

DALMER FARIA FREIRE

**MODELO EXPERIMENTAL DE TRATAMENTO DE LESÃO
ESPLÊNICA COM ADESIVO CIRÚRGICO POR LAPAROSCOPIA,
EM SUÍNOS HEPARINIZADOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de
São Paulo – Escola Paulista de Medicina, para
obtenção do Título de Mestre em Ciências.

SÃO PAULO
2009

DALMER FARIA FREIRE

**MODELO EXPERIMENTAL DE TRATAMENTO DE LESÃO
ESPLÊNICA COM ADESIVO CIRÚRGICO POR LAPAROSCOPIA,
EM SUÍNOS HEPARINIZADOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de
São Paulo – Escola Paulista de Medicina, para
obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Orientador:

Prof. Dr. Murched Omar Taha

Co-orientador:

Prof. Dr. José Homero Soares

SÃO PAULO

2009

Freire, Dalmer Faria

Modelo experimental de tratamento de lesão esplênica com adesivo cirúrgico por laparoscopia, em suínos heparinizados / Dalmer Faria

Freire. – São Paulo, 2009.

xv, 58f.

Tese (Mestrado) – Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Cirurgia e Experimentação.

Título em inglês: Experimental model for treatment of splenic injury with surgical adhesives, through laparoscopy, in heparinized pigs.

1. Baço. 2. Trauma. 3. Adesivo de fibrina. 4. Suínos. 5. Heparina.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO
ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA
UNIFESP- EPM

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA E EXPERIMENTAÇÃO

COORDENADOR: PROF. DR. JOSÉ LUIZ MARTINS

VICE-COORDENADOR: PROF. DR. IVAN HONG JUN KOH

TESE DE MESTRADO

AUTOR: Dalmer Faria Freire

ORIENTADOR: Prof. Dr. Murched Omar Taha

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. José Homero Soares

TÍTULO: Modelo experimental de tratamento de lesão esplênica com adesivo cirúrgico por laparoscopia, em suínos heparinizados

BANCA EXAMINADORA

1 – Presidente: Prof. Dr. Murched Omar Taha

Professor Afiliado, Livre Docente da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia da UNIFESP-EPM, Professor Orientador do Curso de Pós-Graduação em Cirurgia e Experimentação

MEMBROS EFETIVOS

2 – Prof. Dr. Afonso Caricati Neto

Professor Associado, Departamento de Farmacologia da UNIFESP-EPM

3 – Prof. Dr. Djalma José Fagundes

Professor Associado, Livre Docente da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia da UNIFESP-EPM, Professor Orientador do Curso de Pós-Graduação em Cirurgia e Experimentação

4 – Prof. Dr. Henri Chaplin Rivoire

Professor Adjunto e Chefe de Departamento, Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande do Sul

MEMBRO SUPLENTE:

1 – Prof. Dr. Fernando Augusto Garcia Guimarães

Professor Adjunto do Departamento de Cirurgia da Universidade Santa Cecília, Santos, São Paulo

“A sabedoria é a coisa principal. Adquire, pois, a sabedoria; sim, com tudo o que possuis, adquire o conhecimento. Porque o Senhor dá a sabedoria, e da sua boca vem a inteligência e o conhecimento”.

Bíblia Sagrada. Provérbios capítulo 4, verso 7; e capítulo 2, verso 6.

DEDICATÓRIA

*Ao meu pai José (in memoriam),
que implantou em mim elevados ideais
e mostrou-me os caminhos para torná-los realidade.*

*À minha mãe Rosila,
por suas constantes palavras de apoio,
tão importantes nos meus momentos de desânimo.*

*À minha esposa Telma,
alicerce de amor seguro e presente em todos os momentos do meu cotidiano.*

Aos meus filhos Vanessa e André, razão da minha vida.

*Ao meu irmão Delmar,
com quem compartilhei tantos momentos
marcantes e experiências de vida inesquecíveis.*

*Ao meu sogro Filip,
modelo de homem, médico, pai e avô, em quem sempre procurei me espelhar.*

*À minha sogra Vadad,
amor e altruísmo personificados em mulher.*

*Aos meus demais familiares e amigos,
no seio dos quais sempre encontro apoio, abrigo e acolhimento fraternal.*

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao Prof. Dr. **Murched Omar Taha**, Livre Docente da UNIFESP-EPM e Professor Orientador do Curso de Pós-Graduação em Cirurgia e Experimentação, por ter acreditado nesta pesquisa e aceitado ser meu orientador, conduzindo-me ao meu objetivo com segurança, experiência e rigor científico, mostrando-me como de fato deve ser feita a ciência.

Ao Prof. Dr. **José Homero Soares**, Professor da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da UNIFESP-EPM, que com otimismo, serenidade e grande capacidade profissional muito contribuiu para o êxito deste empreendimento.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. **José Luiz Martins**, Professor Titular de Cirurgia Pediátrica e Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia e Experimentação da UNIFESP-EPM, por acolher-me no seletivo grupo de pós-graduandos deste curso, e pelo elevado padrão científico e organizacional que nele implantou.

Ao Prof. Dr. **Antonio Fernandes Moron**, Professor Titular do Departamento de Obstetrícia da UNIFESP-EPM, cujas palavras de amizade e incentivo foram fundamentais para a minha decisão de galgar os degraus da Pós-Graduação.

Ao Prof. Dr. **Manuel de Jesus Simões**, Professor Associado e Livre-Docente do Departamento de Morfologia e Genética da UNIFESP-EPM, que realizou a análise microscópica das lâminas deste trabalho.

Ao Dr. **Attilio Dal Fabro Neto**, pelo apoio e contribuição para a minha decisão de ingressar neste curso de pós-graduação.

Ao Dr. **Paulo Sérgio Venerando da Silva**, Médico Veterinário, pelos procedimentos anestésicos e hemodinâmicos realizados neste estudo.

Ao Dr. **Carlos Alberto Marcovechio Fonseca**, pelas palavras de estímulo e encorajamento que muito contribuíram para a minha decisão de ingressar neste curso.

Aos colegas e, sobretudo, amigos do **Serviço de Clínica Cirúrgica do Hospital Municipal do Campo Limpo**, pelo apoio e solidariedade que me deram no decorrer deste empreendimento.

Aos colegas da **Pós-Graduação**, pelo espírito de grupo, críticas, cumplicidade e pela amizade solidificada no decorrer deste curso. Às Secretárias **Valdelice Justiniano Soares, Elaine Maria Alves Bazzi Dantas, Adriana Alves Bazzi Pedreira e Benedita Salete Lima Valverde** pelo apoio, simpatia e alegria diárias e contagiantes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de distribuição dos animais nos grupos de estudo.	8
Figura 2. Cateterização da artéria carótida (seta branca) e da veia jugular esquerda (seta laranja).	10
Figura 3. Dispositivo para provocar a lesão do baço. Extremidade pontiaguda (seta amarela). Botão de disparo (seta vermelha). Haste para armar o dispositivo (seta azul).	12
Figura 4. Localização dos trocartes e passagem da cânula de duplo lume.	13
Figura 5. Fotografia do adesivo biológico em sua apresentação comercial.	15
Figura 6. As duas seringas montadas no dispositivo de compressão simultânea. Cânula de duplo lume para a aplicação do adesivo.	15
Figura 7. Fotografia do adesivo biológico tamponando a lesão do baço (Grupo I).	32
Figura 8. Fotografia do ferimento do baço ocluído pelo adesivo biológico aplicado no seu interior (Grupo I).	33
Figura 9. Fotografia do sangue coletado (setas amarelas e linhas pontilhadas) e do sangramento persistente no ferimento do baço do animal heparinizado (seta branca). Visão no tempo T20, após laparotomia (Grupo II).	33
Figura 10. Fotografia do coágulo sanguíneo no ferimento de baço do Grupo III.	34
Figura 11. Fotomicrografia do local do ferimento no baço de suíno preenchido pelo coágulo de fibrina. HE	35
Figura 12. Fotomicrografia da porção periférica do coágulo de fibrina em baço de suíno, onde se notam inúmeras células e parte da rede de fibrina (seta). HE.	35

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Média e desvio-padrão do peso corporal dos animais, nos Grupos I, II e III	20
Gráfico 2. Média e desvio-padrão dos tempos operatórios nos Grupos I, II e III	21
Gráfico 3. Média e desvio-padrão da PAM ao longo do T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III	22
Gráfico 4. Média e desvio-padrão da FC ao longo de T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III.....	23
Gráfico 5. Média e desvio-padrão do DC ao longo de T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III.....	24
Gráfico 6. Média e desvio-padrão da PAP ao longo de T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III	25
Gráfico 7. Média e desvio-padrão do TTPA ao longo de T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III	26
Gráfico 8. Média e desvio-padrão do volume estimado de sangue coletado nos animais dos Grupos I, II e III.	27
Gráfico 9. Porcentagem de sangramento persistente e de coágulo de fibrina e sanguíneo, nos animais dos Grupos I, II e III.....	28
Gráfico 10. Média e desvio-padrão da T (°C) ao longo de T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III.	29
Gráfico 11. Tempo de formação do coágulo de fibrina, em segundos, associado com o local de aplicação do adesivo em cada animal do Grupo I.....	30
Gráfico 12. Volume estimado de sangue coletado em mL, associado com o local de aplicação do adesivo, em cada animal do Grupo I.	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição dos valores da média e desvio-padrão do peso corporal dos animais, em kg, nos Grupos I, II e III	20
Tabela 2. Distribuição dos valores da média e desvio-padrão dos tempos operatórios, em minutos, nos Grupos I, II e III	21
Tabela 3. Distribuição dos valores da média e desvio-padrão da PAM ao longo de T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III	22
Tabela 4. Distribuição dos valores da média e desvio-padrão da FC ao longo de T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III	23
Tabela 5. Distribuição dos valores da média e desvio-padrão do DC (L/min) ao longo de T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III	24
Tabela 6. Distribuição dos valores da média e desvio-padrão da PAP ao longo de T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III	25
Tabela 7. Distribuição dos valores da média e desvio-padrão do TTPA ao longo de T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III	26
Tabela 8. Distribuição da média e desvio-padrão do volume estimado (mL) de sangue coletado na cavidade abdominal dos animais nos Grupos I, II e III	27
Tabela 9. Número e porcentagem de animais com presença de sangramento persistente ou coágulo (sanguíneo ou de fibrina) nos Grupos I, II e III	28
Tabela 10. Distribuição dos valores da média e desvio-padrão da T (°C) ao longo de T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III.	29
Tabela 11. Tempo de formação do coágulo de fibrina (segundos) para os animais do Grupo I. Número e porcentagem de animais com aplicação do adesivo no interior ou na superfície da lesão, no Grupo I.	30
Tabela 12. Distribuição dos valores da média e desvio-padrão do tempo de formação do coágulo de fibrina, em segundos, e do volume estimado de sangue coletado, em mL, associados com o local de aplicação do adesivo, para os animais do Grupo I.	31

LISTA DE ABREVIATURAS

%	Porcento
®	Marca registrada
µm	Micrômetro(s)
bpm	Batimentos por minuto
cm	Centímetro(s)
CO₂	Dióxido de carbono
DC	Débito cardíaco
DP	Desvio padrão
EV	Endovenoso
FC	Frequência cardíaca
HE	Hematoxilina eosina
IgM	Imunoglobulina M
kg	Quilograma(s)
L/min	Litros por minuto
mg	Miligrama(s)
mL	Mililitro(s)
mm	Milímetro(s)
p	Nível de significância estatística
PAM	Pressão arterial média
PAP	Pressão de artéria pulmonar
PVP-I	Polivinilpirulidona-iodo
T(°C)	Temperatura corporal (graus Celcius)
T0	Tempo inicial
T10	Tempo aos dez minutos

T20	Tempo aos vinte minutos
TTPA	Tempo de tromboplastina parcial ativada
UI	Unidades internacionais
UIC	Unidades inibidoras de calicreína
UNIFESP-EPM	Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina

RESUMO

Objetivo. Estudar o efeito hemostático do adesivo biológico em ferimento esplênico de suíno heparinizado, aplicado por laparoscopia. **Métodos.** Foram utilizados 18 animais machos distribuídos em três grupos de seis, I (adesivo biológico + heparina), II (heparina) e III (controle). O Grupo I foi heparinizado e teve a aplicação de 0,5 mL de adesivo no ferimento esplênico, por via laparoscópica; o Grupo II foi heparinizado e não teve o ferimento tratado com adesivo e o Grupo III não foi heparinizado nem teve o ferimento tratado com adesivo. No Tempo 0, 10 e 20 minutos da lesão, foram anotados dados clínicos e hemodinâmicos e colhidas amostras sanguíneas para exames laboratoriais. Em seguida ao Tempo 20m os animais foram sacrificados e laparotomizados. A perda sanguínea intra-abdominal foi mensurada, a lesão do baço foi analisada macroscopicamente e foram colhidas amostras para estudo microscópico das lesões tratadas com adesivo cirúrgico. Na análise estatística aplicaram-se os testes de Kruskal-Wallis, de Mann-Whitney, de Friedman, de Wilcoxon e de Fisher. **Resultados.** O adesivo biológico aplicado por laparoscopia foi efetivo e eficaz em coibir o sangramento da lesão em todos os animais do Grupo I, mostrando significância estatística em relação ao Grupo II, no qual o sangramento persistiu até a eutanásia. **Conclusão.** O adesivo biológico aplicado por laparoscopia é eficaz para a hemostasia de ferimento esplênico em suínos heparinizados.

ABSTRACT

Objective: To study the hemostatic effects of biological adhesive in splenic injury of heparinized pig, applied by laparoscopy. **Methods:** We have used 18 males distributed in three groups of six, group I (biological adhesive + heparin), group II (heparin) and group III (control). Group I was heparinized and received the application of 0.5 mL of adhesive in splenic injury by laparoscopic; Group II was heparinized and the wound was not treated with adhesive; Group III was not heparinized and received no adhesive treatment at wound. At time 0, 10 and 20 minutes of the injury, hemodynamic and clinical data were recorded as also blood samples for laboratory tests were collected. At 20 minutes animals were sacrificed and laparotomized. The intra-abdominal blood loss was measured, the splenic lesion was macroscopically examined and samples were collected for microscopic examination of the lesions treated with surgical adhesive. Statistical analyses were applied using Kruskal-Wallis, Mann-Whitney, Friedman, Wilcoxon and Fisher tests. **Results:** The biological adhesive applied by laparoscopy was effective and efficient to curb bleeding of lesion in all animals in Group I, showing statistical significance in relation to Group II in which bleeding persisted until euthanasia. **Conclusion:** The biological adhesive applied by laparoscopy is effective for hemostasis of splenic injury in heparinized pigs.

SUMÁRIO

Dedicatória.....	v
Agradecimento Especial.....	vi
Agradecimentos.....	vii
Lista de figuras.....	viii
Lista de gráficos.....	ix
Lista de tabelas.....	x
Lista de abreviaturas.....	xi
Resumo.....	xiii
Abstract.....	xiv
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	5
3. MÉTODOS.....	7
3.1 Amostra.....	8
3.2 Procedimento Anestésico.....	9
3.3 Monitorização.....	9
3.4 Anticoagulação.....	10
3.5 Procedimento Operatório.....	10
3.6 Adesivo Cirúrgico.....	14
3.7 Parâmetros Avaliados.....	16
3.8 Procedimento Laparotômico.....	16
3.9 Estudo Histológico.....	17
3.10 Estudo Estatístico.....	17
4. RESULTADOS.....	19
4.1 Análise Macroscópica.....	32
4.2 Análise Histológica.....	34
5. DISCUSSÃO.....	37
6. CONCLUSÃO.....	50
7. REFERÊNCIAS.....	52
Apêndice	
Bibliografia consultada	

1. INTRODUÇÃO

O baço é um órgão parenquimatoso comumente lesado no trauma abdominal¹. As técnicas de abordagem dos ferimentos desse órgão mudaram no decorrer do tempo, em consequência do que se conhecia em cada época a respeito do seu papel no organismo humano.

Desde os tempos de Aristóteles (384-322 AC) o conceito vigente era o de que o baço não era essencial à vida². Baseando-se nesse princípio, Fioravante em 1541 e Zaccarelli em 1549 foram os primeiros a realizar a esplenectomia². Conforme citado por Sherman em 1981³, Kocher* (1911) reforçou esse princípio ao defender a excisão do baço lesado como a única forma aceitável de tratamento, declarando que tal procedimento não causaria nenhum efeito deletério ao paciente.

O pensamento acerca da não importância do baço começou a mudar quando Morris e Bullock, em trabalho publicado em 1919, levantaram a suspeita de que a retirada desse órgão aumentaria a suscetibilidade às infecções⁴. Dez anos mais tarde O'Donnel publicou o primeiro caso clínico de infecção pós-esplenectomia⁵. King e Shumacker, em 1952⁶, e Huntley, em 1958⁷ apresentaram estudos comprovando o aumento da ocorrência de infecção em pacientes esplenectomizados. Ficou assim consolidado o conceito da importância da preservação do baço lesado.

Dependendo da gravidade da lesão esplênica, vários procedimentos foram propostos. Dentre eles pode-se citar a esplenectomia parcial^{8,9}, a esplenorrafia^{10,11}, a ligadura da artéria esplênica¹²⁻¹⁴, a aplicação de hemostáticos tópicos como Gelfoam[®], Surgicel[®] ou Collast^{®15}; o uso dos raios infravermelhos¹⁶, do laser de CO₂¹⁷, a embolização da artéria esplênica¹⁸ ou o tratamento não operatório^{19,20}.

Nos primórdios da Era Cirúrgica, durante as operações realizadas, utilizavam-se para as ligaduras vasculares e suturas os fios naturais como o algodão, a seda, o linho e a crina de animais. Posteriormente surgiram os fios sintéticos como o ácido poliglicólico, a poliglactina, os derivados das poliamidas (nylon), dos poliésteres (dacron) e dos polipropilenos (prolene)²¹. Porém, por serem corpos estranhos, esses

* Kocher ET. Textbook of operative surgery. 3rd english ed. Stiles HJ, Paul CB, translators. London: A & C Black; 1911. p. 565-6 apud Sherman R. Rationale for and methods of splenic preservation following trauma. Surg Clin North America. 1981;61(1):127-34.

fios provocam reação inflamatória tecidual em maior ou menor grau, interferindo com o processo de cicatrização²¹.

Novas tecnologias têm sido utilizadas em medicina nas últimas décadas, principalmente na hemostasia²² e síntese²³. Com isso tem-se buscado cada vez mais o tratamento das lesões esplênicas que seja conservador e que não necessite da laparotomia convencional. Se possível, que seja simples, rápido, e acessível em termos de execução e custo. Desejável também que minimize os efeitos inconvenientes produzidos pelos materiais tradicionais (fios de sutura). Infere-se, portanto, que novos procedimentos e materiais se fazem necessários para a abordagem desses ferimentos.

Os adesivos biológicos têm sido utilizados cada vez mais em diversas áreas da cirurgia com resultados satisfatórios²⁴, por apresentarem eficiência em termos de diminuição do tempo operatório e por facilitar o processo de cicatrização²⁵. Eles apresentam propriedades importantes tais como estimular a proliferação de fibras colágenas do tipo I e III^{26,27}, estimular a neoformação vascular²⁸, ser absorvido pelo organismo^{29,27}, poder ser aplicado na temperatura corporal³⁰, não produzir reação exotérmica³¹ e não produzir granuloma tipo corpo estranho³². São indicados especialmente em portadores de distúrbios da coagulação.

Dentre os avanços tecnológicos mais recentes cita-se o surgimento de novos instrumentais videoscópicos e o seu uso em cirurgia, com grandes vantagens para o paciente, tais como menos dor e desconforto, menor tempo de internação, menor índice de infecção, melhor resultado estético e uma diminuição dos custos hospitalares³³.

As novas tecnologias possibilitaram a aplicação do adesivo biológico por videolaparoscopia e seu emprego nas lesões traumáticas do baço, visando coibir a hemorragia³⁴. Assim evita-se a necessidade da laparotomia tradicional e do emprego dos fios cirúrgicos, com significantes benefícios para o paciente.

Há relatos da aplicação de adesivos cirúrgicos em víscera parenquimatosa, em particular o baço, por via convencional³⁵ ou laparoscópica³⁴, mostrando sua adequação a essa situação. Contudo, não há relatos de sua aplicação em lesão

esplênica por via laparoscópica nos casos em que o paciente seja portador de distúrbio da coagulação ou esteja sob efeito de drogas anticoagulantes.

Assim, dando continuidade às investigações dentro da linha de pesquisa em adesivos cirúrgicos do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia e Experimentação, pareceu pertinente estudar os efeitos hemostáticos da cola biológica em lesões padronizadas em parênquima esplênico de suínos sob ação de anticoagulantes, aplicada por via laparoscópica.

2. OBJETIVOS

Geral:

Estudar o efeito do adesivo cirúrgico na hemostasia de lesão em órgão parenquimatoso.

Específico:

Estudar os efeitos do adesivo biológico de fibrina aplicado por via laparoscópica na hemostasia de ferimento esplênico padronizado em suínos heparinizados.

3. MÉTODOS

3.1 Amostra

Este estudo foi submetido à apreciação e aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital São Paulo, Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina com a referência CEP n°. 1364/07.

A pesquisa foi realizada nos laboratórios da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina (UNIFESP-EPM).

Foram utilizados 18 suínos fornecidos pela Granja RG localizada em Suzano, SP. Os animais eram da raça Landrace, machos, pesando entre 14 e 19,5 kg, e foram divididos aleatoriamente em três grupos de 6 animais (Figura 1):

Grupo I, (n=6): heparina e adesivo;

Grupo II, (n=6): heparina sem adesivo;

Grupo III, (n=6): sem heparina e sem adesivo.

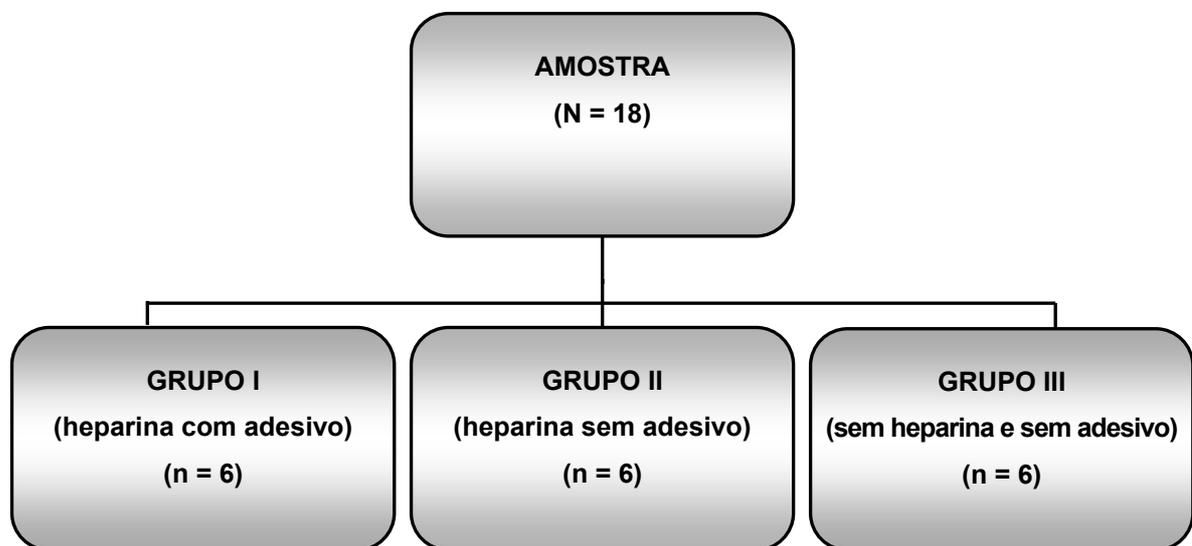


Figura 1. Esquema de distribuição dos animais nos grupos de estudo.

3.2 Procedimento Anestésico

Previamente à cirurgia os animais foram mantidos em jejum por 12 horas para alimentos sólidos e 6 horas para alimentos líquidos. Antes de se iniciarem os procedimentos os animais foram pesados. Como medicação pré-anestésica administraram-se midazolam (Dormonid Injetável, Roche) na dose de 0,75 mg/kg, associado a acepromazina (Acepran Injetável, Univet) na dose de 0,2 mg/kg por via intramuscular. Após isso eles foram posicionados em decúbito dorsal sobre a mesa operatória, com os membros fixados a ela por amarras. Na sequência foi administrado tiopental sódico por via endovenosa (Thiopentax, Cristália) na dose de 10 mg/kg. Seguiu-se a intubação orotraqueal com sonda 7 (Rush), com manutenção de respiração controlada associada à vaporização com halotano a 1% (Halotano Hoechst, Hoechst Marion Roussel). Quando necessária complementação anestésica, esta foi feita pela administração de tiopental sódico, um terço da dose inicial. Durante o experimento os animais foram hidratados com solução de Ringer com lactato por via endovenosa (500 mL por animal).

3.3 Monitorização

A artéria carótida esquerda foi dissecada para a inserção de um cateter de polietileno número 6 posicionado a 5 cm da arteriotomia. A pressão arterial média (PAM) e a frequência cardíaca (FC) assim colhidas foram medidas num monitor Viridia 4C (Philips). Por meio da mesma incisão dissecou-se a veia jugular interna, pela qual se passou um cateter de Swan-Ganz (Edwards Lifesciences LLC – Irvine, CA USA), que foi locado na artéria pulmonar guiado pelas curvas de pressão aferidas no mesmo monitor. O objetivo foi o de medir a temperatura corporal (T) e a pressão da artéria pulmonar (PAP) (Figura 2).

3.4 Anticoagulação

Em seguida aos procedimentos de cateterização vascular, os animais dos Grupos I e II receberam heparina (Heparina Sódica, Cristália) na dose de 200 UI/kg por via endovenosa, 10 minutos antes do procedimento operatório. Os animais do Grupo III não foram heparinizados.

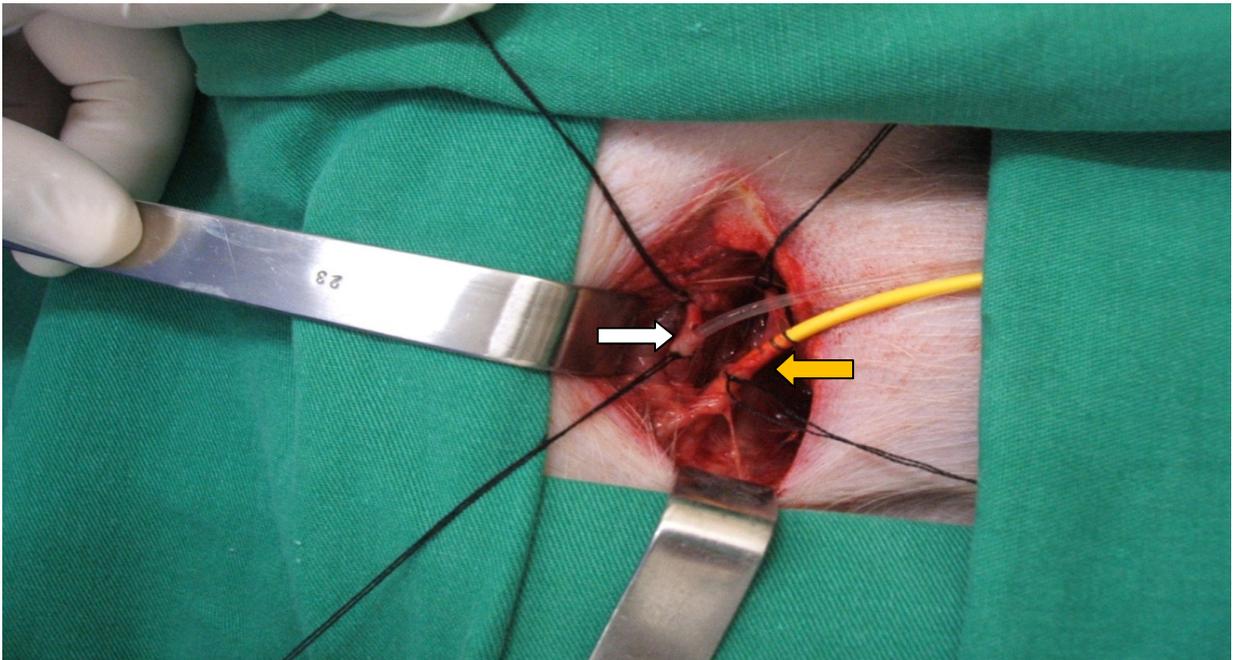


Figura 2. Cateterização da artéria carótida (seta branca) e da veia jugular esquerda (seta laranja).

3.5 Procedimento Operatório

O tempo para a realização do experimento foi registrado a partir da introdução do primeiro trocarte, até o término do procedimento laparotômico.

A antissepsia da pele foi feita com solução de polivinilpirulidona-iodo (PVP-I), sendo em seguida fixados campos operatórios.

Seguiu-se um mesmo padrão operatório para todos os animais dos três grupos. Com um bisturi de lâmina 15 foi feita uma incisão de 2 cm na região peri-umbilical superior por onde se introduziu, na cavidade abdominal, uma agulha de

Veress. A correta punção foi confirmada por meio do teste da gota d'água. A seguir a agulha foi conectada ao insuflador de CO₂ regulado para o fluxo de 1L/min até atingir a pressão de 12 mm Hg, que foi mantida automaticamente. A agulha foi então retirada, sendo inserido nesse mesmo local um trocar de 10 mm através do qual se introduziu uma ótica de 30°.

A 6 cm da linha mediana e 3 cm abaixo do rebordo costal esquerdo foi feita uma incisão de cerca de 1 cm para a colocação do segundo trocar (10mm). Através deste foi passado um dispositivo especialmente projetado e fabricado para este experimento, cuja finalidade foi a de executar uma lesão esplênica padronizada em todos os grupos. (Figura 3). Trata-se de dispositivo cilíndrico com 30 cm de comprimento cuja extremidade anterior, de material plástico, mede 9 mm de diâmetro e ajusta-se perfeitamente ao interior de um trocar de 10 mm. Esse dispositivo contém em seu interior uma lança pontiaguda de aço com 5 mm de diâmetro. Para armá-lo traciona-se para trás a haste situada na parte posterior do instrumento, até o seu travamento. No corpo do aparelho encontra-se o botão de disparo, que destrava a lança ao ser pressionado. A profundidade do ferimento pode ser regulada por meio da tampa rosqueada localizada na parte anterior do dispositivo. Neste experimento a profundidade foi regulada para 1 cm. O ferimento esplênico foi produzido colocando-se a extremidade anterior do dispositivo em contato com a face superior do baço do animal no seu ponto médio e fazendo-se o disparo da lança.

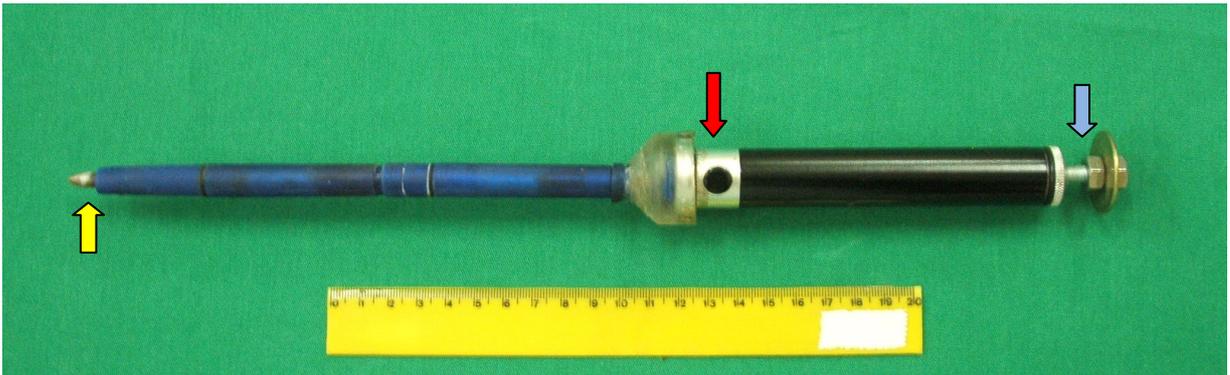


Figura 3. Dispositivo para provocar a lesão do baço. Extremidade pontiaguda (seta amarela). Botão de disparo (seta vermelha). Haste para armar o dispositivo (seta azul).

Um terceiro trocarte (5 mm) foi introduzido num ponto 10 cm à esquerda da linha mediana e 10 cm abaixo do rebordo costal esquerdo, através do qual se introduziu uma pinça de apreensão (*grasper*). A finalidade dessa pinça era melhorar a visibilização do baço a fim de se realizar a lesão.

Nos animais do Grupo I, a 3 cm da linha mediana e 5 cm abaixo do rebordo costal esquerdo, introduziu-se o quarto trocarte (5 mm). Através deste foi passada cânula de duplo lume para a aplicação do adesivo biológico (cola de fibrina). Essa cânula transfixou previamente duas luvas de borracha que foram anteriormente fixadas com elásticos sobre a parte anterior do trocarte com o objetivo de vedação, evitando assim a saída do gás carbônico (Figura 4).

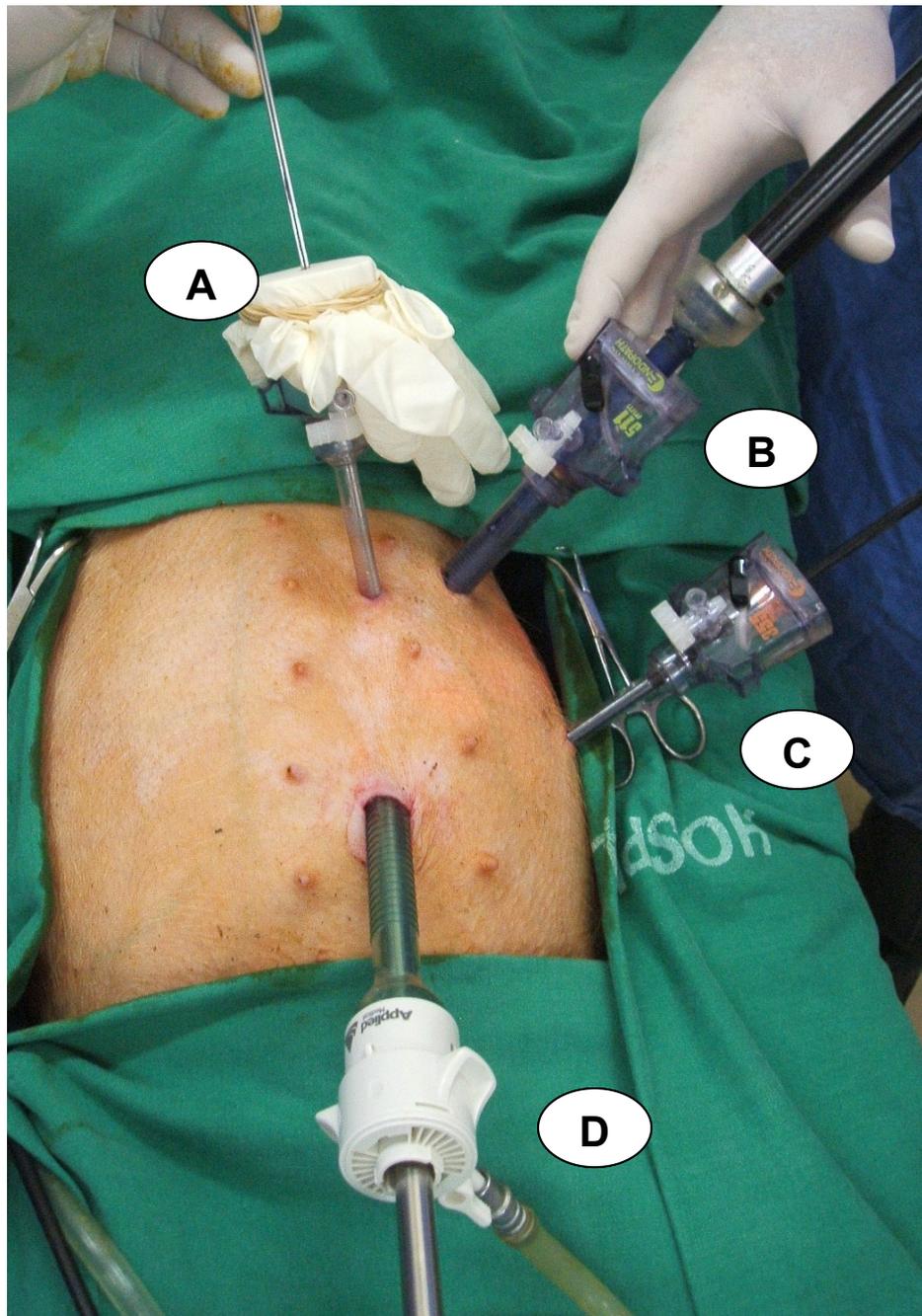


Figura 4. Locação dos trocartes e passagem da cânula de duplo lume.

A = cânula de duplo lume. B = dispositivo para execução da lesão esplênica. C = pinça de apreensão (*grasper*). D = ótica.

3.6 Adesivo Cirúrgico

O adesivo biológico (Beriplast® P - ZLB Behring, Germany) utilizado (Figura 5) foi composto de fibrinogênio (65-115mg/mL), fator XIII (40-80 U/mL), aprotinina (1.000 UIC/mL), trombina (400-600 UI/mL) e cloreto de cálcio (5,88 mg/0,5 mL). Ele foi preservado à temperatura de 4 graus centígrados, sendo levado à temperatura ambiente por 30 minutos antes da sua aplicação na lesão esplênica.

A cola de fibrina foi aplicada nos animais do Grupo I imediatamente após a execução do ferimento esplênico. Utilizou-se a cânula de duplo lume anteriormente citada, na qual foram acopladas duas seringas (A e B) contendo separadamente os componentes do adesivo (Figura 6). A seringa A continha 0,5 mL de uma mistura de fibrinogênio, aprotinina e fator XIII da coagulação, e a seringa B 0,5 mL de uma mistura de trombina e cloreto de cálcio.

Essas seringas foram montadas lado a lado num dispositivo especial de plástico que possibilitou a sua compressão simultânea. As seringas foram então pressionadas impulsionando os componentes separadamente através da cânula. Na extremidade desta os dois conteúdos se misturaram formando a cola, que foi aplicada no ferimento.



Figura 5. Fotografia do adesivo biológico em sua apresentação comercial.
(Beriplast® P - ZLB Behring, Germany)

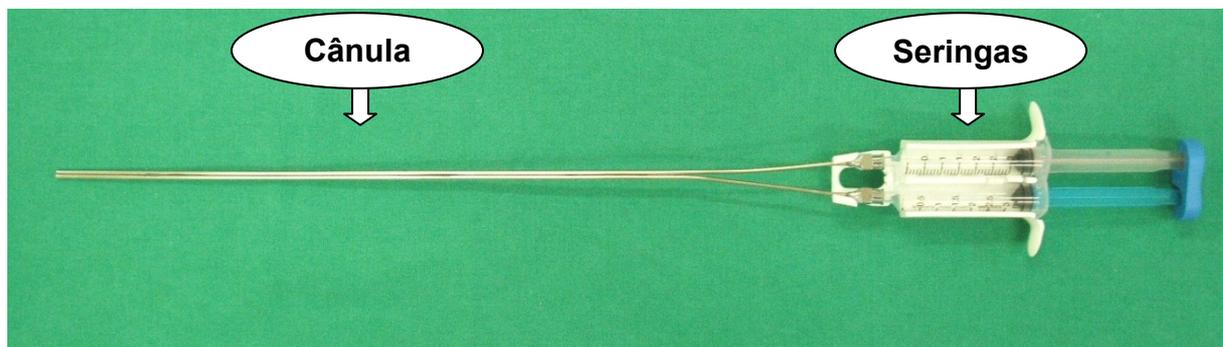


Figura 6. As duas seringas montadas no dispositivo de compressão simultânea. Cânula de duplo lume para a aplicação do adesivo.

3.7 Parâmetros Avaliados

Foram estudados os seguintes parâmetros clínicos, hemodinâmicos e laboratoriais:

- Temperatura corporal do animal (T),
- Pressão arterial média (PAM),
- Frequência cardíaca (FC),
- Pressão de artéria pulmonar (PAP),
- Tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA).

Em todos os animais esses dados foram coletados em tempo zero (T0), que correspondeu ao momento imediatamente anterior à execução da lesão esplênica, e nos tempos dez (T10) e vinte (T20) minutos após a execução da lesão.

Também foram anotados em protocolo o peso do animal, o tempo operatório, o aspecto macroscópico da lesão esplênica, a quantidade de sangue esplênico perdida durante o experimento, o local da aplicação do adesivo e o tempo de formação do coágulo de fibrina.

3.8 Procedimento Laparotômico

Após T20 foi realizada laparotomia mediana xifopúbica nos animais de todos os grupos. O sangue coletado na cavidade abdominal foi absorvido com compressas previamente pesadas, mensurando-se assim a quantidade perdida durante o procedimento pela diferença entre o peso seco e o peso úmido das compressas. Considerou-se arbitrariamente que cada 1,0 grama correspondeu a 1,0 mL de sangue. Após a laparotomia o baço dos animais foi analisado, anotando-se as características macroscópicas do ferimento encontrado. Verificou-se também se o coágulo de fibrina estava ou não aderido ao ferimento esplênico.

Em seguida os animais foram sacrificados com a administração de 10 mL de cloreto de potássio por via endovenosa.

3.9 Estudo Histológico

Após a eutanásia coletaram-se fragmentos dos baços, no local da lesão e nas proximidades dela, que foram isolados e fixados em formol a 10%, tampão fosfato, durante 24 horas, e processados segundo técnica rotineira de inclusão em parafina. Os blocos foram cortados em micrótomo do tipo *Minot*, ajustado para 3 μm . Alguns dos cortes obtidos foram então submetidos ao método de coloração pela hematoxilina e eosina (HE).

As avaliações histológicas foram realizadas com microscópio de luz (Axiolab Standard 2.0, Carl Zeiss) em aumentos de 10X, 100X, e 200X.

3.10 Estudo Estatístico

A análise descritiva das variáveis contínuas foi feita por meio das medidas-resumo média e desvio-padrão. Os valores médios foram descritos graficamente por meio de gráficos de barras, que representam a média em cada grupo (Adesivo + Heparina, Heparina e Controle) e em cada momento (T0, T10 e T20). As variáveis categóricas foram descritas em tabela de contingência, com a frequência e a porcentagem de ocorrências, em cada grupo e momento.

Para a análise inferencial foram aplicados os seguintes testes estatísticos não paramétricos:

- teste de Kruskal-Wallis, para verificar a hipótese de igualdade entre os três grupos;
- teste de Mann-Whitney, para verificar a igualdade de grupos 2 a 2, aplicado quando, pelo teste de Kruskal-Wallis, se concluiu que os 3 grupos não eram iguais;
- teste de Friedman, quando se quis verificar a hipótese de que os resultados de cada animal não mudaram em cada momento (3 ou mais medidas repetidas);

- teste de Wilcoxon, para verificar a igualdade de momentos 2 a 2, aplicado quando, por meio do teste de Friedman, se concluiu que os 3 momentos não eram todos iguais;
- teste de Fisher generalizado: apropriado para tabelas de frequências, com o qual se testou a hipótese de que as frequências observadas nas categorias se distribuíam homogeneamente entre os grupos.

O nível de significância adotado foi de 5%, ou seja, níveis descritivos (p) inferiores a 5% foram considerados resultados significantes.

Para a análise dos dados, foi utilizado o software estatístico SPSS versão 15 for Windows.

4. RESULTADOS

Tabela 1. Distribuição dos valores da média e desvio-padrão do peso corporal dos animais, em kg, nos Grupos I, II e III

Peso dos animais (kg)			
	Média	DP	n
Grupo I	15,4	(± 0,9)	6
Grupo II	16,9	(± 2,4)	6
Grupo III	16,7	(± 1,1)	6

GI = GII = GIII (p = 0,332)

p: Teste de Kruskal-Wallis para comparação entre grupos

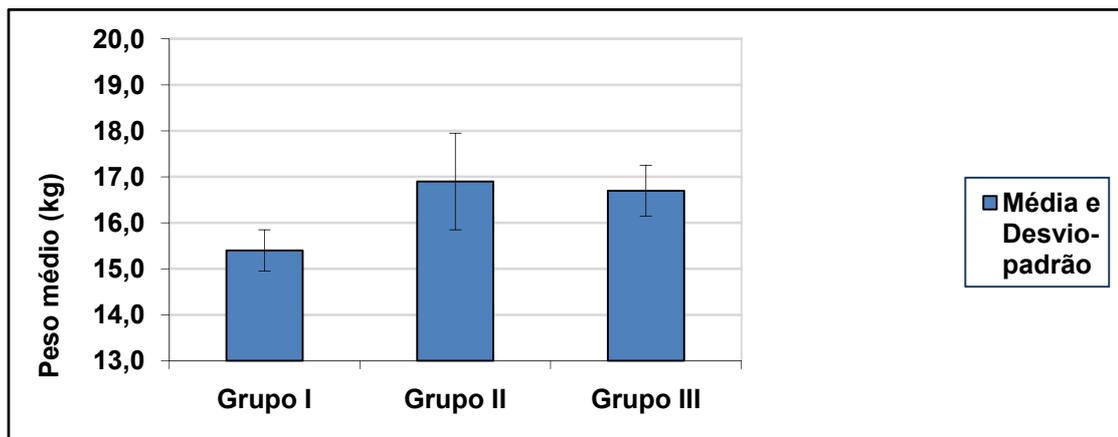


Gráfico 1. Média e desvio-padrão do peso corporal dos animais, nos Grupos I, II e III

Tabela 2. Distribuição dos valores da média e desvio-padrão dos tempos operatórios, em minutos, nos Grupos I, II e III

Tempo operatório (min)			
	Média	DP	n
Grupo I	46,8	(± 8,0)	6
Grupo II	39,5	(± 6,1)	6
Grupo III	42,8	(± 7,2)	6
GI = GII = GIII			(p = 0,294)

p: Teste de Kruskal-Wallis para comparação entre grupos

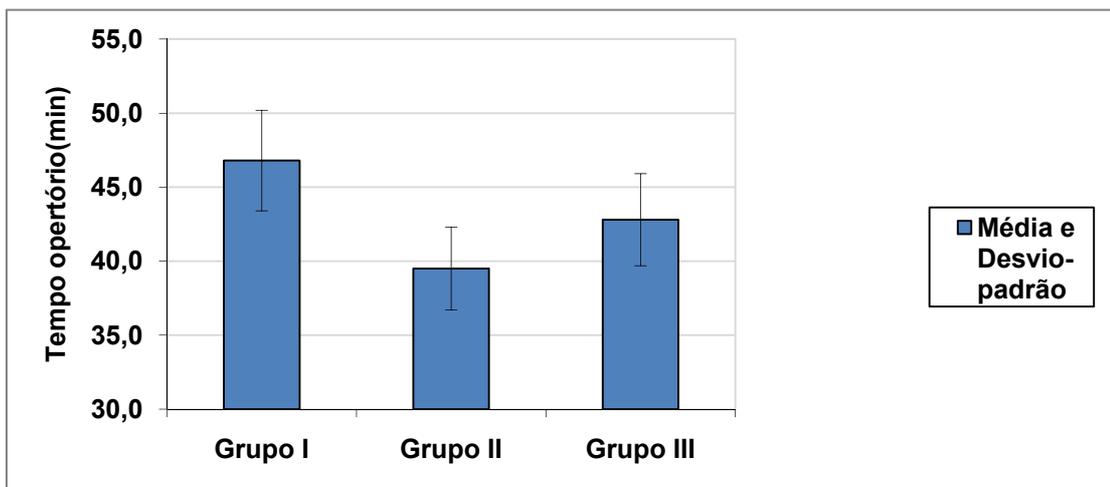


Gráfico 2. Média e desvio-padrão dos tempos operatórios nos Grupos I, II e III

Tabela 3. Distribuição dos valores da média e desvio-padrão da PAM ao longo de T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III

	PAM (mmHg)	T0	T10	T20	Valor p
Grupo I	Média	95,8	94	94,7	T0 = T10 = T20
	D.P.	± 17,7	± 17,1	± 17,6	(p2 = 0,910)
	n	6	6	6	
Grupo II	Média	89	90,8	87,3	T0 = T10 = T20
	D.P.	± 10,7	± 18,3	± 20	(p2 = 1,000)
	n	6	6	6	
Grupo III	Média	104	101,2	113,3	T0 = T10 = T20
	D.P.	± 21,6	± 20,1	± 28,4	(p2 = 0,513)
	n	6	6	6	
		GI=GII=GIII	GI=GII=GIII	GI=GII=GIII	
		(p1 = 0,283)	(p1 = 0,238)	(p1 = 0,128)	

p1: Teste de Kruskal-Wallis para comparação entre grupos

p2: Teste de Friedman para comparação entre os tempos

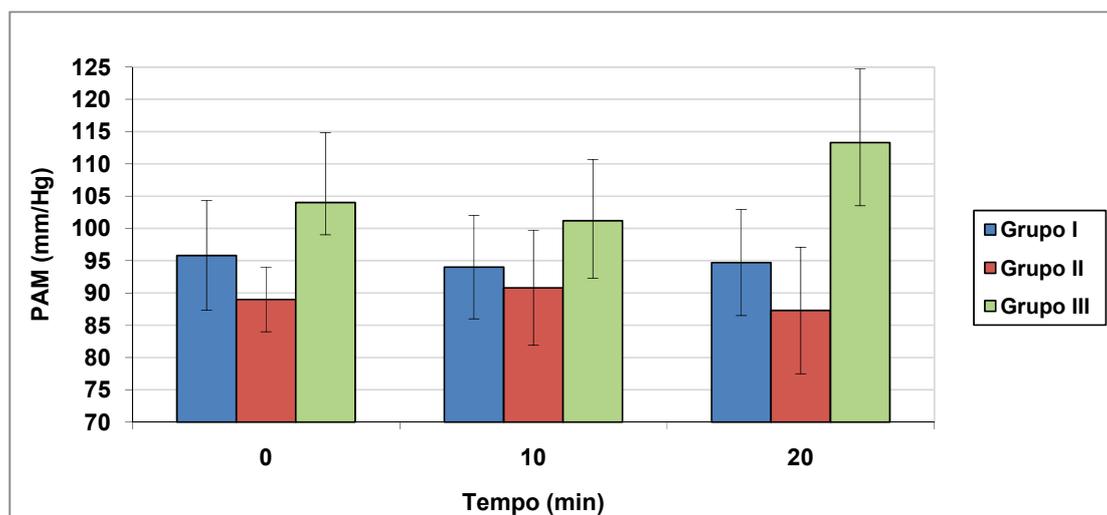


Gráfico 3. Média e desvio-padrão da PAM ao longo do T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III

Tabela 4. Distribuição dos valores da média e desvio-padrão da FC ao longo de T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III

	FC	T0	T10	T20	Valor p
Grupo I	Média	109**	115,3	118,5	T0 = T10 = T20
	D.P.	± 18,5	± 34,1	± 38,2	(p3 = 0,846)
	n	6	6	6	
Grupo II	Média	148**	147,7	152,7	T0 = T10 = T20
	D.P.	± 40,4	± 46,8	± 51,7	(p3 = 0,513)
	n	6	6	6	
Grupo III	Média	100*/**	111,8*	111,3	T0 < T10 (p4=0,027) T0 = T20 (p4=0,172) T10=T20 (p4=1,000)
	D.P.	± 16	± 17,5	± 22	(p3 = 0,042)
	n	6	6	6	

(p1 = 0,039)

GI < GII (p2 = 0,041) GI=GII=GIII GI = GII=GIII

GI = GIII (p2 =0,485) (p1 = 0,346) (p1 = 0,235)

GIII < GII (p2=0,026)

p1: Teste de Kruskal-Wallis para comparação entre grupos

p2: Teste de Mann-Whitney para comparação entre os grupos 2 a 2

p3: Teste de Friedman para comparação entre os tempos

p4: Teste de Wilcoxon para comparação entre tempos 2 a 2

* Houve diferença estatisticamente significativa no Grupo III.

** Houve diferença estatisticamente significativa entre os Grupos I, II e III em T0

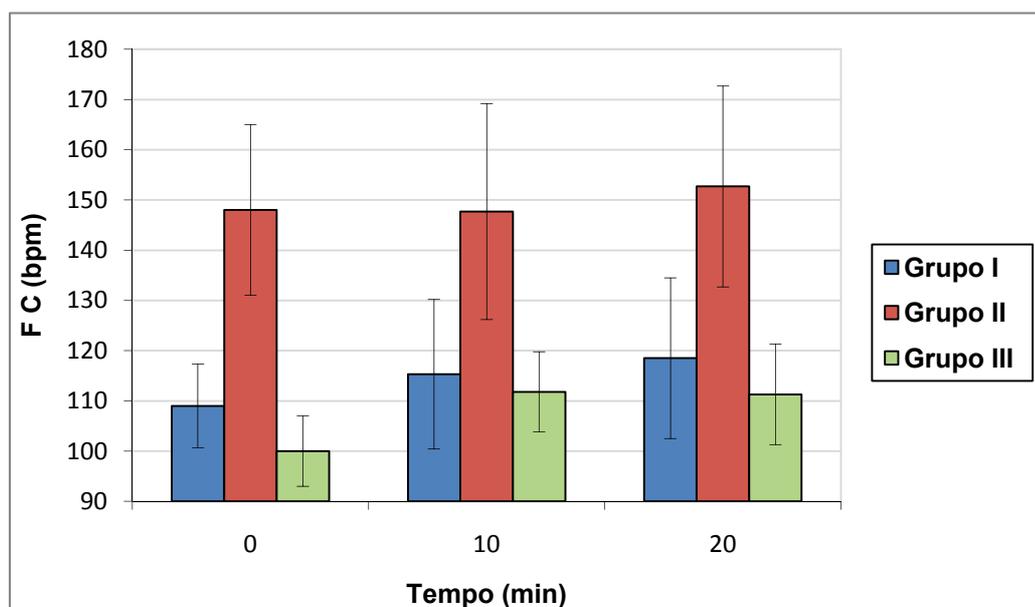


Gráfico 4. Média e desvio-padrão da FC ao longo de T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III

Tabela 5. Distribuição dos valores da média e desvio-padrão do DC (L/min) ao longo de T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III

DC (L/min)		T0	T10	T20	Valor p
Grupo I	Média	3,3	3,4	3,3	
	D.P.	± 0,38	± 0,23	± 0,41	T0 = T10 = T20
	n	6	6	6	(p2 = 0,52)
Grupo II	Média	3,4	3,1	2,8	
	D.P.	± 1,00	± 0,63	± 0,56	T0 = T10 = T20
	n	6	6	6	(p2 = 0,115)
Grupo III	Média	3,5	3,6	3,4	
	D.P.	± 1,24	± 0,82	± 1,11	T0 = T10 = T20
	n	6	6	6	(p2 = 0,62)
		GI=GII=GIII	GI=GII=GIII	GI=GII=GIII	
		(p1 = 0,810)	(p1 = 0,280)	(p1 = 0,911)	

p1: Teste de Kruskal-Wallis para comparação entre grupos

p2: Teste de Friedman para comparação entre os tempos

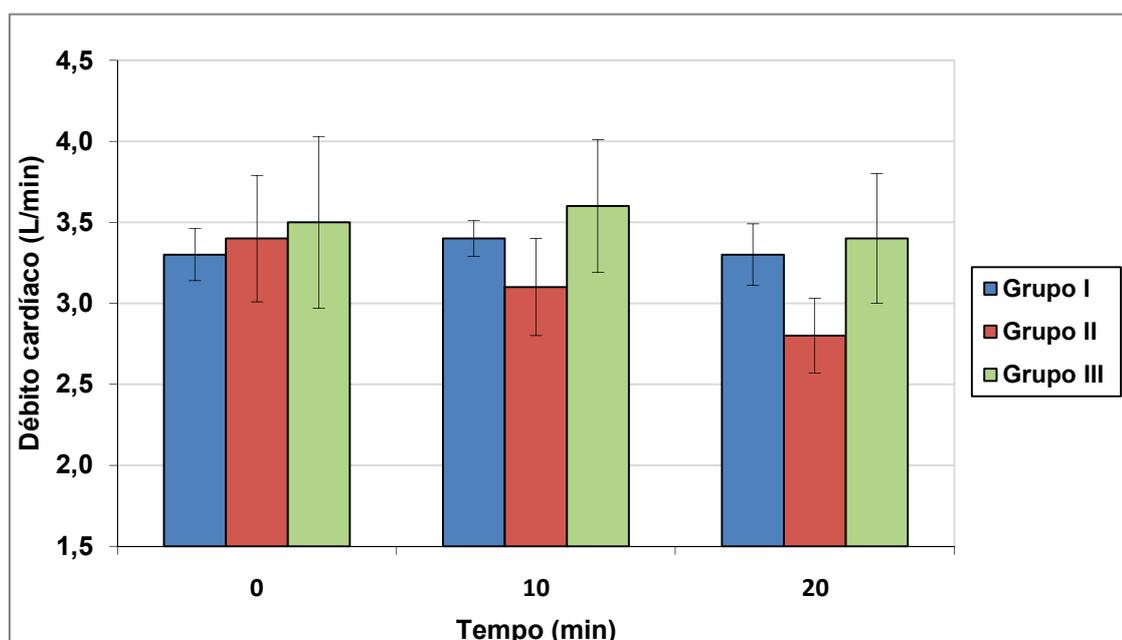


Gráfico 5. Média e desvio-padrão do DC ao longo de T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III

Tabela 6. Distribuição dos valores da média e desvio-padrão da PAP ao longo de T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III

	PAP(mmHg)	T0	T10	T20	Valor p
Grupo I	Média	19,8	17,2	18,7	T0 = T10 = T20
	D.P.	± 3,4	± 4,2	± 3,1	(p2 = 0,142)
	n	6	6	6	
Grupo II	Média	22,7	22,5	20,3	T0 = T10 = T20
	D.P.	± 5,6	± 3,8	± 5,9	(p2 = 0,580)
	n	6	6	6	
Grupo III	Média	22,2	22,8	24,2	T0 = T10 = T20
	D.P.	± 7,1	± 6,1	± 7,7	(p2 = 0,280)
	n	6	6	6	
		GI=GII=GIII	GI=GII=GIII	GI=GII=GIII	
		(p1 = 0,611)	(p1 = 0,089)	(p1 = 0,134)	

p1: Teste de Kruskal-Wallis para comparação entre grupos

p2: Teste de Friedman para comparação entre os tempos

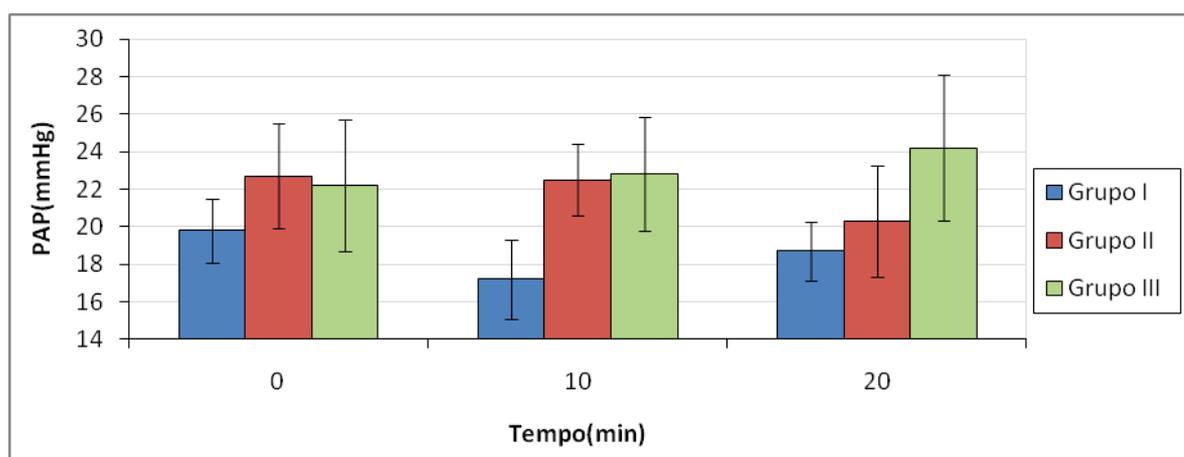


Gráfico 6. Média e desvio-padrão da PAP ao longo de T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III

Tabela 7. Distribuição dos valores da média e desvio-padrão do TTPA ao longo de T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III

TTPA (segundos)		T0	T10	T20	Valor p
Grupo I	Média	42,3	31,5	27,2	T0 = T10 = T20
	DP	± 20,7	± 7,2	± 6	(p2 = 0,065)
	n	6	6	6	
Grupo II	Média	49	36	48	T0 = T10 = T20
	DP	± 37,8	± 18	± 24,2	(p2 = 0,438)
	n	6	6	6	
Grupo III	Média	25,5	23,2	24	T0 = T10 = T20
	DP	± 3,7	± 4,8	± 6,1	(p2 = 0,094)
	n	6	6	6	

GI = G2 = G3 GI = G2 = G3 GI = G2 = G3
 (p1 = 0,190) (p1 = 0,051) (p1 = 0,079)

p1: Teste de Kruskal-Wallis para comparação entre grupos
 p2: Teste de Friedman para comparação entre os tempos

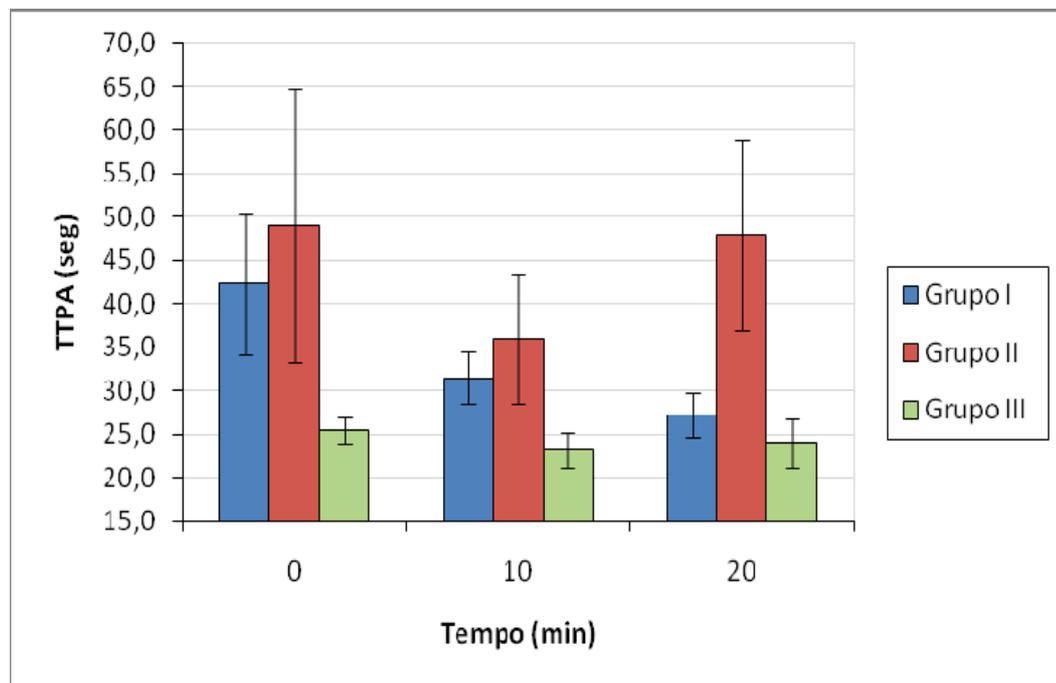


Gráfico 7. Média e desvio-padrão do TTPA ao longo de T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III

Tabela 8. Distribuição da média e desvio-padrão do volume estimado (mL) de sangue coletado na cavidade abdominal dos animais nos Grupos I, II e III

Volume estimado de sangue coletado (mL)			
	Média	DP	n
Grupo I	1,8 *	(± 0,8)	6
Grupo II	6,8 *	(± 4,5)	6
Grupo III	3	(± 1,1)	6

GI < GII ($p_2 = 0,004$)

* Houve diferença estatisticamente significativa

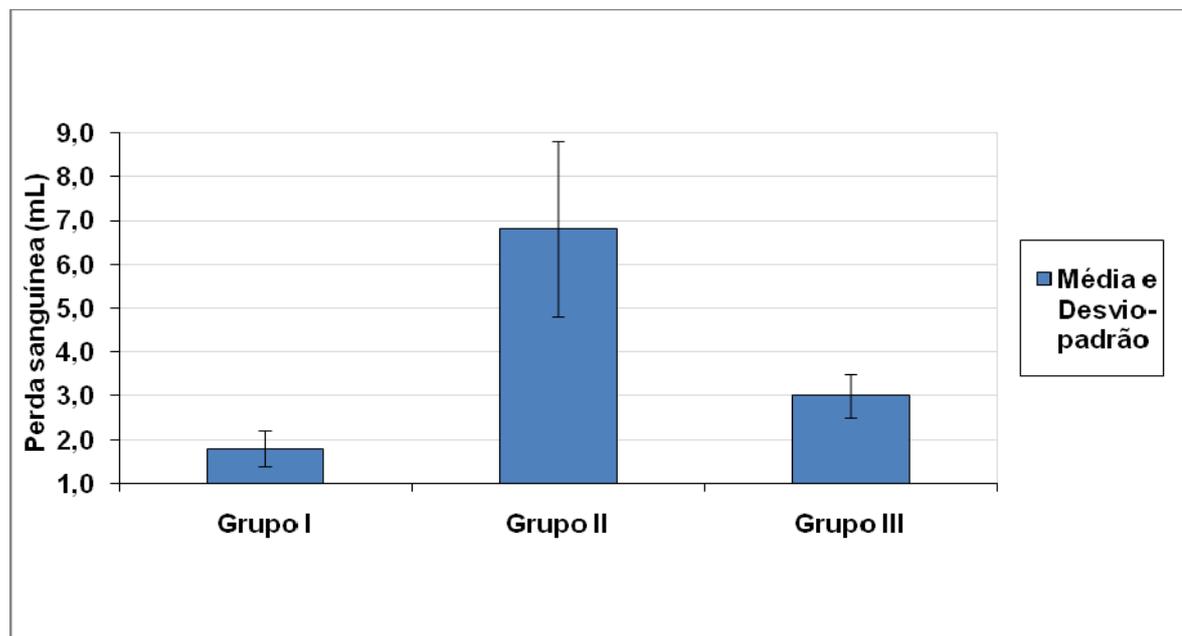


Gráfico 8. Média e desvio-padrão do volume estimado de sangue coletado nos animais dos Grupos I, II e III.

Tabela 9. Número e porcentagem de animais com presença de sangramento persistente ou coágulo (sanguíneo ou de fibrina) nos Grupos I, II e III.

Lesão esplênica	Grupos					
	Grupo I		Grupo II		Grupo III	
Sangr. persistente	0	0,0%	6	(100,0%)*	0	0,0%
Coágulo sanguíneo	0	0,0%	0	0,0%	6	(100,0%)*
Coágulo de fibrina	6	(100,0%)*	0	0,0%	0	0,0%
n	6		6		6	

$p < 0,001$

p: Teste de Fisher generalizado

* Houve diferença estatisticamente significativa

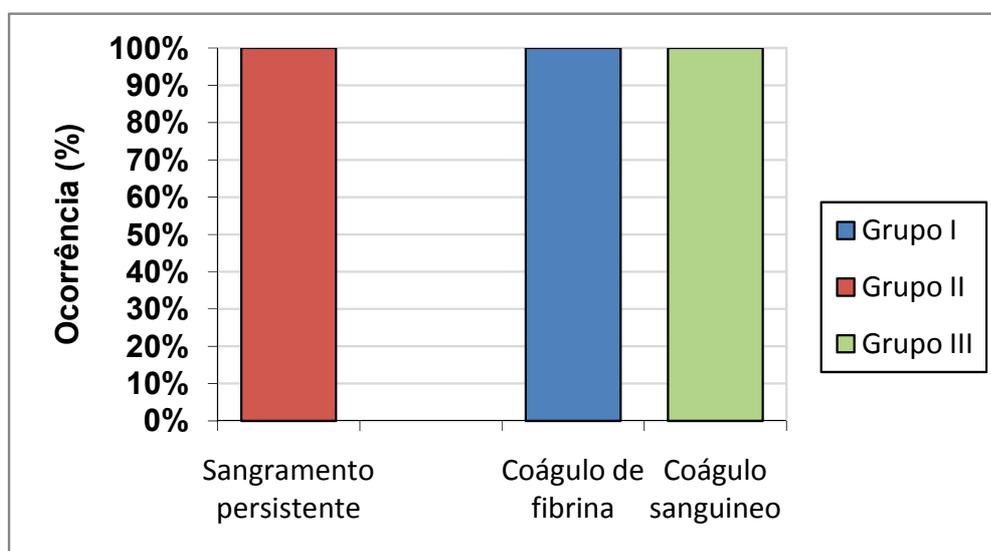


Gráfico 9. Percentagem de sangramento persistente e de coágulo de fibrina e sanguíneo, nos animais dos Grupos I, II e III.

Tabela 10. Distribuição dos valores da média e desvio-padrão da T (°C) ao longo de T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III.

	T (°C)	T0	T10	T20	Valor p
Grupo I	Média	35,5 *	35,3 *	35,1 *	(p2 = 0,009)
	DP	± 1,11	± 1,1	± 1,23	T10 < T0 (p3 = 0,042)
	n	6	6	6	T20 < T0 (p3 = 0,027)
					T20 = T10 (p3 = 0,102)
Grupo II	Média	35,9	35,7	35,7	T0 = T10 = T20
	DP	± 0,79	± 0,94	± 0,94	(p2 = 0,172)
	n	6	6	6	
Grupo III	Média.	35,7	35,6	35,5	T0 = T10 = T20
	DP	± 0,98	± 1,06	± 1,2	(p2 = 0,119)
	n	6	6	6	
		GI = GII = GIII	GI = GII = GIII	GI = GII = GIII	
		(p1 = 0,823)	(p1 = 0,734)	(p1 = 0,659)	

p1: Teste de Kruskal-Wallis para comparação entre grupos

p2: Teste de Friedman para comparação entre os tempos

p3: Teste de Wilcoxon para comparação entre tempos 2 a 2

* Houve diferença estatisticamente significativa no Grupo I. T10<T0; T20<T0.

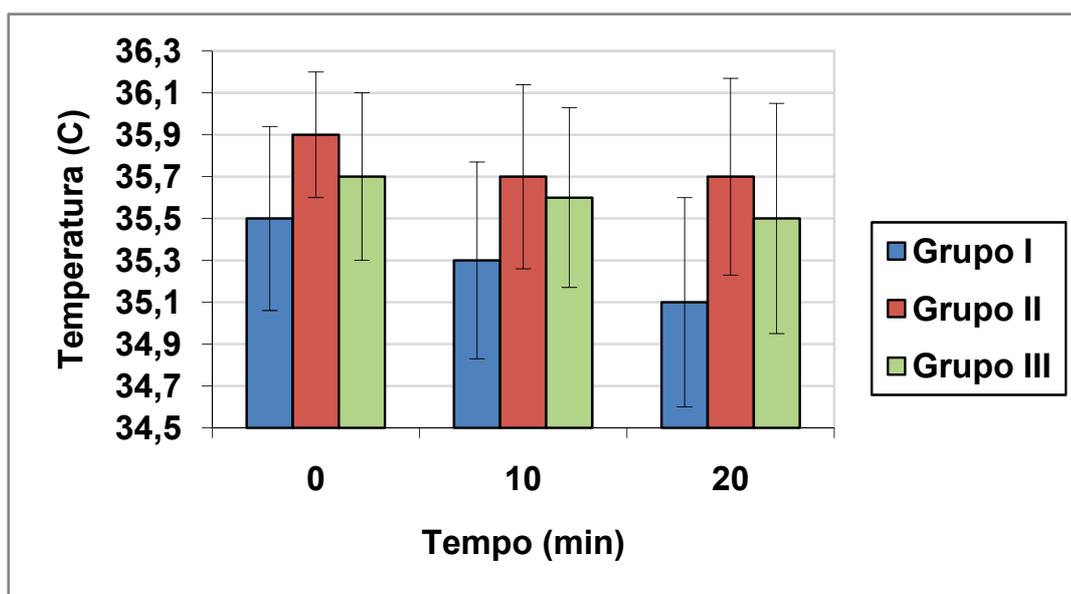


Gráfico 10. Média e desvio-padrão da T (°C) ao longo de T0, T10 e T20, para os animais dos Grupos I, II e III.

Tabela 11. Tempo de formação do coágulo de fibrina (segundos) para os animais do Grupo I. Número e porcentagem de animais com aplicação do adesivo no interior ou na superfície da lesão, no Grupo I.

Grupo I		
Tempo de formação do coágulo de fibrina (segundos)		
Média		3,5
DP		± 0,8
n		6
Local de aplicação do adesivo - n (%)		
Dentro da lesão	4	66,70%
Na superfície da lesão	2	33,30%
n	6	100%

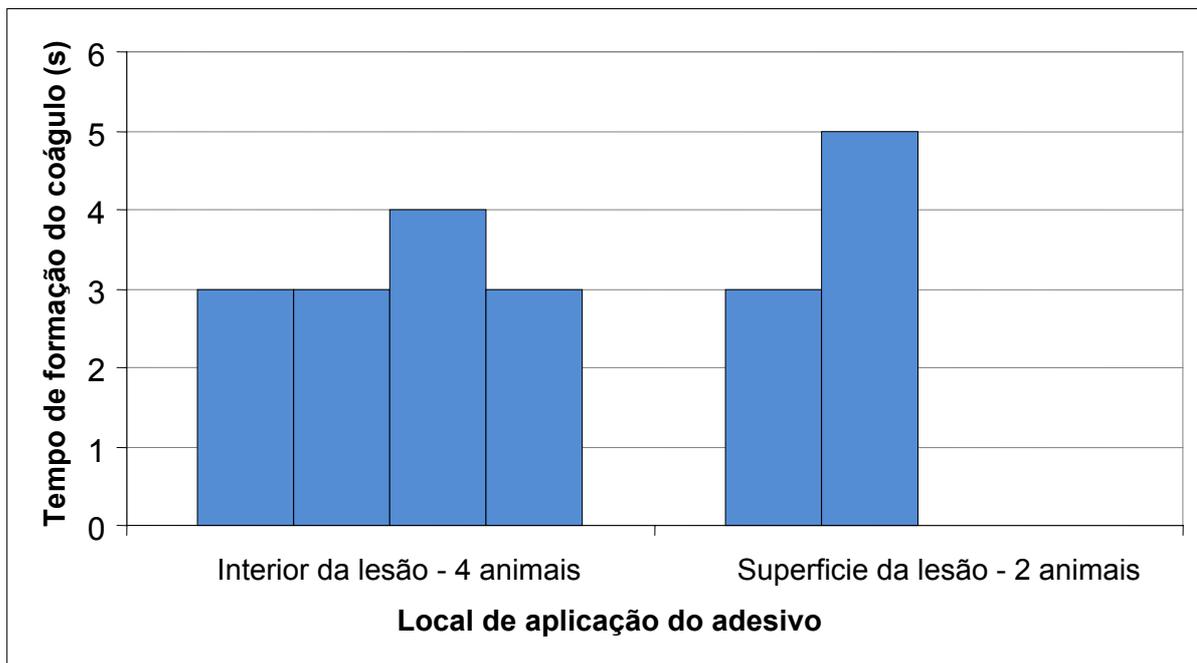


Gráfico 11. Tempo de formação do coágulo de fibrina, em segundos, associado com o local de aplicação do adesivo em cada animal do Grupo I.

Tabela 12. Distribuição dos valores da média e desvio-padrão do tempo de formação do coágulo de fibrina, em segundos, e do volume estimado de sangue coletado, em mL, associados com o local de aplicação do adesivo, para os animais do Grupo I.

Grupo I	Aplicação do adesivo	
	Interior da lesão	Superfície da lesão
Tempo de formação do coágulo (segundos)		
Média	3,3	4,0
DP	± 0,5	± 1,4
n	4	2
Volume estimado de sangue coletado (mL)		
Média	1,5	2,5
DP	± 0,6	± 0,7
n	4	2

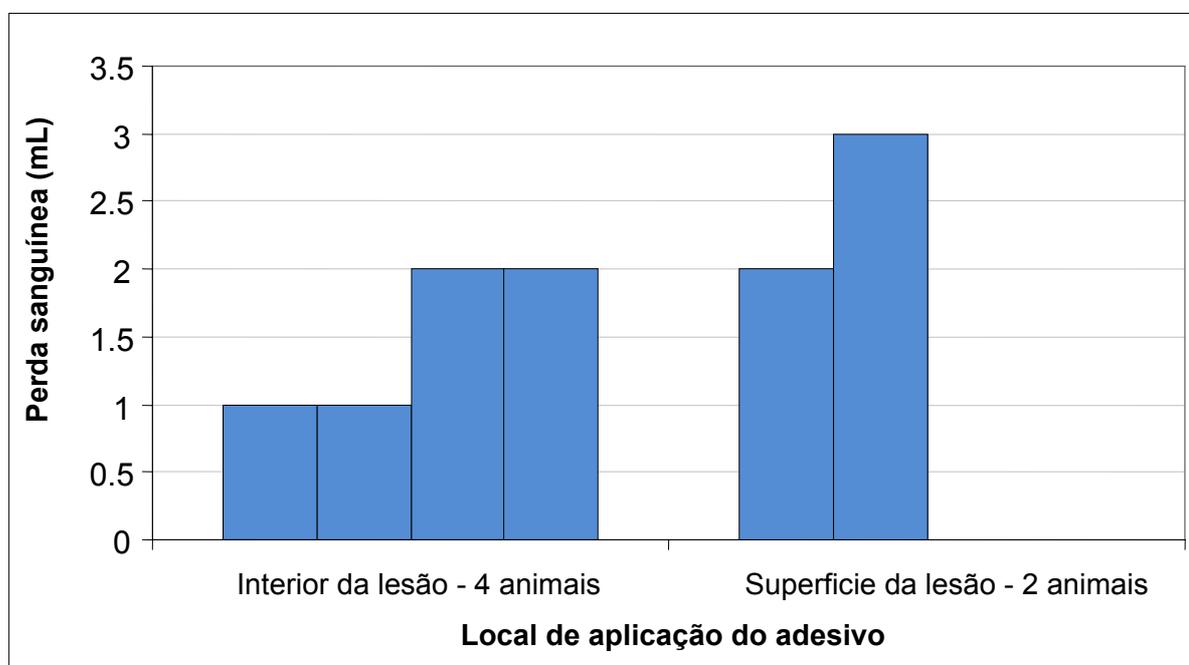


Gráfico 12. Volume estimado de sangue coletado em mL, associado com o local de aplicação do adesivo, em cada animal do Grupo I.

4.1 Análise Macroscópica

No Grupo I observou-se em cada animal a presença de tampão de adesivo ocluindo o ferimento esplênico, que não apresentava sangramento (Figuras 7 e 8). No Grupo II verificou-se ausência de coágulo na lesão esplênica, que apresentava sangramento persistente, além de coleção hemorrágica coletada em goteira parietocólica direita (Figura 9). No Grupo III constatou-se a presença de coágulo sanguíneo no ferimento esplênico, que não apresentava sangramento (Figura 10).

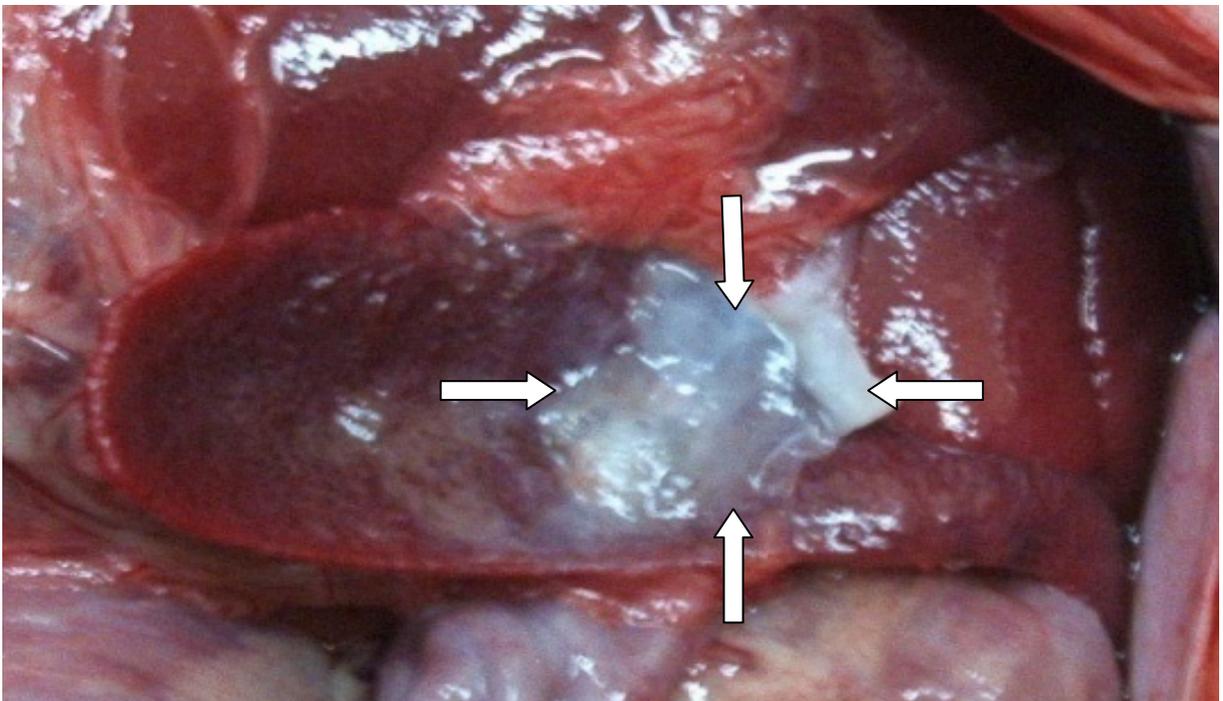


Figura 7. Fotografia do adesivo biológico tamponando a lesão do baço (Grupo I).

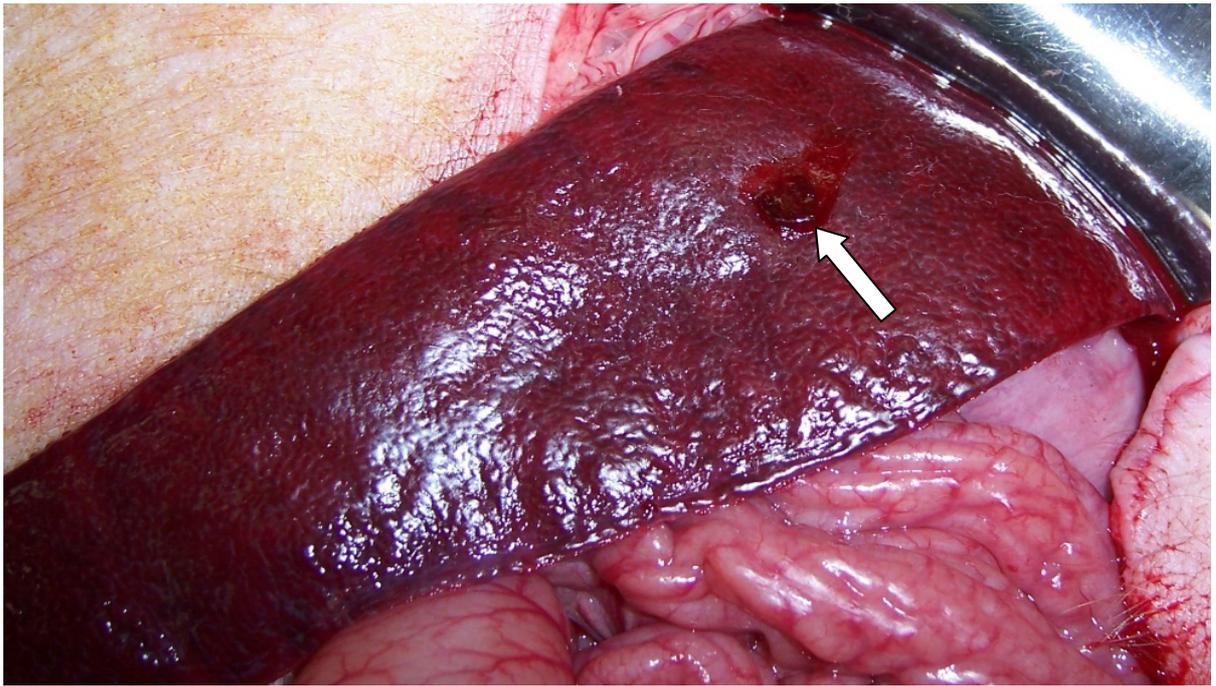


Figura 8. Fotografia do ferimento do baço ocluído pelo adesivo biológico aplicado no seu interior (Grupo I).

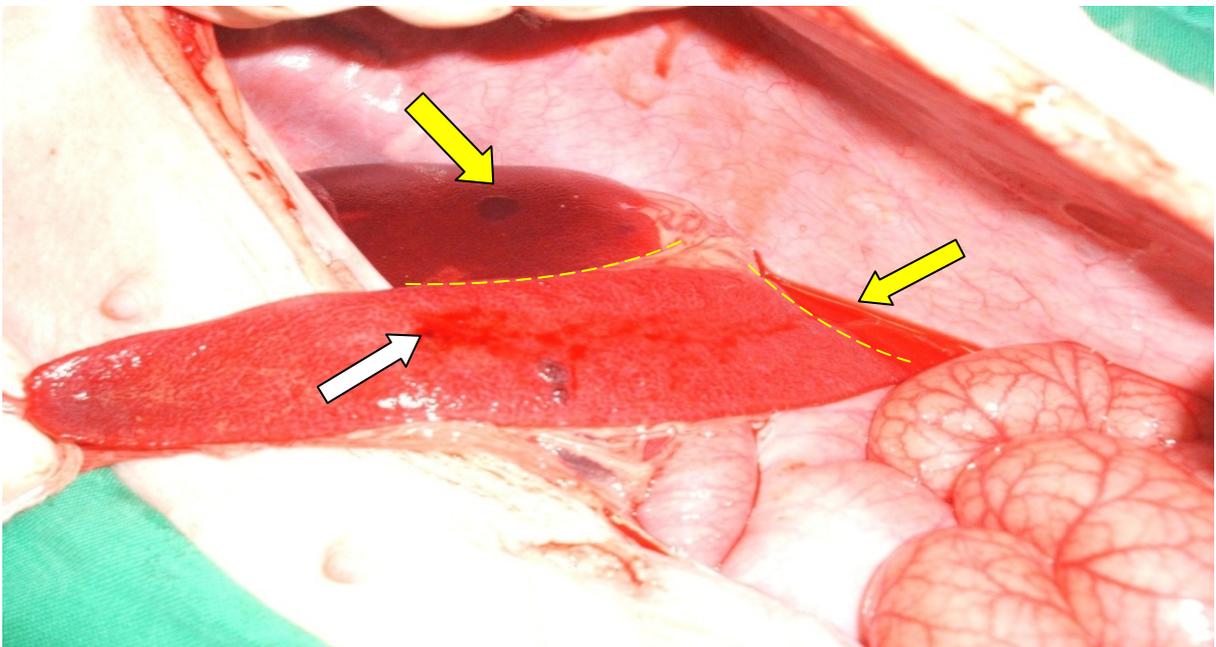


Figura 9. Fotografia do sangue coletado (setas amarelas e linhas pontilhadas) e do sangramento persistente no ferimento do baço do animal heparinizado (seta branca). Visão no tempo T20, após laparotomia (Grupo II).

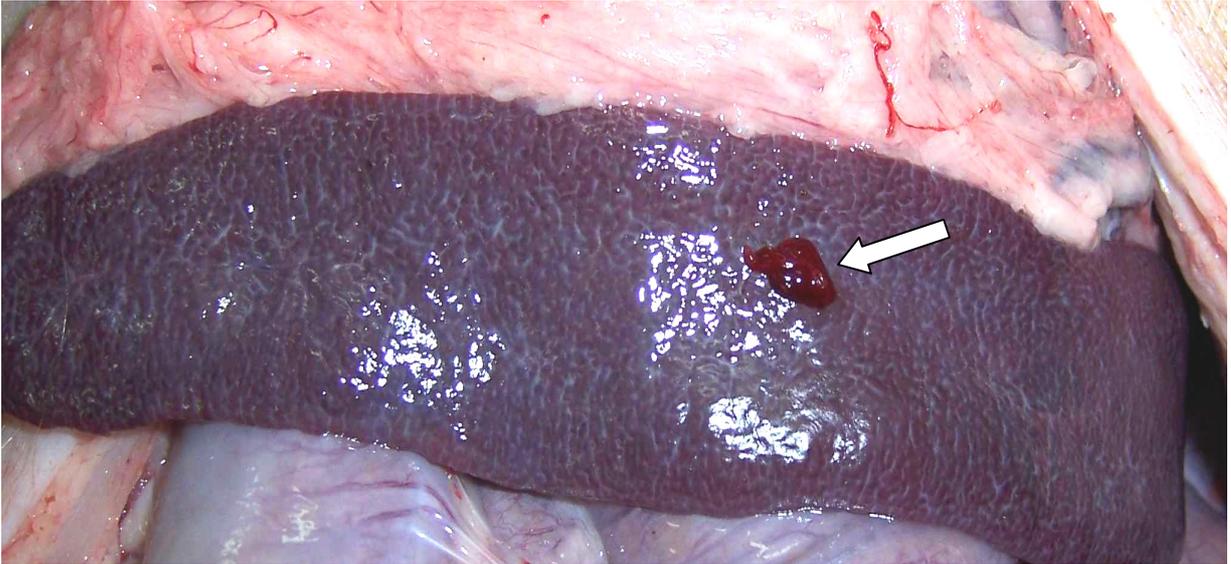


Figura 10. Fotografia do coágulo sanguíneo no ferimento de baço do Grupo III.

4.2 Análise Histológica

No local do baço onde foi realizado ferimento puntiforme e colocado adesivo biológico, observou-se o preenchimento do espaço por material eosinófilo e homogêneo correspondente ao coágulo de fibrina (Figura 11). Na porção em contato com o parênquima esplênico, verificou-se a formação de rede de fibrina bem típica fazendo a aderência do coágulo ao ferimento (Figura 12). Em alguns locais da periferia visibilizou-se a presença de infiltração leucocitária e macrófagos com hemossiderina em seu interior, indicando o início da reparação tecidual (Figura 13). Pelo fato de as imagens fotomicrográficas serem digitalizadas, para se determinar o seu aumento estampou-se uma barra no canto inferior direito das fotos.

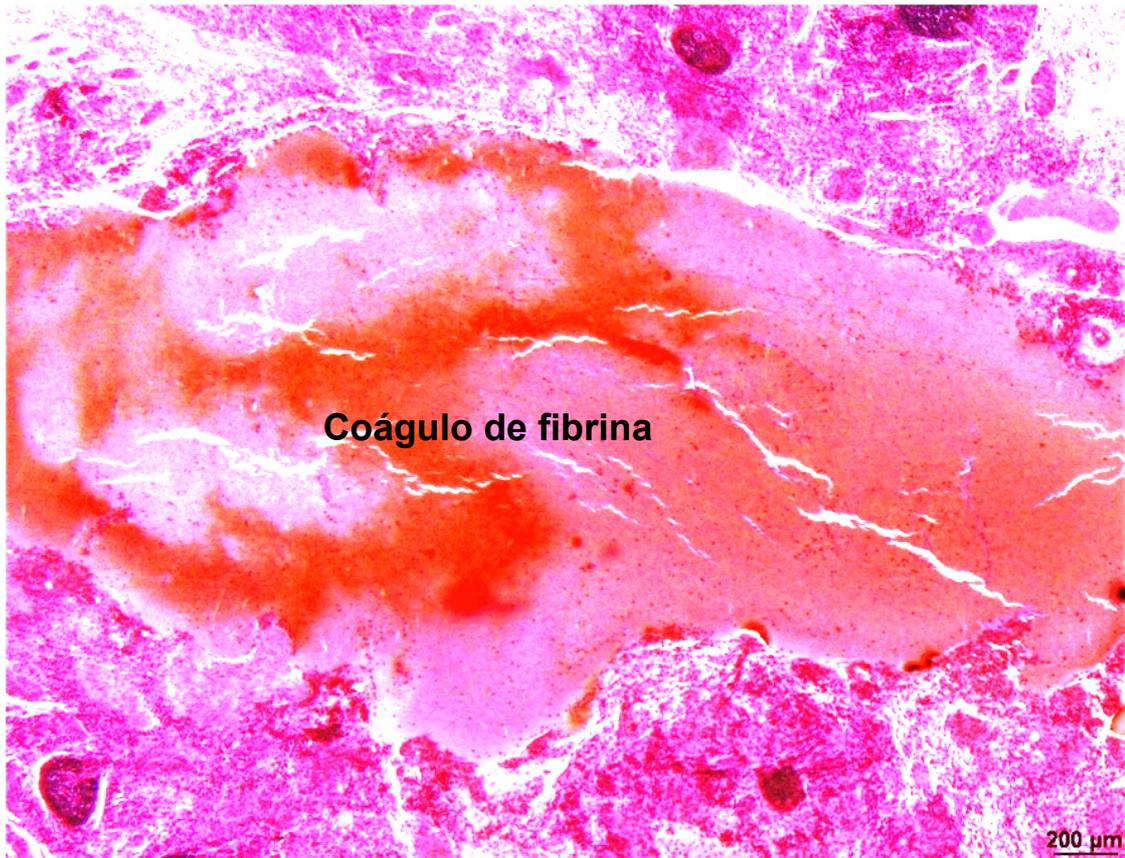


Figura 11. Fotomicrografia do local do ferimento no baço de suíno preenchido pelo coágulo de fibrina. HE

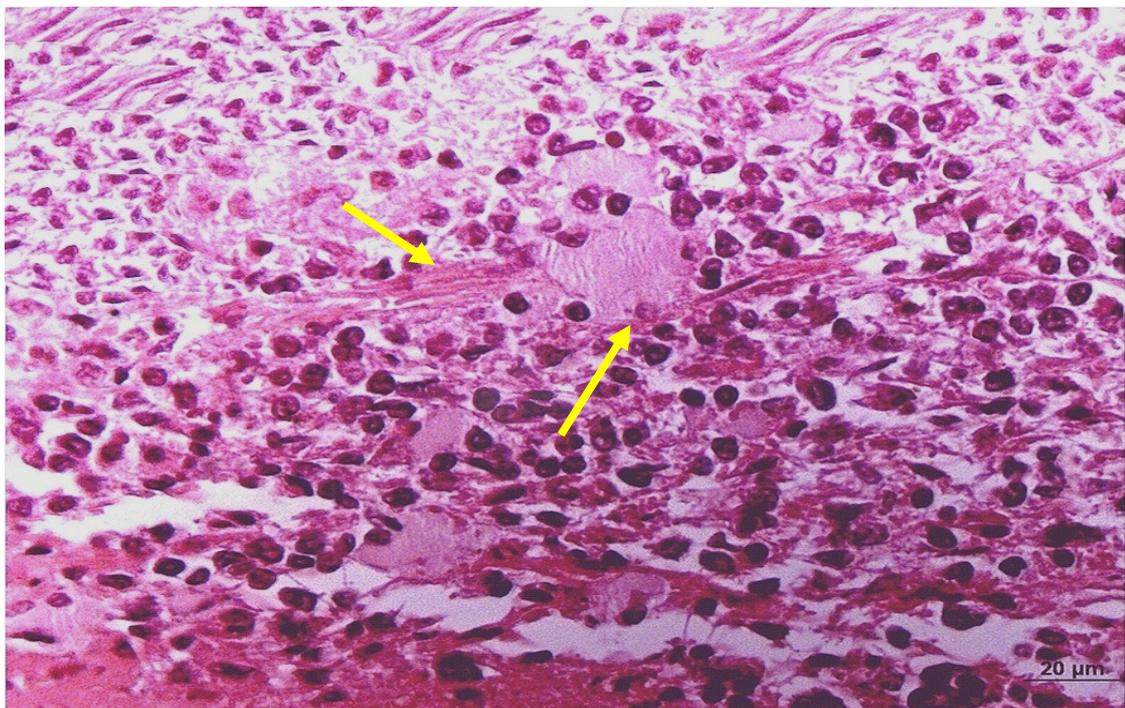


Figura 12. Fotomicrografia da porção periférica do coágulo de fibrina em baço de suíno, onde se notam inúmeras células e parte da rede de fibrina (seta). HE.

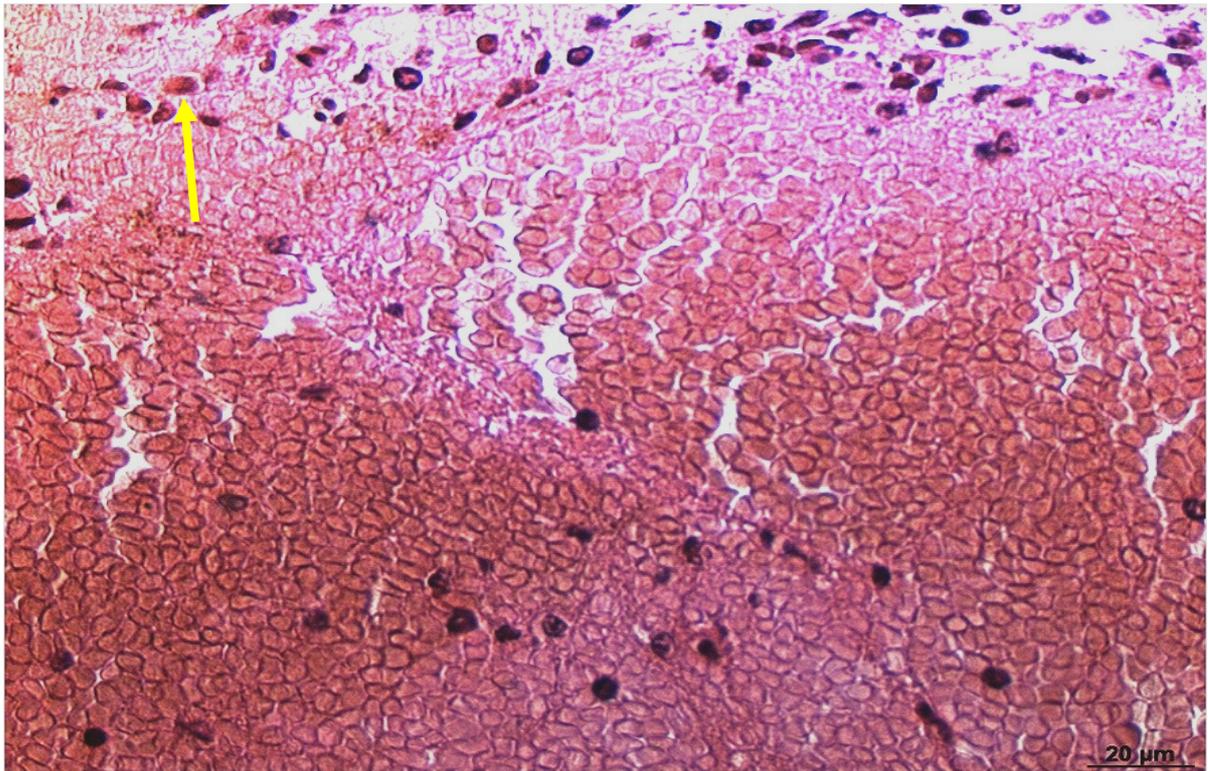


Figura 13. Fotomicrografia da porção periférica do coágulo de fibrina em baço de suíno, onde se notam macrófagos com pigmentos de hemossiderina em seu interior (seta). HE.

5. DISCUSSÃO

A aplicação de substâncias sintéticas ou biológicas sobre tecidos e órgãos de seres vivos visando a restabelecer a continuidade e a integridade anatômica é um tema que sempre preocupou os cirurgiões²⁵. O avanço da tecnologia em áreas da química e da física possibilitou o aparecimento de novos produtos com características de adesividade para aplicação em tecidos biológicos, que foram denominados adesivos cirúrgicos. O estudo desses produtos e a investigação de novos compostos é um campo relevante da pesquisa em técnica operatória.

Os adesivos cirúrgicos (biológicos ou sintéticos) têm sido considerados próximos do ideal desejado por apresentarem eficácia na contenção da hemorragia e na síntese dos tecidos e por apresentarem pouca interferência no processo de cicatrização²⁵.

Os princípios bioquímicos do adesivo biológico foram descritos por Morawitz em 1905, conforme citado por Guerra e Rosenfeld³⁶. Em 1940 Young e Medawar³⁷ publicaram estudos experimentais nos quais utilizaram fibrina para executar a síntese de nervos periféricos em coelhos. Em 1944 Cronkite et al.³⁸ publicaram estudo sobre o uso da trombina e do fibrinogênio juntos como agente adesivo em enxertos de pele, de forma semelhante à utilizada nos dias de hoje. Na atualidade esse adesivo tem sido utilizado nas mais diversas áreas da cirurgia^{39,40}.

A cola de fibrina é obtida pela ação da trombina sobre o fibrinogênio, numa repetição do último estágio da coagulação sanguínea. A reação é mediada pelo cálcio e forma inicialmente um monômero de fibrina instável e solúvel. Com a adição do Fator XIII da coagulação e da aprotinina, o monômero torna-se um polímero estável e insolúvel⁴¹. O coágulo forma-se rapidamente, de 1 a 4 segundos⁴², adere firmemente no local do ferimento por meio de ligações cruzadas da fibrina com o colágeno e glicoproteínas celulares e plasmáticas⁴¹ e após 10 minutos já adquire 70% da sua força tênsil⁴². O fibrinogênio e o Fator XIII liofilizados são disponibilizados para o uso em conjunto com uma solução de aprotinina, um inibidor da protease de origem bovina que propicia aumento da resistência do coágulo à fibrinólise⁴³.

Algumas horas após a aplicação do adesivo pode-se observar a proliferação de fibroblastos no ferimento, ocorrendo 24 horas depois a migração de granulócitos

e macrófagos. Após três dias da aplicação observa-se a formação de tecido de granulação e, depois de quatro a sete dias, verifica-se a proliferação de fibras colágenas, ocorrendo reabsorção do coágulo no período entre quatorze e trinta dias³⁹. As vantagens das propriedades deste adesivo possibilitaram seu uso com êxito no tratamento de ferimentos de órgãos parenquimatosos como o fígado²⁷.

A partir dos trabalhos de King e Shumacker⁶, secundados pelos estudos de Huntley⁷ em meados do século XX, ficou comprovada a importância do baço no sistema imunológico. Ele participa em aspectos celulares da produção de anticorpos ao estimular a produção de IgM contra antígenos bacterianos, encapsulados ou não encapsulados⁴⁴. Também produz opsoninas tais como a tuftisina, uma fração da gamaglobulina essencial para a atividade fagocitária dos neutrófilos, e tem papel importante na regulação dos linfócitos T e B⁴⁵.

O baço é um órgão parenquimatoso frequentemente lesado no trauma abdominal fechado¹, ou durante as cirurgias eletivas, convencionais⁴⁶ ou laparoscópicas⁴³. Em decorrência disso, diversas técnicas conservadoras foram propostas para o tratamento dos ferimentos desse órgão⁸⁻¹⁸. Uma delas é o tratamento expectante. Os critérios para a escolha dessa forma de tratamento são a presença de estabilidade hemodinâmica, lesão esplênica Grau III ou menor e ausência de lesão concomitante de outros órgãos abdominais^{19,20}. Essa opção terapêutica, porém, apresenta fatores desfavoráveis relacionados com possíveis e rápidas mudanças do quadro clínico. Os pacientes necessitam de avaliações clínicas e hemodinâmicas rigorosas repetidas a curtos intervalos, subsidiadas por exames laboratoriais e de imagem seriados. Além disso, a ruptura em dois tempos pode ocorrer, o que leva à incidência de falha que pode chegar a 33%^{47,19} e relaciona-se a índice de mortalidade semelhante ao da ruptura primária⁴⁷.

Dentre as opções cirúrgicas encontra-se a sutura esplênica^{10,11,46}. A friabilidade do parênquima esplênico⁴⁸, porém, dificulta o tratamento das lesões desse órgão por meio dessa técnica. Além disso, os fios de sutura são corpos estranhos que podem provocar reação inflamatória local, interferindo no processo de cicatrização²¹. A cola de fibrina apresenta-se como alternativa nesses casos, por proporcionar hemostasia rápida e segura^{24,30,35}, dispensando a necessidade do uso de fios de sutura. Como vantagem adicional, ela pode ser utilizada em pacientes

portadores de coagulopatias ou sob efeito de drogas anticoagulantes, por ser efetiva de forma independente da integridade da cascata da coagulação ou do número de plaquetas^{49,42}.

O avanço tecnológico propiciou também o surgimento da videolaparoscopia, que constitui uma opção que tem sido utilizada no tratamento dessas lesões^{50,51}. Essa via de acesso operatório apresenta como vantagens a diminuição do trauma e do efeito imunossupressor da operação, além da redução da resposta inflamatória aguda pós-cirúrgica³³. Por ser menos invasiva, ela diminui a dor pós-operatória, leva a recuperação mais rápida da função intestinal que resulta em efeito nutricional mais favorável, reduz o tempo de permanência hospitalar, diminui a morbidade, diminui os custos e possibilita o retorno mais precoce do paciente às atividades normais. A videolaparoscopia pode ser utilizada com eficácia como via de aplicação do adesivo biológico^{52,53,34}.

Blankenship e Indeck⁵⁴, em conceito coincidente com o de outros autores^{55,56}, afirmaram que o tratamento de escolha para os casos de ruptura esplênica, espontânea ou pós trauma, ocorridos durante terapia anticoagulante ou trombolítica é a reversão da anticoagulação seguida da esplenectomia de urgência.

Nesses casos, ou quando ocorrer lesão esplênica consequente a trauma em pacientes portadores de coagulopatias, o uso do adesivo biológico aplicado por laparoscopia poderia ser favorável por associar as vantagens de ambos os procedimentos.

Para se testar a hipótese, utilizou-se nesta pesquisa o porco como modelo experimental, por tratar-se de animal de porte médio e com configuração anatômica próxima da humana. Foram selecionados animais machos de uma única procedência com pesos médios equivalentes (Tabela 1, Gráfico 1).

Utilizou-se o protocolo anestésico que é adotado como padrão para suínos na Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental. Esse protocolo mostrou-se eficaz, não ocorrendo óbito de animais como complicação dele decorrente.

Em relação ao tempo operatório, os procedimentos no presente estudo tiveram variação média pequena entre os grupos. O tempo operatório do Grupo I foi maior que os tempos dos Grupos II e III, sem apresentar significância estatística

($p=0,294$). Isso ocorreu pela necessidade da introdução de novo trocarte através do qual se aplicou o adesivo cirúrgico. Os tempos operatórios dos Grupos II e III foram semelhantes (Tabela 2, Gráfico 2). A ausência de significância estatística encontrada ($p=0,294$) certamente foi decorrente da simplicidade dos procedimentos adicionais realizados neste grupo e, por conseguinte, da rapidez com que foram executados. Os trabalhos da literatura semelhantes ao trabalho ora apresentado não fazem referência a este parâmetro^{29,53}.

No presente estudo a lesão esplênica foi de Grau II⁵⁷ (0,5 x 1,0 cm), que produziu sangramento máximo de 14,0 mL no Grupo II e mínimo de 1,0 mL no Grupo I. O sangramento observado foi pequeno em termos de volume, como resultado de a lesão ter sido pequena e o tempo do sangramento ter sido curto (20 minutos do momento da lesão até a eutanásia do animal). Visto que o objetivo do estudo foi o de verificar a eficácia do adesivo biológico como agente hemostático em lesão de órgão parenquimatoso, não pareceu necessária a observação do animal por longo período no pós-operatório. Assim, optou-se por um procedimento de curta duração com eutanásia dos animais após T20, em seguida à constatação da efetividade ou não do adesivo como hemostático.

Em relação à PAM, os Grupos I e II apresentaram comportamento semelhante no decorrer do tempo, com os valores diminuindo de T0 até T20. Observou-se que no Grupo II a diminuição foi mais acentuada (de 89 mmHg em T0, a 87,3 em T20), conseqüente à maior perda sanguínea nesse grupo, sem apresentar significância estatística ($p=1,000$) (Tabela 3, Gráfico 3). No Grupo I, a aplicação do adesivo cirúrgico levou a perda sanguínea pequena, com pouca repercussão nesse parâmetro hemodinâmico. A PAM nos animais não variou quando da comparação dos grupos. Entretanto, nos diferentes momentos de tempo os animais do Grupo II apresentaram pequena diminuição desse parâmetro, o que não ocorreu nos animais dos Grupos I e III. Esse resultado certamente decorreu do fato de esses grupos terem formado coágulo e reflete a efetividade do adesivo biológico em coibir o sangramento, mesmo em animais sob efeito da heparina.

A queda da pressão arterial verificada após a ocorrência de hemorragia é detectada por barorreceptores do seio carotídeo. Esta informação é retransmitida ao bulbo cerebral por meio do nervo do seio carotídeo originando diversas respostas,

entre elas o aumento compensatório da frequência cardíaca⁵⁸. Assim, esse parâmetro hemodinâmico constitui indicador fidedigno da perda sanguínea.

Neste estudo observou-se que no Grupo II a FC média foi mais elevada que nos demais grupos, principalmente no início dos procedimentos (T0). Isso ocorreu como consequência de um dos animais ter chegado à mesa operatória estressado, apresentando FC elevada. No geral constatou-se o aumento das frequências observadas no decorrer do tempo, sendo mais acentuado no Grupo III, com diferença estatisticamente significativa de T0 para T10 ($p = 0,027$). Esse resultado foi consequência de superficialização anestésica ocorrida com dois animais desse grupo (animais 2 e 4), que necessitaram de reforço anestésico em T10 (tiopental sódico, 1/3 da dose inicial). A não ocorrência de maior diminuição desse parâmetro no Grupo II, que apresentou maior perda sanguínea, deve-se provavelmente ao curto período de tempo estudado. (Tabela 4, Gráfico 4). Cohn et al.⁵⁹, em estudo experimental com lesão hepática Grau III no qual os animais foram observados por 120 minutos após se executar a lesão, verificaram aumento e posterior diminuição desse parâmetro no decorrer do tempo. Isso ocorreu certamente como resultado da diminuição da produção de catecolaminas, vasopressina, angiotensina e aldosterona por conta da perda do poder de resposta dos reguladores nervosos e barorreceptores, que se verifica longo tempo após o trauma^{60,61}.

No tocante ao DC, ele é definido como o volume de sangue ejetado pelo ventrículo esquerdo por unidade de tempo (minuto) e reflete as alterações de volume do retorno venoso⁵⁸. Neste experimento verificou-se que os DC em T0 foram próximos, nos três grupos, o que era esperado pela semelhança das condições clínicas dos animais nesse instante de tempo. No Grupo II, no qual a lesão esplênica não tratada sangrou continuamente por conta do efeito da heparina, verificou-se a diminuição desse parâmetro, de 3,4 L/min em T0 para 2,8 L/min em T20. Essa diminuição ocorreu como consequência da perda sanguínea, que resultou na queda do retorno venoso. A diferença, porém, não teve significância estatística, certamente por conta do sangramento ocorrido, pequeno em termos de volume. Nos Grupos I e III as diferenças desse parâmetro foram pequenas entre os instantes de tempo, como consequência do pequeno volume do sangramento esplênico. Esses dados evidenciaram que no Grupo II a perda volêmica foi suficiente para alterar esse

parâmetro hemodinâmico, inversamente ao que ocorreu nos demais grupos (Tabela 5, Gráfico 5), porém insuficiente para a diferença apresentar significância estatística.

Quanto à PAP, durante a sístole ela é igual à pressão do ventrículo direito. Em condições de hemorragia ela cai proporcionalmente à diminuição do retorno venoso⁶². Por conseguinte, a PAP também constitui importante parâmetro hemodinâmico para avaliação da volemia.

No experimento verificou-se que o Grupo II apresentou maior diminuição da PAP nos instantes de tempo, de T0 a T20. Esse resultado é consequente à maior perda sanguínea neste grupo, porém a diferença não apresentou significância estatística (Tabela 6, Gráfico 6). Por tratar-se de experimento de curta duração, não houve tempo para que a perda sanguínea nesse grupo se tornasse suficiente para apresentar diferença estatisticamente significativa em relação aos demais grupos.

Os dados hemodinâmicos (PAM, FC, DC, e PAP) refletiram a importância do adesivo na diminuição da perda sanguínea no grupo heparinizado e tratado com adesivo de fibrina (Grupo I), quando comparado com os animais heparinizados e não tratados com o adesivo (Grupo II). A eficácia do método utilizado foi também observada na comparação dos animais do Grupo III com os animais heparinizados e não tratados (Grupo II).

Com referência à heparina, de acordo com os trabalhos pesquisados na literatura, a dose de 200 U/kg EV é suficiente e efetiva em experimentos com animais de médio porte (suínos) nos quais seja necessário procedimento de anticoagulação. Chan et al.⁶³, em estudo com suínos nos quais se realizou lesão esplênica padronizada tratada com adesivo cirúrgico aplicado por laparotomia, utilizaram heparina na dose de 200 U/kg. Feinstein et al.⁶⁴, em pesquisa também realizada com porcos nos quais se realizou lesão hepática posteriormente tratada com adesivo cirúrgico por laparotomia, utilizaram heparina na mesma dose. No estudo ora apresentado optou-se por submeter os animais dos Grupos I e II ao procedimento de anticoagulação empregando a heparina em dose idêntica, isto é, 200 U/kg.

A heparina é uma glicosamina composta de quantidades iguais de ácido D-glicurônico e D-glicosamino sulfatado interligados por pontes sulfamínicas que é

ativa apenas quando administrada por via parenteral. Ela é degradada pela heparinase, uma enzima hepática, sendo removida da circulação pelas células endoteliais e reticuloendoteliais. Sua ação anticoagulante é resultado da sua capacidade de ativar a antitrombina III, que por sua vez inibe as várias serinas-proteases envolvidas na coagulação sanguínea⁶⁵.

O controle laboratorial da heparinização foi feito pela medida do TTPA⁶⁶, teste que tem sido comumente utilizado devido a sua sensibilidade e precisão³⁶. Paulson et al.⁶⁷ publicaram estudo no qual empregaram esse teste para o controle da heparinização dos suínos utilizados. Considerando-se os resultados do presente estudo em relação a esse parâmetro e observando-se os valores do TTPA dos três grupos, verificou-se no grupo III o valor normal desse parâmetro para suíno (23,2 segundos), de acordo com a literatura pesquisada.⁶⁸ Nos Grupos I e II os valores estão aumentados, o que confirma que a dose utilizada foi suficiente para produzir efeito anticoagulante (Tabela 7, Gráfico 7). Pode-se concluir que esse efeito foi adequado para a comprovação da eficácia do adesivo aplicado por laparoscopia em coibir o sangramento em todos os animais tratados, uma vez que os animais heparinizados e não tratados apresentaram sangramento contínuo até o final do estudo.

A primeira referência encontrada em estudo experimental com hemostasia de ferimento esplênico utilizando a cola de fibrina foi publicado por DeRisi et al.⁶⁹ em 1982. O estudo foi realizado em cães não heparinizados, empregando a laparotomia como via de acesso. A hemostasia foi obtida em todos os casos no tempo mínimo de 10 segundos e máximo de 10 minutos.

Em estudo clínico, a primeira referência ao uso de adesivo biológico em ferimento esplênico foi feita por Scheele et al.³⁵ na década de 1980, por laparotomia. A hemostasia foi obtida em 94% dos casos incidentais e 87% dos acidentais, incluindo três pacientes que apresentavam grave coagulopatia decorrente de politransfusões. Não foi mencionada a quantidade de adesivo utilizada.

Também na década de 1980 Ishitani et al.⁷⁰, utilizando a cola de fibrina (10 mL) pela primeira vez por laparoscopia, conseguiram coibir a hemorragia de ferimento hepático não padronizado em porcos heparinizados (10.000 U/kg). O

coágulo formou-se dentro de 10 segundos, obtendo-se a hemostasia em todos os casos.

Salvino et al.⁷¹ em estudo experimental, provocaram lesão de 4 x 4 x 4 cm no fígado e baço de cães não heparinizados. O ferimento foi tratado por laparoscopia, com a aplicação de 40 mL, em média, de adesivo biológico para obter a hemostasia, tendo o coágulo se formado entre 5 e 15 segundos. Por sua vez Feinstein et al.⁶⁴ utilizaram entre 3 e 9 mL desse adesivo via laparotomia, em ferimento hepático produzido por trauma fechado em suíno heparinizado, conseguindo coibir o sangramento.

Nesta pesquisa a perda sanguínea maior ou menor evidenciou, de um lado, o efeito anticoagulante da heparina e, do outro, a eficácia do adesivo biológico como hemostático. O Grupo II foi o que apresentou a maior perda sanguínea com média de 6,8mL, já que a lesão esplênica, executada 10 minutos após a heparinização, não foi tratada. Por outro lado, o Grupo I foi o que apresentou o menor sangramento com média de 1,8 mL, certamente como resultado da aplicação do adesivo biológico no ferimento esplênico (Tabela 8, Gráfico 8). Verificou-se que, apesar da heparinização prévia, formou-se coágulo do adesivo em todos os animais desse grupo (Tabela 9, Gráfico 9) com subsequente parada do sangramento em todos eles, verificada após laparotomia. O oposto ocorreu com os animais do Grupo II, nos quais o coágulo não se formou (Figura 7), e o sangramento persistiu continuamente até o momento da eutanásia. Certamente a capacidade da cola de fibrina de formar coágulo com eficiência hemostática mesmo em animal heparinizado foi preponderante para a menor perda sanguínea verificada nos animais do Grupo I, o que foi estatisticamente significativo ($p= 0,004$).

Em relação à formação do coágulo sanguíneo nos animais do Grupo III, observou-se que esta ocorreu no ferimento esplênico dos 6 animais (Tabela 9, Gráfico 9). Provavelmente esse coágulo demorou mais para se formar que o coágulo de fibrina no Grupo I, possibilitando maior sangramento. Isso ficou demonstrado à laparotomia pela maior quantidade de sangue coletado na cavidade abdominal dos animais desse grupo, na comparação com o Grupo I (Tabela 8, Gráfico 8).

A coagulabilidade sanguínea é alterada quando a temperatura corpórea está abaixo de 37° C^{72,73}, resultado da inibição das reações enzimáticas da cascata da coagulação induzida pela hipotermia⁷². A fim de evitar esse problema, Kheirabadi et al.⁷⁴, em trabalho realizado com suínos nos quais se produziu e tratou lesão aórtica padronizada, mantiveram a temperatura dos animais entre 37 e 39° C utilizando manta de água aquecida. Acheson et al.⁶⁶, utilizando suínos nos quais se provocou e tratou lesão padronizada de artéria femoral, também mantiveram a temperatura deles em aproximadamente 38° C durante o experimento.

O presente estudo teve o intuito de tratar lesão esplênica em condições de coagulabilidade sanguínea alterada. Assim, verificou-se que em T0 as temperaturas médias dos três grupos eram inferiores a 37°C (Tabela 10, Gráfico 10). Durante os procedimentos as temperaturas médias dos animais diminuíram no decorrer do tempo nos três grupos, com variação entre 36,8 e 33° C. Isso ocorreu como resultado da perda de calor para o meio ambiente, bem como pela inalação de gás anestésico a baixa temperatura durante os procedimentos operatórios. Não se tentou manter a temperatura dos animais em 37° C. No Grupo I foram encontradas diferenças estatisticamente significantes ($p=0,009$) nesse parâmetro entre os instantes de tempo, verificando-se que as temperaturas em T0 foram significativamente maiores do que em T10 e em T20. A diferença nesses casos foi de aproximadamente 0,4° C. Entre os grupos e em cada instante de tempo não foram encontradas diferenças significantes. O Grupo II apresentou a maior temperatura média no início dos procedimentos, e o Grupo I, a menor.

A diminuição observada das temperaturas corpóreas dos animais foi considerada vantajosa para esta pesquisa. Felfernig et al.⁷⁵, em estudo realizado *in vitro*, observaram que a hipotermia prolonga o TTPA de plasma heparinizado. Assim, o estado de hipotermia no qual os animais estavam durante o experimento provavelmente tenha somado a alteração da coagulabilidade sanguínea provocada pela hipotermia ao efeito anticoagulante da heparina. Com isto foi possível testar o poder hemostático do adesivo cirúrgico em condição de coagulação duplamente alterada.

No adesivo biológico, a rapidez com que o coágulo se forma é proporcional à concentração de trombina²⁴. Há relato³¹ demonstrando que, com a concentração de

300 a 600 UI/mL, o coágulo formou-se entre 4 e 3 segundos. O levantamento de outros trabalhos experimentais^{76,67} mostrou a concentração desse componente variando de 250 a 1.000 UI/mL. No presente estudo o adesivo biológico utilizado conteve trombina numa concentração média de 500 UI/mL, que levou o coágulo a se formar entre 3 e 5 segundos (Tabela 11 e Gráfico 11), o que está de acordo com a literatura pesquisada⁴⁰. Há vantagens na formação rápida do coágulo de fibrina, tais como menor perda sanguínea (que foi de 1,8 mL em média no Grupo I, Tabela 8) e diminuição da incidência de embolia⁴² (que não ocorreu em nenhum dos animais deste estudo). Assim, pode-se concluir que a concentração de trombina utilizada foi adequada.

A adesão do adesivo biológico ao tecido lesado é resultado das ligações cruzadas da fibrina e as glicoproteínas adesivas (fibronectina, tromboespondina, e fator de von Willebrand)⁷⁷ do lado do adesivo, com o colágeno e as glicoproteínas adesivas teciduais, do lado da lesão^{78,41}. Ronneberger e Hein⁷⁹ publicaram pesquisa realizada em ratos na qual verificaram que o adesivo biológico com fibrinogênio em concentração abaixo de 40 mg/mL relaciona-se com a adesão inadequada do adesivo ao ferimento. A revisão da literatura^{49,59} mostra relatos com a concentração variando de 35 a 110 mg/mL.

No presente estudo a concentração média de fibrinogênio foi de 90 mg/mL, que propiciou boa adesão do coágulo ao ferimento esplênico. Isso pôde ser comprovado às laparotomias após T20 (Tabela 9, Gráfico 9), quando se verificou a presença de tampão de adesivo firmemente aderido à lesão esplênica em todos os animais do Grupo I. A firme adesão do adesivo ao local do ferimento é desejável, objetivando garantir a hemostasia.

Embora a intenção tenha sido a de aplicar o adesivo sempre no interior da lesão esplênica, isso foi conseguido em apenas quatro dos seis animais do Grupo I. Foram observadas diferenças no tempo de formação do coágulo, de acordo com o local da aplicação do adesivo (Tabela 12, Gráfico 12). Quando ele foi aplicado no interior da lesão o coágulo formou-se em 3,3 segundos, em média. Quando aplicado na superfície da lesão, o coágulo formou-se em 4 segundos, em média. Levando-se em conta que o tempo maior despendido na formação do coágulo propicia maior

perda sanguínea, pode-se concluir que a aplicação do adesivo no interior do ferimento é desejável por possibilitar a formação do coágulo em menor tempo.

A análise histológica mostrou o preenchimento da lesão pelo coágulo de fibrina (Figura 11), que resultou no efeito hemostático demonstrado pelos parâmetros avaliados de perda sanguínea. Na superfície do coágulo em contato com o tecido esplênico observou-se a formação de rede de fibrina, responsável pelo ancoramento do coágulo ao ferimento (Figura 12). O efeito da aderência ficou evidenciado pela constatação de que nenhum dos coágulos se soltou durante o experimento. O fato de se tratar de um experimento agudo ficou caracterizado pelo encontro de infiltração leucocitária e de macrófagos com hemossiderina, o que indica o início da reparação tecidual (Figura 13).

Deste modo a pesquisa pôde comprovar que o adesivo biológico é eficaz para a hemostasia de lesão esplênica, a aplicação de adesivo biológico por via laparoscópica é factível, a hemorragia de lesão esplênica pode ser tratada de forma eficaz por este método e que a anticoagulação não interfere com a eficácia desse modelo de tratamento.

No estudo ora apresentado, o novo em relação ao que existe na literatura é o fato de se ter utilizado um adesivo cirúrgico (adesivo biológico) por via laparoscópica em lesão padronizada de órgão parenquimatoso, em animal heparinizado. Demonstrou-se que o adesivo biológico empregado por este meio de aplicação é eficaz e eficiente em coibir o sangramento nesse tipo de lesão, e conseqüentemente evitar o procedimento de laparotomia com todas as suas conseqüências desfavoráveis para organismo.

Novas pesquisas com outras espécies de animais e outros órgãos parenquimatosos serão de fundamental importância para se poder extrapolar este tipo de procedimento, levando-o a ser utilizado em humanos. Além disso, outras pesquisas deverão ser realizadas, variando o tamanho da lesão em animais heparinizados, para que se possa estabelecer qual é o limite da utilização deste método.

Não se observou nenhuma limitação na execução deste modelo em relação ao animal, à vídeolaparoscopia, nem à utilização do adesivo por esta via. Deve-se mencionar ainda que este procedimento é de execução rápida e eficiente.

As perspectivas futuras são promissoras, e espera-se que os custos do adesivo e do equipamento de vídeolaparoscopia sejam reduzidos, tornando-os mais acessíveis e possibilitando sua utilização em pacientes de todas as condições socioeconômicas.

6. CONCLUSÃO

O adesivo biológico de fibrina aplicado por laparoscopia é eficaz para a hemostasia de ferimento esplênico em suíno sob efeito de droga anticoagulante.

7. REFERÊNCIAS

1. Beauchamp RD, Holzman MD, Fabian TC. Spleen. In: Townsend CM Jr, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL. Sabiston textbook of surgery. Philadelphia: Elsevier; 2004. p. 1679-708.
2. Barnes AF. Subcutaneous traumatic rupture of the normal spleen. *Am Surg.* 1914;59:597-609.
3. Sherman R. Rationale for and methods of splenic preservation following trauma. *Surg Clin North America.* 1981;61(1):127-34.
4. Morris DH, Bullock FD. The importance of the spleen in resistance to infection. *Ann Surg.* 1919;70:(5)513-21.
5. O'Donnel FJ. The value of splenectomy in Banti's disease. *Br Med J.* 1929;1:854.
6. King H, Schumacker HB Jr. Splenic studies number 1 susceptibility to infection after splenectomy is performed in infancy. *Am Surg.* 1952;136(2):239-42.
7. Huntley CC. Infection following splenectomy in infants and children. A review of the experience at Duke Hospital in infants and children during twenty-two year period (1933-1954). *AMA J Dis Child.* 1958;95(5):477-480.
8. Tulikoura I, Lassus J, Konttinen YT, Junttilainen T, Santavirta S. A safe surgical technique for the partial resection of the ruptured spleen. A clinical report. *Injury.* 1999;30(10):693-7.
9. Petroianu A, Resende V, da Silva RG. Late postoperative follow-up of patients undergoing subtotal splenectomy. *Clinics.* 2005;60(6):473-8.
10. Marron CD, Dolan SJ, Best BG. Mesh splenorraphy using a pre-formed "bag" for intra-operative splenic injuries. *Ann R Coll Surg Engl.* 2004;86(3):225.
11. Tsaroucha AK, Pitiakoudis MS, Chanos G, Chiotis AS, Argyropoulou PI, Prassopoulos P, et al. U-stitching splenorraphy technique: experimental and clinical study. *ANZ J Surg.* 2005;75(4):208-12.
12. Keramidas DC. The ligation of the splenic artery in the treatment of traumatic rupture of the spleen. *Surgery.* 1979;85(5):530-3.
13. Cooney DR, Michalak WA, Michalak DM, Fisher JE. Comparative methods of splenic preservatives. *J Pediatr Surg.* 1981;16(3):327-38.
14. Latteri M. [Ligation of the splenic artery in the treatment of splenic injuries. Experimental research]. *Minerva Chir.* 1982;37(21):1915-20. Italian.
15. Coln D, Horton J, Ogden MG, Buja LM. Evaluation of hemostatic agents in experimental splenic lacerations. *Am J Surg.* 1983;145(2):256-59.
16. Guthy E. [Injuries to the spleen : treatment by infrared coagulation (author's transl)]. *J Chir (Paris).* 1981 Jul-Aug;118(6-7):429-31. French.

17. Goldenberg A. Estudo sobre os efeitos hemostáticos do raio Laser de CO₂ e da sutura simples no baço de cães [dissertação]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 1984.
18. Cooney R, Ku J, Cherry R, Maish GO 3rd, Carney D, Scorza LB, et al. Limitations of splenic angioembolization in treating blunt splenic injury. *J Trauma*. 2005;59(4):926-32.
19. Albrecht RM, Sherman CR, Morris A. Nonoperative management of blunt splenic injuries: factors influencing success in age > 55 years. *Am Surg*. 2002;68(3):227-31.
20. Clancy TU, Ramshaw DG, Maxwell JG, Covington DL, Churchill MP, Rutledge R, et al. Management outcomes in splenic injury: a statement trauma center review. *Ann Surg*. 1977;226(1):17-24.
21. Fagundes DJ, Goldenberg S. Princípios fundamentais de síntese e anastomoses. In: Burihan E, Ramos RR. *Conduitas em cirurgia*. São Paulo: Atheneu; 2001. p. 643-53.
22. Seewald S, Mendoza G, Seitz U, Salem O, Soehendra N. Variceal bleeding and portal hypertension: has there been any progress in the last 12 months? *Endoscopy*. 2003;35(2):136-44.
23. Maw JL, Quinn JV, Wells GA, Ducic Y, Odell PF, Lamothe A, et al. A prospective comparison of octylcianoacrylate tissue and suture for the closure of head and neck incisions. *J Otolaryngol*. 1997;26(1):26-30.
24. Albala DM. Fibrin sealants in clinical practice. *Cardiov Surg*. 2003;11 Supp 1:5-11.
25. Fagundes DJ, Taha MO, Montero EFS. Adesivo em cirurgia. In: Burihan E, Ramos RR. *Conduitas em cirurgia*. São Paulo: Atheneu; 2001. p. 685-90.
26. Fontes CER, Taha MO, Fagundes DJ, Ferreira MV, Prado Filho OR, Mardegan MJ. Estudo comparativo do uso da cola de fibrina e cianoacrilato em ferimento de fígado de rato. *Acta Cir Bras*. 2004;19(1):37-41.
27. Jakob H, Campbell CD, Stemberger A, Wriedt-Lubbe I, Blumel G. Combined application of heterologous collagen and fibrin sealant for liver injuries. *J Surg Res*. 1984;36(6):571-7.
28. Holcomb JB, McClain JM, Pusateri AE, Beall D, Macaitis JM, Harris RA, et al. Fibrin sealant foam sprayed directly on liver injuries decreases blood loss in resuscitated rats. *J Trauma*. 2000;49(2):246-50.
29. Kram HB, Blair IR, Fleming AW, Shoemaker WC. Use of fibrin glue in hepatic trauma. *J Trauma*. 1988;28(8):1195-201.
30. Alving BM, Weinstein MJ, Finlayson JS, Menitove JE, Fratantoni JC. Fibrin

- sealant: summary of a conference on characteristics and clinical use. *Transfusion*. 1995;35(9):783-90.
31. Dunn CJ, Goa KL. Fibrin Sealant: a review of its use in surgery and endoscopy. *Drugs*. 1999;58(5):863-86.
 32. Fagundes DJ, Taha MO, Rivoire HC. Adesivos cirúrgicos: revisão e atualização. *J Bras Med*. 2002;82(3):101-3.
 33. Adachi Y, Shiraishi N, Shiromizu A, Bandoh T, Aramaki M, Kitano S. Laparoscopic-assisted Bilroth I gastrectomy compared with conventional open gastrectomy. *Arch Surg*. 2000;135(7):806-10.
 34. Olmi S, Scaini A, Erba L, Bertolini A, Guaglio M, Croce E. Use of fibrin glue (Tissucol) as a hemostatic in laparoscopic conservative treatment of spleen trauma. *Surg Endosc*. 2007;21(11):2051-54.
 35. Scheele J, Gentsch HH, Matteson E. Splenic repair by fibrin tissue adhesive and collagen fleece. *Surgery*. 1984;95(1):6-13.
 36. Guerra CCC, Rosenfeld LGM. Drogas anticoagulantes. In: Maffei FH, Lastória S, Yoshida WB, Rollo HA. *Doenças vasculares periféricas*. Rio de Janeiro: MEDSI; 2002. p. 234-8.
 37. Young JZ, Medawar PB. Fibrin suture of peripheral nerves. *Lancet*. 1940;11:126-8.
 38. Cronkite EP, Lozner EL, Deaver JM. Use of thrombin and fibrinogen in skin grafting. *J Am Med Assoc*. 1944;124(14):976-978.
 39. Alving BM, Weinstein MJ, Finlayson JS, Menitove JE, Fratantoni JC. Fibrin sealant: summary of a conference on characteristics and clinical use. *Transfusion*. 1995;35(9):783-90.
 40. Dunn CJ, Goa KL. Fibrin Sealant. A review of its use in surgery and endoscopy. *Drugs*. 1999;58(5):863-86.
 41. Martinowitz U, Sponitz WD. Fibrin tissue adhesives. *Tromb Haemost*. 1997;786(1):661-6.
 42. Kram HB, Nathan RC, Stafford FJ, Fleming AW, Shoemaker WC. Fibrin glue achieves hemostasis in patients with coagulation disorders. *Arch Surg*. 1989;124(3):385-7.
 43. Canby-Hagino ED, Morey AF, Morey AF, Jatoi I, Perahia B, Bishoff JT. Fibrin sealant treatment of splenic injury during open and laparoscopic left radical nephrectomy. *J Urol*. 2000;164(6):2004-5.
 44. Sherman R. Rationale and methods of splenic preservation. *J Fla Med Assoc*. 1981;68(11):887-9.

45. Biggs G, Hafron J, Feliciano J, Hoenig DM. Treatment of splenic injury with biogluce, a surgical adhesive. *Urology*. 2005;66(4):882.e3-e5.
46. La Mura J, Chung-Fat S, San Felippo JA. Splenorrhaphy for the treatment of splenic rupture in infants and children. *Surgery*. 1977;81(5):497-01.
47. McIndoe AH. Delayed hemorrhage following traumatic rupture of the spleen. *Br J Surg*. 1932;20:249-68.
48. Schwartz SI. Baço. In: Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC. *Princípios de cirurgia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1991. p. 1202-15.
49. Ochsner MG, Maniscalco-Theberge ME, Champion HR. Fibrin glue as a hemostatic agent in hepatic and splenic trauma. *J Trauma*. 1990;30(7):884-7.
50. Huscher CG, Mingoli A, Sqarzini G, Brachini G, Ponzano C, DiPaola M, et al. Laparoscopic treatment of blunt splenic injuries: initial experience with 11 patients. *Surg Endosc*. 2007;21(8):1423-6.
51. Basso N, Silecchia G, Raparelli L, Pizzuto G, Picconi T. Laparoscopic splenectomy for ruptured spleen: lessons learned for a case. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*. 2003;13(2):109-12.
52. Schmal H, Geiger G. Laparoscopic splenic salvage in delayed rupture by application of fibrin glue in a 10-year-old boy. *J Trauma*. 2005;58(3):828-30.
53. Tricarico A, Tartaglia A, Taddeo F, Sessa R, Sessa E, Minelli S. Videolaparoscopic treatment of spleen injuries. *Surg Endosc*. 1994;8(8):910-2.
54. Blankenship JC, Indeck MI. Spontaneous splenic rupture complicating anticoagulant or thrombolytic therapy. *Am J Med*. 1992;94(4):433-7.
55. Badaoui R, Chebboubi K, Delmas J, Mahjoub Y, Riboulot M. [Splenic rupture and anticoagulant therapy]. *Ann Fr Anesth Reanim*. 2004;23(7):748-50. French.
56. Errando CL, Tatay J, Serrano-Romero A, Gudín-Uriel M, Revert M, Peiró CM. Splenic rupture and haemoperitoneum in a patient with non-compactation of the left ventricular myocardium. *Br J Anaesth*. 2005;95(3):358-65.
57. Moore EE, Cogbill TH, Jurkovich GJ, Shackford SR, Malangoni MA, Champion HR. Organ injury scaling: spleen and liver (1994 revision). *J Trauma*. 1995;38(3):323-4.
58. Costanzo LS. *Fisiologia*. 3a ed. São Paulo: Elsevier; 2007. *Fisiologia cardiovascular*; p. 111-82.
59. Cohn SM, Cross JH, Ivy ME, Feinstein AJ, Samotowka MA. Fibrin glue terminates massive bleeding after complex hepatic injury. *J Trauma*. 1998;45(4):666-72.
60. Holcroft JW, Wisner DH. Choque e insuficiência pulmonar aguda em pacientes

- cirúrgicos. In: Way LW. Cirurgia: diagnóstico e tratamento. 9a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1993. p. 136-52.
61. Guyton AC. Tratado de fisiologia médica. 6a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1986. Regulação a curto prazo da pressão arterial média: mecanismos neurais reflexos e hormônios para o rápido controle da pressão; p. 211-21.
 62. Guyton AC. Tratado de fisiologia médica. 8a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1992. Circulação pulmonar; edema pulmonar; líquido pleural; p.144-5.
 63. Chan MW, Schwaitzberg SD, Demcheva M, Vournakis J, Finkielstein S, Connolly RJ. Comparison of poly-n-acetyl glucosamine (P-GlcNAc) with absorbable collagen (Actifoam), and fibrin sealant (Bolheal) for achieving hemostasis in a swine model of splenic hemorrhage. *J Trauma*. 1999;48(3):454-8.
 64. Feinstein AJ, Varela JE, Cohn ASM, Compton RP, McKenney MG. Fibrin glue eliminates the need for packing after complex liver injuries. *Yale J Biol Med*. 2001;74(5):315-21.
 65. Bithell TC. Trombose e terapia antitrombótica. In: Lee RG, Bithell TC, Foerster J, Athens JW, Lukens JN. Wintrobe hematologia clínica. São Paulo: Manole; 1998. p. 1674-9.
 66. Acheson EM, Kheirabadi BS, Deguzman R, Dick EJ Jr, Holcomb JB. Comparison of hemorrhage control agents applied to lethal extremity arterial hemorrhages in swine. *J Trauma*. 2005;59(4):865-74.
 67. Paulson EK, Stephenson GR, Neal MC, Rossin V, Lawson JH. Use of fibrin sealant as a hemostatic agent after liver biopsy in swine. *J Vasc Interv Radiol*. 2000;11(7):905-11.
 68. Bowie EJW, Owen CA, Zollman PE, Thompson JH, Fass DN. Tests of hemostasis in swine: normal values and values in pigs affected with von Willbrand's disease. *Am J Vet Res*. 1973;34(11):1405-7.
 69. DeRisi D, Petrelli NS, Cohen H, Williams P, Ambrus JL. Attempts to bypass the need for splenectomy in splenic injury. *J Surg Oncol*. 1982;19(2):74-6.
 70. Ishitani MB, McGahren ED, Sibley DA, Sponitz WD, Rodgers BM. Laparoscopically applied fibrin glue in experimental liver trauma. *J Pediatr Surg*. 1989;24(9):867-71.
 71. Salvino CK, Esposito TJ, Smith DK, Jacobs HK, Candel AG, Dries D, et al. Laparoscopic injection of fibrin glue to arrest intraparenchymal abdominal hemorrhage: an experimental study. *J Trauma*. 1993;35(5):762-7.
 72. Rohrer MJ, Natale AM. Effect of hypothermia on the coagulation cascade. *Crit Care Med*. 1992;20(10):1402-05.

73. Holcomb JB, Pusateri AE, Harris RA, Reid TJ, Beall LD, Hess JR, et al. Dry fibrin sealant dressings reduce blood loss, resuscitation volume, and improve survival in hypothermic coagulopathic swine with Grade V liver injuries. *J Trauma*. 1999;47(2):233-42.
74. Kheirabadi BS, Acheson EM, Deguzman R, Sondeen JL, Ryan KL, Delgado A, et al. Hemostatic efficacy of two advanced dressings in an aortic hemorrhage model in swine. *J Trauma*. 2005;59(1):25-35.
75. Felfernig M, Blaiher A, Kettner SC, Felfernig D, Acimovic S, Kozec-Langenecker AS. Effects of temperature on partial thromboplastin time in heparinized plasma *in vitro*. *Eur J Anaesthesiol*. 2001;18(7):467-70.
76. Iwaya K, Mizoi K, Tessler A, Itoh Y. Neurotrophic agents in fibrin glue mediate adult dorsal root regeneration into spinal cord. *Neurosurgery*. 1999;44(3):589-96.
77. Bockenstedt P, McDonagh J, Handin RI. Binding and covalent cross-linking of purified Von Willebrand factor to native monomeric collagen. *J Clin Invest*. 1986;78(2):551-6.
78. Burleson RL, Ennulat N. Fibrin adherence to biological tissues. *J Surg Res*. 1978;25(6):523-29.
79. Ronneberger H, Hein B. [Studies of a fibrin adhesive in skin wounds of rats]. *Arzneimittelforschung*. 1984;34(3):287-90. German.

APÊNDICE

(A) PROTOCOLO DE ANESTESIA

IDENTIFICAÇÃO: ANIMAL N°: _____ GRUPO:

DATA: ____ / ____ / ____ PESO: _____

ANESTÉSICO:

DOSE: _____ VIA: _____ HORA: _____

PLANO ANESTÉSICO: HORA _____

DURAÇÃO DA ANESTESIA: _____

REFORÇO: _____

INTERCORRÊNCIAS: _____

(B) Protocolo dos Parâmetros Clínicos, Hemodinâmicos e Laboratoriais

Data _____

Grupo _____

Animal nº _____

	T0	T10	T20
T			
DC			
PAM			
FC			
PAP			
TTPA			

(C) PROTOCOLO DA APLICAÇÃO DO ADESIVO NO GRUPO I

ANIMAL N° _____

SUPERFÍCIE DA LESÃO

INTERIOR DA LESÃO

**(D) PROTOCOLO DO TEMPO DE FORMAÇÃO DO COÁGULO DE FIBRINA
NO GRUPO I**

ANIMAL N° _____

SUPERFÍCIE DA LESÃO _____ (seg.)

INTERIOR DA LESÃO _____ (seg.)

(E) PROTOCOLO DA ANÁLISE MACROSCÓPICA

GRUPO _____

ANIMAL N° _____

SANGRAMENTO PERSISTENTE: SIM NÃO

PRESENÇA DE COÁGULO: SIM NÃO

COÁGULO ADERIDO À LESÃO ESPLÊNICA: SIM NÃO

VOLUME ESTIMADO DA PERDA SANGUÍNEA: _____ mL

(F) PROTOCOLO DA EUTANÁSIA

DATA: _____/_____/_____

IDENTIFICAÇÃO: ANIMAL N° _____

GRUPO: _____

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 12256: apresentação de originais. Rio de Janeiro: ABNT; 1992.

Colégio Brasileiro De Experimentação Animal (COBEA). Manual para técnicos em bioterismo. São Paulo: Yellow Grafth; 1996.

DeCS: Descritores em Ciências da Saúde [Internet]. São Paulo: Bireme. [citado 2009 Jul 20]. Disponível em: <http://decs.bvs.br/>

International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals: writing and editing for biomedical publication [Internet]. Philadelphia (PA): ICMJE Secretariat office, American College of Physicians; [updated 2008 Oct; cited 2009 may 13]. Available from: <http://www.icmje.org>

Patrias, K. Citing medicine: the NLM style guide for authors, editors, and publishers [Internet]. 2nd ed. Wendling, DL, technical editor. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2007 [updated 2009 Jan 14; cited 2009 may 11]. Available from: <http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine>

Rother ET, Braga MER. Como elaborar sua tese: estrutura e referências. 2a ed. rev. atual. São Paulo; 2005.