

LEANDRO HENRIQUE DE MESQUITA TAVARES



**Esponja do biopolímero de cana-de-açúcar
no tratamento de trauma renal extenso
induzido em coelhos**

**RECIFE/PE
2012**

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

LEANDRO HENRIQUE DE MESQUITA TAVARES

**Esponja do biopolímero de cana-de-açúcar
no tratamento de trauma renal extenso
induzido em coelhos**

Dissertação 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 Mestre em Cirurgia.

Orientador

Dr. Salvador Vilar Correia Lima

Prof. Associado do Depto. de Cirurgia, CCS-UFPE

Linha de Pesquisa

Biopolímero da cana-de-açúcar

**RECIFE/PE
2012**

Catálogo na Publicação (CIP)
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

A231e Tavares, Leandro Henrique de Mesquita.
Esponja do biopolímero de cana-de-açúcar no tratamento de trauma renal extenso induzido em coelhos / Leandro Henrique de Mesquita Tavares. – Recife: O autor, 2012.
57 f.: il.; tab., gráf., 30 cm.

Orientador: Dr. Salvador Vilar Correia Lima.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Cirurgia, 2012.
Inclui bibliografia, apêndices e anexos.

1. Trauma renal. 2. Biopolímero da cana-de-açúcar. 3. Hemostasia cirúrgica. 4. Implantes absorvíveis. 5. Materiais biocompatíveis. 6. Polissacarídeo celulósico. I. Lima, Salvador Vilar Correia. (Orientador). II. Título.

617.91 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2012-209)

"ESPONJA DE BIOPOLÍMERO DA CANA-DE AÇÚCAR NO TRATAMENTO DO TRAUMA RENAL EXTENSO INDUZIDO EM COELHOS".

LEANDRO HENRIQUE DE MESQUITA TAVARES

APROVADA EM: 22/08/2012

ORIENTADOR INTERNO: **SALVADOR VILAR CORREIA LIMA**

COMISSÃO EXAMINADORA:

~~PROF. DR. JOSÉ LAMARTINE DE ANDRADE AGUIAR -- CCS/UFPE~~

~~PROF. DR. FÁBIO DE OLIVEIRA VILAR -- CCS/UFPE~~

~~PROF. DR. ESDRAS MARQUES LINS -- CCS/UFPE~~



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

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. Nicodemos Teles de Pontes Filho

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

Dedico esta Tese

*Dedico esse manuscrito à minha esposa,
amiga e companheira **Simone de Figueiredo Tavares**
e aos meus amados filhos **Leonardo e Letícia Tavares**,
que estiveram ao meu lado todo esse tempo e me deram
o alicerce e a força necessárias para
a elaboração desta tese.*

*Aos meus pais **Mário Tavares** e
Maria do Carmo Tavares, por todo
apoio dedicado durante todos estes anos.*

Agradecimentos

Ao **Prof. Dr. Salvador Vilar Correia Lima**, meu orientador, por sua dedicação, incentivo profissional, confiança e entusiasmo com a pesquisa com o biopolímero de cana-de-açúcar.

Ao **Prof. Dr. José Lamartine de Aguiar**, pela paciência, compromisso com o ensino e inestimável colaboração nesta pesquisa.

Ao **Prof. Dr. Alexandre Rolim**, pela ajuda e análise competente da histologia.

Ao **Prof. Dr. Renato Câmara**, pelas sugestões e pela gentil recepção no Núcleo de Cirurgia Experimental do CCS-UFPE, local de realização deste estudo.

À **Dra. Adriana Ferreira Cruz**, médica veterinária do Núcleo de Cirurgia Experimental, por sua valiosa colaboração em participar de todas as fases dos experimentos.

Às técnicas de enfermagem do Núcleo de Cirurgia Experimental, **Maria de Lourdes Cordeiro da Silva** e **Maria Auxiliadora Farias da Silva**, pela boa vontade e esmero no preparo do material cirúrgico.

Ao funcionário **Paulo Antônio Barbosa** do Núcleo de Cirurgia Experimental, pelos cuidados na manutenção da higiene e alimentação dos coelhos.

Ao estudante de medicina **Beda Barkokebas**, pelo seu comprometimento e indispensável ajuda nos experimentos.

À **Isabella**, secretária do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia, pela atenção aos alunos do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da UFPE.

Às irmãs **Márcia** e **Mércia Virgínio**, pela formatação e confecção desta tese.

Ao Professor **João Aginaldo**, pela consultoria estatística.

A **todas as pessoas** que contribuíram direta ou indiretamente na confecção deste manuscrito.

Resumo

Introdução: A reconstrução do parênquima renal requer, em algumas situações, uma técnica cirúrgica mais complexa e delicada. O trauma renal de alto grau e as nefrectomias parciais para remoção de tumores malignos induzem a uma reconstrução renal de difícil execução e possuem um potencial elevado para causar perda completa do órgão. A utilização de substâncias auxiliares na reconstrução renal, tais como: selantes biológicos e hemostáticos têm fundamental importância para a sua preservação. **OBJETIVO:** Avaliar o efeito hemostático e selante da esponja do biopolímero da cana-de-açúcar em trauma renal de alto grau induzido em coelhos. **MÉTODOS:** Foi realizado um estudo experimental, prospectivo e pareado, com vinte e quatro unidades renais de doze coelhos da linhagem California. Após indução de trauma renal bilateral e de alto grau (lesão da via coletora), utilizamos, para a reconstrução e hemostasia do parênquima renal direito, a esponja do biopolímero da cana-de-açúcar, e à esquerda, foi utilizada a esponja de Surgifoam®. Nos dois lados, foi realizada uma sutura com fio de poliglactina 4/0 sobre as esponjas. Desta forma, cada coelho se tornou controle de si mesmo. Durante o procedimento cirúrgico, foram avaliados: o tempo cirúrgico total, o tempo para hemostasia e o grau de perda sanguínea. Os animais foram sacrificados após quatro semanas, sendo os rins retirados e encaminhados para a análise histológica. Foi avaliada a presença de fístulas, urinoma, hematomas e aderências aos órgãos adjacentes no momento da nefrectomia. A análise histológica observou o grau de inflamação e fibrose, assim como presença de necrose. **RESULTADOS:** Em relação ao tamanho dos rins, não houve diferença estatística entre os grupos ($p=0,058$), o que configura uma homogeneidade entre eles. Da mesma forma, o tempo para hemostasia foi similar ($p=0,195$) e a perda sanguínea ($p=0,480$). Por outro lado, foi notada uma maior incidência de aderências aos órgãos adjacentes no grupo do BCPA, assim como, uma maior intensidade da resposta inflamatória a corpo estranho ($p=0,004$). Todavia, sem influência nos resultados finais. Não foi evidenciada a ocorrência de hemorragia maciça, formação de hematomas, abscessos, fístulas ou cálculos em nenhuma das unidades renais. A presença de fibrose e necrose foi semelhante nos dois grupos do ponto de vista estatístico ($p=0,500$ e $0,414$, respectivamente). **CONCLUSÃO:** A esponja do biopolímero da cana-de-açúcar demonstrou eficácia em relação ao controle hemostático e selante sobre o parênquima renal de coelhos, sem causar complicações importantes. Futuros estudos podem direcionar seu uso rotineiro na prática urológica.

Palavras-chave: Trauma renal. Hemostasia cirúrgica. Implantes absorvíveis. Materiais biocompatíveis. Biopolímero da cana-de-açúcar.

Abstract

Introduction: The reconstruction of the renal parenchyma requires, in some situations, a surgical technique more complex and delicate. The high grade renal trauma and partial nephrectomy for removal of malignant tumors induce a kidney reconstruction difficult to implement and have a high potential to cause complete loss of the organ. The use of auxiliary substances in renal reconstruction, such as biological sealants and hemostatic are of enormous value to their preservation. **Objective:** To evaluate the effect of sealant and hemostatic sponge biopolymer of sugarcane in high grade renal trauma induced in rabbits. **Methods:** We conducted an experimental study, prospective, matched, with twenty-four renal units of twelve rabbits from California lineage. After induction of bilateral renal trauma and high-grade lesions, it was used for the reconstruction of right renal parenchymal, the biopolymer sponge of cane sugar, and in left kidney, we used the sponge Surgifoam®. On both sides, we performed a suture with polyglactin 4/0 on the sponges. Thus, each rabbit has control of himself. During surgery, we evaluated the total surgical time, time to hemostasis and the degree of blood loss. The animals were sacrificed after four weeks, and the kidneys removed and sent for histological analysis. We evaluated the presence of fistula, urinoma, hematoma, and adhesions to adjacent organs at the time of nephrectomy. Histological analysis showed the degree of inflammation and fibrosis, as well as necrosis. **Results:** In relation to the size of the kidneys, there was no statistical difference between groups ($p = 0.058$), which is one commonality between them. Similarly, time to hemostasis was similar ($p = 0.195$) and blood loss ($p = 0.480$). Moreover, it was noted an increased incidence of adhesions to adjacent organs in BCPA group, as well as a greater inflammatory response to foreign bodies ($p = 0.004$). However, no influence on final results. There was no evidence the occurrence of massive bleeding, hematomas, abscesses, fistulas, or in any calculations of renal units. The presence of fibrosis and necrosis was similar in both groups a statistically ($p = 0.500$ and 0.414 , respectively). **Conclusion:** The biopolymer sponge of sugarcane has shown efficacy in the hemostatic control and sealant on the renal cortex of rabbits, without causing major complications. Future studies may direct its routine use in urologic practice.

Keywords: Renal trauma. Surgical hemostasis. Absorbable implants. Biocompatible materials. Biopolymer of cane sugar.

Lista de Ilustrações

Figura 1	Classificação das Lesões Renais	05
Figura 2	Intraoperatório – Abertura Abdominal	14
Figura 3	Intraoperatório – Coelho Anestesiado	14
Figura 4	Esponja de biopolímero de cana-de-açúcar	16
Figura 5	Boa Cicatrização do parênquima – BPCA	21
Figura 6	Boa Cicatrização do parênquima – Surgifoam®	21
Figura 7	Aderências ao mesentério	21
Figura 8	Aderências ao intestino delgado	22
Figura 9	Aderências ao mesentério 2	22
Gráfico 1	Peso médio dos rins ($p=0.058$)	23
Gráfico 2	Tempo Médio para Hemostasia em segundos ($p=0.195$)	23
Gráfico 3	Incidência da perda de sangue por grupo experimental e controle	24
Figura 10	Reação inflamatória do tipo corpo estranho com células gigantes multinucleadas (setas) fagocitando material exógeno	25
Gráfico 4	Grau de Reação Inflamatória entre os Grupos ($p = 0.004$)	25
Figura 11	Reação de corpo estranho 1+/3+	26
Figura 12	Reação de corpo estranho 3+/3+	26
Figura 13	Infiltrado inflamatório contendo linfócitos (setas) e neutrófilos	26
Gráfico 5	Incidência da Reação Inflamatória por grupo Experimental e Controle	27
Figura 14	Fibrose 2+/3+	28
Figura 15	Fibrose 3+/3+	28
Figura 16	Coloração de <i>Picrosirius</i> (vermelho) ressaltando a deposição de colágeno	28
Figura 17	Coloração de <i>Picrosirius</i> (vermelho) ressaltando a deposição de colágeno entre os túbulos renais (setas)	29
Figura 18	Coloração de Tricrômico de Masson ressaltando a deposição de colágeno (azul) entre os túbulos renais (setas)	29

Gráfico 6	Incidência da Fibrose por grupo Experimental e Controle ($p=0,500$)	30
Gráfico 7	Incidência de Necrose em cada Grupo ($p=0.414$)	30
Figura 19	Tecido necrótico permeado por células inflamatórias (setas)	31
Figura 20	Necrose coagulativa	31

Lista de Tabelas

Tabela 1	Medidas descritivas por Grupo e sua comparação pelo teste de Wilcoxon.....	22
Tabela 2	Perda de sangue por Grupo e sua comparação pelo teste de Wilcoxon.....	24
Tabela 3	Reação inflamatória por Grupo e sua comparação pelo teste de Wilcoxon.....	24
Tabela 4	Fibrose por Grupo e sua comparação pelo teste de McNemar	27
Tabela 5	Necrose por Grupo e sua comparação pelo teste de McNemar.....	30

Lista de Abreviaturas e Siglas

BPCA	biopolímero de cana-de-açúcar
CCR	carcinoma de células renais
CEAA	Comitê de Ética em Experimentação Animal
DSC	colorimetria diferencial exploratória
e-PTFE	enxerto politetrafluoroetileno
FDA	<i>Food Drug Administration</i>
HE	hematoxilina e eosina
NCE	Núcleo de Cirurgia Experimental
PIV	pielografia endovenosa
PVP	Polivinilpirrolidona
TC	tomografia computadorizada
TCH	tomografia computadorizada helicoidal
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
USG	Ultrassonografia

Sumário

1. INTRODUÇÃO	15
1.1 Conceituação dos biopolímeros	15
1.2 O trauma renal	15
1.3 Objetivos	16
1.3.1 Geral	16
1.3.2 Específicos	16
2. REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1 Reconstrução do parênquima e preservação renal	17
2.2 O trauma renal	17
2.3 Neoplasia renal	20
2.4 Técnicas de reconstrução renal	22
2.4.1 Sutura simples	22
2.4.2 Os biopolímeros	23
3. MATERIAIS E MÉTODOS	26
3.1 População e local do estudo	26
3.2 Escolha do animal e modelo experimental.	26
3.3 Escolha do material controle	26
3.4 Distribuição dos grupos	26
3.5 Procedimentos	27
3.5.1 Preparo pré-operatório	27
3.5.2 Anestesia	27
3.5.3 Técnica cirúrgica	28
3.5.4 Avaliação cirúrgica	29
3.5.5 Descrição do material utilizado na confecção do enxerto	29
3.5.6 Confecção do biopolímero	30
3.5.7 Sacrifício	31
3.5.8 Confecção das lâminas	31
3.5.9 Histoquímica	31
3.5.10 Análise histológica	32
3.6 Análise estatística	32

3.7 Considerações éticas	33
4. RESULTADOS	34
4.1 Avaliação pós-operatória dos animais	34
4.2 Aspecto macroscópico quatro semanas após o uso da esponja BPCA	34
4.3 Resultados estatísticos	36
5. DISCUSSÃO	46
5.1 Utilização de biopolímero de cana-de-açúcar	46
5.2 Reconstrução do parênquima renal	49
6. CONCLUSÕES	53
REFERÊNCIAS	54
APÊNDICE	61
APÊNDICE A – Artigo enviado para revista	61
ANEXO	71
ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa	71



1.1 Conceituação dos biopolímeros

Os biopolímeros são macromoléculas de alto peso molecular, formados pela repetição de unidades fundamentais, monômeros unidos numa sequência e produzidos por várias espécies de sistemas biológicos^{1,2}. O biopolímero de cana-de-açúcar é um polissacarídeo extracelular obtido por síntese bacteriana, a partir de melaço de cana-de-açúcar, desenvolvido no laboratório de Microbiologia Industrial da Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina / Universidade Rural de Pernambuco, a partir de 1990².

A primeira referência da aplicação do biopolímero como material biocompatível ocorreu em estudo experimental, quando foram utilizadas membranas de biopolímero *in natura*, como curativos para o tratamento de feridas acidentais em cães³.

1.2 A necessidade de reconstrução no trauma renal

O traumatismo renal representa cerca de 8 a 10% dos traumas abdominais. Noventa por cento dos casos são traumas fechados e dez por cento traumas penetrantes, com contusões renais ou lacerações do parênquima, devido a ferimentos por arma branca ou armas de fogo. Embora os traumatismos penetrantes sejam responsáveis por apenas 10% dos ferimentos renais, geralmente são mais graves e eventualmente necessitam de exploração cirúrgica⁴.

A conduta conservadora é adotada na maioria dos casos, cerca de 98%, praticamente em todos os casos grau I, II e III, e alguns casos grau IV e, muito raramente no grau V⁴.

As indicações absolutas de exploração cirúrgica de trauma renal são instabilidade hemodinâmica, com sangramento que ameaça a vida do paciente, hematoma perirrenal pulsátil ou em expansão e sangramento persistente⁴.

Com o objetivo de aumentar o índice de preservação renal, devido às possíveis dificuldades encontradas para reconstrução tecidual simples, durante uma cirurgia no trauma, o uso de agentes hemostáticos, tais como o Gelfoam[®],

Surgicell[®], Tacho Sil[®] ou o Surgifoam[®] podem ser necessários e têm uma alta eficácia, tendo, dessa forma, um papel cada vez maior na correção das lesões do trato urinário⁵.

Com base nos dados de citotoxicidade, biocompatibilidade e das características física e química do biopolímero da cana-de-açúcar⁶⁻⁸ uma esponja de biopolímero de cana-de-açúcar foi utilizada como uma alternativa para hemostasia de lesões renais traumáticas em coelhos.

1.3 Objetivos

Os objetivos deste trabalho estão divididos da seguinte forma:

1.3.1 Geral

- ❖ Avaliar o efeito hemostático e selante da esponja do biopolímero da cana-de-açúcar em trauma renal de alto grau induzido em coelhos.

1.3.2 Específicos

- ❖ Comparar a resposta inflamatória tecidual do hospedeiro ao biopolímero e ao material controle, quantificando a fibrose e a necrose tecidual;
- ❖ Identificar complicações agudas, tais como: formação de abscessos hematomas e fístulas decorrentes da utilização do biomaterial.

REVISÃO DA LITERATURA



2.1 Reconstrução do parênquima e preservação renal

A reconstrução do parênquima renal tem fundamental importância para a cirurgia urológica moderna, pois, está havendo um aumento na incidência de traumatismos externos, considerando que as lesões traumáticas já ocupam uma posição de destaque nacional e internacionalmente dentre os problemas de saúde mais frequentes. Nos Estados Unidos, os traumas representam uma de cada quatorze mortes, mais de 150.000 por ano são vítimas do trauma⁹.

Os princípios cirúrgicos para a reconstrução renal após trauma ou nefrectomia parcial incluem a exposição renal completa, as medidas de controle vascular temporário, desbridamento de tecido não viável, hemostasia por ligação de sutura individual de sangramento ativos, síntese do sistema coletor, uso de fios e materiais absorvíveis e, se possível, reaproximação da lesão no parênquima e judicioso uso de drenos¹⁰.

Além das lesões traumáticas, uma outra situação bastante comum nos dias atuais é a necessidade de reconstrução renal após nefrectomia parcial para retirada de neoplasias renais de pequeno volume, isto é, menores do que quatro centímetros¹¹.

Dependendo da sua localização, as massas renais, apesar de pequenas, podem criar uma dificuldade técnica importante para a reconstrução do parênquima renal, levando, em alguns casos, à perda do órgão¹².

2.2 O trauma renal

O rim é o terceiro órgão mais lesado no trauma abdominal, na grande maioria das vezes seguindo trauma fechado, que em 90% dos casos são contusões renais ou lacerações do parênquima menores que 1cm. Embora os traumatismos penetrantes sejam responsáveis por apenas 10% dos ferimentos renais, geralmente são mais graves e necessitam de exploração cirúrgica. As lesões do pedículo renal estão associadas a traumas com forte desaceleração. São comuns, os traumas renais durante a infância, devido à posição mais baixa do órgão nesta idade, e pela

menor proteção da gordura perirrenal, que ainda não está bem desenvolvida. Rins com alterações anatômicas, tais como: grande dilatação da pelve renal, múltiplos cistos e tumores ou rins em ferradura têm maior facilidade em sofrer traumatismos¹³.

A importância do trauma renal deve-se a sua significativa morbimortalidade, quando associadas a lacerações no parênquima renal e a lesões renovasculares. A conduta inapropriada e a falta de profissional especializado podem colocar em risco a vida do paciente ou ainda acarretar um número elevado e indesejado de nefrectomias¹⁴.

Hematúria está presente na maioria dos pacientes com trauma renal, embora até 50% dos pacientes com lesão do pedículo renal ou da junção ureteropélvica possam não apresentá-la. A intensidade da hematúria não está correlacionada com a gravidade do traumatismo. Dor lombar, massa ou equimoses em flancos e fratura de costelas são outros sinais e sintomas que podem ocorrer na apresentação do trauma renal. A presença de choque e hematúria em vítima de trauma fechado, identifica um grupo de alto risco, com probabilidade de 21 a 25% de grandes lacerações ou lesões vasculares¹³.

O método de escolha para a investigação do trauma renal é a tomografia computadorizada (TC) helicoidal, com contraste. Se não houver disponibilidade de realização da TC, o exame de escolha passa a ser a urografia excretora. Em pacientes instáveis e com indicação cirúrgica, pode-se realizar a pielografia endovenosa (PIV) na sala de cirurgia. No entanto, a exploração renal é preferida à realização da PIV, em pacientes com indicação cirúrgica para diagnóstico de lesões renais¹⁵.

De acordo com a Associação Americana de Cirurgia do Trauma, as lesões renais são classificadas em: grau I - contusões, escoriações e hematomas subcapsulares com cápsula renal intacta; grau II - pequenas lacerações do parênquima estendendo-se para o córtex superficial, não envolvendo a medula ou o sistema coletor; grau III - grandes lacerações do parênquima estendendo-se através do córtex e da medula renal, mas não envolvendo o sistema coletor; grau IV - grandes lacerações do parênquima estendendo-se para o córtex e da medula renal atingindo o sistema coletor, bem como qualquer lesão vascular de vasos segmentares, com hemorragia contida localmente; e grau V - múltiplas e profundas lacerações do parênquima, estendendo-se para o córtex e a medula renal e para o

sistema coletor, bem como lesão vascular ou avulsão dos vasos principais, causando extensa hemorragia ou trombose dos vasos principais¹³.

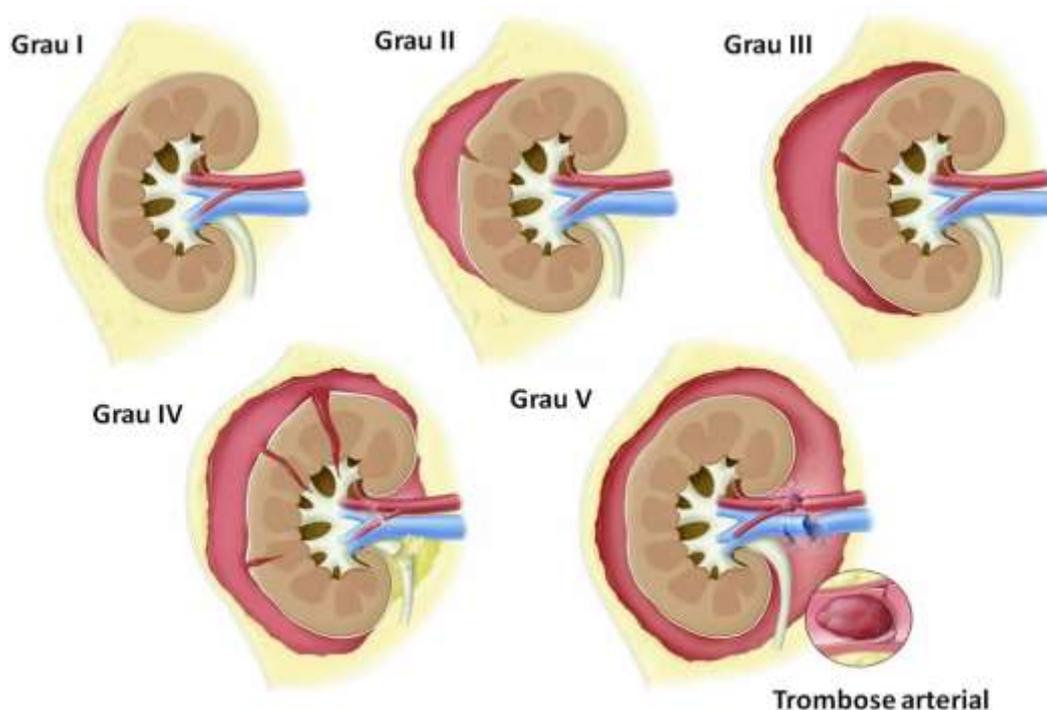


Figura 1. Classificação das Lesões Renais (Adaptado)¹³

O tratamento do trauma renal é conservador em 98% dos casos (praticamente todos os casos grau I, II e III, e alguns casos grau IV e V). O tratamento conservador deve incluir internação em unidade de terapia intensiva, repouso e acompanhamento clínico e exames de imagem, quando indicados. Arteriografia com embolização é uma nova abordagem, minimamente invasiva que pode ser utilizada em casos de sangramento arterial na fase aguda da lesão e no sangramento tardio. As indicações absolutas de exploração cirúrgica de trauma renal são instabilidade hemodinâmica, hematoma perirrenal pulsátil ou em expansão e sangramento persistente¹³.

Para que consigamos aumentar o índice de preservação renal, o uso de agentes hemostáticos, tais como o Gelfoam[®], Surgicell[®], Tacho Sil[®] ou o Surgifoam[®], podem ser necessários e têm uma alta eficácia, tendo, dessa forma, um papel cada vez maior na correção das lesões do trato urinário. Alguns pesquisadores utilizaram inclusive o Hem-O-Lock[®] para auxiliar a correta reconstrução e hemostasia no trato urinário^{16,17}.

Com base na experiência da cirurgia poupadora de néfrons, em tumores renais pequenos, até uma matriz de gelatina foi aplicada em modelo experimental de trauma renal complexo em porcos e foi demonstrada que a perda sanguínea total foi significativamente menor do que o tratamento convencional com suturas apenas¹⁸.

2.3 Neoplasia renal

O câncer renal parenquimatoso em adultos corresponde a aproximadamente 2% a 3% de todas as neoplasias malignas, acometendo anualmente 30.000 Norte-Americanos e matando cerca de 12.000 pessoas ao ano nos Estados Unidos^{19,20}.

O câncer renal tem uma incidência duas vezes maior em homens, sendo mais prevalente dos 50 os 70 anos. Pode ter incidência esporádica, ou estar associado a fatores genético/hereditários (como a doença de Von-Hippel-Lindau e o carcinoma renal hereditário), insuficiência renal crônica em hemodiálise e esclerose tuberosa, situações onde apresenta incidência aumentada^{21,22}.

O carcinoma de células renais (CCR) representa algo em torno de 95% de todos os tumores do rim. Sua incidência continua aumentando sobremaneira, em especial nas áreas industrializadas, mesmo não se conhecendo os motivos reais, parece que esse aumento decorre da melhora nas técnicas diagnósticas de imagem, assim como por razões ambientais, o tabagismo e a dieta²³.

Atualmente, até 50% dos carcinomas renais são achados incidentais em pacientes assintomáticos que estão geralmente realizando exames de rotina. O que confere a denominação de o “tumor do radiologista”. Os sinais e sintomas mais comuns são hematúria, dor lombar ou no flanco e massa palpável (chamada de a Tríade Clássica do Câncer Renal), associados ou não a outros menos específicos, como emagrecimento, febre, sudorese noturna, hipertensão e varicocele^{24,25}.

A ultrassonografia (USG) é o método de imagem mais comumente empregado para rastreamento de doenças renais. O principal papel da USG consiste em detectar lesões parenquimatosas focais e classificá-las em três categorias: definitivamente um cisto simples, definitivamente um nódulo sólido ou indeterminada (cística, porém não um cisto simples). Cistos simples, com paredes finas e conteúdo anecóico, são considerados benignos, não sendo necessário nenhum seguimento ou exame complementar para afastar neoplasia²⁶.

A tomografia computadorizada helicoidal (TCH) com contraste, em virtude de sua capacidade de acessar a densidade tecidual e vascularização de massas renais, possibilita a diferenciação entre cistos e nódulos sólidos, além de estadiar e auxiliar na programação cirúrgica de tumores²⁷.

Tendo em vista que muitas lesões císticas renais não preenchem os critérios de um cisto simples, e também não são francamente sólidas, foi proposta uma classificação tomográfica dos cistos renais, idealizada por Bosniak, que vai desde o tipo I ao tipo IV, de acordo com as características tomográficas das lesões e a consequente probabilidade de neoplasia maligna²⁸⁻³⁰.

Os carcinomas de células renais sólidos apresentam aspecto tomográfico variado, dependendo de sua vascularização, tipo histológico, padrão de crescimento e aspecto macroscópico. Todos apresentam algum grau de realce pelo meio de contraste, o que os diferencia de cistos simples. No entanto, sabe-se que pequenos cistos simples (menores que 1 cm) podem apresentar pseudo-realce pelo contraste devido a artefatos técnicos inerentes ao método, e, portanto, apenas realces pós-contraste superiores a 15UH devem ser considerados como positivos para lesão sólida. Em caso de dúvida, complementação com USG ou ressonância magnética (RM) é indicada³¹⁻³³.

As indicações mais precisas para a nefrectomia parcial laparoscópica (NPL) são os tumores menores do que 4cm, com sua maior parte exofítica em relação ao parênquima renal e aqueles localizados no pólo inferior, que geralmente permitem a realização da cirurgia sem pinçamento do pedículo renal. Quando houver necessidade de pinçamento do pedículo, faz-se necessária a adoção de medidas para a preservação da função renal, tais como o uso de manitol e o controle do tempo de isquemia quente, o qual não deverá ultrapassar 30 minutos. Os tumores profundos e os dos seios renais, que necessitam pinçamento do pedículo renal por mais de 30 minutos, deverão ser tratados com a associação de hipotermia renal e por cirurgião laparoscopista experiente^{34,35}.

Numa revisão sistemática que abrangeu um total de 2.935 tumores, houve uma significativa associação entre malignidade e o volume tumoral, ou seja, quanto menor a massa renal, maior a probabilidade de lesão benigna, maior chance de histologia papilar e menor o grau histológico. No mesmo trabalho, 30% dos tumores menores que 4 cm eram benignos. Quando o diagnóstico foi de carcinoma renal, 87% eram de baixo grau³⁶.

Finalmente, o tamanho do tumor apresenta estreita relação com seu prognóstico. A taxa de sobrevivência livre de doença em tumores menores que 4cm após nefrectomia parcial ou radical é entre 95% e 100%³⁷.

As complicações mais comuns da nefrectomia parcial são: fístulas (7,4%), necrose tubular aguda, com necessidade de diálise temporária (6,3%) ou definitiva (4,9%) e sangramento (1,9%)³⁸.

Entretanto, as cirurgias usadas para extirpação dessas lesões renais podem deixar sequelas irreversíveis e danosas ao órgão, podendo, inclusive, levar a perda total do rim. Após as nefrectomias parciais, em alguns casos, precisaremos lançar mão de métodos de reconstrução do parênquima que proporcionem principalmente: hemostasia, coaptação dos bordos e fechamento do sistema coletor de forma hermética.

2.4 Técnicas de reconstrução renal

As principais técnicas cirúrgicas utilizadas na reconstrução renal são:

2.4.1 Sutura simples

Desde os primórdios da cirurgia urológica renal, os princípios básicos que norteiam a sua reconstrução incluem a exposição renal completa, o controle vascular, o desbridamento do tecido não viável, a hemostasia por sutura simples do parênquima com fios absorvíveis e a implantação de drenos externos¹⁰.

Todavia a técnica clássica de sutura simples sabidamente causa uma maior perda de tecido renal viável, o que promove formação de escaras e, em última análise, perda de função renal e potencial de desenvolvimento de hipertensão arterial sistêmica. Estes riscos em potencial geram a necessidade de aprimoramento nas técnicas e nos materiais usados para se obter uma reconstrução renal com perfeita manutenção de sua função³⁹.

Nesta linha de pesquisa e na tentativa de preservar cada vez mais as unidades renais acometidas de traumas ou neoplasias, estudos prévios têm utilizado técnicas mais apuradas e o uso de diversas substâncias auxiliares na reconstrução, tais como: hemostáticos⁴⁰, e selantes⁴¹, ou telas dos mais diversos materiais¹⁶.

Portanto, devido à sua importância, faz-se mister o desenvolvimento de novos produtos mais ou tão eficazes quanto os atuais e, se possível, com menor custo. É o que se propõem os biopolímeros derivados da cana-de-açúcar.

2.4.2 Os biopolímeros

Em relação à sua conceituação, os biopolímeros são definidos como macromoléculas de alto peso molecular, compostos por uma repetição de unidades fundamentais, ditos monômeros, que se dispõem unidos numa sequência e são produzidos por diversas espécies de sistemas biológicos. Os diferentes grupos funcionais dos biopolímeros podem participar em vários tipos de reações químicas^{1,2}.

Uma grande variedade de bactérias sintetizam polímeros extracelulares independentemente de elas se propagarem em culturas de suspensão ou biofilmes. Neste, os polímeros bacterianos apresentam-se capsulares altamente hidratados, anexados às células. Os polímeros bacterianos, quase exclusivamente polissacarídeos, têm sido estudados em virtude de sua aplicação industrial^{1,2}.

Polímeros extracelulares microbianos têm fundamental importância, pois a interação entre a célula bacteriana e o substrato, conduz para uma adesão irreversível, que é determinada pelas propriedades físicas das macromoléculas na superfície da célula e são frequentemente observados por microscopia eletrônica como matriz extracelular, responsável pela integridade do biofilme. Em tais casos, os polímeros aparecem como fibras condensadas se estendendo além da célula^{1,2,42}.

A síntese de exopolissacarídeos através da produção biológica “in vivo” envolve macromoléculas como proteínas, ácidos nucleicos e polissacarídeos⁴. Os exopolissacarídeos são produzidos largamente por bactérias e microalgas e, menos frequentemente, por leveduras e fungos. Os polímeros de origem bacteriana apresentam maior viabilidade industrial e comercial. Entretanto, apenas uma pequena fração tem sido comercializada apesar da potencialidade para substituir as gomas obtidas a partir de plantas e algas marinhas^{1,8,43}.

Nos dias atuais, nota-se um crescente interesse pelo uso da celulose da origem bacteriana. Algumas bactérias Gram-negativas, tal como *acetobacter xylinum*, têm a capacidade de produzir celulose. Essa produção se dá na forma de uma película extracelular que rapidamente se agrega em microfibrilas celulósicas⁴³.

Algumas das características de polímeros contendo carboidratos são elas a sua potencial biocompatibilidade, o que viabiliza a sua aplicação farmacológica e biomédica. Algumas destas aplicações, como a utilização em sistema de liberação de drogas, utilização em curativos e dispositivos para implantes cirúrgicos já foram descritas^{6,44}.

Os biopolímeros de maior interesse são os extracelulares, devido a sua maior facilidade de extração e purificação. Em geral, os exopolissacarídeos não contêm combinações orgânicas voláteis ou substâncias químicas tóxicas e podem ser sintetizados por fermentação de recursos renováveis, que incluem produtos de desperdícios orgânicos, como subprodutos derivados da cana-de-açúcar, existindo atualmente a tecnologia eficiente para ampla produção destes exopolissacarídeos^{44,45}.

A *Zoogloea ramifera* 115, uma bactéria Gram-negativa, foi primeiramente isolada por Friedman & Dugan em 1968, produziu um exopolissacarídeo denominado de *Zooglan*, demonstrando uma forte afinidade por íons metálicos e aminoácidos, apresentando um comportamento reológico peculiar. Investigações estruturais nesse biopolímero estabeleceram que o *Zooglan* é um exopolissacarídeo altamente ramificado composto de D-glicose, D-galactose e ácido pirúvico^{4,46,47}.

Por meio de um processo de tratamento para redução dos açúcares residuais, o grupo de pesquisa do BPCA obteve um produto puro, constituído unicamente de açúcares e ácido glicurônico polimerizados. Tal polímero em estado de pureza apresenta elasticidade, resistência à tração, flexibilidade e ainda pode ser modelado em diferentes formas, características físico-químicas fundamentais para a confecção de implantes biológicos⁴⁸.

Um heteropolissacarídeo extracelular foi obtido através de síntese bacteriana (*Zoogloea sp.*), a partir do melaço da cana-de-açúcar na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina, Divisão de Indústria da Universidade Federal Rural de Pernambuco. A identificação do microorganismo foi realizada no Instituto de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Esse polissacarídeo foi hidrolisado em duas fases sendo uma a frio com ácido trifluoroacético resultando em 88% de material solúvel e outra quente que resultou em 100% de hidrólise e os componentes foram expressos com respectivas concentrações que somam 100% demonstrando pureza absoluta do produto. Os principais monossacarídeos

presentes na fração solúvel foram glicose (87,6%), xilose (8,6%), manose (0,8%), ribose (1,7%), galactose (0,1%), arabinose (0,4%) e ácido glicurônico (0,8%)⁴⁹.

A primeira publicação que relatou o emprego do biopolímero de cana-de-açúcar (BPCA) foi feita por Coelho et al³, que baseados no conhecimento das propriedades cicatrizantes do açúcar utilizaram o biopolímero de cana-de-açúcar sob a forma de películas sobre ferimentos resultantes de traumas diversos ou exérese de tumores com indicação de cicatrização por segunda intenção. Os autores consideraram que houve redução gradual da secreção presente nas feridas, verificaram o crescimento acelerado de tecido de granulação e recomendaram sua utilização.

Em estudo experimental, a citotoxicidade do BPCA foi avaliada *in vitro* frente a dois outros biomateriais: polipropileno e e-PTFE. O BPCA apresentou baixa citotoxicidade comparável ao e-PTFE por meio do índice de adesão, produção de ácido nítrico e a viabilidade celular de macrófagos alveolares de ratos⁵⁰.

A partir de então diversos outros trabalhos foram e estão sendo desenvolvidos no núcleo de cirurgia experimental da Universidade Federal de Pernambuco, com resultados promissores, em diversas áreas da Medicina⁵¹⁻⁵⁵.

Não há, até o momento na literatura, qualquer relato da utilização da esponja de biopolímero de cana-de-açúcar na reconstrução do parênquima renal em casos de traumas renais de alto grau ou pós nefrectomia parcial. O objetivo do presente trabalho é avaliar o BPCA nesta função, em um estudo experimental em coelhos.

MATERIAIS E MÉTODOS



3.1 População e local do estudo

Nesta investigação, foram empregadas 24 unidades renais de 12 coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), da linhagem California, machos adultos, sadios, com peso entre 2 a 3Kg procedentes do Biotério do Núcleo de Cirurgia Experimental da UFPE, mantidos em gaiolas individuais, em ambiente com exaustão e ventilação constantes e temperatura apropriada, no mesmo local. Todos receberam alimentação padrão tipo Labina[®] e água *ad libitum*, durante todo o período dos experimentos.

3.2 Escolha do animal e modelo experimental

Animal: O coelho pertence à classe *Mammalia*, ordem *Lagomorpha*, família *Leporidae*, género *Oryctolagus* e espécie *Oryctolagus cuniculus*. Optou-se pela utilização de coelhos machos da raça California, com peso entre 2 e 3Kg, por ser mais utilizado na literatura para o objetivo do presente estudo⁵⁶⁻⁵⁸.

3.3 Escolha do material controle

A escolha pelo material de controle, a esponja de Surgifoam[®] (*Esponja Gelatinosa Absorvível da Ethicon*), foi realizada devido ser este um material amplamente descrito na literatura como substância hemostática no tratamento de lesões renais de alto grau, assim como de diversos outros órgãos parenquimatosos ou não. As unidades originais mediam 8cm de comprimento, por 6.25cm de largura, por 10mm de espessura. Posteriormente eram cortadas em pedaços menores de 2cm de comprimento por 1cm de largura⁵⁹⁻⁶⁴.

3.4 Distribuição dos grupos

Foram empregados 12 animais, isto é, 24 unidades renais, nos quais realizamos a cirurgia nos dois rins, sendo um controle do outro, conforme descrição abaixo:

- **Grupo 1 – experimental** – (12 unidades renais): Indução de trauma renal de alto grau (lesão da via coletora = Grau 4), utilizando-se um bisturi frio, lâmina 15mm, longitudinalmente na face anterior do rim direito, medindo 10mm de comprimento por 10mm de profundidade, com colocação da esponja do biopolímero e sutura imediata em dois pontos, com fio de poliglactina (vicryl®) 4.0, contínuo. Sacrifício após 4 semanas;
- **Grupo 2 – controle** – (12 unidades renais) Indução de trauma renal de alto grau, utilizando-se um bisturi frio, lâmina 15mm, longitudinalmente na face anterior do rim esquerdo, medindo 10mm de comprimento por 10mm de profundidade, com colocação da esponja do Surgifoam® e sutura imediata em dois pontos, com fio de poliglactina (vicryl®) 4.0, contínuo. Sacrifício após 4 semanas;

3.5 Procedimentos

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados da seguinte forma:

3.5.1 Preparo pré-operatório

Consistiu na suspensão da dieta sólida, oferecendo apenas água 6 horas antes do procedimento cirúrgico. Os animais foram pesados imediatamente antes do procedimento em balança de precisão automatizada.

3.5.2 Anestesia

O procedimento anestésico foi realizado pela médica veterinária do Núcleo de Cirurgia Experimental da UFPE, que utilizou, como drogas pré-anestésicas, a atropina 0,25% (0,44mg/Kg por via IM), aplicada 10 minutos antes da cirurgia. Para anestesia, foi utilizada uma solução de drogas composta de: 1ml de ketamina 25% 50mg + 1ml de xilazina a 2%. Foi administrado por via intramuscular (IM) 0,2 ml dessa solução por 100g de peso corporal do animal⁶⁵. Durante o procedimento cirúrgico-anestésico, foi administrado oxigênio (0,5ml/minuto) através de máscara. Esse procedimento permitiu uma anestesia satisfatória para o tempo cirúrgico. O nível de anestesia foi monitorizado pela observação dos reflexos palpebrais,

movimentos respiratórios e estímulos cutâneos e foi considerado anestesiado o animal com respiração regular e com ausência de reflexos a estímulos.

3.5.3 Técnica cirúrgica

O ato cirúrgico foi realizado na sala de microcirurgia do Núcleo de Cirurgia Experimental (NCE) da UFPE. Após anestesiados, foi realizada tricotomia da parede abdominal e fixação do animal à mesa cirúrgica por meio de fitas elásticas, com os membros em extensão, procedendo-se, a seguir, antissepsia adequada da parede abdominal, com

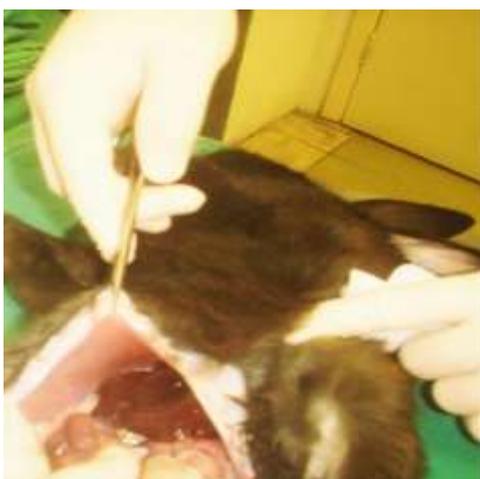


Fig. 2. Intraoperatório – Abertura Abdominal



Fig. 3. Intraoperatório – Coelho Anestesiado

solução de polivinilpirrolidona (PVP a 1% de iodo ativo) e colocação de campo cirúrgico esterilizado. Incisão abdominal mediana, a partir do apêndice xifoide, com cerca de 10cm, abrangendo planos estratigráficos, com abertura da aponeurose e peritônio, com hemostasia, utilizando-se eletrocautério. Afastamento das alças intestinais e cólon. Dissecção romba até a gordura perirrenal, com identificação de abertura da fásia de Gerota, de cada lado. Após o isolamento do parênquima renal, incisão longitudinal ao longo da face anterior do rim, com cerca de 10mm de comprimento por 10mm de profundidade, e aprofundamento da incisão até a saída de urina, comprovando que houve lesão das vias coletoras, caracterizando assim, uma lesão renal de alto grau.

❖ Grupo 1 – Rim direito

A lesão renal foi preenchida com a esponja do biopolímero, medindo 2cm x 1cm, suturada com fio de poliglactina 4/0 (vicryl®). O tempo para hemostasia foi verificado imediatamente e cronometrado, assim como o tempo cirúrgico total do procedimento.

❖ Grupo 2 – Rim esquerdo

Realizou-se o mesmo procedimento, todavia, preenchendo a lesão com Surgifoam®, 2cm x 1cm, suturando com fio de poliglactina 4/0 (vicryl®). Cronometramos tempo para hemostasia e tempo cirúrgico total.

3.5.4 Avaliação cirúrgica

Durante o procedimento cirúrgico foram avaliados: o tempo cirúrgico total do experimento, medido em minutos; o tempo para hemostasia, medido em segundos e o grau da perda sanguínea, classificada como Leve (até 1 gaze dupla estéril, medindo 7,5cm x 7,5cm, ensopada de sangue), Moderada (entre 2 e 5 gazes) e Acentuada (mais de 5 gazes).

No período pós-operatório, os animais foram mantidos com a mesma alimentação. Não houve complicações pós-operatórias.

A seguir, após quatro semanas, os animais foram sacrificados conforme protocolo estabelecido pelo núcleo de cirurgia experimental da UFPE e, posteriormente, os rins operados foram retirados e encaminhados para estudo histológico.

3.5.5 Descrição do material utilizado na confecção do enxerto

Trata-se de um biopolímero que apresenta elasticidade, resistência à tração e flexibilidade, podendo ser modelado em diferentes formas. Através do método de colorimetria diferencial exploratória (DSC), a esponja apresenta uma temperatura de fusão cristalina bem definida (118°C), propriedade que indica a relativa pureza do material². A citotoxicidade da esponja, avaliada através do índice de adesividade de macrófagos, de morte celular e produção de óxido nítrico, mostra uma alta

biocompatibilidade frente aos ensaios e confirma a baixa citotoxicidade do biopolímero, permitindo a sua aplicação experimental com segurança⁵⁰.

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

A cultura foi inoculada em erlenmeyers a 30°C, com o período máximo de processo em torno de sete dias. O material produzido secou em estufa, com circulação de ar e, posteriormente, foi esterilizado em autoclave a 120°C, 30 minutos, resultando em películas com espessura aproximada entre 5mm.

3.5.6 Confeção do biopolímero

Esponjas do biopolímero foram produzidas pelo grupo de pesquisa do biopolímero de cana-de-açúcar. O processo de produção foi desenvolvido no laboratório de cana-de-açúcar da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), o qual disponibilizou as esponjas em sua forma “bruta”, para serem, posteriormente, padronizadas no Núcleo de Cirurgia Experimental para adquirirem forma e tamanho adequados para a utilização no experimento e, vedadas em álcool isopropílico (figura 4) no serviço de esterilização do Hospital das Clínicas de Pernambuco. A esterilização foi feita com radiação gama (γ), no Laboratório de Metrologia do Departamento de Energia Nuclear da UFPE, visando atender conceitos pré-estabelecidos de assepsia cirúrgica.



Fig. 4. Esponja de biopolímero de cana-de-açúcar.

3.5.7 Sacrifício

Os animais foram sacrificados quatro semanas após o implante, conforme preconizado pelo Núcleo de Cirurgia Experimental da UFPE, ou seja, dose excessiva de anestésicos e, posteriormente, reabertura da incisão abdominal e nefrectomia bilateral, com visualização e registro fotográfico do seu aspecto externo, sem a sua abertura. Armazenou-se em formol tamponado a 10% e, após 48 horas de fixação, foram parafinados. Os rins foram pesados imediatamente antes do preparo para a sua análise histológica, também em balança de precisão, da marca Micheletti AM-15. Foram preparados cortes histológicos de cinco micra em toda a extensão do material extraído.

3.5.8 Confeção das lâminas

Após a inclusão em parafina, com a utilização do micrótomo para realizar cortes de 05 micra e posterior confecção de lâminas com a coloração hematoxilina-eosina a fim de se avaliar, de modo quantitativo, a reação inflamatória tipo corpo estranho, a fibrose, a presença de necrose e de abscesso. As lâminas foram analisadas, pelo mesmo patologista, com auxílio do microscópio da Olympus CX31, com magnificação de 400x.

Fotografias digitais foram obtidas a partir desses cortes utilizando uma câmara fotográfica (DP71, Olympus, Tóquio, Japão) acoplada a um microscópio de luz (CX31, Olympus). Todas as fotos foram originalmente capturadas no formato TIFF, e convertidas para JPEG a fim de diminuir o tamanho dos arquivos. A perda de qualidade, no entanto, não prejudicou a análise.

3.5.9 Histoquímica

Foram utilizadas técnicas de coloração: (a) hematoxilina e eosina (HE) para evidenciar infiltrados celulares e vasos sanguíneos; (b) Tricrômico de Masson e Picro Sirius para avaliar o colágeno.

3.5.10 Análise histológica

A histologia foi avaliada por um único patologista experiente e teve como critérios a intensidade da reação inflamatória provocada e a presença de fibrose do tecido em contato com o material.

O padrão histológico agudo caracteriza-se por exsudação de líquido e proteínas plasmáticas (edema) e a migração de leucócitos, predominantemente neutrófilos. O padrão crônico é caracterizado pela presença de linfócitos, macrófagos, proliferação de vasos sanguíneos, fibrose e necrose tecidual. O tipo subagudo é definido pela reação inflamatória com componentes do padrão agudo e crônico simultaneamente.

Alguns critérios quantitativos foram adotados. A intensidade do processo inflamatório foi descrita a partir da observação da celularidade no exsudato, da extensão do processo e pela presença de necrose celular. A intensidade da atividade inflamatória foi assim classificada: nula - ausência de sinais inflamatórios, leve (1x) - exsudato com infiltração celular em pequena quantidade, reação envolvendo até 1/3 do tecido estudado, ausência de necrose; moderada (2x) - exsudato com infiltração celular em quantidade moderada, reação envolvendo entre 1/3 e 2/3 do tecido, presença de pouca necrose; intensa (3x) - exsudato com infiltração celular em grande quantidade, reação envolvendo mais que 2/3 da amostra, necrose celular intensa. A fibrose caracterizou-se pela presença de fibroblastos e deposição de colágeno na matriz extracelular. A fim de confirmar a presença da fibrose, em algumas lâminas selecionadas pelo patologista, além da coloração HE, também foi utilizada a coloração Picrosirius e Tricrômio de Masson, evidenciando as fibras colágenas. A fibrose foi classificada em ausente, leve, moderada e acentuada. Necrose e abscesso foram catalogados simplesmente pela sua presença (P) ou ausência (ND, de Não Demonstrado).

3.6 Análise estatística

Na análise estatística dos dados, foram utilizadas técnicas estatísticas descritivas e inferenciais. Nas técnicas descritivas, apresentaram-se: frequências absolutas, média, mediana e desvio padrão. Nas inferenciais, utilizaram-se testes de hipóteses: Teste *Shapiro-Wilks* de normalidade, teste de Wilcoxon para a

comparação de dois grupos emparelhados ou seja: cada unidade amostral (coelho) produziu informações de um mesmo sistema na situação de distribuição não normal. Foi utilizado o teste de McNemar, nas situações onde o teste de Wilcoxon apresentou muitos empates. Em aceitando-se a normalidade para os dados (Valor-p do teste *Shapiro-Wilks maior que 0,05*), utilizou-se o teste *t-Student* emparelhado.

Força da verdade: em todos os testes, foi definido como nível de significância o $p < 0.05$.

3.7 Considerações éticas

Esta pesquisa foi aprovada 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 especialmente a Lei 9.605 - art.32 e Decreto número 3.179-art. 17, de 21/09/1999, que trata da questão e normas para prática científica de vivissecção de animais. O Comitê de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEA-UFPE) estabeleceu aprovação integral em parecer concedido sob o número 23076.031529/2010-77 (Anexo A).



4.1 Avaliação pós-operatória dos animais

Dos 12 animais usados na experimentação, todos sobreviveram. Os animais preservaram seu comportamento habitual, não foi constatada qualquer deficiência na motricidade, houve manutenção em seus costumes alimentares e na ingestão hídrica. A cicatrização da ferida operatória ocorreu de forma similar em todos eles, não existindo deiscências, formação de hematomas ou infecções de ferida. Nenhum animal apresentou sangramento interno após os procedimentos. Não houve ganho ou redução de peso significativos em nenhum deles.

4.2 Aspecto macroscópico quatro semanas após o uso da esponja BPCA

Por ocasião da segunda fase do experimento, a retirada dos rins de cada animal, para estudo histopatológico, os animais eram sacrificados e, à inspeção macroscópica, não foram constatadas deformidades na cicatrização do parênquima renal, não observamos hematomas perirrenais, abscessos, presença de fístula ou urinoma em nenhum caso. A retirada das unidades renais transcorreu com facilidade, todavia foram identificadas aderências cicatriciais mais firmes entre o rim e órgãos adjacentes (fígado e alças intestinais), principalmente do lado direito, ou seja, no lado em que usamos o biopolímero da cana-de-açúcar. Não houve evidência de alteração na coloração ou na textura dos enxertos de membrana do biopolímero da cana-de-açúcar ou de Surgifoam[®], os quais estavam recobertos com uma fina camada de tecido conjuntivo.



Fig. 5. Boa Cicatrização do parênquima - BPCA



Fig. 6. Boa Cicatrização do parênquima – Surgifoam®



Fig. 7. Aderências ao mesentério



Fig. 8. Aderências ao intestino delgado



Fig. 9. Aderências ao mesentério 2

4.3 Resultados estatísticos

Tabela 1 - Medidas descritivas por Grupo e sua comparação pelo teste de Wilcoxon.

Variável	Grupo	Média	Mediana	DP	Valor-p
Peso do Rim (g)	BPCA	10,00	10,00	3,02	0,058
	Controle	12,50	10,00	4,52	
Tempo de Hemostasia (s)	BPCA	211,17	209,50	19,92	0,195
	Controle	203,42	201,00	18,66	
Peso do animal (g)	-	2489,25	2521,00	259,52	-
Tempo de cirurgia (min)	-	30,33	29,00	8,02	-

O peso do rim e o tempo para hemostasia não apresentaram diferença significativa entre os grupos Experimental e Controle, segundo o teste não paramétrico de Wilcoxon que considera o emparelhamento ocorrido nestas medições e a distribuição não normal dos dados, comum em experimentos com pequeno tamanho amostral. Para avaliar a normalidade utilizou-se o teste *Shapiro-Wilks* que apresentou Valor-p < 0,005 para peso dos rins e Valor-p > 0,05 para o tempo de Hemostasia que permitiria a utilização do teste-t emparelhado o qual apresentou Valor-p = 0,124 confirmando a mesma decisão obtida com o teste de Wilcoxon. Portanto não há diferença significativa no Peso do rim e no Tempo de hemostasia por grupo experimental e controle.

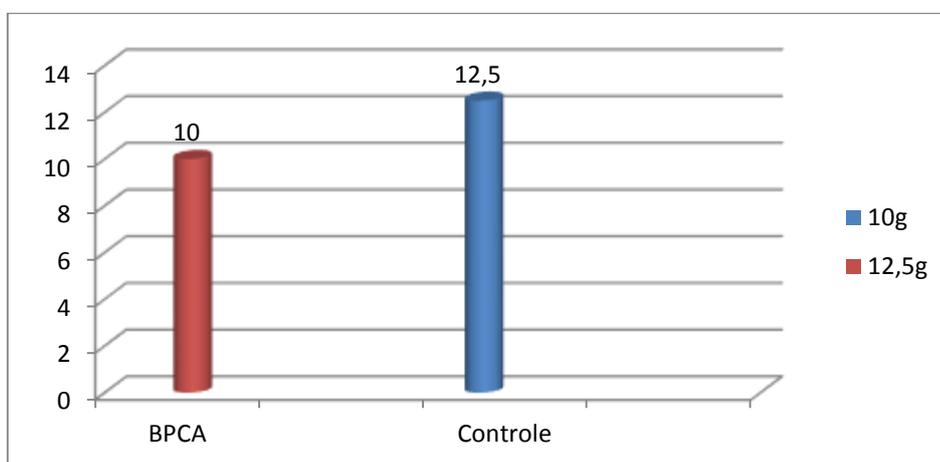


Gráfico 1. Peso médio dos rins (p=0.058)

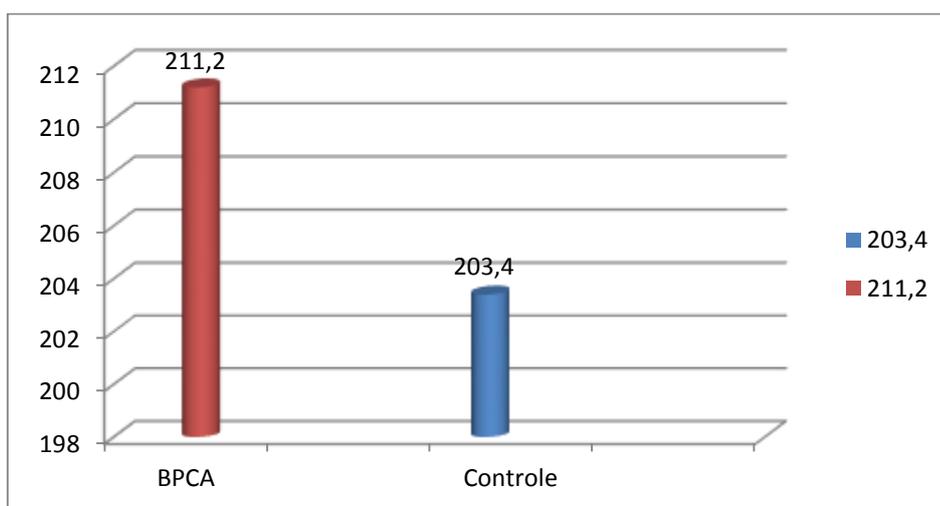
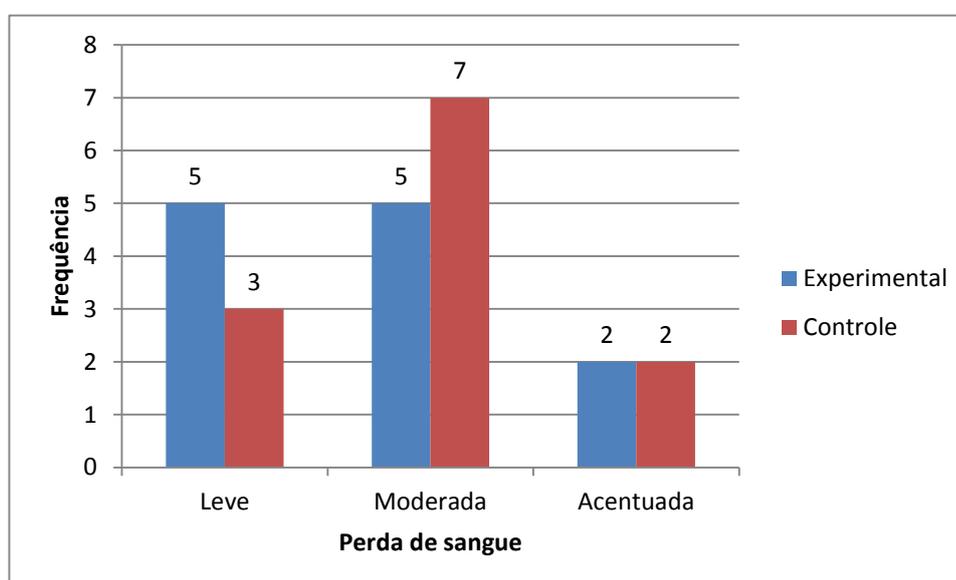


Gráfico 2 – Tempo Médio para Hemostasia em segundos (p=0.195)

Tabela 2 - Perda de sangue por Grupo e sua comparação pelo teste de Wilcoxon.

Perda de sangue	Grupos		Valor-p
	BPCA	Controle	
Leve	5	3	0,480
Moderada	5	7	
Acentuada	2	2	
Total	12	12	-

Pode-se observar, na Tabela 2, segundo o teste de Wilcoxon, que considera o nível de mensuração ordinal das 12 observações emparelhadas, que não há diferença significativa entre os grupos Experimental e Controle.

**Gráfico 3:** Incidência da perda de sangue por grupo experimental e controle

O gráfico 3 mostra que uma menor incidência de perda de sangue Leve no grupo Controle e de forma moderada com menor incidência no grupo Experimental.

Tabela 3 - Reação inflamatória por Grupo e sua comparação pelo teste de Wilcoxon.

Reação inflamatória	Grupos		Valor-p
	BPCA	Controle	
Leve	1	6	0,004
Moderada	0	5	
Acentuada	11	1	
Total	12	12	-

A reação inflamatória apresentou diferença estatisticamente significativa a 5% entre os grupos estudados com emparelhamento e nível de mensuração ordinal. O grupo Experimental é o que apresentou maior Reação inflamatória.

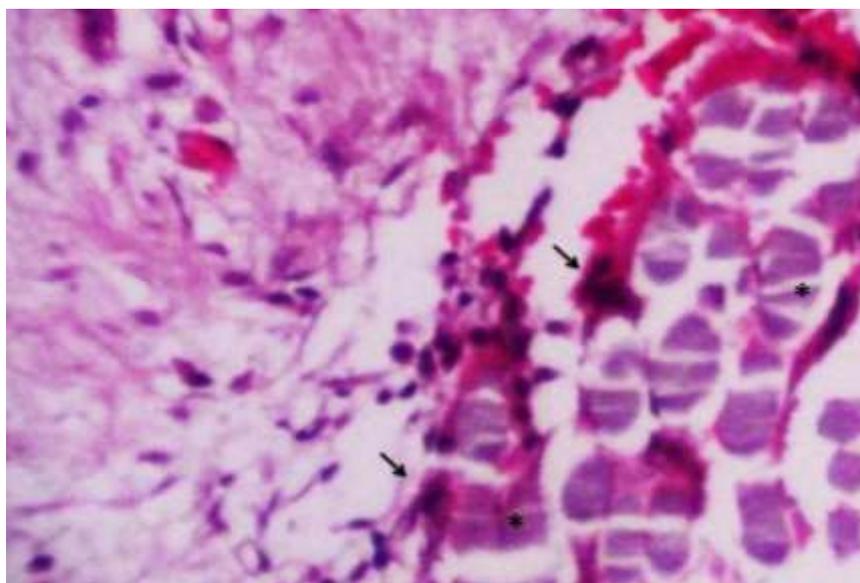


Fig. 10. Reação inflamatória do tipo corpo estranho com células gigantes multinucleadas (setas) fagocitando material exógeno - BPCA (*). - Hematoxilina-eosina 400x.

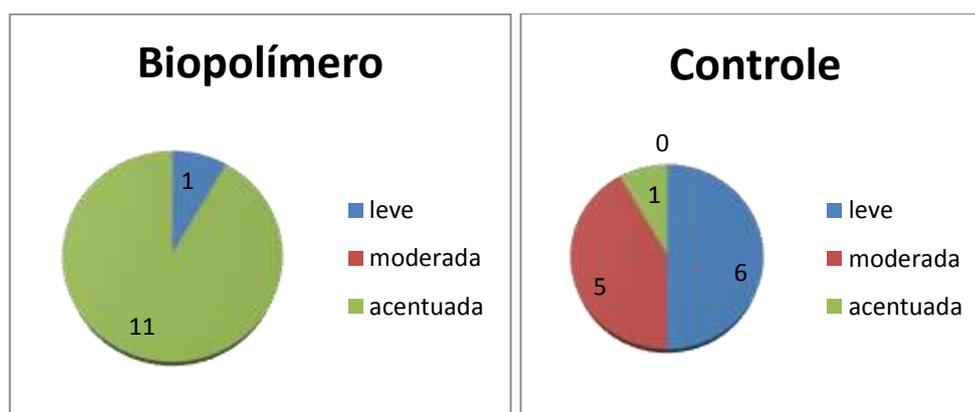


Gráfico 4: Grau de Reação Inflamatória entre os Grupos – $p = 0.004$

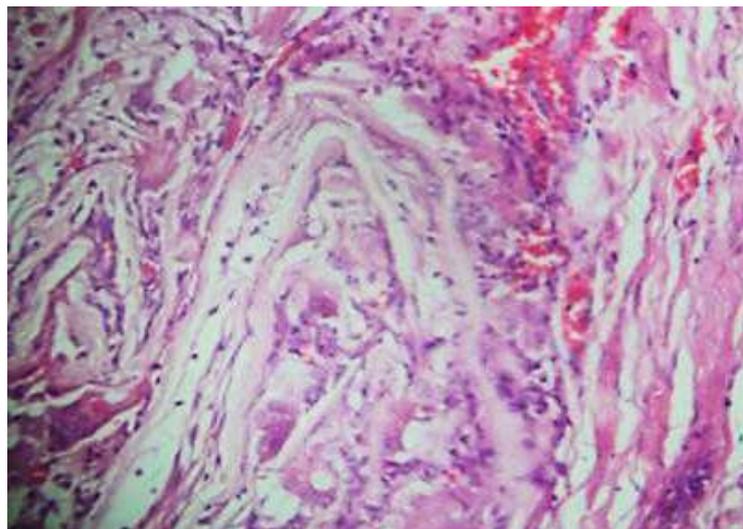


Fig. 11. Reação de corpo estranho 1+/3+ - Hematoxilina-eosina 400x.

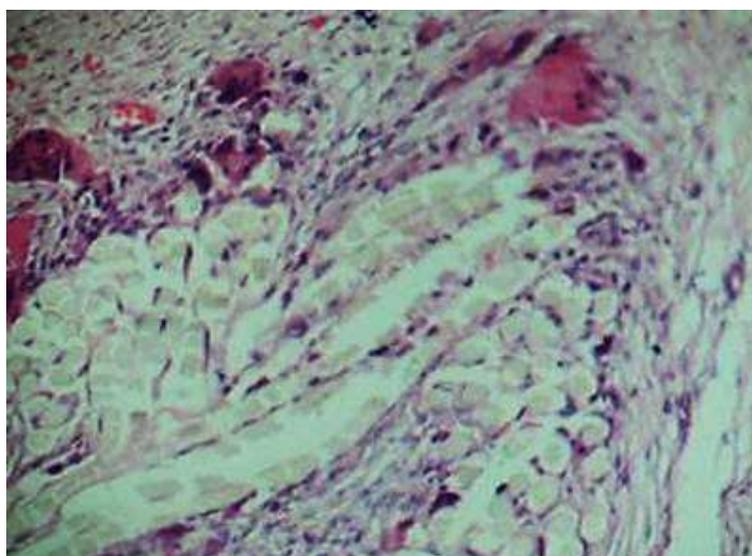


Fig. 12. Reação de corpo estranho 3+/3+ - Hematoxilina-eosina 400x.

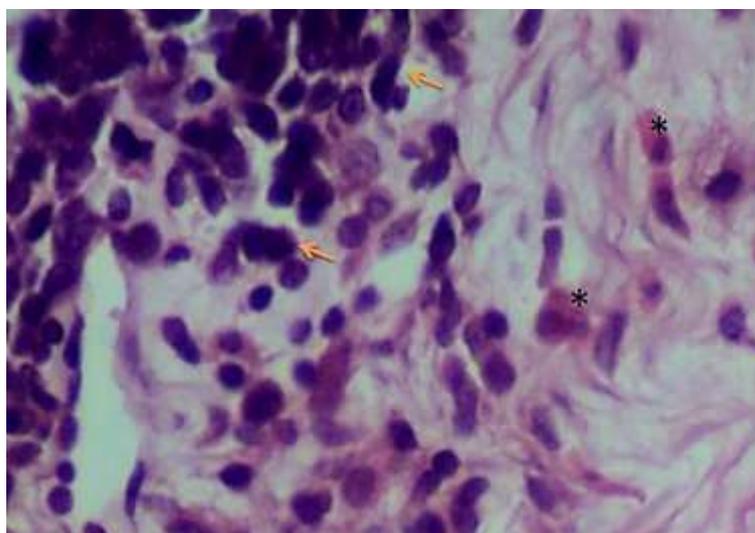
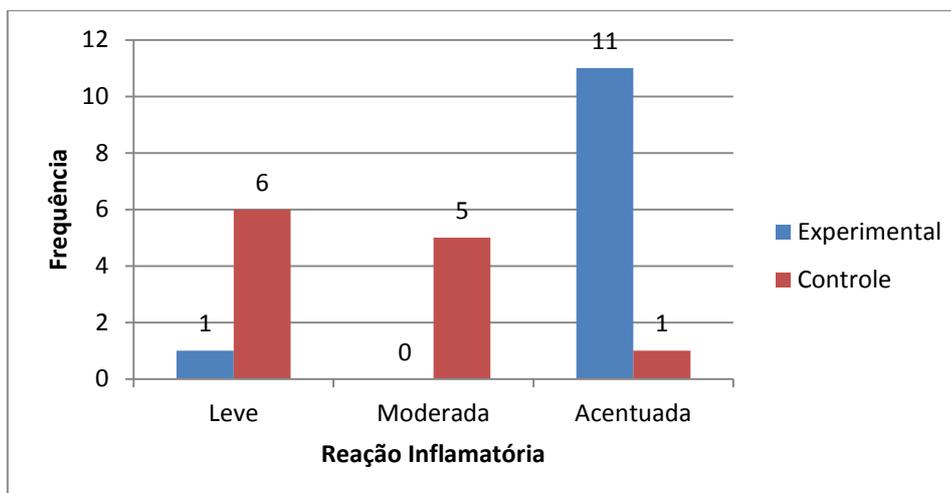


Fig. 13. Infiltrado inflamatório contendo linfócitos (setas) e neutrófilos (*)

- Hematoxilina-eosina 400x.

**Gráfico 5:** Incidência da Reação Inflamatória por grupo Experimental e Controle.

O gráfico 5 mostra que uma maior incidência de reação inflamatória Leve no grupo Controle e de forma acentuada com maior incidência no grupo Experimental.

Tabela 4 - Fibrose por Grupo e sua comparação pelo teste de McNemar.

Fibrose	Grupos		Valor-p
	BPCA	Controle	
Não demonstrada	2	0	0,500
Leve	8	10	
Moderada	2	2	
Acentuada	0	0	
Total	12	12	

Neste caso, a aplicação do teste de Wilcoxon apresenta excessivos empates tornando mais apropriado a dicotomização dos resultados da Fibrose em Ausente e Presente. Torna-se possível a aplicação do teste de McNemar que com o seu Valor-p = 0,500 permite considerar a decisão de que não há diferença significativa na ocorrência da Fibrose por grupo. O teste de Wilcoxon apresenta a mesma decisão com Valor-p 0,480 ou 0,102 excluindo a categoria Acentuada que não foi observada nos dois grupos.

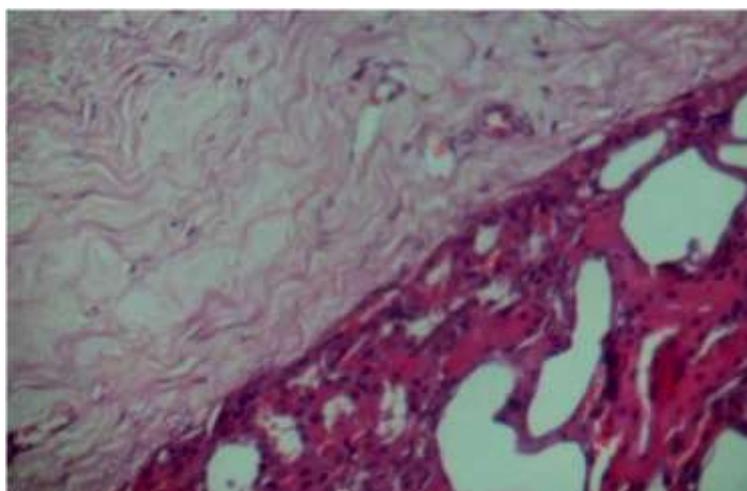


Fig. 14. Fibrose 2+/3+ - Hematoxilina-eosina 400x.

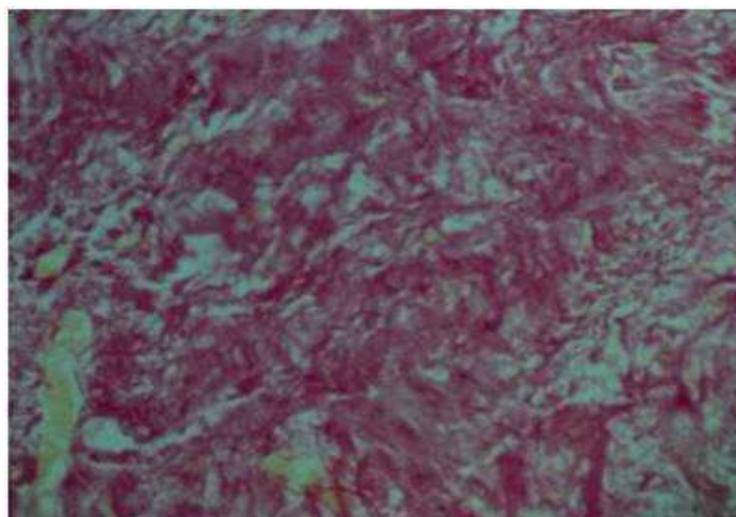


Fig. 15. Fibrose 3+/3+ - Hematoxilina-eosina 400x.

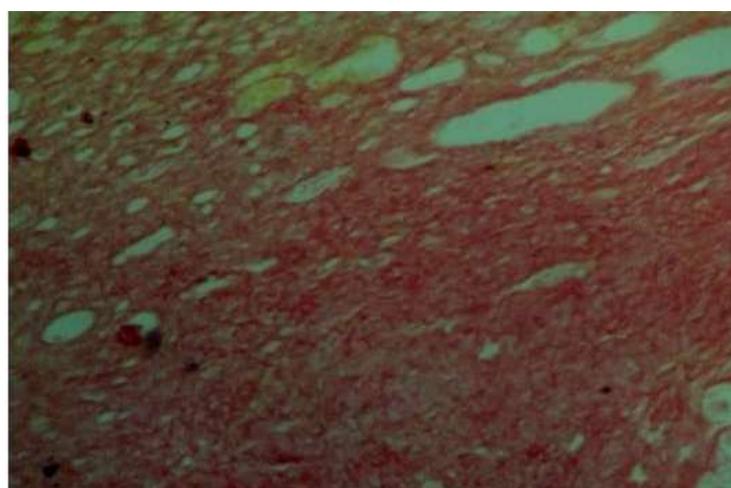


Fig. 16. Coloração de *Picrosirius* (vermelho) ressaltando a deposição de colágeno (*) - 400x.

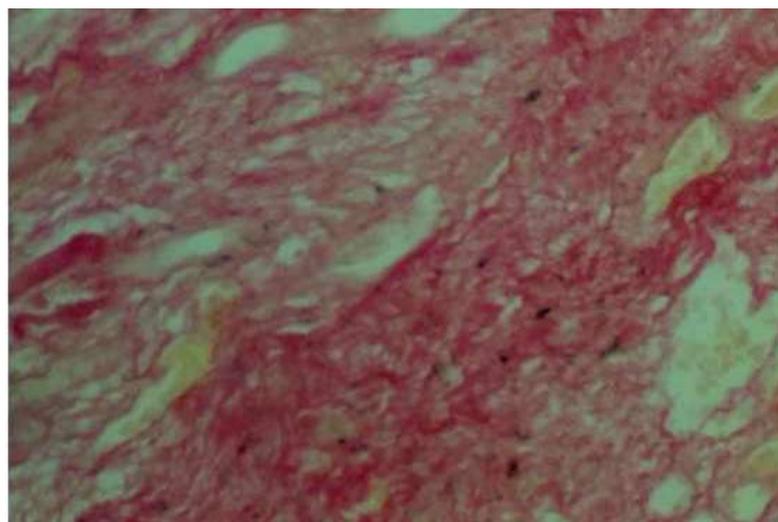


Fig. 17. Coloração de Picrosirius (vermelho) ressaltando a deposição de colágeno entre os túbulos renais (setas). - 400x.

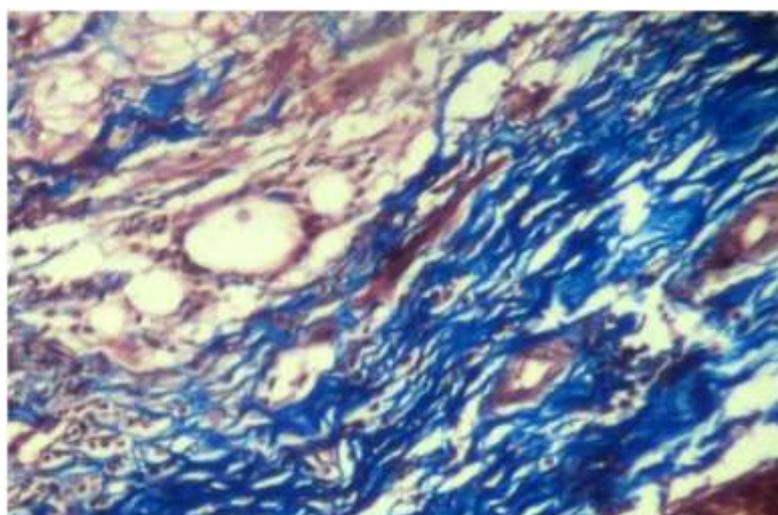


Fig. 18. Coloração de Tricrômico de Masson ressaltando a deposição de colágeno (azul) entre os túbulos renais (setas). - 400x.

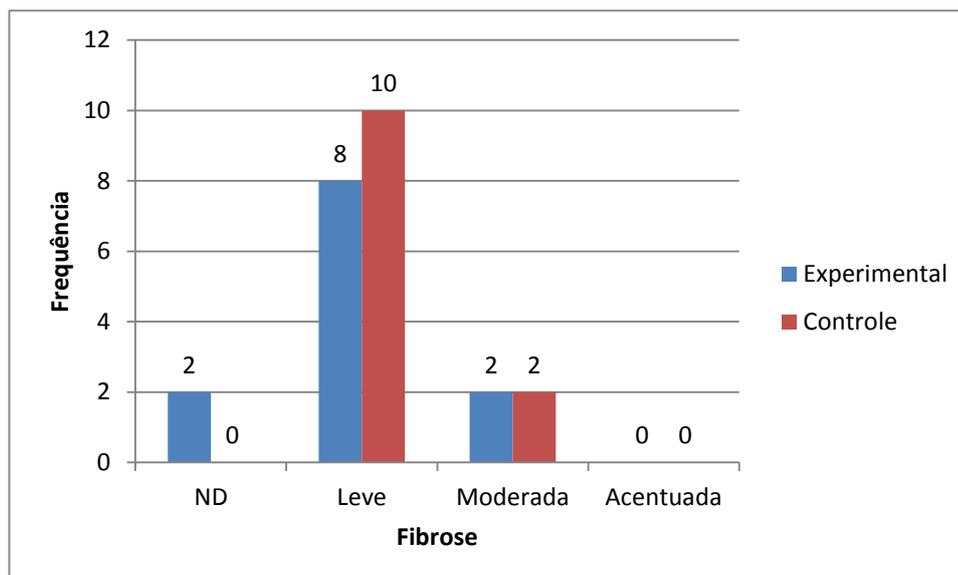


Gráfico 6: Incidência da Fibrose por grupo Experimental e Controle. $p=0,500$

O gráfico 5 mostra que há maior incidência de fibrose no grupo Controle.

Tabela 5 - Necrose por Grupo e sua comparação pelo teste de McNemar.

Necrose	Grupos		Valor-p
	BPCA	Controle	
Presente	7	5	0,414
Ausente	5	7	
Total	12	12	-

Não houve diferença estatisticamente significativa na ocorrência da Necrose por grupo.

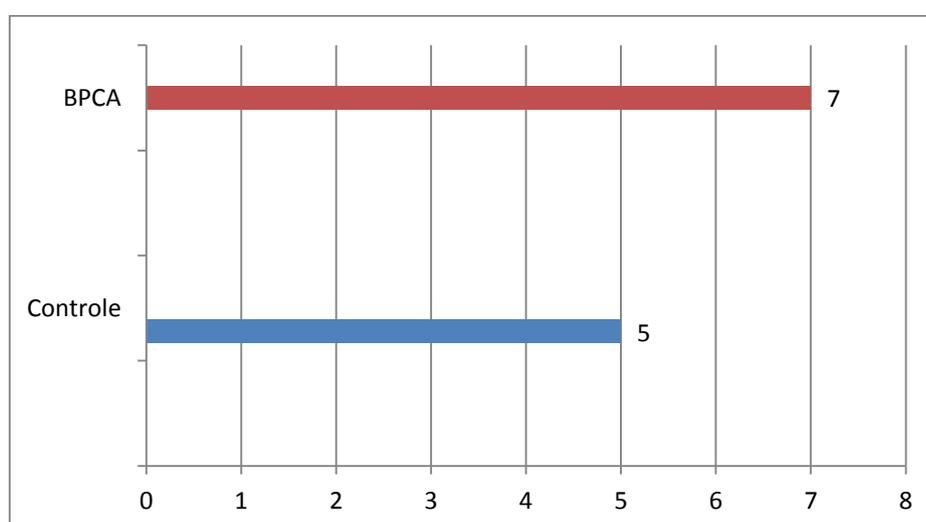


Gráfico 7: Incidência de Necrose em cada Grupo. $P=0.414$

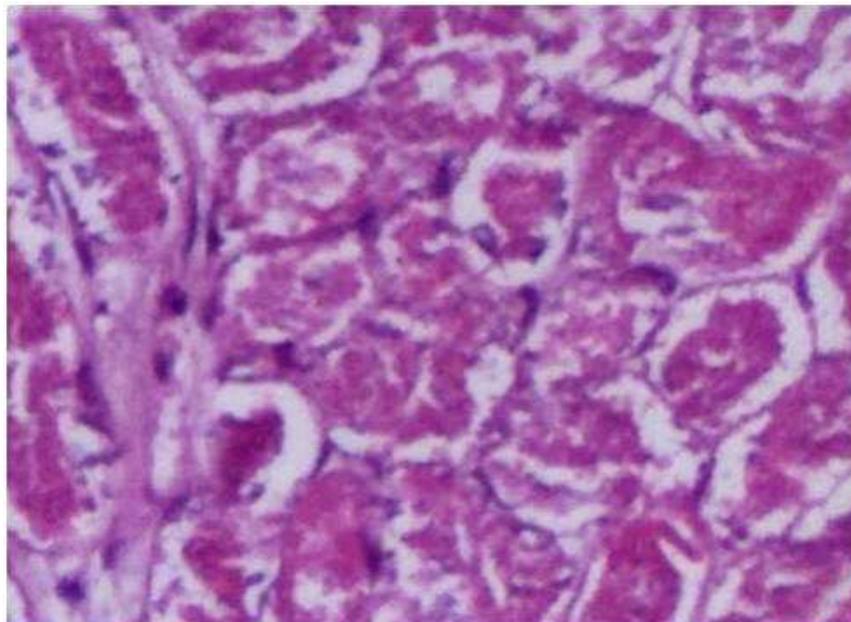


Fig. 19. Tecido necrótico permeado por células inflamatórias - Hematoxilina-eosina 400x.

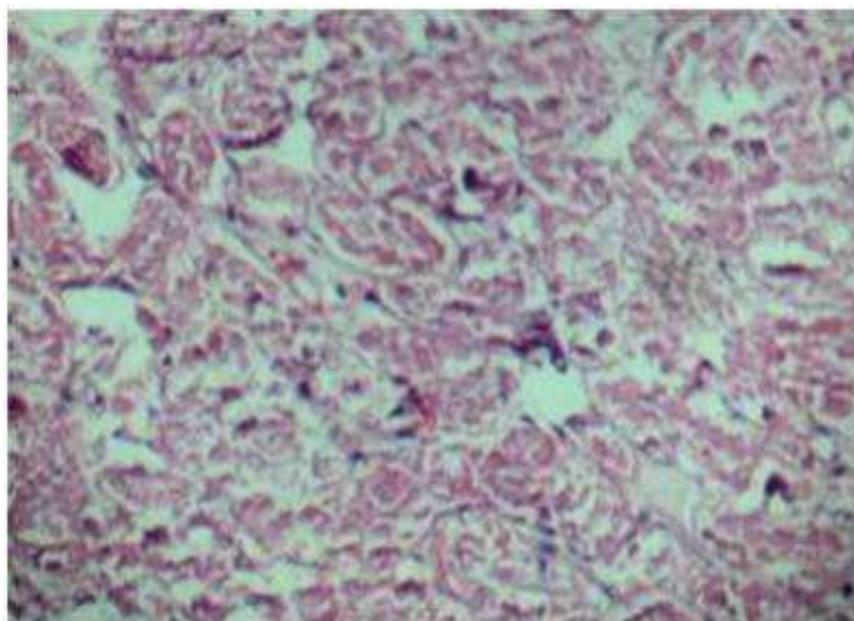


Fig. 20. Necrose coagulativa - Hematoxilina-eosina 400x.



5.1 Utilização de biopolímero de cana-de-açúcar

Em relação à sua origem, a cana-de-açúcar provém da Papua (Nova Guiné) onde já era conhecida há milhares de anos. Foi cultivada na Ásia Meridional, e trazida pelos árabes da África para a Sicília e desta para a costa Sul da Espanha. Entre os portugueses o seu cultivo teve início no Algarve, e depois transportado para a Ilha da Madeira. Muito embora introduzida oficialmente no Brasil por Martim Afonso de Souza, em 1532, a cana-de-açúcar já tomava conta da paisagem pernambucana desde os primórdios da colonização, ainda no tempo da feitoria de Cristóvão Jacques, no Canal de Itamaracá (1516). Em 1526, já figurava na Alfândega de Lisboa o pagamento de direitos sobre o açúcar proveniente de Pernambuco. Nos cinco séculos seguintes a História do Estado de Pernambuco está estreitamente relacionada à cultura canavieira⁶⁶.

Em relação aos biomateriais, eles devem ser submetidos a testes de biocompatibilidade para avaliar como interagem, assim como os seus derivados, com os diversos sistemas do corpo. Um material é considerado biocompatível se não causar reações adversas após implantado, tais como: irritação, inflamação, reação imunológica e desprender componentes. De acordo com o *Food Drug Administration* (FDA), os dispositivos médicos implantáveis e seus constituintes não devem produzir reação adversa local ou sistêmica, ser carcinogênico, produzir efeitos adversos ao sistema reprodutivo e desenvolvimento⁶⁷.

A membrana de biopolímero da cana de açúcar (BPCA) já foi testada em relação à sua citotoxicidade, avaliada por índice de adesão, produção de óxido nítrico e viabilidade celular de macrófagos alveolares em ratas e não apresentou resposta tóxica para as células da cultura. O biopolímero de cana-de-açúcar evidenciou alta biocompatibilidade frente aos três ensaios de citotoxicidade⁵⁰.

Nos primeiros experimentos em que o biopolímero foi utilizado, era empregado *in natura*, ainda com açúcares residuais, e serviu para tratamento de feridas acidentais em cães. Posteriormente, foi desenvolvido um processo de tratamento para redução daqueles açúcares com obtenção de um produto livre de impurezas, constituído de açúcares e ácido glicurônico polimerizados⁵³.

A avaliação da resposta inflamatória e posterior agregação de um material sintético ao modelo animal é uma importante etapa para sua posterior utilização em estudo clínico. A possibilidade do emprego em Medicina de produtos sintetizados a partir de derivados da cana-de-açúcar constitui-se em um novo horizonte a ser alcançado num futuro próximo, e servirá como uma nova destinação para essa gramínea.

O objetivo primordial da nossa pesquisa visa a busca por um novo material heterólogo, biocompatível e de menor custo, o que se equaliza com um dos objetivos da Medicina moderna. A utilização de materiais para auxiliar a reconstrução renal em casos de trauma e de tumores renais pequenos é uma questão de suma importância e de grande utilidade. Uma pesquisa realizada na Universidade Federal de Pernambuco comparou a membrana do BPCA com PTFE e polipropileno como fita para *sling* em ratas e evidenciou um grau de reação inflamatória semelhante. O material utilizado mostrou-se absolutamente inerte e preservado na região implantada. O BPCA é estável, de fácil manipulação, com reação tissular mínima, com boa incorporação ao hospedeiro⁵¹.

A resposta inflamatória ao BPCA foi avaliada através da sobreposição de membranas de BP e telas de polipropileno sobre o peritônio parietal de ratos, por meio de formação de aderências com epíploo e alças intestinais. Em todos os ratos foi observado incorporação das próteses implantadas ao peritônio e não foram encontradas coleções, exsudato livre e fístulas. Os autores concluem que o biopolímero de cana-de-açúcar pode ser uma alternativa viável, comparável ao polipropileno, para a confecção de telas para próteses cirúrgicas. Nossos achados corroboram os do trabalho citado, onde não encontramos maiores níveis de fibrose ou de complicações, como as fístulas, comparativamente ao grupo controle. Todavia, macroscopicamente, tivemos uma maior intensidade nas aderências ao fígado e alças intestinais, com o BPCA, fato que vai de encontro aos achados deste trabalho⁵³.

Ainda no âmbito da Universidade Federal de Pernambuco, pesquisadores locais, testaram o BPCA como enxerto livre para tratamento de perfurações crônicas da membrana timpânica foi realizada em *Chinchilla laniger*. Os resultados obtidos foram comparados com os de enxerto de fáschia autóloga, realizados na orelha contralateral, ou seja, cada animal foi controle de si mesmo, assim como no nosso estudo. Os resultados funcionais e de cicatrização, assim como de

biocompatibilidade e de complicações foram semelhantes do ponto de vista estatístico, demonstrando que a membrana do BPCA poderá, em um futuro próximo, ser utilizado na otorrinolaringologia⁶⁸.

Em outro estudo, pesquisadores da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), de forma prospectiva e pareada, utilizaram a membrana do BPCA como substituto para a mucosa da orelha média de ratos Wistar, com a finalidade de analisar a interação do biopolímero com a mucosa local. Vinte e quatro animais foram usados, comparando a membrana do BPCA com a fáschia autóloga. O sacrifício foi realizado em três momentos, após 4, 8 e 12 semanas. Observaram que houve reação inflamatória no grupo experimental, semelhante ao grupo controle, com reabsorção tardia do enxerto do BPCA e concluíram que seu uso é viável, mas que futuros estudos devem ser realizados a fim de direcionar mais claramente o seu uso na otorrinolaringologia⁶⁹.

Sob forma de tubos e remendos em artérias de cães, o BPCA foi experimentado como prótese vascular e comparado ao enxerto de politetrafluoroetileno (PTFE). O comportamento funcional e morfológico dos enxertos realizados com o BPCA mostrou-se adequado ao seu emprego como substituto vascular, foi comparável ao e-PTFE sem constatação de diferenças estatisticamente significantes. Tais achados também se alinham aos do nosso estudo, evidentemente, em tecidos corporais distintos^{54,55}.

Polímeros sintéticos ou naturais podem ser obtidos com uma extensa variação de propriedades como rigidez, resistência mecânica, densidade e resistência térmica. A ciência dos polímeros e suas aplicações levam em consideração, como ponto de partida, a compreensão de como estes materiais são sintetizados. A síntese de polímeros revela um complexo procedimento que é determinante para a sua estrutura. O exopolissacarídeo produzido pela *Zogloea sp.* tem propriedades físicas como elasticidade, resistência à tração e à flexibilidade, podendo ser modelado em diferentes formas, o que possibilita sua utilização como uma esponja que pode ser introduzida dentro do defeito produzido pelo trauma no parênquima renal.

5.2 Reconstrução do parênquima renal

Desde 1909, com Bergel, que se começou a utilizar, em cirurgias, as misturas de fatores da coagulação, para promoverem a cicatrização das feridas¹⁰. Embora a reconstrução renal tenha uma grande importância nas lesões traumáticas, a maioria dos trabalhos atuais busca a melhor forma de reconstrução do parênquima renal, nas cirurgias poupadoras de néfrons, tendo em vista o maior número destas realizadas para tumores renais pequenos⁷⁰⁻⁷².

Para que consigamos aumentar o índice de preservação renal, o uso de agentes hemostáticos, tais como o Gelfoam[®], Surgicell[®], Tacho Sil[®] ou o Surgifoam[®], podem ser necessários e têm uma alta eficácia, tendo, dessa forma, um papel cada vez maior na correção das lesões extensas do trato urinário⁵.

Com base na experiência da cirurgia poupadora de néfrons, em tumores renais pequenos, até uma matriz de gelatina foi aplicada em um modelo experimental de trauma renal complexo em porcos, sem a utilização de suturas no tecido renal, sendo demonstrado que a perda sanguínea total foi significativamente menor do que o tratamento convencional com suturas isoladas. Além disso, assim como na nossa experiência, não tiveram nenhum sangramento tardio ou formação de urinomas ou fístulas urinárias após os procedimentos¹⁸.

Um grupo sueco, com o intuito de avaliar a capacidade hemostática e a estabilidade do coágulo formado, em situações de trauma, testou experimentalmente quatro substâncias hemostáticas em rins de ratos *Sprague-Dawley* submetidos a traumatismo: esponja de gelatina, trombina bovina, fator VIIa recombinante liofilizado e um polissacarídeo microporoso. Concluíram que os produtos que contêm a gelatina obtiveram o mais rápido e melhor grau de hemostasia, ressaltando que mais estudos são necessários para a confirmação desses resultados⁵⁸.

A utilização de substâncias hemostáticas no parênquima renal atualmente tem suas pesquisas direcionadas principalmente nas cirurgias poupadoras de néfrons, sobremaneira nas cirurgias para pequenos tumores renais⁴⁰. Em relação aos nossos achados, ficou demonstrado que não existem falhas neste aspecto, isto é, na capacidade hemostática do biopolímero, pelo menos não houve nenhum indício de que o material pudesse retardar ou comprometer de maneira importante a hemostasia renal, tendo em vista que não encontramos hematomas ou perdas por hemorragia incoercível em nenhum dos animais.

Um produto atual e que vem tendo seu uso bastante disseminado para a hemostasia das nefrectomias parciais e que tem demonstrado eficácia, segurança e biocompatibilidade é a esponja composta por fibrinogênio e trombina (TachoSil®). Alguns trabalhos na literatura têm corroborado a sua utilização, inclusive em outros órgãos sólidos, tais como fígado, pulmão, pâncreas e, em algumas situações, até no coração^{41,73-76}.

Várias substâncias tem sido testadas com o intuito de corrigir as falhas do parênquima renal. Estudo realizado no Reino Unido, avaliou a eficácia de TachoSil®, uma esponja hemostática composta de fibrinogênio e trombina, com função selante e hemostática, após nefrectomia parcial em modelo experimental em porcos. Eles analisaram o peso, a pressão arterial, a perda de sangue estimada, o peso da amostra da nefrectomia parcial, além da presença de fístula urinária. Os achados histopatológicos e as complicações foram registradas. Todos os porcos sobreviveram, o tempo médio de isquemia quente foi de 18 minutos, a perda de sangue foi de 90 ml e peso médio ressecado foi de 13,7 g. Não houve evidência de fístulas. Histologicamente, as alterações inespecíficas foram observadas em todas as amostras, que incluem calcificação distrófica, cicatrização, e áreas de fibrose na margem nefrectomia parcial cirúrgico. Concluíram que TachoSil® é eficaz e proporciona um adjuvante da hemostasia. Mais estudos, incluindo testes em humanos, são necessários para avaliar esta observação ainda¹⁷.

Um grupo de pesquisadores turcos comparou 3 tipos de agentes hemostáticos tópicos em modelo experimental de nefrectomia parcial (NP), em termos de resistência adesiva, controle da hemorragia e aderências pós-operatórias intra-abdominais, usando ratos. Compararam celulose oxidada extrato de planta hemostático e o quitosano. A cicatrização de feridas foi excelente em todos os grupos, exceto em 1 de rato no grupo de quitosano. A quitosana foi associada com escores significativamente mais elevados de adesão intestinal e peritoneal, embora os escores histopatológicos foram semelhantes. Concluem que quitosana e extrato da planta hemostático foram tão eficazes quanto sutura convencional para a hemostasia, mesmo sem controle hilar. O uso de celulose oxidada não foi associada com escores mais elevados de aderências, hematoma ou formação de abscessos⁷⁷.

Na Grécia, um estudo comparou selantes de fibrina líquidos e membranas hemostáticas de forma experimental em nefrectomias parciais. Investigaram que o agente hemostático pode aderir de forma mais eficaz para o tecido renal e servir

como uma almofada. Selante de fibrina líquida isolada ou em combinação com uma membrana (colágeno, gelatina ou celulose oxidada) foi aplicada à superfície de corte do rim de coelhos. As análises histológicas foram também realizadas para comparar o grau de adesão de cada um dos hemostáticos acima mencionados. Selante de fibrina mais o colágeno ou pinça hemostática de gelatina foi encontrado para ter um efeito mais forte do que o selante de fibrina hemostática, aplicados isoladamente ou selante de fibrina mais celulose oxidada. O estudo histológico mostrou que o selante de fibrina aderiu bem ao tecido renal, quando foi aplicado com o colágeno ou gelatina hemostática, mostrando a vantagem de combinar estes dois materiais para a realização da hemostasia eficaz. Selante de fibrina usado em combinação com o colágeno ou gelatina hemostática foi a mais adequada para a obtenção de um efeito reforçado hemostático no local da sutura num modelo animal em nefrectomia parcial⁷⁸.

Um grupo coreano comparou, para reconstrução do parênquima renal, após nefrectomia parcial, o uso de tela de politetrafluoretileno expandido (Gore-Tex[®]) e Hem-O-Lock[®] como agentes hemostáticos durante a nefrectomia parcial. No primeiro grupo, eles usaram o Gore-Tex[®] isolado, os tumores renais tinham até 2,5cm de diâmetro, enquanto no grupo 2, foi usado Gore-Tex[®] associado ao Hem-O-Lock e os tumores eram maiores que 2,5cm. A idade média dos pacientes era de 53 anos (35-85a), os pacientes foram acompanhados em média por 41,8 meses (6-56m). O tempo médio de isquemia fria para o grupo 1 foi de 24 minutos, enquanto no grupo 2 foi de 35 minutos. Não houve complicações maiores em nenhum dos grupos. Concluem que o uso do Gore-Tex isoladamente ou em associação ao Hem-O-lock, é bastante seguro e menos oneroso do que o uso de agentes hemostáticos nas nefrectomias parciais¹⁶.

Pesquisadores turcos testaram, experimentalmente em 25 porcos, uma tela de ácido poliglicólico em traumas renais de alto grau, com grande perda de parênquima, nos quais a sutura simples não seria adequada. O objetivo do estudo foi avaliar a eficácia da hemostasia produzida quando do uso desta tela, em comparação com um grupo controle onde nenhuma medida foi tomada e sabidamente o grau de hemorragia levaria a óbito. Concluíram que a técnica é rápida, de fácil execução, pois não necessita de suturas adicionais, controla eficazmente a hemorragia e mantém a viabilidade do parênquima renal⁷⁹.

Na Turquia ainda, foi realizado estudo experimental em coelhos, comparando o uso da tela de poliglactina com as suturas simples com fios de catgut e poliglactina, e foi visto que os melhores resultados em termos de hemostasia e manutenção de tecido renal viável foi obtido com a tela de poliglactina³⁹.

Como podemos notar nos parágrafos acima, diversos pesquisadores, nas mais diferentes localidades, continuam testando e avaliando novas substâncias que possam auxiliar na cirurgia renal reconstrutiva. Os estudos experimentais até agora realizados permitem-nos projetar uma provável perspectiva de realização de ensaios clínicos com o presente material e, com isso, introduzir a possibilidade de um novo material, bioequivalente e de custo muito mais acessível à nossa realidade, no arsenal de tratamento daquelas condições que exigem uma reconstrução renal mais refinada e segura, com a certeza da manutenção de mais unidades renais, seja aquelas afetadas por traumatismos externos ou iatrogênicos, bem como as acometidas por tumores de pequeno volume e com indicação apenas de uma nefrectomia parcial.

Além do baixo custo, as características de obtenção e produção representam, por outro lado, um diferencial importante, por conta da natureza inesgotável da fonte de produção do material do biopolímero. Por tratar-se de um instrumento cuja natureza não provoca poluição ou degradação no decorrer do processo de industrialização pode também ser considerado como ecologicamente correto, fato bastante relevante nos dias atuais. Principalmente, pelos achados estatisticamente similares de perda sanguínea, fibrose e necrose, com o grupo controle. Assim como pela ausência de complicações graves, do tipo hemorragia copiosa, fístulas urinárias ou abscessos.

CONCLUSÕES



Os resultados obtidos no presente estudo, analisados com uma margem de segurança de 95%, permitem concluir que:

- A esponja de biopolímero do melaço da cana-de-açúcar pode ser utilizada como selante e agente hemostático para o tratamento de lesões renais que exijam reconstrução do seu parênquima, em coelhos;
- O biopolímero provocou uma reação inflamatória tipo corpo estranho acentuada em comparação ao grupo controle, todavia sem comprometer o resultado cirúrgico; a presença de necrose e fibrose foi similar nos dois grupos;
- A utilização do biopolímero não apresentou complicações cirúrgicas agudas como formação de abscessos, fístulas ou hemorragia/hematomas.

REFERÊNCIAS



1. Melo FAD. Contribuição ao estudo cinético da produção de polissacarídeos extracelulares por *Zoogloea* sp em melão de cana-de-açúcar. [Dissertação Mestrado]. Recife-PE: Universidade Federal de Pernambuco; 2003.
2. Francolini I, Norris P, Piozzi A, Donelli G, Stoodley P. Usnic acid, a natural antimicrobial agent able to inhibit bacterial biofilm formation on polymer surfaces. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:4360-5.
3. Coelho M, Carrazoni P, Monteiro V, Melo F, Mota R, Tenorio Filho F. Biopolímero produzido a partir da cana-de-açúcar para cicatrização cutânea. *Acta Cir Bras*. 2001;17:11-3.
4. Pereira, 1999.
5. Evans A, Morey AF. Hemostatics agents and tissular glues in urologix injuries and wound healing, *Urol Clin N Am*. 2006; 33: 1-12.
6. Carneiro MJ, Fernandes A, Figueiredo CM, Fortes AG, Freitas AM. Synthesis of carbohydrate based polymers. *Carbohydr Polym*. 2001; 45: 135-8.
7. Varma AJ, Kennedy JF, Galgali P. Syntetic polymers functionalized by carbhoydrates: a review. *Carbhydr Polym*. 2004; 56: 429-45.
8. Madla S, Methacanob P, Prasitsilb M, Kirtikara K. Chararacterization of biocompatible fungi-derivad polymers that induce IL-8 production. *Carbohydr Polym*. 2005; 59: 275-80.
9. Santucci RA, Wessells H, Bartsch G, Descotes J, Heyns CF, McAninch JW, Nash P, Schmidlin F. Evaluation and management of renal injuries: a consensus statement of renal trauma. *BJU Int*. 2004;94: 27-32.
10. McAninch JW. Surgery for renal trauma. In: Novick AC, Pontes ES, Stroom SB, editors. *Stewart's operative urology*. 2nd ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1989. p. 234-9.
11. O'Malley RL, Hayn MH, Hellenthal NJ, Kim HL, Underwood W, Schwaab T. Safety and outcomes of surgical treatment of renal cell carcinoma in the elderly. *Can J Urol*. 2012; 19:611-7.
12. Crépel M; Bensalah K; Patard JJ. Does tumour diameter still limit the indications for partial nephrectomy in 2008? *Prog Urol*. 2998; 18:487-92.

13. Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AE, Craig AP. Campbell's Urology, 10.ed. Philadelphia: WB Saunders; 2012.
14. Lynch TH, Martinez-Pineiro L, Plas E. EAU guidelines on urological trauma. Eur Urol. 2005; 47:1-15.
15. Jankowski JT, Spirkak JP. Current Recommendations for Imaging in the Management of Urologic Traumas. Urol Clin N Am. 2006; 33:365-76.
16. Park DS, Jang WK. Secure reconstruction technique after partial nephrectomy irrespective of tumor size and location, Int Braz J Urol. 2009;;35:416-26.
17. Rane A, Rimington PD, Heyns CF, van der Merwe A, Smit S, Anderson C. Evaluation of a hemostatic sponge (TachoSil) for sealing of the renal collecting system in a porcine laparoscopic partial nephrectomy survival model. J Endourol. 2010; 24:599-603.
18. Hick EJ, Morey AF, Harris RA, Morris MS. Gelatin matrix treatment of complex renal injuries in a porcine model. J Urol. 2005;173:1801-4.
19. Figlin RA. Renal cell carcinoma: management of advanced disease. J Urol 1999;161:381-7.
20. Wunsch-Filho V. Insights on diagnosis, prognosis and screening of renal cell carcinoma. Sao Paulo Med J 2002;120:163-4.
21. Shapiro RA, Skinner DG, Stanley P, Edelbrock HH. Renal tumors associated with tuberous sclerosis: the case for aggressive surgical management. J Urol. 1984;132:1170-4.
22. Neumann HP, Zbar B. Renal cysts, renal cancer and von Hippel-Lindau disease. Kidney Int. 1997; 51:16-26.
23. Gelabert MA. Treatment of renal cell carcinoma: new opportunity for coordination between uro-oncology and oncology. Actas Urol Esp. 2007; 31:805-6.
24. Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 1999. CA Cancer J Clin. 1999;49:8-31.
25. Chisholm GD. Nephrogenic ridge tumors and their syndromes. Ann N Y Acad Sci. 1974; 230:403-23.
26. Pollack HM, Banner MP, Arger PH, Peters J, Mulhern CB Jr, Coleman BG. The accuracy of gray-scale renal ultrasonography in differentiating cystic neoplasms from benign cysts. Radiology 1982;143:741-5.

27. Sheth S, Scatarige JC, Horton KM, Corl FM, Ishman EK. Current concepts in the diagnosis and management of renal cell carcinoma: role of multidetector CT and three-dimensional CT. *Radiographics*. 2001;21:S237-54.
28. Bosniak MA. The current radiological approach to renal cysts. *Radiology*. 1986;158:1-10.
29. Bosniak MA. Difficulties in classifying cystic lesions of the kidney. *Urol Radiol*. 1991;13:91-3.
30. Bosniak MA. Problems in the radiologic diagnosis of renal parenchymal tumors. *Urol Clin North Am*. 1993;20:217-30.
31. Rofsky NM, Bosniak MA. MR imaging in the evaluation of small (< or = 3.0 cm) renal masses. *Magn Reson Imaging Clin N Am*. 1997;5:67-81.
32. Maki DD, Birnbaum BA, Chakraborty DP, Jacobs JE, Carvalho BM, Herman GT. Renal cyst pseudoenhancement: beamhardening effects on CT numbers. *Radiology*. 1999;213:468-72.
33. Bae KT, Heiken JP, Siegel CL, Bennett HF. Renal cysts: is attenuation artifactually increased on contrast-enhanced CT images? *Radiology*. 2000; 216:792-6.
34. Gill IS, Desai MM, Kaouk JH, Meraney AM, Murphy DP, Sung GT, Novick AC. Laparoscopic partial nephrectomy for renal tumor: duplicating open surgical techniques. *J Urol*. 2002;167:469-7.
35. Gill IS, Matin SF, Desai MM, Kaouk JH, Steinberg A, Mascha E, Thornton J, Sherief MH, Strzempkowski B, Novick AC. Comparative analysis of laparoscopic versus open partial nephrectomy for renal tumors in 200 patients. *J Urol*. 2003;170:64-8.
36. Frank I, Blute ML, Chevillie JC, Lohse CM, Weaver AL, Zincke H. Solid renal tumors: an analysis of pathological features related to tumor size. *J Urol*. 2003;170:2217-20.
37. Lee CT, Katz J, Shi W, Thaler HT, Reuter VE, Russo P. Surgical management of renal tumors 4 cm or less in a contemporary cohort. *J Urol*. 2000, 163: 730-6.
38. Uzzo RG, Novick AC. Nephron sparing surgery for renal tumors: indications, techniques and outcomes. *J Urol*. 2001;166:6-18.
39. Akay AF, Sahin H, Nergiz Y, Aflay U, Birkan MK. Reconstruction techniques in renal injury. *Saudi Med J*. 2005; 26: 1750-4.

40. Hutchinson RW, Broughton D, Barbolt TA, Poandl T, Muench T, Rockar R, Johnson M, Hart J. Hemostatic effectiveness of Fibrin pad after partial nephrectomy in swine. *J Surg Res.* 2011; 167; 291-8.
41. Attar KH, Namasivayam J, Green J, Peters J. Kidney salvage using the fibrinogen and thrombin coated sponge TachoSil during nephron-sparing surgery for the resection of large renal tumors, *Ann R Coll Surg Engl.* 2008; 90: 1-4.
42. Okiyama AM, Motoki K, Yamnanak M. Bacterial cellulose II. Processing of the gelatinous cellulose for food materials. *Food Hydr.* 1992;6: 479-87.
43. Sutherland IW. Polysaccharase for microbial exopolysaccharides. *Carbohydr Polym.* 1999; 38: 319-28.
44. Nêris AM. Desenvolvimento e caracterização de gel de biopolímero produzido pela fermentação de melão de cana-de-açúcar pelo microorganismo *Zoogloea sp.* contendo ácido úrico. [Dissertação Mestrado]. Recife-SP: Universidade Federal de Pernambuco; 2007.
45. Haag AP, Mairec RM, Combied J, Geeseya GG. Bacterially derived biopolymers as wood adhesives. In *J Adh & Adh.* 2004; 24: 495-502.
46. Troyano E, Lee SP, Rhab CK, Sinskey AJ. Presence of acetate and succinate in exopolysaccharide produced by *Zoogloea Ramigera*. *Carbohydr Polym.* 1996; 31: 35-40.
47. Cavalcante AHM, Carvalho Jr. LB, Carneiro da Cunha MG. Cellulosic Exopolysaccharide produced by *Zoogloea sp* as a film support for trypsin immobilisation. *Bio Eng J.* 2006; 29:258-61.
48. Paterson-Beedle M, Kennedy JF, Melo FAD, Lloyd LL, Medeiros V. A cellulosic exopolysaccharide produced from sugarcane molasses by a *Zoogloea sp.* *Carbohydr Polym.* 2000; 42: 375-83.
49. Beedle C, Kennedy J, Melo F, Lloyd L, Medeiros V. Cellulosic exopolysaccharide produced from sugarcane molasses by a *Zoogloea sp.* *Carbohydrate Polymers.* 2000;42:375-83.
50. Castro C, Aguiar J, Melo F, Silva W, Marques E, Silva D. Citotoxicidade de biopolímero de cana-de-açúcar. *An Fac Med Univ Fed Pernamb.* 2004;49:119-23.
51. Lima F, Lima J, Hirakawa P, Medeiros Júnior D, Lima F, Aguiar J. Resposta inflamatória a membranas de biopolímero de cana-de-açúcar e telas de

- polipropileno R implantadas no peritônio parietal de ratos. *An Fac Med Univ Fed Pernamb.* 2005;50:37-40.
52. Aguiar J, Lins E, Marques S, Coelho A, Rossiter R, Melo R. Sugarcane biopolymer patch in femoral artery angioplasty in dogs. *Acta Cir Bras.* 2007; 22:77-81.
53. 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.
54. Albuquerque PCVC, Aguiar JLAA, Santos SM, Pontes Filho N, Mello RJV, Costa MLCR, Albuquerque CMC, Almeida TMS, Santos AHS, Silva JC. Comparative study of the areas of osteochondral defects produced in the femoral condyles of rabbits treated with gel of sugarcane biopolymer. *Acta Cir Bras.* 2011; 26: 383-6.
55. de 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; 55:517-21.
56. Hwang K, Kim SG, Kim DJ. Hypoglossal-facial nerve anastomosis in the rabbits using laser welding., *Ann Plast Surg.* 2008; 61:452-6.
57. Oct & Gul NY, Topal A, Cangul IT, Yanik K. The effects of topical tripeptide copper complex and helium-neon laser on wound healing in rabbits. *Rev Dermatol.* 2008; 19:7-14.
58. Bjorses K, Holst J. Topical Haemostatics in renal trauma – an evaluation of four different substances in an experimental setting. *J Trauma.* 2009; 66:602-11.
59. Sakr MA, Desouki SE, Hegab SE. Direct percutaneous embolization of renal pseudoaneurysm. *J Endourol.* 2009; 23:875-8.
60. Jun & Martínez-Mier G, García-Almazán E, Esselente-Zetina N, Tlatelpa-Mastranso MA, Méndez-López MT, Estrada-Oros J. Trauma contuso en un riñón trasplantado con preservación de la función renal, *Cir Cir.* 2006; 74:205-8.
61. Barbolt T, Odin M, Leger M, Kangas L. Pre-clinical subdural tissue reaction and absorption study of absorbable hemostatic devices. *Neur Res.* 2001; 23; 537-42.
62. Sabel M, Stummer W. The use of local agents: Surgicel and Surgifoam. *Eur Spine J.* 2004; 13: S97-S10.
63. Dineen P. Antibacterial activity of oxidized regenerated cellulose. *Surg Gynecol Obst.* 1976; 142: 481-6.
64. Dineen P. The effect of oxidized regenerated cellulose on experimental intravascular infection. *Surgery.* 1977; 82: 576-9.

65. Massone F. editor. Anestesiologia Veterinária. Farmacologia e técnica, 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003.
66. Silva LD. editor. 1630-1654 Holandeses em Pernambuco. Recife: 2005.
67. US Food and Drug Administration. Electronic and information technology accessibility standards economic assessment. [serial Internet]. Nov 2000. [citado em 2007 Out 11]. Available from: www.fda.gov/accessibility.html.
68. Silva D, Aguiar J, Marques A, Coelho A, Rolim Filho E. Miringoplastia com enxerto livre de membrana de biopolímero de cana-de-açúcar e fascia autóloga em Chinchilla laniger. An Fac Med Univ Fed Pernamb. 2006; 51:45-51.
69. Mayer DLB, Araújo JG, Leal MC, Neto SSC, Ataíde RF, Mello RJV. Membrana do biopolímero da cana-de-açúcar: avaliação experimental na orelha média. Braz J Otorhinolaryngol. 2011; 77:44-50.
70. Polland AR, Graversen JA, Mues AC, Tal O, Korets R, Landman J. Pilot study evaluation of standard laparoscopic suturing and a novel parenchymal apposition mechanism for minimally invasive renal reconstruction. J Laparoendosc Adv Surg Tech. A. 2011; 21: 823-7.
71. Olweny EO, Park SK, Seideman CA, Best SL, Cadeddu JA. Self-retaining barbed suture for parenchymal repair during laparoscopic partial nephrectomy; initial clinical experience. BJU Int. 2012; 109:906-9.
72. Masumori N, Itoh N, Takahashi S, Kitamura H, Nishida S, Tsukamoto T. New technique with combination of felt, Hem-o-lok and Lapra-Ty for suturing the renal parenchyma in laparoscopic partial nephrectomy. Int J Urol. 2012; 19:273-6.
73. Gehrig T, Fonouni H, Müller-Stich BP, Golriz M, Abbassi S, Nickel F, Esmailzadeh M, Brand K, Rad MT, Hughes KM, Hinz U, Büchler MW, Gutt CN, Mehrabi A. Comparison of different surgical techniques in distal pancreatectomy: an experimental study in a porcine model. Surg Innov. 2011; 18:329-37.
74. Cormio L, Perrone A, Di Fino G, Ruocco N, De Sisti M, de la Rosette J, Carrieri G. TachoSil® Sealed tubeless percutaneous nephrolithotomy to reduce urine leakage and bleeding: outcome of a randomized controlled study. J Urol. 2012; 188:145-50.
75. Pedersen TB, Honge JL, Pilegaard HK, Hasenkam JM. Comparative study of lung sealants in a porcine ex vivo model, Ann Torac Surg. 2012; 94:234-40.
76. Pocar M, Passolunghi D, Bregasi A, Donatelli F. TachoSil for postinfarction ventricular free wall rupture. Interact Cardiovasc Thorac Surg. 2012; 14:866-7.

77. Tokgöz H, Bektas S, Hanci V, Erol B, Akduman B, Karakaya K, Hakimolu S, Aydin Mungan N. Postoperative adhesions after application of topical hemostatic agents: outcomes in a rat partial nephrectomy model. *Urology*. 2011; 78: 970-14.
78. Zacharoulis D, Lazoura O, Rountas C, Katsimboulas M, Mantzianas G, Tzovaras G, Habib N. Experimental animal study of a novel radiofrequency endovascular occlusion device. *Am J Surg*. 2011; 202:103-9.
79. Anadol E, Aoyama M, Kuzu A, Karayalcin K, Koksoy C, Yerdel MA. Use of polyglycolic acid mesh with a new Double pursestring technique in renal trauma: an experimental study. *Injury*. 1993; 24: 158-60.



Apêndice A

Produzido segundo as Instruções aos autores da
INTERNATIONAL BRAZILIAN JOURNAL UROLOGY

International braz j urol - Home Page - SciELO

Artigo Original

“Esponja do Biopolímero da Cana-de-Açúcar em Trauma Renal de Alto Grau : Estudo Experimental em Coelhos”

Tavares LHM, Lima SVC, Aguiar L, Paz AR, Melo FAD.

Departamento de Cirurgia da Universidade Federal de Pernambuco, Hospital das Clínicas, Recife, Brasil e
Departamento de Cirurgia da Universidade Federal da Paraíba, Hospital Universitário Lauro Wanderley, João
Pessoa, Brasil.

ABSTRACT

PURPOSE: To analyze the effects of the biopolymer sponge cane sugar in an experimental model of renal trauma in rabbits.

MATERIALS AND METHODS: An experimental study, prospective, paired with 12 rabbits from New Zealand lineage. After induction of bilateral renal trauma and high-grade, the biopolymer sponge of cane sugar was used in hemostasis and reconstruction of the right renal parenchyma, compared with the sponge Surgifoam®, in the left kidney. The animals were sacrificed after four weeks. We performed a comparative histological analysis of the effects on kidney surgery and analyzed statistically.

RESULTS: There was more inflammatory reaction and adhesions early in the experimental group compared to control. However no influence on efficacy and biocompatibility of the biopolymer. There was none of the groups in massive bleeding, hematoma, fistula or urinary stone formation.

CONCLUSION: A biopolymer sponge cane sugar has shown good efficacy in relation to hemostatic control and reconstruction of the renal parenchyma without causing major complications. Future studies may direct its routine use in urologic practice.

Key words: Renal Injury, Surgical Hemostasis, absorbable implants, inflammation, biocompatible materials

Artigo Original

RESUMO

OBJETIVO: Analisar os efeitos da esponja do biopolímero da cana-de-açúcar em um modelo experimental de trauma renal em coelhos.

MATERIAL E MÉTODO: Estudo experimental, prospectivo e pareado com 12 coelhos da linhagem Nova Zelândia. Após indução de trauma renal bilateral e de alto grau, a esponja do biopolímero da cana-de-açúcar foi utilizada na hemostasia e reconstrução do parênquima renal direito, comparada com a esponja de Surgifoam®, no rim esquerdo. Os animais foram sacrificados após quatro semanas. Foi realizada uma análise histológica comparativa dos efeitos sobre rins operados e analisada estatisticamente.

RESULTADOS: Houve maior reação inflamatória e mais aderências precoces no grupo experimental em comparação ao controle. Todavia não influenciou na eficácia e na biocompatibilidade do biopolímero. Não houve em nenhum dos grupos hemorragia maciça, formação de hematoma, fístulas ou cálculos.

CONCLUSÃO: A esponja do biopolímero da cana-de-açúcar demonstrou boa eficácia em relação ao controle hemostático e de reconstrução do parênquima renal, sem causar complicações importantes. Futuros estudos podem direcionar seu uso rotineiro na prática urológica.

Key words: Renal Injury, Hemostasia Cirúrgica, implantes absorvíveis, inflamação, materiais biocompatíveis.

Introdução/Introduction

A composição do biopolímero da cana-de-açúcar (BPCA) consiste de vários exopolissacarídeos, sendo 87,6% de glicose. Os polissacarídeos são sintetizados e excretados pela *Zoogloea sp.*, quando esta bactéria permanece em um meio rico em melaço da cana-de-açúcar¹

O biopolímero foi sintetizado inicialmente na Estação Experimental de Cana de Açúcar de Carpina, da Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, a partir de 1990. O processo de produção foi otimizado, obtendo-se no presente uma taxa de conversão de 50%.^{1,2}

A partir de 2001 foi desenvolvida, no Núcleo de Cirurgia Experimental da UFPE, uma série de ensaios químicos com o objetivo de adequar o biopolímero, em estado de pureza, para diversas aplicações cirúrgicas, dentre estas o uso em incontinência urinária e cicatrização de feridas cutâneas.^{3,4}

O rim é o terceiro órgão mais lesado no trauma abdominal, na grande maioria das vezes seguindo trauma fechado, que em 90% dos casos são contusões renais ou lacerações do parênquima menores que 1 cm. Embora os traumatismos penetrantes sejam responsáveis por apenas 10% dos ferimentos renais, geralmente são mais graves e necessitam de exploração cirúrgica, o que muitas vezes leva à perda do órgão.⁵

Necessitamos, portanto, de novas substâncias que ajudem em casos de lesões renais extensas. Existem, na literatura, alguns relatos sobre substâncias hemostáticas e selantes de fibrina usadas como auxiliares na reconstrução do parênquima renal lesado.^{6,7}

Todavia, ainda não existem relatos sobre a eficácia da membrana do biopolímero da cana-de-açúcar no trauma renal, assim como as suas reações teciduais. Baseado nessas informações, iremos investigar experimentalmente os efeitos do BPCA em rins de coelhos com trauma renal extenso (grau IV).

Material e Método / Materials and Methods

O desenho do estudo foi experimental, prospectivo, longitudinal e pareado. A análise estatística utilizou os testes: não paramétrico de Wilcoxon, *Shapiro-Wilks*, teste-t de Student emparelhado e o teste de McNemar. Vinte e quatro unidades renais de 12 coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), da linhagem Nova Zelândia, machos adultos, sadios, com peso entre 2 a 3Kg, foram submetidas a um trauma renal extenso, usando bisturi de lâmina nº 15, com 1cm de profundidade por 1cm de extensão. Em cada coelho, o rim direito foi suturado com fio de poliglactina 4/0, usando-se, entre as bordas do ferimento, uma esponja do BPCA, e no rim esquerdo, uma esponja de Surgifoam® de uso corrente nos traumas de órgãos parenquimatosos, como controle. Após 4 semanas, os animais foram sacrificados com altas doses de anestésicos e os rins foram retirados para análise histológica. O tempo total do procedimento e o tempo para hemostasia foram cronometrados. A perda sanguínea foi mensurada. A histologia foi avaliada por um único patologista experiente e teve como critérios a intensidade da reação inflamatória provocada e a presença de fibrose do tecido em contato com o material.

Alguns critérios semiquantitativos foram adotados. A intensidade do processo inflamatório foi descrita a partir da observação da celularidade no exsudato, da extensão do processo e pela presença de necrose celular. A intensidade da atividade inflamatória foi assim classificada: nula - ausência de sinais inflamatórios, leve (1x) - exsudato com infiltração celular em pequena quantidade, reação envolvendo até 1/3 do tecido estudado, ausência de necrose; moderada (2x) - exsudato com infiltração celular em quantidade moderada, reação envolvendo entre 1/3 e 2/3 do tecido, presença de pouca necrose; intensa (3x) - exsudato com

infiltração celular em grande quantidade, reação envolvendo mais que 2/3 da amostra, necrose celular intensa. A fibrose caracterizou-se pela presença de fibroblastos e deposição de colágeno na matriz extracelular. A fim de confirmar a presença da fibrose, em algumas lâminas selecionadas pelo patologista, além da coloração HE, também foi utilizada a coloração Picrosirius. O presente estudo teve aprovação integral do Comitê de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas onde foi realizado o experimento e está registrado sob o protocolo nº 23076.031529/2010-77.

Resultados / Results

O peso médio dos animais foi de 2.489g. O peso dos rins variou entre 5 e 10g. O tempo cirúrgico médio do procedimento foi de 30,33min. O tempo médio para hemostasia com o BPCA foi de 211,2s e no controle de 203,4s. A perda de sangue foi avaliada através do número de gazes embebidas completamente por sangue, sendo leve (apenas 1 gaze), moderada (2 a 5 gazes) e acentuada (acima de 5 gazes).

Variável	Grupo	Média	Mediana	DP	Valor-p
Peso do Rim (g)	BPCA	10,00	10,00	3,02	0,058
	Controle	12,50	10,00	4,52	
Tempo de Hemostasia (s)	BPCA	211,17	209,50	19,92	0,195
	Controle	203,42	201,00	18,66	
Peso do animal (g)	-	2489,25	2521,00	259,52	-
Tempo de cirurgia (min)	-	30,33	29,00	8,02	-

TABELA 1 - Medidas descritivas por Grupo e sua comparação pelo teste de Wilcoxon.

Por ocasião da segunda fase do experimento, à inspeção macroscópica, não foram constatadas deformidades na cicatrização do parênquima renal, não observamos hematomas perirrenais, abscessos, formação de cálculos urinários, presença de fístula ou urinoma em nenhuma unidade renal.

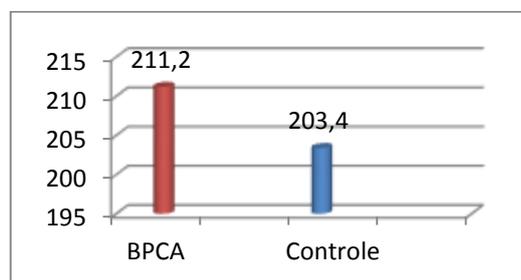


Gráfico 1 – Tempo Médio para Hemostasia em segundos (p=0.195)

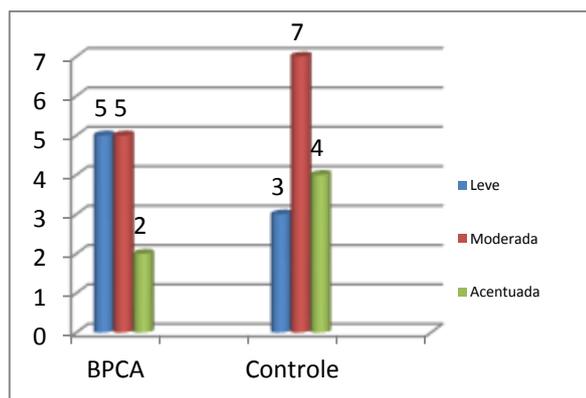


Gráfico 2 – Perda Sanguínea Intra-operatória. P=0.480

Todavia foram identificadas aderências cicatriciais entre o rim e órgãos adjacentes, principalmente do lado direito, ou seja, no lado em que usamos o BPL. Não havia evidência de alteração na coloração ou na textura dos enxertos de membrana do biopolímero da cana-de-açúcar ou de Surgifoam®, os quais estavam recobertos com uma fina camada de tecido conjuntivo.



Foto 1 – Boa cicatrização do BPCA



Foto 2 – Presença de fortes aderências entre o BPCA e as alças intestinais.

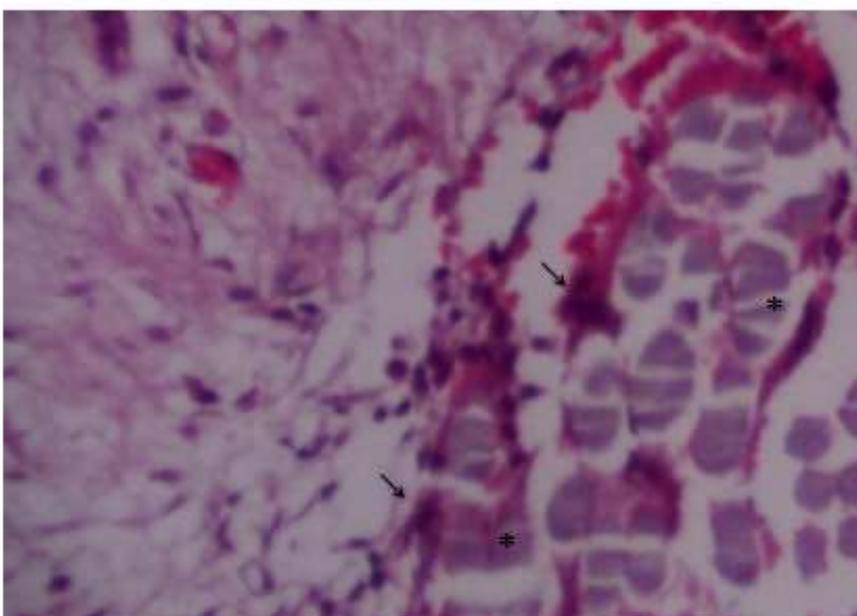
O grau de reação inflamatória foi classificado como leve, moderada e acentuada.

Reação inflamatória	BPCA	Controle	Valor-p
Leve	1	6	0,004
Moderada	0	5	
Acentuada	11	1	
Total	12	12	-

Tabela 2 - Reação inflamatória por Grupo e sua comparação pelo teste de Wilcoxon.

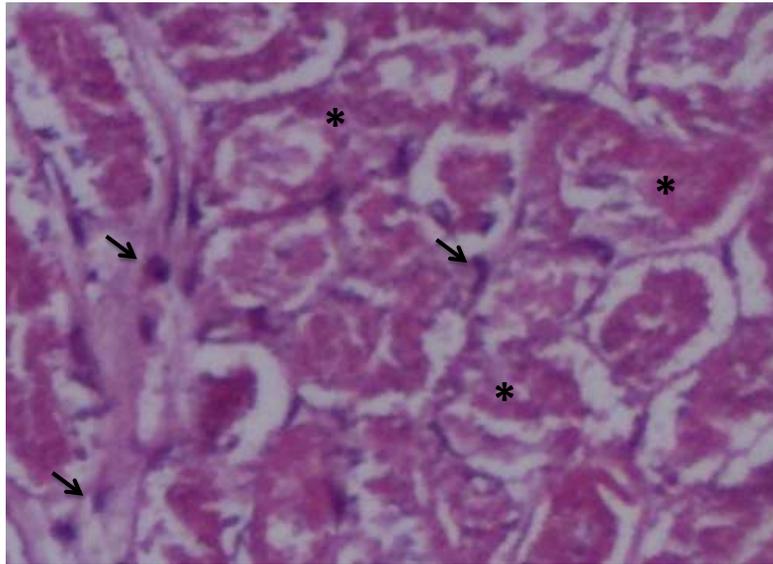
Análises histológicas foram obtidas a fim de identificar e quantificar a presença de reação inflamatória, fibrose e necrose no material estudado.

Foto 3 -



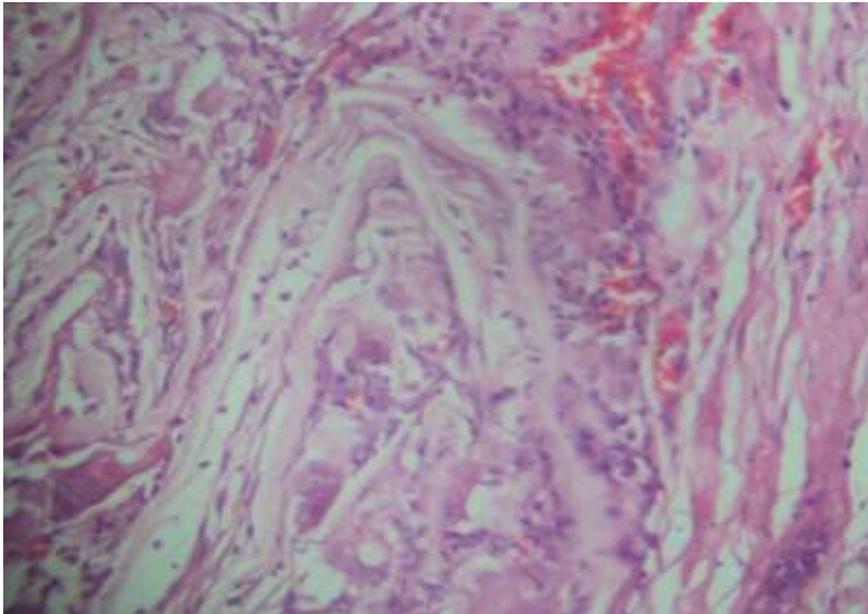
Reação inflamatória do tipo corpo estranho com células gigantes multinucleadas (setas) fagocitando material exógeno (*)

Foto 4

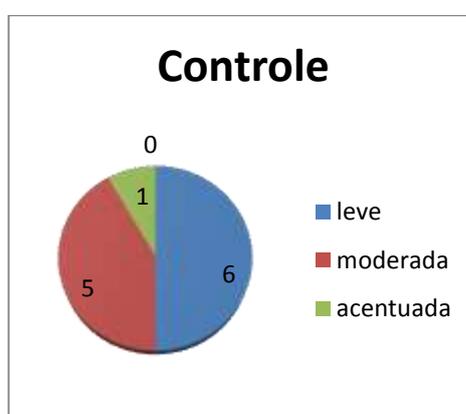
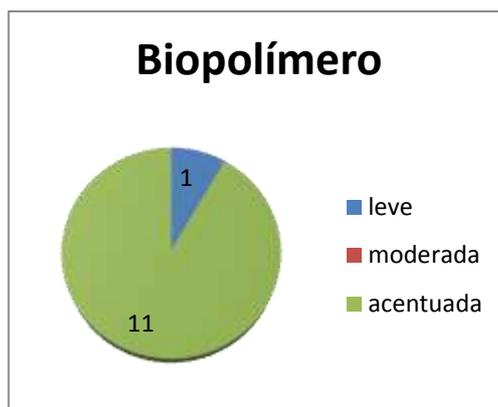


Tecido necrótico (*) permeado por células inflamatórias (setas)

Foto 5

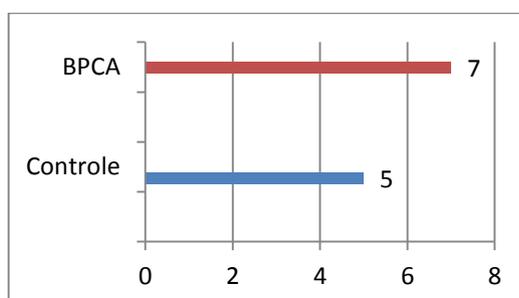


Reação de corpo estranho 1+/3+

Gráfico 3 – Grau de Reação Inflamatória entre os Grupos – $p = 0.004$

Fibrose	BPCA	Controle	Valor-p
Não demonstrada	2	0	0,500
Leve	8	10	
Moderada	2	2	
Acentuada	0	0	
Total	12	12	-

TABELA 3 - Fibrose por Grupo e sua comparação pelo teste de McNemar.

Gráfico 4 – Incidência de Necrose em cada Grupo. $P=0.414$

Discussão / Comments

O rim é o terceiro órgão mais lesado no trauma abdominal, na grande maioria das vezes seguindo trauma fechado, que em 90% dos casos são contusões renais ou lacerações do parênquima menores que 1 cm. Embora os traumatismos penetrantes sejam responsáveis por apenas 10% dos ferimentos renais, geralmente são mais graves e necessitam de exploração cirúrgica.⁸

De acordo com a Associação Americana de Cirurgia do Trauma, as lesões renais são classificadas em: grau I- contusões, escoriações e hematomas subcapsulares com cápsula renal intacta; grau II- pequenas lacerações do parênquima estendendo-se para o córtex superficial, não envolvendo a medula ou o sistema coletor; grau III- grandes lacerações do parênquima estendendo-se através do córtex e da medula renal, mas não envolvendo o sistema coletor; grau IV- grandes lacerações do parênquima estendendo-se para o córtex e da medula renal atingindo o sistema coletor, bem como qualquer lesão vascular de vasos segmentares ou principais, com hemorragia contida localmente; e grau V- múltiplas e profundas lacerações do parênquima, estendendo-se para o córtex e a medula renal e para o sistema coletor, bem como lesão vascular ou avulsão dos vasos principais, causando extensa hemorragia ou trombose dos vasos principais.⁸

O tratamento do trauma renal é conservador em 98% dos casos (praticamente todos os casos grau I, II e III, e alguns casos grau IV e V). As indicações absolutas de exploração cirúrgica de trauma renal são instabilidade hemodinâmica, hematoma perirrenal pulsátil ou em expansão e sangramento persistente.⁸

Para que consigamos aumentar o índice de preservação renal, o uso de agentes hemostáticos, tais como o Gelfoam®, Surgicell®, Tacho Sil® ou o Surgifoam®, podem ser necessários em alguns casos mais graves e têm uma alta eficácia, tendo, dessa forma, um papel cada vez maior na correção das lesões do trato urinário.

Com base na experiência da cirurgia poupadora de néfrons, em tumores renais pequenos, até uma matriz de gelatina foi aplicada em um modelo experimental de trauma renal complexo em porcos e foi demonstrada que a perda sanguínea total foi significativamente menor do que o tratamento convencional com suturas apenas.⁹

A membrana de biopolímero já foi testada em relação à citotoxicidade, avaliada por índice de adesão, produção de óxido nítrico e viabilidade celular de macrófagos alveolares em ratas e não apresentou resposta tóxica para as células da cultura. O biopolímero de cana-de-açúcar evidenciou alta biocompatibilidade frente aos três ensaios de citotoxicidade.¹⁰

O uso do BPL foi introduzido experimentalmente em 2002, por pesquisadores da UFPE que testaram seu efeito sobre a cicatrização de feridas cutâneas com bons resultados.³

A seguir, vários outros estudos também usaram o BPCA como substituto em diversas situações, tais como membrana timpânica, osso, artérias e até túnica vaginal.^{11,12,13}

Um grupo sueco testou experimentalmente quatro substâncias hemostáticas em rins de ratos: gelatina, trombina bovina, fator VIIa e um polissacarídeo microporoso. Concluíram que os produtos que contém a gelatina obtiveram o mais rápido e melhor grau de hemostasia.¹⁴

A utilização de substâncias hemostáticas no parênquima renal atualmente tem suas pesquisas direcionadas principalmente nas cirurgias poupadoras de néfrons, sobremaneira nas cirurgias para pequenos tumores renais.¹⁵

Um produto bastante atual e que tem demonstrado eficácia, segurança e biocompatibilidade é a esponja composta por fibrinogênio e trombina (TachoSil®). Alguns trabalhos na literatura têm corroborado a sua utilização.^{16,17}

O presente estudo demonstrou uma alta eficácia da esponja do biopolímero, no que diz respeito à hemostasia, ausência de reações inflamatórias prejudiciais à sua função, ausência de

fístulas, hematoma ou formação de cálculos no interior da via urinária, complicações que poderiam, porventura, limitar ou até contra-indicar o seu uso clínico.

Conclusão / Conslusion

Baseado nos achados acima mencionados, conclui-se que a esponja do biopolímero da cana-de-açúcar obteve eficácia satisfatória na hemostasia renal, assim como não causou maiores efeitos deletérios ao parênquima renal remanescente, quando comparado ao controle, o que lhe confere uma boa perspectiva para uso futuro na prática clínica, tendo em vista que seu custo final deverá ser bastante inferior aos produtos usados atualmente. Trabalhos posteriores poderão corroborar esses resultados e vislumbrar mais de perto o seu uso na prática médica diária.

Conflito de Interesses / Conflict of Interest

Não declarado / None declared

Referências bibliográficas:

1. Paterson-Beedle M, Kennedy JF, Melo FAD, Lloyd LL, Medeiros V. A cellulosic exopolysaccharide produced from sugarcane molasses by a *Zoogloea* sp. Carbohydrate Polymers 2000;42(4):375-83
2. Melo FAD Contribuição ao Estudo Cinético da Produção de Polissacarídeo Extracelulares por *Zoogloea* sp em Melaço de Cana-de-Açúcar, [Tese de Doutorado], Recife 2003.
3. Coelho COC, Carrazoni PG, Monteiro VLC, Melo FAD, Mota RA, Tenório Filho F. Biopolímero produzido a partir da cana-de-açúcar para a cicatrização cutânea Acta Cirúrgica Brasileira 2001; 17: 11-13.
4. 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.
5. Jonathan LW, Avery BN, Frederick PR, Hunter W. Renal and extrarenal predictors of nephrectomy from the national trauma data bank. J Urol. 2006; 175(3 Pt 1):970-5.
6. Peters J, Green J, Namasivayam J, Attar KH. Kidney salvage using the fibrinogen-and thrombin- coated sponge TachoSil® during nephron-sparing surgery for the resection of large renal tumors. Ann R Coll Surg Eng. 90, 1-3, 2008.
7. Roa Saavedra, Ximena MD; Cajigas Plata, Jaime Andrés MD; Quiroga Matamoros, William MD y Citarella Otero, Danilo MD. *urol.colomb. Vol. XVII, No. 1: pp 55-62, 2008.*
8. Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AE, Craig AP. Campbell's Urology, 7.ed. Philadelphia: WB Saunders; 1998.
9. Hick et al, Gelatin Matrix Treatment of Complex Renal Injuries in a Porcine Model, Urol J, vol 173;5, 1801-1804, 2005.
10. Castro CMMB, Aguiar JLA, Melo FAD, Silva WTF, Marques E, Silva DB. Citotoxicidade de biopolímero de cana-de-açúcar. An Fac Med Univ Fed Pernamb. 2004 Jun; 49(2):119-23.)
11. Vilar F, Aguiar JL, Lima SV, Machado M, Pontes F, Lucena R, et al. Doença de Peyonie: estudo de um novo material com perspectiva de aplicação clínica. Int Braz J Urol. 2006 Jun; 32(2): 167-7.
12. Lima SV, Aguiar JLA, Pereira LA, Machado M, Andrade R, Lima R. A new dressing for hypospadias surgery. Int Braz J Urol. 2006 Jun; 32(2): 189-9.
13. Lins EM. Membrana de biopolímero de cana-de-açúcar como remendo em arterioplastias femorais em cães. [Tese Doutorado] Recife-PE. Universidade Federal de Pernambuco; 2007.
14. Bjorses K, Holst J, Topical haemostatics in renal trauma – an evaluation of four different substances in an experimental setting. J Trauma, 66: 602-611, 2009.
15. Hart J ET al, Hemostatic effectiveness of Fibrin pad after partial nephrectomy in swine. J surg Res; 167(2), 291-8, 2011.
16. Peters J et al, Kidney salvage using the fibrinogen and thrombin coated sponge TachoSil during nephron-sparing surgery for the resection of large renal tumors, Ann R Coll Surg Engl, vol 90, 1-4, 2008.
17. Pedersen TB; Honge JL; Pilegaard HK; Hasenkam JM, Comparative study of lung sealants in a porcine ex vivo model, Ann Torac Surg, 94(1):234-40, 2012. AND Cormio L; Perrone A; Di Fino G; Ruocco N; De Siati M; de la Rosette J; Carrieri G, TachoSil® Sealed Tubeless Percutaneous Nephrolithotomy to Reduce Urine Leakage and Bleeding: Outcome of a Randomized Controlled Study. J Urol, 188(1):145-50, 2012.)

Correspondende Adress:

Dr. Leandro Tavares

Professor de Urologia da UFPB

Av. Júlia Freire, 1200, sala 210, Expedicionários

João Pessoa – Paraíba

CEP – 58041-000

Fax: (55) 83 3244-5383

E-mail: lhmtavares@bol.com.br



Anexo A

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
Rua Prof. Moraes Rego S/N, Cidade Universitária
50.670-420 Recife – PE
Telefone: (081) 2126 8351
Fax: (081) 21268350



Recife, 22 de maio de 2010

Ofício nº 89/10

Da Comissão de Ética em Experimental Animal (CEEA) da UFPE
Para: **Leandro Henrique de Mesquita Tavares**
Aluno de Pós-Graduação em Cirurgia – CCS
Prof. Orientador: Dr. Salvador Vilar Correia Lima
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076.031529/2010-77

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 “**Esponja de biopolímero de cana-de-açúcar no tratamento de trauma renal extenso induzido em coelhos**”.

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,

Maria Teresa Jansen
Fisioterapeuta em Laboratório

Observação:
Origem dos animais: Criadouro; Coelhos; Califórnia;
Sexo: Machos; Idade: 120 dias; Número de animais
previsto no protocolo: 12 animais

NORMATIZAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

ABNT NBR 14724:21

4 Estrutura

A estrutura de trabalhos acadêmicos compreende: parte externa e parte interna.

Com a finalidade de orientar os usuários, a disposição de elementos é dada no Esquema 1:

Esquema 1 – Estrutura do trabalho acadêmico



4.1 Parte externa

Deve ser apresentada conforme 4.1.1 e 4.1.2.

4.1.1 Capa

Elemento obrigatório. As informações são apresentadas na seguinte ordem:

- a) nome da instituição (opcional);
- b) nome do autor;

¹ A nomenclatura dos títulos dos elementos textuais fica a critério do autor.