

ELMAR ALLEN FUGMANN

**VIABILIZAÇÃO DO PREPARO E DA APLICAÇÃO
DO ADESIVO DE FIBRINA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, para obtenção do título de Mestre.

CURITIBA
1993

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Barrionuevo

Co-orientador: Dr. Carlos Henrique Montanha Vianna

Dedico à minha esposa Conceição e aos meus filhos Hjalmar e Ilze Marie, que são os alvos de tudo que creio valer a pena.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Barrionuevo, meus sinceros agradecimentos por seu grande apoio e orientação que se estende muito além deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Carlos Henrique M. Vianna, co-orientador, que nos cedeu os materiais e seus conhecimentos de como manuseá-los.

Ao Prof. Dr. Osvaldo Malafaia, coordenador do Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Paraná, pelo estímulo e oportunidade da realização do mestrado.

Ao Prof. Dr. Emílio S. Granato, pelas tardes de sábado e pelos equipamentos utilizados em seu laboratório.

Ao Prof. Dr. João J. Maniglia, sempre à disposição quando necessário, pelo exemplo inspirador de profissional e pessoa.

Ao Prof. Dr. Leonidas Mocellin e ao Prof. Dr. Marcos Mocellin, professores titulares da Disciplina de Otorrinolaringologia, que me permitiram uma carreira iniciada no quarto ano do Curso de Medicina, como monitor, evoluindo por todos os degraus até a posição de professor auxiliar em sua disciplina.

Ao Prof. Dr. Osmar Martins, não o Diretor Geral do Hospital de Clínicas, mas o amigo que muitos desabafos soube ouvir, e de quem muitas orientações sábias tenho recebido.

Ao Dr. Antonio Ulisses Gavazzoni, que me descortinou os conhecimentos da laringe, vias respiratórias e vias digestivas altas, a ponto de se tornarem meus alvos profissionais.

Aos colegas Maurício Buschle, Mauro L. S. Ferreira, Antonio C. N. Nassif Filho e Brenda K. Schwabe, que muito mais do que colegas de profissão, são amigos.

Aos meus pais Hilmar Adelbert Johann Fugmann e Aline Vera Fugmann, que me proporcionaram todas as oportunidades possíveis, e ensinaram os caminhos pelos quais agora sigo.

A Deus, por me ter dado a oportunidade de conviver com todas estas pessoas.

SUMARIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Princípios da Adesividade Biológica.....	3
1.2 Riscos de Transmissão de Doenças Infecciosas e Infecção Local.....	10
1.3 Objetivos.....	11
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	12
2.1 Adesivo de Fibrina Heterólogo.....	12
2.2 Adesivo de Fibrina Homólogo.....	13
2.3 Adesivo Homólogo Comercial.....	14
2.4 Adesivo Autólogo.....	23
2.5 Cianocrilato.....	26
2.6 Gelatina Resorcil-Formaldeído.....	28
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	31
4 RESULTADO.....	38
5 DISCUSSÃO.....	40
6 CONCLUSÕES.....	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

1	FORMAÇÃO DO COÁGULO DE FIBRINA.....	5
2	FASES DA INIBIÇÃO DA FORMAÇÃO DO COÁGULO.....	8
3	PRODUÇÃO DO ADESIVO BIOLÓGICO DE FIBRINA.....	9

RESUMO

O adesivo biológico de fibrina pode ter seu uso difundido pela facilidade com que sua produção pode ser introduzida nas rotinas dos serviços cirúrgicos. Contando-se com uma centrífuga horizontal, 4 ml de citrato de sódio a 10%, 5,2 ml de solução saturada de sulfato de amônia, 0,5 ml de cloreto de cálcio, a 40 mosm/L, utilizando-se 36 ml de sangue do paciente e dispendo-se de aproximadamente uma hora, obtém-se em torno de 2 ml de fibrinogênio, pela técnica de precipitação pelo sulfato de amônia, o qual adicionado a igual volume de trombina bovina, produz 4 ml de adesivo, (Siedentop, 1986). É preferencialmente indicado para cirurgias eletivas ou de urgência, em caráter autólogo. Em se dispendo de uma estrutura de banco de sangue, com freezer que possa atingir 80° C negativos e centrífuga a frio, pode-se obter aproximadamente de 8 a 10 ml de fibrinogênio a partir de 200 ml de plasma, pela técnica de crioprecipitação, com demora de 48 horas (Dresdale, 1985). Em caráter autólogo, pode ser utilizado apenas em cirurgias eletivas, e em qualquer caso, inclusive de emergência, quando em caráter homólogo, devido o fato de poder ser armazenado.

ABSTRACT

The fibrin glue is underutilized despite its large range of applications, and this can be changed because it is easy to introduce its production in the routine of surgical services. With a horizontal centrifuge, 4 ml of 10% sodium solution, 5,2 ml of saturated solution of ammonium sulfate, 0,5 ml of a 40 mosm/L solution of calcium chloride, utilizing 36 ml of blood of the paciente, in about one hour it is possible to obtain more or less 2 ml of fibrinogen precipitated by the technic using ammonium sulfate. Adding same volume of bovine thrombin we have around 4 ml of adhesive. This way is best indicated for elective and urgency surgeries as autologous tissue adhesive. If there is a blood bank with a freezer that can reach 80° C negatives and a cold centrifuge, about 8 a to 10 ml of fibrinogen from 200 ml of plasma can be obtained in a period of 48 hours (Dresdale, 1985). As autologous adhesive, it can only be used in elective surgeries, but, in homologous way, it can be used in any surgery, even in emergencies, because it can be stored.

1 . INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

O adesivo biológico de fibrina é o melhor entre os adesivos teciduais. Seu uso em procedimentos cirúrgicos na Europa, principalmente na Alemanha e Áustria, é bastante difundido, (Siedentop, 1986). No Brasil são raros os serviços que o incorporam em sua rotina. Quando utilizado, é específico para uma determinada técnica, ou então, em caráter experimental.

Desde o início de sua utilização na Europa, o fibrinogênio utilizado no adesivo é extraído do plasma de um pool de doadores, pelo processo de crioprecipitação. Desta forma, obtém-se uma boa concentração da substância, como por exemplo, o produto Tissel da Indústria Immuno, de Viena. Extraído desta maneira, o adesivo é denominado de homólogo, (Epstein, 1986).

Por existir a possibilidade teórica do adesivo de fibrina, com fibrinogênio extraído do plasma de um pool de doadores, transmitir agentes infecciosos, a Food and Drug Administration, dos Estados Unidos da América, publicou uma portaria no FDA Bull, 8:15, de 1978, proibindo o seu uso dentro do seu território, (Siedentop, 1986). Na Europa, até o presente momento, não se constatou transmissão de qualquer doença infecciosa.

Com a importância crescente do uso do adesivo de fibrina em inúmeras cirurgias, nas mais diferentes especialidades, desenvolveram-se técnicas para a extração do fibrinogênio do

plasma do próprio paciente, no qual o adesivo seria utilizado. Este adesivo chamado de autólogo, foi desenvolvido por Siedentop em 1985.

Além disto, visando reduzir a possibilidade de transmissão de agentes infecciosos, realizaram-se trabalhos utilizando-se plasma de um único doador, (Dresdale, 1985). Desta forma, consegue-se a produção de um bom volume de fibrinogênio e a cola resultante pode ser utilizada nele mesmo e, em outros procedimentos. O risco de tal procedimento reduz para o de uma transfusão de uma única unidade de plasma, a possibilidade de transmissão de doença infecciosa. Este adesivo, cujo fibrinogênio deriva do plasma de doador, chama-se homólogo, (Dresdale, 1985).

O adesivo biológico ideal deve possuir uma série de propriedades, satisfeitas pelo adesivo de fibrina, de modo bastante bom. Estas propriedades, citadas por Draf (1980), são:

1. Boa adesividade, unindo com firmeza os tecidos vivos, mesmo em campo úmido.
2. Alta elasticidade.
3. Boa tolerância pelos tecidos, não provocando irritação local. Não deve exercer ação tóxica sistêmica ou local.
4. Completamente reabsorvível (biodegradável).
5. Gerar proteção local no processo de cicatrização.
6. Ser hemostático, e funcionar bem em presença de anticoagulante sistêmico e coagulopatia.
7. Comparado com a sutura convencional, deve apresentar igual ou menor dano tecidual.

Tendo em mãos um adesivo tecidual com características próximas ao do ideal, faz-se necessário tornar sua elaboração fácil e barata. Isto obtido, seu uso será

estimulado, incorporando-o na rotina de procedimentos cirúrgicos corriqueiros. Técnicas complexas e métodos difíceis e trabalhosos, afastam o cirurgião do uso do adesivo no seu dia-a-dia. Quando o preparo deste adesivo se tornar tão fácil e prático quanto solicitar um fio de sutura, ou quanto elaborar e usar o adesivo plástico, como por exemplo o cianoacrilato, então sua aplicação poderá ser difundida mesmo em centros cirúrgicos de hospitais de pequeno porte.

1.1 Princípios da Adesividade da Cola Biológica (Rapaport, 1978)

O princípio da adesividade da cola de fibrina é o mesmo da formação do coágulo hemostático em vaso lesado no organismo *in vivo*. Sabe-se que o processo da cicatrização da lesão ou ferida *in vivo* inicia quando cessa o sangramento. No momento que um vaso lesado se abre em solução de continuidade, dá-se o início da formação de um coágulo, que tem por função a hemostasia. O fibrinogênio, as plaquetas e as hemácias fazem parte da composição do coágulo.

No momento em que acontece a lesão da parede vascular ocorre também exposição do colágeno do tecido conectivo, no qual as plaquetas se aderem. Na sequência, as plaquetas iniciam sua adesão entre si, e parecem os primeiros traços de trombina formada no próprio local da lesão. A formação da trombina acelera a formação subsequente da própria trombina, produzindo-a rapidamente em quantidades maiores. Estes são os tampões hemostáticos primários, instáveis e facilmente desagregáveis. Na continuação, as plaquetas do tampão se fundem e se contraem. Uma rede de fibrina reforça e expande o tampão em direção ao plasma

circundante e ao fluído extracelular. O fibrinogênio é formado por três pares de grandes cadeias polipeptídicas. A trombina rompe duas moléculas de um pequeno polipeptídeo (fibrinopeptídeo A) de um par de cadeias, e duas moléculas de um segundo polipeptídeo (fibrinopeptídeo B) de um segundo par de cadeias. A molécula de fibrinogênio resultante (alterada) é chamada de monômero de fibrina, de carga negativa reduzida, permitindo a polimerização da molécula através de ligação hidrogeniônica, formando filamentos de fibrina (polímero da fibrina), que é o coágulo. Este coágulo é instável, dissolvido com facilidade na presença de certos solventes. Para isto ocorrer, é necessária a formação de grandes volumes de trombina pelas vias intrínsecas e extrínsecas da coagulação. A trombina ativa o fator XIII (alfa-2-globulina), na presença do Ca^{++} . O fator XIII ativado cataliza ligações cruzadas entre grupos amino de uma molécula de fibrina, e grupos carbonil de outra molécula (ligações peptídicas), estabilizando o coágulo. Estes tampões são estáveis e permanentes, devido a formação de ligações peptídicas entre moléculas isoladas de fibrina.

Esta divisão de etapas é referida por (Morawitz, 1905) que propôs a teoria da coagulação. Esta teoria já está há muito ultrapassada, mas as etapas do mecanismo da coagulação permanecem as mesmas e nos servem bem para demonstrar o mecanismo de adesividade da cola de fibrina.

O fibrinogênio utilizado no adesivo biológico é extraído do plasma do paciente no qual será aplicado, ou de no máximo um doador, enquanto que a trombina é de origem bovina, sendo encontrada no mercado, produzida por vários laboratórios. Sua concentração é medida em NIH ou unidades por mililitro, e pode ser diluída conforme a necessidade.

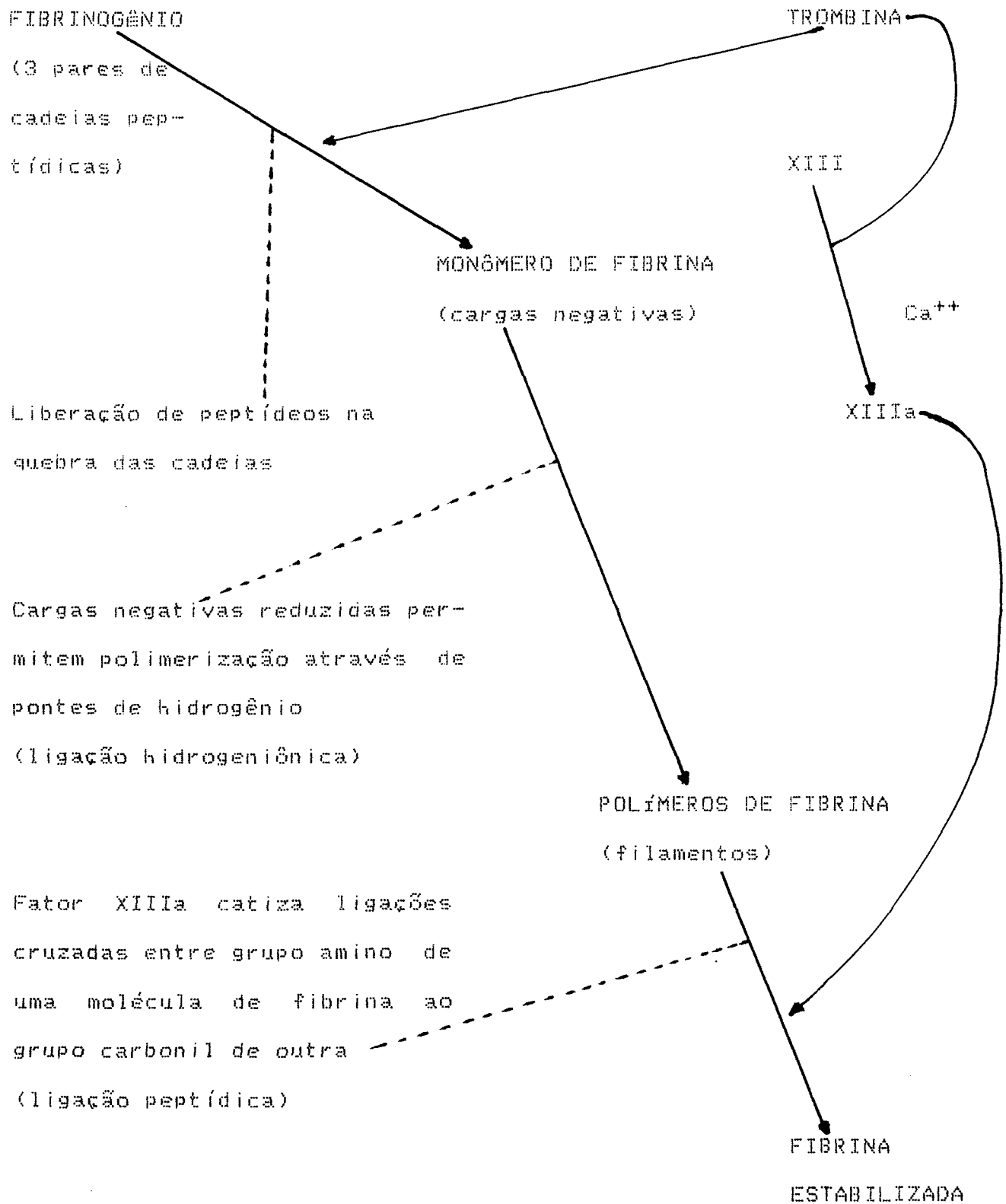


ILUSTRAÇÃO 1

FORMAÇÃO DO COÁGULO DE FIBRINA

Para que a formação de fibrina permaneça circunscrita ao local da lesão na parede do vaso, existem inibidores de fatores da coagulação ativados no sangue normal, inativando os fatores IX, X, XI ativados. A trombina é neutralizada pela adsorção em fibrina e por duas antitrombinas, uma delas também inibidora do fator X ativado, e é a responsável pela maior atividade anti-trombínica do soro. Esta atividade é marcadamente potencializada pela heparina.

Outro mecanismo existente para que o processo hemostático se restrinja à parede vascular lesada é um equilíbrio existente entre a deposição e a lise da fibrina. A lise da fibrina é associada a ativação de uma enzima proteolítica, a plasmina, que é encontrada no sangue e em outros fluídos na forma de um precursor inerte, o plasminogênio. Os ativadores que convertem o plasminogênio em plasmina, os quais também são enzimas proteolíticas, são encontrados nos tecidos (células endoteliais dos vasos e lisossomos de células de vários tecidos), e em quantidades muito pequenas no sangue circulante. Tais ativadores são depurados pelas células de Kupffer no fígado.

A fibrinólise pode ser inibida em duas fases:

a) inibição da ativação do plasminogênio - como é o caso do agente antifibrinolítico terapêutico, o ácido amino capróico;

b) inibição da plasmina - o plasma contém duas anti-plasminas.

O plasminogênio é incorporado ao coágulo quando a fibrina é depositada, sendo este separado dos seus inibidores circulantes e ativado por ativadores liberados no local pelas células endoteliais.

A cola biológica da fibrina, como será descrita mais adiante, utiliza o ácido amino caprónico como inibidor da fibrinólise. Certos autores fizeram uso da aprotinina para este fim.

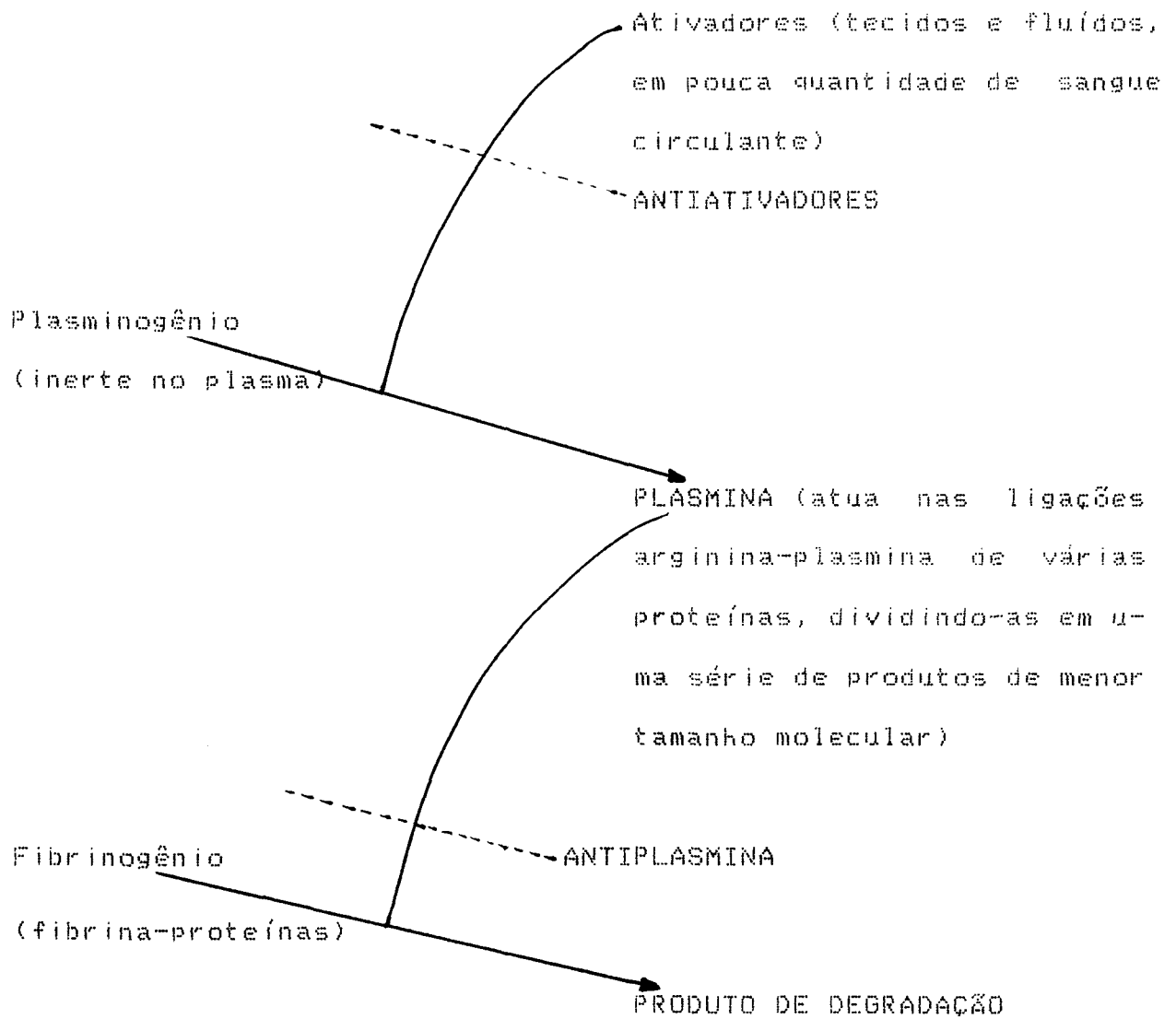


ILUSTRAÇÃO 2

FASES DA INIBIÇÃO DA FORMAÇÃO DO COÁGULO

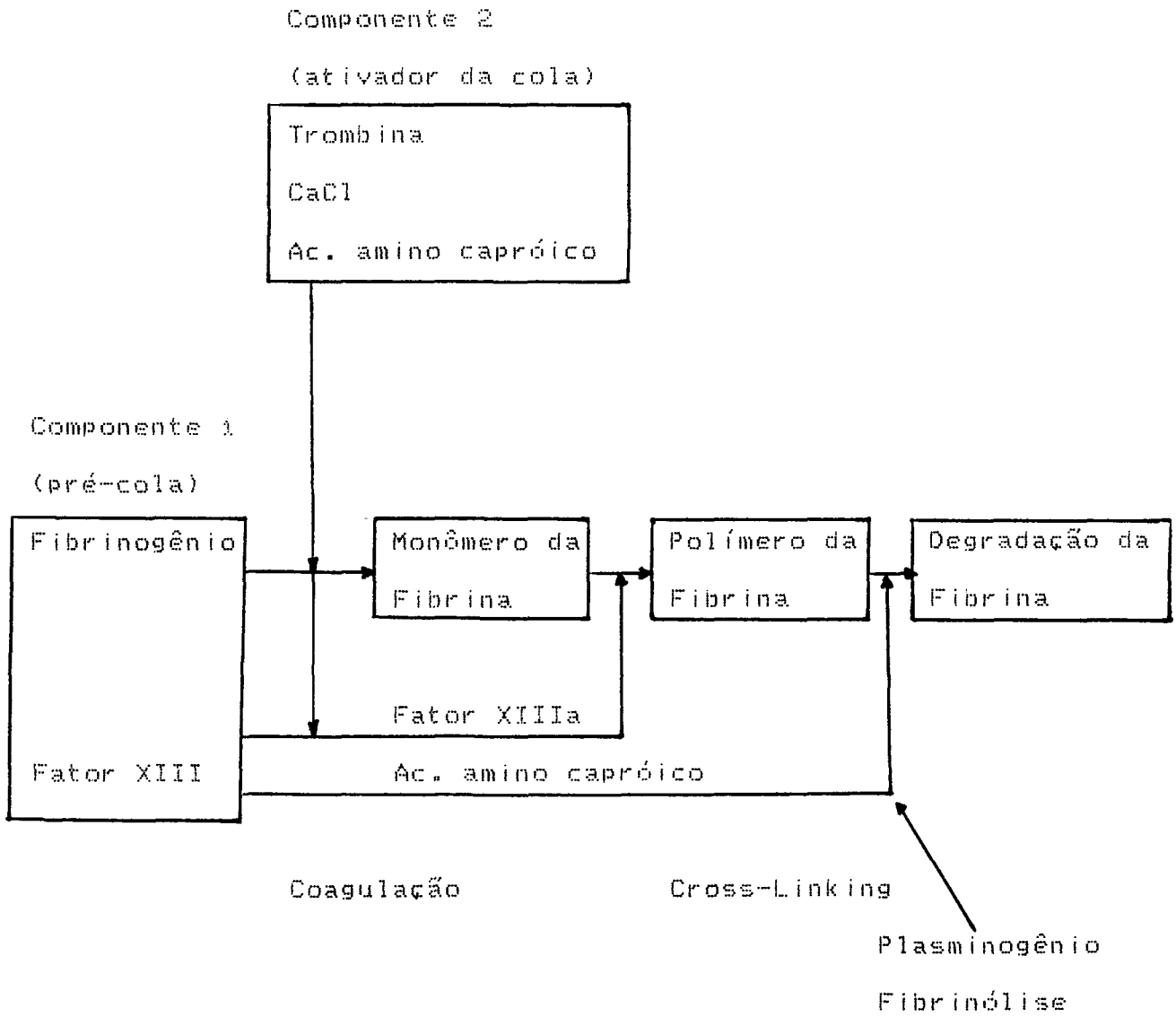


ILUSTRAÇÃO 3

PRODUÇÃO DO ADESIVO BIOLÓGICO DE FIBRINA

1.2 Risco de Transmissão de Doença Infecciosa e Infecção Local

Apesar do uso generalizado na Europa, o adesivo de fibrina comercial recebeu pouca atenção nos Estados Unidos da América como mencionado anteriormente. Em 1978, o Food and Drug Administration proibiu a comercialização do concentrado de fibrinogênio, preparado a partir de um pool de doadores, devido ao risco de transmissão de infecções virais, principalmente a hepatite B. Acrescenta-se à isso, o recente aparecimento da síndrome da imunodeficiência adquirida, (Dresdale, 1985). Na Europa, com a grande experiência neste adesivo, não se comprovou caso de transmissão de infecção por seu uso (Panis, 1981). Foi descrito um caso de hepatite não A não B em paciente no qual foi utilizado o adesivo, mas não se conseguiu comprovar que foi pelo seu uso (Gastpar, 1979).

Ao se extrair o fibrinogênio do plasma do paciente, no qual será utilizado como componente do adesivo, tal risco não existe.

Extraindo-se o fibrinogênio do plasma de um único doador, o risco de transmissão de infecção é o mesmo de uma transfusão sanguínea, ou até menor, quando se considera que muitas vezes numa transfusão sanguínea são utilizados sangue ou derivados, provenientes de diversos doadores (Dresdale, 1985).

Os cuidados tomados quanto à qualidade do sangue e sua manipulação são os mesmos utilizados no banco de sangue. É neste ambiente que o sangue é processado e o fibrinogênio extraído.

A propósito do risco de infecção local, citamos o trabalho de Stanek(1979), demonstrou que o crescimento de *Staphilo-*

coccus aureus no coágulo de sangue normal é dez vezes maior do que no coágulo de fibrina que não contenha o fator XIII, e cem vezes maior do que no coágulo de fibrina contendo-o.

1.3 Objetivos

O estudo pretende demonstrar que o preparo do adesivo de fibrina é um processo viável e de fácil realização. Pretende também realizar uma comparação entre duas técnicas: a precipitação do fibrinogênio pelo sulfato de amônia e por crioprecipitação, levantando suas características e aplicabilidade.

É ainda objetivo deste trabalho, ampolar as substâncias utilizadas para a precipitação do fibrinogênio pelo sulfato de amônia, em doses adequadas para o uso.

2. REVISÃO DA LITERATURA

REVISÃO DA LITERATURA

Na análise da literatura mundial sobre Adesivos descreveu-se em ordem cronológica as publicações de acordo com vários adesivos:

2.1 Adesivo de Fibrina Heterólogo:

Berger (1909) foi o primeiro a relatar o efeito hemostático do pó de fibrina em pequenas veias.

Grey (1915) usou fibrina de carneiro como hemostático em neurocirurgia experimental em cérebros de gatos com total reabsorção da fibrina.

Fonio (1921) e Kristensen (1932) descreveram métodos para medida de tensão em coágulo de plasma.

Yong (1940) suturou nervos ciáticos de coelhos com plasma de embrião de galinha (heterólogo) notando aparecimento de intensa fibrose e tecido inflamatório.

Seegers (1938, 1940, 1943) purificou a protrombina bovina que pode ser utilizada para polimerizar fibrinogênio em fibrina com a adição de cálcio e tromboplastina.

Tidrick (1943) usou clinicamente trombina como agente hemostático. Demonstrou que solução de trombina com 1000

u/cc irá coagular 10 vezes seu volume de sangue em 3 segundos. Também usou antibióticos (sulfas) na solução.

2.2 Adesivo de Fibrina Homólogo:

Cohn (1941) relatou que no plasma existe 7% de proteínas, sendo 6% de fibrinogênio. Usou o sulfato de amônia para a obtenção de fibrinogênio e descreveu seu uso terapêutico em síndromes de consumo de fibrinogênio.

Michael (1943) descreveu caso clínico em que usou de fibrinogênio homólogo para reparar o nervo ciático e tendões após laceração por explosões. Exame microscópico do material retirado por ocasião da reoperação não demonstrou reação de corpo estranho ou reação inflamatória.

Cronkite (1944) descreveu ótimos resultados com o uso de fibrinogênio e trombina em pacientes para enxertos de pele.

Tidrick (1944) fixou transplantes de pele com plasma homólogo ou autólogo citratado ou heparinizado e adição de trombina. Definiu a unidade de trombina como sendo a quantidade que irá coagular 1,0 cc de solução de fibrinogênio em 15 segundos. Imergia o enxerto de pele em plasma e o depositava em leito receptor pulverizado com trombina.

Rousou (1984) com autorização especial do F.D.A. usou nos Estados Unidos da América com bons resultados nas linhas de sutura de pacientes de cirurgia cardíaca o adesivo homólogo confeccionado à partir de crioprecipitado de sangue misturado com trombina e cloreto de cálcio, sem uso de antifibrinolítico. O custo nessa forma de hemostático é bem menor que em outras existente no mercado.

Lupinetti (1985) usou adesivo de fibrina de crioprecipitação em 26 pacientes de reoperação de cirurgia cardíaca, 4 heparinizados e 17 após tentativa com protamina sem melhora, com hemostasia em todos os pacientes, e 5 sem outras complicações. Nenhum teve hipersensibilidade, fibrinólise ou coagulopatias e com baixo risco de hepatite.

Dresdale (1985) relatou ser o adesivo de fibrinogênio o maior avanço em cirurgia, usando uma técnica de crioprecipitação do fibrinogênio por plasma fresco congelado. Usou sangue de um só doador, e não um pool de pacientes (como na comercial) e em outro trabalho relatou e desenvolveu o uso de adesivo de fibrina de plasma fresco congelado homólogo. Usou em 19 pacientes com próteses tubulares de dracon e enxertos cardíacos e também para fechamento de perfurações de agulhas em vasos em 22 pacientes. É um efetivo hemostático e selante de enxertos sendo economicamente barato. Refere que a cola diminuiu a necessidade de transfusões pela redução do sangramento.

Baker (1987) usou em cirurgias cardíacas o adesivo de fibrina homólogo do banco de sangue, na forma de plasma fresco congelado de fácil aplicação como spray.

2.3 Adesivo Homólogo Comercial:

Spangler (1973) fez transplantes de pele em ratos com adesivo biológico de fibrinogênio testando sua adesividade.

Kuderna (1976) apresentou estudo de anastomoses nervosas com concentrado de fibrinogênio, trombina bovina e cloreto de cálcio. Concluiu que o adesivo só deve ser usado em anastomoses nervosas sem tensão.

Spangler (1976) relata em extenso trabalho diversos usos clínicos e experimentais em vários órgãos do sistema de adesivo biológico de fibrinogênio altamente concentrado, trombina, fator XIII e adição de antifibrinolítico. O adesivo é ótimo hemostático, completamente absorvível, apresentando elasticidade e excelente compatibilidade tecidual.

Pearl (1977) usou adesivo selante de sangue, fibrinogênio, trombina e plaquetas, em microcirurgia corneana e vascular de enxertos de ratos. Usando o adesivo de sangue e comparando com a sutura padrão, constatou que o tempo de cirurgia é acentuadamente menor e o resultado melhor, além de eliminar o risco de hemorragia.

Stemberger (1978) relatou ótimos resultados em anastomose de nervo ciático de ratos e em outro trabalho determinou que a relação de plasminogênio com o fibrinogênio é 30 vezes menor na cola do que no plasma citratado, por isso é necessário adicionar antifibrinolítico.

Marschall (1978) comparou a tensão elástica do coágulo do fibrinogênio comercial, plasma de sangue total e crioprecipitado para remoção de cálculos em pielolitomia por coágulo. A força do coágulo é diretamente proporcional a concentração do fibrinogênio e inversamente proporcional a concentração de trombina. O efeito da adição de antifibrinolítico e cloreto de cálcio são favoráveis. Quanto maior a concentração de trombina mais rápida é a reação, porém mais fraco o coágulo, devendo ser a relação entre trombina e plasma de 1:5.

Staindl (1979) cronogramou a cicatrização da ferida: durante a coagulação a endopeptidase trombina libera, na presença de íons cálcio, monômeros de fibrina reativos de fibrinogênio que

formam cadeias via pontes de hidrogênio. A fibrina reticulada facilita o crescimento de fibroblastos. O colágeno é sintetizado nos fibroblastos, que é o componente principal do tecido conectivo que confere a quantidade e a qualidade da cicatrização. A trombina transforma o fator XIII em fator XIII ativado, promovendo o crescimento de fibroblastos, dependendo da ação de íons cálcio. O fator XIII estabiliza o coágulo de fibrina. Descreveu como vantagens do adesivo de fibrinogênio: por ser sangue humano é completamente fisiológico, permite adesão plana em áreas extensas, tem elasticidade que resiste tensão e compressão. Ele é hemostático e biodegradável em algum tempo.

Fruhwald (1979) em cirurgia experimental de gatos comparou o uso de adesivo de fibrina com o cianoacrilato em defeitos de dura-máter. Os resultados de adesão foram idênticos.

Gastpar (1979) relata o uso de adesivo de fibrina comercial em pacientes com problemas de coagulação e em casos de cirurgias reconstrutivas de face, todos com bom resultado. Relatou um caso de hepatite não A não B, porém sem comprovação se foi por causa da cola.

Panis (1979) usou cola de fibrinogênio comercial em 20 pacientes com recidivas de perfurações timpânicas pós-timpanoplastias em regime ambulatorial com 15 sucessos.

Stanek (1979) demonstrou em trabalhos que o crescimento de estafilococos no coágulo de sangue é 10 vezes maior do que no de fibrina e 100 vezes maior se a fibrina tiver fator XIII.

Siedentop (1979) comparou a sutura e adesivo de fibrina com o cianoacrilato em 30 aposições de nervos de cães. Os resultados no exame histopatológico e testando a condução elétrica foram iguais.

Staindl (1979) referiu o uso de sistema adesivo com fibrinogênio e trombina com a adição de fator XIII, obtendo boa adesão, consistência elástica, compatibilidade tecidual, completa absorção, sendo melhor que o cianoacrilato.

Draf (1980) apresentou informações detalhadas sobre a aplicação do adesivo biológico de fibrinogênio comercial. Relatou ter deixado de usar cianoacrilato pelo problema causado pela alta temperatura na polimerização (52 graus), por ser inelástico e produzir reação de corpo estranho. Necessita de campo seco e é pobremente absorvido. A cola de fibrinogênio é de boa elasticidade, reabsorvível, hemostática, não necessita de campo seco, apresenta boa adesão, boa sustentação de bordos de feridas e redução de dano tecidual.

Scheele (1981) relatou uso de cola de fibrina comercial em 16 cirurgias de baco com boa hemostasia em todos os casos.

Panis (1981) pesquisou hepatite em 146 pacientes submetidos ao uso de adesivo comercial. Nenhum caso foi positivo.

Martin (1981) relatou 31 casos de uso de adesivo de fibrina em cirurgias endolaríngeas. Constatou ótima hemostasia e ausência de irritação e toxicidade.

Naumann (1981) usou de adesivo de fibrina comercial em cirurgias de cordas vocais notando maior facilidade técnica, rapidez, segurança e conveniência para o paciente.

Scheele (1981) relatou o uso experimental em cães e coelhos de frinogênio comercial em lesões de fígado, rins e baco com total controle de sangramento em todos os casos e fechamento completo de feridas. Refere complicações com uso de cianoacrilato e gelatina-resorcil-formaldeído que não ocorrem com a cola de fibrinogênio.

Borst (1982) usou o adesivo de fibrina comercial em circulação extracorpórea. Obteve 95% de sucesso com vantagem de uso em coagulopatias e não requerer obrigatório campo seco.

Petrelli (1982) relatou resultados de anastomoses usando adesivo de fibrina comercial em bexiga de cães comparados a um grupo controle com suturas convencionais. Injetou culturas de *Serratia* na bexiga para testes de fístulas infecciosas encontrando culturas negativas após 24 horas em peritônio naquelas com fibrina e positivas naquelas com suturas convencionais.

Gasser (1983) relatou o uso de cola de fibrinogênio em prostatectomias supra-púbicas. A perda sanguínea foi significativamente menor que no grupo controle.

Thorson (1983) relatou o uso de adesivo de fibrinogênio comercial em anastomoses de esôfago, constatando diminuição acentuada do número de fístulas (50% no controle para 20%).

Brands (1983) relatou um caso de ruptura de rim e uso da cola de fibrinogênio evitando a nefrectomia.

Lombard (1983) relatou experiência clínica com cola de fibrinogênio em pele, ossos, dura-máter, nervos e hemostasia em neurocirurgia. Obteve bons resultados diminuindo o tempo de cirurgia de 20 a 30% e não observando reações adversas.

Siedentop (1983) relatou o uso de adesivo de fibrina comercial em cirurgia de ouvido médio com vantagens de adesão, hemostasia e melhora da cicatrização.

Lourenço (1983) descreveu o uso do adesivo de fibrina comercial em 6 septoplastias. Apresenta união em toda extensão e não só em determinados pontos, levando a coaptação completa da superfície. É elástico, pode ser usado em áreas de movimentação, promove hemostasia, evita hematomas e suas complicações, evita o

uso do tamponamento nasal, repara possíveis esgarçamentos de mucosa, dispensa suturas, reduz o tempo cirúrgico e é extremamente mais confortável para o paciente.

Oosterlinck (1984) relatou o uso de cola de fibrinogênio em incontinência urinária de esforço substituindo as suturas de difícil execução técnica. Obteve os mesmos resultados porém com a cola o ato é muito simplificado.

Scheele (1984) usou o adesivo de fibrina comercial em pacientes com lesões traumáticas de baço. Concluiu que mesmo em coagulopatias severas o uso do adesivo de fibrina é seguro para reparação da maioria das lesões esplênicas ao invés da tradicional esplenectomia.

Meyers (1984) usou experimentalmente em fraturas osteocondrais de cães o adesivo de fibrinogênio comercial e comparou com grupo com fios de Kirschner, observando estimulação do reparo ósseo e maior rapidez desse reparo com a cola do que com fio de aço.

Milingos (1984) relatou uso de adesivo de fibrina comercial em anastomoses linfovenosas de ducto torácico e veia jugular experimentais de 8 cães sem nenhum caso de fístula.

Boedts (1984) relatou estudo comparativo de duas técnicas de anastomose venosa por cola de fibrinogênio e sutura convencional. Concluiu que a cola é melhor que a sutura e mais rápida, proporciona excelente coaptação com mínimo trauma cirúrgico.

Brunner (1984) apresentou uma nova técnica para anastomose microvascular com cola de fibrina comercial e um catéter de Fogarty como splint interno na aorta abdominal em cirurgia experimental de ratos. As principais vantagens em relação as técnicas por sutura convencional foram: cirurgias mais rápidas, histologi-

camente o processo de cicatrização é acelerado e ausência de qualquer trombose.

Kram (1984) relatou uso de cola de fibrina comercial em cirurgia experimental de 32 cães com lesões provocadas no baço com hemostasia completa em todos os casos. Reoperação em 4-6 semanas não mostrou nenhum sinal de sangramento e cura completa da ferida, com a cápsula se regenerando sem resposta inflamatória.

Strauss (1984) relatou o uso de adesivo de fibrina comercial em 132 casos de timpanoplastias com diminuição de perfurações residuais e facilidade na técnica de reconstrução de parede lateral do ático.

Parker (1984) comparou o Avitene (colágeno hemostático) e suturas convencionais demonstrando ser melhor a convencional.

Jessen (1985) relatou 5 casos de uso de adesivo de fibrina comercial em fístulas torácicas (pleurocutâneas, esofagocutâneas, extrapleural, broncopleural).

Kram (1985) relatou em cirurgias de cães o uso de adesivo de fibrina comercial em anastomoses de ducto biliar. Histologicamente a anastomose ocorreu em todos os casos sem sinais inflamatórios. Referiu que a cola de fibrina é útil na anastomose biliar evitando fístulas, prevenindo hemorragias, apresenta boa compatibilidade local e sistêmica, melhora a cicatrização do ducto, reduz o número de suturas, evitando isquemia anastomótica e estenose.

Mallea (1985) referiu após uso de cianoacrilato em reconstrução timpanossicular, observou rigidez do sistema, necrose de ossículos, granulomas de corpo estranho, ototoxicidade labiríntica. Após usar o adesivo de fibrina comercial em 12 pa-

cientes de cirurgias otológicas, não observou necrose de enxerto ou granulomas, sendo a tolerância excelente.

Aguilar (1985) relatou uso de adesivo de fibrina comercial em cirurgias oncológicas de otorrinolaringologia. Refere não ter encontrado método melhor e em nenhum caso observou doença transmissível.

Schonfeld (1985) relatou uso de adesivo de fibrina comercial em 30 cirurgias rinológicas sem caso de hematoma.

Petersen (1985) relatou o uso de adesivo de fibrina comercial (em combinação com antibióticos na própria cola) por 2 anos em cirurgias bucais com resultados muito satisfatórios e sem efeitos adversos.

Seguin (1985) relatou o uso de adesivo de fibrina comercial em cirurgias estomatológicas e maxilo-facias. Os efeitos foram positivos e as cirurgias sem hemorragias.

Stajcic (1985) corrigiu fístulas buco-maxilares com uso de adesivo de fibrina biológico, após a falha do uso da técnica convencional, em consultório.

Kram (1985) referiu uso de adesivo de fibrina comercial em cirurgias experimentais de reconstrução de traquéia em 8 cães.

Blumel (1986) descreveu o uso de selante de fibrina comercial em queimaduras experimentais em ratos. Obteve boa epitelização e fechamento de ferida.

Luke (1986) descreveu o uso de adesivo de fibrina comercial em cavidade prostática depois de prostatectomia. Comparando com grupo controle a perda sanguínea foi significativamente reduzida.

Mattos (1986) relatou o uso de adesivo de fibrina comercial em 118 casos de cirurgia pediátrica. Em geral, concluiu que

o adesivo foi sempre um complemento importante para as cirurgias, detendo hemorragias, acelerando a cicatrização, impedindo a penetração de germes e evitando fístulas.

Staindl (1986) relatou uso de adesivo de fibrina comercial em pacientes com rinofima. A hemostasia foi segura, cicatrização rápida, o período de hospitalização menor e excelentes resultados estéticos.

Gram (1987) descreveu um caso de ruptura da janela redonda em 5 ocasiões no mesmo paciente em 5 anos. O fechamento dessas fístulas com adesivo de fibrina comercial ocorreu sem nenhum efeito tóxico.

Hayward (1987) relatou o uso de adesivo de fibrina comercial em 30 casos de septoplastia para evitar o uso de tamponamentos.

McCarthy (1987) relatou um caso de sangramento duodenal em que o paciente não poderia ser operado. Usou por via endoscópica cola de fibrina comercial (após aprovação da FDA) para esse caso). Obteve parada imediata do sangramento.

Macgarit (1987) referiu uso de adesivo de fibrina comercial com colágeno em transplantes de enxertos de fígado experimentais em suínos. Resolveu o problema de hemorragia hepática e fístula biliar ao se transplantar um pedaço do fígado.

McCarthy (1987) fez cirurgia experimental em 25 cães com anastomose esofagogástrica usando adesivo de fibrina comercial. Demonstrou ser a cola eficaz na diminuição da fístulas gastroesofágicas, evitando morte por fístula anastomótica.

Bento (1989) relatou uso de adesivo de fibrina comercial em anastomose intra-temporal experimental em 30 gatos comparando com sutura e adesão natural em 10 animais em cada gru-

po. Resultados avaliados clinicamente, eletrofisiologicamente e histologicamente mostram a sutura e o adesivo de fibrina similares e melhores que a adesão natural. Eletrofisiologicamente o adesivo foi o método superior. Os autores recomendam a técnica do adesivo para neuroanastomoses.

2.4 Adesivo Autólogo:

Tarlov (1942) em trabalho de sutura por coágulo de plasma em nervos ressaltou a necessidade de medir a tensão elástica do coágulo.

Tarlov (1942) e Goldfarb (1942) descreveram métodos de medida de tensão elástica do coágulo de plasma *in vitro*, concluindo que variações tensionais seriam determinadas pela quantidade de fibrinogênio do plasma.

Tarlov (1943) preferiu sutura de nervos com coágulo de plasma autólogo. Obteve bons resultados em animais, desde que não haja tensão entre os cotos, com mínima reação cicatricial ao contrário do que ocorre com sutura com fios de seda.

Sano (1943) usou plasma autólogo para fazer enxertos de pele em ratos com ótimos resultados.

Tarlov (1943) fez estudo comparativo entre sutura com seda e uso de coágulo de plasma autólogo, de extratos enterais de galinha e pulmões de ratos.

Tarlov (1944) mostrou que apesar do uso da sutura epineural sempre são incluídas fibras nervosas com conseqüente estrangulamento do coto. Usou a técnica de plasma autólogo em 5 pacientes com recuperação completa de nervos acessório e ulnar.

Matras (1972) relatou o uso de adesivo de fibrina autólogo com trombina em cirurgias experimentais em nervos ciáticos com bons resultados.

Rathore (1976) relatou uso de coágulo de plasma autólogo, com trombina tópica, para remover cálculos da pélvis e infundíbulo renal.

Silverberg (1977) relatou o uso de adesivo biológico de fibrinogênio autólogo, trombina e plaquetas em retalho pericraniano para tratamento de fístulas liquóricas em cães.

Wolf (1981) relatou o uso clínico de cola de fibrinogênio autóloga com as seguintes vantagens: isenção de risco de hepatite, intervalos flexíveis de adesão, sem problemas de estocagem, facilidade na confecção do adesivo e baixo preço.

Adams (1981) relatou terapia antiinflamatória com ácido amino capróico (o agente antifibrinolítico das colas autólogas) em hemorragias sub-aracnóides com bons resultados.

Gestring (1983) relatou a extração de fibrinogênio autólogo. Usou a crioprecipitação e a comparou com a cola comercial em modelos experimentais de coelhos.

Siedentop (1985) mediu a adesividade em dois fragmentos de dura-máter de 1 cm² comparando vários métodos de obtenção de fibrina: pela centrifugação normal, pelo etanol, pela crioprecipitação, pelo sulfato de amônio e na cola comercial em 10, 30 e 60 minutos.

Epstein (1986) referiu o uso de adesivo de fibrina autólogo, preferível pelo risco de transmissão de doenças da cola comercial que é extraída de um pool de pacientes. Usou a precipitação do fibrinogênio e fator XIII pelo polietilenoglicol. Experimentou na janela oval e redonda de chinchilas controlando o

resultado através de audiometria de tronco cerebral.

Siedentop (1986) relatou procedimentos para obtenção de altas concentrações de fibrinogênio do sangue do próprio paciente em sala de cirurgia para uso com adesivo autólogo. Ressaltou a precipitação por sulfato de amônio como a melhor técnica para a obtenção de maior concentração de fibrinogênio, com níveis de força de tensão comparáveis a cola comercial. Experimentou em ratos do uso do inibidor da fibrinólise. Comparou a precipitação por etanol, centrifugação normal, crioprecipitação, precipitação por polietilenoglicol e sulfato de amônio. Comparou ainda a fibrinólise em injeções sub-cutâneas com e sem ácido amino capróico e aprotinina (comercial), este último discretamente melhor, aumentando o tempo de biodegradação do coágulo.

Harris (1987) descreveu estudos experimentais testando o inibidor de fibrinólise, ácido amino capróico, a sua duração *in vitro* no coágulo, sub-cutâneo e no ouvido médio observou ausência de efeitos tóxicos e patologias sistêmicas como tonturas e embolias usando uma concentração 1500 vezes maior em mg/kg do que aqueles necessários para uso cirúrgico.

Feldman (1987) relatou cirurgia experimental em nervos ciáticos de ratos. Comparou sutura convencional e adesivo de fibrina autólogo. Concluiu que é fácil de preparar, rápida sem equipamentos especiais. A cola é tão boa ou melhor que a sutura convencional no tocante a resultados histológicos, regeneração axonal e alinhamento de fascículos. Usou técnicas de precipitação do fibrinogênio pelo polietilenoglicol.

Almeida (1991) relatou técnica de preparo de cola de fibrina por centrifugação normal e obtenção de plasma adicionando a trombina para a adesão. Fez testes de tração com

fragmentos de dura-máter.

2.5 Cianocrilato:

Coover (1959) relatou o uso do cianoacrilato como adesivo potente, porém com ação necrotizante pelo calor da reação química.

Kessler (1960) e Carton (1962) relataram trombose e reações inflamatórias em arteríolas com o uso de cianoacrilatos.

Fasset (1961) estudou crescimento bacteriano no cianoacrilato e concluiu que o adesivo é auto-esterilizante.

Braunwald (1961), Inou (1961) e Healey (1962) usaram o adesivo plástico em cirurgias de aorta e vasos sem relato de infecções.

Fischl (1962) relatou queimaduras de pele em fechamento de incisões com cianoacrilatos.

Kline (1963) usou adesivos plásticos em 20 nervos periféricos e 10 córtex de cachorros com reação inflamatória intensa epineural e dano axonal, abscessos estéreis concluindo que não é bem tolerado pelo organismo.

Woodward (1964) e Just-Viera (1964) criticam a impetuosidade dos cirurgiões em experimentar o cianoacrilato como adesivo no afã da procura de um adesivo tecidual inócuo apesar da histotoxicidade e efeito necrotizante.

Cameron (1964) observou que o cianoacrilato é necrotizante em feridas pancreáticas.

Woodward (1964) em outro trabalho promove alteração estrutural do cianoacrilato. Aumentou as cadeias, e constatou uma diminuição de seu efeito necrotizante pela liberação de calor.

Lehman (1965) relatou 4 casos clínicos de fechamento de fístulas líquóricas com cianoacrilato. O adesivo não deve ser aplicado diretamente no tecido cerebral, pois danifica o tecido em alguns milímetros, deve ser usado em dura-máter liofilizada.

Collins (1966) comparou a ação de cianoacrilatos com cadeias de metil a octil visando avaliar a necrose e a adesividade.

Lehman (1967) usou o butilcianoacrilato na reparação do nervo óptico e de fístula líquórica em 14 casos. Desaconselhou seu uso em lesões vasculares e corticais profundas podendo interferir com vasos produzindo trombozes ou embolias o que limita seu uso intracraniano.

Matsumoto (1968) resumiu o Simpósio Internacional sobre Adesivos Teciduais em Cirurgia, em Viena. Foram discutidos cianoacrilatos, gelatina-resorcina-formaldeído, epoxi, poliuretano concluindo-se a necessidade de um adesivo tecidual biodegradável e menos tóxico.

VanderArk (1970) citou as condições ideais para um adesivo em neurocirurgias: atoxicidade vascular ou neural, adesividade rápida e forte à dura-máter, vasos e substitutos sintéticos, habilidade para colar na presença de sangue ou líquido, bacteriotóxico, simples de aplicar. Ressaltou a histotoxicidade do cianoacrilato que não pode ser colocado em contacto com tecidos neurais, não cola em presença de sangue ou líquido e não adere a substitutos sintéticos. Não deve ser usado rotineiramente.

Maxwell (1973) obteve fechamento de 12 casos de fístula líquórica com cianoacrilato sem efeitos tóxicos locais ou sistêmicos.

Protell (1978) relatou a falha do cianoacrilato no tratamento de sangramento de úlcera gástrica em cães.

Siedentop (1980) usou o cianoacrilato em cirurgia de ouvido médio. Não o recomenda pela sua toxicidade produzindo danos severos ao ouvido médio a não ser que seja usado em quantidades mínimas, ainda assim permanecendo como corpo estranho.

Hisashi (1982) referiu as complicações das anastomoses de esôfago, colo e reto e a tentativa insatisfatória do uso de cianoacrilato e gelatina-resorcil-formaldeído.

Grymer (1984) relatou trabalho onde após produzir lacerações em papilas mamárias de vacas provocando fístulas, tratava com adesivo tecidual cianoacrilato. Observou acentuada reação de corpo estranho desaconselhando a técnica.

Inácio (1987) descreveu estudo em dois grupos de cães com uso de adesivo cianoacrilato e outros grupos com sutura de algodão. Concluiu que o uso de cianoacrilato é seguro nas anastomoses, sem diferença entre as técnicas com igual número de estenoses e fístulas.

2.6 Gelatina- Resorcil-Formaldeído:

Braunwald (1966) referiu desvantagens dos adesivos encontrados e procurou desenvolver um adesivo de uso biológico e hemostático. As características desejadas seriam: colar rapidamente em tecido vivo, início de ação rápido, não alterar com umidade, insolúvel líquidos orgânicos, não irritar localmente, não tóxico e flexível. Fizeram a mistura de gelatina e resorcinol (para manter a umidade) e para a polimerização adicionaram o

formaldeído. Em cirurgias experimentais em ventrículos, pulmões e aorta de cães obtiveram bons resultados hemostáticos e adesivos. A resposta celular é igual ao Gelfoam e Cat-gut. Sem células gigantes de corpo estranho, porém com zona de necrose focal de alguns milímetros, pela ação do formaldeído, ocasionando perda de elasticidade tissular e aneurismas venosos. é germicida pela ação do formaldeído e resorcina.

Weisberger (1975) relatou uso de cola de gelatina-resorcil-formaldeído em lesões de fígado de ratos. Necessita de superfície seca, é superior ao cianoacrilato, tem baixa toxicidade, boa hemostasia, porém provoca formação de granuloma de contacto.

Auvert (1975) em revisão qualifica o adesivo de gelatina-resorcil-formaldeído como atóxico, de precisão hemostática, polimerização em 4 segundos, porém necessita de superfície seca.

Laurian (1977) usou adesivo de gelatina-resorcil-formaldeído em aneurismas dissecantes de aorta com boa resposta hemostática e adesiva.

Bachet (1979) descreveu técnica com uso de adesivo de gelatina-resorcina-formaldeído para tratamento de dissecação aguda de aorta com enxerto de dracon em 9 pacientes tendo ótimos resultados.

Guilmet (1979) usou gelatina-resorcil-formaldeído em dissecação aguda de aorta em modelos experimentais de cães por sobre a sutura, notando rapidez de adesividade e com bons resultados.

Bachet (1982) relatou 25 casos em 4 anos de uso de gelatina-resorcil-cianoacrilato em cirurgias de aneurismas de aorta constatou 8% de mortalidade considerando bom resultado e comparado com 25 pacientes com mortalidade de 48% onde não usou o

adesivo.

Bicaï (1983) relatou o resultado da comparação gelatina-resorcil-formaldeído com a cola de fibrinogênio comercial em aneurismas dissecantes de aorta. Os resultados são semelhantes, porém a cola de fibrinogênio demonstrou menos toxicidade aos tecidos.

Guilmet (1983) usou a gelatina-resorcil-formaldeído em aneurisma dissecante de aorta em 9 pacientes com uso de prótese de dracon obtendo perfeita hemostasia na sutura cirúrgica.

3. MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL

O adesivo biológico é composto basicamente por dois elementos: a trombina e o fibrinogênio. O fibrinogênio é extraído do plasma do sangue humano. Entre as várias técnicas possíveis descritas na literatura, procedeu-se a comparação de duas delas: a precipitação do fibrinogênio por sulfato de amônia, e a crioprecipitação, por serem de fácil realização e possibilitarem boa concentração de fibrinogênio.

Para a extração do fibrinogênio pela técnica da precipitação pelo sulfato de amônia, necessita-se de citrato de sódio a 10% em frações de 1 ml, solução saturada de amônia em fração de 1,3 ml e cloreto de cálcio (40 mosm/L) em fração de 1 ml. No intuito de facilitar o manuseio das substâncias, bem como reduzir o risco de contaminação, procedeu-se a ampolagem das mesmas nas frações necessárias. Para garantir sua esterilidade, foram realizadas autoclavagens das ampolas por 15 minutos, a 121° C. Várias culturas do material foram realizadas em meio enriquecido: caldo de caseinato de soja para verificar o crescimento de fungos e o tioglicolato de sódio para bactérias. As culturas resultaram ne-

gativas. As substâncias, sua ampolagem foram cedidas pelo Dr. Carlos Henrique M. Vianna, e sua esterilização e controle de esterilidade por ele realizados na Laborclin - Produtos para Laboratórios Ltda., em Pinhais - PR.

A trombina utilizada é extraída do plasma do sangue bovino. É encontrada sob a forma de liofilizado estéril pronto para uso humano. Diversas marcas estão disponíveis no mercado. Neste trabalho utilizou-se trombina Trombostat na concentração de 3000 NIH, do Laboratório Parke Davis, de New Jersey - USA.

O ácido amino caprótico, utilizado como inibidor da fibrinólise, é encontrado no mercado com o nome de Ipsilon, produzido pelo Laboratório Nikkho.

Obtém-se o adesivo pela mistura destes dois componentes em partes iguais, que é o coágulo.

MÉTODOS

a) PRECIPITAÇÃO DO FIBRINOGENIO POR SULFATO DE AMÔNIA

Descrição da técnica

Coletou-se 36 ml de sangue de um doador, dividindo-os em 4 tubos estéreis (9 ml em cada tubo) já contendo 1 ml de solução de citrato de sódio 10%, estéril. O citrato de sódio tem por finalidade retirar o cálcio do sistema de coagulação do sangue. Atua, portanto, como anticoagulante, permitindo as fases posteriores do processamento do mesmo.

Centrifugou-se estes tubos à 3.200 rpm por 10 minutos, em centrífuga horizontal, para facilitar a sifonagem. Os

elementos figurados do sangue sedimentaram, e o plasma permaneceu sobrenadante. Sifonou-se o plasma em 4 tubos plásticos, estéreis, de fundo cônico, com 1,3 ml de solução saturada de sulfato de amônia fria. Neste momento, já observou-se precipitação. Após centrifugar estes tubos à 3.200 rpm por 3 minutos, tem-se um precipitado protéico muito rico em fibrinogênio, mas também contendo fator XIII, calicreina, plasminogênio, e outros.

O sobrenadante destes tubos foi desprezado, e o fibrinogênio precipitado foi todo colocado em um só tubo de ensaio. Pouco antes de ser utilizado, acrescenta-se 0,5 ml de solução de cloreto de cálcio (CaCl_2). Este procedimento tem como finalidade repor o cálcio necessário ao sistema de coagulação, previamente removido pelo sulfato de amônia.

Este é o componente nº 1 do adesivo, contendo fibrinogênio e fator XVII.

O componente nº 2 do adesivo é a trombina de origem bovina. Para este trabalho, foi adquirida do Laboratório Parke Davis, a trombina liofilizada na concentração de 3000 NIH. Foi diluída para 1000 NIH/ml, adicionando-se 2,5 ml de água esterilizada e 0,5 ml de ácido amino capróico.

O ácido amino capróico é colocado no sistema como inibidor da ativação do plasminogênio. Isto porque tanto no meio circulante, onde será usado o adesivo, como no precipitado protéico rico em fibrinogênio, neste em maior concentração ainda, encontramos o plasminogênio, que quando ativado em plasmina, induz a fibrinólise, dissolvendo o coágulo (Siedentop, 1987).

Misturando-se estes dois componentes, temos a formação do adesivo de fibrina que é um coágulo de fibrina estável, pela presença do fator XIII e de fibrinólise retardada pela presença

do ácido amino capróico.

Resumindo a técnica da extração do fibrinogênio por precipitação pelo sulfato de amônia, tem-se os seguintes passos:

1. reservar 36 ml de sangue;
2. dividir os 36 ml de sangue em quatro tubos contendo 1 ml de citrato de sódio a 10%, em cada tubo;
3. colocar os tubos em centrífuga horizontal a 3.200 rpm, pelo período de 10 minutos;
4. decantar o sobrenadante (aproximadamente 4,5 ml de plasma), em quatro tubos plásticos de fundo cônico, contendo 1,3 ml de solução saturada de sulfato de amônia;
5. colocar os tubos em centrífuga horizontal a 3.200 rpm, pelo período de 3 minutos;
6. sifonar o sobrenadante e desprezá-lo, sendo que o precipitado branco-amarelado resultante é rico em fibrinogênio, e em cada tubo tem-se, aproximadamente, 0,5 ml de precipitado;
7. colocar estes 0,5 ml de precipitado de cada tubo, em um único tubo, contendo 0,5 ml de cloreto de cálcio.

Diluição da trombina bovina - componente 2

1. tomar a trombina liofilizada 3000 NIH (encontrada pronta para uso no mercado);
2. acrescentar 2,5 ml de água esterilizada;
3. adicionar 0,5 ml de ácido amino capróico.

Tem-se então, a trombina diluída para 1000 NIH por ml.

b) CRIOPRECIPITAÇÃO DO FIBRINOGENIO

Para obter o fibrinogênio reproduziu-se esta técnica utilizando o sangue ou plasma de um único doador.

Descrição da técnica

Quando coleta-se o sangue de um doador usa-se 350 ml de sangue, em bolsas com citrato de sódio a 3,8 ml o qual produz, aproximadamente, 160 ml de plasma, que são fracionados em 4 tubos de polipropileno com capacidade de 50 ml.

Quando opta-se pela obtenção do fibrinogênio, a partir do plasma tomado do banco de sangue, usamos uma unidade de plasma fresco de um doador, que apresenta volume aproximado de 200 ml. Esta unidade é também fracionada em quatro tubos de polipropileno de 50 ml.

Colocou-se os tubos em freezer a 80°C negativos por um período mínimo de 12 horas. Nesta fase, já se encontra um precipitado protéico de coloração amarelada no fundo do tubo.

Descongelou-se o plasma até 4°C . Os tubos contendo o plasma descongelado foram centrifugados a $1000 \times$ gravidade por 15 minutos. O sobrenadante foi cuidadosamente decantado deixando apenas o precipitado amarelado de fibrinogênio. Os pellets de fibrinogênio concentrado após a precipitação e centrifugação, foram resuspenso no pequeno volume de sobrenadante remanescente da decantação. A concentração final de fibrinogênio é parcialmente determinada pelo volume de sobrenadante residual, no qual o fibri-

nogênio concentrado é resuspenso. Por isso, tomou-se o cuidado de remover o máximo possível do sobrenadante sem molestar o concentrado. Este concentrado poderá ser armazenado em freezer a 80° C negativos, por um período de 2 meses, ou a 4° C por 2 semanas (Dresdale, 1985).

Para confecção do adesivo misturamos o componente 1 (fibrinogênio), aqui obtido, ao componente 2 (trombina bovina), da mesma forma descrita na técnica anterior.

Resumindo a técnica da extração do fibrinogênio pelo método da crioprecipitação:

1. coletar 350 a 500 ml de sangue em bolsa de coleta, cujo centrifugado deverá produzir mais do que 160 ml de plasma. Tem-se ainda, a opção de tomar 200 ml de plasma do banco de sangue, pronto para uso;

2. dividir o plasma, em quatro tubos de polipropileno com capacidade para 50 ml;

3. colocar os tubos em freezer a 80° C negativos, por um período mínimo de 12 horas;

4. elevar a temperatura dos tubos a 4° C (período aproximado de 7 a 10 horas);

5. centrifugar os tubos a 1000 x gravidade, por 15 minutos;

6. sifonar o sobrenadante, deixando o precipitado rico em fibrinogênio;

7. resuspender o precipitado, com o mínimo possível de residual do sobrenadante. Tem-se então, 2 a 2,5 ml de precipitado por tubo (em cada 200 ml de plasma, obtém-se, aproximadamente, de 8 a 10 ml de precipitado).

8. acrescentar, no momento do uso, o cloreto de

cálcio, a razão de 0,5 ml para cada 2 ml de fibrinogênio.

4 . RESULTADOS

RESULTADOS

Como ficou exposto no decorrer deste trabalho, dispõe-se de duas técnicas viáveis para extração do fibrinogênio do sangue humano para a produção de adesivo biológico a ser utilizado em centro cirúrgico: a técnica de extração do fibrinogênio por precipitação pelo sulfato de amônia, (Siedentop, 1983, 1985, 1986; Epstein, 1986; Harris, 1987), e, a técnica por crioprecipitação (Dresdale, 1985, 1985). Cada uma delas apresenta características próprias, adequadas para utilização em determinado contexto.

Optando-se pela extração do fibrinogênio pela precipitação utilizando sulfato de amônia, necessita-se das seguintes substâncias, já acondicionadas em ampolas, em volumes adequados para uso:

- a) 4 ampolas de 1 ml de citrato de sódio, a 10%;
- b) 4 ampolas de 1,3 ml de solução saturada de sulfato de amônia;
- c) 1 ampola de 1 ml de cloreto de cálcio, a 40 mosm/l.

Para que este material seja processado, necessita-se apenas de uma centrífuga horizontal.

Optando-se pela extração do fibrinogênio por crioprecipitação, torna-se necessária uma estrutura de banco de sangue. O sangue será acondicionado em bolsas de coleta, com citrato de

sódio a 3,8%, de onde será separado o plasma. Este plasma será fracionado em 4 tubos de polipropileno de 50 ml, e colocado em freezer a 80° C negativos, e posteriormente centrifugado em ambiente frio. Tanto o plasma como o fibrinogênio podem ser estocados em freezer.

O componente 2 do adesivo é composto pela trombina bovina com seu diluente, e o ácido amino capróico. Ambos são facilmente encontrados no mercado.

Em qualquer das técnicas utilizadas, cada componente é acondicionado separadamente em seringas, e misturados em volumes iguais no momento do uso. Obteve-se boa condição de aplicabilidade acondicionando cada componente em uma seringa de insulina com uma agulha de grosso calibre, aplicando-se separadamente nas superfícies a serem coladas.

Facilitar a confecção do adesivo de fibrina e traçar diretrizes para tornar rotina seu preparo e utilização, foram os objetivos iniciais deste trabalho, e acredita-se tê-los alcançado.

5. DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

As duas modalidades técnicas de obtenção do fibrinogênio testadas têm características próprias quanto a rapidez da produção, necessidade de equipamentos, volume de fibrinogênio produzido, e possibilidade de armazenamento.

Transportando as 2 técnicas descritas para utilização do adesivo no ser humano, em cirurgia, pode-se racionalizar algumas situações diferentes.

A técnica de extração do fibrinogênio utilizando o sulfato de amônia para sua precipitação é de rápida execução. Necessita de coleta de pequeno volume de sangue, o que pode ser realizado poucas horas antes do procedimento cirúrgico (Siedentop, 1985). Necessita também de pouco equipamento, apenas uma centrífuga horizontal, mas, por outro lado, produz pouco fibrinogênio (aproximadamente 2 ml). É adequada para centros cirúrgicos de hospitais de pequeno porte, sendo prática para cirurgias eletivas, ou de urgência, porém, dificilmente útil para casos de emergência. Este processo é idealmente utilizado em caráter autólogo, onde é coletado o sangue do próprio paciente, no qual será aplicado o adesivo.

Na técnica de crioprecipitação, se optar-se pelo plasma do paciente no qual será aplicado o adesivo, requer-se que o san-

que seja colhido, aproximadamente, 48 horas antes do uso da cola, no procedimento cirúrgico. Exige, também, a estrutura de um banco de sangue, incluindo centrífuga a frio e um freezer com potencial até 80° C negativos. O preparo e a separação do fibrinogênio, apesar de simples, é demorado pelo tempo de permanência do plasma no freezer. Por este motivo, para ser utilizado em caráter autólogo, é preferencialmente indicada em atos operatórios eletivos. A sobra de fibrinogênio pode ser estocada para uso posterior em procedimentos cirúrgicos de outros indivíduos, então em caráter homólogo e não mais autólogo.

A técnica de crioprecipitação pode ser utilizada desde o princípio com o intuito de ser aplicada em caráter homólogo. Neste caso, utiliza-se o plasma fresco de um doador, negativo em testes para patologias infecciosas e sero transmissíveis. O volume de fibrinogênio, obtido de 200 ml de plasma, gira em torno de 8 a 10 ml, e pode ser estocado por um período de 2 a 12 meses, a 80° C negativos, ou a 4° C por 4 semanas. Com um estoque satisfatório, que deve ser renovado periodicamente, o adesivo pode ser aplicado em cirurgias a qualquer momento, incluindo casos de emergência (Dresdale, 1985).

Tendo as opções, cada cirurgia pode adotar a técnica que mais lhe convier, de acordo com as circunstâncias em que trabalha. Pode preparar pessoalmente o fibrinogênio, ou utilizá-lo preparado em serviço de banco de sangue, no qual um estoque pode ser mantido e atualizado.

Para quaisquer destas técnicas, usa-se o fibrinogênio precipitado, e juntamente com ele no preparo final, tem-se o fator XIII, essencial para a polimerização da fibrina, na formação do coágulo. Este é o componente 1 do adesivo.

O componente 2 do adesivo é a trombina, de origem bovina, e comercialmente disponível, produzida por várias indústrias farmacêuticas. É acrescentado o cloreto de cálcio, visando repor o cálcio removido pelo citrato de cálcio, usado como anticoagulante, junto ao sangue recém-colhido. Certas marcas de trombina já contêm o cloreto de cálcio em seringas de 1 ml, separadas, compondo um kit. Vários autores não acrescentam o cloreto de cálcio ao crioprecipitado, devido à pequena concentração do citrato de sódio.

A mistura deste dois componentes produz o coágulo, que é o adesivo, resultado da polimerização da fibrina, e como tal pode ser utilizado para coaptar tecidos em campo operatório. No entanto, precisa-se levar em consideração o fato de que, ao extrair-se o fibrinogênio do plasma, extrai-se com ele agentes fibrinolíticos (Siedentop, 1987), que passam a fazer parte do coágulo, a ser aplicado no paciente. Além disso, também encontra-se agentes fibrinolíticos circulantes no próprio paciente e no leito operatório, no qual o adesivo é aplicado. Destas enzimas fibrinolíticas endógenas do hospedeiro, as principais são a calicreína e o plasminogênio. A plasmina, derivada do plasminogênio, é a enzima proteolítica da fibrina mais ativa na dissolução natural do coágulo. Com a finalidade de retardar a dissolução do coágulo pode ser utilizada a aprotinina, ou como Siedentop preconiza, o ácido amino capróico.

6 . CONCLUSØES

CONCLUSÕES

- A produção do adesivo biológico de fibrina para uso rotineiro em centro cirúrgico é possível e viável.

- A obtenção do adesivo de fibrina, precipitando o fibrinogênio pelo sulfato de amônia é ideal para cola autóloga, pode ser realizada em qualquer hospital por dispensar a estrutura de banco de sangue. A ampolagem das substâncias utilizadas, nos volumes adequados, facilita sua manipulação e reduz o risco de contaminação.

- A obtenção do adesivo de fibrina crioprecipitando o fibrinogênio necessita estrutura de banco de sangue, e permite manter grande estoque do produto, pronto para uso a qualquer momento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adams, H.P.; Nibbelink, D.W.; Torner, J.C.; Sahs, A.L. Antifibrinolytic therapy in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. A report of the cooperative aneurysm study. Arch Neural, 38: 25-9, 1981.
2. Aguilar, G.; Castelló, F.Z.; Salmerón, F.P. Nuevas aplicaciones del sistema adhesivo de fibrina en O.R.L. Anales Otorrinolaringológicos Ibero-Americanos, 12(5):417-21, 1985.
3. Almeida, C.I.R.; Nina, L.G.; Mello, R.P. Cola biológica autógena. Revista Brasileira de Otorrinolaringologia, 57:115-8, 1991.
4. Auvert, J.; Kelemen, Zs.; Weisgerber G. Applications de la colle hémostatique G.R.F.en chirurgie. La Nouvelle Presse Médicale, 4(10):733-4, 1975.
5. Bachet, J.; Goudot, B.; Laurian, C. et alii. Dissection aigue de l'aorte. Nouvelle technique chirurgicale utilisant une colle biologique. La Nouvelle Presse Médicale, 8(17): 1421-5, 1979.

6. Bachet, J.; Gigou, F.; Laurian, C. et alii. Four-year clinical experience with the gelatin-resorcine-formol biological glue in acute aortic dissection. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 83:212-7, 1982.
7. Baker, J.W.; Spotnitz, W.D.; Nolan, S.P. A technique for spray application of fibrin glue during cardiac operations. Ann. Thorac. Surg., 43:564-5, 1987.
8. Bento, R.F.; Miniti, A. Comparison between fibrin tissue adhesive, epineural suture and natural union in intratemporal facial nerve of cats. Acta Oto-Laryngologica, 445: 1-36, 1989.
9. Berger, S. Ueber wirkungen des fibrins. Dtsch. Med. Wochenscher., 35:633-65, 1909.
10. Bical, D.; Donzeau-Gouge, P.; Neveux, J.Y. Chirurgie des dissections de l'aorte intérêt du tissucol par rapport à la colle GRF. La Presse Médicale, 12(33):2059, 1983.
11. Blumel, G.; Ascherl, R.; Haas, S. et alii. Fibrin sealant in burn injuries - experimental study. Plastic Surgery - Maxillofacial and Dental Surgery, 4:98-103, 1986.
12. Boedts, D.; Bouckaert, J.I. Anastomoses nerveuses. Sutures ou colle de fibrinogène? Résultats préliminaires. Acta Oto-Rhino-Laryngologica Belgica, 38(2):107-12, 1984.

13. Borst, H.G.; Haverich, A.; Walterbusch, G. et alii. Fibrin adhesive: An important hemostatic adjunct in cardiovascular operations. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 84:548-53, 1982.
14. Brands, W.; Haselberger J.; Mennicken, C.; Hoerst, M. Treatment of ruptured kidney by gluing with highly concentrated human fibrinogen. Journal of Pediatric Surgery, 18(5):611-3, 1983.
15. Braunwald, N.S.; Awe, W.C. Control of hemorrhage from the heart and aorta utilizing a plastic adhesive. Surgery, 51:786-92, 1962.
16. Braunwald, N.S.; Gay, W.; Tatroles, C.J. Evaluation of crosslinked gelatin as a tissue adhesive and hemostatic agent: An experimental study. Surgery, 59(6):1024-30, 1966.
17. Brunner, F.X. Histological findings in sutured and fibrin-glued microvascular anastomosis. Archives of Oto-Rhino-Laryngology, 240:311-8, 1984.
18. Cameron, J.L.; Woodward, S.C.; Herrmann, J.B. Pancreatic wounds sealed with plastic adhesives. An experimental study in the cat. Arch. Surg., 82:546, 1964.

19. Carton, C.A.; Kennedy, J.C.; Herfetz, M.D. et alii. The use of a plastic adhesive (methyl 2-cyanoacrylate monomer) in the management of intracranial aneurysms and leaking cerebral blood vessels. A report of 15 cases. Spring Field, Ill., 1965.
20. Cohn, E.J. The properties and functions of the plasma proteins, with a consideration of the methods for their separation and purification. Harvard Medical School, _____, 395-417, 1941.
21. Collins, J.A.; Pani, K.C.; Lehman, R.A.; Leonard, F. Biological substrates and cure rates of cyanoacrylate tissue adhesives. Arch. Surg., 93:428-32, 1966.
22. Coover, H.W.; Joyner, F.B. Jr.; Shearer, N.H. Jr. Chemistry and performance of cyanoacrylate tissue adhesives. Soc. Plastics Eng. J., 15:413, 1959.
23. Cronkite, E.P.; Lozner, E.L.; Deaver, J.M. Use of thrombin and fibrinogen in skin grafting. J. A. M. A., 124(14): 976-8, 1944.
24. Draf, W. Erfahrungen mit der technik der fibrinklebung in der hals-nasen-ohren-ehirurgie. Laryng. Rhinol., 52:99-107, 1980.

25. Dresdale, A.; Rose, E.A.; Jeevanandam, V. et alii. Preparation of fibrin glue from single-donor fresh-frozen plasma. Surgery, 97(6):750-5, 1985.
26. Dresdale, A.; Bowman, F.D. Jr.; Malm, J.R. et alii. Hemostatic effectiveness of fibrin glue derived from single-donor fresh frozen plasma. The Annals of Thoracic Surgery, 40(4):385-7, 1985.
27. Epstein, G.H.; Weisman, R.A.; Zwillenberg, S.; Schreiber, A. D. A new autologous fibrinogen-based adhesive for otologic surgery. Ann. Otol. Rhinol. Laryngol., 95:40-4, 1986.
28. Fassett, D.W.; Rondabush, R.L.; Emley, I.C.; Graulich, L.B. Microbiological growth from eastman 910 monomer and adhesive. Cohesivenews. 2:1, 1961.
29. Feldman, M.D.; Sataloff, R.T.; Epstein, G.; Ballas, S.K. Autologous fibrin tissue adhesive for peripheral nerve anastomosis. Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg., 113:963-7, 1987.
30. Fischl, R.A. An adhesive for primary closure of skin incisions. Plast. Reconstr. Surg., 30:607, 1962.
31. Fonio, A. Werterer bertrag zur methodik der untersuchung der blutgerinnung. Schweiz Med. Wchnschr., 51:146, 1921.

32. Fruhwald, H.; Dinges, H.P. Zum Liquordichten verschluss von Duradefekten mittels Klebetechnik. Eine vergleichende experimentelle studie. Laryng. Rhinol., 58:404-12, 1979.
33. Gasser, G.; Mossig, H.; Fischer, M. et alii. Modifikation der suprapubischen prostatektomie unter verwendung eines biologischen klebverfahrens. Wiener klinische Wochenschrift, 95(12):398-403, 1983.
34. Gastpar, H.; Kastwmbauer, E.R.; Behbehani, A.A. Erfahrungen mit einem humanen fibrinkleber bei operativen eingriffen im kopf-hals-bereich. Laryng. Rhinol., 58:389-99, 1979.
35. Gestring, G.F.; Lerner, R. Autologous fibrinogen for tissue-adhesion, hemostasiis and embolization. Vascular Surgery, ____:296-304, 1983.
36. Goldfarb, A.I.; Tarlov, I.M.; Bojar, S.; Wiener, A.S. Plasma clot tensile strength measurement: its relation to plasma fibrinogen. J. Clin. Invistigation, 22:183-90, 1943.
37. Gray, R.F.; Bleach, N.R. Pecurrent labyrinthine membrane rupture: Bio-glue and five surgical repairs. J. Laring. Otol., ____:487-91, 1987.
38. Grey, E.G. Fibrin as a hemostatic in cerebral surgery. Surgery, Gynecology and Obstetrics, ____:452-4, 1915.

39. Grymer, J.; Watson, G.L.; Coy, C.H.; Prindle, L.V. Healing of experimentally induced wounds of mammary papilla (teat) of the cow: Comparison of closure with tissue adhesive versus nonsutured wounds. *Am. J. Vet. Res.*, 45(10): 1979-83, 1984.
40. Guilmet, D.; Backet, J.; Goudot, B. et alii. Use of biological glue in acute aortic dissection. Preliminary clinical results with a new surgical technique. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 77(4):516-21, 1979.
41. Guilmet, D.; Aiazzi, L.; Caprioli, G. et alii. Studi e ricerche sulla terapia chirurgica della dissecazione dell'aorta ascendente. Esperienza nell'impiego della colla biologica G.R.F. *Giornale della Istituzione Italiana di Cardiocirurgia*, 12(2):2871-6, 1983.
42. Harris, D.M.; Siedentop, K.H.; Ham, K.R.; Sanchez, B. Autologous fibrin tissue adhesive biodegradation and systemic effects. *Lachnoscopia*, 92:1141-4, 1987.
43. Hayward, P.J.; Mackay, I.S. Fibrin glue in nasal septal surgery. *The Journal of Lachnology and Otolaryngology*, 101: 133-8, 1987.
44. Healey, J.E.; Clark, R.L. Jr.; Gallager, H.S. et alii. Non-suture repair of blood vessels. *Ann. Surg.*, 155:817-25, 1962.

45. Inácio, W.; Margarido, N.F.; Pereira, V.; Rahal F. Anastomose esôfago-esofágica cervical com adesivo butil-2-cianoacrilato e fio de algodão em dois planos de sutura. Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões, 14(3/4):101-4, 1987.
46. Inou, T.; Yoshimura, K.; Furukara, T. et alii Studies on surgical use of plastic adhesive. Bull. 2nd Surg. Clin., 11-15, 1961.
47. Jessen, C.; Sharma P. Use of fibrin glue in thoracic surgery. The Annals of Thoracic Surgery, 39(6):521-4, 1985.
48. Just-Viera, J.D.; Puro del Aguila, R.; Yeager, G.H. Experimental control of renal hemorrhage with the use of rapidly polymerizing adhesive. Surgery, 55:532, 1964.
49. Kessler, L.A.; Carton, C.A. Experimental studies in the surgery of small blood vessels with the use of plastic adhesive III. Prevention of aneurismal dilatation. Surg. Forum, 11:403-4, 1960.
50. Kline, D.G.; Hayes, G.J. An experimental evaluation of the effect of a plastic adhesive, methyl 2-cyanoacrylate, on neural tissue. Journal of Neurosurgery, ____:647-54, 1963.
51. Kram, H.B.; Shoemaker, W.C.; Hino, S.T.; Harley, D.P. Splenic salvage using biologic glue. Arch. Surg., 119:1309-11, 1984.

52. Kram, H.B.; Garces, M.A.; Klein, S.R.; Shoemaker, W.C. Common bile duct anastomosis using fibrin glue. Arch. Surg., 120:1250-6, 1985.
53. Kram, H.B.; Shoemaker, W.C.; Hino, S.T. et alii. Tracheal repair with fibrin glue. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 90(5):771-5, 1985.
54. Kristenson, A. Untersuchungen über die elastizität des fibrinocoagulum. Acta Med. Scandinav., ZZ:351, 1932.
55. Kuderna, H. Klinische anwendung der klebung von nervenanastomosen mit fibrinogen. Erbschrift der Kiefer und Gesichtschirurgie, 21:135-8, 1976.
56. Laurian, C.; Gigou, F; Guilmet, D. La colle gélatine-résorcine-formal-déhyde en chirurgie vasculaire. La Nouvelle Presse Médicale, 6(35):3221-3, 1977.
57. Lehman, R.A.W.; Hayes, G.J.; Martins, A.N. The use of adhesive and lyophilized dura in the treatment of cerebrospinal rhinorrhea. _____, ____:92-4, 1965.
58. Lehman, R.A.W.; Hayes, G.J. The toxicity of alkyl 2-cyanoacrylate tissue adhesives: Brain and blood vessels. Surgery, 61(6):915-22, 1967.

59. Lombard, G.F.; Lanotte, M.M. Indications for the use of biological glue in neurosurgery. Institute of Neurosurgery, University of Turin. 1983.
60. Lourenço, E.A.; Pacheco, S.A.F.; Almeida, C.I.R.; Cossi, M. Adesivo de fibrina - Conceitos e aplicações em septoplastias. Revista Brasileira de Otorrinolaringologia, 42: 19-21, 1983.
61. Luke, M.; Kvist, E.; Andersen, F.; Hjortrup, A. Reduction of postoperative bleeding after transurethral resection of prostate by local instalation of fibrin adhesive (beriplast). Br. J. Urol., 58:672-5, 1986.
62. Lupinetti, F.M.; Stoney, W.S.; Alford, W.C. et alii. Cryoprecipitate-topical thrombin glue. Initial experience in patients undergoing cardiac operations. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 90:502-5, 1985.
63. Mallea, I.; Ochandio, L.; Almagro, L. et alii. Nuestra experiencia con un adhesivo de fibrina. Anales Otorrinolaringológicos Ibero-Americanos, 12(3):243-50, 1985.
64. Marshall, S. Commercial fibrinogen, autogenous plasma, whole blood and cryoprecipitate for coagulum pyelolithotomy: A comparative study. J. Urol., 119:310-1, 1978.

65. Martin, F.; Spitzer, H.; Gastpar, H. Endolaryngeale eingriffe unter verwendung hochkonzentrierten humanen fibrinogens als gewebekleber. Laryng. Rhinol., 60:369-72, 1981.
66. Matras, H.; Dinges, H.P.; Lassmann, H.; Mamoli, B. Zur nahtlosen interfaszikularen nerven transplantation im tierexperiment. Wiener Medizinische Wochenschrift, 122(37):517-22, 1972.
67. Matsumoto, T. Vienna International Symposium - Tissue adhesives in surgery. Arch. Surg., 96:226-30, 1968.
68. Mattos, S.; Lage, S.; Fadul, M. Aplicação do adesivo fibrínico humano em cirurgia pediátrica. Clínica Pediátrica, ___:29-43, 1986.
69. Maxwell, J.A.; Goldware, S.I. Use of tissue adhesive in the surgical treatment of cerebrospinal fluid leaks. J. Neurosurg., 39: 332-6, 1973.
70. McCarthy, P.M. ; Frazee R.C.; Hughes, R.W.; Beart, R.W. Barium-impregnated fibrin glue: Application to a bleeding duodenal sinus. Mayo Clin. Proc., 62:317-9, 1987.
71. McCarthy, P.M.; Trastek, V.F.; Schaff, H.V. et alii. Esophagogastric anastomoses: The value of fibrin glue in preventing leakage. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 93: 234-9, 1987.

72. Meyers, M.H.; Herron, M. A fibrin adhesive seal for the repair of osteochondral fracture fragments. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, (182):258-63, 1984.
73. Milingos S.; Tassopoulos, J.; Vrachnos, P. Experimental remarks on the utilization of biological tissue adhesive in lymphovenous anastomosis. *J. Cardioy. Surg.*, 25:130.3, 1984.
74. Michael, P.; Abbott, W. The use of human fibrinogen in reconstructive surgery. *J. A. M. A.*, 123:279, 1943.
75. Naumann, C.; Lang, G. Fibrinkleber in der larynxchirurgie. *Laryng. Rhinol.*, 60:364-6, 1981.
76. Oka, H.; Harrison, R.C.; Burhenne, H.J. Effect of a biologic glue on the leakage rate of experimental rectal anastomoses. *The American Journal of Surgery*, 143:561-4, 1982.
77. Oosterlinck, W.; De Sy, W. La curve de l'incontinence urinaire d'effort chez la femme à aide de colle tissulaire. *Annales di Urologie*, 18:45, 1984.
78. Panis, R.; Rettinger, G. Verschluss von kleinen rezidivperforationen nach tympanoplastik mit einem neuen fibrinklebstoff. *HNO*, 27:413-5, 1979.

79. Paris, R.; Scheele, J. Hepatitisrisiko bei der Fibrinklebung in der HNO-Chirurgie. Laryng.-Rhinol., 60:367-8, 1981.
80. Parker, G. Surgical repair of extratemporal facial nerve: A comparison of suture repair and microfibrillar collagen repair. Laryngoscope, 94(7):950-3, 1984.
81. Pearl, R.M.; Wustrack, K.D.; Harbury, C. et alii. Microvascular anastomosis using a blood product sealant-adhesive. Surgey, Gynecology and Obstetrics, 144:227-31, 1977.
82. Petersen, J. K. Clinical experience in oral surgery with human fibrin sealant. Aarhus, International Dental Journal 35: 277-9, 1985.
83. Petrelli, N.J.; Cohen, H.; Derisi, D. et alii. The application of tissue adhesives in small bowel anastomoses. Journal of Surgical Oncology, 19(1):59-61, 1982.
84. Protell, R.L.; Silverstein, F.E.; Gulacsik, C. Failure of cyanoacrylate tissue glue (flucrylate, MBR4197) to stop bleeding from experimental nine gastric ulcers. Digestive Diseases, 23(10):903-8, 1978.
85. Rapaport, S.I. Mecanismos hemostáticos. In: ----- Introdução à hematologia. Harper and Row do Brasil Ltda., 1978. p. 248-65.

86. Rathore, A.; Harrison, J.H. Coagulum pyelolithotomy using autogenous plasma and bovine thrombin. The Journal of Urology, 116:8-10, 1976.
87. Rousou, J.A.; Engelman, R.M.; Breyer, R.H. Fibrin glue: An effective hemostatic agent for nonsuturable intraoperative bleeding. The Annals of Thoracic Surgery, 38(4):409-10, 1984.
88. Sano, M.E. Skin grafting. A new method based on the principles of tissue culture. The American Journal of Surgery, 61:105-6, 1943.
89. Scheele, J.; Heinz, J.; Pesch, H.J. Fibrinklebung an parenchymatosen oberbauchorganen. Tierexperimentelle untersuchungen. Langenbecks Arch. Chir., 354:245-54, 1981.
90. Scheele, J.; Gentsch, H.H.; Matteson, E. Splenic repair by fibrin tissue adhesive and collagen fleece. Surgery, 95(1): 6-13, 1984.
91. Schonfeld, R. Fibrinkleber zur Verhinderung von hamatomen nach rhinochirurgischen eingriffen. HNO, 33:156-8, 1985.
92. Seegers, W.H.; Brinkhous, K.M.; Smith, H.P.; Warner, E.D. The purification of thrombin. J. Biol. Chem., 126:91-5, 1938.

93. Seegers, W.H. Purification of prothrombin and trombin: Chemical properties of purified preparations. J. Biol. Chem., 136:103-11, 1940.
94. Seegers, W.H.; McGinty, D.A. Further purifications of thrombin: Probable purity of products. J. Biol. Chem., 146:511-518, 1942.
95. Seguin, P.; Beziat, J.L.; Cros, P. et alii. Intérêt du tissuocol en stomatologie et chirurgie maxillo-faciale. Rev. Stomatol. Chir. Maxillofac., 86(3):189-91, 1985.
96. Siedentop, K.H.; Loewy, A. Facial nerve repair with tissue adhesive. Arch. Otolaryngol., 105: 423-6, 1979.
97. Siedentop, K.H. Tissue adhesive histoacryl (2-cyano butyl acrylate) in experimental middle-ear surgery. Am. J. Otol., 2:77-87, 1980.
98. Siedentop, K.H.; Harris, D.M.; Loewy, A. Experimental use of fibrin tissue adhesive in middle ear surgery. Laryngoscope, 93:1310-3, 1983.
99. Siedentop, K.H.; Harris, D.M.; Sanchez, B. Autologous fibrin tissue adhesive. Laryngoscope, 95:1074-6, 1985.

100. Siedentop, K.H.; Harris, D.M.; Ham, K.; Sanchez, B. Extended experimental and preliminary surgical findings with autologous fibrin tissue adhesive made from patient's own blood. Laryngoscope, 96:1062-4, 1986.
101. Silverberg, G.D.; Harburg, C.B.; Rubenstein, E. A physiological sealant for cerebrospinal fluid leaks. J. Neurosurg., 46:215-9, 1977.
102. Spangler, H.P.; Holle, J.; Braun, F. Gewebeklebung mit fibrin. Eine experimentelle studie an der rattenhaut. Wiener Klinische Wochenschrift, 85(50):827-9, 1973.
103. Spangler, H.P. Gewebeklebung und lokale blutstillung mit fibrinogen, thrombin und blutgerinnungsfaktor XIII. Experimentelle untersuchungen und klinische erfahrungen. Wiener Klinische Wochenschrift, 88(49):3-18, 1976.
104. Staindl, O. The healing of wounds and sear formation under the influence of a tissue adhesion system with fibrinogen, thrombin, and coagulation factor XIII. Arch. Otorhinolaryngol., 222:241-5, 1979.
105. Staindl, O. Tissue adhesion with highly concentrated human fibrinogen in otolaryngology. Ann. Otol., 88:413-8, 1979.

106. Staindl, O. The use of fibrin sealant in patients with rhinophyma. Plastic Surgery - Maxillofacial and Dental Surgery, 4:63-70, 1986.
107. Stajdic, Z.; Todorovic, J.; Petrovic, V. Tissucol in closure of oroantral communication, Int. J. Oral Surg., 14: 444-6, 1985.
108. Stemberger, A.; Hebel, W.; Duspiva, W.; Blumel, G. Fibrinogen cold-insoluble globulin mixtures as tissue adhesives. Thrombosis Research, 12(5):907-10, 1978.
109. Stemberger, A.; Fritsche, H.M.; Primbs, P.; Blumel, G. Fibrinogen konzentrate und Kollagenschwamme zur gewebe-
klebung. Med. Welt, 22:720-4, 1978.
110. Stanek G.P.; Bosch, P.; Weger, P. Über die keimvermehrung im fibrinkleber im vergleich zum blut und das lyseverhalten mit und ohne faktor XIII. Blut, 38:65, 1979.
111. Strauss, P.; Pult, P.; Kurzeja, A. et alii. Verbessert human-fibrinkleber die ergebnisse der tympanoplastik? Laryng. Rhinol. Otol., 63:615-7, 1984.
112. Tarlov, I.M.; Benjamin, B. Autologous plasma clot suture of nerves. Science, 95:1258, 1942.

113. Tarlov, I.M.; Goldfarb, A.I.; Benjamin, B. A method for measuring the tensile strength and stretch of plasma clots. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, _____:1333-5, 1942.
114. Tarlov, I.M.; Denslow, C.; Swarz, S.; Pineles, D. Plasma clot suture of nerves. Experimental technic. *Arch. Surg.*, 42:44-58, 1943.
115. Tarlov, I.M. et alii. Plasma clot and silk suture of nerves. An experimental study of comparative tissue reaction. *Surgery, Gynecology and Obstetrics*, ___:66-74, 1943.
116. Tarlov, I.M. Plasma clot suture of nerves-Illustrated technic. *Surgery*, 15(1):257-69, 1944.
117. Thetter, O. Fibrin adhesive and its applications in thoracic surgery. *Thoracic Cardiovasc. Surg.*, 29:290-2, 1981.
118. Thorson, G.K.; Perez-Brett, R.; Lillie, D.B. et alii. The role of the tissue adhesive fibrin seal (fs) in esophageal anastomoses. *Journal of Surgical Oncology*, 24(3): 221-3, 1983.
119. Tidrick, R.T.; Seegers, W.H.; Warner, E.D. Clinical experience with thrombin as an hemostatic agent. *Surgery*, 14:191-6, 1943.

120. Tidrick, R.T.; Warner, E.D. Fibrin fixation of skin transplants. Surgery, 15(1): 90-5, 1944.
121. VanderArk, G.D.; Pitkethly, D.T.; Ducker, T.B.; Kempe, L.G. Repair of cerebrospinal fluid fistulas using a tissue adhesive. J. Neurosurg., 32:151-5, 1970.
122. Weisberger, G.; Douvin, D.; Huguet, C. Colle biologique G. R.F. appliqué aux hepatectomies chez le rat. Chir., 108: 485, 1975.
123. Wolf, G. Fibrinkleber für die Hals-nasen-ohrenheilkunde. Arch. Otorhinolaryngol., 233:49-54, 1981.
124. Woodward, S.C.; Herrmann J.B.; Cameron, J.L. et alii. Histotoxicity of cyanoacrylate tissue adhesive Earl. Proc., 23:495, 1964.
125. Woodward, S.C.; Herrmann J.B.; Cameron, J.L. et alii. Histotoxicity of cyanoacrylate tissue adhesive in the rat. Annals of Surgery, 162(1):113-22, 1965.
126. Yong, J.Z.; Medwar, P.B. Fibrine suture of peripheral nerves. Lance, 2:126, 1940.