizada, resultando na produção de membrana e de gel homogêneos, com características físicas que podem ser utilizadas como dispositivos para a prevenção de aderências, por ser um polímero biocompatível, não imunogênico, constituído apenas de açúcares e ácido glicurônico[34-36]. Filmes de biopolímero de melaço de cana-de-açúcar, em estudos experimentais apresentaram baixa toxicidade, biocompatibilidade e características físico-químicas que atendem às especificidades morfofuncionais de diferentes tecidos, permitindo a sua aplicação como dispositivos biológicos[37-39].

O biopolímero é produzido por via biotecnológica, a partir de melaço da cana-de-açúcar, um subproduto da produção do açúcar, proveniente da agroindústria regional, de fonte renovável, e com baixo valor agregado, tornando a produção do biopolímero economicamente viável. O baixo custo de produção e a grande oferta de matéria prima permitem a sua produção em escala, com grande competitividade em relação aos similares sintéticos importados[36].

Diferentes produtos do biopolímero de melaço da cana-de-açúcar têm sido utilizados em diversas áreas da cirurgia experimental[35,40-52], com os resultados demonstrando biocompatibilidade e biointegração. A inexistência de relatos de sua utilização como selante de lesões peritoneais na prevenção de formação de

aderências despertou o interesse de estudar a sua utilização na prevenção de aderências após cirurgias ginecológicas.

O propósito deste estudo é avaliar e comparar a efetividade do Gel de Biopolímero da cana-de-açúcar com o Interceed® na redução da formação de aderências intra-abdominais e sua influência na fibrose e reação inflamatória, em um modelo experimental utilizando ratas. Como não existem estudos em número suficiente, avaliando, qualitativa e quantitativamente, a ação do Gel de Biopolímero da cana-de-açúcar, e em virtude dos achados promissores da biocompatibilidade do biopolímero, a hipótese se baseia na eficácia deste material na redução das aderências. Se efetivo em modelo animal, então estudos posteriores investigando as limitações econômicas e médicas em humanos poderão e deverão ser realizados.

1.1 **Objetivos**

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar e comparar a efetividade do Gel de Biopolímero da cana-de-açúcar e do Interceed® na redução da formação de aderências sítio – específicas e na intensidade da resposta inflamatória local na linha de sutura de úteros de ratas, tendo como grupo controle o soro fisiológico.

1.1.2 Objetivos específicos

1. Quantificar o percentual de ocorrência de aderências na linha de sutura do útero de ratas tratadas com soro fisiológico, Interceed® e Gel do Biopolímero da cana-de-açúcar;
2. Analisar o grau das aderências na linha de sutura do útero de ratas tratadas com soro fisiológico, Interceed® e Gel do Biopolímero da cana-de-açúcar, por meio do escore numérico;
3. Comparar a extensão e a qualidade das aderências na linha de sutura do útero de ratas tratadas com soro fisiológico, Interceed® e Gel do Biopolímero da cana-de-açúcar, por meio do sistema multidimensional de escore das aderências;

4. Avaliar quantitativamente a extensão das aderências na linha de sutura do útero de ratas tratadas com soro fisiológico, Interceed® e Gel do Biopolímero da cana-de-açúcar pelo software AutoCAD;
5. Avaliar e comparar, histologicamente, a resposta inflamatória local na linha de sutura do útero de ratas tratadas com soro fisiológico, Interceed® e Gel do Biopolímero da cana-de-açúcar.

REVISÃO DA LITERATURA

2.1 **Conceito e fatores predisponentes**

As aderências são definidas como conexões fibrosas anormais entre partes ou estruturas adjacentes do corpo[53]. O procedimento cirúrgico é uma causa primária para a formação de aderências[28,29,54]**.** As **a**derências intra-abdominais pós-operatórias desenvolvem-se como resultado de injúria tecidual aguda mecânica ou térmica, dissecção, abrasão, reação a corpo estranho, isquemia ou infecção[55], levando a um dano peritoneal secundário com subsequente desequilíbrio na sua fibrinólise[56,57].

As aderências pós-cirúrgicas aumentam com a idade da paciente, o número de laparotomias prévias, o tipo e a complexidade dos procedimentos cirúrgicos[16], além da extensão do trauma peritoneal[2,17]**.** Em relação às aderências após laparoscopia, a desidratação peritoneal decorrente da pressão elevada de insuflação e compressão do fluxo capilar[58]**,** bem como a hipoxia mesotelial pelo uso do CO_2[59,60], podem ser os fatores desencadeantes.

Outros fatores predisponentes à formação de aderências são a sutura, provavelmente secundaria a isquemia[61-65], e a eletrocoagulação[57,66-69]**,** em especial quando utilizada extensivamente para adquirir hemóstase, bem como quando associada à sutura[70].

Com o aumento do uso de cirurgia para tratamento de afecções ginecológicas (particularmente infertilidade), as aderências agora representam um problema crescente para os ginecologistas, sendo reconhecido que cirurgia no trato reprodutivo feminino pode causar formação de aderências[9].

2.2 **Fisiopatologia das aderências abdominais**

2.2.1 Cicatrização peritoneal normal – regeneração mesotelial

Os traumas peritoneais são cicatrizados por diferenciação de células progenitoras abaixo da camada basal, ocorrendo simultaneamente em todas as partes da lesão, independente da área de superfície do trauma[71]. A regeneração da camada mesotelial demora cerca de 5-6 dias nos casos do peritônio parietal[57].

Estudo que analisou, através da microscopia eletrônica, a cicatrização dos defeitos peritoneais, confirmou que o peritônio parietal dos ratos estava saudável oito dias após o trauma e, por volta do décimo dia, a membrana basal abaixo das células mesoteliais dos peritônios parietal e visceral estava contínua[72].

2.2.2 Reparo peritoneal e formação de aderências

Independentemente do fator iniciador, as aderências se desenvolvem a partir da interação complexa de três processos interligados: o sistema fibrinolítico, a deposição e remodelação da matriz extracelular e o sistema inflamatório[73]. O reparo do tecido peritoneal envolve vários tipos celulares, citocinas, fatores da coagulação e proteases, todos agindo juntos para restaurar a integridade tecidual[74].

Estudos em animais e humanos têm mostrado que o trauma peritoneal inicia uma resposta inflamatória que leva à deposição de um exudato rico em fibrina, na superfície peritoneal traumatizada[57], que está associado com um recrutamento e ativação de células inflamatórias, polimorfonucleares e monócitos, que migram no peritônio e na cavidade peritoneal[75] e vários mediadores proinflamatórios comprovados, tais como: IL-8, TNF-α, IL-1β, IL-6, TGF-β, os quais levam a uma ativação da cascata extrínseca inicialmente, resultando em uma matriz de fibrina transitória[76-78]. Com a formação dessa matriz de fibrina nas superfícies lesadas, como parte da cicatrização normal, três dias depois da cirurgia, os depósitos de fibrina se estendem e formam uma ponte entre as superfícies opostas dos tecidos.

Os fatores fibrinolíticos localmente gerados se liberam, podendo degradar toda ou parte da ponte de fibrina[73,79,80]. Quase simultaneamente à resposta inflamatória, ocorre ativação da cascata da coagulação[74,80], resultando na formação de trombina, a qual é necessária para a conversão de fibrinogênio em fibrina[80]. Se a fibrinólise não ocorre dentro de cinco a sete dias do trauma peritoneal, a matriz de fibrina temporária persiste e gradualmente torna-se mais organizada, com fibroblastos secretando colágeno e levando à formação de aderência, que se torna cada vez mais vascularizada e de estrutura mais organizada[17,55,56,74,81,82]**.** A análise de aderências peritoneais humanas revelou infiltrados de macrófagos e linfócitos T,

vascularização e inervação, independentemente do tempo de persistência das aderências[75,83-86], aventando-se a possibilidade de uma doença inflamatória crônica[75].

O sistema plasminogênico peritoneal, por produzir ativadores e inibidores da fibrinólise, leva o peritônio a ter papel decisivo na gênese das aderências[56,80,87]. Existem dois ativadores maiores do sistema fibrinolítico que convertem plasminogênio em plasmina ativa, capaz de degradar a fibrina das aderências: o ativador tecidual plasminogênico e o ativador plasminogênico urokinase-like[74,79].

O trauma cirúrgico prejudica a atividade fibrinolítica peritoneal por redução na atividade do ativador plasminogênio tecidual (tPA)[74,87], que representa 95% da atividade do ativador plasminogênico no peritônio, e/ou aumento no PAI-1[87]. Elevada concentração peritoneal de PAI-1[88] e os inibidores do ativador plasminogênico estimulam a formação de aderências[79,87,88].

Sob circunstâncias normais, a fibrina é degradada rapidamente pelo sistema fibrinolítico. Após cirurgia abdominal convencional, entretanto, o equilíbrio entre a coagulação e a fibrinólise é distorcido, em favor do sistema de coagulação[87,89]. Portanto, a fibrina formará depósitos que são a matriz para o crescimento de tecido fibrocolágeno e podem eventualmente se desenvolver em aderências fibrosas permanentes[56,80].

Os mediadores inflamatórios também podem ter uma importante função na formação das aderências. Existe evidência experimental de que certos mediadores, tais como o fator beta de transformação de crescimento (TGF-β1), diminuindo a capacidade fibrinolítica do peritônio, aumentam a formação de aderências[90]. Portanto, a adesiogênese é resultante da diminuição da atividade fibrinolítica e culmina com o aumento da produção da matriz extracelular associado com uma diminuição da degradação desta matriz. Alternativamente, a recuperação de células mesoteliais, fibroblastos e macrófagos peritoneais pode sinalizar para a deposição excessiva de matriz extracelular através de fatores de crescimento celular e citocinas[29]. Os fibroblastos desenvolvem um fenótipo de miofibroblastos[91]. Fibroblastos e miofibroblastos secretam grandes quantidades de moléculas da matriz extracelular, incluindo fibronectina, ácido hialurônico e glicosaminoglicanos e proteoglicanos. Este processo estabelece uma ponte fibrosa entre os tecidos. A

deposição de colágeno e a vascularização reforçam esta ponte, formando uma aderência firme entre os dois tecidos[29]. A proliferação de fibroblastos e da deposição da matriz extracelular, especialmente o colágeno do tipo I, regulado por citocinas fibrinogênicas, esta intimamente envolvida na formação das aderências peritoneais[92].

2.2.3 Avaliação experimental das aderências

Em muitos modelos são utilizados animais de pequeno porte, tais como ratos, camundongos e coelhos, mas perdem a uniformidade do trauma, graduação ou resultados[25,53,58,59,64,66-69,70,81,92,93-116] . Variabilidade metodológica também ocorre nos estudos com animais de maior porte[117,118], todos destituídos de avaliação quantitativa das aderências.

As técnicas usadas para a formação das aderências intra-abdominais são similarmente distintas. O trauma da serosa intestinal é o mais comumente preferido pelos investigadores, sendo o ceco[53,81,92,104,105,111-113,116,119-127] uma das áreas mais utilizadas.

O útero foi outro sítio estudado no abdome e os métodos de injúrias incluíram queimadura dos cornos uterinos com eletrocauterização[59,66-68,94,95,98,106,128-134], abrasão do corno uterino[53,99,135-144], abrasão associada a sutura[96,145], sutura[62], e abrasão associada a incisão e eletrocauterização[136,146,147].

Geralmente, os animais usados para estes testes devem ser sacrificados e realizada laparotomia para determinar as características das aderências no abdome, após sua indução. O tempo ideal para medição após indução das aderências não foi ainda confirmado em estudos experimentais. Muitos pesquisadores têm usado pontos únicos no tempo para eutanásia[53,94-96,98,99,103,106,108,128,130-133,136,137,140,142-144,146-148,] enquanto outros preferem examinar as lesões em pontos múltiplos[56,62-64,107]. A avaliação pode ser realizada no pós-operatório imediato ou bem mais tarde, 42 dias após a operação[66-68,136,146,147,149].

Os sistemas de *escore t*êm mostrado ser dependentes do observador, com uma subjetividade subsequente de reprodutibilidade interobservador[128]. Como consequência, ainda não existe um *escore* padrão para descrever a extensão e a

gravidade das aderências em ambos os tipos de estudos, experimentais e clínicos. Muitos estudos empregam o método macroscópico visual ou graduação histológica[53,59,63,66-68,95,98,106,108,128,130-132,136,137,140,142-144,146-148,150], outros incluem imunohistologia[94] e área de aderências[70], mas estas escalas de graduação são muito subjetivas e é difícil controlar vieses do observador.

Medidas objetivas da extensão das aderências requerem um sítio definido no momento da preparação pré-operatória. Tal como foi utilizado definindo e excisando um retângulo no peritônio, posteriormente suturando as duas bordas juntas, formando uma linha de trauma na qual o comprimento da aderência possa ser medido subsequentemente[61]**.** Uma escala graduada detalhada foi descrita na literatura, avaliando a extensão do sítio envolvido, o tipo e a tenacidade das aderências[104,137,151,152].

Para aferição das áreas das aderências foi usada, em alguns estudos, uma foto digitalizada padronizada e analisada por um sistema de software sob medida[109,153,154]. O alcance das aderências foi calculado utilizando uma fórmula de quantificação da formação de aderências na área coberta por aderências, dividida pelo comprimento da área traumatizada[155,156].

Observa-se regularmente, em estudos de metodologia experimental das aderências, resultados discrepantes, provavelmente atribuíveis aos métodos variáveis de indução das aderências e critérios diferentes para quantificar os resultados[135].

2.2.4 Condutas para reduzir a formação de aderências

Etapas fundamentais na prevenção de aderências são: técnica cirúrgica com hemóstase adequada, mínimo manuseio dos tecidos, ampliação do campo visual e microcirurgia, redução do risco de infecção, evitar a contaminação gastrointestinal, redução da desidratação dos tecidos, incluindo o uso de irrigação / aspiração, limitar o uso de bisturi e suturas, além de escolher sutura não-reativa, evitar corpos estranhos, tais como materiais de fibras soltas e uso de luvas de amido livre de talco[157].

2.2.5 Agentes para prevenção de aderências

2.2.5.1 Farmacológicos

Uma larga variedade de adjuvantes farmacológicos, incluindo agentes anti-inflamatórios esteroides e não-esteroides, anti-histamínicos, progesterona, agonistas GnRH, fibrinolíticos e anticoagulantes, foram testados, para prevenir a formação de aderências pós-operatórias em seguida a cirurgia abdominal aberta, sem qualquer vantagem claramente demonstrada[158,159].

Muitos processos envolvidos na formação de aderências também fazem parte da cicatrização normal da ferida. Corticosteroides administrados isoladamente ou com anti-histamínicos, por via intraperitoneal, foram investigados, experimental e clinicamente, demonstrando eficácia duvidosa, além de associação com imunossupressão e atraso na cicatrização da ferida[160]. A dose do agente fibrinolítico necessária para reduzir a fibrinogênese é difícil de determinar, com risco aumentado de deficiência de cicatrização e hemorragia[109,154,161]. Indutores de hipoestrogenismo (antagonistas do GnRH e mifepristone) foram ineficazes na redução da gravidadade e extensão de aderências, em mulheres[162].

2.2.5.2 Barreiras sólidas

A separação mecânica o mais cedo possível das faces peritoneais dos órgãos pélvicos no processo de cicatrização pós-operatória tem demonstrado alguma eficácia em diminuir a gravidade das aderências e, talvez, a incidência de aderências, em seres humanos[20,21,24,27,29,163].

A barreira sólida originalmente utilizada consistia em enxertos peritoneais ou de omento colocados sobre as superfícies traumatizadas e costurados no local. Estudos subsequentes em animais demonstraram que a colocação de tecido desvascularizado sobre a superfície peritoneal lesada aumentava a formação de aderências. Embora nenhum ensaio clínico randomizado em humanos submetidos a cirurgia ginecológica tenha sido realizado, os dados em animais foram suficientes para que esta prática fosse abandonada[27].

Avanços têm sido feitos com a introdução e avaliação de vários produtos destinados a reduzir a ocorrência de aderências, sendo os polímeros sintéticos absorvíveis frequentemente utilizados como barreira, por terem melhores propriedades mecânicas, serem fáceis de manusear, sem contaminantes biológicos, e menos imunogênicos[18,28].

2.2.5.3 Interceed®

A celulose oxidada regenerada (ORC) (Interceed®; Johnson & Johnson Medical Inc.) é a substância mais largamente usada para redução de aderências, e tem sido demostrado, tanto em estudos em animais[164], como em humanos[20,21,25,163,165-168], que ele atua em reduzir a formação de aderências. É importante uma hemóstase rigorosa, pois sua eficácia se reduz na presença de sangue[25,27-29].

Testes em humanos geralmente evidenciam que o Interceed® reduz a gravidade, extensão e / ou incidência de aderências pélvicas[163,165-167].

O uso de ORC está associado com a redução da incidência de novas e reformadas aderências diagnosticadas no *second-look* laparoscópico, em mulheres na pré-menopausa submetidas a miomectomia laparoscópica com incisões uterinas e suturas, e tratadas de endometriose, em comparação com aquelas submetidas ao mesmo tipo de cirurgia, sem qualquer estratégia específica antiaderência[168,169].

Em uma revisão sistemática de seis ensaios clínicos que compararam o uso do Interceed® com nenhum tratamento na laparoscopia, este uso estava associado com uma redução na incidência de aderências, quando comparado com nenhum tratamento na reavaliação laparoscópica em ambos os tipos, novas aderências (OR 0.31, IC 95% 0.12-0.79) e reformação de aderências (OR 0.19, IC 95% 0.09-0.42)[21]. Similarmente, uma revisão de 15 estudos randomizados controlados em humanos concluiu que o Interceed® reduz a incidência e tem desempenho superior ao Seprafilm®, em operações pélvicas[20]. O Interceed® se adéqua muito bem aos contornos dos tecidos, em procedimentos pélvicos, sem necessidade de sutura[28,170].

2.2.5.4 Outras barreiras sólidas

O Seprafilm® é uma membrana contínua, translúcida, bioabsorvível, composta por dois polissacarídeos aniônicos quimicamente modificados, hialuronato de sódio (HA) e carboximetilcelulose (CMC). O produto tem mostrado alguma eficácia na prevenção de aderências, em modelos animais[108,171-174]. Revisão de 15 ensaios controlados, concentrados na prevenção de aderências pélvicas, em mulheres, mostrou que o Seprafilm® não tinha eficácia na prevenção de aderências *versus* controles[20]. A biocompatibilidade e o impacto sobre a cicatrização de Seprafilm® são controvertidos: em relatos de caso foram observadas graves reações inflamatórias[175] e possibilidade de favorecer deiscência em anastomose intestinal[176], mas este efeito não foi observado em modelos de cicatrização anastomótica, em ratos[177,178]. Além dessas limitações para uso clínico do Seprafilm®, o mesmo apresenta limitações práticas na sua utilização durante a cirurgia[16,28-30].

O SurgiWrap™ (polímero biodegradável de polilactida) apresenta período de reabsorção longa, de até seis meses, com necessidade de sutura da membrana no local para reduzir o potencial de migração, metabolizada em ácido láctico e expirada através do sistema respiratório. Com exceção de um estudo pré-clínico em 44 ratos[113], os dados publicados sobre a eficácia do agente na redução de aderências peritoneais ou sua segurança como uma barreira antiadesão são escassos.

2.2.5.5 Géis e instilados intraperitoneais

Uma limitação fundamental das barreiras mecânicas sítio específicas, como Interceed®, Seprafilm® e SurgiWrap™, tem a ver com a necessidade do cirurgião prever onde as aderências clinicamente significativas podem se desenvolver. Como resultado destas limitações, foram desenvolvidas barreiras em gel e soluções tentando minimizar tal situação.

Hyalobarrier® Gel é um gel viscoso de ácido hialurônico reticulado, disponível na Europa, para ser utilizado em cirurgia abdominopélvica, permanecendo no local aplicado, se dissolvendo alguns dias depois. Existem poucos

dados clínicos publicados: Estudos controlados aleatorizados em pacientes submetidas a miomectomia laparoscópica, um com 36 pacientes (18 tratadas) e o outro com 52 pacientes (26 tratadas), mostraram redução das aderências[179,180], e uma percentagem de gravidez em pacientes tratadas com Hyalobarrier significativamente maior que no grupo controle (só tratamento cirúrgico)[181]. Hyalobarrier® não está amplamente disponível, nem seu uso tem sido adotado de forma generalizada em cirurgia abdominopélvica, principalmente porque é muito pegajoso e tem tendência a se desprender e flutuar quando se irriga a cavidade.

O Intergel®, ácido hialurônico reticulado com cloreto férrico, foi colocado no mercado em 1998 e descontinuado em 2003. A experiência inicial com Intergel® foi favorável[27,182,183]. Estudos subsequentes não mostraram efetividade do Intergel® na redução de aderências, além de poder levar a morbidades pós-operatórias significantes, tais como dor, reação a corpo estranho e aderências de tecidos, em humanos[28,32,142,184].

O mais recente sistema de revestimento em gel desenvolvido é o Spraygel™, aprovado para uso em cirurgia laparoscópica e aberta na Europa, no final de 2001, composto por duas lâminas de água com base sintética de soluções de polietilenoglicol (PEG), uma clara e uma colorida com azul de metileno, para facilitar sua visualização, quando aplicado após formar um hidrogel. Esta barreira permanece no local até sete dias, e depois é absorvida e eliminada pelos rins. Em ensaios clínicos preliminares, o uso de Spraygel™ resultou em uma diminuição estatisticamente significativa da gravidade e extensão da formação de aderências pós-cirúrgicas[185], posteriormente, outro estudo, em humanos, mostrou redução significativa da gravidade das aderências, mas não da frequência e extensão[186]. O uso de Spraygel ™ é limitado, pela complexidade de configuração do equipamento, a perícia e o tempo necessário para pulverizar e cobrir os tecidos uniformemente, além do custo.

Oxiplex® / AP, um gel viscoelástico (carboximetilcelulose (CMC) e óxido de polietileno (PEO) em gel composto) foi aprovado, na Europa, como uma barreira para prevenção de aderências em cirurgia pélvica e abdominal. Um estudo clínico publicado recentemente comparou o uso do gel (n=25) ao grupo sem tratamento (n=24), demonstrando uma redução significativa nas aderências anexiais[187].

Outra estratégia na redução da adesão tem sido a instilação intraperitoneal de soluções macromoleculares. A investigação de tais soluções foi liderada por Hyskon® (32% dextran 70), que não apresentou eficácia clínica em humanos, além da possibilidade de reações alérgicas[158].

A hidroflutuação foi sugerida como uma técnica que pode ser eficaz, tanto no local de aplicação, como no resto da pelve, envolve a instilação de um líquido no peritônio, no final do processo, fornecendo uma barreira física e evitando o contato das superfícies peritoneais danificadas. Solução salina de Ringer com lactato foi amplamente utilizada. No entanto, os cristaloides são rapidamente absorvidos e não reduziram as aderências[12,188].

Mais recentemente, solução de icodextrina a 4% (Adept®, Baxter Healthcare S.A.), polímero α-1,4-glicose, de alto peso molecular, foi aprovada na Europa para a redução de aderência em cirurgia abdominopélvica por laparotomia ou laparoscopia. A icodextrina foi originalmente desenvolvida como um dialisado peritoneal em solução a 7,5%, devido ao alto peso molecular da icodextrina e à ausência de amilase – enzima que a metaboliza – dentro da cavidade peritoneal humana, o agente persiste pelo menos por 4 dias[33]. Adept® fornece hidroflutuação durante o período crucial da formação de aderências[65,81].

Um primeiro estudo multicêntrico piloto nos EUA, em pacientes submetidos à cirurgia ginecológica laparoscópica, realizado para confirmar a segurança, mostrou uma redução de 30% nas aderências em pacientes tratados com icodextrina a 4%, comparados com 16% de aumento líquido de aderências em pacientes nos quais a solução de Ringer lactato foi usada[57]. Outro ensaio clínico randomizado em humanos mostrou redução do número de aderências viscerais, mas não encontrou redução da extensão e gravidade das aderências[189].

2.2.5.6 Biopolímero de melaço da cana-de-açúcar

A celulose é uma das macromoléculas orgânicas mais abundantes na terra, presente em todas as plantas superiores e em algumas algas, fungos, bactérias e animais. Embora a produção de celulose tenha sido considerada de domínio do reino

vegetal, sua biossíntese foi recentemente identificada para uma variedade de bactérias de diversas origens. A celulose bacteriana é de alta pureza e apresenta características físico-químicas especiais. A síntese de celulose ocorre extracelularmente, via linha de produção covalente de precursores de cadeia pequena, e a polimerização que ocorre é um evento membrana-associada. Todas as formas de celulose conhecidas, formadas a partir de bactérias, são distinguidas pela natureza extracelular dos produtos glucana e a formação de agregados celulares, atribuídos à alta autoafinidade do material celulósico. A celulose de origem bacteriana diferencia-se das outras formas de celulose por seu alto grau de cristalinidade, polimerização, hidrofilidade e capacidade absortiva, além de pureza química global[190,191].

O biopolímero da cana-de-açúcar é constituído por um polissacarídeo extracelular, obtido por síntese biotecnológica a partir da produção bacteriana pela *Zoogloea sp,* isolada em meio de cultura à base do melaço da cana-de-açúcar, desenvolvido no Laboratório de Microbiologia Industrial da Estação Experimental de Cana-de-açúcar de Carpina / Universidade Federal Rural de Pernambuco, em 1990. A partir de 2001, pesquisadores do Núcleo de Cirurgia Experimental da Universidade Federal de Pernambuco vem realizando diferentes ensaios, com o objetivo de adequar o biopolímero para diferentes aplicações na área de saúde[35,38-52].

O biopolímero é um exopolissacarídeo e seu estudo sistemático, da síntese ao desenvolvimento de produtos, levou à produção de membranas homogêneas com características físicas como flexibilidade, estabilidade e resistência à ruptura. Sua composição química foi definida como um polissacarídeo celulósico, com composição centesimal de: glicose, 87,57; xilose, 8,58; ribose, 1,68; ácido glicurônico, 0,83; manose, 0,82; arabinose, 0,37; galactose, 0,13; fucose, 0,01; ramnose, 0,01; caracterizando-o, assim, como um polissacarídeo com diferentes bases monoméricas[34], sendo o gel utilizado constituído do biopolímero na concentração de 1%, suspenso em água.

A primeira referência da aplicação do biopolímero como material biocompatível foi a de um estudo experimental, em que foram utilizadas membranas de biopolímero *in natura,* como curativos para o tratamento de feridas acidentais, em

cães. Os curativos não desenvolveram toxicidade e apresentaram boa biocompatibilidade. A conduta resultou no aumento de tecido de granulação, controle da infecção e diminuição do tempo de cicatrização[35].

A composição química do biopolímero constituído apenas de açúcares e ácido glicurônico, componentes orgânicos biocompatíveis direcionou pesquisas com o objetivo de avaliar sua aplicação biológica. O estudo da citotoxicidade do biopolímero *in vitro* definiu uma baixa citotoxicidade, permitindo sua aplicação experimental. Neste ensaio, a viabilidade das células expostas às membranas de e-PTFE foi de 91,2%, enquanto a das expostas ao biopolímero foi de 95,3%[37].

O biopolímero, após a sua purificação, pode ser transformado em membranas estáveis e géis. Em estudos experimentais as membranas apresentaram baixa toxicidade, biocompatibilidade e características físico-químicas que atendem às especificidades morfofuncionais de diferentes tecidos, permitindo sua aplicação como enxerto biológico[36,37,39], sendo que a membrana já foi utilizada como uma alternativa de enxerto livre no tratamento de perfurações crônicas da membrana timpânica em *Chinchilla laniger,* sendo encontrada uma resposta semelhante à dos enxertos de fáscia autóloga[44]**.**

As membranas do biopolímero da cana-de-açúcar foram também empregadas na reconstrução uretral, em cães, comprovando sua capacidade de substituir tecidos biológicos com boa tolerabilidade e pequeno grau de reação inflamatória[38], tratamento do refluxo vesicoureteral[49], bem como *slings,* para o tratamento da incontinência urinária[192], remendo em arterioplastias femorais de cães[45,46,52], defeitos da parede abdominal de ratos[47,48] e defeitos osteocondrais em côndilos femorais de coelhos[50,51].

A despeito dessas vantagens, a busca continua por agentes com melhor biocompatibilidade, plasticidade funcional e menor custo para prevenção de aderências, que sejam fáceis de aplicar, que funcionem na presença de sangramento, como preventivo das aderências, sem reduzir a cicatrização da ferida, sem potencializar infecção, e sem provocar aderências e fibrose. Os agentes ideais para prevenção das aderências ainda estão longe de serem encontrados[18,28] e há espaço para novas avaliações.

MATERIAL E MÉTODOS

3.1. **População do estudo**

A população do estudo foi composta por 45 ratas adultas (*Rattus norvegicus albinus*), não grávidas, sadias, da linhagem Wistar, com idade média de 180 dias, procedentes do biotério do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram aclimatados por dez dias, no biotério do Núcleo de Cirurgia Experimental da UFPE, em gaiolas apropriadas, contendo no máximo cinco animais, em temperatura ambiente, livres de ruído e estresse, respeitando os ciclos diurnos e noturnos, e alimentados com ração apropriada (Labina, Laboratório Nestlé/Purina/Petcare Company, São Lourenço da Mata, PE) e água potável *ad libitum,* até o momento do experimento. As ratas com peso inferior a 220 gramas e superior a 360 gramas foram excluídas do experimento.

No cálculo da amostra, levamos em consideração um IC de 95% (Z=1,96), e que o desvio padrão do comprimento das aderências seja de 0,6 cm (S=0,6 cm) (valor calculado em estudo piloto) e uma capacidade do teste de identificar diferenças no comprimento das aderências de 0,1 cm (d=0,1) ou mais. Utilizamos os parâmetros acima na formula do cálculo do tamanho da amostra ($n = Z^2 \times S^2 / d^2$), o resultado foi de 14 unidades experimentais em cada grupo, totalizando 42 unidades. Considerando aventuais perdas, aumentamos a amostra para 45, sendo 15 unidades em cada grupo.

3.2. **Desenho do estudo**

O tipo de estudo foi de intervenção ou experimental pré-clínico nível I. Dele participaram 45 animais, alocados por sorteio, divididos em três grupos de igual número (15 animais por grupo), para a intervenção cirúrgica:

Grupo soro fisiológico (G1) 15 ratas que tiveram a área da linha de sutura do útero recoberta por soro fisiológico;

Grupo Interceed® (G2) 15 ratas que tiveram a área da linha de sutura do útero recoberta por Interceed®;

Grupo Gel Biopolímero (G3) 15 ratas que tiveram a área da linha de sutura do útero recoberta por Gel do Biopolímero.

3.3 **Variáveis**

3.3.1. Variáveis independentes

1. Gel do Biopolímero da cana-de-açúcar;
2. Interceed®;
3. Soro fisiológico.

3.3.2. Variáveis dependentes

- Incidência de aderência;
- Graduação das aderências (0, 1, 2, 3);
- Avaliação qualitativa – Sistema multidimensional de escore das aderências modificado;
- Avaliação quantitativa – Extensão das aderências limitadas à linha de sutura no útero – AutoCAD;
- Avaliação histológica.

3.3.3. Definição das variáveis dependentes

- Incidência de aderências nos grupos: Os resultados foram relatados para a incidência das aderências (número de úteros com aderências / número total);
- Graduação das aderências (avaliação qualitativa) - As aderências foram classificadas conforme um sistema de escore numérico de acordo com o Quadro 1[25].

Quadro 1 – Grau das aderências[25]

Grau	Definição para modelo animal	Definição para estudo clinico
0	Nenhuma aderência	Nenhuma aderência
1	Insignificante, aderência peritoneal isolada, não afetando o intestino, nem reduzindo a mobilidade uterina, sem vascularização discernível	Insignificante, aderências delgadas isoladas, fáceis de separar, afetando <50% da área peritoneal de risco.
2	Grave, aderência ligamentosa ou vascularizada em "corda" entre o peritônio parietal e visceral	Moderada, aderências delgadas numerosas, fáceis de separar, afetando >50% da área de risco.
3	Muito grave, aderência extensa ligamentosa / vascularizada, reduzindo a mobilidade uterina e se estendendo além da genitália interna	Grave, densas, aderências extensas que não podem ser separadas e cobrindo >50% da área de risco.

- Classificação das aderências sítio-específicas – avaliação qualitativa - Sistema multidimensional de escore das aderências[151]: utilizando a percentagem de resultados livres de aderências, o tipo, a tenacidade e a percentagem da extensão de alcance das aderências, graduamos a gravidade das aderências. As aderências foram marcadas no sítio manipulado por um sistema de pontuação quantitativa em que a percentagem da superfície coberta por aderências foi medida e atribuído um número e um sistema de pontuação qualitativa. A soma total desses três critérios constitui a possibilidade total deste sistema multidimensional de escore das aderências, que vai de 0 a 11 pontos (Quadro 2).

Quadro 2 - Classificação das aderências sítio-específicas

Características da aderência	Escore
Extensão do sitio envolvido	
Nenhum	0
≤25%	1
≤50%	2
≤75%	3
≤100%	4
Tipo	
Nenhuma	0
Película, transparente, avascular	1
Opaca, translucente, avascular	2
Opaca, capilares presentes	3
Opaca, vasos grandes presentes	4
Tenacidade	
Nenhuma	0
Aderências separadas facilmente	1
Aderências lisadas com tração	2
Aderências de dissecção complicada	3
Possibilidade total	11

- Avaliação quantitativa - Extensão das aderências limitadas à linha de sutura no útero, analisadas através de um software do tipo CAD – AutoCAD – desenho auxiliado por computador, criado e comercializado pela Autodesk, utilizado na aferição da extensão das aderências através de uma escala gráfica com transformação da imagem obtida em fotografia em uma escala real via computador. A extensão das aderências foi calculada pela medida do comprimento da linha coberta por aderências e o comprimento da lesão (Figuras 1 e 2);

Figura 1 – Imagem da linha de sutura uterina antes do AutoCAD

Figura 2 – Imagem da linha de sutura uterina em escala gráfica ao AutoCAD

- Avaliação histológica - Os parâmetros avaliados foram: fibrose, reação inflamatória e proliferação vascular, avaliadas por uma escala semiquantitativa modificada de 0-3 (Quadro 3)[161].

Quadro 3 – Parâmetros avaliados na histologia

Características da aderência	Escore
Fibrose	
Nenhum	0
Mínima, frouxa	1
Moderada	2
Florida densa	3
Reação inflamatória	
Nenhuma	0
Presença de células gigantes, linfócitos ocasionais e células plasmáticas	1
Presença de células gigantes, células plasmáticas, eosinófilos e neutrófilos	2
Presença de muitas células inflamatórias e microabscessos	3
Proliferação vascular	
Nenhuma	0
Proliferação vascular leve	1
Proliferação vascular moderada	2
Intensa proliferação vascular	3

3.3.4. Variáveis potencialmente de confusão e suas definições (Quadro 4)

- Peso na data da cirurgia
- Peso na data da eutanásia

Quadro 4 - Definição das variáveis potencialmente de confusão

Nome da variável	Definição / categorização
Peso na data da cirurgia	Peso do animal no dia da cirurgia, expresso em gramas (g)
Peso na data da eutanásia	Peso do animal no dia da eutanásia, expresso em gramas (g)

3.4 Procedimentos

O procedimento cirúrgico foi executado pelo autor, com o auxílio de estudante de medicina, treinado pelo mesmo, e assistência de veterinária, no Núcleo de Cirurgia Experimental da Universidade Federal de Pernambuco, entre 25/02/2010 e 19/08/10.

3.4.1 Confecção do biopolímero da cana-de-açúcar

O Gel do Biopolímero (Figuras 3, 4 e 5) foi produzido pelo Grupo de Pesquisa Biopolímero de Cana-de-açúcar, no Laboratório de Biopolímeros da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). A esterilização foi feita com radiação gama (γ), no Laboratório de Metrologia do Departamento de Engenharia Nuclear da UFPE, visando atender conceitos estabelecidos de assepsia cirúrgica.

Para uniformização do Gel do Biopolímero, todas as amostras foram obtidas de um único lote.

Figura 3 - Apresentação do gel na embalagem original

Figura 4 - Apresentação do gel - aspecto físico

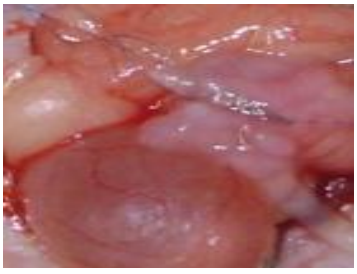


Figura 5 - Gel aplicado sobre a linha de sutura do útero

3.4.2 Procedimento anestésico

Os animais foram pesados e identificados através de coleira numerada. No procedimento anestésico, realizado pela veterinária do Núcleo de Cirurgia Experimental (NCE) da Universidade Federal de Pernambuco, aplicou-se, pela via intramuscular, uma solução composta de cloridrato de cetamina (Ketalar 50 mg. Laboratórios Cristália do Brasil) (5mg/100g de peso do animal), associado ao cloridrato de xilazina (Rumpum 20 mg. Laboratório Bayer do Brasil) (2mg/100g de peso do animal). Dez minutos antes do início da anestesia, foi aplicado sulfato de atropina por via intramuscular (0,44mg/Kg)[193]**.** 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.

Durante o procedimento cirúrgico-anestésico, foi administrado oxigênio (0,5ml/minuto), através de máscara. Esse procedimento permitiu uma anestesia satisfatória para o tempo cirúrgico necessário.

3.4.3 Procedimentos cirúrgicos

Após a administração da anestesia e tricotomia da região abdominal, no biotério do NCE da UFPE, os animais foram levados à sala de cirurgia e devidamente posicionados na mesa operatória, com fixação dos membros com fita cardíaca, colocação de máscara de oxigênio e proteção dos olhos com gaze umedecida com soro fisiológico 0.9%. O cirurgião e o auxiliar, após ter procedido à técnica habitual de escovação e paramentação, realizaram lavagem das mãos enluvadas com soro fisiológico, para a retirada do talco comumente contido nas luvas. Em seguida, realizou-se a antissepsia com polivinilpirrolidona e foram colocados os campos cirúrgicos.

O acesso cirúrgico foi obtido através de incisão mediana longitudinal com 4 cm de comprimento, na parede abdominal. Os cornos uterinos foram localizados e exteriorizados. Uma incisão linear de 1,5 cm com eletrocautério monopolar (30 W e

intensidade 4) foi feita no corno uterino esquerdo, a partir da sua bifurcação, com coagulação dos pontos de hemorragia, conservando o campo cirúrgico limpo, e a seguir realizada a sutura com pontos contínuos, com fio Prolene 7-0 (Prolene®, Ethicon, Johnson & Johnson Comércio e Distribuição Ltda.) (Figuras 6, 7 e 8). A seguir, a área incisada foi coberta com uma das substâncias estudadas (Interceed®, biopolímero ou soro fisiológico), conforme o grupo a que pertencesse o animal, por sorteio.

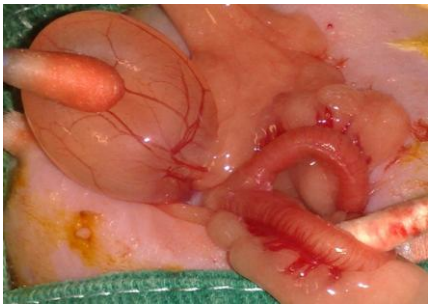


Figura 6 - Exposição cirúrgica do útero

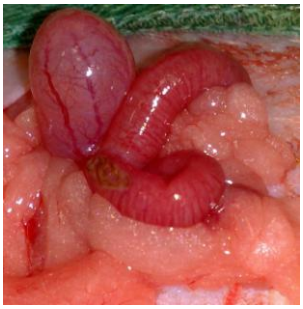


Figura 7 - Incisão no corno uterino

Figura 8 – Sutura da incisão uterina

A membrana sólida foi cortada no tamanho de 2,0 x 2,0 cm e colocada sobre a linha de sutura do útero (Figuras 9 e 10). A barreira em gel foi colocada na proporção de 5,0 ml/kg de peso[141].

Figura 9 - Apresentação do Interceed® na embalagem original e aspecto físico

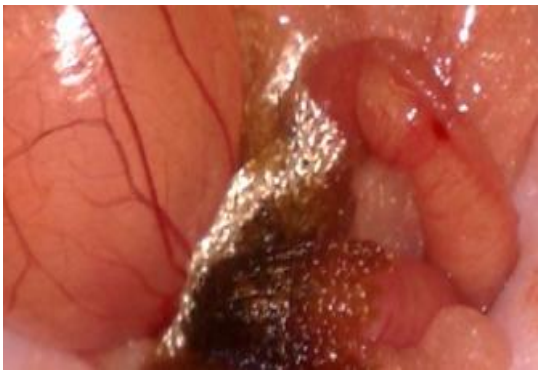


Figura 10 - Interceed® aplicado sobre a linha de sutura uterina

A parede abdominal foi fechada com sutura contínua da fáscia com Prolene 5.0 e a pele com fios de nylon 5.0 (Mononylon®, Ethicon, Johnson & Johnson Comércio e Distribuição Ltda.). Não foi administrado antibiótico para profilaxia. Os

animais foram encaminhados para recuperação, em gaiolas individuais aquecidas a 37 □ Celsius.

No período pós-operatório, os animais foram mantidos com a mesma alimentação e era permitida livre movimentação. Os animais foram observados diariamente, para investigar sinais de complicação.

3.4.4 Procedimento cirúrgico – segunda intervenção

Em intervalo de 45 dias pós-operatório, os animais foram novamente anestesiados, seguindo o mesmo protocolo descrito no primeiro procedimento cirúrgico, uma ampla incisão laparotômica abdominal em forma de U foi realizada para abordar a cavidade peritoneal, para inventariar o aparecimento e a intensidade das aderências. Os animais foram pesados e catalogados no biotério, pela veterinária responsável pelo NCE da UFPE. Foram feitas fotografias com câmera fotográfica Sony® modelo DSC-s650, fixada em uma distância padronizada, para posterior análise da extensão das aderências sítio-específicas, em um programa de arquitetura conhecido como AutoCAD, e a retirada do segmento uterino submetido à abordagem cirúrgica, para análise histológica.

3.4.5 Eutanásia

A eutanásia ocorreu logo após inventariar a cavidade peritoneal e retirar o segmento uterino submetido ao procedimento cirúrgico, com administração, por via intracardíaca, de dose letal de tiopental sódico (75mg).

3.4.6. Avaliação histológica – confecção das lâminas

O material retirado foi enviado para estudo histológico no Laboratório de Pesquisa Histopatológica em Anatomia Patológica. Imediatamente após a excisão da peça cirúrgica, o mesmo foi fixado em solução de formaldeído a 10%, por 24 horas, e processado em um histotécnico OMA, modelo DM-20.

Os espécimes foram analisados por um único patologista, que não sabia a que grupos pertenciam os espécimes. Os cortes histológicos foram feitos em um micrótomo de rotação Léica 1512, produzindo cortes teciduais com quatro micrômeros de espessura. O material foi corado por hematoxilina e eosina e pelo tricrômico de Masson, para estudo microscópico.

As microfotografias foram obtidas em microscópio Olympus, modelo CX 31 acoplado a câmara digital Olympus C-7070 de 7.1 pixels.

3.4.7 Metodologia estatística

Foram calculadas as estatísticas descritivas, médias, desvios-padrão, medianas e os intervalos, máximo e mínimo, para as variáveis quantitativas e a distribuição de frequência para as qualitativas. A normalidade das variáveis foi verificada utilizando os testes Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk.

O teste Qui-Quadrado de Pearson foi utilizado para a comparação dos grupos com relação às variáveis qualitativas, e a metodologia de análise de resíduo foi aplicada no caso de tabelas superiores a 2X2. A análise de resíduos permitiu identificar quais categorias tiveram valores destoantes, tanto positiva quanto negativamente, em relação aos valores que seriam observados, caso a hipótese de igualdade entre os tratamentos fosse verdadeira. Caso o valor observado para o resíduo padronizado seja maior em módulo que 1,96 significa que há associação entre o tratamento e o desfecho para a célula observada.

A comparação entre os grupos, para as variáveis quantitativas, foi realizada utilizando metodologia paramétrica (Análise de Variância – Anova) e não paramétrica (teste de Kruskal-Wallis), conforme aplicável. No caso de diferença estatisticamente significante foi feita análise de comparações múltiplas utilizando o teste *Tamhane´s T2*.

Os dados foram digitados no software MSOffice Excel, versão 2010, e os procedimentos estatísticos foram analisados no SPSS for Windows, versão 18.0 - *Statistical Package for the Social Sciences*. O nível de significância assumido foi de 5%.

3.4.8 Procedimentos éticos

Esta pesquisa teve aprovação do Comitê de Bioética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, processo n 23076.027396/2009-09, e seguiu os princípios que regem o código de ética experimental e as leis de proteção aos animais, de acordo com as normas vigentes no Brasil, Lei 9.605 - art.32 e o Decreto número 3.179-art. 17, de 21/09/1999,

que tratam da questão e normas para prática científica de vivissecção de animais (Anexo A).

RESULTADOS

O procedimento cirúrgico e a aplicação do soro fisiológico, Interceed® e do Gel do Biopolímero foram bem tolerados pelos animais. A taxa de mortalidade foi de 2,2%, (1 das 45 ratas), sendo que a morte ocorreu em um animal do grupo do soro fisiológico, no pós-operatório imediato, provavelmente decorrente de complicação anestésica. Os outros animais evoluíram no pós-operatório sem sinais de complicações. Todos os locais das laparotomias estavam com cicatrizes imperceptíveis no momento da eutanásia. Em relação às aderências da parede abdominal, encontramos cinco casos no grupo do soro fisiológico e um caso no grupo do Interceed® e do Gel do Biopolímero da cana-de-açúcar, respectivamente. Não foram encontrados materiais residuais, nem gel, nem Interceed®, no momento da eutanásia.

Ratas do grupo do soro fisiológico formaram aderências extensas entre o corno uterino e o peritônio adjacente, bem como com o intestino e outros órgãos intraperitoneais (Figura 11 – A, B e C).

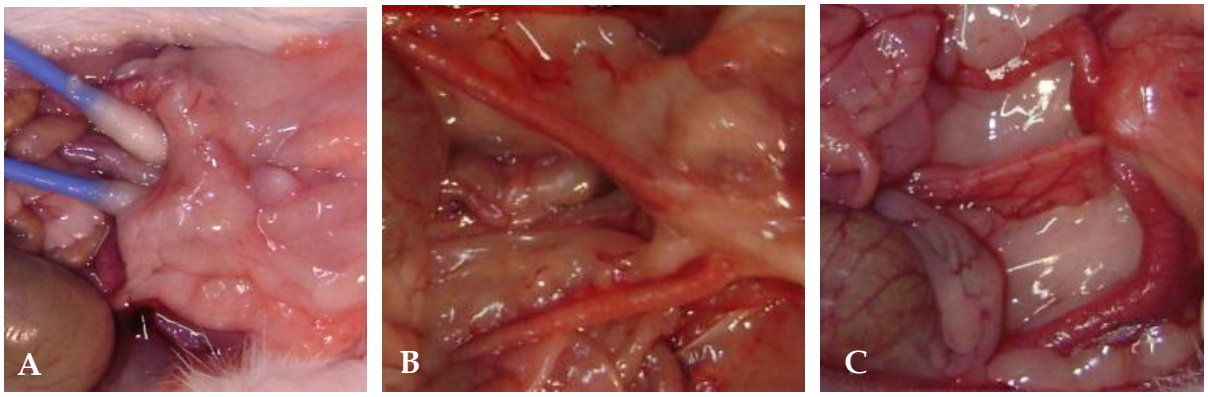


Figura 11 (A, B e C) - Imagens representativas da formação de aderências extensas sobre o corno uterino no grupo tratado com soro fisiológico

Antes da segunda intervenção cirúrgica, o peso dos animais foi mensurado e está detalhado na Tabela 1. Para verificar a existência de relação entre o peso e os grupos de tratamento, foi realizado um teste de qui-quadrado. O resultado do teste, valor de p=0,249, indica que não há relação entre o peso dos animais após o procedimento e os grupos de tratamento. Esta averiguação foi importante, para

garantir que diferenças nos pesos dos animais não interferiram nos resultados, isto é, o peso não foi identificado como um fator de confusão para esta análise.

Tabela 1 – Distribuição do peso dos animais antes da segunda intervenção cirúrgica nos grupos 1, 2 e 3

Peso (gramas)	Grupos			Total
	Soro fisiológico (G1)	Interceed® (G2)	Gel Biopolímero (G3)	
≤ 244,50	4	5	2	11
244,51 - 267,00	6	3	2	11
268,00 - 285,50	3	3	5	11
285,51+	1	4	6	11
Total	**14**	**15**	**15**	**44**

p=0,249

A mensuração das aderências que ocorreram nos animais de cada um dos três grupos foi realizada utilizando diversas metodologias. O número e a proporção de casos de aderências entre os três grupos de tratamento estão sumarizados na Tabela 2.

Tabela 2 - Número absoluto e proporção de casos de aderências nos grupos 1,2 e 3

Grupos	Aderência	
	n	%
Soro fisiológico (G1)	14/14	100,0
Interceed® (G2)	10/15[a]	66,7
Gel Biopolímero (G3)	7/15[a,b]	46,7

[a]p<0,05 *vs.* grupo soro fisiológico; [b]p>0,05 *vs.* grupo Interceed®

Em relação ao grupo do soro fisiológico, tanto o tratamento com gel (p=0,002, no teste exato de Fisher, Tabela 2) como o tratamento com Interceed® (p=0,0421, no teste exato de Fisher) resultaram em um menor número de animais apresentando aderências. Porém, não houve diferença estatística entre o grupo tratado com gel e o grupo tratado com Interceed® (p=0,4621, no teste exato de Fisher), apesar do grupo de animais que receberam gel apresentar menor percentagem de animais com aderências (46,7% *vs.* 66,7%) (Tabela 2).

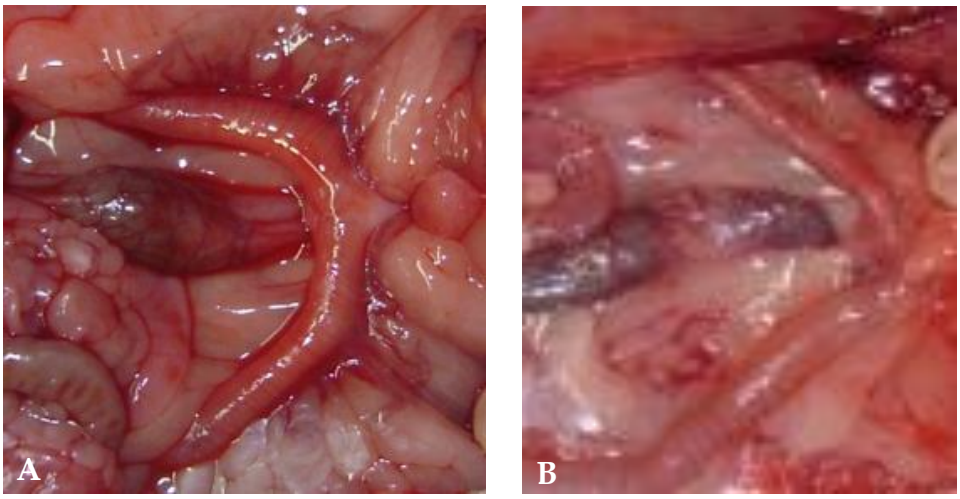
Classificando o grau das aderências observadas nos animais dos três grupos pelo sistema de escore numérico[25], obtem-se os valores exibidos na Tabela 3. Foi feita

uma agregação entre os valores 0 e 1, nenhuma aderência e aderência insignificante, e entre os valores 2 e 3, aderência grave e muito grave. Pelo cálculo da OR (*odds ratio*) foi verificado que a chance de um animal que recebeu tratamento com Interceed® desenvolver aderências classificadas como 2 ou 3 é de 86,4% menor que em um animal que recebeu o soro fisiológico (Figuras 12 A e B). Para os animais que receberam o tratamento com Gel do Biopolímero da cana-de-açúcar, esta mesma chance é de 93,2% (Figuras 13 A, B e C).

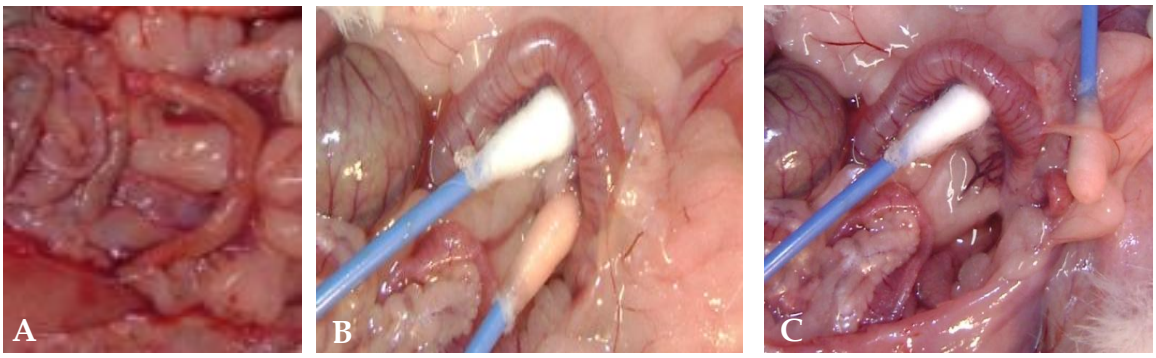
Tabela 3 - Graduação da intensidade das aderências nos grupos 1, 2 e 3 por meio do sistema de escore numérico das aderências, e OR para presença de aderências em relação ao grupo 1

Grupos	Grau de Aderência				OR (IC 95%)	p-valor
	2 a 3		0 a 1			
	n	%	n	%		
Soro fisiológico (G1)	11	78,60	3	12,0	1,0	
Interceed® (G2)	5[a]	33,33	10	40,0	0,136 (0,03 – 0,72)	0,019
Gel Biopolímero (G3)	3[a,b]	20,00	12	48,0	0,068 (0,01 – 0,41)	0,003
Total	19	100	25	100	-	-

a, p<0,05 *vs.* grupo soro fisiológico; b, p>0,05 *vs* grupo Interceed® Odds Ratio



Figuras 12 A e B - Imagens representativas da formação de aderências graus 0 e 1, segundo Wallviener[25], sobre o corno uterino no grupo tratado com Interceed®.



Figuras 13 A, B e C - Imagens representativas da formação de aderências graus 0 e 1, segundo Wallviener[25], sobre o corno uterino no grupo tratado com Gel do Biopolimero.

O mais alto grau de aderências, as quais consistiram de conglomerados entre o corno uterino e outros órgãos intra-abdominais, foi encontrado em 15,79% do grupo do Gel do Biopolímero da cana-de-açúcar, em 26,32% no grupo do Interceed® e em 57,89% no grupo do soro fisiológico.

Comparando a presença de aderências por intermédio da análise qualitativa (tipo e tenacidade), utilizando parte do sistema multidimensional de escore das aderências modificado[104], foram obtidos os números mostrados na Tabela 4. O teste do qui-quadrado indica que há associação entre o escore e os grupos ($p<0,05$). A partir da análise dos resíduos, pode-se verificar com mais detalhes em que categorias e grupos a distribuição do escore se concentra. Considerando que valores menores que -1,96 e maiores que 1,96 sinalizam concentração menor ou maior que o esperado, caso não houvesse associação entre o escore e os grupos, pode-se observar na Tabela 4, que o grupo 1 teve menor incidência no escore 0 e maiores incidências nos escores 3 e 4. Analogamente, o grupo 3 teve maior incidência no escore 0 e menor no escore 3. O grupo 2 não teve nenhuma concentração significativamente distante do geral, isto é, não foram observados valores de resíduo ajustados menores que -1,96 ou maiores que 1,96.

Tabela 4 - Comparação da presença das aderências através da análise qualitativa (tipo e tenacidade) das aderências, entre os grupos 1, 2 e 3

Escore	Grupos								
	Soro fisiológico (G1)			Interceed® (G2)			Gel Biopolímero (G3)		
	n	%	Resíduos ajustados	n	%	Resíduos ajustados	n	%	Resíduos ajustados
0	0	0,0	-2,9	5	33,3	0,4	8	53,3	2,5
1	2	14,3	-0,9	4	26,7	0,4	4	26,7	0,4
2	3	21,4	-0,1	4	26,7	0,4	3	20,0	-0,3
3	6	42,9	2,9	2	13,3	-0,6	0	0,0	-2,2
4	3	21,4	2,6	0	0,0	-1,3	0	0,0	-1,3
Total	**14**	**100**		**15**	**100**		**15**	**100,0**	

Reforçando o observado na Tabela 4 e analisando a Tabela 5, observamos que os grupos do Gel do Biopolímero e do Interceed® apresentam valores médios inferiores ao grupo do soro fisiológico ($p<0,001$ e $p=0,002$, respectivamente). Quando se comparou o grupo do Gel do Biopolimero com o do interceed®, não se encontrou diferença significativa ($p=0,355$) (Figura 14).

Tabela 5 - Estatísticas descritivas da intensidade das aderências entre os grupos 1,2 e 3

Grupos	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	p-valor*
Soro fisiológico (G1)	2,71	0,99	1	4	< 0,001
Interceed® (G2)	1,20	1,08	0	3	
Gel Biopolímero (G3)	0,67	0,82	0	2	

*Kruskal-Wallis

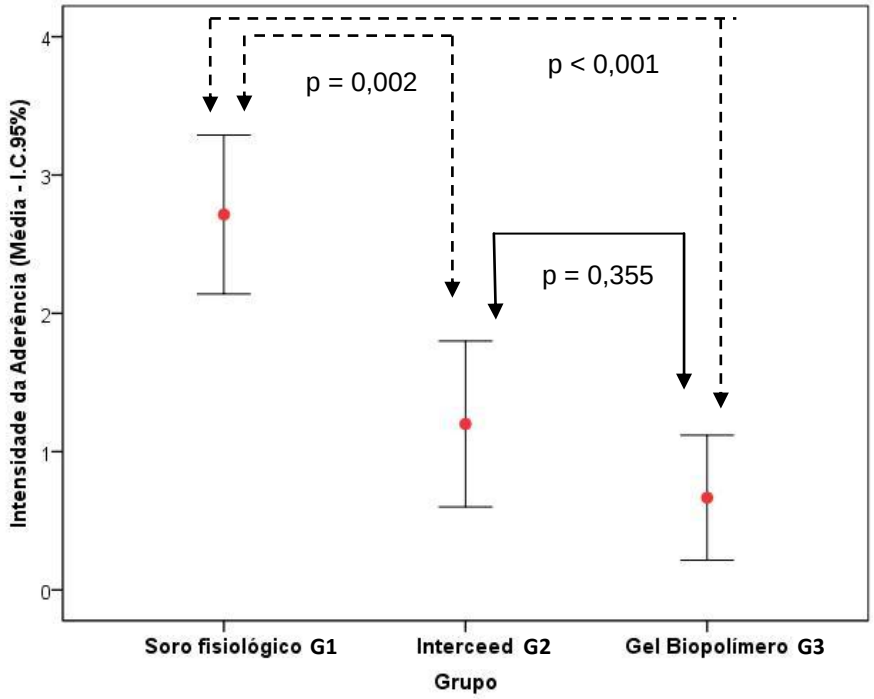


Figura 14 - Gráfico de Intervalo de Confiança de 95% para as médias da Intensidade da Aderência nos grupos 1, 2 e 3

Por intermédio da classificação das aderências sítio - específicas, a avaliação da percentagem de resultados livres de aderências, da qualidade (tipo e tenacidade) e da área de alcance das aderências (extensão), levou à determinação do grau e da gravidade das aderências, aplicando um escore multidimensional das aderências[151] e os quantitativos estão explicitados na Tabela 6. Utilizando novamente a análise de resíduos, consegue-se identificar que, no grupo 1 houve uma menor incidência de animais com escore 0 e maior incidência nos escores 8, 9, 10 e 11. No grupo 3, por outro lado, foi constatada maior incidência de animais com escore 0. O grupo 2 não demonstrou incidências significativamente diferentes em relação aos outros grupos, nem para mais nem para menos. Este resultado evidencia que as análises das Tabelas 4 e 6 levam a um mesmo resultado: em média, os animais do grupo 3, Gel do Biopolímero da cana-de-açúcar, apresentaram aderências classificadas com escores menores, menos graves que os outros dois grupos, mas principalmente em relação ao grupo 1, que recebeu soro fisiológico.

Tabela 6 - Classificação das aderências sítio-específicas em percentual de ocorrência

Escore	Grupos								
	Soro fisiológico			Interceed®			Gel Biopolímero		
	n	%	Resíduos ajustados	n	%	Resíduos ajustados	n	%	Resíduos ajustados
0	0	0,0	-2,9	5	33,3	0,4	8	53,3	2,5
3	2	14,3	-0,9	4	26,7	0,4	4	26,7	,4
4	1	7,1	0,6	1	6,7	0,5	0	0,0	-1,0
6	0	0,0	-1,6	2	13,3	0,3	3	20,0	1,3
7	1	7,1	-0,3	3	20,0	1,8	0	0,0	-1,5
8	2	14,3	2,1	0	0,0	-1,0	0	0,0	-1,0
9	3	21,4	2,6	0	0,0	-1,3	0	0,0	-1,3
10	2	14,3	2,1	0	0,0	-1,0	0	0,0	-1,0
11	3	21,4	2,6	0	0,0	-1,3	0	0,0	-1,3
Total	**14**	**100**		**15**	**100**		**15**	**100**	

Reforçando o observado na Tabela 6 e analisando a tabela 7 verifica-se que os grupos do Gel do Biopolímero e do Interceed® apresentam valores médios inferiores ao grupo do soro fisiológico ($p<0,001$ para ambos). Quando se comparou o grupo do Gel do Biopolímero com o do interceed®, não se encontrou diferença significativa ($p=0,487$) (Figura 15).

Tabela 7 – Estatísticas descritivas do escore multidimensional das aderências nos grupos 1, 2 e 3

Grupos	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	p-valor (Kruskal-Wallis)
Soro fisiológico (G1)	8,07	2,84	3	11	< 0,001
Interceed® (G2)	3,27	2,82	0	7	
Gel Biopolímero (G3)	2,00	2,45	0	6	

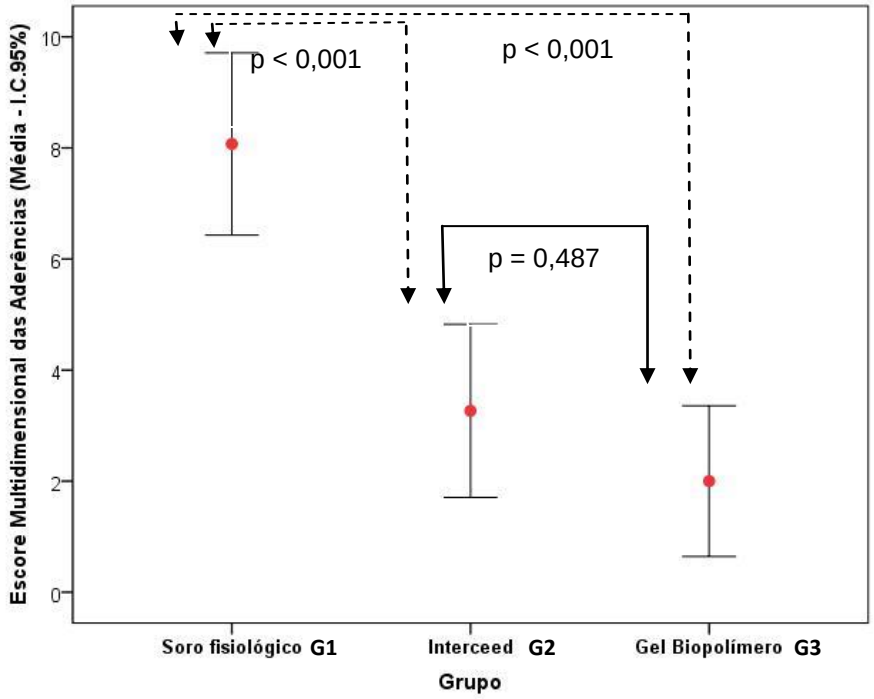


Figura 15 - Gráfico de Intervalo de Confiança de 95% para as médias do escore Multidimensional das aderências nos grupos 1, 2 e 3

A partir de uma escala gráfica, por intermédio do software CAD específico, como detalhado na metodologia, foram obtidos os valores da extensão das aderências (avaliação quantitativa), medida em cada grupo através do AutoCAD mostrado na Tabela 8. Analisando estes valores, observa-se que o valor médio da extensão das aderências foi maior no grupo 1, com 1,0379 cm^3, e menor no grupo 3, com 0,2107 cm^3 e esta diferença foi estatisticamente significante ($p<0,001$). Em relação ao grupo 2, o valor médio da extensão das aderências foi de 0,3740 cm^3. Não obstante haver tal diferença entre os três grupos, comparando-se as médias dois a dois entre os grupos, o teste *Tamhane's* T2 revelou que há diferença significativa entre as médias dos grupos 1 e 2 e entre as médias dos grupos 1 e 3; contudo, não indica diferença estatisticamente significante das médias entre os grupos 2 e 3 ($p=0,353$), embora a média do Gel do Biopolímero tenha sido menor em relação ao Interceed® (0,2107 x 0,3740) (Figura 16).

Tabela 8 – Medidas descritivas da extensão das aderências em cada grupo, em cm^3, medido a partir do software de CAD

Grupos	n	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo	p-valor*
Soro fisiológico (G1)	14	1,0379	0,40185	0,36	1,46	
Interceed® (G2)	15	0,3740	0,32133	0,00	0,91	0,001
Gel Biopolímero (G3)	15	0,2107	0,25561	0,00	0,66	

*Anova

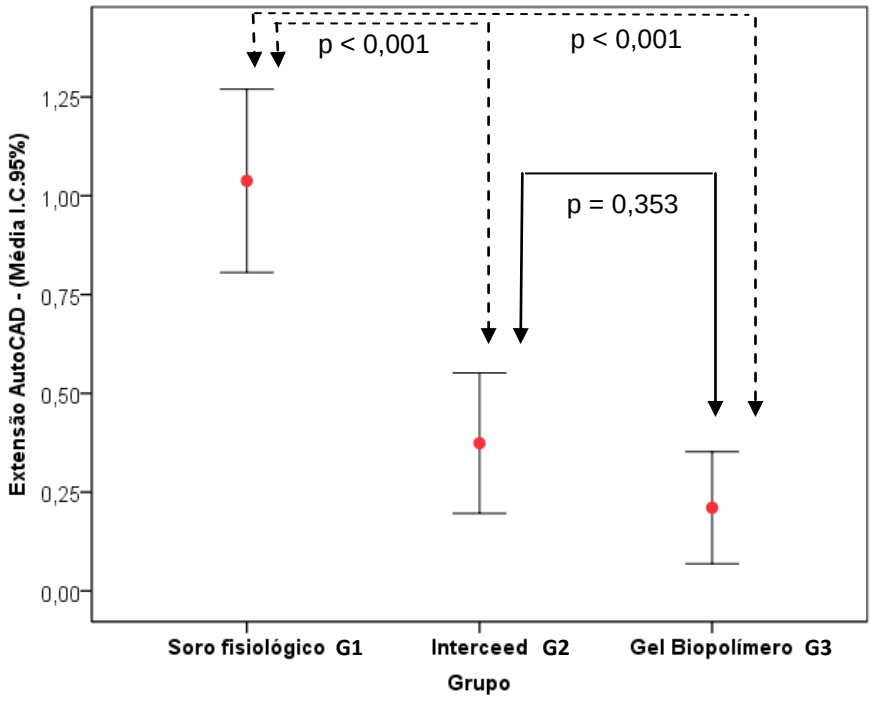


Figura 16 - Gráfico de Intervalo de Confiança de 95% para as médias da Extensão nos grupos 1, 2 e 3

A avaliação histológica mostra que houve relação entre a fibrose e os grupos de tratamento (Tabela 9). A maioria (80%) dos animais do grupo 3 teve fibrose classificada como mínima (Figura 17), no grupo 2 a maioria (80%) teve fibrose classificada como moderada (Figura 18) e, no grupo 1, não houve diferença entre as classificações mínimas e moderadas. Nenhum animal teve ausência de fibrose. Já no tocante à reação inflamatória e à proliferação vascular (Tabelas 10 e 11), não foi observada nenhuma relação estatisticamente significante entre os grupos, valores de

p = 0,426 e 0,446, respectivamente, embora tenha havido maior concentração de animais, em todos os grupos, na proliferação vascular moderada (71,40% x 73,33% x 53,33%) (Figura 19) e, em relação à reação inflamatória, prevaleceram a do tipo 1 nos grupos do soro fisiológico (71,4%) e do Gel do Biopolímero (53,3%) (Figura 20) e do tipo 2 no grupo do Interceed® (53,3%) (Figura 21). Nenhum animal teve ausência de reação inflamatória e de proliferação vascular ou proliferação vascular intensa, em todos os grupos.

Tabela 9 – Distribuição da fibrose nos grupos 1, 2 e 3

Fibrose	Grupos						p-valor (qui-quadrado)
	Soro fisiológico (G1)		Interceed® (G2)		Gel Biopolímero (G3)		
	n	%	n	%	n	%	
Nenhuma	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0,011
Mínima	7	50,0	3	20,0	12	80,0	
Moderada	7	50,0	12	80,0	3	20,0	
Florida densa	0	0,0	0	0,0	0	0,0	

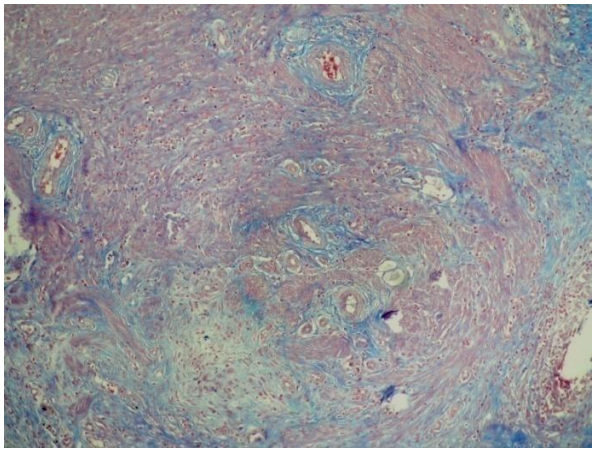


Figura 17 - Imagem representativa de fibrose mínima no grupo 3 (áreas em azul) (tricrômico de Masson 100X)

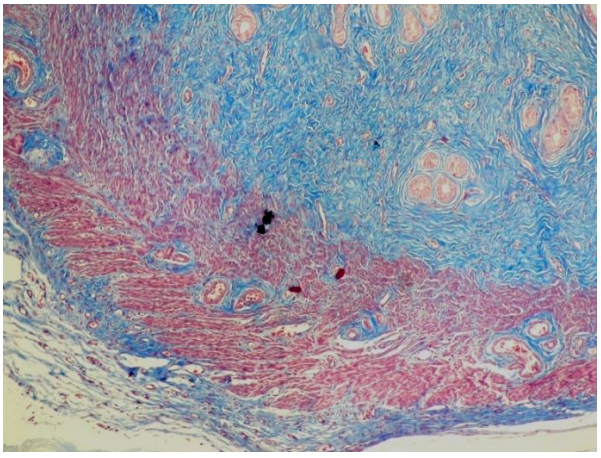


Figura 18 - Imagem representativa de fibrose moderada no grupo 2 (áreas em azul) (tricrômico de Masson100X)

Tabela 10 - Distribuição da reação inflamatória nos grupos 1, 2 e 3

Reação Inflamatória	Grupos						p-valor*
	Soro fisiológico (G1)		Interceed® (G2)		Gel Biopolímero (G3)		
	n	%	n	%	n	%	
Nenhuma	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0,426
Células gigantes e plasmáticas, linfócitos ocasionais	10	71,4	6	40,0	8	53,3	
Células gigantes e plasmáticas, eosinófilos e neutrófilos	3	21,4	8	53,3	5	33,3	
Células inflamatórias e microabscessos	1	7,2	1	6,7	2	13,3	

*Qui-quadrado

Tabela 11 - Distribuição da proliferação vascular nos grupos 1, 2 e 3

Proliferação vascular	Soro fisiológico (G1)		Interceed® (G2)		Gel Biopolímero (G3)		p-valor*
	n	%	n	%	n	%	
Nenhuma	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0,446
Proliferação vascular leve	4	28,6	4	26,67	7	46,67	
Proliferação vascular moderada	10	71,4	11	73,33	8	53,33	
Proliferação vascular intensa	0	0,00	0	0,00	0	0,00	

*Qui-quadrado

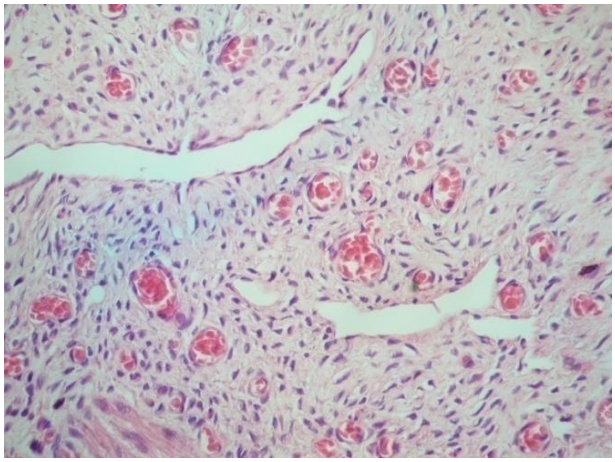


Figura 19 - Imagem representativa de proliferação vascular grau 2 do grupo 3 (HE 400X)

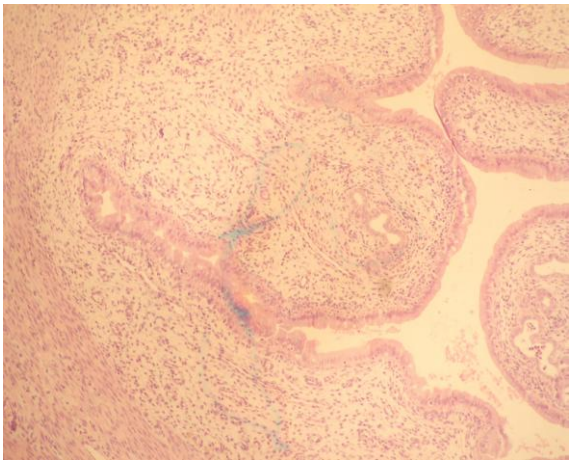


Figura 20 - Imagem representativa de reação inflamatória grau 1 do grupo 3 (HE 100X)

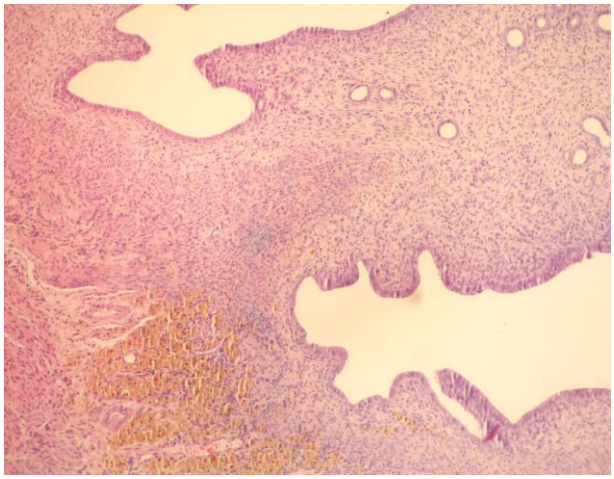


Figura 21 - Imagem representativa de reação inflamatória grau 2 com agregados de macrófagos do grupo 2 (HE 100X)

DISCUSSÃO

A exposição da serosa peritoneal nos tecidos danificados durante a cirurgia representa um passo crucial na formação de aderências. A aplicação de barreiras mecânicas profiláticas compostas por materiais sólidos e líquidos tem contribuído para a redução de aderências[21,24,159], embora nenhum produto seja substituto da boa técnica cirúrgica. O Interceed® é o material mais utilizado em ginecologia para a prevenção de aderências[20,21,165-167,170].

O Gel do Biopolímero de melaço de cana-de-açúcar, um exopolissacarídeo, constituído à base de água, biocompatível e de baixa toxicidade[34], pode ser utilizado como barreira mecânica contra a formação de aderência intraperitoneal, semelhante aos géis à base de ácido hialurônico[179,180,181] e polietilenoglicol[31].

O uso do Gel de Biopolímero resultou em menor percentagem de aderências em relação ao grupo tratado com Interceed® (46,7% *vs.* 66,7%, respectivamente), embora não houvesse diferença estatisticamente significante entre eles. Por outro lado, esses dois grupos apresentaram diferença estatística altamente significante com relação ao grupo do soro fisiológico. O Gel de Biopolímero como lubrificante peritoneal, fazendo interface entre os tecidos manipulados, é de fácil aplicação e pode ter vantagens em relação às membranas em geral, fato ocorrido também com outras barreiras em forma líquida[31,57,86,145,146,152]. A aplicação de géis como barreira tem demonstrado superioridade no que concerne à interposição de elementos sólidos, como confirmado em um estudo comparativo de membranas e gel de ácido hialurônico na prevenção de aderências em abrasão cecal[145]. A instilação de polímeros em soluções de alta viscosidade tem sido sugerida, desde que a eficácia dos hidrogeis depende de sua viscosidade, bem como de sua concentração. O Gel do Biopolímero é um hidrogel e sua viscosidade pode ser controlada[34,191].

Possivelmente estas barreiras reduzem a formação de aderências por limitação do contato das superfícies dos tecidos após a cirurgia, evitando a formação das pontes de fibrina entre os órgãos adjacentes. A cicatrização peritoneal pode levar 5-7 dias, proporcionando um tempo longo para deposição de fibrina e interconexão das faces lesadas com as estruturas adjacentes na cavidade peritoneal, levando à formação de aderências[57].

Este é o primeiro estudo investigando o efeito intraperitoneal do Gel do Biopolímero da cana-de-açúcar como antiaderente sítio-específico em um modelo cirúrgico simulando os passos ocorridos em cirurgia abordando o útero com eletro-cauterização e sutura. O Biopolímero da cana-de-açúcar tem sido utilizado em diversas áreas da cirurgia experimental, como na cicatrização de feridas cutâneas[35], reconstrução ureteral[38], tratamento da incontinência urinária[41,192], tratamento do refluxo vésico-uretral[43,49], curativo após cirurgia de hipospádia[42], curativos para o tratamento de perfuração da membrana timpânica[44], enxerto vascular[45,46,52], correção cirúrgica de falha músculo-aponeurótica[47,48], correção dos defeitos osteocondrais[50,51], com resultados que demonstram biocompatibilidade e biointegração.

Neste modelo experimental, a indução das aderências foi eficaz, resultando na formação de aderências extensas e densas no grupo do soro fisiológico; em alguns casos, o corno uterino estava completamente aderido ao peritônio parietal. Aderências de todas as gravidades (grau 0-3) foram encontradas, semelhante ao descrito anteriormente e, em especial, após trauma do peritônio visceral[25]. Foi observado que a chance de um animal tratado com Interceed® e Gel do Biopolímero da cana-de-açúcar desenvolver aderências classificadas como grau 2 ou 3 é 86,4% e 93,2% menor, respectivamente, em relação a um animal que recebeu soro fisiológico, sendo no grupo do Gel do Biopolímero mais finas e avasculares e intensas (grau 3) em apenas 15,79% dos casos. Em 57,89% das ratas tratadas com soro fisiológico foi observada a presença de aderências espessas e disseminadas.

É importante ressaltar que hemorragia submesotelial profunda e necrose podem prolongar a duração da inflamação e atraso na deposição de colágeno[68], bem como sutura, associado a trauma vascular[63]. Os sítios de cauterização podem conter tecido necrótico, granulação e inflamação (PMN), sem fibroblastos e com formação mínima de colágeno, retardando a cicatrização, como descrito anteriormente[68]. Assim, optou-se pelo modelo de incisão visceral do corno uterino com eletrocautério e sutura, para analisar o efeito do Gel do Biopolímero como barreira.

Verificou-se que a formação de aderências foi significativamente mais intensa no grupo do soro fisiológico, confirmando os resultados de estudos clínicos em que a técnica cirúrgica isolada não demonstrou efeito significativo na redução de

aderências pós-cirúrgicas[12,159]**.** A superfície peritoneal tem enorme capacidade de reabsorção, com uma taxa de 30-60 ml/h, independentemente do volume de fluido aplicado e, após 10-12 h, as soluções são quase completamente removidas da cavidade abdominal, justificando a falha das mesmas[103,188]**.** O peritônio absorve o líquido em 24 a 48 horas[27]. A capacidade de absorção da superfície peritoneal justifica que as soluções de barreira intraperitoneal devem ser visco-elásticas e ter uma osmolaridade semelhante ao plasma[27,103,188]. O Gel do Biopolímero é um hidrogel com viscosidade elevada, composto de uma fração sólida 1% do biopolímero em água.

No presente estudo, a celulose oxidada regenerada – Interceed® – foi facilmente aplicada, aderiu espontaneamente na face tecidual lesada e, comparada ao grupo do soro fisiológico, reduziu a formação de aderências. Publicações anteriores mostraram que o Interceed®, combinado com boa técnica cirúrgica, preveniu aderências graves em 61% dos casos, foi duas vezes mais efetivo comparado com cirurgia sem agentes antiaderência[163] e em cirurgia ovariana laparotômica foram encontrados resultados livres de aderências em 47% *vs.* 25% sem a aplicação da referida barreira[166].

Interceed® é a única barreira antiaderência com comprovado aumento das taxas de gravidez, conforme um ensaio clínico randomizado[170]. Em ensaios clínicos controlados, bem como em meta-análises, o efeito antiadesivo do Interceed® após intervenções cirúrgicas abertas e laparoscópicas foi demonstrado para ambas, primeira manifestação e recorrência da formação de aderências[21,165-167]. Entretanto, Wiseman demonstrou, em um modelo animal, que Interceed® pode migrar, não permanecendo na área de aplicação laparoscópica e, consequentemente, perder o efeito desejado[12]. Além disso, hemóstase completa se faz necessária antes da aplicação do Interceed®, pois o sangue infiltrado nas fibras do tecido elimina os benefícios[19], em consequência à deposição de fibrina e promoção da formação de aderências[16]. No presente estudo, foi realizada hemóstase meticulosa antes da colocação de Interceed®. O grupo do Gel de Biopolímero apresentou menor número de animais com aderências; no entanto a diferença observada não foi estatisticamente

significativa. O Interceed® é de difícil aplicação em lesões extensas e tem limitação de uso, por causa do alto custo.

Portanto, os géis antiaderência iniciaram uma nova geração de barreiras, oferecendo maior flexibilidade técnica de aplicação[125], permitindo posicionamento acurado, com distribuição uniforme se adequando à geometria dos tecidos, facilitando o seu uso, principalmente em áreas tecnicamente de difícil acesso, como a pelve menor, particularmente em cirurgias laparoscópicas, em contraste com a colocação de membrana, que requer muito mais habilidade técnica[174]. Além disso, o gel pode ser pulverizado e o cirurgião não tem de lidar diretamente com as estruturas intraperitoneais, minimizando os riscos adicionais de traumatismo, além de reduzir o tempo cirúrgico. O gel visco-elástico pode revestir os tecidos de formas diversas, sendo eficaz para todos os órgãos da cavidade abdominal[81].

É importante ressaltar que a perda de uniformidade em modelos experimentais dificulta a avaliação da eficácia de qualquer regime profilático. As variáveis tipo, animal e técnica utilizada para indução das aderências, escolha do momento para avaliação, incisão usada para realizar o escore das aderências, e parâmetros usados para graduar as aderências em modelos experimentais, interferem na avaliação da eficácia de novas substâncias, como é o caso do Gel do Biopolímero.

Um tópico importante é a variabilidade de espécies animais usadas em estudos de aderências. O rato normalmente é a primeira escolha entre as espécies animais para indução das aderências, por causa do grande número de estudos experimentais que o utiliza, a operação e a avaliação pós-operatória são convenientes e menos caras que em animais de maior porte, como coelhos e cachorros, em que as tentativas de escore das aderências também são apresentadas. Menores custos e facilidade de avaliação pós-operatória em ratos, em relação às outras espécies, podem explicar a tendência dos pesquisadores em usar modelos utilizando este animal, mas diferenças entre as espécies na formação das aderências são descritas na literatura[153], embora algumas publicações evidenciem uma gravidade similar das aderências após trauma intestinal de coelhos e peritônio parietal de ratos[93,121]. Durante a avaliação da gravidade das aderências, um complexo sistema de

classificação tem sido facilmente aplicado em ratos ou camundongos, a despeito de sua cavidade abdominal restrita[93,97,134].

Em ambas as espécies, ratos e coelhos, o momento ideal de análise das aderências não está determinado, mas o final da primeira semana ou mais tarde é o tempo recomendado para a quantificação das aderências[93]. No presente trabalho, utilizamos um período de tempo de 45 dias do procedimento inicial[136,146], tendo em vista que a carbonização e sutura do tecido podem retardar o processo de cicatrização[66,67,70].

Em estudos experimentais diferentes tipos de incisões são usadas para a indução de aderências, as variações começam na abordagem inicial da parede abdominal, com a incisão na linha média sendo a mais utilizada, com menor dano tecidual que as incisões transretais[97]. A forma de reabordagem da parede abdominal com incisão em U tem sido usada largamente para determinação das aderências abdominais[93,97,107,108,123,150]. Neste método, a incisão abdominal prévia é colocada centralmente na dobra da parede, e as áreas com desenvolvimento de aderências são deixadas intactas durante a relaparotomia, possibilitando a avaliação. Tal abordagem metodológica também foi utilizada neste estudo.

A maioria dos estudos para investigação da formação de aderências utiliza um modelo animal para reproduzir o trauma cirúrgico; entretanto, eles variam grandemente, dependendo do interesse do pesquisador em determinada parte a ser investigada. Alguns estudos mimetizam os procedimentos cirúrgicos standard em escala menor, enquanto outros utilizam uma variedade de medidas para produzir efeitos muito mais pronunciados para a formação das aderências[115]. Embora o processo basal seja o mesmo, alguns estímulos promovem uma reação que não pode ser replicada, infelizmente, nos estudos clínicos, e os resultados destes modelos extremos necessitam de interpretação com cautela e seu uso limitado somente àquele estudo. A perda de uniformidade na interpretação dos resultados entre os estudos dificulta as conclusões.

Neste estudo, foi usado um modelo modificado de induzir aderências pós-operatórias intra-abdominais em corno uterino de ratas, menos variável e mais reprodutível, em que se procedia à incisão linear do peritônio visceral e do

miométrio com corrente monopolar, seguida de hemóstase e sutura, mimetizando o procedimento cirúrgico originalmente realizado em situações clínicas. Os sítios de injúria peritoneal podem diferir na extensão da lesão e na profundidade e gravidade do dano tecidual pelo uso do eletrocautério, sendo que, no estudo, houve uma padronização neste aspecto e, se ocorreu variação, ela se distribuiu uniformemente entre os grupos.

No presente estudo, foi utilizado um sistema de escore multidimensional, com associação do percentual de resultados livres de aderências, tipo, tenacidade e extensão[104,151], determinando a gravidade das aderências de acordo com o escore obtido. A metodologia comprovou que a formação de aderências foi significativamente reduzida nos animais tratados com gel, quando comparados aos animais tratados com soro fisiológico. Os resultados são comparáveis a um estudo prévio, no qual foi usado o mesmo escore para analisar os resultados da aplicação de um hidrogel à base de ácido hialurônico e carboximetilcelulose[137].

O estudo demonstrou, por intermédio da análise qualitativa (tipo e tenacidade) utilizando parte do sistema multidimensional de escore das aderências modificado[104,151], que houve associação entre o escore e os grupos. A partir da análise dos resíduos, pode-se verificar que o grupo do soro fisiológico teve menor incidência no escore 0 e maiores incidências nos escores 3 e 4. Analogamente, o grupo do gel do biopolímero teve maior incidência no escore 0 e menor no escore 3. O grupo 2 não teve nenhuma concentração significativamente distante do geral, mostrando o efeito do Gel do Biopolímero na prevenção de aderências

A associação da percentagem de resultados livres de aderências, a qualidade (tipo e tenacidade) e a área de alcance das aderências (extensão)[104,151], levou a determinação mais detalhada do grau e da gravidade das aderências ao escore multidimensional das aderências. Utilizando novamente a análise de resíduos, consegue-se identificar que, no grupo do soro fisiológico, houve uma menor incidência de animais com escore 0 e maior incidência nos escores 8, 9, 10 e 11. No grupo do Gel de Biopolímero, por outro lado, foi constatada maior incidência de animais com escore 0. No grupo do Interceed® não foram verificadas incidências significativamente diferentes em relação aos outros grupos, nem para mais, nem para

menos. Os animais do grupo do Gel do Biopolímero da cana-de-açúcar apresentaram aderências classificadas com escores menores, menos graves que os outros dois grupos, mas principalmente em relação ao grupo do soro fisiológico. A comparação da gravidade das aderências, através da análise dos parâmetros qualitativos, tipo e tenacidade, entre os grupos, foi consistente com a comparação da extensão.

Nesse sentido, a aferição da extensão, associada ao tipo e à tenacidade da ocorrência de aderências, permite que o escore multidimensional possa ser rapidamente aplicado na avaliação *in situ*, com base na morfologia. Limitações dessa avaliação foram principalmente devidas à natureza das aderências, às dificuldades para medir e quantificar, tornando o sistema de escore sujeito à variação intra e interobservador. Embora definições para a incidência das aderências, a gravidade e a extensão da área tenham sido feitas e usadas neste estudo, elas implicam um fator de subjetividade que não pode ser eliminado, como já descrito na literatura[131].

Para reduzir as limitações referentes a uma avaliação subjetiva do sistema de escore das aderências foi utilizado um sistema quantitativo de avaliação sítio específica da extensão da aderência na área traumatizada, através do auto-CAD. A partir de escala gráfica, por intermédio do software CAD específico, foram obtidos os valores da extensão das aderências medidas em cada grupo. Analisando estes valores, observa-se que o valor médio da extensão das aderências foi maior no grupo do soro fisiológico, com 1,0379 cm^3, e menor no grupo do Gel do Biopolímero, com 0,2107 cm^3 e esta diferença foi estatisticamente significante ($p<0,05$). Em relação ao grupo do Interceed®, o valor médio da extensão das aderências foi de 0,3740 cm^3. Ao aplicar o teste de comparação dois a dois *Tamhane´s T2,* o resultado apontou que as diferenças nas médias das extensões das aderências entre os grupos Interceed® e Soro Fisiológico e entre Gel do Biopolímero da cana-de-açúcar e Soro Fisiológico são estatisticamente significantes. Os grupos de Interceed® e Gel do Biopolímero têm menor extensão de aderência em relação ao grupo do soro fisiológico. Embora a média do Gel tenha sido menor em relação à media do Interceed® (0,2107 x 0,3740), esta diferença não foi estatisticamente significante. Portanto, a análise mostra que os escores obtidos usando a medida fixada (medida do comprimento da aderência

fixada) correlaciona com os escores derivados da extensão do escore multidimensional[104,151].

Em relação à avaliação histológica, observa-se que o Gel do Biopolímero não induziu a reações inflamatórias específicas, causando uma menor resposta fibrótica, em comparação com o grupo não tratado e com o grupo do Interceed®. No tocante à reação inflamatória e à proliferação vascular, não foi observada nenhuma relação estatisticamente significante entre os grupos. A eficácia do gel pode ser devida às várias particularidades deste material, principalmente a alta tolerabilidade e o prolongado tempo de permanência durante a cicatrização. Uma reação inflamatória aguda característica, devido à sutura, foi observada na região da sutura peritoneal. Infiltração densa com uma mistura de células inflamatórias granulocíticas e linfoplasma celular com numerosas células gigantes foram encontrados ao redor do material de sutura[142], e a análise de aderências peritoneais humanas revelou infiltrado de macrófagos e linfócitos T, independentemente do tempo de persistência das aderências[75,83,84].

O tempo utilizado para eutanásia, neste estudo, pode justificar o tipo de reação inflamatória encontrada e a ausência de proliferação vascular intensa, em todos os grupos. A histopatogênese da inflamação e o reparo do mesotélio são relativamente bem entendidos e a formação de aderências começa com uma matriz de fibrina, tipicamente ocorrendo durante a coagulação. Entre um e três dias após a injúria, a aderência é composta de uma variedade de elementos celulares, incluindo leucócitos cobertos pela matriz de fibrina. Esta matriz é então gradualmente substituída por tecido de granulação vascular contendo macrófagos, fibroblastos e células gigantes. Por volta do quarto dia, uma considerável quantidade de matriz de fibrina desaparece e um maior número de fibroblastos com colágeno associado está presente. Os macrófagos constituem o tipo predominante de leucócitos. Se qualquer fator (isto é, isquemia, infecção e formação excessiva de fibrina, além da capacitação dos macrófagos) interrompe a cascata da cicatrização até o quinto dia, as aderências podem ser formadas[17,55,56,74,81,82].

Estudo experimental, em ratas, comparou a histologia do reparo do corno uterino após incisão com laser de CO_2 com o microcautério e suturas, demonstrando

que a aparência geral da cicatriz e a quantidade de colágeno acumulada foram similares quando o período de observação foi superior a 21 dias. Já a reação a corpo estranho, mensurada por infiltração histiocitária e células gigantes, foi significativamente maior no grupo do eletrocautério, parecendo estar relacionada aos debris necróticos notados na cicatriz[66,67].

Os resultados permitem afirmar que o Gel do Biopolímero da cana-de-açúcar pode ser uma alternativa na prevenção de aderências. O Gel do Biopolímero tem tempo de permanência intraperitoneal adequado *in vivo*, é constituído de açúcares e ácido glicurônico e não desperta imunogenicidade[34]. Outros dispositivos à base do biopolímero da cana-de-açúcar já se mostraram eficazes em outras áreas da medicina, em estudos experimentais com animais[35,38-52,192]. O gel é moldável, permitindo assumir diferentes formas e ocupar espaços diversos, em situações clínicas específicas. Esta versatilidade lhe dá excelente alcance, tanto para superfícies teciduais lisas quanto convexas, usando géis dispersadores, favorecendo seu uso em ampla variedade de cenários cirúrgicos.

CONCLUSÕES

Com base nos experimentos, na metodologia empregada e nos resultados encontrados, com uma probabilidade de 95%, pode-se concluir que:

1- A formação de aderências na linha de sutura do útero de ratas foi menor no grupo tratado com o Gel do Biopolímero da cana-de-áçucar (46,7%) que nos grupos tratados com Interceed® (66,7%) e com soro fisiológico (100%); (p=0,002 e 0,4621, respectivamente).

2- Os percentuais de chance de aderências na linha de sutura do útero de ratas classificadas como grau 2 e 3 de intensidade foram menores nos grupos tratados com Gel do Biopolímero da cana-de-áçucar (93,2%) e com Interceed® (86,4%), em relação ao grupo tratado com o soro fisiológico (p=0,003 e 0,019, respectivamente). Quando se comparou o grupo do Gel do Biopolímero com o Interceed®, não se encontrou diferença significante (p>0,05).

3- O escore médio da extensão e qualidade das aderências na linha de sutura do útero de ratas, aferidas pelo sistema multidimensional de escore das aderências, foi menor nos grupos tratados com o gel do biopolímero (2,00) e com o Interceed® (3,27), em relação ao grupo tratado com o soro fisiológico (8,07) (p<0,001 para ambos). Quando se comparou o grupo do Gel do Biopolímero com o do Interceed®, não se encontrou diferença significante (p=0,487).

4- A extensão média das aderências na linha de sutura do útero de ratas ao AutoCAD foi menor nos grupos tratados com o Gel do Biopolímero (0,2107 cm^3) e Interceed® (0,3750 cm^3) que no grupo tratado com soro fisiológico (1,0379 cm^3) (p<0,001). Quando se comparou o grupo do Gel do Biopolímero com o do Interceed®, não se encontrou diferença significante (p=0,353).

5- A resposta fibrótica na linha de sutura do útero de ratas tratadas com o Gel do Biopolímero foi menor, comparada com os grupos tratados com soro fisiológico e Interceed® (p=0,011). No tocante à reação inflamatória específica e à proliferação vascular na linha de sutura do útero de ratas, não foi observada nenhuma relação estatisticamente significante entre os grupos (p=0,426 e 0,446, respectivamente).

O Gel do Biopolímero da cana-de-açúcar é eficaz como agente biorreabsorvível antiaderente e pode prevenir aderências intraperitoneais pós-cirúrgicas, fato que o credita a submeter-se a avaliações clínicas.

REFERÊNCIAS

1. Diamond MP, El-Hammady E, Wang R, Kruger M, Saed G. Regulation of expression of tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 by dichloroacetic acid in human fibroblasts from normal peritoneum and adhesions. Am J Obstet Gynecol. 2004;190:926-34.
2. Menzies D, Ellis H. Intestinal obstruction from adhesions: how big is the problem? Ann Roy Coll Surg Engl. 1990;72:60-3.
3. Monk JB, Berman ML, Montz FJ. Adhesions after extensive gynaecologic surgery: clinical significance, etiology, and prevention. Am J Obstet Gynecol 1994;170:1396-403.
4. Miller G, Boman J, Shrier I, Gordon P. Natural history of patients with adhesive small bowel obstruction. Br J Surg. 2000;87:1240-7.
5. van der Krabben AA,Dijkstra FR, Nieuwenhuijzen M, Reijnem MM, Schaapveld M, van Goor H. Morbidity and mortality of inadvertent enterotomy during adhesiotomy. Br J Surg. 2000;87:467-71.
6. Chapron C, Pierre F, Hachaoui Y, Lacroix S, Béguin S. Gastrointestinal injuries during gynaecological laparoscopy. Hum Reprod. 1999;14:333-7.
7. Swank DJ, van Erp WF, Repelaer van Driel OJ, Hop WC, Bonjer HJ, Jeekel J. Complications and feasibility of laparoscopic adhesiolysis in patients with chronic abdominal pain. Surg Endosc. 2002;16:1468-73.
8. Parker MC, Ellis H, Moran BJ, Thompson JN, Wilson MS, Menzies D, McGuire A, Lower AM, Hawthorn RJ, O'Briena F, Buchan S, Crowe AM. Postoperative adhesions: tem-years follow-up of 12,584 patients undergoing lower abdominal surgery. Dis Colon Rectum. 2001;44:822-30.
9. Lower AM, Hawthorn RJ, Ellis H, O'Brien F, Buchan S, Crowe AM. The impact of adhesions on hospital readmissions over ten years after 8849 open gynaecological operations: an assessment from the Surgical and Clinical Adhesions Research Study. BJOG. 2000;107:855-62.
10. Diamond MP, Freeman ML. Clinical implications of postsurgical adhesions. Hum Reprod Update. 2001;7:567-76.
11. Lower AM, Hawthorn RJ, Clark D, Boyd JH, Finlayson AR, Knight AD, Crowe AM on beralf of the Surgical and Clinical Research (SCAR) Group. Adhesion-

related readmissions following gynaecological laparoscopy or laparotomy in Scotland: an epidemiological study of 24 046 patients. Hum Reprod 2004;19:1877-85

12. Wiseman DM, Trout JR, Diamond MP. The rates of adhesion development and the effects of crystalloid solutions on adhesion development in pelvic surgery. Fertil Steril. 1998;70:702-11.
13. Ray NF, Denton WG, Thamer M, Henderson SC, Perry S. Abdominal adhesiolysis: inpatient care and expenditures in the United States in 1994. J AM Coll Surg. 1998;186:1-9.
14. Parker MC, Wilson MS, Menzies D, Sunderland G, Clark DN, Knight AD, Crowe AM. The SCAR-3 study: 5-year adhesion-related readmission risk following lower abdominal surgical procedures. Colorectal Dis. 2005;7:551-8.
15. Al-Musawi D, Thompson JN. Adhesion prevention: state of the art. Gynaecol Endosc 2001;10:123
16. DeCherney AH, diZerega GS. Clinical problem of intraperitoneal postsurgical adhesion formation following general surgery and the use of adhesion prevention barriers. Surg Clin North Am. 1997;77:671-88.
17. Dijkstra FR, Nieuwenhuijzen M, Reijnen MM, van Goor H. Recent clinical developments in pathophysiology, epidemiology, diagnosis and treatment of intra-abdominal adhesions. Scand J Gastroenterol. 2000;232:52-9.
18. Tulandi T. Prevention of adhesion formation: the journey continues. Hum Reprod Update. 2001;7:545-6.
19. Wiseman DM, Trout JR, Franklin RR, Diamond MP. Metaanalysis of the safety and efficacy of an adhesion barrier (Interceed TC7) in laparotomy. J Reprod Med. 1999;44:325-31.
20. Farquhar C, Vandekerckhove P, Watson A, Vail A, Wiseman D. Barrier agents for preventing adhesions after surgery for subfertility. Cochrane Database Syst Rev. 2000;2:CD000475.
21. Ahmad G, Duffy JMN, Farquhar C, Vail A, Vanderkerchove P, Watson A, Wiseman D. Barrier agents for adhesion prevention after gynaecological surgery. Cochrane Library, 2009;2: CD000475.

22. Diamond MP. Reduction of adhesions after uterine myomectomy by seprafilm membrane (HAL-F): a blinded, prospective, randomized, multicenter clinical study. Fertil Steril. 1996;66:904-10.
23. Fazio VW, Cohen Z, Fleshman JW, van Goor H, Bauer JJ, Wolff BG, Corman M, Beart RW Jr, Wexner SD, Becker JM, Monson JR, Kaufman HS, Beck DE, Bailey HR, Ludwig KA, Stamos MJ, Darzi A, Bleday R, Dorazio R, Madoff RD, Smith LE, Gearhart S, Lillemoe K, Göhl J. Reduction in adhesive small-bowel obstruction by Seprafilm adhesion barrier after intestinal resection. Dis Colon Rectum. 2006;49:1-11.
24. Kumar S, Wong PF, Leaper DJ. Intra-peritoneal prophylactic agents for preventing adhesions and adhesive intestinal obstruction after non-gynaecological abdominal surgery. Cochrane Database Syst Rev. 2009; 21;CD005080.
25. Wallwiener D, Meyer A, Basten G. Adhesion formation of the parietal and visceral peritoneum: an explanation for the controversy on the use of the autologous and alloplastic barriers? Fertil Steril. 1998;68:132-7.
26. Johns DB, Keyport GM, Hoehler F, diZerega GS. Reduction of postsurgical adhesions with Intergel® adhesion prevention solution: a multicenter study of safety and efficacy after conservative gynecologic surgery. Fertil Steril. 2001;76:595-604.
27. Johns A. Evidence-based prevention of post-operative adhesions. Hum Reprod Update. 2001;7:577-9.
28. Al-jaroudi D, Tulandi T. Adhesion prevention in gynecologic surgery. Obstet Gynecol Surv 2004;59:360-7.
29. Boland GM, Weigel RJ. Formation and prevention of postoperative abdominal adhesions. J Surg Res. 2006;132:3-12.
30. Takeuchi H, Kitade M, Kikuchi I, Shimanuki H, Kinoshita K. A novel instrument and technique for using seprafilm hyaluronic acid/carboxymethylcellulose membrane during laparoscopic myomectomy. J Laparoendosc Adv Surg Tech A 2006;16:497-502

31. Mettler L, Audebert A, Lehmann-Willenbrock E, Schive K, Jacobs VR. Prospective clinical trial of SprayGel as a barrier to adhesion formation: an interim analysis. J Am Assoc Gynecol Laparosc. 2003;10:339-44.
32. Wiseman DM. Possible Intergel reaction syndrome (pIRS). Ann Surg. 2006;244:630-2.
33. Menzies D, Hildago Pascual M, Walz MK, Duron JJ, Tonelli F, Crowe A, Knight A. Use of icodextrin 4% solution in the prevention of adhesion formation following general surgery: from the multicentre ARIEL registry. Ann Roy Coll Surg Engl. 2006;88:375-82.
34. Peterson-Beedle M, Kennedy JF, Melo FAD, Lloyd LL, Medeiros V. A cellulosic exopolysaccharide produced from sugarcane molasses by *Zoogloea sp*. Carbohydrate Polymers. 2000; 42:375-83.
35. Coelho MCOC, Carrazoni PG, Monteiro VLC, Melo FAD, Mota R, Tenório Filho F. Biopolímero produzido a partir de cana de açúcar para cicatrização cutânea. Acta Cirur Bras. 2002; 17: 1-7.
36. Melo FAD. Contribuição ao estudo cinético da produção de polissacarídeo extracelulares por *Zoogloea sp* em melaço de cana-de-açúcar [Dissertação de Mestrado]. Recife: Pós-Graduação em Engenharia Química. 2003 p 88
37. Castro, CMMB, Aguiar JLA, Melo FAD, Silva WTF, Esdras M, Silva DB, Citotoxicidade de biopolímero de cana-de-açúcar. An Fac Med Univ Fed Pernamb Recife. 2004; 49: 119-23.
38. Chagas HM, Aguiar JLA, Andrade RT, Montoro M, Vilar FO, Lima SVC. Uso da membrana de biopolímero de cana-de-açúcar na reconstrução ureteral. Anais do 30° Congresso Brasileiro de Urologia; 2005 Outubro; Brasília, BR. Rio de Janeiro : Sociedade Brasileira de Urologia; 2005.
39. Lima FR, Lima JRA, Hirakawa P, Medeiros Junior DM, Lima, FMT, Aguiar JLA. Resposta inflamatória á membranas de biopolímero de cana-de-açúcar e telas de polipropileno® implantadas no peritônio parietal de ratos. An Fac Med Univ Fed Pernamb Recife. 2005; 50: 37-40.

40. Chagas HM, Aguiar JLA, Andrade RT, Montoro M, Vilar FO, Lima SVC. Uretroplastia com biopolímero da cana-de-açúcar em cão. Interl Braz J Urol. 2006;32:65.
41. Goncalves R, Rangel AEO, Duarte JA, Andrade R, Vilar FO, Aguiar JL, Araujo L A, Lima SV. Bio-sling no tratamento da incontinência urinária de esforço: estudo experimental e primeiros ensaios clínicos. An Inter Braz J Urol. 2006; 32: 41.
42. Lima SVC, Aguiar J LA, Araujo LAP Machado M, Andrade RT, Lima RS, Villar F. A new dressing for hypospadias surgery. Inter Braz J Urol. 2006;32:189.
43. Rangel AEO, Aguiar JLA, Lima SVC, Araujo FC, Vilar FO, Pires JAC, Machado MR, Campos EG. A new biomaterial for the treatment of vesicouretral: experimental study. An Inter Braz J Urol. 2006;32:184.
44. Silva DB, Aguiar JLA, Marques A, Coelho ARB, Rolim Filho EL. Meringoplastia com enxerto livre de membrana de biopolímero de cana-de-açúcar e fáscia autóloga em *Chinchilla laniger.* An Fac Med Univ Fed Pernamb. 2006; 51:45-51.
45. Marques SRB, Lins EM, Aguiar JLA, Albuquerque MCS, Rossiter RO, Montenegro LT, Vieira RJ. Um novo substituto vascular: arterioplastia femoral em cães com remendo de membrana de biopolímero de cana-de-açúcar – avaliação hemodinâmica e histopatológica. J Vasc Bras. 2007;6:309-15.
46. Aguiar J, Lins EM, Marques SR, Coelho ARB, Rossiter RO, Melo RJV. Sugarcane biopolymer patch in femoral artery angioplasty in dogs. Acta Cir Bras. 2007;22: 77-81.
47. Falcão SC, Coelho ARB, Evêncio J. Avaliação biomecânica de membranas de celulose microbiana (*Zoogloea sp.*) e de politetrafluoretileno expandido como implantes no reparo de defeitos produzidos na parede abdominal em ratos. Acta Cir Bras. 2008;23:184-91.
48. Silveira RK. Eficácia da membrana de celulose produzida pela Zooglea sp na forma multiperfurada comparada à forma compacta e à membrana sintética de politetrafluoretileno expandido na correção cirúrgica de falha músculo-aponeurórica aguda induzida em ratos. [Tese Doutorado]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2009.

49. Lima S, Rangel A, Aguiar L, Sampaio F, Cardoso L, Gomes H. A new bulking agent to treat vesoureteral reflux: an experimental study. J Urol. 2011; 185:e106.
50. Albuquerque PCVC, Aguiar JLA, Santos SM, Pontes Filho N, Mello RJV, Costa MLCR, Albuquerque CMC, Almeida TMS, Santos AHS, Silva JC. Estudo comparativo das áreas de defeitos osteocondrais produzidas nos côndilos femorais de coelhos tratados com gel de biopolímero de cana. Acta Cir Bras. 2011;26:383-6.
51. Albuquerque PCVC, Santos SM, Aguiar JLA, Pontes Filho N, Mello RJV, Costa MLCR, Olbertz CMCA, Almeida TMS, Santos AHS, Silva JC. Estudo comparativo macroscópico dos defeitos osteocondrais produzidos em fêmures de coelhos preenchidos com gel de biopolímero da cana-de-açúcar. Rev Bras Ortop. 2011; 46:577-84.
52. Barros-Marques SR, Marques-Lins E, Albuquerque MCS, Andrade-Aguiar JL. Surcane biopolymer path in femoral vein angioplasty on dogs. J Vasc Surg. 2012; 55:517-21.
53. Dunn R, Lyman MD, Edelman PG, Campbell PK. Evaluation of the Spraytel™ Adhesion Barrier in the Rat Cecum Abrasion and Rabbit Uterine Horn Adhesion Models. Fertil Steril. 2001;75:411-6.
54. Ellis H. The clinical significance of adhesions: Focus on intestinal obstruction. Eur J Surg. 1997;577:5-9 .
55. Imudia AN, Kumar S, Saed GM, Diamond MP. Pathogenesis of intra-abdominal and pelvic adhesion development. Semin Reprod Med 2008;26:289-97.
56. Holmdahl L. Making and covering of surgical footprints. Lancet. 1999;353:1456-7
57. diZerega GS, Campeau JD. Peritoneal repair and post-surgical adhesion formation. Hum Reprod Update. 2001;7:547-55.
58. Molinas CR, Koninckx PR. Hypoxaemia induced by CO_2 or helium pneumoperitoneum is a co-factor in adhesion formation in rabbits. Human Reproduction. 2000; 15:1758-63.
59. Molinas CR, Mynbaev O, Pauwels A, Novak P, Coninckx PR. Peritoneal mesothelial hypoxia during pneumoperitoneum is a cofactor in adhesion formation in a laparoscopic mouse model. Fertil Steril. 2001;76:560-7.

60. Rosário MT, Ribeiro U, Corbett CE, Ozaki AC, Bresciani CC, Zilberstein B, Gama-Rodrigues JJ. Does CO_2 pneumoperitoneum alter the ultra-structure of the mesothelium? J Surg Res. 2006;133:84-8.
61. Bakkum EA, van Blitterswijk CA, Dalmeijer RA, Trimbos JB. A semiquantitative rat model for intraperitoneal postoperative adhesion formation. Gynecol Obstet Invest. 1994;37:99.
62. van Westreenen M, van den Tol PM, Pronk A, Marquet RL, Jeekel J, Leguit P. Perioperative lavage promotes intraperitoneal adhesion in the rat. Eur Surg Res 1999;31:196-201.
63. Matsuda S, Se N, Iwata H, Ikada Y. Evaluation of the antiadhesion potential of UV cross-linked gelatin films in a rat abdominal model. Biomaterials. 2002;23:2901-8.
64. Thaler K, Mack AJ, Zhao RH, Berho M, Grotendorst GR, Duncan MR, Williams S, Miranda JR, Wexner SD, Abramson SR. Expression of connective tissue growth factor in intra-abdominal adhesions. Dis Colon Rectum. 2002:45:1510-9.
65. diZerega GS, Verco SJS, Young P, Kettel M, Kobak W, Martin D, Sanfilippo J, Peers EM, Scrimgeour A, Brown CB. A randomized, controlled pilot study of the safety and efficacy of 4% icodextrin solution in the reduction of adhesions following laparoscopic gynaecological surgery. Hum Reprod. 2002;17:1031-8.
66. Filmar S, Jetha N, McComb P, Gomel V. A comparative histologic study on the healing process after tissue transection. I. Carbon dioxide laser and electromicrosurgery. Am J Obstet Gynecol. 1989;160:1062-7.
67. Filmar S, Jetha N, McComb P, Gomel V. A comparative histologic study on the healing process after tissue transection. II. Carbon dioxide laser and surgical microscissors. Am J Obstet Gynecol. 1989;160:1068-72.
68. Bellina JH, Hemmings R, Voros JI, Ross LF. Carbon dioxide laser and electrosurgical wound study with an animal model: A comparison of tissue damage and healing patterns in peritoneal tissue. Am J Obstet Gynecol. 1984;148:327-34.

69. Roman H, Canis M, Kamble M, Botchorishvili R, Pouly JL, Mage G. Efficacy of three adhesion-preventing agents in reducing severe peritoneal trauma induced by bipolar coagulation in a laparoscopic rat model. Fertil Steril. 2005;83:1113-8.
70. Wallwiener CW, Kraemer B, Wallwiener M, Brochhausen C, Isaacson KB, Rajab TK. The extent of adhesion induction through electrocoagulation and suturing in an experimental rat study. Fertil Steril 2010;93:1040-4.
71. Bittinger F, Schepp C, Brochhausen C, Lehr HA, Otto M, Köhler H, Skarke C, Walgenbach S, Kirkpatrick CJ. Remodeling of peritoneal-like structures by mesothelial cells: Its role in peritoneal healing. J Surg Res. 1999;82:28-33.
72. Raftery AT. Regeneration of parietal and visceral peritoneum: an electron microscopical study. J Anat. 1973;3:375-92.
73. Reed KL, Fruin AB, Bishop-Bartolomei KK, Gower AC, Nicolaou M, Stucchi AF, Leeman SE, Becker JM. Neurokinin-1 receptor and substance P Messenger RNA levels increase during intraabdominal adhesion formation. J Surg Res 2002;108:165-72.
74. Holmdahl L, Ivarsson ML. The role of cytokines, coagulation, and fibrinolysis in peritoneal tissue repair. Eur J Surg. 1999;165:1012-9.
75. Binnebosel M, Rosch R, Jung K, Lynen-Jansen P, Schumpelick V, Klinge U. Macrophage and T-lynphocyte infiltrates in human peritoneal adhesions indicate a chronic inflammatory disease. World J Surg. 2008;32:296-304.
76. Duron JJ. Postoperative intraperitoneal adhesion pathophysiology. Colorectal Dis. 2007;9:14-24.
77. van der Wal JB, Jeekel J. Biology of the peritoneum in normal homeostasis and after surgical trauma. Colorectal Dis. 2007;9:9-13.
78. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, Society of Reproductive Surgeons. Pathogenesis, consequences, and control of peritoneal adhesions in gynecologic surgery. Fertil Steril 2008;90:S144-9.
79. Cheong YC, Laird SM, Li TC, Shelton JB, Ledger WL, Cooke LD. Peritoneal healing and adhesion formation/reformation. Hum Reprod Update. 2001;7:556-66.

80. Reijnen MM, Bleichrodt RP, van Goor H. Pathopysiology of intra-abdominal adhesion and abscess formation, and the effect of hyaluronan. Br J Surg. 2003;90:533.
81. Harris ES, Morgan RF, Rodeheaver GT. Analysis of the kinetics of peritoneal adhesion formation in the rat and evaluation of potential antiadhesive agents. Surgery. 1995;117:663-9.
82. Rout UK, Diamond MP. Role of plasminogen activators during healing after uterine serosal lesioning in the rat. Fertil Steril. 2003;79:138-45.
83. Sulaiman H, Gabella G, Davis MSc C, Mutsaers SE, Boulos P, Laurent GJ, Herrick SE. Presence and distribution of sensory nerve fibers in human peritoneal adhesions. Ann Surg. 2001;234:256-61.
84. Epstein JC, Wilson MS, Wilkosz S, Ireland G, O'Dwyer ST, Herrick SE. Human peritoneal adhesions show evidence of tissue remodeling and markers of angiogenesis. Dis Colon Rectum. 2006:49:1885-92.
85. Binnebösel M, Klinge U, Rosch R, Junge K, Lynen-Jansen P, Schumpelick V. Morphology, quality, and composition in mature human peritoneal adhesions. Langenbecks Arch Surg. 2008;393:59-66.
86. Binnebösel M, Klink CD, Serno J, Jansen PL, von Trotha KT, Neumann UP, Junge K. Chronological evaluation of inflammatory mediators during peritoneal adhesion formation using a rat model. Langenbecks Arch Surg. 2011;396:371-8.
87. Holmdahl L, Eriksson E, Risberg B. Fibrinolysis in human peritoneum during operation. Surgery. 1996;119:701-5.
88. Ivarsson ML, Bergstrom M, Eriksson E, Risberg B, Holmdahl L. Tissue markers as predictors of post-surgical adhesions. Br J Surg. 1998;85:1549-54.
89. Scott-Coombes DM, Whawell SA, Thompson JN. The operative peritoneal fibrinolytic response to abdominal operation. Eur J Surg. 1995;161:395-9.
90. Holmdahl L, Kotseos K, Bergström M, Falk P, Ivarsson ML, Chegini N. Overproduction of transforming growth factor-beta 1(TGF-beta 1) is associated with adhesion formation and peritoneal fibrinolytic impairment. Surgery. 2001;129:626-32.

91. Saed GM, Diamond MP. Molecular characterization of postoperative adhesions: the adhesion phenotype. J Am Assoc Gynecol Laparosc. 2004;11:307-14.
92. Nagler A, Rivkind AL, Raphael J, Levi-Schaffer F, Genina O, Laavelin I, Pines M. Halofuginone- an inibitor of collagen type i synthesis- prevents postoperative formation of abdominal adhesions. An Surg. 1998;227:575-82.
93. Holmdahl L, al-Jabreen M, Risberg B. Experimental models for quantitative studies on adhesion formation in rats and rabbits. Eur Surg Res. 1994;26:248-56.
94. Chegini N, Simms J, Williams RS, Masterson BJ. Identification of epidermal growth factor, transforming growth factor-alfa, and epidermal growth factor receptor in surgically induced pelvic adhesions in the rat and intraperitoneal adhesions in the human. Am J Obstet Gynecol. 1994;171:321-7.
95. Hill-West JL, Dunn RC, Hubbell JA. Local release of fibrinolytic agents for adhesion prevention. J Surg Res. 1995;59:759-63.
96. Kennedy R, Costain D, McAlister V, Lee T. Prevention of experimental postoperative peritoneal adhesions by N,O-carboxymethyl chitosan. Surgery. 1996;120:866-70.
97. Moreno A, Aguayo JL, Zambudio G, Ramirez P, Canteras M, Parrilla P. Influence of abdominal incision on the formation of postoperative peritoneal adhesions: na experimental study in rats. Eur J Surg. 1996;162:181-5.
98. Chowdhury SM, Hubbell JA. Adhesion prevention with ancrod released via a tissue-adherent hydrogel. J Surg Res. 1996;61:58-64.
99. Galili Y, Ben-Abraham R, Rabau M, Klausner J, Kluger Y. Reduction of surgery-induced peritoneal adhesions by methylene blue. Am J Surg. 1998;175:30-2.
100. de Virgilio C, Elbassir M, Hidalgo A, Schaber B, French S, Amin S, Stabile BE. Fibrin glue reduces the severity of intra-abdominal adhesions in a rat model. Am J Surg. 1999;178:577-80.
101. Arnold PB, Green CW, Foresman PA, Rodeheaver GT. Evaluation of resorbable barriers for preventing surgical adhesions. Fertil Steril. 2000;73:157-61.
102. Baptista ML, Bonsack ME, Delaney JP. Seprafilm reduces adhesions to polypropylene mesh. Surgery. 2000;128:86-92.

103. Hellebrekers BW, Trimbos-Kemper GC, van Blitterswijk CA, Bakkum EA, Trimbos JBMZ. Effects of five different barrier materials on postsurgical adhesion formation in the rat. Hum Reprod. 2000;15:1358-63.

104. Belluco C, Meggiolaro F, Pressato D, Pavesio A, Bigon E, Dona M, Forlin M, Nitti D, Lise M. Prevention of postsurgical adhesions with an autocrosslinked hyaluronan derivative gel. J Surg Res. 2001;100:217-21.

105. Cubukcu A, Alponat A,Gonullu NN, Ozkan S, Ercin C. An experimental study evaluating the effect of mitomycin C on the prevention of postoperative intraabdominal adhesions. J Surg Res. 2001;96:163-6.

106. Guvenal T, Cetin A, Ozdemir H, Yanar O, Kaya T. Prevention of postoperative adhesion formation in rat uterine horn model by nimesulide: a selective COX-2 inhibitor. Hum Repro. 2001;16:1732-5.

107. Besim H, Yalçin Y, Hamamcí O, Arslan K, Sonísik M, Korkmaz A, Erdoğan S. Prevention of intraabdominal adhesions produced by polypropylene mesch. Eur Surg Res. 2002;34:239-43.

108. Avsar AF, Avsar FM, Sahin M, Topaloglu S, Vatansev H, Belviranli M. Diphenhydramine and hyaluronic acid derivatives reduce adnexal adhesions and prevent tubal obstructions in rats. Eur J Obst Gynecol Reprod Biol. 2003;106:50-4.

109. Müller SA, Treutner KH, Anurov M, Titkova S, Oettinger AP, Schumpelick V. Experimental evaluation of phospholipids and icodextrin in re-formation of peritoneal adhesions. Br J Surg. 2003;90;1604-7.

110. Kucukozkan T, Ersoy B, Uyguy D, Gundogdu C. Prevention of adhesions by sodium chromoglycate, dexamthasone, saline, and aprotinin after pelvic surgery. ANZ J Surg. 2004;74:1111-5.

111. Oncel M, Remzi F, Senagore A, Connor JT, Fazio VW. Aplication of Adcon-P or Seprafilm in consecutive laparotomies using a murine model. Am J Surg. 2004;187:304-8.

112. Zhou J, Elson C, Lee T. Reduction in postoperative adhesion formation and re-formation after an abdominal operation with the use of N,O-carboxymethyl chitosan. Surgery. 2004;135:307-12.

113. Avital S, Bollinger TJ, Wilkinson JD, Marchetti F, Hellinger MD, Sands LR. Preventing intra-abdominal adhesions with polylactic acid film: An animal study. Dis Colon Rectum. 2005;48:153-7.
114. Berkkanoglu M, Zhang L, Ulukus M, Cakmak H, Kayisli UA, Kursun S, Arici A. Inhibition of chemokines prevents intraperitoneal adhesions in mice. Hum Reprod. 2005;20:3047-52.
115. Zhang ZL, Xu SW, Zhou XL. Preventive effects of chitosan on peritoneal adhesion in rats. World J Gastroenterol. 2006;12:4572-7.
116. Yeo Y, Ito T, Bellas E, Highley CB, Marini R, Kohane DS. In situ cross-linkable hyaluronan hydrogels containing polymeric nanoparticles for preventing postsurgical adhesions. Ann Surg. 2007;245:819-24.
117. Montz FJ, Monk BJ, Lacy SM. Effectiveness of two barriers at inhibiting post-radical pelvic surgery adhesions. Gynecol Oncol. 1993;48:247-51.
118. Ferland R, Mulani D, Campbell PK. Evaluation of a sprayable polyethylene glycol adhesion barrier in a porcine efficacy model. Hum Reprod. 2001;16:2718-23.
119. Yaacobi Y Israel AA, Goldberg EP. Prevention of postoperative abdominal adhesions by tissue precoating with polymer solutions. J Surg Res. 1993;55:422-6.
120. Ryan CK, Sax HC. Evaluation of a carboxymethylcellulose sponge for prevention of postoperative adhesions. Am J Surg. 1995;169:154-9.
121. Burns JW, Skinner K, Colt MJ, Burgess L, Rose R, Diamond MP. A hyaluronate based gel for the prevention of postsurgical adhesions: evaluation in two animal species. Fertil Steril. 1996;66:814-21.
122. Ozden A, Bostanci B, Sarioglu A, Taskiran D, Tetik C. Effect of nitric oxide on postoperative adhesion formation. Eur Surg Res. 1999;31:465-70.
123. Cubukcu A, Alponat A, Gonullu NN. Mitomycin-C prevents reformation of intra-abdominal adhesions after adhesiolysis. Surgery. 2002;131:81-4.
124. Freeman ML, Saed MG, Elhammady EF, Diamond MP. Expression of transforming growth factor beta isoform mRNA in injured peritoneum that healed with adhesions and without adhesions and in uninjured peritoneum. Fertil Steril. 2003;80:708-13.

125. Ito T, Yeo Y, Highley CB, Bellas E, Benitez CA, Kohane DS. The prevention of peritoneal adhesions by in situ cross-linking hydrogels of hyaluronic acid and cellulose derivatives. Biomaterials. 2007;28:975-83.

126. Tarhan OR, Barut I, Sezik M. An evaluation of normal saline and taurolidine on intra-abdominal adhesion formation and peritoneal fibrinolysis. J Surg Res. 2008;144:151-7.

127. Yelian FD, Shavell VI, Diamond PM. Early demonstration of postoperative adhesions in a rodent model. Fertil Steril. 2010;93:2734-7

128. Cetin M, Ak D, Duran B, Cetin A, Guvenal T, Yanar O. Use of methylene blue and N,O-carboxymethylchitosan to prevent postoperative adhesions in a rat uterine horn model. Fertil Steril. 2003;80:698-701.

129. Ozçelik B, Serin IS, Basbug M, Uludag S, Narin F, Tayyar M. Effect of melatonin in the prevention of post-operative adhesion formation in a rat uterine horn adhesion model. Human Reprod. 2003;18:1703-6.

130. Kelekci S, Yilmaz B, Oguz S, Zergeroğlu S, Inan I, Tokucoğlu S. The efficacy of hyaluronate /carboxymethylcellulose membrane in prevention of postoperative adhesion in a rat uterine horn model. J Exp Med. 2004;204:189-94.

131. Demirturk F, Aytan H, Caliskan AC. Comparison of the adhesion scoring systems used in animal models and assessment of interobserver reproducibility. Aust NZ J Obstet Gynaecol. 2006;46:356-9.

132. Kelekci S, Uygur D, Yilmaz B, Sut N, Yesildaglar N. Comparison of human amniotic membrane and hyaluronate/carboxymethylcellulose membrane for prevention of adhesion formation in rats. Arch Gynecol Obstet. 2007;276:355-9.

133. Cheung M, Chapman M, Kovacik M, Noe D, Ree N, Fanning J, Fenton BW. A method for the consistent creation and quantitative testing of postoperative pelvic adhesions in a porcine model. J Invest Surg. 2009;22:56-62.

134. Molinas CR, Elkelani O, Campo R, Luttun A, Carmeliet P, Konincky PR. Role of the plasminogen system in basal adhesion formation and carbon dioxide pneumoperitoneum-enhanced adhesion formation after laparoscopic surgery in transgenic mice. Fertil Steril. 2003;80:184-92.

135. Başbuğ M, Aygen E, Tayyar M, Kaya E, Narin F, Oktem O. Hyaluronic acid plus heparin for improved efficacy in prevention of adhesion formation in rat uterine horn model. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 1998;78:109 -12.

136. De Iaco PA, Stefanetti M, Pressato D, Piana S, Doná M, Pavesio A, Bovicelli L. A novel hyaluronan-based gel in laparoscopic adhesion prevention: preclinical evaluation in an animal model. Fertil Steril. 1998;69:318-23.

137. Leach RE, Burns JW, Dawe EJ, Smithbarbour MD, Diamond MP. Reduction of postsurgical adhesion formation in the rabbit uterine horn model with use of hyaluronate / carboxymethylcellulose gel. Fertil Steril. 1998;69:415-8.

138. Kluger Y, Weinbroum A, Ben-Avraham R, Galili Y, Klausner J, Rabau M. Reduction in formation of peritoneal adhesions by methylene blue in rats: a dose response study. Eur J Surg. 2000;166:568-71.

139. Verco SJ, Peers EM, Brown CB, Rodgers KE, Roda N, diZerega G. Development of a novel glucose polymer solution (icodextrin) for adhesion prevention: pré-clinical studies. Human Reprod. 2000;15:1764-72.

140. Müller SA, Treutner KH, Jörn H, Anurov M, Oettinger AP, Schumpelick V. Phospholipids reduce adhesion formation in the rabbit uterine horn model. Fertil Steril. 2002;77:1269-73.

141. Müller SA, Treutner KH, Jörn H, Anurov M, Oettinger AP, Schumpelick V. Adhesion prevention comparing liquid and solid barriers in the rabbit uterine horn model. Eur J Obstet Gynecol. 2005;120:222-6.

142. Wallwiener M, Brucker S, Hierlemann H, Brochhausen C, Solomayer E, Wallwiener C. Innovative barriers for peritoneal adhesion prevention: liquid or solid? A rat uterine horn model. Fertil Steril. 2006;86:1266-76.

143. Wiseman DM, Meidler R, Lyahovetsky Y, Kurman E, Horn S, Nur I. Evaluation of a fibrin preparation containing tranexamic acid (Adhexil) in a rabbit uterine horn model of adhesions with and without bleeding and in a model with two surgical loci. Fertil Steril. 2010;93:1045-51.

144. Yang B, Yang Gong C, Yong Qian Z, Zhao X, Yu Li Z, Tao Zhou S, Rong Qi X, Zhong Q, Luo F, Quan Wei Y. Prevention of abdominal adhesion formation by

thermosensitive PECE-hydrogel in a rat uterine horn model. J Biomed Mater Res Part B. 2011;96B:57-66.

145. Liu Y, Li H, Shu XZ, Gray SD, Prestwich GD. Crosslinked hyaluronan hydrogels containing mitomycin C reduce postoperative abdominal adhesions. Fertil Steril. 2005;83:1275-83.

146. Koçak I, Unlu C, Akçan Y, Yakin K. Reduction of adhesion formation with cross-linked hyaluronic acid after peritoneal surgery in rats. Fértil steril. 1999;72:873-8.

147. Marshburn PB, Meek JM, Gruber HE, Gordon BE, Norton JH, Hurst BS. Preoperative leuprolide acetate combined with Interceed* optimally reduces uterine adhesions and fibrosis in a rabbit model. Fertil Steril. 2004;81:194-7.

148. Liu Y, Shu XZ, Prestwich GD. Reduced postoperative intra-abdominal adhesions using carbylan-SX, a semisynthetic glycosaminoglycan hydrogel. Fertil Steril. 2007;87:940-8.

149. De Iaco PA, Muzzupapa G, Bigon E, Pressato D, Donà M, Pavesio A, Bovicelli L. Efficacy of a hyaluronan derivative gel in postsurgical adhesion prevention in the presence of inadequate hemostasis. Surgery. 2001;130:60-4.

150. Alponat A, Lakshminarasappa SR, Teh M, Rajnakova A, Moochhala S, Goh PMY, Chan STF. Effects of physical barriers in prevention of adhesions: An incisional hernia model in rats. J Surg Res. 1997;68:126-32

151. The Surgical Membrane Study Group. Prophylaxis of pelvic sidewall adhesions with Goretex surgical membrane: A multicenter clinical investigation. Fertil Steril. 1992;57:921- 3.

152. Lai HS, Chen Y, Chang KJ, Chen WJ. Effects of octreotide on epidermal growrh factor receptor, tissue plasminogen activator, and plasminogen activator inhibitor during intraperitoneal adhesion formation. J Gastroenterol. 2003;38:555-60.

153. Treutner KH, Bertram P, Lerch MM, Klimaszewski M, Petrovic-kallholm S, Sobesky J, Winkeltau G, Schumpelick V. Prevention of postoperative adhesions by single intraperitoneal medication. J Surg Res. 1995;59:764-71.

154. Muller SA, Treutner KH, Tietze L, Anurov M, Titkova S, Polivoda M, Oettinger AP, Schumpelick V. Efficacy of adhesion prevention and impact on wound healing of intraperitoneal phospholipids. J Surg Res. 2001;96:68-74

155. Rajab TK, Wallwiener CW, Brochhausen C, Hierlemann H, Kraemer B, Wallwiener M. Adhesion prophylaxis using a copolymer with rationally designed material properties. Surgery. 2009;145:196-201.

156. Rajab TK, Wallwiener M, Planck C, Brochhausen C, Kraemer B, Wallwiener CW. A direct comparison of seprafilm, adept, intercoat, and spraygel for adhesion prophylaxis. J Surg Res. 2010;161:246-9.

157. Trew G. Postoperative adhesions and their prevention. Rev Gynaecol Perinat Pract. 2006;6:47-56.

158. Watson A, Vandekerckhove P, Lilford R. Liquid and fluid agents for preventing adhesions after surgery for subfertility (Cochrane review). Cochrane Database Syst Rev. 2000;3:CD001298.

159. Metwally M, Watson A, Lilford R, Vandekerckhove P. Fluid and pharmacological agents for adhesion prevention after gynaecological surgery. JOGC. 2010;243:598-602.

160. Risberg B. Adhesions: preventive strategies. Eur J Surg. 1997; 577:32-9.

161. Irkorucu O, Ferahköşe Z, Memiş L, Ekinci O, Akin M. Reduction of postsurgical adhesions in a rat model: a comparative study. Clinics. 2009;64:143-8.

162. Coddington CC, Grow DR, Ahmed MS, Toner JP, Cook E, Diamond MP. Gonadotropin-releasing hormone agonist pretreatment did not decrease postoperative adhesion formation after abdominal myomectomy in a randomized control trial. Fertil Steril. 2009;91:1909-13.

163. Keckstein J, Ulrich U, Sasse V, Roth A, Tuttlies F, Karageorgieva E. Reduction of postoperative adhesion formation after laparoscopic ovarian cystectomy. Human Reproduction. 1996;11:579-82.

164. Marana R, Catalano GF, Caruana P, Margutti F, Muzii L, Mancuso S. Postoperative adhesion formation and reproductive outcome using Interceed after ovarian surgery: a randomized trial in the rabbit model. Hum Reprod 1997;12:1935-8

165. Sekiba K. Use of Interceed (TC7) absorbable adhesion barrier to reduce post-operative adhesion reformation in infertility and endometriosis surgery. The Obstetrics and Gynecology Adhesion Prevention Committee. Obstet Gynecol. 1992;79:518-22.

166. Azziz R. Microsurgery alone or with Interceed Absorbable Adhesion Barrier for pelvic sidewal adhesion re-formation. The Interceed (TC70 Adhesion Barrier Study Group II. Surg Gynecol Obstet. 1993;177:135-9.

167. Franklin RR. Reduction of ovarian adhesions by the use of Interceed. Ovarian Adhesion Study Group. Obstet Gynecol. 1995;86:335-40.

168. Mais V, Ajossa S, Marongiu D, Peiretti RF, Guerriero S, Melis GB. Reduction of adhesion reformation after laparoscopic endometriosis surgery: a randomized trial with na oxidized regenerated cellulose absorbable barrier. Obstet Gynecol. 1995;86:512-5.

169. Mais V, Ajossa S, Piras B, Guerriero S, Marongiu D, Melis G. Prevention of de-novo adhesion formation after laparoscopic miomectomy: a randomized trial to evaluate the effectiveness of an oxidized regenerated cellulose absorbable barrier. Hum Reprod. 1995;10:3133-5.

170. Sawada T, Nishizawa H, Nishio E, Kadowaki M. Postoperative adhesion prevention with na oxidized regenerated cellulose adhesion barrier in infertile women. J Reprod Med. 2000;45:387-9.

171. Ustun C, Koçak I, Akpolat I. Effects of seprafilmU (sodium hyaluranate-based bioresorbable), sepracoatu (0.4% hyaluronic acid), and ringer's lactate on tge prevention of postsurgical adhesion formation in rat models. J Obstet Gynecol. 2000;20:78-80.

172. Lee MW, Hung CL, Cheng JC, Wang YJ. A new anti-adhesion film synthesized from polygalacturonic acid with 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide crosslinker. Biomaterials 2005;26:3793-9.

173. Altuntas YE, Kement M, Oncel M, Sahip Y, Kaptanoglu L.The effectiveness of hyaluronan-carboxymethylcellulose membrane in different severity of adhesions observed at the time of relaparotomies: An experimental study on mice. Dis Colon Rectum. 2008; 51:1562-5.

174. Lim R, Morrill JM, Lynch RC, Reed KL, Gower AC, Leeman SE, Stucchi AF, Becker JM. Practical limitations of bioresorbable membranes in the prevention of intra-abdominal adhesions. J Gastrointest Surg. 2009;13:35-42.

175. Klingler PJ, Floch NR, Seelig MH, Branton SA, Wolfe JT, Metzger PP. Seprafilm® - Induced peritoneal inflammation: A previously unknown complication. Dis Colon Rectum. 1999;42:1639-43.

176. Beck DE, Cohen Z, Fleshman JW, Kaufman HS, van Goor H, Wolff BG. A prospective, randomized, multicenter, controlled study of the safety of Seprafilm® adhesion barrier in abdominopelvic surgery of the intestine. Dis Colon Rectum. 2003;46:1310-9.

177. van Oosterom FJ, van Lanschot JJ, Oosting J, Obertop H. Hyaluronic acid/carboxymethylcellulose membrane surrounding an intraperitoneal or subcutaneous jejunojejunostomy in rats. Eur J Surg. 2000;166:654-8.

178. Baca B, Boler DE, Onur E, Akca O, Hamzaoglu I, Karahasanoglu T, Erdamar S, Atukeren P, Dirican A.Icodextrin and Seprafilm® Do not interfere with colonic anastomosis in rats. Eur Surg Res. 2007;39:318-23.

179. Pelliciano M, Guida M, Bramante S, Acunzo G, Di Spiezio Sardo A, Tommaselli GA, Nappi C. Reproductive outcome after autocrosslinked hyaluronic acid gel application in infertile patientswho underwent laparoscopic myomectomy. Fertil Steril. 2005; 83:498-500.

180. Mais V, Bracco GL, Litta P, Gargiulo T, Melis GB. Reduction of postoperative adhesions with na auto-crosslinked hyaluronan gel in gynaecological laparoscopic surgery: a blinded, controlled, randomized, multicentre study. Hum Reprod. 2006;21:1248-54.

181. Pelliciano M, Bramante S, Cirillo D, Palomba S, Bifulco G, Zullo F, Nappi C. Effectiveness of autocrosslinked hyaluronic acid gel after laparoscopic myomectomy in infertile patients: a prospective, randomized, controlled study. Fertil Steril. 2003; 80:441-4.

182. Johns DB, Rodgers KE, Donahue WD, Kiorpes TC, diZerega GS. Reduction of adhesion formation by postoperative administration of ionically cross-linked hyaluronic acid. Fertil Steril. 1997;68:37-42.

183. Lundorff P, van Geldorp H, Tronstad SE, Lalos O, Larsson B, Johns DB, diZerega GS. Reduction of post-surgical adhesions with ferric hyaluronate gel: a European study. Human Reprod 2001;16:1982-8.

184. Tang CL, Jayne DG, Seow-Choen F, Ng YY, Eu KW, Mustapha N. A randomized controlled trial of 0.5% ferric hyaluronate gel (Intergel) in the prevention of adhesions following abdominal surgery. Ann Surg. 2006;243:449-55.

185. Johns DA, Ferland R. Initial feasibility study of a sprayable hydrogel adhesion barrier system in patients undergoing laparoscopic ovarian surgery. Fertil Steril. 2002;77:21-2.

186. Mettler L, Hucke J, Bojahr B, Tinneberg HR, Leyland N, Avelar R. A safety and efficacy study of a resorbable hydrogel for reduction of post-operative adhesions following myomectomy. Hum Reprod. 2008;23:1093-100.

187. Lundorff P, Donnez J, Korell M, Audebert AJ, Block K, diZerega GS. Clinical evaluation of a viscoelastic gel for reduction of adhesions following gynaecological surgery by laparoscopy in Europe. Hum Reprod. 2005;20:514-20

188. Hart R, Magos A. Laparoscopically instilled fluid: The rate of absorption and the effects on patient discomfort and fluid balance. Gynaecol Endosc. 1996;5:287-91.

189. Brown CB, Luciano AA, Martin D, Peers E, Scrimgeour A, diZerega GS. Adept (icodextrin 4% solution) reduces adhesions after laparoscopic surgery for adhesiolysis: a double-blind, randomized, controlled study. Fertil Steril. 2007;88:1413-26.

190. Ross P, Mayer R, Benziman M. Cellulose biosynthesis and function in bacteria. Microbiol Rev. 1991;55:35-58.

191. Romling U. Molecular biology of cellulose production in bacteria. Res Microbiol. 2002;153:205-12.

192. Vilar FO, Vasconcelos GB, Lima RFB, Lima SVC, Aguiar JL. Um novo material para tratamento da incontinência urinária: estudo em ratas. Acta Cir Bras. 2005; 20; 1: 319-22.

193. Massone F. Anestesiologia veterinária. Farmacologia e técnicas. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003. p316.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Bases de dados dos animais estudados

G	Data1	Data2	P1	P2	AD	Grau	AV Qual			AV Histológiga			AUTOCAD
							Ext	Tip	Tena	Fibrose	R. Inflam.	P. Vasc	
1	25/02/10	08/04/10	252,00	258,00	sim	2	4	2	2	2	1	1	1,41
1	25/02/10	08/04/10	258,00	266,00	sim	2	3	3	2	2	1	2	,56
1	25/02/10		242,00										
1	11/03/10	29/04/10	247,00	241,00	sim	3	4	4	3	1	2	2	1,38
1	11/03/10	29/04/10	242,00	245,00	sim	3	4	4	3	2	3	2	1,46
1	11/03/10	29/04/10	267,00	272,00	sim	1	1	1	1	2	1	2	,62
1	05/04/10	27/05/10	267,00	273,00	sim	1	1	2	1	1	1	1	,36
1	05/04/10	27/05/10	240,00	244,00	sim	3	4	4	3	1	1	2	1,40
1	05/04/10	27/05/10	234,00	250,00	sim	1	1	1	1	1	1	1	,81
1	15/04/10	27/05/10	248,00	261,00	sim	2	3	2	2	1	1	2	,65
1	15/04/10	27/05/10	258,00	248,00	sim	3	4	3	3	2	1	1	1,40
1	06/05/10	17/06/10	220,00	228,00	sim	2	3	3	3	2	1	2	,75
1	O6/05/10	17/06/10	305,00	305,00	sim	3	4	3	3	1	1	2	1,45
1	02/06/10	15/07/10	253,00	233,00	sim	3	3	3	3	2	2	2	,96
1	01/O7/10	12/08/10	292,00	281,00	sim	3	3	3	3	1	2	2	1,32
2	25/02/10	08/04/10	225,00	234,00	sim	2	3	2	2	2	1	2	,91
2	25/02/10	08/04/10	257,00	274,00	sim	1	1	1	1	2	2	2	,32
2	25/02/10	08/04/10	245,00	226,00	sim	2	2	2	2	2	2	2	,70
2	25/02/10	08/04/10	227,00	259,00	não					2	1	1	,00
2	25/02/10	08/04/10	239,00	241,00	não					2	2	2	,00
2	11/03/10	29/04/10	229,00	239,00	sim	1	1	1	1	2	1	2	,62
2	11/03/10	29/04/10	226,00	268,00	não					2	2	1	,00
2	11/03/10	29/04/10	308,00	315,00	não					2	1	1	,00
2	11/03/10	29/04/10	266,00	230,00	sim	2	2	3	2	2	2	2	,63
2	11/03/10	29/04/10	300,00	300,00	sim	2	2	2	2	2	2	2	,66
2	05/04/10	27/05/10	295,00	300,00	sim	1	1	1	1	1	1	2	,39
2	06/05/10	17/06/10	268,00	261,00	sim	1	1	1	1	2	1	2	,29
2	06/05/10	17/06/10	266,00	262,00	sim	1	1	2	1	2	3	2	,35
2	06/05/10	17/06/10	247,00	279,00	não					1	2	1	,00
2	06/05/10	17/06/10	360,00	320,00	sim	2	2	3	2	1	2	2	,74
3	25/02/10	08/04/10	228,00	241,00	não					1	1	1	,00
3	25/02/10	08/04/10	220,00	224,00	sim	1	1	1	1	2	1	2	,33
3	11/03/10	29/04/10	266,00	275,00	sim	2	2	2	2	2	2	2	,66
3	11/03/10	29/04/10	278,00	310,00	não					1	1	1	,00
3	05/04/10	27/05/10	220,00	261,00	sim	1	1	1	1	1	1	2	0.51
3	05/04/10	27/05/10	275,00	275,00	sim	2	2	2	2	1	3	2	,40
3	05/04/10	27/05/10	253,00	280,00	não					1	2	2	,00
3	15/04/10	27/05/10	261,00	264,00	sim	1	1	1	1	1	1	2	,29
3	15/04/10	27/05/10	306,00	320,00	sim	1	1	1	1	1	1	2	,31
3	15/04/10	27/05/10	271,00	300,00	não					2	3	1	,00
3	15/04/10	27/05/10	259,00	280,00	não					1	2	1	,00
3	15/04/10	27/05/10	249,00	300,00	sim	2	2	2	2	1	2	2	,66
3	15/04/10	27/05/10	256,00	280,00	não					1	1	1	,00
3	06/05/10	17/06/10	266,00	290,00	não					1	1	1	,00
3	19/08/10	24/09/10	285,00	300,00	não					1	2	1	,00

ANEXOS

Anexo A. Aprovação do Comitê de Ética

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br

Recife, 14 de dezembro de 2011.

Oficio nº 364/11

Da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE
Para:: **José Lamartine de Andrade Aguiar**
Departamento: Cirurgia / UFPE
Processo nº 23076.027396/2009-09

Os membros da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado*: "PREVENÇÃO DE ADERÊNCIAS UTERINAS COM GEL DE BIOPOLÍMERO DE CANA-DE-AÇUCAR EM RATAS."*

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

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 9.605 – art. 32 e Decreto 3.179-art 17, de 21/09/1999, que trata da questão do uso de animais para fins científicos.

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

Atenciosamente,

Observação: Origem dos animais: *Biotério do* Departamento de Nutrição da UFPE; Animais: Ratos, Linhagem: Wistar; Sexo: Fêmeas; Idade: adultas; Nº de Animais previsto no projeto: 45(quarenta e cinco) animais.

Profa. Maria Teresa Jansem
Presidente do CEEA
UFPE

CCB: Integrar para desenvolver

Anexo B. Artigo Original da Tese

Title: The effectiveness of sugarcane biopolymer gel in prevention of peritoneal adhesions in rat model.

Elísio Rodrigues Coelho Junior [a], José Lamartine de Andrade Aguiar [b], Laura Olinda Bregieiro Fernandes Costa [a], Arinaldo Vasconcelos de Alencar [a], Ana Paula Guimarães Barbosa [c]

[a] Centro Integrado de Saúde Amaury de Medeiros, Faculdade de Ciências Médicas de Pernambuco. Rua Visconde de Mamaguape, s/n, Encruzilhada, Recife-PE, Brasil. CEP:52030-010.

[b] Departamento de Cirurgia, CCS, Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, Recife-PE, Brasil. CEP: 50670-90.

[c] Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Instituto de Medicina Integral Prof. Fernandes Figueira. Rua dos Coelhos, 300, Boa Vista, Recife–PE, Brasil. CEP:50070-550.

Corresponding author: Elísio Coelho Junior

e-mail: elisiorcjr@globo.com

Fone/Fax: (81)34263249 / (81)99764431

ABSTRACT

Objectives: The aim of this study was to compare the effectiveness of Sugarcane biopolymer gel with oxidized regenerated cellulose (ORC) barrier in preventing postoperative peritoneal adhesion in rats.

Methods: Forty-five Wistar rats underwent a laparotomy, and adhesions were induced by uterine incision and suture. The animals were divided into 3 groups: group A, control – saline; group B, oxidized regenerated cellulose barrier; and group C, sugarcane biopolymer gel. After 45 days, the adhesions were classified.

Results: Compared with the control group, the treatments with gel and oxidized regenerated cellulose barrier resulted in a smaller number of adhesions(p=0.002 and p=0.0421 on Fisher's exact test, respectively). The odds ratio to show that the likelihood of animals treated with oxidized regenerated cellulose barrier and sugarcane biopolymer gel developing adhesions classified as type 2 or 3 was 86.4% and 93.2% less respectively than those receiving saline. Histological examination showed that the animals in Group C, 80%, had presented fibrosis minimal, while 80% of those in group B presented moderate fibrosis, and there was no difference in Group A between the minimal and moderate classifications. The inflammatory reaction and vascular proliferation, no statistically significant relation was found.

Conclusions: The sugarcane biopolymer gel is as effective as oxidized regenerated cellulose absorbable barrier preventing postoperative adhesions in rats.

Key words: Adhesion; anti-adhesion; hydrogel; biofilm and cellulose.

INTRODUCTION

Acute mechanical or thermal tissue damage in the peritoneal cavity resulting from surgical procedures frequently gives rise to the formation of adhesions [1-4]. Intra-abdominal adhesions may occur in 60-90% of higher complexity gynecological procedures [5], causing pelvic pain, obstruction of the intestines and infertility [6-9]. Gynecological procedures are the second most common cause of adhesions in patients with obstruction of the small intestine (22%), second only to colorectal procedures (24%) [10].

The mechanical separation of the peritoneal surfaces of the pelvic organs plays an important part in the post-operative scarring process and in reducing the possibility of future adhesions [11-14]. The introduction of liquid barriers [15--19] or solid barriers [14, 20-28] is used to prevent post-operative adhesions. However, the formation of adhesions continues to pose a great challenge and is a major cause of morbidity [6-10]. The development of alternative biodegradable physical barriers to control the formation of adhesions is of great importance in gynecological surgery [29].

The sugarcane molasses biopolymer, a biocompatible extracellular polysaccharide obtained by biotechnological synthesis through the action of the Zoogloea sp is a viable option for the development of products anti-adhesion.

Sugarcane biopolymer films have been used with satisfactory results in various areas of experimental surgery, such as the in the scarring of cutaneous wounds [30], reconstruction of the urethra [31], treatment of urinary incontinence using a *sling* [32], treatment of vesicouretral reflux [33], dressing after hypospadias surgery [34], dressing for treatment of perforations of the er-drum [35], vascular graft [36-37], surgical correction of musculoaponeurotic failure [38], correction of osteochondral defects [39]. The reports regarding the biocompatibilty and biointegration of the biopolymer have generated interest in studying the activity of this product as a sealant of peritoneal lesions as a way of preventing adhesions following gynecological surgery.

The aim of this study is to evaluate the protection effect of the sugarcane biopolymer gel against the formation of adhesions, fibrosis and inflammatory reactions in the intra-abdominals structures and a surgical wound on the uterine

cornua of rats, comparing the results with the use of oxidized regenerated cellulose absorbable barrier and NaCl 0.9%

MATERIALS AND METHODS

Forty-five adult, non-pregnant, healthy female Wistar rats (*Rattus norvegicus albinus*), with a mean age of 180 days (220-360 g) were acquired from the Nutrition Department's farm, Universidade Federal de Pernambuco and housed for acclimatizing and experiments in the Experimental Surgery Unit at acclimatized temperature, free from noise and stress, respecting the cycles of night and day with standard food and water ad libitum. This research was approved by the Committee for Bioethics in Animal Experimentation of the Universidade Federal de Pernambuco, without restrictions (Process n □. 23076.027396/2009-09).

The surgical procedure was carried out under anesthesia with the intramuscular application of a solution comprising ketamine chloral hydrate (5mg/100g of weight of animal) and xylazine chloral hydrate (2mg/100g of weight of animal). Intramuscular atropine sulfate was used as a pre-anesthetic (0.44mg/kg). The animals were randomly allocated to three groups of 15 animals each for surgical intervention and the suture line of the uterus was covered with saline (GroupA), oxidized regenerated cellulose (ORC) barrier (GroupB) or sugarcane biopolymer gel (GroupC).

The biopolymer gel was produced by POLISA® and incubated by the Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Sterilization was carried out using gamma radiation (γ). All the gel samples were from the same lot.

Surgical procedures: induction of adhesions and re-evaluation

The cornua of the uterus were exposed by way of longitudinal medial incision and a 1.5 cm linear incision was made with a monopolar electrocautery (30 W intensity 4), on the anterior surface of the left cornu, after bifurcation. The hemorrhage points were coagulated and the incision closed with continuous stitches using Prolene 7-0. The wound was then covered with saline, oxidized regenerated cellulose barrier or biopolymer, by group.

The abdominal wall was closed using a continuous prolene 5.0 fascia sutures and the skin with Nylon 5.0 thread (Mononylon®). Antibiotic prophylaxis was not provided and the animals were checked daily for complications.

On the 45th day after surgery, the rats were anesthetized in the same way and a U-shaped abdominal incision was used to approach the peritoneal cavity to investigate the formation and intensity of adhesions. The peritoneal cavity was photographed using a Sony® DSC - s650 camera fixed at a standard distance for later analysis of the extent of site-specific adhesions using AutoCAD. The operated segment of the uterus was then removed for histological analysis. The animals were euthanized by intracardiac administration of a lethal dose of sodium thiopental.

Adhesion Score

The adhesion score was graded according to the qualitative numeric system developed by Wallwiener et al. from 0 (absent) to 3 (very severe), where 0 and 1 represent adhesions that are not clinically significant, while grade 2 and 3 adhesions may give rise to obstruction of the intestines [24].

A further evaluation was carried out using the multidimensional adhesion score system described by The Surgical Membrane Study Group, which involves a five-point scale: 0 no adhesions; 1 = less than 25%; 2 = 25% - 49%, 3 = 50% - 74%, 4 = 75% - 100%. A four-point scale was used to evaluate the type of adhesion and a three-point scale to evaluate the tenacity of the adhesions, involving qualitative evaluation (severity of the adhesions). Type: 0 = no adhesion; 1= film-like, transparent, avascular adhesion; 2 = translucent, opaque avascular; 3 = opaque, capillaries present; and 4 = opaque, large vessels present. Tenacity: 0 = no adhesions; 1 = adhesions easily separated; 2 = adhesions smoothed by traction; and 3 = adhesions involving difficult_dissection. The total score for these three criteria gives a possible score for the multidimensional adhesion score system ranging from 0 to 11 points [40].

Quantitative evaluation—the extent of adhesions limited to the suture line in the uterus—was carried out using CAD – AutoCAD – computer aided design, created and sold by Autodesk.

Histological Evaluation

The segment of the uterus removed was fixed in 10% formaldehyde for histological examination. Histological slices of four micrometers were colored with hematoxylin and eosin and Masson's trichrome for study under a microscope.

The histological preparations were evaluated using a modified semi-quantitative scale of 0-3, the extent of fibrosis, the inflammatory reaction and vascular proliferation. The extent of fibrosis was measured using the following scale: 0, no fibrosis; 1, minimal, slight fibrosis; 2, moderate fibrosis; and 3, dense florid fibrosis, and the inflammatory reaction using the scale: 0 = no inflammation; 1 = presence of occasional giant cells and lymphocytes and plasma cells; 2 = the presence of giant cells, eosinophil and neutrophil plasma cells; and 3 = the presence of many inflammatory cells and micro-abscesses, and vascular proliferation according to the scale: 1 = slight vascular proliferation; 2 = moderate vascular proliferation; and 3 = severe vascular proliferation [41].

Statistical Analysis

Descriptive statistics were calculated, including means, standard deviations, medians and intervals, maxima and minima, for quantitative variables and frequency distributions for qualitative variables. The normality of the variables was confirmed using the Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk tests.

Pearson's chi-squared test was used to compare the groups for the qualitative variables and residual analysis was used in the case of tables larger than 2x2.

Comparison between the groups for quantitative variables was carried out using a parametric (ANOVA) and non-parametric (Kruskal-Wallis) method, as applicable. In the case of statistically significant differences, multiple comparisons were carried out using *Tamhane´s T2* test.

The data were input into MSOffice Excel Version 2010 and statistical procedures were carried out using SPSSfor Windows Version 18.0 - Statistical Package for the Social Sciences. The level of significance was taken to be 5%.

RESULTS

The animals responded well to the surgical procedure and the application of saline, oxidized regenerated cellulose barrier and biopolymer gel. One of the 45 rats

(from the saline group – Group A) died immediately after surgery, probably due to anesthesiological complications.

The number and proportion of cases of adhesion in the three groups A,B and C are summarized in Table 1.

The severity of adhesion in the three groups, measured using the numerical score system is given in Table 2, grouping together scores 0 and 1, no adhesion and insignificant adhesion, and scores 2 and 3, severe and very severe adhesion.

A comparison of the presence of adhesions using the multidimensional adhesion score system and residual analysis is shown in Table 3.

Tables 3 and 4 show that the biopolymer gel and oxidized regenerated cellulose barrier groups have lower means than the saline group ($p<0.001$ for both). No significant difference was found between the biopolymer gel and oxidized regenerated cellulose barrier groups ($p=0.487$) (Figure 1).

The extent of adhesions, calculated using AutoCAD is shown in Table5 and Figure 2.

The histological evaluation is shown in Table 6.

DISCUSSION

The exposure of the peritoneal serous membrane in tissue damaged during surgery is the main cause of the formation of adhesions. The application of mechanical barriers composed of solid and liquid materials has helped to reduce the occurrence of adhesions [28, 42-43]. Interceed®, oxidized regenerated cellulose absorbable barrier, is the material most commonly used by gynecologists to prevent adhesions [20-22, 27-28, 44].

Biopolymer gel from sugarcane molasses, an exopolysaccharide, is water-based, biocompatible and of low toxicity [45], which can be used as a mechanical barrier to counter the formation of intraperitoneal adhesions, similar to gels based on hyaluronic acid [23, 46-47] and polyethylene glycol [15]. In Group C, animals that were treated with biopolymer gel exhibited a lower percentage of adhesion compared with Group B treated with oxidized regenerated cellulose barrier (46.7% vs. 66.7%, respectively) (Table 1), as well as better results for other parameters (Tables 2-8 and Figure 1-2)**,** although there was no statistical difference between them ($p=0.4621$, Fisher's Test). On the other hand, both these groups showed a highly statistically

significant difference in relation to Group A – saline (p=0.0421 and 0.002, respectively, Fisher's Test, Table 1). Used as a peritoneal lubricant, forming an interface between manipulated tissues, biopolymer gel is easy to use and has some advantages compared to membranes in general, as do other liquid barriers [9, 15, 48-52]. The use of gels as a barrier has been shown to be superior to the insertion of solid elements and this has been confirmed by a comparative study involving membranes and hyaluronic acid gel in the prevention of adhesions in cases of cecum abrasion [51].

In this experimental model, extensive dense adhesions were effectively induced in Group A –saline and, in some cases, the uterine cornu completely adhered to the parietal peritoneum. Adhesions of all degrees of severity (0-3) were observed. The Odds Ratio showed that the likelihood of an animal receiving treatment with sugarcane biopolymer gel (Group C) developing adhesions classified as grade 2 or 3 is 93.2% lower than that of an animal receiving saline. In the case of animals receiving treatment with oxidized regenerated cellulose barrier (Group B), the likelihood is 86.4% lower (Table 2).

It should be pointed out that deep submesotelial hemorrhage may prolong the duration of inflammation and delay the deposit of collagen [52]**,** and the suture, associated with vascular trauma [53]. The cauterization sites may contain necrotic tissue, granulation and inflammation (PMN), without fibroblasts and with the formation of collagen slowing scarring, as described previously [52]. A study that compared the formation of adhesions after damage to both the visceral and parietal peritoneum showed the greater potential for the formation of adhesions in visceral lesions [24]. We thus chose a model involving visceral incision of the uterine cornu using electro-cautery and a suture as a way of investigating the effect of biopolymer gel as a barrier. It was shown that the formation of adhesions was significantly greater in Group A – saline, thereby confirming the surgical technique in isolation didn't has a significant effect in reducing post-operative adhesions [42, 54]. The absorption capacity of the peritoneal surface explains the fact that solutions involving the intraperitoneal barrier should be visco-elastic with a similar osmolarity to plasma [11, 17, 55]. The biopolymer gel is a hydrogel with high viscosity made up of a 1% solid fraction of biopolymer in water. In the present study, oxidized regenerated cellulose absorbable barrier – was easily applied, adhered spontaneously to the

damaged tissue surface and, compared to Group A –saline reduced the formation of adhesions (Tables 1-6 and Figure 1-2). Previous publications have shown that oxidized regenerated cellulose absorbable barrier - Interceed®, in combination with a good surgical technique prevented severe adhesions in 61% of cases and was twice as effective as surgery without the use of anti-adhesion agents [21] and, in laparoscopic ovarian surgery, resulted in patients being free of adhesions in 47% vs. 25% of cases, without the application of this barrier [22] Interceed® is the only anti-adhesion barrier that has been proved to reduce the degree of severity in a randomized clinical study [44]. In controlled clinical studies, and meta-analyses the anti-adhesive effect of Interceed®, after open and laparoscopic surgery has been shown both for the first manifestation and recurrence of adhesions [20-22, 28]. However, Wiseman has shown, in an animal model, that Interceed® can migrate and does not remain in the area of laparoscopic application, therefore losing the desired effect [54]. Furthermore, full hemostasis is necessary prior to the application of Interceed®, since the blood filtering into the tissue fibers cancels out the benefits [56], as a result of the deposit of fibrin, causing the formation of adhesions [57]. In the present study, meticulous hemostasis was carried out prior to the insertion of oxidized regenerated cellulose absorbable barrier. The biopolymer gel group had the smallest number of animals with adhesions, although there was no statistically significant difference. oxidized regenerated cellulose barrier is difficult to apply to extensive lesions and is of limited use, given its high cost. Anti-adhesion gels provide greater flexibility regarding the application technique [58-59], allowing more accurate positioning, with uniform distribution adapting to the geometry of the tissues, thereby facilitating its use, especially in areas that are difficult to access, such as the smaller pelvis, especially during laparoscopic surgery, in contrast to the membrane, which requires much more technical ability [60].The gel can also be pulverized and the surgeon does not have to deal directly with intraperitoneal structures, thereby minimizing the additional risks of trauma and reducing surgery time.

The present study used a multidimensional score system in combination with the percentage of results free of adhesions, and the type, tenacity and extent of adhesions [40, 61] to determine the severity of adhesions according to the score.The methodology showed that the formation of adhesions was significantly lower in animals treated with gel compared to those treated with saline. These results are

comparable to those of a previous study, which used the same score to investigate the results of the use of a hydrogel based on hyaluronic acid and carboximethyl cellulose [62]. Using residual analysis, it was possible to identify that, in the physiological serum group, there was a lower incidence of animals scoring 0 and a higher incidence of those scoring 8, 9, 10 and 11. In the biopolymer gel group, on the other hand, there was a higher incidence of animals scoring 0. The oxidized regenerated cellulose barrier group did not exhibit any statistically differences in relation to the other groups, either for better or worse (Table 3). The animals in the biopolymer gel, group C presented with adhesions classified as less severe and with lower scores than those in the groups A and B, but mainly in relation to the saline, group A. The comparison of the severity of adhesions, using qualitative parameters, type and resilience between the groups was consistent with the comparison regarding the extent of adhesion (Tables 2-5).

The measurement of the extent of adhesion in combination with the type and resilience allowed the multidimensional score to be rapidly applied to *in situ* evaluation, based on morphology. The limitations of this evaluation mainly derived from the nature of the adhesions and difficulties experienced in measuring and quantifying them, which caused the score system to be subject to intra- and inter-observer variation. Although definitions have been drawn up for the incidence, severity and extent of adhesion and these are used in this study, this entails a degree of subjectivity that cannot be eliminated, as described in the literature [63].

In order to reduce the limitations relating to subjective evaluation of the adhesion score system, a quantitative site-specific evaluation of the extent of adhesion in the traumatized area was employed, using Auto-CAD. Specific CAD software was used to draw a graph showing the values for the extent of adhesions in each group (Table 5). These values show that the mean value for the extent of adhesion was highest in Group A –saline, with 1.0379 cm^3, and lowest in Group C – biopolymer gel, with 0,2107 cm^3 and this difference was statistically significant ($p < 0.05$). In the case of Group B - oxidized regenerated cellulose barrier, the mean value for the extent of adhesions was 0.3740cm^3. Although there were such differences between the three groups, comparison of the means two-by-two, using *Tamhane's* T2 test, revealed that there was a significant difference between the means for Groups A and B and those for Groups A and C. Although there was a

smaller area of adhesion in Group C – biopolymer gel, there was no statistically significant difference between the means for Groups B and C (p=0.353).

Histological evaluation (Table 6) showed that there was a relation between fibrosis and the treatment groups. In the case of inflammatory reaction and vascular proliferation, see Table 5, there was no statistically significant difference between these groups (p=0.426 and 0.446, respectively. It was seen that the gel did not induce specific inflammatory reactions, causing a lower fibrotic response compared to the non-treatment and oxidized regenerated cellulose barrier groups. The effectiveness of the gel may be due to the various particularities of this material, especially its high tolerance and prolonged persistence during scarring.

The results justify the conclusion that sugarcane biopolymer gel may be an alternative way of preventing adhesions. Biopolymer gel stays in the peritoneum for an adequate length of time *in vivo,* and is made up of sugars and glycuronic acid, and does not trigger immunogenicity [45]. Other devices based on sugarcane polymer have already been shown to be effective in other areas of medicine in experimental studies involving animals [30-38]. The gel can be molded into different shapes to fit different spaces in specific clinical situations. This versatility gives it excellent reach both on smooth and convex tissue surfaces, using with gel dispersants or flexible films, enabling it to be used in a wide variety of surgical scenarios.

CONCLUSION

Based on the experiments conducted, the methods used and the results found with a level of significance of 95%, it can be concluded that sugarcane biopolymer gel is effective as a bio-re-absorbable anti-adhesive and is capable of preventing post-operative peritoneal adhesions and is therefore worth submitting to clinical evaluation.

CONFLICT OF INTEREST

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

REFERENCES

1. Al-jaroudi D, Tulandi T. Adhesion prevention in gynecologic surgery. Obstet Gynecol Surv 2004;59:360-7.

2. Boland GM, Weigel RJ. Formation and prevention of postoperative abdominal adhesions. J Surg Res 2006;132:3-12.
3. Ellis H. The clinical significance of adhesions: Focus on intestinal obstruction. Eur J Surg Suppl 1997;577:5-9.
4. Imudia AN, Kumar S, Saed GM, Diamond MP. Pathogenesis of intra-abdominal and pelvic adhesion development. Semin Reprod Med 2008;26:289-97.
5. Monk JB, Berman ML, Montz FJ. Adhesions after extensive gynaecologic surgery: clinical significance, etiology, and prevention. Am J Obstet Gynecol 1994;170:1396-403.
6. Cheong YC, Laird SM, Li TC, Shelton JB, Ledger WL, Cooke LD. Peritoneal healing and adhesion formation/reformation. Hum Reprod Update 2001;7:556-66.
7. Rajad TK, Wallwiener M, Talukdar S, Kraemer B. Adhesion-related complications are common, but rarely discussed in preoperative consent: a multicenter study. World J Surg 2009;33(4):748-50.
8. Wallwiener M, Brucker S, Hierlemann H, Brochhausen C, Solomayer E, Wallwiener C. Innovative barriers for peritoneal adhesion prevention: liquid or solid? A rat uterine horn model. Fertil Steril 2006;86(Suppl 3):1266-76.
9. Wei CZ, Hou CL, Gu QS, Jiang LX, Zhu B, Sheng AL. A thermosensitive chitosan-based hydrogel barrier for post-operative adhesions' prevention. Biomaterials. 2009 Oct;30(29):5534-40
10. Miller G, Boman J, Shrier I, Gordon P. Natural history of patients with adhesive small bowel obstruction. Br J Surg 2000;87:1240-7.
11. Hellebrekers BW, Trimbos-Kemper GC, van Blitterswijk CA, Bakkum EA, Trimbos JBMZ. Effects of five different barrier materials on postsurgical adhesion formation in the rat. Hum Reprod 2000;15:1358-63.
12. Gomel V, Urman B, Gurgan T. Pathophysiology of adhesion formation and strategies for prevention. J Reprod Med 1996;41:35-41.
13. Tulandi T. Prevention of adhesion formation: the journey continues. Hum Reprod Update 2001;7:545-6.
14. Al-Musawi D, Thompson JN. Adhesion prevention: state of the art. Gynaecol Endosc 2001;10:123.
15. Mettler L, Audebert A, Lehmann-Willenbrock E, Schive K, Jacobs VR. Prospective clinical trial of SprayGel as a barrier to adhesion formation: an interim analysis. J Am Assoc Gynecol Laparosc 2003;10:339-44.
16. Ferland R, Mulani D, Campbell PK. Evaluation of a sprayable polyethylene glycol adhesion barrier in a porcine efficacy model. Hum Reprod 2001;16(12):2718-23.

17. Johns A. Evidence-based prevention of post-operative adhesions. Hum Reprod Update 2001;7:577-9.
18. Menzies D, Hildago Pascual M, et al. Use of icodextrin 4% solution in the prevention of adhesion formation following general surgery: from the multicentre ARIEL registry. Ann Roy Coll Surg Engl 2006;88:375-82.
19. Sutton C, Minelli L, Garcia E et al. Use of icodextrina 4% solution in the reduction of adhesion formation after gynaecological surgery. Gynecol Surg 2005;2:287-96
20. Sekiba K. Use of Interceed (TC7) absorbable adhesion barrier to reduce post-operative adhesion reformation in infertility and endometriosis surgery. The Obstetrics and Gynecology Adhesion Prevention Committee. Obstet Gynecol 1992;79:518-22.
21. Azziz R. Microsurgery alone or with INTERCEED Absorbable Adhesion Barrier for pelvic sidewal adhesion re-formation. The INTERCEED (TC70 Adhesion Barrier Study Group II. Surg Gynecol Obstet 1993;177:135-9.
22. Franklin RR. Reduction of ovarian adhesions by the use of Interceed. Ovarian Adhesion Study Group. Obstet Gynecol 1995;86:335-40.
23. Mais V, Bracco GL, Litta P, Gargiulo T, Melis GB. Reduction of postoperative adhesions with na auto-crosslinked hyaluronan gel in gynaecological laparoscopic surgery: a blinded, controlled, randomized, multicentre study. Hum Reprod. 2006;21:1248-54.
24. Wallwiener D, Meyer A, Basten G. Adhesion formation of the parietal and visceral peritoneum: an explanation for the controversy on the use of the autologous and alloplastic barriers? Fertil Steril 1998;68:132-7.
25. Mais V, Ajossa S, Piras B, et al. Prevention of de-novo adhesion formation after laparoscopic miomectomy: a randomized trial to evaluate the effectiveness of an oxidized regenerated cellulose absorbable barrier. Hum Reprod 1995;10:3133-5.
26. Mais V, Ajossa S, Marongiu D, et al. Reduction of adhesion reformation after laparoscopic endometriosis surgery: a randomized trial with na oxidized regenerated cellulose absorbable barrier. Obstet gynecol 1995;86:512-5.
27. Farquhar C, Vandekerckhove P, Watson A, Vail A, Wiseman D. Barrier agents for preventing adhesions after surgery for subfertility. Cochrane Database Syst Rev (2). Art No: CD. 2000.
28. Ahmad G, Duffy JM, Farquhar C, et al. Barrier agents for adhesion prevention after gynaecological surgery. The Cochrane Library, 2009 (1). Cochrane Database Syst Rev 2010;10:CD000475.
29. Kayaoglu AH, Ozkan N, Hazinedaroglu S, Ersoy OF, Koseoglu RD. An assessment of the effects of two types of bioresorbable barriers to prevent postoperative intra-abdominal adhesions in rats. Surg Today 2005;35:946-50.

30. Coelho MCOC, Carrazoni PG, Monteiro VLC, Melo FAD, Mota R, Tenório Filho F. Biopolímero Produzido a Partir de Cana de Açúcar para Cicatrização Cutânea. Acta Cirur Bras. 2002; 17(1): 1-7.
31. Chagas HM; Aguiar JLA; Andrade RT; Montoro M; Vilar FO; Lima SVC. Uretroplastia com biopolímero da cana-de-açúcar em cão. International Brazilian Journal of Urology. Rio de Janeiro, v.32, suppl.2, p.65, jun. 2006.
32. Goncalves R; Rangel AEO; Duarte JA; Andrade R; Vilar FO; Aguiar JL; Araujo LA; Lima SV. Bio-Sling no tratamento da incontinência urinária de esforço: estudo experimental e primeiros ensaios clínicos. Annals International Brazilian Journal of Urology, Rio de Janeiro, v.32, suppl. 2, p. 41,jun. 2006.
33. Rangel AEO; Aguiar JLA; Lima SVC; Araujo FC; Vilar FO; Pires JAC; et al. A new biomaterial for the treatment of vesicouretral: experimental study. Annals International Brazilian Journal of Urology. Rio de Janeiro, v.32, suppl.2, p.184, Jun. 2006.
34. Lima SVC; Aguiar JLA; Araujo LAP; Machado M; Andrade RT; Lima RS; et al. A new dressing for hypospadias surgery. International Brazilian Journal of Urology, Rio de Janeiro, v.32, suppl.2, p. 189, jun. 2006.
35. Silva DB, Aguiar JLA, Marques A, Coelho ARB, Rolim Filho EL. Meringoplastia com enxerto livre de membrana de biopolímero de cana-de-açúcar e fáscia autóloga em *Chinchilla laniger.* An Fac Med Univ Fed Pernamb 2006; 51:45-51.
36. Barros-Marques SR, Marques-Lins E, de Albuquerque MC, de Andrade-Aguiar JL. Sugarcane biopolymer patch in femoral vein angioplasty on dogs. J Vasc Surg. 2012 Feb;55(2):517-21.
37. Aguiar J; Lins EM; Marques SR; Coelho ARB, Rossiter RO; Melo RJV. Sugarcane biopolymer patch in femoral artery angioplasty in dogs. Acta Cirúrgica Brasileira, São Paulo, v.22, supl.1, p.77-81, 2007.
38. Falcão SC, Coelho ARB, Evêncio J. Avaliação biomecânica de membranas de celulose microbiana (*Zoogloea sp.*) e de politetrafluoretileno expandido como implantes no reparo de defeitos produzidos na parede abdominal em ratos. Acta Cirúrgica Brasileira 2008;23(2):184-91.
39. Albuquerque PCVC, Aguiar JLA, Santos SM et al. Estudo comparativo das áreas de defeitos osteocondrais produzidas nos côndilos femorais de coelhos tratados com gel de biopolímero de cana. Acta Cirúrgica Brasileira 2011;26(5):383-6 .
40. The Surgical Membrane Study Group. Prophylaxis of pelvic sidewall adhesions with Goretex surgical membrane: A multicenter clinical investigation. Fertil Steril 1992;57:921- 3.
41. Irkorucu O, Ferahkose Z, Memis L et al. Reduction of postsurgical adhesions in a rat model: a comparative study. Clinics 2009;64:143-8.

42. Metwally M, Watson A, Lilford R et al. Fluid and pharmacological agents for adhesion prevention after gynaecological surgery. 2010 Cochrane Database Syst Rev CD001298
43. Kumar S, Wong PF, Leaper DJ. Intra-peritoneal prophylactic agents for preventing adhesions and adhesive intestinal obstruction after non-gynaecological abdominal surgery. Cochrane Database Syst Rev. 2010;10:CD005080.
44. Sawada T, Nishizawa H, Nishio E et al. Postoperative adhesion prevention with an oxidized regenerated cellulose adhesion barrier in infertile women. J Reprod Med 2000;45:387-9.
45. Peterson-Beedle M, Kennedy JF, Melo FAD, Lloyd LL, Medeiros V. A cellulosic exopolysaccharide produced from sugarcane molasses by Zoogloea sp. Carbohydrate Polymers 2000; 42: 375-83
46. Pelliciano M, Bramante S, Cirillo D, Palomba S, Bifulco G, Zullo F, Nappi C. Effectiveness of autocrosslinked hyaluronic acid gel after laparoscopic myomectomy in infertile patients: a prospective, randomized, controlled study. Fertil Steril 2003; 80:441-4
47. Pelliciano M, Guida M, Bramante S, Acunzo G, Di Spiezio Sardo A, Tommaselli GA, Nappi C. Reproductive outcome after autocrosslinked hyaluronic acid gel application in infertile patientswho underwent laparoscopic myomectomy. Fertil Steril 2005; 83:498-500.
48. diZerega GS, Verco SJ, Young P et al. A randomized, controlled pilot study of the safety and efficacy of 4% icodextrin solution in the reduction of adhesions following laparoscopic gynaecological surgery. Hum Reprod. 2002;17:1031-8.
49. Lundorff P, Donnez J, Korell M et al. Clinical evaluation of a viscoelastic gel for reduction of adhesions following gynaecological surgery by laparoscopy in Europe. Hum Reprod. 2005;20:514-20.
50. Koçak I, Unlu C, Akçan Y, Yakin K. Reduction of adhesion formation with cross-linked hyaluronic acid after peritoneal surgery in rats. Fértil steril. 1999;72:873-8.
51. Liu Y, Li H, Shu XZ, Gray SD, Prestwich GD. Crosslinked hyaluronan hydrogels containing mitomycin C reduce postoperative abdominal adhesions. Fertil Steril 2005;83 Suppl 1:1275-83.
52. Bellina JH, Hemmings R, Voros JI, Ross LF. Carbon dioxide laser and electrosurgical wound study with an animal model: A comparison of tissue damage and healing patterns in peritoneal tissue. Am J Obstet Gynecol 1984;148:327-34.
53. Matsuda S, Se N, Iwata H, Ikada Y. Evaluation of the antiadhesion potential of UV cross-linked gelatin films in a rat abdominal model. Biomaterials 2002;23:2901-8.
54. Wiseman DM, Trout JR, Diamond MP. The rates of adhesion development and the effects of crystalloid solutions on adhesion development in pelvic surgery. Fertil Steril. 1998;70:702— 11.

55. Hart R, Magos A. Laparoscopicaly instilled fluid: a rate of absorption and the effects on patient discomfort and fluid balance. Gynecol Endosc 1996;5:287-91.
56. Wiseman DM, Trout JR, Franklin RR, Diamond MP. Metaanalysis of the safety and efficacy of an adhesion barrier (Interceed TC7) in laparotomy. J Reprod Med 1999;44:325-31.
57. Ito T, Yeo Y, Highley CB et al. The prevention of peritoneal adhesions by in situ cross-linking hydrogels of hyaluronic acid and cellulose derivatives. Biomaterials 2007;28:975-83.
58. Zhang Z, Ni J, Chen L, Yu L, Xu J, Ding J. Biodegradable and thermoreversible PCLA-PEG-PCLA hydrogel as a barrier for prevention of post-operative adhesion. Biomaterials. 2011 Jul;32(21):4725-36
59. De Cherney AH, diZerega GS. Clinical problem of intraperitoneal postsurgical adhesion formation following general surgery and the use of adhesion prevention barriers. Surg Clin North Am 1997;77:671-88.
60. Lim R, Morrill JM, Lynch RC et al., Practical limitations of bioresorbable membranes in the prevention of intra-abdominal adhesions. J Gastrointest Surg 2009;13:35-42.
61. Belluco C, Meggiolaro F, Pressato D, Pavesio A, Bigon E, Dona M, Forlin M, Nitti D, Lise M. Prevention of postsurgical adhesions with an autocrosslinked hyaluronan derivative gel. J Surg Res 2001;100:217-21.
62. Leach RE, Burns JW, Dawe EJ, Smithbarbour MD, Diamond MP. Reduction of postsurgical adhesion formation in the rabbit uterine horn model with use of hyaluronate / carboxymethylcellulose gel. Fertil Steril 1998;69(3):415-8.
63. Demirturk F, Aytan H, Caliskan AC. Comparison of the adhesion scoring systems used in animal models and assessment of interobserver reproducibility. Aust NZ J Obstet Gynaecol 2006;46:356-9.

Figure1 – Confidence Interval of 95% for Means of Multidimensional Adhesion Score for Groups A, B and C.

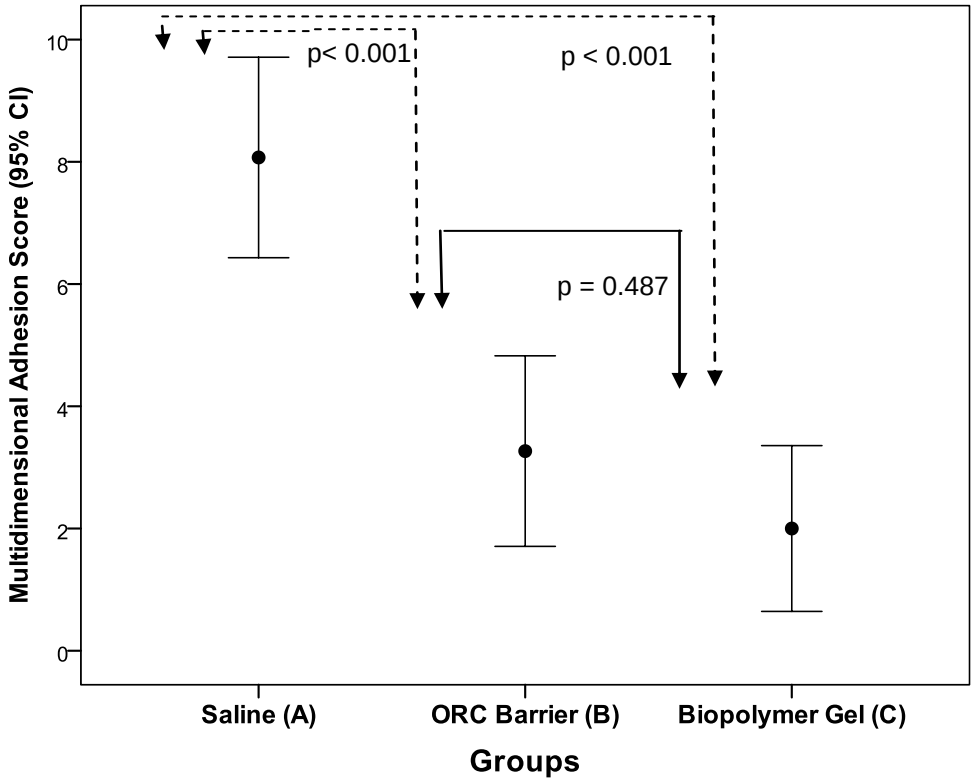


Figure 2 - 95% Confidence Interval for Means for Extent of Adhesion in grups A, B and C

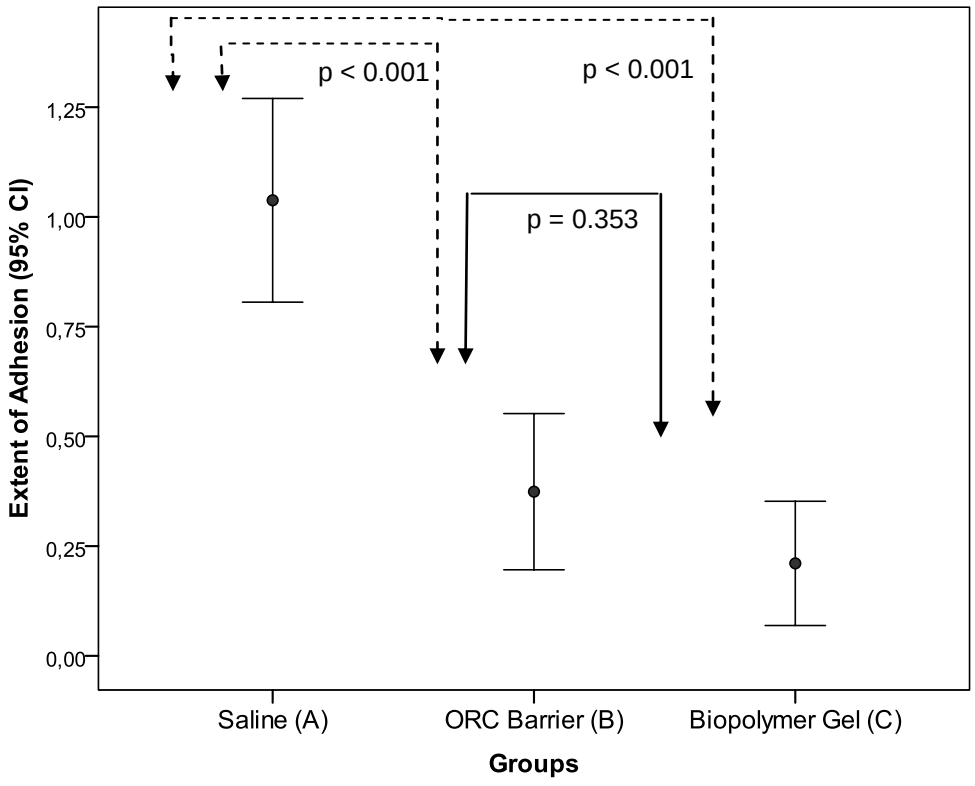


Table 1 – Absolute Number and Proportion of Cases of Adhesion in Groups A, B and C.

GROUP	Adhesion	
	N	%
Saline (A)	14/14	100.0
ORC Barrier (B)	10/15[a]	66.7
Biopolymer Gel (C)	7/15[a,b]	46.7

[a]p<0.05 *vs* saline control group;

[b]p>0.05 *vs*. ORC Barrier group

Table 2 –Severity of adhesion in Groups A, B and C according to the numerical adhesion score system, and O.R. for presence of adhesions in relation to Group A.

GROUP	Severity of Adhesion				O.R.[c] (CI 95%)	p-value
	2 – 3		0 - 1			
	N	%	N	%		
A –Saline	11	78.60	3	12.0	1.0	
B – ORC Barrier	5[a]	33.33	10	40.0	0.136 (0.03 – 0.72)	0.019
C –Biopolymer Gel	3[a,b]	20.00	12	48.0	0.068 (0.01 – 0.41)	0.003
Total	19	100	25	100	-	-

[a] p<0.05 *vs* saline control group;

[b] p>0.05 *vs* ORC Barrier group

[c] Odds Ratio

Table 3–Classification of site site-specific adhesion in terms of percentage of occurrence

Score	GROUP								
	A –Saline			B – ORC Barrier			C –Biopolymer Gel		
	N	%	Adjusted Residues	N	%	Adjusted Residues	N	%	AdjustedResidues
0	0	0,0	-2,9	5	33,3	0,4	8	53,3	2,5
3	2	14.3	-0.9	4	26.7	0.4	4	26.7	.4
4	1	7.1	0.6	1	6.7	0.5	0	0.0	-1.0
6	0	0.0	-1.6	2	13.3	0.3	3	20.0	1.3
7	1	7.1	-0.3	3	20.0	1.8	0	0.0	-1.5
8	2	14.3	2.1	0	0.0	-1.0	0	0.0	-1.0
9	3	21.4	2.6	0	0.0	-1.3	0	0.0	-1.3
10	2	14.3	2.1	0	0.0	-1.0	0	0.0	-1.0
11	3	21.4	2.6	0	0.0	-1.3	0	0.0	-1.3
Total	**14**	**100**		**15**	**100**		**15**	**100**	

Table 4 – Descriptive Statistics Relating to the Multidimensional Adhesion Score for Groups A, B and C.

GROUP	Mean	Standard Deviation	Minimum	Maximum	p-value (Kruskal-Wallis)
A –Saline	8.07	2.84	3	11	
B – ORC Barrier	3.27	2.82	0	7	< 0.001
C –Biopolymer Gel	2.00	2.45	0	6	

Table 5 – Descriptive statistics for the extent of adhesions in each group, in cm^3 measured using AutoCAD.

Groups	N	Mean	Standard Deviation	Minimum	Maximum	p-value (ANOVA)
A – Saline	14	1.0379	0.40185	0.36	1.46	
B – ORC Barrier	15	0.3740	0.32133	0.00	0.91	0.001
C –Biopolymer Gel	15	0.2107	0.25561	0.00	0.66	

Table 6 – Distribution of Fibrosis, inflammatory reaction and vascular proliferation in A, B and C Groups.

histological evaluation	A – Saline		B – ORC Barrier		C –Biopolymer Gel		p-value (chi-squared)
	N	%	N	%	N	%	
Fibrosis							
None	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0.011
Minimal	7	50.0	3	20.0	12	80.0	
Moderate	7	50.0	12	80.0	3	20.0	
Denseflorid	0	0.0	0	0.0	0	0.0	
Inflammatory Reaction							
None	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0.426
Presence of giant cells, occasional lymphocytes and plasma cellsticas	10	71.4	6	40.0	8	53.3	
Presence of giant cells, plasmatic cellseonsinophils and neutrophils e neutrófilos	3	21.4	8	53.3	5	33.3	
Presence of many inflammatory cells and micro-abscesses	1	7.2	1	6.7	2	13.3	
Vascular Proliferation							
None	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0.446
Slight Vascular Proliferation	4	28.6%	4	26.67%	7	46.67%	
Moderate Vascular Proliferation	10	71.4%	11	73.33%	8	53.33%	
Severe Vascular Proliferation	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	