

MAURÍCIO BUSCHLE

ADESIVO TECIDUAL 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

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA
NÍVEL DE MESTRADO

Parecer Conjunto da
Comissão Examinadora de Avaliação
de Dissertação

Aluno: Maurício Buschle

Título de Dissertação: ADESIVO TECIDUAL DE FIBRINA

Conceitos Emitidos:

Prof. Dr. Osvaldo Malafaia : _____

Prof. Dr. Marcos Mocellin : _____

Prof. Dr. Carlos E. Barrionuevo: _____

Conceito Final de Avaliação:

Curitiba, 17 de novembro de 1993

Prof. Dr. Osvaldo Malafaia

Prof. Dr. Marcos Mocellin

Prof. Dr. Carlos E. Barrionuevo

Orientador: Prof. Dr. João J. Maniglia

Co-Orientador: Prof. Dr. Emílio S. Granato

Aos meus pais Dario e Ingrid
que sempre me apoiaram em todos os
momentos.

À minha esposa Jeannette por
compreender a minha ausência.

Aos meus filhos Marianna e
Rodolfo, razão de viver, fonte dos
meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. João J. Maniglia pela orientação nessa tese, e por me mostrar os caminhos da otorrinolaringologia.

Ao Prof. Dr. Emílio Granato pela orientação e ao Laboratório Frischmanns Aisengart por todo o trabalho nos finais de semana.

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Barrionuevo pelo total apoio nessa tese e por abrir todos os espaços na minha vida profissional.

Aos Profs. Drs. Leônidas e Marcos Mocellin por me permitirem o avanço na área docente.

Ao Prof. Dr. Carlos Henrique M. Vianna e ao Laboratório Labor-técnica pelas palavras de apoio e encorajamento, além do material técnico.

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.

Aos amigos Dr. Antonio Celso N. Nassif Filho, Dr. Elmar A. Fugmann, Dr. Mauro S. Ferreira e Dra. Brenda H. Schwabe que estiveram a meu lado em várias lutas.

SUMARIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Objetivos.....	4
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	5
2.1 Adesivo de Fibrina Heterólogo.....	5
2.2 Adesivo de Fibrina Homólogo.....	6
2.3 Adesivo Homólogo Comercial.....	7
2.4 Adesivo Autólogo.....	16
2.5 Cianocrilato.....	19
2.6 Gelatina Resorcil-Formaldeído.....	21
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1. Material.....	24
3.2. Métodos.....	25
4 RESULTADOS.....	27
5 DISCUSSÃO.....	29
6 CONCLUSÕES.....	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

1. SISTEMA DE ADESÃO.....	2
2. COAGULAÇÃO SANGUÍNEA.....	4

RESUMO

O adesivo tecidual de fibrina pode ser obtido através de vários métodos. Entre os vários métodos propostos de confecção de Adesivo Tecidual de Fibrina utilizou-se três deles: a técnica de uso do fibrinogênio no plasma, crioprecipitação e precipitação por sulfato de amônio. Anilizou-se em laboratório cada um deles quanto a qualidade do coágulo produzido, a interferência no processo de cicatrização, sua toxicidade local, a capacidade de adesividade de enxertos e finalmente o grau de adesão de dois fragmentos de dura-máter. Os melhores resultados foram obtidos com o último método.

ABSTRACT

The fibrin tissue adhesive can be obtained using different methods. Three techniques were utilised: the use of plasma fibrinogen, plasma cryoprecipitate and plasma precipitated by ammonium sulphate. Laboratory evaluation of each method in relation to quality of coagulum, healing interference, local toxicity, graft adhesiveness to host and mechanical strength to distraction of two dural fragments previously glued were analysed. Best results were obtained with the use of plasma ammonium sulphate precipitate.

1 . INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

A fibrina do sangue apresenta propriedades adesivas. Adesivo Autólogo é aquele cujo fibrinogênio utilizado na sua composição é extraído do sangue do próprio paciente.

No adesivo homólogo o fibrinogênio é obtido do sangue de outro paciente. Para uso comercial pode ser obtido do sangue de vários pacientes.

Diferentes condições devem ser satisfeitas para selecionar um adesivo tecidual de uso apropriado no corpo. Ele deve unir rapidamente tecidos vivos, não deve ser comprometido por umidade, não ser irritante e nem ter efeito tóxico local ou sistêmico. Deve ser flexível, gradualmente solúvel e biodegradável.

A necessidade de encontrar um agente que produza união biostável entre tecidos em cirurgia originou o desenvolvimento de vários adesivos teciduais. Até recentemente os cianoacrilatos foram largamente usados, apesar de apresentar efeitos histotóxicos. A gelatina e o resorcinol, ligados pela ação do formaldeído, é considerado um bom adesivo tecidual, porém provoca necrose tecidual focal, o que inviabilizou o seu uso em determinadas cirurgias.

Em 1967 no Simpósio sobre Adesivos Teciduais, em Viena, foi discutido o uso, o desenvolvimento e a importância deles em cirurgia. Foram amplamente abordados adesivos de epoxi,

poliuretano, gelatina-resorcil-formaldeído e cianoacrilato. Chegou-se a conclusão de que até então não existia o adesivo ideal, e um adesivo não tóxico e biodegradável precisava ser desenvolvido (Matsumoto, 1968)..

Demonstrada a deficiência dos adesivos plásticos; cresceu intensamente o interesse pelos adesivos de fibrinogênio.

Berger (1909) usou a fibrina como hemostático e Tarlov (1942) como adesivo. Em torno de 1970 começou a produção comercial de fibrinogênio e o seu uso como adesivo espalhou-se pela Europa (Matras, 1972). Pelo risco de transmissão de hepatite, (Panis, 1981), nos anos 80 começou o desenvolvimento do adesivo autólogo de fibrina preparado com sangue do próprio paciente. O fator limitante foi a extração de quantidade insuficiente de fibrinogênio do sangue.

Usando o sistema de adesão de Redt (1979) o adesivo comercial de fibrina é obtido pela combinação de duas soluções.

Segundo componente:

Cloreto de cálcio

Trombina

Inibidor da fibrinólise

Primeiro componente: ii

(selante de fibrina) ii

Fibrinogênio	=== monômero de polímero de	lise de
	fibrina ==== fibrina =====	fibrina
Fator XIII	=== fator XIIIa	
	=====	plasmina

ILUSTRAÇÃO 1

SISTEMA DE ADESÃO

Uma solução contém fibrinogênio e fator XIII e a outra trombina e cloreto de cálcio, podendo usar-se opcionalmente um inibidor da fibrinólise. Sob ação da trombina o fibrinogênio se transforma em fibrina, sendo que a velocidade da reação depende da concentração de trombina. A formação da rede de fibrina demora cerca de 2 segundos criando uma matriz para a união tecidual normal.

Gradativamente o adesivo tecidual de fibrina é totalmente absorvido sem distúrbios para o processo de cicatrização. Este processo é até acelerado pela estimulação de fibroblastos. A velocidade de biodegradação do adesivo pode ser regulada pela adição de inibidores de fibrinólise.

A maior dificuldade se encontra na extração de quantidade suficiente de fibrinogênio, pois a trombina, o cloreto de cálcio e o ácido amino capróico são bem definidos quantitativamente e qualitativamente e de fácil obtenção no mercado.

Em nosso trabalho aplicamos técnicas de extração de fibrinogênio por:

1. Centrifugação normal;
2. Crioprecipitação;
3. Precipitação por Sulfato de Amônia.

Para compreender o adesivo tecidual de fibrina devemos resumir a coagulação sanguínea em três etapas:

1. Na etapa inicial um ativador para a protrombina é gerado;
2. A seguir o ativador converte a protrombina em trombina na presença de íons cálcio;
3. Uma terceira fase ocorre, em que a trombina converte o polímero fibrinogênio em instável monômero fibrina. O fator XIII, também ativado pela trombina na presença de cálcio,

estabiliza a fibrina.

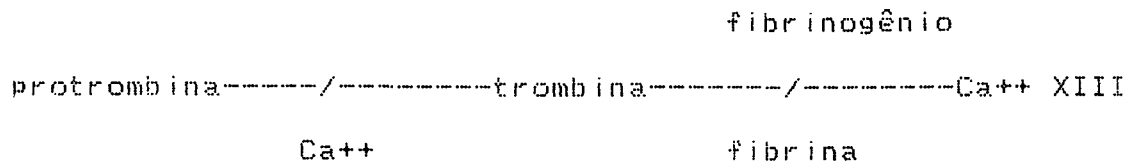


ILUSTRAÇÃO 2

COAGULAÇÃO SANGUÍNEA

1.1 Objetivos

Tem-se como objetivos do trabalho a confecção do adesivo tecidual de fibrina testando em laboratório as propriedades e características da cola biológica preparada de três modos diversos: centrifugação normal, crioprecipitação e precipitação por sulfato de amônio e compará-los. Com essas aplicações projeta-se a possibilidade de seu uso em sala de cirurgia, em vários campos da medicina.

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 criopreci-

pitação 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 endolaríngicas. 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.

Dosterlinck (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, histologicamente 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, extrapleurais, broncopleurais).

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 pacientes 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-faciais. 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 grupo. 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 autólo-
go, 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 pericra-
niano para tratamento de fístulas liquóricas em cães.

Wolf (1981) relatou o uso clínico de cola de fibrino-
gênio autóloga com as seguintes vantagens: isenção de risco de
hepatite, intervalos flexíveis de adesão, sem problemas de esto-
cagem, 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 co-
mercial 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 criopre-
cipitação, 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 co-
la 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 Cianoacrilato:

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 liquórica 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 líquor, 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 líquor e não adere a substitutos sintéticos. Não deve ser usado rotineiramente.

Maxwell (1973) obteve fechamento de 12 casos de fístula liquórica 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.

Bical (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

3.1 MATERIAL

Para a obtenção do fibrinogênio usado na confecção do adesivo (componente I da cola) utilizou-se o sangue obtido de duas fontes: ou de bolsas de Banco de Sangue, já previamente citratadas a 3,8% ou de pacientes escolhidos aleatoriamente com sangue citratado a 10%.

Para a confecção do componente I ainda obteve-se comercialmente o citrato de sódio a 10%, solução saturada de sulfato de amônia e cloreto de cálcio a 40 mol/l.

O componente II da cola, a trombina, adquiriu-se comercialmente, da mesma maneira que o ácido amino capróico e a água destilada usados para diluir o pó liofilizado desses produtos.

Para os testes de cicatrização utilizou-se coelhos da raça Nova Zelândia e para os testes de comparação de força de aderência fragmentos de dura-máter humana, divididos em 3 grupos de 5 coelhos e cinco testes com 2 fragmentos de dura-máter:

- grupo 1: centrifugação do plasma;
- grupo 2: crioprecipitação;
- grupo 3: precipitação pelo sulfato de amônio.

3.2 MÉTODOS

1- Obtenção do fibrinogênio:

O fibrinogênio foi obtido do plasma de sangue. A cola foi confeccionada extraíndo-se por três métodos diferentes o componente I (fibrinogênio). O componente II foi sempre o mesmo (trombina comercial diluída em água destilada, misturada com ácido amino capróico com antifibrinolítico).

a) plasma - 36 ml de sangue já citratado no banco de sangue foram coletados em 4 tubos e centrifugados a 3000 rpm por 3 minutos. O plasma foi retirado por pipetagem e após a adição de 1 ml de cloreto de cálcio usado como componente I.

b) plasma crioprecipitado - foram necessários 350 ml de sangue em bolsa citratada congelada a 18° C negativos. Por ocasião do uso a bolsa foi descongelada em geladeira a 4° C e submetida a centrifugação fria a 5000 rpm por 5 minutos. Adicionou-se 1 ml de cloreto de cálcio na ocasião do uso ao precipitado do fundo da bolsa, cerca de 10 ml, sendo este o componente I da cola.

c) plasma quimiprecipitado - 36 ml de sangue não citratado foram coletados em 4 tubos com 1 ml de citratado de sódio a 10% e centrifugados a 3000 rpm por 10 minutos. Ao plasma obtido foi adicionado 1,3 ml de solução saturada de sulfato de amônio em 4 tubos siliconizados com precipitação imediata de parte do fibrinogênio e centrifugado a 3000 rpm por 3 minutos. O precipitado branco, cerca de 1-2 ml, foi separado por sifonagem. Com a adição de 1 ml de cloreto de cálcio no momento do uso teve-se o componente I da cola.

Para o componente II da cola usou-se a trombina 1000 NIH diluídos com água destilada e ácido amino capróico em quantidades suficientes para essa concentração de acordo com o pó liofilizado.

2- Métodos de avaliação da adesividade da cola:

A) observação do tempo para formação e qualidade do coágulo em relação a aderência e umidade.

B) adesividade da cola de fibrina. Avaliou-se a adesividade da fibrina de duas formas. Uma delas clinicamente verificando-se o resultado da enxertia de pele durante o ato cirúrgico e no pós-operatório observando-se a cicatrização das incisões feitas em esclera de coelhos. Outra através de testes laboratoriais de tração em dura-máter colada com o adesivo.

Para a primeira observação a cirurgia foi feita sob anestesia geral com tionembutal, mantendo-se inalação por éter. O local do enxerto (1 cm² de face interna de orelha de coelho) foi infiltrado com lidocaína 2% com adrenalina a 1:100.000. A pele foi removida e reaplicada com o adesivo.

Para testar a resistência a tração usou-se dois fragmentos de 1 cm² de dura-máter humana reparados por sutura de um fio de algodão 2-0 colados com o adesivo. Desta maneira foi comparada a resistência do adesivo obtido pelos três diferentes métodos. Os fios foram atados a um recipiente com água e a força de tração medida pelo peso em gramas da água necessária para separar os fragmentos após 10 minutos de colados.

4 . RESULTADOS

RESULTADOS

Comparou-se com o adesivo confeccionado pelos três diferentes métodos para obtenção do fibrinogênio, a qualidade do coágulo, a adesividade do enxerto durante a cirurgia e, após 30 dias a pega dos enxertos, a cicatrização de esclera de coelhos (que inclusive avalia a toxicidade da cola). Comparou-se também a resistência de adesividade através do método de tração.

A) Todos os métodos produziram um coágulo de grande aderência, que não se desmancha ao manuseio, que se forma em cerca de 2 segundos e permanecendo da mesma maneira por várias horas, inclusive de um dia para o outro.

B) Enxerto de pele: foram utilizados 5 coelhos por grupo.

Grupo 1 - plasma: todos mal sucedidos. O enxerto pode ser deslocado tão somente pela força da gravidade.

Grupo 2 - plasma crioprecipitado: o resultado foi bem sucedido. Em todos os casos adere e fixa o enxerto já durante a cirurgia. Em 30 dias o enxerto estava clinicamente perfeito.

Grupo 3 - plasma quimiprecipitado: o mesmo resultado de 100% de sucesso no per-operatório e na avaliação de 30 dias de pós-operatório.

C) Cicatrização da esclera de coelhos: avaliou-se a cicatrização e toxicidade em todos os coelhos dos 3 grupos.

Observou-se excelente resultado em todos os grupos.

D) Teste de tração da dura-máter colada:

Grupo 1 - média de 13 g/cm² necessários para descolar os fragmentos de dura-máter.

Grupo 2 - média de 23 g/cm² necessários para descolar os fragmentos de dura-máter.

Grupo 3 - média de 39 g/cm² necessários para descolar os fragmentos de dura-máter.

5. DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

O adesivo de fibrinogênio comercial é facilmente adquirido na Europa. Nos Estados Unidos da América é proibido pelo FDA pelo risco de transmissão de doenças como a hepatite e a síndrome da imunodeficiência adquirida e possíveis reações imunológicas, (Rathore, 1976). No Brasil o adesivo é importado e de alto custo, portanto de difícil aquisição. No nosso trabalho procuramos demonstrar como obter altas concentrações de fibrinogênio do sangue para a confecção do adesivo de fibrina, (Siedentop, 1985).

O adesivo de fibrina quando comparado com outros adesivos como os cianoacrilatos e a gelatina-resorcil-formaldeído tem as vantagens de não provocar reações ou rejeições dos tecidos, estimular o crescimento de fibroblastos e ser totalmente biodegradável, (Staindl, 1979).

A precipitação do plasma traz outras proteínas junto ao fibrinogênio, desejáveis como o fator XIII e indesejáveis como o plasminogênio. A plasmina é derivada do plasminogênio e a principal enzima proteolítica ativa para a dissolução do coágulo. Pode inclusive causar lise espontânea do coágulo *in vitro* em alguns dias. Quando em cirurgia, no campo operatório além da plasmina do precipitado do adesivo autólogo existe a plasmina em quantidade maior quanto mais traumática for a cirurgia. Por causa desta tendência de destruição do coágulo, quando usamos a

cola na cirurgia, acrescentamos um antifibrinolítico, o ácido amino capróico no componente II da cola, que retarda a lise do coágulo estabilizando os tecidos até a formação da cicatriz, (Harris, 1987).

A velocidade do processo de coagulação depende da concentração de trombina. Quanto maior a concentração de trombina maior a velocidade de adesão, porém com redução da força de tensão, (Epstein, 1986).

Uma outra grande qualidade do adesivo de fibrina é a baixa tendência a infecção. Isto foi descrito em trabalhos que demonstraram que o crescimento de estafilococos é 10 vezes maior no coágulo de sangue do que no de fibrina e 100 vezes maior que no coágulo de fibrina com fator XIII, (Gastpar, 1979). Petrelli (1982) colocou culturas de *Serratia* no peritônio de cães na bexiga suturada com cola biológica e sutura convencional. Demonstrou taxa de peritonites menor com o uso de adesivo do que com sutura convencional.

Em exaustiva procura bibliográfica constatou-se que o uso do adesivo biológico tem aplicação em diversos procedimentos cirúrgicos como: fechamento de defeitos de dura-máter, hemostasia, cirurgia de ouvido médio e interno, fístulas líquóricas, enxerto de nervo facial, enxertos de pele e mucosas, estabilização de fraturas, cirurgias de laringe, cirurgias de nariz e seios paranasais, cirurgias de base de crânio, cirurgias plásticas e reconstitutivas, microcirurgias vasculares, cirurgia digestiva, cirurgia cardíaca, cirurgia urológica, cirurgia hepática, cirurgia ginecológica, cirurgia odontológica, cirurgia oral e cirurgia pulmonar. Seu uso é quase ilimitado em todos os campos da cirurgia (Bento, 1989).

Estudos demonstram que a precipitação do fibrinogênio pode ser feita por vários métodos. O método da solução saturada do sulfato de amônio produz maiores quantidades de fibrinogênio de maneira não seletiva, trazendo algumas proteínas que são importantes no processo de coagulação. Alguns poucos autores discordam desta afirmação, (Epstein, 1986).

Nesse trabalho usando três diferentes métodos de produção da cola autóloga de fibrina permitiu-se avaliar os parâmetros e concluir que a formação de coágulo é idêntica em todos.

A enxertia de pele foi mal sucedida quando do uso do plasma e igualmente bem sucedida quando do uso de plasma crioprecipitado ou quimiprecipitado. Assinalou-se a dificuldade técnica maior na obtenção do crioprecipitado.

Com relação a toxicidade local pode-se observar que os três métodos são igualmente satisfatórios, pois as escleras de coelhos não apresentaram sinais de lesão. No que tange aos testes laboratoriais de adesividade de dura-máter observou-se o pior resultado com o uso do plasma puro e a seguir com o uso do crioprecipitado de plasma. A melhor aderência foi obtida usando-se o quimiprecipitado de plasma.

Este trabalho é a base necessária para demonstrar a utilidade, importância e eficiência do uso do adesivo de fibrina nos vários campos da medicina. Apesar da adesividade do método da quimiprecipitação ser inferior a cola comercial nos dez primeiros minutos, em situações onde os fragmentos não são submetidos à grandes trações este fato não seria relevante e após 30 minutos quando então a cola quimiprecipitada apresenta maior adesividade do que a comercial (Siedentop, 1985). Como dedução pode-se dizer que a obtenção do fibrinogênio pelo método de quimiprecipitação

do plasma, é o melhor e tecnicamente mais fácil para ser aplicado em cirurgia. Para o uso humano pode-se usar o sangue do próprio paciente e o adesivo biológico pode ser preparado na sala da cirurgia.

6 . CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

- A formação dos coágulos obtidos pelos métodos de centrifugação normal, crioprecipitação e quimiprecipitação é de igual qualidade.

- O adesivo obtido através dos três métodos não mostra ação tóxica local.

- A adesividade per-operatória e a cicatrização dos enxertos foi igual para os adesivos crioprecipitados e quimiprecipitados com mau resultado para a centrifugação normal.

- Os graus de resistência à tração foram em ordem crescente: centrifugação normal, crioprecipitação e quimiprecipitação.

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., 42:564-5, 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, 465:1-36, 1989.
9. Berger, S. Ueber wirkungen des fibrins. Deutsch. Med. Wochenscher., 35:633-65, 1909.
10. Bical, O.; 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-chrongie. 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, 92(6):750-5, 1985.
26. Dresdale, A.; Bowman, F.O. 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. Cohesiveness, 3:1, 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.; Kastwnbauer, 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.; Bachet, 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. *Laryngoscope*, 97:1141-4, 1987.
43. Hayward, P.J.; Mackay, I.S. Fibrin glue in nasal septal surgery. *The Journal of Laryngology and Otology*, 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.*, :1-15, 1961.
47. Jessen, C.; Sharma P. Use of fibrin glue in thoracic surgery. *The Annals of Thoracic Surgery*, 32(6):521-4, 1985.
48. Just-Viera, J.O.; 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., 22:351, 1932.
55. Kuderna, H. Klinische anwendung der klebung von nervenanastomosen mit fibrinogen. Fortschritte 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, 49: 18-21, 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. Iberac. Cardiovasc. Surg., 20:502-5, 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., 32: 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. Cardiovas. 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 de 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. Panis, 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.O.; Harbury, C. et alii. Microvascular anastomosis using a blood product sealant-adhesive. Surgery, 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. Rathore, A.; Harrison, J.H. Coagulum pyelolithotomy using autogenous plasma and bovine thrombin. The Journal of Urology, 116:8-10, 1976.

86. 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.
87. Sano, M.E. Skin grafting. A new method based on the principles of tissue culture. *The American Journal of Surgery*, 41:105-6, 1943.
88. Scheele, J.; Heinz, J.; Pesch, H.J. Fibrinklebung an parenchymatosen oberbauchorganen. Tierexperimentelle untersuchungen. *Langenbecks Arch. Chir.*, 354:245-54, 1981.
89. Scheele, J.; Gentsch, H.H.; Matteson, E. Splenic repair by fibrin tissue adhesive and collagen fleece. *Surgery*, 95(1): 6-13, 1984.
90. Schonfeld, R. Fibrinkleber zur Verhinderung von hamatomen nach rhinochirurgischen eingriffen. *HNO*, 33:156-8, 1985.
91. Seegers, W.H.; Brinkhous, K.M.; Smith, H.P.; Warner, E.D. The purification of thrombin. *J. Biol. Chem.*, 126:91-5, 1938.
92. Seegers, W.H. Purification of prothrombin and trombin: Chemical properties of purified preparations. *J. Biol. Chem.*, 134:103-11, 1940.

93. Seegers, W.H.; McGinty, D.A. Further purifications of thrombin: Probable purity of products. *J. Biol. Chem.*, 144:511-518, 1942.
94. 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.
95. Siedentop, K.H.; Loewy, A. Facial nerve repair with tissue adhesive. *Arch. Otolaryngol.*, 105: 423-6, 1979.
96. Siedentop, K.H. Tissue adhesive histoacryl (2-cyano butyl acrylate) in experimental middle-ear surgery. *Am. J. Otol.*, 2:77-87, 1980.
97. Siedentop, K.H.; Harris, D.M.; Loewy, A. Experimental use of fibrin tissue adhesive in middle ear surgery. *Laryngoscope*, 93:1310-3, 1983.
98. Siedentop, K.H.; Harris, D.M.; Sanchez, B. Autologous fibrin tissue adhesive. *Laryngoscope*, 95:1074-6, 1985.
99. 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.

100. Silverberg, G.D.; Harburg, C.B.; Rubenstein, E. A physiological sealant for cerebrospinal fluid leaks. J. Neurosurg., 46:215-9, 1977.
101. Spangler, H.P.; Holle, J.; Braun, F. Gewebeklebung mit fibrin. Eine experimentelle studie an der rattenhaut. Wiener Klinische Wochenschrift, 85(50):827-9, 1973.
102. 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.
103. 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.
104. Staindl, O. Tissue adhesion with highly concentrated human fibrinogen in otolaryngology. Ann. Otol., 88:413-8, 1979.
105. Staindl, O. The use of fibrin sealant in patients with rhinophyma. Plastic Surgery - Maxillofacial and Dental Surgery, 4:63-70, 1986.
106. Stajcic, Z.; Todorovic, J.; Petrovic, V. Tissucol in closure of oroantral communication, Int. J. Oral Surg., 14: 444-6, 1985.

107. Stemberger, A.; Hebeler, W.; Duspiva, W.; Blumel, G. Fibrinogen cold-insoluble globulin mixtures as tissue adhesives. Thrombosis Research, 12(5):907-10, 1978.
108. Stemberger, A.; Fritsche, H.M.; Primbs, P.; Blumel, G. Fibrinogen konzentrate und Kollagenschwamme zur gewebe-
klebung. Med. Welt, 29:720-4, 1978.
109. 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, 33:65, 1979.
110. Strauss, P.; Pult, P.; Kurzeja, A. et alii. Verbessert human-fibrinkleber die ergebnisse der tympanoplastik? Laryng. Rhinol. Otol., 63:615-7, 1984.
111. Tarlov, I.M.; Benjamin, B. Autologous plasma clot suture of nerves. Science, 95:1258, 1942.
112. 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.
113. Tarlov, I.M.; Denslow, C.; Swarz, S.; Pineles, D. Plasma clot suture of nerves. Experimental technic. Arch. Surg., 42:44-58, 1943.

114. 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.
115. Tarlov, I.M. Plasma clot suture of nerves-Illustrated technique. Surgery, 15(1):257-69, 1944.
116. Thetter, O. Fibrin adhesive and its applications in thoracic surgery. Thoracic Cardiovasc. Surg., 29:290-2, 1981.
117. 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.
118. Tidrick, R.T.; Seegers, W.H.; Warner, E.D. Clinical experience with thrombin as an hemostatic agent. Surgery, 14:191-6, 1943.
119. Tidrick, R.T.; Warner, E.D. Fibrin fixation of skin transplants. Surgery, 15(1): 90-5, 1944.
120. VanderArk, G.D.; Pitkethly, D.T.; Ducker, T.B.; Kempe, L.G. Repair of cerebrospinal fluid fistulas using a tissue adhesive. J. Neurosurg., 33:151-5, 1970.
121. Weisberger, G.; Douvin, D.; Huguet, C. Colle biologique G. R.F. appliqué aux hepatectomies chez le rat. Chir., 108:485, 1975.

122. Wolf, G. Fibrinkleber für die Hals-nasen-ohrenheilkunde. Arch. Otorhinolaryngol., 233:49-54, 1981.
123. Woodward, S.C.; Herrmann J.B.; Cameron, J.L. et alii. Histotoxicity of cyanoacrylate tissue adhesive Earl. Proc., 23:495, 1964.
124. 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.
125. Yong, J.Z.; Medwar, P.B. Fibrine suture of peripheral nerves. Lancet, 2:126, 1940.