Artigo Original

Citar com o título em inglês:
Int. Arch. Otorhinolaryngol. 2013;17(1):62-65.
DOI: 10.7162/S1809-97772013000100011

Comparison of fibrin adhesives prepared by 3 different methods

Adesivo de fibrina – comparação após confecção por três diferentes métodos

Juliana Benthien Cavichiolo[1], Maurício Buschle[2], Bettina Carvalho[3].

1) Médico assistente da Disciplina de Otorrinolaringologia da Faculdade de Medicina da UFPR. Professor Adjunto da Disciplina de Otorrinolaringologia da UFPR. Mestre em Otorrinolaringologia pela UFPR.
2) Médica residente da Disciplina de Otorrinolaringologia da Faculdade de Medicina da UFPR.
3) Médica residente da Disciplina de Otorrinolaringologia da Faculdade de Medicina da UFPR.

Instituição: Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.
Curitiba / PR - Brasil.
Endereço para correspondência: Juliana Benthien Cavichiolo - Rua General Carneiro, 181 - Alto da XV - Curitiba / PR - Brasil - CEP: 80060-900 - E-mail: jucavs@hotmail.com
Artigo recebido em 1º de Maio de 2011. Artigo aprovado em 25 de Outubro de 2012.

Summary

Introduction: Fibrin tissue adhesive, which has applications in several areas of medicine, can be prepared by different methods.
Aim: To compare fibrin tissue adhesives prepared by 3 different methods.
Method: In this prospective experimental laboratory study, fibrin tissue adhesives prepared by the use of plasma fibrinogen (group 1), cryoprecipitation (group 2), and precipitation by ammonium sulfate (group 3) were tested on 15 rabbits and 10 fragments of dura mater. The quality of the clots was assessed in terms of the success of the healing process, local toxicity, graft adhesion capacity, and degree of adhesion of 2 fragments of dura mater produced.
Results: All methods produced a clot with high adhesion and no toxicity, but tensile strength testing revealed that the glue produced from the ammonium sulfate-precipitated clot (group 3) was the strongest, requiring 39 g/cm ^{2} to separate the fragments as opposed to 23 g/cm ^{2} for group 2 and 13 g/cm ^{2} for group 1.
Conclusion: All methods produced good results as far as clot formation and non-toxicity, but ammonium sulfate precipitation produced the best tensile strength and was thus the most effective method of preparing fibrin tissue adhesive.
Keywords: Fibrin; Fibrin Tissue Adhesive; Biological Therapy; Fibrinogen; Plasma.

Resumo

Introdução: O adesivo tecidual de fibrina pode ser obtido através de vários métodos e possui aplicação em diversas áreas da medicina, porém tem seu uso restrito devido ao alto custo.
Objetivos: comparar três diferentes métodos de confecção de adesivo tecidual de fibrina.
Método: Realizou-se prospectivamente, através de uma pesquisa experimental, testes com 15 coelhos e 10 fragmentos de dura-mater, em laboratório, avaliando três técnicas de confecção de adesivo tecidual de fibrina: uso de fibrinogênio do plasma (grupo 1), crioprecipitação (grupo 2) e precipitação pelo sulfato de amônio (grupo 3), quanto a qualidade do coágulo produzido, interferência no processo de cicatrização, toxicidade local, capacidade de adesividade nos enxertos e grau de adesão de dois fragmentos de dura-máter.
Resultados: Todos os métodos produziram um coágulo de grande aderência, não houve toxicidade, e no teste de resistência a tração o quimioprecipitado (grupo 3) necessitou de 39 g/cm^2 para descolar os fragmentos contra 23 g/cm^2 do grupo 2 e 13 g/cm^2 do grupo 1.
Conclusão: Todos os métodos apresentaram bons resultados na formação de coágulo, ausência de toxicidade, mas a quimioprecipitação foi o método mais eficaz na confecção do adesivo tecidual de fibrina, com os melhores resultados no teste de tração.

Introduçao

A busca por técnicas adjuvantes à cirurgia é incessante, e passa por uma evolução não menos importante que a das técnicas cirúrgicas em si. Materiais capazes de potencializar a cicatrização e regular a inflamação são o grande desafio da pesquisa atual.

Dentre os diversos materiais conhecidos está a cola de fibrina. A cola de fibrina já é conhecida e bem documentada para uso em cirurgias, porém tem seu uso limitado devido ao alto custo do material comercial (1).

A fabricação de cola de fibrina através de plasma autólogo visa tornar o adesivo tecidual de fibrina mais popular, e acessível economicamente, com menor risco de contaminação e reação inflamatória.

Com este estudo, procuramos demonstrar três métodos de confecção de cola de fibrina através de plasma autólogo, comparando seus resultados quanto à formação de coágulo, toxicidade e resistência a tração.

Objetivo

Nosso objetivo é demonstrar a confecção do adesivo tecidual de fibrina testando em laboratório as propriedades e características da cola biológica preparada de três modos diversos e comparação dos métodos a fim de popularizar o uso do material, visto que o custo comercial é muito elevado.

Material

Nosso trabalho foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Federal do Paraná, na época sem necessidade de número de identificação.

Para obtenção do fibrinogênio usado na confecção do adesivo (componente I da cola) utilizou-se o sangue obtido de duas fontes: bolsas de sangue do Banco de Sangue, já previamente citratadas a 3,8% ou de pacientes escolhidos aleatoriamente com sangue citratado a 10%. Para confecção do componente I ainda obteve-se comercialmente o citrato de sódio 10%, solução saturada de sulfato de amônia e cloreto de cálcio a 40mol/l. O componente II da cola, trombina, foi adquirida 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 foram utilizados coelhos da raça nova Zelândia e para os testes de comparação de força e aderência fragmentos de dura-máter humana, divididos em 3 grupos de 5 coelhos e cinco testes com 2 fragmentos de dura-máter de cadáveres: grupo1 – centrifugação do plasma, grupo2 – crioprecipitação, grupo3 – precipitação pelo sulfato de amônio.

Método

Obtenção do Fibrinogênio:

A cola foi confeccionada extraindo-se por 3 diferentes métodos o componente I (fibrinogênio) do sangue de banco de sangue. O componente II foi sempre o mesmo, trombina comercial diluída em água destilada, misturada com ácido amino capróico com antifibrinolítico.

Método 1: Plasma – 36ml de sangue já citratado do banco de sangue foram coletados em 4 tubos e centrifugados a 3000 rpm por 3 minutos. O plasma foi retirado por pipetagem e após foi adicionado 1 ml de cloreto de cálcio.

Método 2: Plasma Crioprecipitado – 350 ml de sangue do banco de sangue em bolsa citratada congelada a -18ºC. A bolsa foi descongelada em geladeira a 4ºC e submetida a centrifugação fria a 5000 rpm por 5 minutos. Adicionou-se 1 ml de cloreto de cálcio ao precipitado do fundo da bolsa, sendo esse o componente I.

Método 3: Plasma Quimioprecipitado – 36 ml de sangue do banco de sangue não citratado foram coletados em 4 tubos com 1 ml de citrato 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 1,5 ml foi separado por sifonagem. Adicionou-se 1 ml de cloreto de cálcio ao precipitado, sendo esse o componente I da cola.

Testes:

1. Formação do coágulo: foi mensurado o tempo para formação de um coágulo de grande aderência e a permanência neste estado.
2. Pega do enxerto: foi avaliada a ferida operatória dos coelhos no quesito pega do enxerto em 30 dias, através da formação de tecido de granulação, deslocamento do enxerto e formação da cicatriz.
3. Toxicidade do material: avaliação de sinais inflamatórios e reações alérgicas com manifestações locais e sistêmicas.
4. Resistência a tração: através do teste de tração da duramáter foi avaliada a força necessária para descolar os fragmentos colados com a cola de fibrina, usando como peso a quantidade de água destilada colocada na pipeta Figura 1.

Resultados

Todos os métodos produziram um coágulo de grande aderência, formado em 2 segundos e permanecendo da mesma forma por várias horas. Em relação aos enxertos, os coelhos do grupo 1 não obtiveram pega,

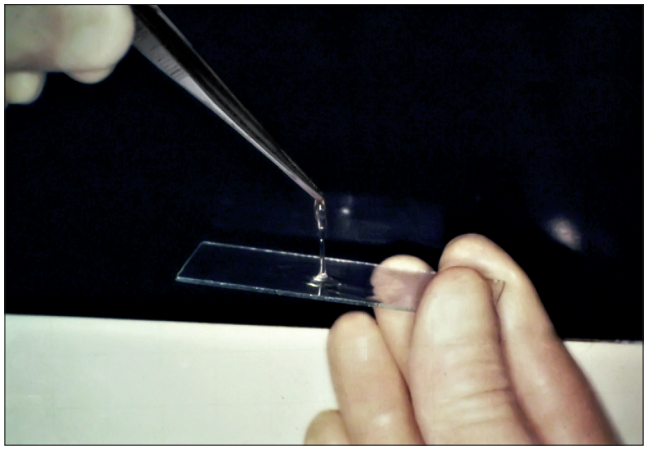

Figura 1. Cola de fibrina.

Figura 2. Pega do enxerto com plasma.

Figura 3. Pega do enxerto com quimioprecipitado.

sendo o enxerto deslocado tão somente pela força da gravidade; no grupo 2 o resultado da pega foi bem sucedido, todos os enxertos deste grupo estavam clinicamente bem em 30 dias; e o resultado do grupo 3 em relação ao enxerto foi similar. A cicatrização das escleras dos coelhos foi boa em todos os grupos e não houve comprovação de toxicidade. Em relação ao teste de tração da dura-máter para o grupo 3 foi necessário 39 g/cm^2 para descolar os fragmentos contra 23 g/cm^2 do grupo 2 e 13 g/cm^2 do grupo 1 (Figuras 2 e 3).

Discussão

Apesar do desenvolvimento das técnicas de hemostasia cirúrgica, ainda continua a procura de agentes hemostáticos eficazes. Entre eles está a cola de fibrina.

O modo de funcionamento das colas de fibrina reproduz as últimas etapas das cascatas enzimáticas da coagulação, nas quais o fibrinogênio é convertido em fibrina na presença de trombina, fator XIII, fibronectina e íons cálcio (1,2).

A cola de fibrina age através da indução local de hemostasia (modulação da resposta inflamatória local) ou adesão mediada pela fibrina dos tecidos entre si (suporte mecânico) (1,2).

O adesivo de fibrinogênio (ou cola de fibrina) comercial ainda tem seu uso restrito em função do alto custo. Serviços vinculados ao SUS e cirurgias que dependem de liberação do convênio têm ainda mais dificuldade para utilização de cola de fibrina (1).

Em nosso trabalho procuramos demonstrar como obter fibrinogênio do sangue para confecção do adesivo de fibrina e comparar os métodos para uso do melhor deles.

O adesivo de fibrina quando comparado com outros adesivos como os de cianoacrilato e gelatina-resorcil-formaldeído tem as vantagens de não provocar reações ou rejeição dos tecidos, estimular o crescimento de fibroblastos e ser totalmente biodegradável.

A precipitação do plasma traz outras proteínas junto ao fibrinogênio, desejáveis como fator XIII e indesejáveis como o plasminogênio. A plasmina, derivada do plasminogênio, é a principal enzima proteolítica ativa para a dissolução do coágulo. Devido a essa tendência de destruição do coágulo, quando usamos a cola, 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.

Outra vantagem do adesivo de fibrina é a baixa tendência a infecção. Isso foi descrito em trabalhos que demonstram que o crescimento de estafilococos é 10 vezes maior no coágulo de sangue do que no coágulo de fibrina e 100 vezes maior que no coágulo de fibrina com fator XIII (3).

O uso do adesivo biológico tem aplicação em diversos procedimentos cirúrgicos: fechamento de dura-máter, hemostasia, cirurgias de ouvido médio e interno, septoplastias, enxerto do nervo facial, fístula liquórica, enxerto de pele e mucosas, estabilização de fraturas, cirurgias plásticas, microcirurgias vasculares, cardíacas, torácicas, urológicas, digestivas, odontológicas. Seu uso é

praticamente ilimitado e as vantagens são várias (4,5,6,7,8).

Estudos demonstram que a precipitação do fibrinogênio pode ser feita por vários métodos. O método da solução saturada de sulfato de amônio produz maiores quantidades de fibrinogênio de maneira não seletiva, trazendo algumas proteínas que são importantes no processo de coagulação (9).

Em nosso trabalho usando três diferentes métodos de produção da cola autóloga de fibrina permitiu-se avaliar que a formação do coágulo é idêntica em todos os casos, porém a enxertia de pele foi mal sucedida quando uso do plasma e igualmente bem sucedida quando uso do plasma crioprecipitado e quimioprecipitado.

Com relação à 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 da dura-máter observou-se o pior resultado com uso do plasma puro, seguido do uso do crioprecipitado. A melhor aderência foi obtida usando quimioprecipitado de plasma.

Apesar da adesividade do método da quimioprecipitação ser inferior a cola comercial nos 10 primeiros minutos, em situações onde os fragmentos não são submetidos a grandes trações este fato não seria relevante após 30 minutos quando então a cola quimioprecipitada apresenta maior adesividade que a comercial, (Siendentop, 1985) (9). Através dos resultados obtidos pode-se dizer que a obtenção de fibrinogênio pelo método da quimioprecipitação do plasma, é o melhor para uso em cirurgias, comparado com os outros dois métodos.

Alguns cirurgiões já se utilizam do sangue do próprio paciente para preparação da cola de fibrina na sala de cirurgia, o que proporciona maior comodidade para o paciente e barateia o custo em relação à cola comercial.

Ainda em relação ao uso de derivados do sangue, quando o sangue é retirado do próprio paciente, há menor risco de contaminação ou infecção em comparação ao uso de sangue de bancos de sangue, minimizando também o risco de reações alérgicas (10).

Vale lembrar que mesmo com o desenvolvimento de colas biológicas ou sintéticas, elas não substituem a técnica cirúrgica correta.

Conclusão

Na utilização da cola de fibrina a formação dos coágulos obtidos pelos métodos de centrifugação normal, crioprecipitação e quimioprecipitação é igual e nenhum método apresentou toxicidade nas escleras dos coelhos, porém a adesividade per - operatória e a cicatrização dos enxertos não foi boa na centrifugação normal. Em relação ao teste de tração da dura-máter o plasma quimioprecipitado obteve os melhores resultados de resistência. Concluímos, portanto, que a quimioprecipitação torna-se o método mais eficaz na confecção do adesivo tecidual de fibrina.

Referência Bibliográfica

1. Dohan S, Choukroun J, Dohan A, Donsimoni JM, Gabrieleff D, Fioretti F, Dohan D, Platelet Rich Fibrin (PRF). Un nouveau biomatériau de cicatrisation. Biotechnologies et fibrine, plaquettes et cytokines, aspects immunitaires, implications thérapeutiques. 1re partie: biotechnologies et fibrine. Implantodontie. 2004;13:87–97.
2. Reiss RF, Oz MC. Autologous Fibrin Glue: Production and Clinical Use. Transfusion Medicine Reviews, Vol X, No 2 (April), 1996, 86-92.
3. Almeida CIR, Nina LG, Mello RP. Cola biológica autógena. Rev Bras Otorrinolaringol. 1991;57:115-8.
4. Bento RF, Miniti. Comparison between fibrin tissue adhesive, epineural suture and natural union in intratemporal facial nerve of cats. Acta Oto-Laryngologica. 1989;465:1-36.
5. Jessen C, Sharma P. Use of fibrin glue in thoracic surgery. The Annals os Thoracic Surgery. 1985;39(6):521-4.
6. Tidrick RT, Seegers WH, Warner ED. Clinical experience with thrombin as na hemostatic agent. Surgery. 1943;14:191-6.
7. Bento RF, Salomone R, Tsuji RK, Housen M, Neto RB. O Uso de Cola de Fibrina Humana na Anastomose de Lesões Traumáticas Parciais do Nervo Facial. Arq. Int. Otorrinolaringol. 2008;12(2):214-219.
8. Sterkers O, Becherel P, Sterkers JM. Reparation du nerf facial par colle de fibrine exclusive 56 cas. Annals Otolaryngolo ic Chirurgical Cervicofacial. 1989;106:176-81.
9. Siedentop KH, Harris DM, Sanchez B. Autologous fibrin tissue. Laryngoscope. 1985, 9:1074-76.