

CÁSSIO LUÍS ZANETTINI RICCETTO

***EMBOLOGIZAÇÃO DA ARTÉRIA RENAL COM GEL DE COLÁGENO:
ESTUDO ANÁTOMO-PATOLÓGICO EM CÃES***

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre em Cirurgia

Orientador: Prof. Dr. Paulo César Rodrigues Palma

Co-orientador: Prof. Dr. Benedicto de Campos Vidal

Campinas

1997

UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	
V.	Ex.
TOMBO BC/	32591
PROC.	395/98
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	16/09/98
N.º CPD	

CM-00104540-5

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

R358e Riccetto, Cássio Luís Zanettini
 Embolização da artéria renal com gel de colágeno : estudo anátomo-
 patológico em cães / Cássio Luís Zanettini Riccetto. Campinas, SP :
 [s.n.], 1997.

Orientadores : Paulo César Rodrigues Palma, Benedicto de Campos
 Vidal

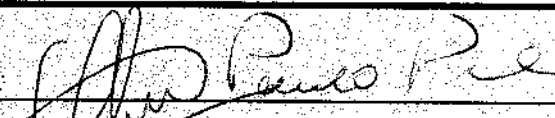
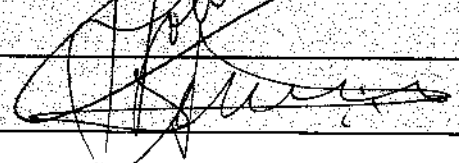
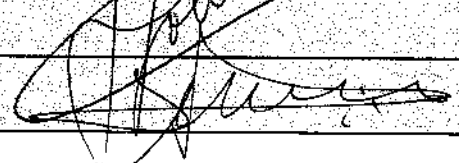
Tese (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
 Ciências Médicas.

1. Angiografia. 2. Rins - Doenças. I. Paulo César Rodrigues
 Palma. II. Benedicto de Campos Vidal. III. Universidade Estadual de
 Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

ORIENTADOR: Prof. Dr. Paulo César Rodrigues Palma

MEMBROS:

- 1- Paulo César Rodrigues Palma: 
- 2- José Goldburg: 
- 3- Fernandes Denardi: 

Curso de Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

DATA: 17 de Setembro de 1997

*A meus pais, Sebastião e Gema,
a quem devo tudo o que sou*

*À Adriana, minha esposa,
pelo amor e dedicação.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Nelson Rodrigues Netto Jr, cujo exemplo na busca da perfeição técnica influenciou decisivamente minha opção pela Urologia, representando um estímulo constante em meu desenvolvimento científico e profissional.

Ao Prof. Dr. Paulo César Rodrigues Palma, principal incentivador de minha permanência na atividade acadêmica.

Ao Prof. Dr. Benedicto de Campos Vidal, pela orientação na concepção do estudo e fornecimento do gel de colágeno, além do inestimável auxílio na análise dos resultados.

Aos demais professores da disciplina de Urologia, pelo estímulo permanente no desenvolvimento de atividades científicas.

Ao acadêmico Gustavo Lourenço Novaski, pelo auxílio durante os procedimentos cirúrgicos e em toda a realização deste estudo.

Aos biólogos Ana Cristina de Moraes, Willian Adalberto Silva e aos funcionários Miguel Luiz Candido e Waldemir Benedito Costa, do Laboratório de Técnica Cirúrgica e do Biotério do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Universidade Estadual de Campinas, pelo inestimável auxílio durante os procedimentos com os animais.

À técnica Gisele C. Ferreira, do Laboratório de Anatomia Patológica Experimental do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Universidade Estadual de Campinas, pelo auxílio na confecção das lâminas para o estudo anátomo-patológico.

Aos estatísticos Cleide Aparecida Moreira Silva, Eliani Guelli e Hélio José de Abreu, do Serviço de Estatística da Comissão de Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Aos funcionários da Comissão de Informática e da Seção de Apoio Didático da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, pelo auxílio na documentação fotográfica, revisão ortográfica, editoração e preparação dos diapositivos.

À sra. Eunice Miranda, pela ajuda valiosa ao longo dos anos.

Aos responsáveis pelo Fundo de Apoio ao Ensino e Pesquisa da Universidade Estadual de Campinas - FAEP, pelo auxílio financeiro na aquisição do material utilizado no estudo anátomo-patológico.

*“Se um cientista idoso, mas respeitável, diz que algo é possível,
quase certamente ele está com a razão;
mas se ele diz que é impossível, é muito provável que esteja errado.”*

Arthur Clarke (1917)

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE ABREVIATURAS	
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	
LISTA DE TABELAS	
RESUMO	<i>i</i>
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Aspectos históricos da embolização de órgãos	2
1.2. Evolução dos agentes embolígenos	3
1.3. O colágeno e a embolização terapêutica	9
1.3.1. Aspectos bioquímicos	9
1.3.2. Evolução dos preparados de colágeno	10
1.4. Justificativa	14
2. OBJETIVOS	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1. Escolha do modelo experimental	18
3.2. Características do preparado de colágeno	18
3.3. Composição dos grupos e cronograma dos procedimentos	19
3.4. Padronização dos procedimentos cirúrgicos	20
3.4.1. Embolização da artéria renal	20
3.4.2. Sacrifício dos animais	25
3.5. Estudo anátomo-patológico	26
3.5.1. Macroscopia	26
3.5.2. Microscopia óptica	27
3.5.3. Microscopia de polarização	28
3.5.4. Estudo da variação do volume renal	28

SUMÁRIO

	Pág.
4. RESULTADOS	30
4.1 Observações realizadas no período pós-operatório	31
4.2. Alterações anátomo-patológicas	31
4.2.1. Macroscopia	31
4.2.2. Microscopia óptica e de polarização	34
4.3. Alterações do volume renal	43
5. DISCUSSÃO	48
5.1. Considerações sobre o mecanismo da embolização com preparados de colágeno	49
5.2. Aspectos específicos da embolização com os preparados de colágeno	50
5.2.1. Colágeno microfibrilar purificado	50
5.2.2. Colágeno microfibrilar estabilizado com glutaraldeído	51
5.3. Considerações sobre os resultados observados com o gel de colágeno purificado	53
6. CONCLUSÃO	58
7. SUMMARY	60
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
9. APÊNDICES	74
1. Cronologia dos procedimentos cirúrgicos	75
2. Drogas utilizadas no estudo	76
3. Equipamentos especiais utilizados no estudo	77
4. Medidas renais	78

Lista de abreviaturas

°C	-	grau Celsius
g	-	grama
KCl	-	Cloreto de potássio
kg	-	quilograma
µm	-	micrômetro
mA	-	miliampere
mEq	-	miliequivalente
mg	-	miligrama
MHz	-	megahertz
ml	-	mililitro
mm	-	milímetro
Mrad	-	milirad
NaCl	-	Cloreto de sódio
<i>s</i>	-	Desvio padrão
UI	-	unidade internacional

Lista de ilustrações

	Pág.
Figura 1. Gerador e transdutor ultra-sônicos empregados no estudo.	22
Figura 2. Aspecto da ultra-sonografia com Doppler intra-operatória da artéria renal, utilizando-se transdutor ultra-sônico protegido por um preservativo estéril.	22
Figura 3. Mensuração intra-operatória do diâmetro longitudinal (A) e ântero-posterior (B).	23
Figura 4. Conjunto utilizado para a embolização, composto por um cateter de venoclise 27 Gauges, conectado a uma seringa de 1 ml.	24
Figura 5. Punção da artéria renal.	24
Figura 6. Aspecto macroscópico do parênquima renal após 21 dias da embolização com gel de colágeno. Acentuada atrofia cortical (à direita) em comparação com o rim controle, de aspecto normal (à esquerda).	33
Figura 7. Secção da artéria renal com êmbolo acidófilo compacto após 2 dias da embolização. As camadas da parede arterial apresentam-se preservadas (hematoxilina e eosina, 10 vezes).	35
Figura 8. Área com glomérulos apresentando sinais iniciais de necrose após 2 dias da embolização, exibindo depósitos hialinos no interior da cápsula de Bowman. Verifica-se, também, necrose tubular associada (hematoxilina e eosina, 64 vezes).	35
Figura 9. (A) Secção da artéria renal após 21 dias da embolização, mostrando a íntima aderência entre o endotélio e o êmbolo. A parede arterial está preservada (hematoxilina e eosina, 10 vezes). (B) Microscopia de polarização demonstrando a natureza birrefringente do colágeno injetado, semelhante às fibras colágenas naturais da parede arterial (hematoxilina e eosina, 12,8 vezes).	37

Lista de ilustrações (continuação)

	Pág.
Figura 10. Detalhe mostrando o processo de organização do êmbolo, com proliferação fibroblástica na periferia do mesmo, sem reação inflamatória significativa ou fagocitose do material. (A) Hematoxilina e eosina, 102 vezes. (B) Mesma área sob microscopia de polarização, 64 vezes.	38
Figura 11. Área evidenciando glomérulo hialinizado, intensa fibrose intersticial e necrose tubular (hematoxilina e eosina, 64 vezes)	39
Figura 12: Área evidenciando depósitos de hemossiderina em meio aos túbulos contornados hialinizados (hematoxilina e eosina, 64 vezes)	40
Figura 13: Área exibindo túbulos com vacuolização e hialinização, além de completa desorganização estrutural. Não se verifica processo inflamatório significativo (hematoxilina e eosina, 64 vezes).	40
Figura 14: (A) Túbulos contornados exibindo destruição estrutural completa, associada à proliferação de fibroblastos intersticiais, após 21 dias da embolização com gel de colágeno (B) Mesma área sob microscopia de polarização, exibindo o caráter birrefringente do colágeno recém-formado (hematoxilina e eosina, 100 vezes).	41
Figura 15: Variação das medianas dos volumes renais pré e pós-embolização com gel de colágeno (C) e infusão de solução de NaCl 0,9 % (S), após 2 dias.	45
Figura 16: Variação das medianas dos volumes renais pré e pós-embolização com gel de colágeno (C) e infusão de solução de NaCl 0,9% (S), após 21 dias.	47

Lista de tabelas

	Pág.
Tabela 1. Grupo 1 - Estatística descritiva dos volumes renais após a embolização com gel de colágeno e infusão de solução de NaCl 0,9 %	43
Tabela 2. Grupo 2 - Estatística descritiva dos volumes renais após a embolização com gel de colágeno e infusão de solução de NaCl 0,9 %	43
Tabela 3: Grupo 1 - Variação do volume renal após 2 dias da embolização com gel de colágeno (em ml)	44
Tabela 4: Grupo 1 - Variação do volume renal após 2 dias da infusão de solução de NaCl 0,9 % (em ml)	44
Tabela 5: Grupo 2 - Variação do volume renal após 21 dias da embolização com gel de colágeno (em ml)	46
Tabela 6: Grupo 2 - Variação do volume renal após 21 dias da infusão de solução de NaCl 0,9 % (em ml)	46

Resumo

Várias propriedades do colágeno justificam seu emprego como agente embolígeno. Trata-se de um material biologicamente compatível, pouco imunogênico e com propriedades hemostáticas. O preparado de colágeno ideal para embolização deve ter características que permitam a obstrução completa e duradoura do lúmen arterial, determinando a necrose isquêmica do tecido embolizado, com reação inflamatória local e resposta imunológica mínimas.

O objetivo deste experimento foi estudar a eficácia e segurança no uso do gel de colágeno bovino purificado na embolização da artéria renal, em cães. Este preparado foi obtido a partir de colágeno do tipo I, extraído de tendões bovinos tratados por meio de técnica de alta purificação, com a finalidade de eliminarem-se as porções imunogênicas e reconstituído através de diálise prolongada, em água destilada. Esta técnica permitiu obter-se um gel com características reológicas (elasticidade e viscosidade), que visavam facilitar sua adesão ao endotélio e o preenchimento vascular completo, além de possibilitar a injeção através de cateteres de fino calibre.

Dezesseis cães de raça indefinida (peso médio de 12,3 kg) foram submetidos à embolização aleatória da artéria renal, direita ou esquerda, com o gel de colágeno purificado. O rim contralateral foi submetido à infusão de solução de NaCl 0,9 %, segundo a mesma técnica cirúrgica, constituindo os controles. Os cães foram divididos em dois grupos e sacrificados após 2 dias (grupo 1) e 21 dias (grupo 2) do procedimento. As vísceras abdominais, pulmões e a musculatura das patas posteriores foram detalhadamente examinados no sacrifício, sendo colhidas amostras para o estudo anátomo-patológico. A variação do volume renal, após a embolização, foi calculada com um paquímetro estéril a partir da medida intra-operatória dos diâmetros longitudinal e ântero-posterior. A análise dos resultados foi realizada através do teste não-paramétrico de Friedman, sendo fixado em 5 % o nível de rejeição da hipótese de nulidade.

No grupo 1, foram verificadas isquemia difusa do parênquima e aderências perirrenais frouxas após a embolização com gel de colágeno, sem alterações volumétricas significativas. O estudo, sob microscopia, mostrou êmbolos amorfos acidófilos e birrefringentes preenchendo o lúmen da artéria renal e prolongando-se até as arteríolas. Os

glomérulos e túbulos contornados apresentavam sinais precoces de necrose difusa. Não foi identificada reação inflamatória significativa, denotando um infarto asséptico.

No grupo 2, houve uma diminuição significativa ($p=0,04$) dos volumes dos rins embolizados com gel de colágeno, acompanhada de aumento compensatório dos volumes dos rins controle contralaterais ($p=0,04$). Microscopicamente, foi verificada reação proliferativa do endotélio em torno dos êmbolos que encontravam-se intimamente aderidos à parede arterial e apresentavam sinais de proliferação fibroblástica em seu interior. O parênquima renal apresentava atrofia e hialinização glomerular difusa, acompanhadas de fibrose intersticial e fibrose tubular extensa com áreas de vacuolização. Um dos cães deste grupo apresentou refluxo, de parte do material injetado, para o rim contralateral durante a embolização, provavelmente em virtude das particularidades anatômicas do animal, que dificultaram tecnicamente o procedimento. Nos demais rins-controle não foram encontradas alterações patológicas.

Em ambos os grupos estudados, as vísceras abdominais, pulmões e a musculatura das patas posteriores de todos os animais não apresentaram sinais de migração do material.

Os resultados permitiram inferir que, o gel de colágeno purificado foi eficaz na embolização da artéria renal, de acordo com os parâmetros anátomo-patológicos analisados no modelo experimental proposto. A ausência de migração de partículas de colágeno para outras vísceras e patas posteriores sugere que este material é seguro para o emprego na embolização de órgãos. Estes resultados podem ser explicados pelas características do preparado utilizado, tornando o gel de colágeno atraente para uso na embolização renal terapêutica.

1. Introdução

1.1. Aspectos históricos da embolização de órgãos

A primeira descrição sobre a embolização da artéria renal foi apresentada por KARSNER & AUSTIN (1911). Com o desenvolvimento técnico da angiografia, na década de cinquenta, vários estudos surgiram com a finalidade de avaliar o emprego da embolização como alternativa terapêutica, particularmente nos casos em que a abordagem cirúrgica convencional implicava em elevada morbidade.

A utilização de métodos radiológicos intervencionistas, com o intuito de promover a embolização da artéria renal, começou a ser estudada por ALEXANDER, HEPTINSTALL, PICKERING (1961). Estes autores demonstraram as alterações anátomo-patológicas, ocorridas após a embolização da artéria renal em coelhos, utilizando diferentes materiais, como o coágulo sanguíneo autólogo, fragmentos de músculo estriado autólogo e tecido adiposo, porém, sem referência a prováveis finalidades terapêuticas.

A seguir, LANG (1967) utilizando microesferas de poliestireno obteve infartos renais artificialmente, com a finalidade de estudar as aplicações diagnósticas da arteriografia.

A embolização da artéria renal, com objetivo terapêutico, foi proposta inicialmente por LALLI, PETERSON, BOOKSTEIN (1969), que demonstraram, experimentalmente em cães, as alterações anátomo-patológicas secundárias à injeção de diferentes agentes embolígenos, como microesferas de poliestireno e secorbitato de sódio. Apesar da embolização eficiente, dos nove animais estudados somente dois mantiveram-se vivos no pós-operatório imediato, com evidências de migração das microesferas à distância, resultando em paraplegia.

ALMGARD & LJUNGQVIST (1971), após estudarem, experimentalmente, a embolização da artéria renal em cães, propuseram o emprego deste método no tratamento paliativo dos carcinomas renais inoperáveis ou metastáticos. O material embolígeno utilizado

consistia em uma suspensão de fragmentos de tecido muscular estriado autólogo imersos em solução salina isotônica.

ALMGARD *et al.* (1973) apresentaram a primeira descrição da aplicação clínica da embolização da artéria renal em nove pacientes portadores de neoplasia renal metastática ou com hematúria incoercível. A embolização era obtida através da administração de uma suspensão de fragmentos do músculo quadríceps do paciente e contraste iodado, sob controle arteriográfico. Apesar dos resultados satisfatórios, observados imediatamente após o procedimento, a maioria dos pacientes apresentou recorrência precoce da hematúria.

1.2. Evolução dos agentes embolígenos

A partir da verificação do potencial terapêutico da embolização renal, vários agentes embolígenos vêm sendo propostos. O agente ideal deve ser eficaz, facilmente disponível e biocompatível e, ainda, poder ser empregado em cateteres de fino calibre. Além disso, deve produzir uma reação inflamatória relativamente benigna, não migrar para outras regiões do organismo e, comprovadamente, não apresentar potencial carcinogênico (STROTHER *et al.*, 1987).

A partir do emprego, com sucesso, do coágulo autólogo na embolização terapêutica gastrointestinal (RÖSCH, DOTTER, BROWN, 1972), vários estudos descreveram o uso deste material na embolização renal terapêutica. O coágulo sangüíneo é um material facilmente disponível, naturalmente estéril, não-imunogênico e totalmente biocompatível. Além disto, sua maleabilidade permite adaptá-lo no interior de cateteres de diferentes calibres (BOOKSTEIN & GOLDSTEIN, 1973). Entretanto, um dos problemas na utilização deste material relaciona-se à tendência de autólise e absorção, demonstrada por BOOKSTEIN *et al.* (1974). Outro inconveniente está associado à possibilidade de fragmentação do coágulo dentro do cateter de angiografia, resultando em embolização ineficiente (RÖSCH *et al.*, 1972). Com a finalidade de aumentar a durabilidade do coágulo, BOOKSTEIN *et al.* (1974) estudaram o emprego de aditivos para alterar suas

características físico-químicas e biológicas. Estes autores concluíram que, a adição de ácido aminocapróico ou de matriz de celulose oxidada determinou um aumento significativo da sobrevida do coágulo. Entretanto, sinais de autólise continuaram a ser observados após 48 horas do procedimento, com recanalização completa até o período máximo de 8 semanas. OSTERMAN *et al.* (1976) demonstraram resultados semelhantes na evolução dos coágulos sanguíneos autólogos utilizados na embolização da artéria renal em porcos, referindo-se especialmente à ausência de reação inflamatória local.

Outro material autólogo, proposto para a embolização renal terapêutica, foi o tecido adiposo subcutâneo, descrito por RIZK, ATALLAH, BRIDI (1973) no tratamento de um paciente portador de fistula arteriovenosa após biópsia renal percutânea. O seguimento arteriográfico após três meses demonstrou a embolização definitiva. Apesar do sucesso obtido, posteriormente não foram desenvolvidos estudos controlados com este material.

O emprego sistemático de materiais sintéticos na embolização renal terapêutica teve início com MOSSO & RAND (1973), que propuseram a utilização de preparados com silicone, baseados nos estudos anátomo-patológicos experimentais em cães, conduzidos por DOPPMAN, ZAPOL, PIERCE (1971) que, por sua vez, demonstraram ausência de reação inflamatória na artéria renal. Com a finalidade de evitar o refluxo, as partículas de silicone eram agregadas quimicamente a microesferas de ferro. A manutenção temporária de um campo magnético, externo ao paciente, gerado por um sistema supercondutor eletromagnético, apreendia as partículas no interior dos vasos sanguíneos do tecido alvo. Contudo, a necessidade da adição de uma substância catalisadora ao silicone, a fim de promover a polimerização *in vivo*, bem como as dificuldades relacionadas ao equipamento necessário para a manutenção do campo eletromagnético externo, impediram a popularização deste método.

TADAVARTHY, MOLLER, AMPLATZ (1975) utilizaram, primeiramente, as partículas de álcool polivinílico como agente embolígeno. Deste então, o uso deste material tornou-se muito difundido. Trata-se de um polímero hidrofílico, que aumenta de volume

rapidamente após contato com a água, mantendo-se comprimido e resistente quando seco, o que permite seu uso em cateteres de fino calibre. Após sua administração, este material comporta-se como uma matriz para o crescimento de tecido conjuntivo, incorporando-se completamente ao organismo após um período mínimo de dez semanas (HAWE & RASTELLI, 1969). Evidências de embolização acidental de outros órgãos, particularmente quando a injeção foi realizada junto da bifurcação vascular, sugeriram o emprego de cateteres com balões oclusivos durante o procedimento, a fim de evitar o refluxo após a expansão local do polímero (KERBER, BANK, HORTON, 1978).

GIANTURCO, ANDERSON, WALLACE (1975) estudaram o uso de espirais metálicas na embolização de diferentes órgãos em cães. As espirais eram dotadas de caudas de lã ou algodão, que tinham por objetivo aumentar a eficácia do procedimento. A aplicação clínica inicial das espirais foi apresentada por WALLACE, GIANTURCO, ANDERSON (1976) em vinte e quatro pacientes, dos quais dezenove eram portadores de carcinomas renais. Todavia, a necessidade do uso de um cateter especial, relativamente mais rígido e menos opaco que os cateteres de polietileno utilizados em angiografia, limitava as manobras para a liberação do dispositivo em vasos tortuosos. WIRTHLIN, GROSS, JAMES (1980) descreveram o risco da utilização das espirais metálicas nas situações em que a embolização renal é manobra neo-adjuvante à nefrectomia. Neste caso, as espirais dispostas de forma muito proximal podem migrar para o interior da aorta quando da dissecação arterial ou ainda, dificultar a ligadura arterial. MAZER, BALTAJE, WOLF (1981) apresentaram outros possíveis problemas relacionados à utilização das espirais na embolização renal, referindo que, espirais de grande diâmetro poderiam permanecer demasiadamente alongadas, determinando um menor efeito oclusivo. Nesta situação, parte da espiral poderia permanecer no interior da aorta, a partir do óstio da artéria renal, constituindo um foco de trombose e embolização recorrente para os membros inferiores ou para o território mesentérico e medular. A permanência da espiral, adaptada inadequadamente, favoreceria o traumatismo recorrente da íntima arterial, podendo resultar em perfuração ou pseudo-aneurismas. Embora seu emprego seja limitado a vasos de grande e médio calibre, o processo

inflamatório intenso, relacionado às espirais, promove uma embolização definitiva, que representa a principal vantagem deste método (WHITE *et al.*, 1979).

Os agentes adesivos teciduais, representados pelo isobutil-2-cianoacrilato e seus derivados, foram os primeiros materiais sintéticos não-particulados utilizados na embolização renal terapêutica (GIULIANI *et al.*, 1977). Estes autores demonstraram a embolização imediata da artéria renal, após a administração do isobutil-2-cianoacrilato em cães e em dois pacientes portadores de neoplasia renal. Apesar das vantagens representadas pela baixa viscosidade e rápida polimerização após contato com o sangue (KELAMI, 1976), o principal problema do isobutil-2-cianoacrilato relaciona-se a sua instabilidade, sendo frequente a obstrução do cateter de angiografia durante o procedimento (DOTTER, GOLDMAN, RÖSCH, 1975). Além disto, a polimerização imediata determina a oclusão arterial instantânea e irreversível, não admitindo erros de má localização do cateter e exigindo a utilização de técnica rigorosa (GOLDIN, 1976). Finalmente, a dose ideal para uma embolização segura é de difícil determinação. DOTTER *et al.* (1975) estudaram cuidadosamente, em cães, os aspectos anátomo-patológicos da embolização com o isobutil-2-cianoacrilato, demonstrando a permanência tardia deste material agregado ao trombo organizado. WHITE Jr. *et al.* (1977) verificaram os riscos potenciais de toxicidade local e sistêmica desta substância, limitando seu emprego na prática clínica.

A possibilidade de lesão tecidual, associada aos contrastes radiológicos, foi sugerida inicialmente por OBREZ & ABRAMS (1972). O emprego da suspensão de bário na embolização renal foi estudada em cães por GOLDIN, NAUDE, HICKMAN (1974a), que demonstraram necrose seguida de fibrose tecidual. Partículas de bário nos linfonodos do hilo renal foram encontradas no exame histológico, porém, a análise de amostras pulmonares não mostrou evidências de migração. Posteriormente, a utilização deste material na prática clínica foi descrita no tratamento de um paciente portador de hipertensão renovascular (GOLDIN, NAUDE, THATCHER, 1974b). Apesar do sucesso obtido, os riscos inerentes à suspensão de bário desestimularam novos estudos.

DOPPMAN, POPOVSKY, GIRTON (1981) verificaram, em cães e macacos, lesões celulares após a infusão endovenosa de contrastes radiológicos iodados hiperosmolares. Nos órgãos capsulados, o edema resultante poderia ocasionar a diminuição temporária do fluxo sanguíneo, intensificando o componente isquêmico da lesão. CRAGG *et al.* (1983) demonstraram experimentalmente a embolização renal com o diatrizoato de meglumina aquecido a 100 °C, aperfeiçoando a técnica anterior descrita por DOPPMAN *et al.* (1981), que empregaram a mesma substância à temperatura ambiente. As vantagens dos contrastes radiológicos relacionam-se ao baixo custo relativo, radiopacidade e pequeno potencial tóxico sistêmico. No entanto, a escolha pelos contrastes implica no uso de um cateter com balão para obstruir a artéria renal no momento da injeção, além de estar relacionada a um índice elevado de recanalização tardia (CRAGG *et al.*, 1983).

DOPPMAN *et al.* (1978) descreveram, em macacos e ovelhas, o emprego de um pré-polímero de poliuretano com capacidade de polimerização *in vivo*, podendo ser injetado através de cateteres angiográficos de fino calibre. O maior inconveniente desta substância decorreu do aumento de volume do material injetado após a polimerização, com risco de ruptura arterial e sangramento. Além disso, a toxicidade tecidual tardia, representada por uma arterite crônica, impediu a realização de estudos clínicos posteriores.

Inicialmente, o desenvolvimento de cateteres com balões para angiografia teve por objetivo facilitar o procedimento, permitindo a melhor distribuição do contraste, particularmente em vasos de fino calibre (SERBINENKO, 1974). Posteriormente, estes cateteres foram utilizados para prevenir o refluxo de agentes embolígenos, como o isobutil-2-cianoacrilato (GIULIANI *et al.*, 1977). A partir dos relatos de WOODSIDE, SCHWARZ, BERGREEN (1976) e GANG, DOLE, ADELMAN (1977), sobre os problemas de segurança e seletividade de outros materiais na embolização terapêutica, WHITE *et al.* (1979) demonstraram, em treze pacientes, a utilidade dos balões de silicone destacáveis neste procedimento. Os argumentos a favor do emprego dos balões incluíam o baixo risco de embolização inadvertida de órgãos vizinhos e a possibilidade de encher e esvaziar o balão até a localização desejada. Quase simultaneamente, KAUFMAN *et al.* (1979)

demonstraram, num modelo experimental, a oclusão arterial permanente em 90 % das artérias embolizadas, apesar do esvaziamento do balão, o qual permanecia imobilizado no interior do trombo organizado no local da oclusão. Contudo, assim como as espirais metálicas, os balões apresentam limitações quando empregados em vasos sanguíneos tortuosos ou de fino calibre.

As primeiras tentativas do emprego clínico do etanol como agente embolígeno foram frustradas devido à segurança limitada do procedimento sob fluoroscopia, decorrente da radiotransparência deste material. ELLMAN (1980) e ELLMAN *et al.* (1984) realizaram tentativas de opacificação do etanol, utilizando contrastes não-iônicos como a metrizamina, que foram pouco difundidas. Da mesma forma, a associação do Lipiodol® e etanol a 50 % originou uma solução radiopaca com elevado poder embolígeno (PARK *et al.*, 1986). A embolização com etanol resulta da sua ação citotóxica intra-arterial, que determina uma vasculite difusa (BUCHTA *et al.*, 1982). Este material também interage com os elementos figurados do sangue na extremidade do cateter de angiografia, produzindo êmbolos microscópicos que causam obstrução capilar (CRAGG *et al.*, 1983). ELLMAN *et al.* (1984) estudaram experimentalmente os aspectos ultra-estruturais da embolização renal com etanol, demonstrando necrose extensa das células endoteliais, acompanhada de degeneração da membrana basal. Recentemente, foi descrita a baixa eficácia da embolização renal com etanol em coelhos implantados com o carcinoma renal experimental VX2 (IMAI *et al.*, 1989). Embora não exista descrição da toxicidade sistêmica pós-embolização com este material, níveis de etanol laboratorialmente mensuráveis foram verificados após o procedimento, implicando na necessidade de monitorização cuidadosa (CRAGG *et al.*, 1983). Estas dificuldades impediram o uso sistemático do etanol na prática clínica.

O sulfato de tetradecil-sódio é um alquil sulfato com potente ação esclerosante. Sua aplicação na embolização renal terapêutica foi proposta por CHO, BRADY, ANVER (1983), que verificaram necrose coagulativa extensa, seguida de fibrose de todas as camadas arteriais após o procedimento em cães. GRIFFIN *et al.* (1986) demonstraram a desnaturação das hemáceas, com a formação de um tampão amorfo que obstruiu o fluxo

sangüíneo capilar, pós-embolização da artéria renal de cães com este material. O emprego do sulfato de tetradecil-sódio implica na obstrução proximal do lúmen arterial com um balão, a fim de prevenir o refluxo e aumentar o tempo de contato da substância com a parede arterial. Mesmo após esta manobra, uma segunda sessão pode ser necessária para se alcançar o efeito desejado. Outros problemas relacionados ao emprego do sulfato de tetradecil-sódio são o risco de embolização periférica inadvertida e reação anafilática (CHO *et al.*, 1983).

1.3. O colágeno e a embolização terapêutica

1.3.1. Aspectos bioquímicos

O colágeno é a principal proteína estrutural da matriz extracelular dos animais, representando uma alternativa atraente de implante biológico (KNAPP, LUCK, DANIELS, 1977).

Sob a microscopia óptica, a porção colagênica da matriz extracelular é formada por numerosos feixes de filamentos, denominados fibrilas. As fibrilas de colágeno são constituídas por moléculas de tropocolágeno, agregadas segundo um arranjo supramolecular helicoidal característico (HAY, 1981).

As moléculas de tropocolágeno são constituídas por três cadeias polipeptídicas, entre as quais ocorrem ligações cruzadas intermoleculares de natureza covalente, responsáveis pela estabilidade bioquímica da molécula (BORNSTEIN & PIEZ, 1966). Diferenças entre as cadeias polipeptídicas caracterizam pelo menos cinco moléculas de colágeno identificadas, que são classificadas de I a V, de acordo com as cadeias que as compõem (HAY, 1981). As ligações intermoleculares concentram-se nas extremidades não-helicoidais das moléculas de tropocolágeno, também denominadas, de acordo com sua composição bioquímica, de regiões telopeptídicas ou porções carboxi e amino terminais (TAKEDA *et al.*, 1983).

Nas diferentes espécies de mamíferos ocorreram, durante a evolução, algumas variações na quantidade e na sequência dos aminoácidos da cadeia polipeptídica do colágeno. No entanto, a composição essencial e o arranjo supramolecular característicos desta proteína fibrosa foram preservados, contribuindo para o baixo potencial imunogênico e permitindo sua utilização como xenoenxerto (CHVAPIL, KRONENTHAL, VAN WINKLE, 1973).

Os primeiros estudos sobre a antigenicidade do colágeno foram conduzidos por DAVISON *et al.* (1967). Os principais determinantes antigênicos tipo-específicos e espécie-específicos do colágeno localizam-se nas porções telopeptídicas amino terminal e carboxi terminal da proteína, em especial na cadeia alfa 2 (DAVISON *et al.*, 1967; SENYK & MICHAELI, 1973). A remoção seletiva destas regiões através da solubilização em pepsina, apesar de reduzir o potencial antigênico de forma significativa, resulta na diminuição da estabilidade molecular, uma vez que as ligações intermoleculares naturais concentram-se nestas regiões (KNAPP *et al.*, 1977). Assim, a introdução artificial de ligações intermoleculares tem a finalidade de prolongar a sobrevivência do enxerto, diminuindo a resposta imune celular do hospedeiro (CHVAPIL *et al.*, 1973). O glutaraldeído representa, até o momento, a substância mais utilizada com esta finalidade (STROTHER *et al.*, 1987; DANIELS, KERLAN, DODDS, 1987; DAWSON *et al.*, 1995).

1.3.2. Evolução dos preparados de colágeno

As partículas de “gelfoam” representaram a primeira tentativa de emprego do colágeno na embolização renal terapêutica. Este material foi descrito inicialmente por LIGHT & PRENTICE (1945), tornando-se difundido como agente hemostático local (BATISTA, ERDI, FERRARO, 1967). HLAVA, STEINHART, NAVRATIL (1976) verificaram a obstrução temporária do fluxo arterial, promovida pelo “gelfoam”, na embolização de neoplasias renais. A seguir, BARTH, STRANDBERG, WHITE (1977) demonstraram, em porcos, semelhanças radiológicas e anátomo-patológicas na embolização renal com “gelfoam” quando comparado à celulose oxidada e ao coágulo sanguíneo

autólogo, evidenciando a característica temporária da oclusão arterial promovida por estes agentes.

Embora inadequados para a embolização renal definitiva, materiais com meia vida curta, como o “gelfoam”, podem ser úteis quando é necessária a preservação do parênquima, como nos traumatismos renais, em que a embolização temporária pode ser suficiente para a interrupção definitiva do sangramento retroperitoneal ou da hematúria (McLEAN & MERANZE, 1986). No entanto, apesar da segurança atribuída a este material, foi descrita a embolização inadvertida do tronco celiaco, da artéria mesentérica superior (MUKAMEL, HADAR, NISSENKORN, 1979) e, ainda, gangrena do membro inferior (PETER, JEFFERY, PASTER, 1977), sugerindo a utilização de cateteres com balões para evitar o refluxo para a aorta. A intensa fragmentação e compressão da molécula de colágeno, resultantes do processo de obtenção do “gelfoam”, o tornam virtualmente não-imunogênico, porém provocam a diminuição da sua biocompatibilidade, favorecendo sua rápida absorção pelo organismo (ROBINSON *et al.*, 1990).

O uso de um preparado de colágeno microfibrilar purificado, específico para a embolização de órgãos, foi descrito primeiramente por KAUFMAN *et al.* (1978), que empregaram este material na embolização de artérias gastroepiplóicas e renais em cães. Assim como o “gelfoam”, tratava-se de um preparado de colágeno bovino desnaturado, apresentado na forma de uma suspensão aquosa de partículas de coloração esbranquiçada e denominado comercialmente de Avitene®. O estudo histológico mostrou partículas de colágeno no interior de pequenos vasos, incluindo capilares glomerulares. Após duas semanas, as partículas encontravam-se parcialmente fagocitadas por macrófagos e por células gigantes, resultando em absorção completa depois de três meses. Também foram verificadas, em todos animais, áreas de arterite granulomatosa intensa com infiltrado inflamatório crônico no espaço perivascular.

Posteriormente, o emprego clínico deste material foi estudado por DIAMOND *et al.* (1979) na embolização de carcinomas renais e vesicais. O estudo anátomo-patológico

das peças cirúrgicas demonstrou a progressão do colágeno até as arteríolas aferentes, sem evidências do material no interior dos glomérulos ou veias renais.

Mais recentemente, NAKAO *et al.* (1991) estudaram a eficácia e segurança da embolização hepática com o Avitene®, verificando o descolamento da camada íntima, edema da túnica média e infiltrado inflamatório crônico persistente quatro semanas após o procedimento. Contrariando estes achados, SCHWEITZER *et al.* (1993) descreveram os resultados de um estudo clínico no qual malformações arteriovenosas cerebrais foram submetidas à embolização terapêutica com o Avitene®. Os autores observaram resposta tecidual discreta, com processo de regeneração endotelial e recanalização relativamente precoces.

Apesar da vantagem relacionada à possibilidade do uso do Avitene® em cateteres coaxiais de pequeno calibre, o que permite seu emprego em procedimentos de embolização superseletiva, e da ausência de evidências experimentais (KAUFMAN *et al.*, 1978; NAKAO *et al.*, 1991) ou clínicas (DIAMOND *et al.*, 1979; SCHWEITZER *et al.*, 1993) de embolia pulmonar após o procedimento, o risco potencial de complicações isquêmicas, associadas ao refluxo para a aorta, sugere o uso de balões para o controle do procedimento (TURJMAN *et al.*, 1995).

STROTHER *et al.* (1987) descreveram primeiramente a utilização de um preparado experimental à base de colágeno tratado com glutaraldeído, na embolização de órgãos, em cães. Os animais foram estudados por dois meses, sem absorção significativa do material neste período. Os autores observaram a formação de um depósito amorfo preenchendo o lúmen vascular das arteríolas, acompanhada de tumefação temporária das células endoteliais vizinhas. Em virtude da análise tardia não mostrar nenhuma forma de resposta celular no interior do enxerto, na parede vascular ou no tecido extravascular adjacente, concluíram que a obstrução arterial por este agente era de natureza exclusivamente mecânica. Os mesmos autores também estudaram os efeitos desta substância quando injetada diretamente na artéria pulmonar, verificando que os ocasionais efeitos eram

dependentes exclusivamente de uma obstrução mecânica, sem lesões citotóxicas locais decorrentes da presença do colágeno.

DANIELS *et al.* (1987) estudaram outro preparado à base de colágeno microfibrilar estabilizado com glutaraldeído extraído da derme bovina, denominado comercialmente de Angistat®, na embolização hepática em cães. Foi observada isquemia transitória decorrente da embolização arteriolar, seguida de proliferação endotelial e recanalização precoce após três dias, com remoção completa de todo o colágeno e reconstituição da anatomia normal, após dois meses. Posteriormente, QUINN *et al.* (1988), descreveram a embolização inadvertida da vascularização de nervos periféricos, após a utilização do Angistat® como agente transportador de quimioterápicos no tratamento de carcinoma de colo uterino localmente avançado. Apesar disto, STERNLICHT *et al.* (1989) com o intuito de estudarem a biodistribuição de quimioterápicos infundidos em rins de coelhos, verificaram a superioridade do Angistat® em relação ao “gelfoam”. O estudo histológico demonstrou a presença de colágeno em vasos de 10 µm até 1 mm, observando-se recanalização em 94 % dos vasos embolizados, com mínima reação inflamatória perivascular, após duas semanas.

No sentido de aperfeiçoar o emprego dos derivados do colágeno na embolização de órgãos, passaram a ser desenvolvidos materiais específicos. DAWSON *et al.* (1995) descreveram, em porcos, a utilização de espirais revestidas de colágeno estabilizado com glutaraldeído, a fim de aumentar o potencial embolígeno. Arteriografias seriadas e o estudo anátomo-patológico realizado após 12 semanas mostraram que, foi possível criar uma cicatriz intravascular estável e uma barreira endotelial superior à do trombo sanguíneo natural.

TURJMAN *et al.* (1995) relataram o emprego experimental de microesferas de colágeno purificado como agente embolígeno. As microesferas foram produzidas a partir de colágeno extraído de placentas humanas e esterilizadas com raios gama. O estudo histológico demonstrou as microesferas na forma de conglomerados basofílicos

homogêneos, identificáveis até cinco semanas após o procedimento. Um infiltrado inflamatório crônico foi identificado, ocupando a adventícia dos vasos embolizados, contendo macrófagos e células gigantes. Nenhuma área de necrose da parede arterial foi verificada.

Mais recentemente, INO, KISHIRO, ITO (1996) relataram a utilização experimental de uma espiral de colágeno, porém, sem a apresentação de resultados conclusivos.

1.4. Justificativa

Várias propriedades inerentes ao colágeno justificam seu emprego como agente embolígeno. Trata-se de um material biologicamente compatível, pouco imunogênico e com propriedades hemostáticas, agindo especialmente sobre a agregação das plaquetas (TURJMAN *et al.*, 1995). No entanto, os estudos realizados até o momento apresentaram casuísticas modestas ou são baseados em informações experimentais, algumas vezes com resultados contraditórios. Além disto, diferenças nos processos bioquímicos, empregados na obtenção do colágeno, resultam em moléculas com propriedades diferentes. Desta forma, apesar do potencial desta substância, novos estudos experimentais e protocolos prospectivos e randômicos são necessários para estabelecer a sua possível aplicabilidade clínica.

2. Objetivos

1. Estudar a eficácia da embolização renal experimental em cães, empregando-se um gel de colágeno bovino purificado com propriedades reológicas conhecidas.
2. Avaliar a segurança do mesmo gel em relação à migração de partículas de colágeno à distância.

3. Material e Métodos

3.1. Escolha do modelo experimental

A escolha de cães para a realização deste estudo teve por objetivos:

- Facilitar os procedimentos cirúrgicos, considerando-se a dimensão da artéria renal em cães.
- Permitir o controle do procedimento, através do estudo do fluxo arterial com a ultrasonografia com Doppler intra-operatória, considerando-se a dimensão da artéria renal em cães.
- Permitir a observação dos animais por período de até 21 dias, em virtude de sua capacidade de resistência à agressão cirúrgica.

3.2. Características do preparado de colágeno

O colágeno utilizado neste estudo foi produzido no Laboratório de Biologia dos Colágenos I e II e Morfometria do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, pelo Prof. Dr. Benedicto de Campos Vidal, de acordo com técnica descrita anteriormente (VIDAL, 1995).

O preparado era composto de colágeno do tipo I obtido de tendões bovinos, constituído por duas cadeias alfa-1 e uma cadeia alfa-2, tratado através de técnica de alta purificação com a finalidade de eliminarem-se as porções imunogênicas telopeptídicas.

O processo de solubilização do preparado de colágeno consistia na refrigeração por período de 24 horas, dos tendões dissecados imersos em solução aquosa, contendo 0,01% de ácido clorídrico e 1 mg de pepsina por grama de tecido. O colágeno obtido era então reconstituído pela adição de solução de NaCl 0,9 % até a concentração final de 5 %. A seguir, esta solução era estabilizada através de diálise prolongada em água destilada, por período de cinco a sete dias.

O objetivo deste procedimento foi obter um gel de colágeno com características reológicas, que visavam facilitar sua adesão ao endotélio e o preenchimento vascular completo, além de permitirem a injeção através de cateteres de fino calibre.

A esterilização do colágeno foi realizada através do método de irradiação com raios gama na dose de 2,5 Mrads, com o objetivo de preservar a estabilidade estrutural das moléculas (CHVAPIL *et al.*, 1973).

3.3. Composição dos grupos e cronograma dos procedimentos

Foram utilizados 16 cães de raça indefinida com peso variando entre 5,5 kg e 21 kg (peso médio de 12,3 kg).

Os animais permaneceram em quarentena assim que foram recebidos, tendo todos os cuidados necessários no Biotério Central da Universidade Estadual de Campinas. Em seguida, foram transferidos ao Biotério do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Universidade Estadual de Campinas, onde foram mantidos durante a realização do experimento (APÊNDICE 1). Os animais foram divididos em dois grupos iguais, de maneira aleatória, e submetidos aos seguintes procedimentos:

- **Grupo 1:** Constituído por 8 cães submetidos à embolização aleatória da artéria renal, direita ou esquerda, permanecendo sob observação por 2 dias, sendo, então, sacrificados. Os procedimentos foram realizados de acordo com as técnicas padronizadas descritas a seguir.
- **Grupo 2:** Constituído por 8 cães submetidos à embolização aleatória da artéria renal, direita ou esquerda, permanecendo sob observação por 21 dias, sendo, então, sacrificados. Os procedimentos foram realizados de acordo com as técnicas padronizadas descritas a seguir.

3.4. Padronização dos procedimentos cirúrgicos

3.4.1. Embolização da artéria renal

- a) Pesagem e identificação do animal, seguidas de indução anestésica através da injeção intramuscular de solução contendo citrato de fentanil (0,0785 mg) e droperidol (2,5 mg). A anestesia foi mantida com infusão intravenosa de solução de thiopental sódico na dose de 25 mg/kg de peso, com os animais sob intubação endotraqueal e ventilação mecânica, com fração inspiratória de oxigênio igual a 0,3 e com frequência respiratória de 20 inspirações por minuto (APÊNDICE 2).
- b) Imobilização do animal em decúbito dorsal com abdução dos quatro membros, proporcionando exposição ideal do abdome.
- c) Tricotomia do abdome e antissepsia cutânea, utilizando-se solução alcoólica de polivinil pirrolidona-iodo a 10 %, seguidas de colocação de campos estéreis delimitando a região supra-umbilical.
- d) Laparotomia mediana supra-umbilical por planos, com retração da parede abdominal utilizando-se um afastador de Gosset pediátrico.
- e) Mobilização e proteção das vísceras intraperitoneais com compressas umedecidas, de maneira a permitir a exposição da fáscia perirrenal do lado a ser submetido à embolização da artéria renal, previamente definido através de sorteio.
- f) Incisão da fáscia perirrenal seguida de dissecação cuidadosa da face convexa do rim e do pedículo renal, com identificação da veia renal e reparo da artéria renal, empregando-se uma fita cardíaca, logo após a sua emergência da aorta abdominal.

- g) Verificação do fluxo na artéria renal através da ultra-sonografia com Doppler intra-operatória (figura 1). Para tanto foi utilizado um transdutor ultra-sônico de 10 Mhz (APÊNDICE 3), protegido por um preservativo estéril e conectado a um gerador de ultra-som (figura 2).
- h) Medida dos diâmetros renais: longitudinal e ântero-posterior com um paquímetro estéril (figura 3).
- i) Punção única da artéria renal com um cateter de venóclise 27 Gauges (figura 4), seguida de injeção do gel de colágeno (figura 5) até o desaparecimento do fluxo sangüíneo, verificado através da ultra-sonografia com Doppler intra-operatória.
- j) Restituição do rim à fossa renal e sutura da fâscia perirrenal.
- k) Exposição do rim contralateral de acordo com o procedimento já referido, com injeção de solução fisiológica de NaCl 0,9 %, no volume correspondente à quantidade de gel de colágeno utilizado no rim contralateral e verificação do fluxo sangüíneo na artéria renal, através da ultra-sonografia com Doppler, da forma já descrita.
- l) Sutura do peritônio parietal, planos musculares e aponeurose do reto abdominal com sutura contínua de polipropilpropileno 4.0. Sutura da pele com pontos simples de polipropilpropileno 4.0 e curativo local com polivinil pirrolidona-iodo a 10 %.
- m) Profilaxia antibiótica com solução de penicilina G benzatina (600.000 UT), penicilina G procaína (300.000 UT), penicilina G potássica (300.000 UT), sulfato de dihidroestreptomicina base (250 mg) e sulfato de estreptomicina base (250 mg), administrada em 2 doses intramusculares, sendo uma no período pós-operatório imediato e a outra após 12 horas do seu término (APÊNDICE 2).

n) Espera até o despertar do animal e transferência para a gaiola de recuperação anestésica. A analgesia pós-operatória, quando necessária, foi realizada com solução de dipirona intramuscular, na dose de 15 mg/kg por dose.

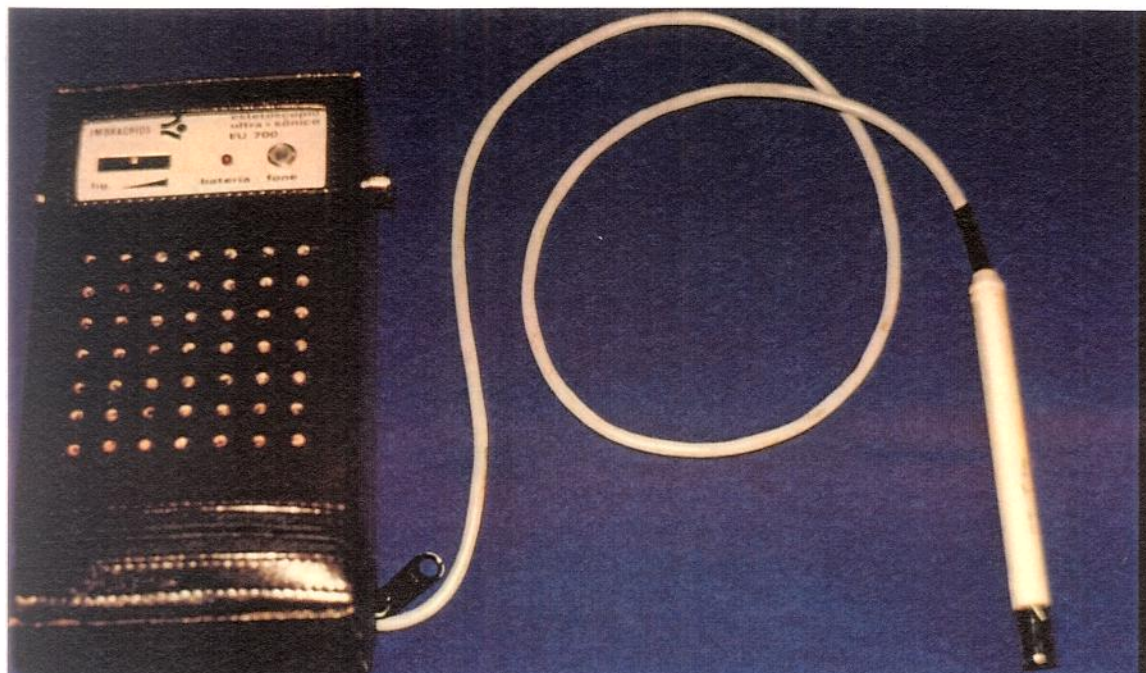


Figura 1. Gerador e transdutor ultra-sônico empregados no estudo.



Figura 2. Aspecto da ultra-sonografia com Doppler intra-operatória da artéria renal, utilizando-se o transdutor ultra-sônico protegido por um preservativo estéril.

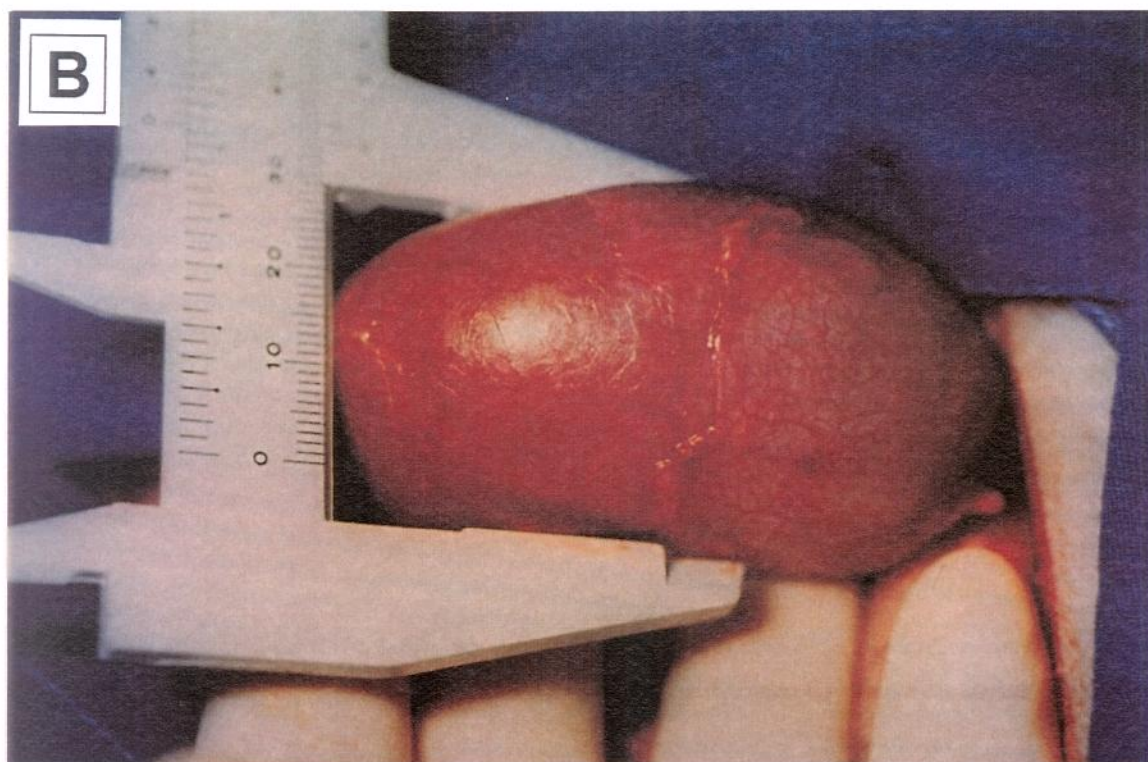


Figura 3. Mensuração intra-operatória do diâmetro longitudinal (A) e ântero-posterior (B).

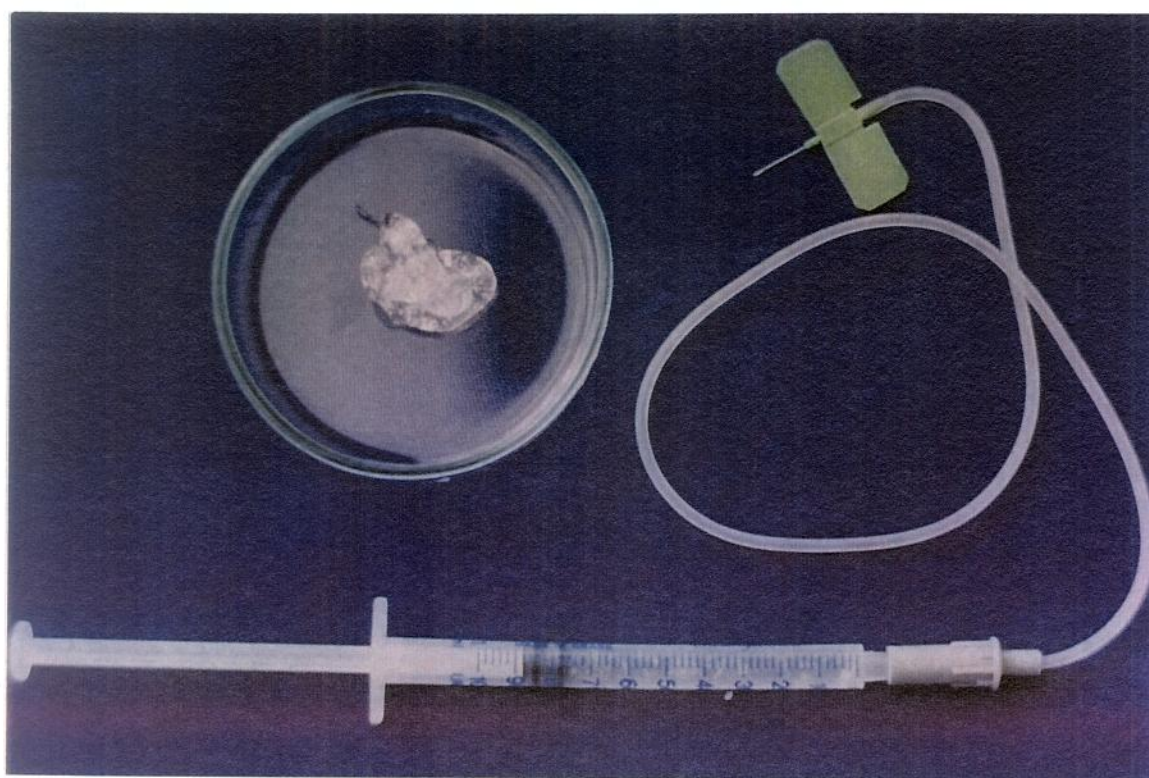


Figura 4. Conjunto utilizado para a embolização, composto por um cateter de venóclise 27 Gauges, conectado a uma seringa de 1 ml.

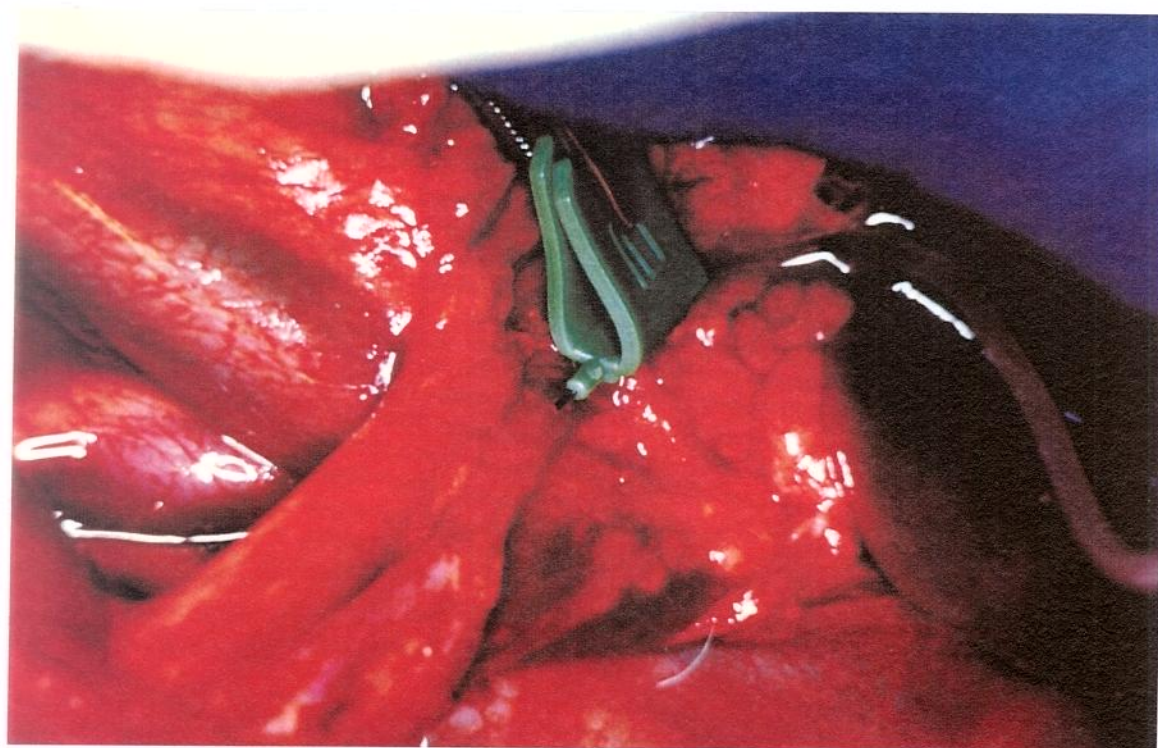


Figura 5. Punção da artéria renal.

3.4.2. Sacrifício dos animais

- a) Pesagem e identificação do animal, seguidas de indução anestésica através da injeção intramuscular de solução contendo citrato de fentanil (0,0785 mg) e droperidol (2,5 mg). A anestesia foi mantida com infusão intravenosa de solução de thiopental sódico na dose de 25 mg/kg de peso, com os animais sob intubação endotraqueal e ventilação mecânica, com fração inspiratória de oxigênio igual a 0,3 e com frequência respiratória de 20 inspirações por minuto (APÊNDICE 2).
- b) Imobilização do animal em decúbito dorsal com abdução dos quatro membros, proporcionando exposição ideal do abdome.
- c) Tricotomia do abdome, seguida de antisepsia cutânea, utilizando-se solução alcoólica de polivinil pirrolidona-iodo a 10 %.
- d) Colocação de campos estéreis delimitando a região supra-umbilical.
- e) Laparotomia mediana supra-umbilical por planos com retração da parede abdominal, utilizando-se um afastador de Gosset pediátrico.
- f) Mobilização das vísceras abdominais com exposição dos rins e medida dos diâmetros renais longitudinal e ântero-posterior, empregando-se um paquímetro estéril, bilateralmente.
- g) Identificação bilateral do pedículo renal e verificação do fluxo na artéria renal através da ultra-sonografia com Doppler intra-operatória, de acordo com a forma descrita anteriormente.

- h) Dissecção e ligadura da aorta e veia cava, acima e abaixo da emergência das artérias renais, com exérese imediata dos rins, incluindo seguimento da aorta abdominal e veia cava inferior, em bloco.
- i) Infusão intravenosa em bolo de 25 mEq de solução de KCl 19,1 % até a ocorrência de parada cardiorrespiratória.
- j) Exame cuidadoso das vísceras abdominais, em especial de todo o intestino delgado e cólons, a fim de verificar a presença de áreas de infarto.
- k) Exérese do fígado e pulmão para estudo anátomo-patológico.
- l) Dissecção e exame macroscópico da musculatura da região distal das patas posteriores com exérese das áreas suspeitas, eventualmente presentes, para estudo anátomo-patológico.

3.5. Estudo anátomo-patológico

3.5.1. Macroscopia

Teve por finalidade verificar a presença de áreas de necrose isquêmica, fibrose e cicatrizes renais. Para tanto, foram padronizados os seguintes procedimentos:

- a) Incisão longitudinal da aorta para inspeção dos óstios das artérias renais.
- b) Secções transversais seriadas das artérias renais para verificação da presença de trombos.
- c) Dissecção cuidadosa dos rins com observação de áreas de infarto na superfície renal.

- d) Incisão longitudinal do parênquima renal para observação de áreas de infarto.
- e) Exame macroscópico da superfície externa do fígado e pulmões e da superfície de corte destes órgãos após secções seriadas dos mesmos. As áreas consideradas suspeitas foram selecionadas para estudo complementar sob microscopia óptica. Na ausência de áreas suspeitas, fragmentos da superfície destes órgãos escolhidos aleatoriamente, foram selecionados para estudo anátomo-patológico.
- f) Fixação das peças cirúrgicas através da imersão imediata em solução de formalina a 10 % por um período de 12 horas.

3.5.2. Microscopia óptica

Foram realizadas secções transversas seriadas de 10 mm dos rins fixados envolvendo a córtex e medula renal, incluindo-se o pólo superior, corpo e o pólo inferior. Os fragmentos foram progressivamente desidratados com soluções de etanol em concentrações crescentes (70 % até 100 %), e a seguir imersos em solução de xilol e incluídos em parafina. Após esta etapa, foram confeccionadas lâminas com 5 µm de espessura, coradas com hematoxilina e eosina. As amostras das outras vísceras foram confeccionadas da mesma maneira, sendo padronizadas, para cada animal, 6 amostras de tecido hepático e 6 de tecido pulmonar. Fragmentos de outras vísceras somente foram examinados na evidência de áreas suspeitas.

A análise microscópica teve por objetivo avaliar os seguintes parâmetros: exsudato inflamatório e reação local ao colágeno injetado; presença de trombos e alterações no endotélio arterial; áreas de necrose, incluindo hialinização glomerular e tubular e áreas de fibrose cicatricial.

3.5.3. Microscopia de polarização

As lâminas foram examinadas de forma complementar através de microscopia de polarização. A escolha desta técnica teve por finalidade identificar o gel de colágeno, que exibe a propriedade da birrefringência de forma ou textural quando examinado desta maneira. A birrefringência é o fenômeno óptico exibido por compostos e tecidos biológicos que apresentam dois índices de refração distintos. Esta diferença determina um brilho característico das estruturas durante o exame (VIDAL, 1987).

3.5.4. Estudo da variação do volume renal

A variação do volume renal após a embolização foi estudada através da medida intra-operatória dos diâmetros longitudinal e ântero-posterior (APÊNDICE 4). As medidas foram efetuadas com um paquímetro estéril após a exposição e mobilização do rim. Para o cálculo do volume renal foi utilizada a fórmula do volume de um elipsóide (BROWN, 1989):

$$\text{Volume} = \frac{(L \cdot W^2)}{2}$$

Onde: **L** = Diâmetro longitudinal
 W = Diâmetro ântero-posterior

No estudo comparativo dos grupos, foi elaborada inicialmente a estatística descritiva das variáveis, representadas pelos volumes renais calculados antes e após a realização do procedimento nos dois grupos. A seguir, foram efetuadas comparações entre os volumes iniciais dos rins direito e esquerdo do mesmo animal, a fim de determinar se cada cão poderia constituir uma unidade experimental. Finalmente, foram realizadas comparações para estudar as diferenças entre as variáveis de interesse (volumes), após a embolização, nos dois grupos. As comparações foram efetuadas através do teste não-paramétrico de Friedman para amostras relacionadas (CONOVER, 1971).

A hipótese de nulidade considerou que, as duas amostras seriam provenientes de populações com a mesma estatística de localização, que no presente experimento indicaria a ausência de diferença entre os volumes renais comparados. Em todos os testes, nível de rejeição da hipótese de nulidade foi fixado em 0,05 ou 5 % (alfa menor ou igual 0,05).

4. Resultados

4.1. Observações realizadas no período pós-operatório

Durante o período de observação os animais apresentaram dor de intensidade variável, representada por diminuição da atividade motora e inapetência, sobretudo no primeiro e segundo pós-operatório, com boa resposta à medicação analgésica. Não foram verificados sinais sugestivos de comprometimento sistêmico, moderado ou grave, ou complicações relacionadas especificamente ao procedimento realizado.

4.2. Alterações anátomo-patológicas

4.2.1. Macroscopia

- **Grupo 1**

Nas artérias renais, submetidas à embolização com gel de colágeno, foram encontrados depósitos amorfos, de coloração esbranquiçada, preenchendo todo o lúmen arterial. Estes depósitos prolongavam-se através do hilo renal em direção ao parênquima, acompanhando os ramos interlobares. Foram observados trombos sanguíneos de extensão variável, a montante destes depósitos, prolongando-se, em dois animais, até ao óstio da artéria renal. Aderências perivasculares frouxas também foram encontradas nas artérias renais embolizadas. Não foram verificadas áreas macroscópicas de necrose na parede arterial.

As artérias renais contralaterais, submetidas à infusão de solução de NaCl 0,9 %, apresentaram-se pervias em todos os animais, sendo observados apenas pequenos coágulos no local da punção arterial e discretas aderências perivasculares.

Nos rins embolizados com gel de colágeno foram encontradas aderências frouxas aos tecidos vizinhos, facilmente desfeitas através de dissecação romba, sem áreas macroscópicas de necrose ou exsudato purulento. A superfície externa e as secções dos

rins embolizados mostraram áreas esbranquiçadas em todo o parênquima, denotando isquemia tecidual.

Neste grupo, os rins contralaterais, submetidos à infusão de solução de NaCl 0,9 %, apresentaram-se com aspecto normal e com aderências perirrenais frouxas, resultantes da dissecação realizada para a mensuração dos diâmetros renais.

As vísceras examinadas apresentaram-se macroscopicamente normais, com exceção do pulmão esquerdo do cão 2, no qual foi verificada área hiperêmica, sugestiva de processo inflamatório. Não foram encontradas, em nenhum animal, áreas suspeitas de embolia durante a dissecação da musculatura distal das patas posteriores.

- **Grupo 2**

Em todos os animais deste grupo, as secções transversais das artérias renais, submetidas à embolização com gel de colágeno, mostraram oclusão completa do lúmen vascular sem evidências macroscópicas de recanalização. Como no grupo anterior, não foram identificadas áreas de necrose macroscópica na parede arterial. As artérias renais contralaterais, submetidas à infusão de solução de NaCl 0,9 %, apresentaram-se normais.

A maioria dos animais submetidos à embolização com gel de colágeno apresentou diminuição acentuada do volume e aumento da consistência do parênquima renal (figura 6). Foram observados espessamento da cápsula renal e aderências às estruturas vizinhas. Em todos os animais, as secções dos rins embolizados demonstraram intensa atrofia da camada cortical. Não foram observados exsudato purulento, áreas de necrose liquefativa ou abscessos, a exemplo do grupo 1.

Os rins contralaterais submetidos à infusão de solução de NaCl 0,9 % apresentaram-se, na sua maioria, aumentados de volume, com superfície de aspecto

regular e com aderências frouxas aos tecidos vizinhos, decorrentes da dissecação realizada no procedimento anterior (figura 6).

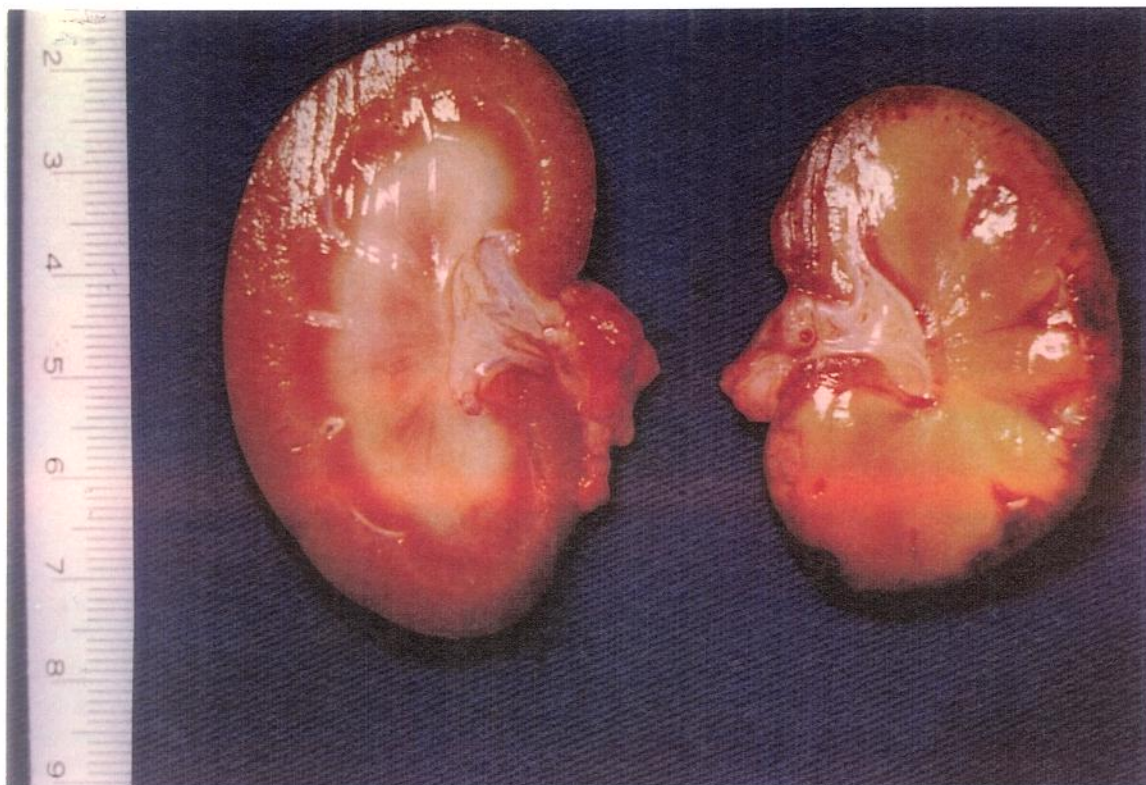


Figura 6. Aspecto macroscópico do parênquima renal após 21 dias da embolização com gel de colágeno. Acentuada atrofia cortical (à direita) em comparação com o rim controle, de aspecto normal (à esquerda).

Neste grupo, o exame macroscópico do fígado, baço, intestinos e pulmões não mostrou áreas suspeitas de infarto inadvertido. Também não foram encontradas, em nenhum animal, áreas isquêmicas durante a dissecação da musculatura das patas posteriores.

4.2.2. Microscopia óptica e de polarização

- **Grupo 1**

Nos cães submetidos à embolização com gel de colágeno sacrificados após 2 dias do procedimento, foram verificados depósitos amorfos acidófilos preenchendo o lúmen da artéria renal e prolongando-se até as arteríolas. A superfície endotelial e as demais camadas da parede arterial, incluindo-se a lâmina elástica interna, túnica média, lâmina elástica externa e camada adventícia, permaneceram íntegras. Não foi encontrada nenhuma forma de reação inflamatória perivascular (figura 7). Foram verificadas numerosas hemáceas e plaquetas na superfície externa do êmbolo, que encontrava-se intimamente aderido à parede arterial. O estudo através da microscopia de polarização demonstrou que, o êmbolo era composto, na sua totalidade, por fibrilas de colágeno birrefringente, correspondendo integralmente ao material injetado. No grupo controle não foram encontradas alterações arteriais à microscopia.

Em todos os animais, o estudo dos rins embolizados com gel de colágeno mostrou os glomérulos com graus diversos de necrose, exibindo edema mesangial e depósitos hialinos no interior da cápsula de Bowman. Foi evidenciada congestão venosa e dos capilares glomerulares em todos os animais. Verificaram-se áreas de necrose envolvendo os túbulos contornados, caracterizadas pela degeneração dos núcleos celulares e citoplasma basófilo, além de perda da estrutura normal e edema intersticial (figura 8). Apesar da necrose celular extensa, não foi identificada reação inflamatória significativa, denotando um infarto asséptico.

O estudo dos cortes seriados dos rins controle de todos os cães revelou estruturas essencialmente normais. Os glomérulos mostraram-se preservados e os túbulos contornados e demais estruturas apresentaram-se intactos. Não foram detectados edema inflamatório, áreas de necrose ou estase sanguínea. Não foram encontrados resíduos de gel de colágeno sob microscopia de polarização.

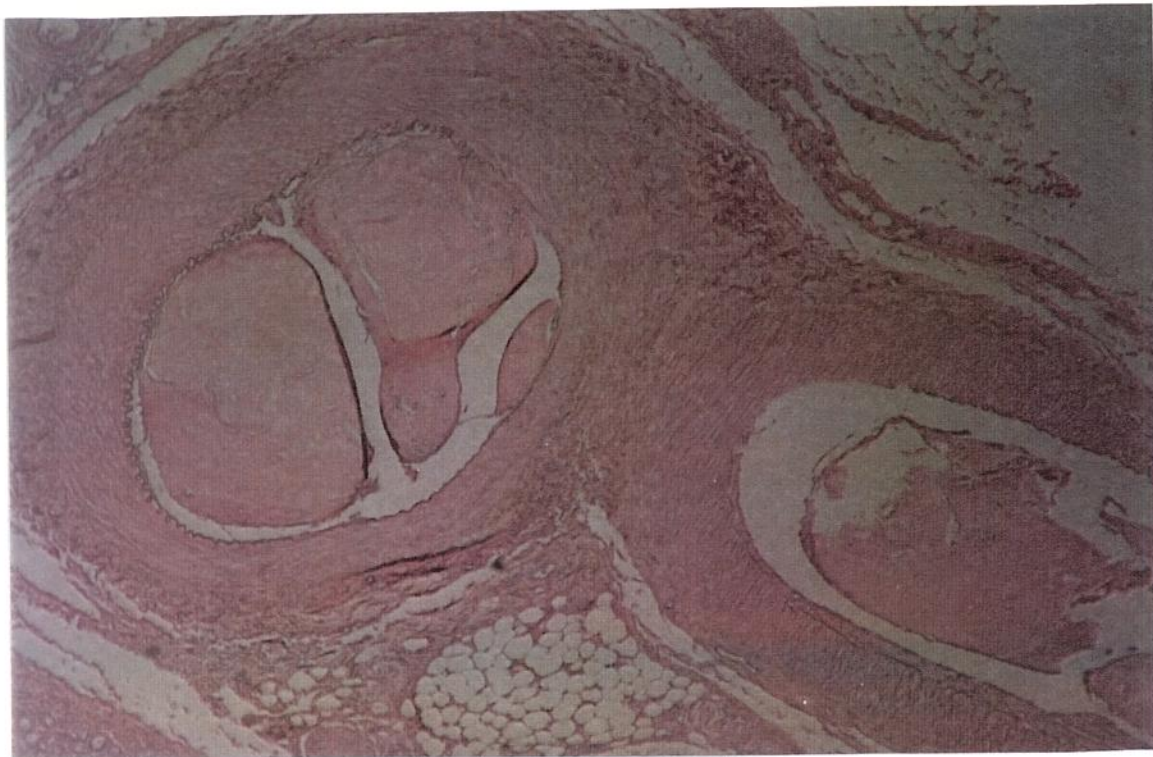


Figura 7. Secção da artéria renal com êmbolo acidófilo compacto após 2 dias da embolização. As camadas da parede arterial apresentam-se preservadas (hematoxilina e eosina, 10 vezes).

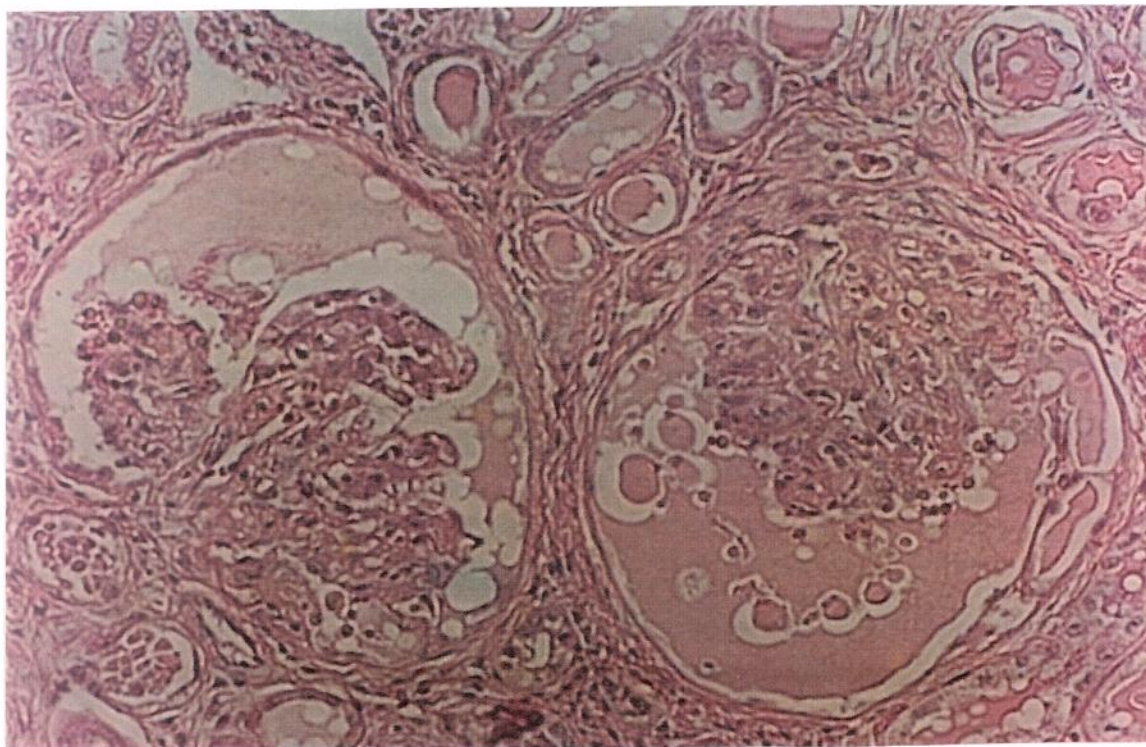


Figura 8. Área com glomérulos apresentando sinais iniciais de necrose após 2 dias da embolização, exibindo depósitos hialinos no interior da cápsula de Bowman. Verifica-se, também, necrose tubular associada (hematoxilina e eosina, 64 vezes).

Neste grupo, as amostras de tecido pulmonar de todos os animais, com exceção do cão 2, encontravam-se normais. Os alvéolos mostraram-se preservados e a arquitetura tecidual estava intacta. A microscopia de polarização não revelou sinais de fragmentos do gel de colágeno no parênquima pulmonar. No cão 2 foi encontrada uma área de congestão alveolar, associada a escassas células inflamatórias mononucleares e plasmócitos. A microscopia de polarização não demonstrou a presença de gel de colágeno, com as arteríolas apresentando-se com aspecto normal.

As amostras de tecido hepático, sob microscopia óptica e de polarização, mostraram-se normais em todos os cães. Os hepatócitos e a estrutura tecidual apresentaram-se preservados.

- **Grupo 2**

Nos animais submetidos à embolização com gel de colágeno e sacrificados após 21 dias do procedimento foi encontrada uma reação proliferativa do endotélio em torno dos êmbolos, determinando íntima adêrencia à parede arterial. No interior dos êmbolos foi observada proliferação fibroblástica, sem a presença de células inflamatórias ou sinais de fagocitose e de absorção do material, confirmados pela microscopia de polarização (figuras 9 e 10).

De forma semelhante ao grupo 1, não foram verificadas alterações estruturais nas camadas arteriais ou na região perivascular, com os êmbolos de colágeno encontrados no interior das arteríolas, porém, sem evidências de sua progressão até aos capilares glomerulares. As artérias renais dos rins controle apresentavam-se com aspecto normal.

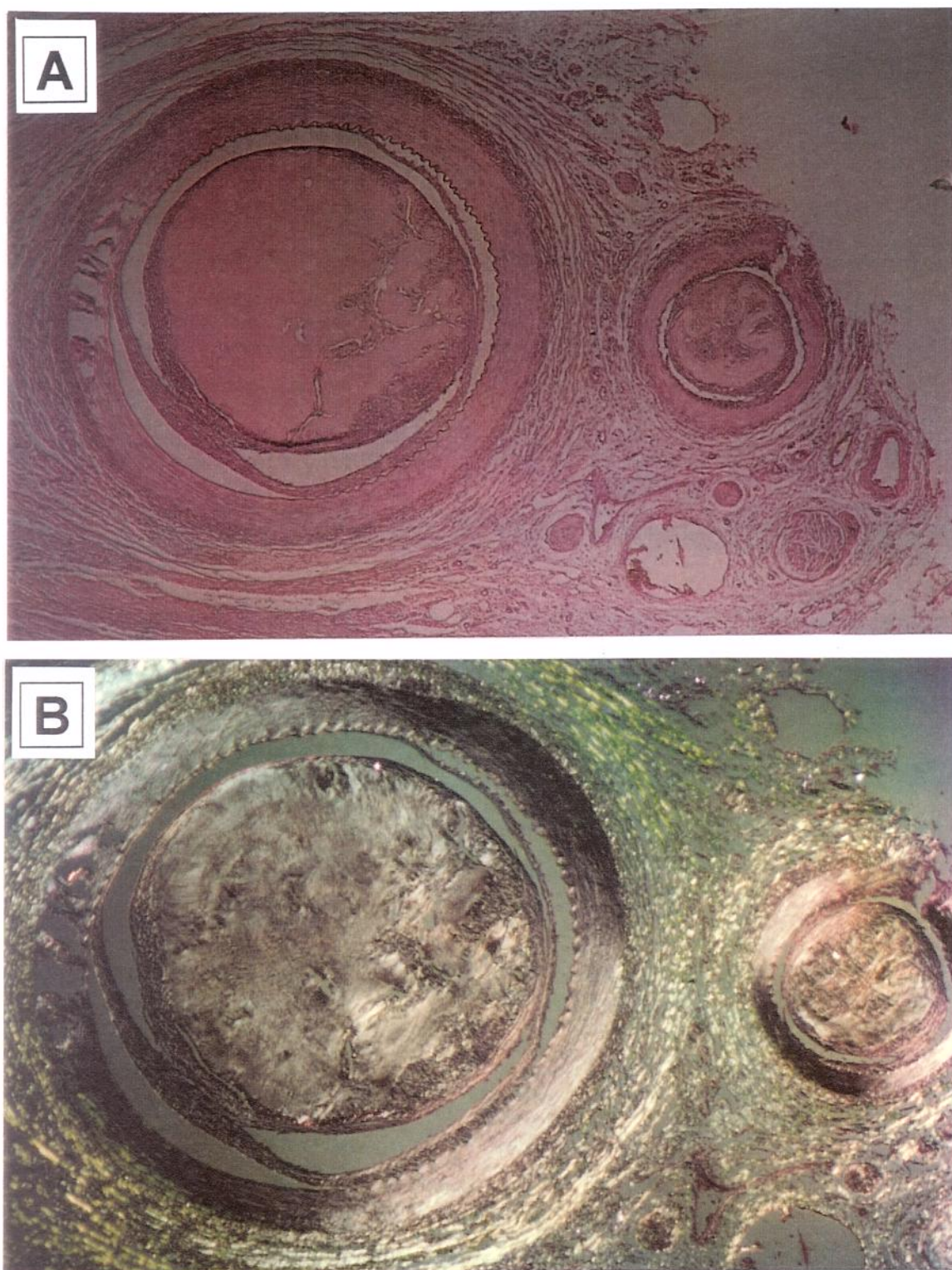


Figura 9. (A) Secção da artéria renal após 21 dias da embolização, mostrando a íntima aderência entre o endotélio e o êmbolo. A parede arterial está preservada (hematoxilina e eosina, 10 vezes). (B) Microscopia de polarização demonstrando a natureza birrefringente do colágeno injetado, semelhante às fibras colágenas naturais da parede arterial (hematoxilina e eosina, 12,8 vezes).

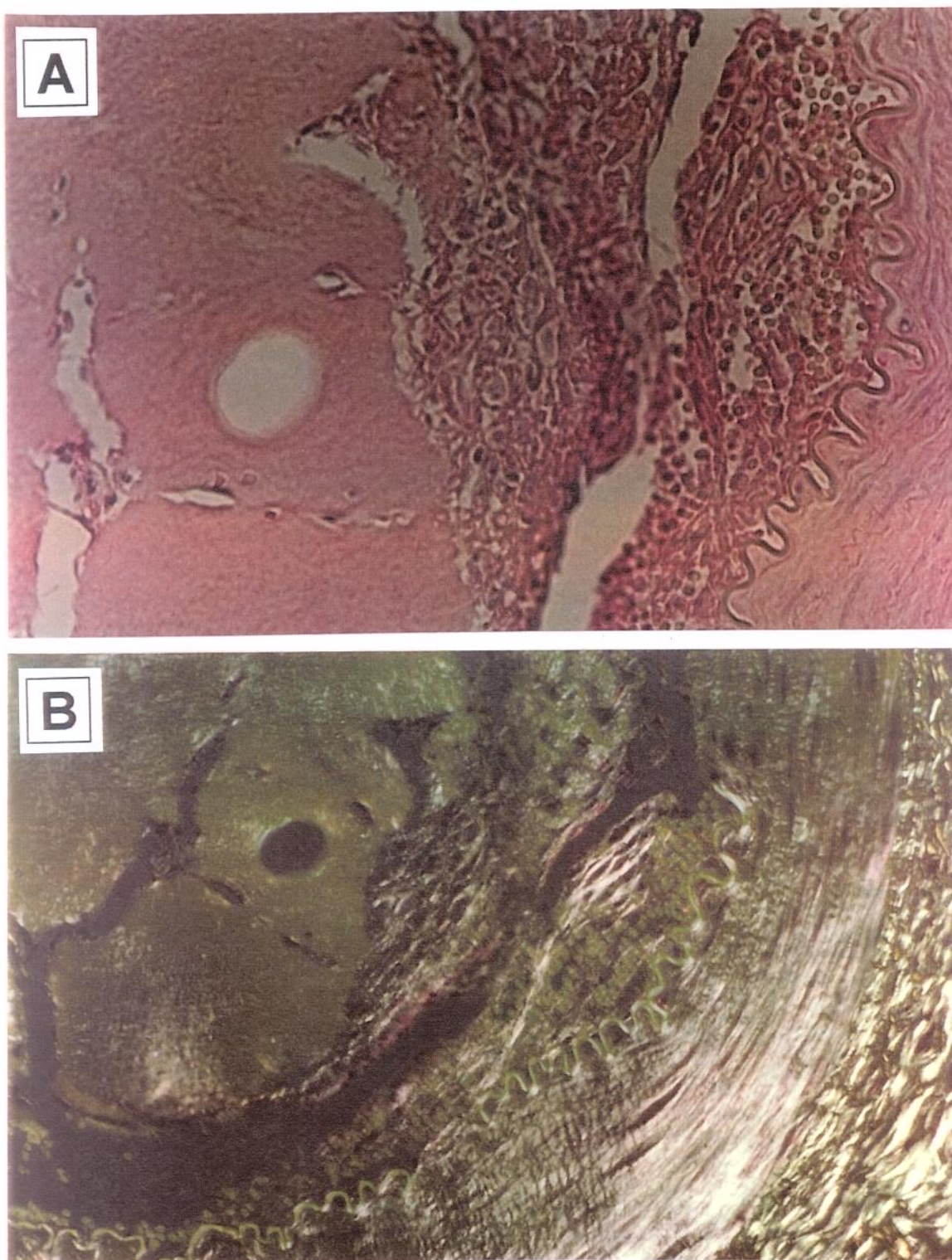


Figura 10. Detalhe mostrando o processo de organização do êmbolo, com proliferação fibroblástica na periferia do mesmo, sem reação inflamatória significativa ou fagocitose do material. (A) Hematoxilina e eosina, 102 vezes. (B) Mesma área sob microscopia de polarização, 64 vezes.

Nos cães submetidos à embolização com gel de colágeno, o parênquima renal apresentava um processo evolutivo de degeneração, com atrofia e hialinização glomerular difusa e início de fibrose de alguns glomérulos (figura 11). Foram encontrados depósitos difusos de hemossiderina no interior do parênquima, resultantes da hemólise das hemáceas acumuladas nos capilares glomerulares, após a embolização (figura 12). Vacuolização e necrose tubular extensas foram verificadas, com proliferação de fibroblastos originários do tecido intersticial mesenquimatoso, localizados em torno de agrupamentos celulares acidófilos, compostos por células epiteliais tubulares necróticas (figura 13). A microscopia de polarização evidenciou a neoformação de colágeno no local (figura 14). De forma semelhante ao grupo anterior, não foi verificada reação inflamatória significativa.

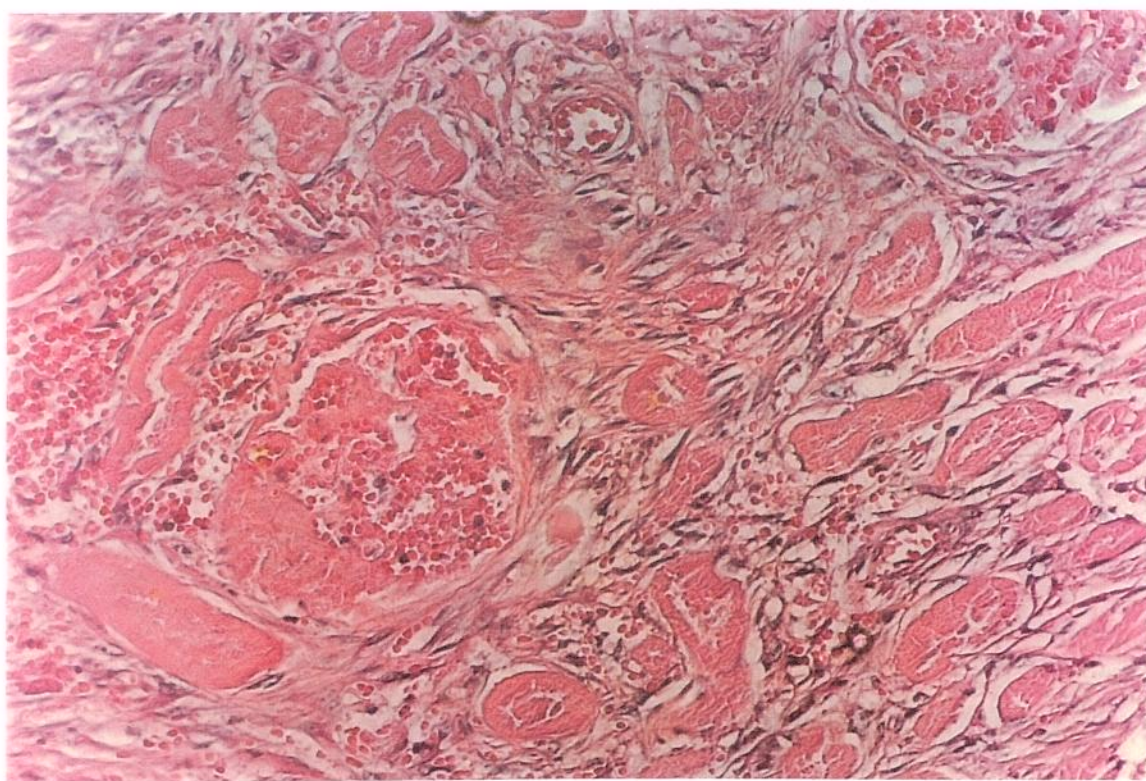


Figura 11. Área evidenciando glomérulo hialinizado, intensa fibrose intersticial e necrose tubular (hematoxilina e eosina, 64 vezes)

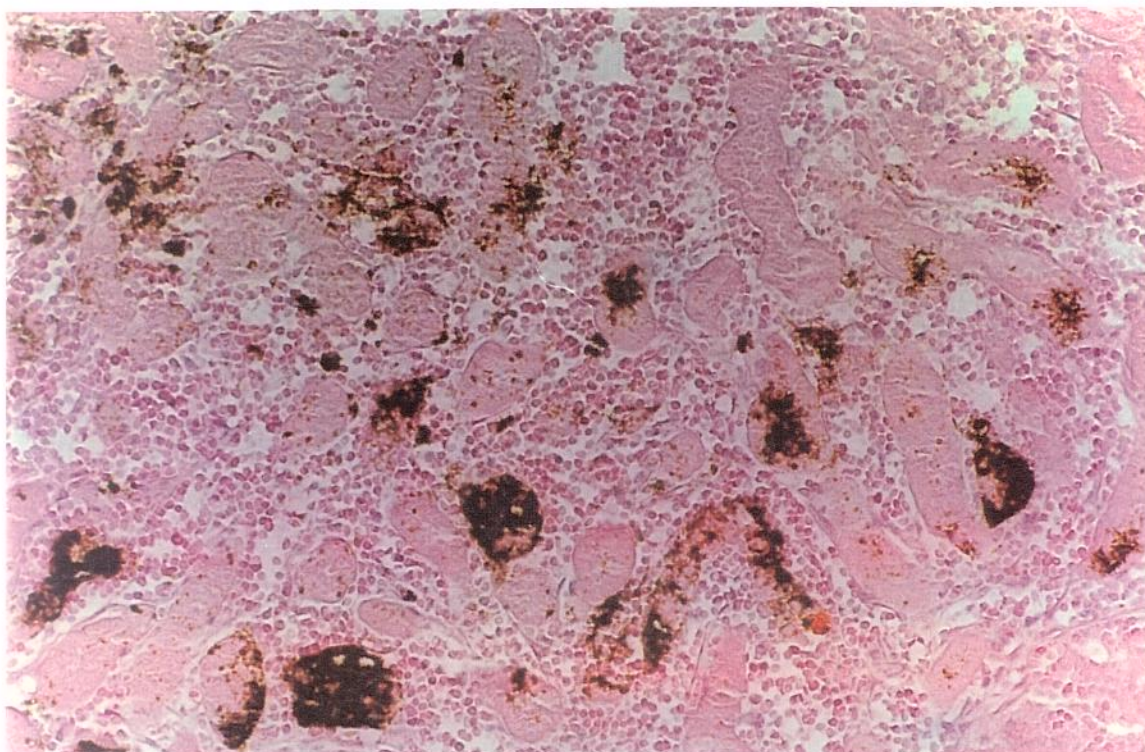


Figura 12. Área evidenciando depósitos de hemossiderina em meio aos túbulos contornados hialinizados (hematoxilina e eosina, 64 vezes).

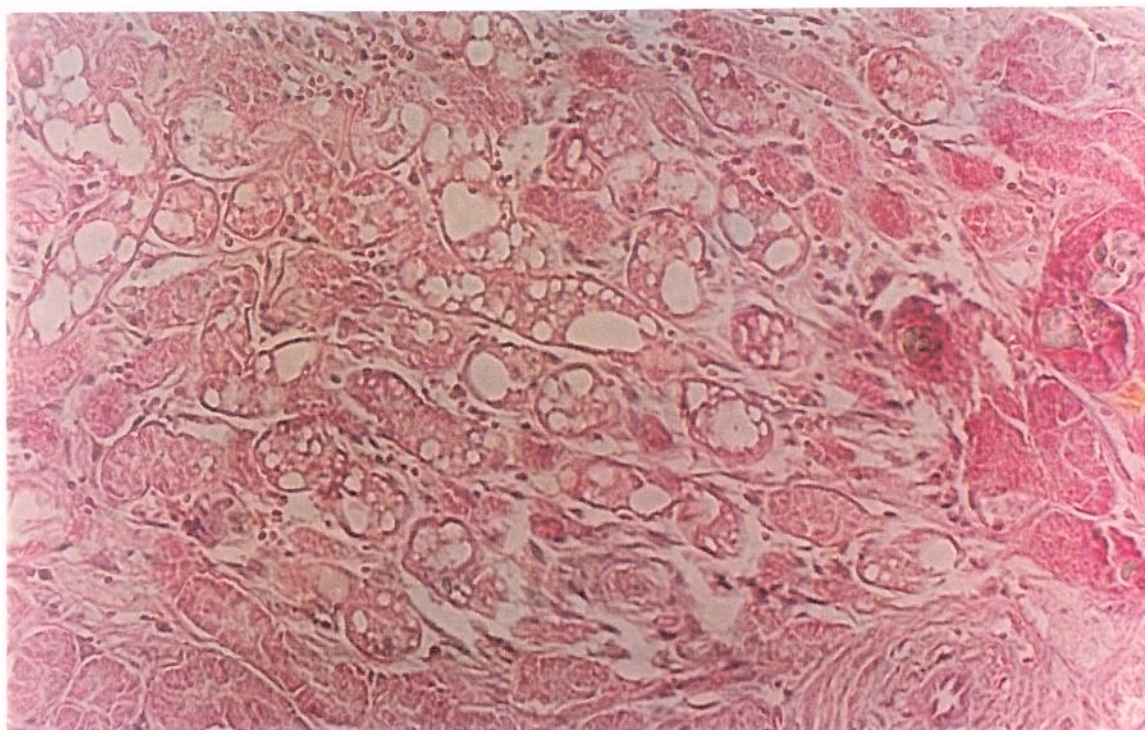


Figura 13. Área exibindo túbulos com vacuolização e hialinização, além de completa desorganização estrutural. Não se verifica processo inflamatório significativo (hematoxilina e eosina, 64 vezes).

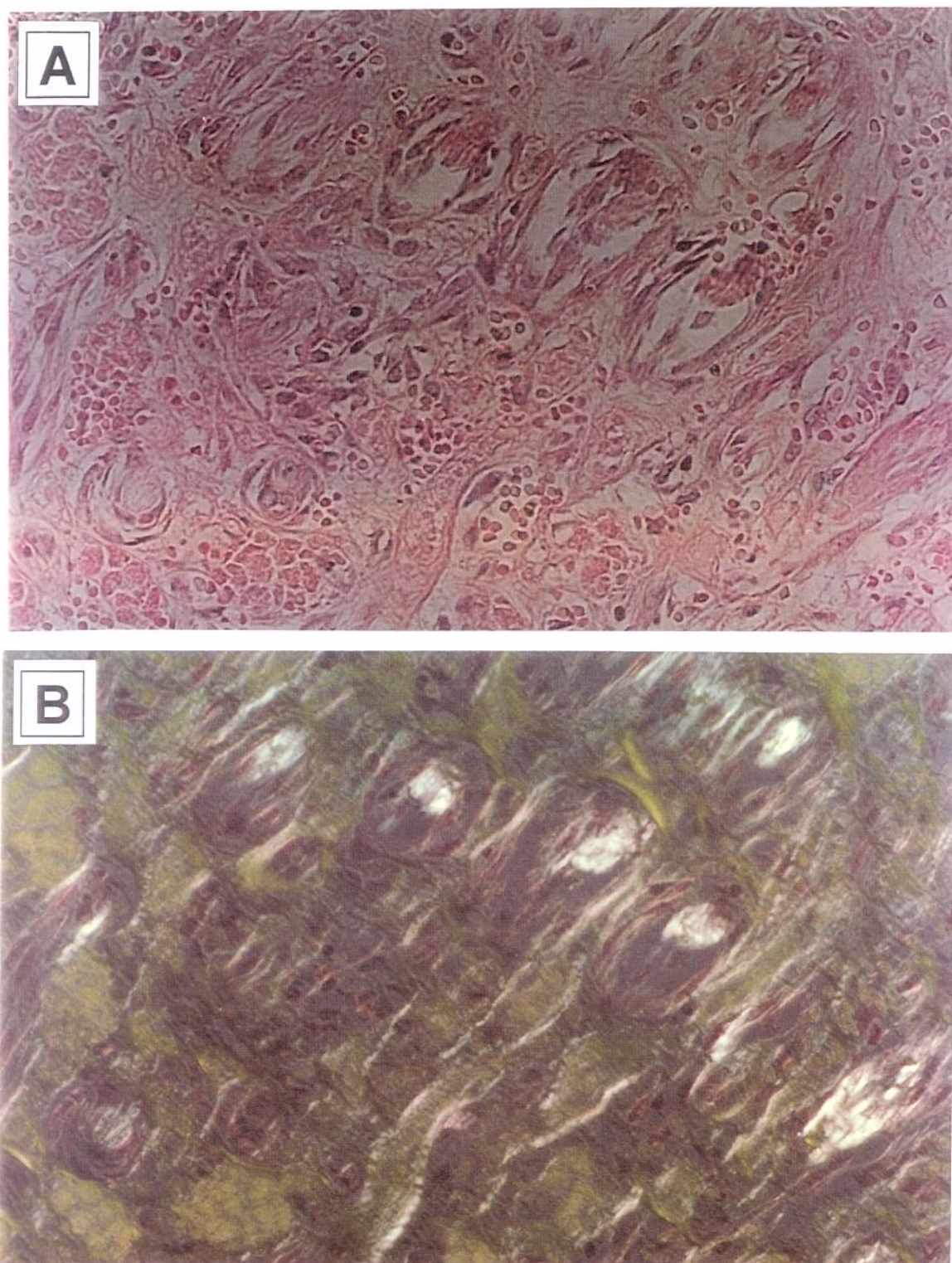


Figura 14. (A) Túbulos contornados exibindo destruição estrutural completa, associada à proliferação de fibroblastos intersticiais, após 21 dias da embolização com gel de colágeno (B) Mesma área sob microscopia de polarização, exibindo o caráter birrefringente do colágeno recém-formado (hematoxilina e eosina, 100 vezes).

Nos rins controle não foram verificadas alterações patológicas, com exceção do cão 11, no qual foram encontrados êmbolos de gel de colágeno no interior de algumas arteríolas, denotando refluxo do material durante o procedimento.

Microscopicamente, as amostras de tecido hepático e pulmonar, a exemplo do grupo 1, apresentaram-se com aspecto normal em todos animais.

4.3. Alterações do volume renal

Foi realizado inicialmente o estudo descritivo das variáveis, representadas pelos volumes renais obtidos previamente e após o procedimento nos grupos 1 e 2, conforme apresentado nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1. - Grupo 1 - Estatística descritiva dos volumes renais após a embolização com gel de colágeno e infusão de solução de NaCl 0,9 %

		nº de animais	Média dos volumes (ml)	Mediana dos volumes (ml)	s
<i>Volume</i>	NaCl 0,9 %	8	19,938	19,216	5,686
<i>pré-embolização</i>	Colágeno	8	17,849	16,445	6,042
<i>Volume</i>	NaCl 0,9 %	8	22,850	19,318	9,741
<i>pós-embolização</i>	Colágeno	8	20,089	19,581	7,070

Tabela 2. - Grupo 2 - Estatística descritiva dos volumes renais após a embolização com gel de colágeno e infusão de solução de NaCl 0,9 %

		nº de animais	Média dos volumes (ml)	Mediana dos volumes (ml)	s
<i>Volume</i>	NaCl 0,9 %	8	30,172	28,125	12,689
<i>pré-embolização</i>	Colágeno	8	29,677	29,072	12,875
<i>Volume</i>	NaCl 0,9 %	8	37,907	37,789	13,809
<i>pós-embolização</i>	Colágeno	8	19,765	16,868	12,632

Não foram observadas diferenças significativas entre os volumes dos rins direito e esquerdo do mesmo animal, previamente à execução do procedimento nos grupos 1 ($p = 0,16$) e 2 ($p = 0,49$), de acordo com o teste de Friedman.

Os volumes renais, referentes aos animais sacrificados após 2 dias (grupo 1), encontram-se nas tabelas 3 e 4, que apresentam, também, a variação volumétrica absoluta e percentual após a embolização com gel de colágeno e infusão de solução de NaCl 0,9 %.

Tabela 3. Grupo 1 - Variação do volume renal após 2 dias da embolização com gel de colágeno (em ml)

Cão	Pré-embolização	Pós-embolização	Variação (ml)	Variação (%)
1	17,914	14,688	3,226	- 18 %
2	10,143	14,400	- 4,257	42 %
3	13,824	13,536	0,288	- 2 %
4	29,696	35,393	- 5,697	19 %
5	19,318	20,412	- 1,094	6 %
6	14,976	23,127	- 8,152	54 %
7	14,688	20,412	- 5,724	39 %
8	22,234	18,750	3,485	- 16 %

$p = 0,49$ (não significativo)

Tabela 4. Grupo 1 - Variação do volume renal após 2 dias da infusão de solução de NaCl 0,9 % (em ml)

Cão	Pré-infusão	Pós-infusão	Variação (ml)	Variação (%)
1	23,850	20,047	3,803	- 16 %
2	16,949	17,678	- 0,729	4 %
3	12,096	12,960	- 0,865	7 %
4	31,232	41,037	- 9,806	31 %
5	20,384	20,776	- 0,392	2 %
6	19,683	18,59	1,093	- 6 %
7	16,562	16,900	- 0,338	2 %
8	18,750	34,816	- 16,066	86 %

$p = 0,16$ (não significativo)

De acordo com o teste de Friedman, não houve variação significativa do volume renal após a embolização com gel de colágeno ($p = 0,49$) e após a infusão de solução de NaCl 0,9 % ($p = 0,16$) nos animais pertencentes ao grupo 1. Também não foi verificada diferença significativa entre os volumes finais dos rins embolizados com gel de colágeno em relação aos rins controle contralaterais ($p = 0,49$), segundo o mesmo teste. No entanto, foi observado um aumento da mediana dos volumes dos rins embolizados com gel de colágeno, enquanto a mediana dos volumes dos rins controle manteve-se praticamente inalterada (figura 15).

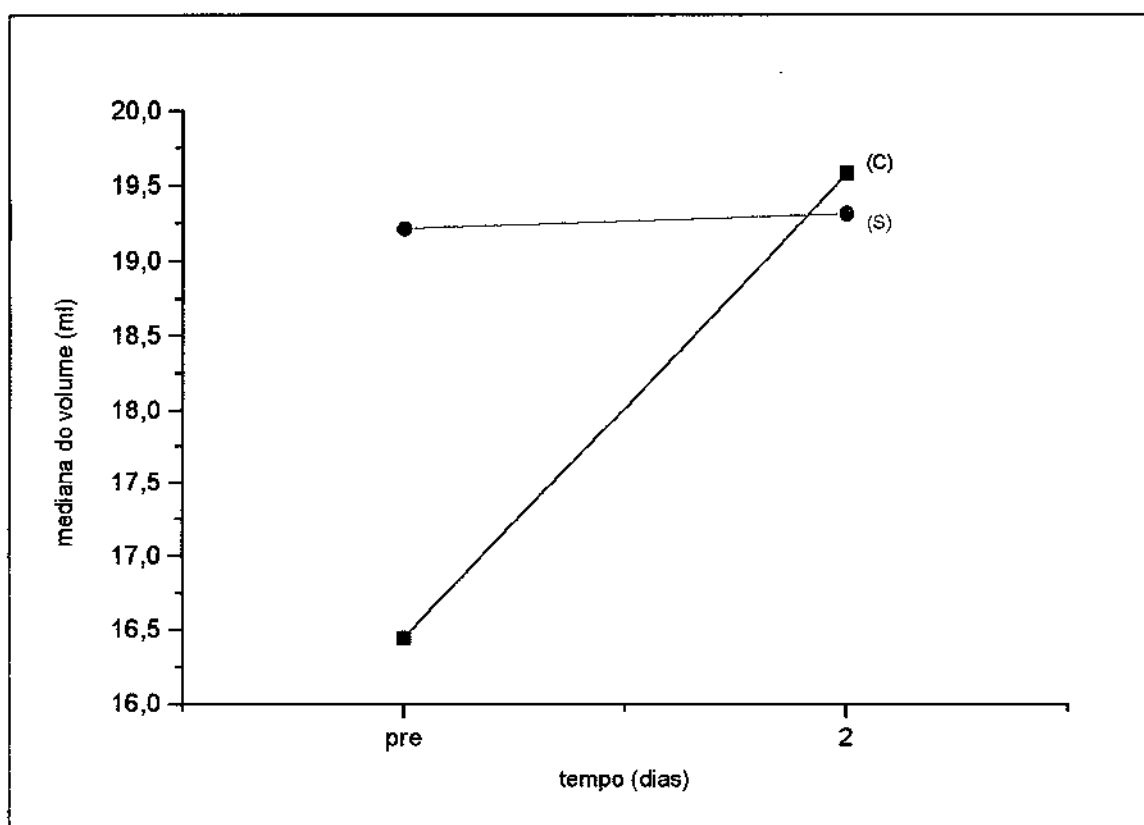


Figura 15. Variação da mediana dos volumes renais pré e pós-embolização com gel de colágeno (C) e infusão de solução de NaCl 0,9 % (S), após 2 dias.

Os volumes renais, referentes aos animais sacrificados após 21 dias (grupo 2), encontram-se nas tabelas 5 e 6, que apresentam, também, a variação volumétrica absoluta

e percentual após a embolização com gel de colágeno e infusão de solução de NaCl 0,9 %, neste período.

Tabela 5. Grupo 2 - Variação do volume renal após 21 dias da embolização com gel de colágeno (em ml)

Cão	Pré-embolização	Pós-embolização	Variação (ml)	Variação (%)
9	18,590	20,047	- 1,458	8 %
10	16,875	8,820	8,055	- 48 %
11	47,304	41,926	5,378	- 11 %
12	16,128	10,143	5,985	- 37 %
13	26,912	13,794	13,118	- 49 %
14	31,581	8,122	23,459	- 74 %
15	48,800	35,328	13,472	- 28 %
16	31,232	19,942	11,290	- 36 %

$p = 0,04$ (significativo)

Tabela 6. Grupo 2 - Variação do volume renal após 21 dias da infusão de solução de NaCl 0,9 % (em ml)

Cão	Pré-infusão	Pós-infusão	Variação (ml)	Variação (%)
9	17,238	21,445	- 4,208	24 %
10	24,750	28,160	- 3,410	14 %
11	57,038	47,230	9,808	- 17 %
12	17,500	24,986	- 7,486	43 %
13	32,768	41,472	- 8,704	27 %
14	28,800	36,992	- 8,192	28 %
15	27,450	64,386	- 36,936	135 %
16	35,836	38,587	- 2,752	8 %

$p = 0,04$ (significativo)

De forma contrária ao grupo 1, foi verificada variação significativa do volume renal após a embolização com gel de colágeno ($p = 0,04$) e após a infusão de solução de NaCl 0,9 % ($p = 0,04$) nos animais pertencentes ao grupo 2, segundo o teste de Friedman. Esta variação decorreu da diminuição do volume renal após a embolização com gel de colágeno e do aumento do volume do rim controle contralateral, ocorrido no período de 21 dias, conforme ilustrado na figura 16. Confirmando estes achados, houve também, uma diferença significativa ($p = 0,01$) na comparação entre os volumes finais dos rins embolizados col gel de colágeno, em relação aos rins controle contralaterais.

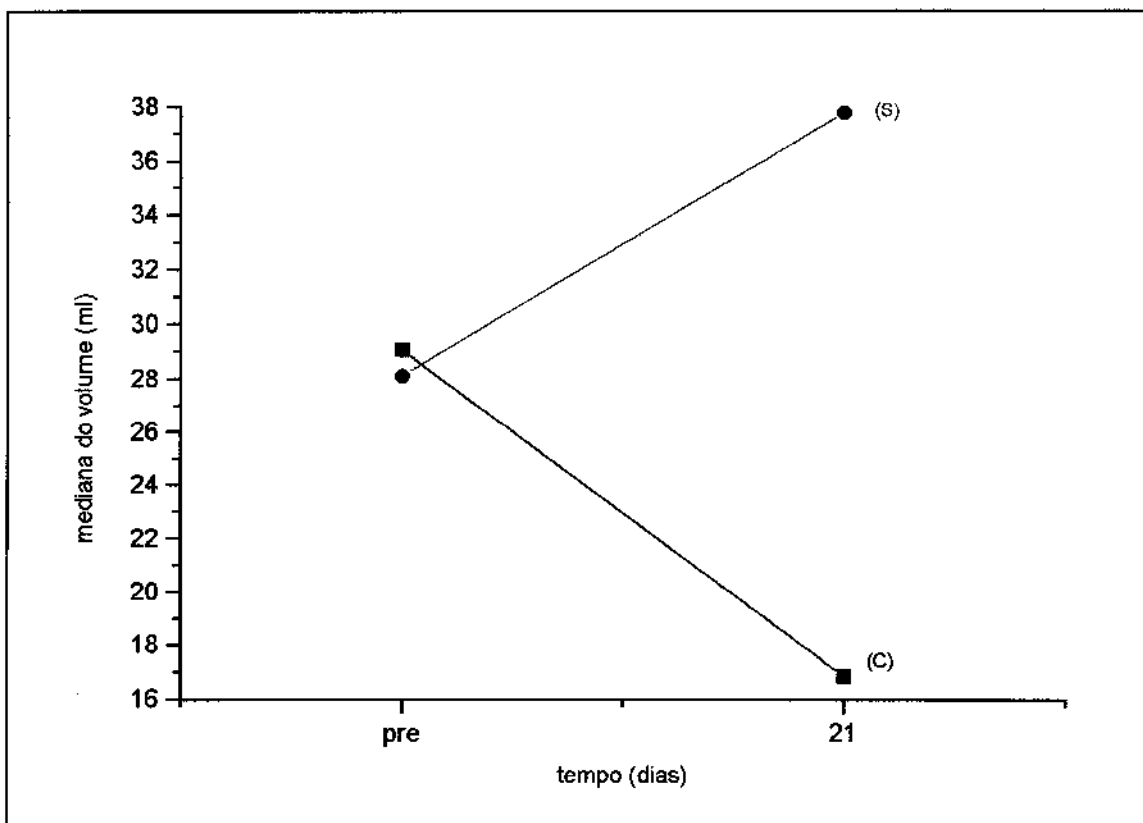


Figura 16. Variação das medianas dos volumes renais pré e pós-embolização com gel de colágeno (C) e solução de NaCl 0,9 % (S), após 21 dias.

5. Discussão

5.1. Considerações sobre o mecanismo da embolização com preparados de colágeno

A obstrução do fluxo arterial após a infusão de um agente embolígeno pode ser uma consequência da ação predominantemente mecânica do material, como ocorre com o uso do coágulo sanguíneo autólogo (RÖSCH *et al.*, 1972), tecido adiposo subcutâneo (RIZK *et al.*, 1973), silicone (MOSSO *et al.*, 1973) e balões para oclusão arterial (SERBINENKO, 1974). Outros compostos causam a obstrução do fluxo sanguíneo através de um efeito exclusivamente citotóxico sobre a parede arterial, determinando uma trombose secundária, tal como ocorre com os agentes adesivos teciduais (GIULIANI *et al.*, 1977), contrastes radiológicos (OBREZ & ABRAMS, 1972), etanol (ELLMAN, 1980) e sulfato de tetradecil-sódio (CHO *et al.*, 1983). Eventualmente, os dois mecanismos podem estar presentes simultaneamente, com predomínio de um ou outro efeito, tal como ocorre com o uso de partículas de álcool polivinílico (TADAVARTHY *et al.*, 1975), espirais metálicas (GIANTURCO *et al.*, 1975) e polímero de poliuretano (DOPPMAN *et al.*, 1978).

O estudo do mecanismo de embolização dos preparados de colágeno, disponíveis atualmente, apresenta as dificuldades inerentes à comparação de materiais biológicos obtidos através de diferentes padronizações técnicas. Independentemente do método utilizado para sua obtenção, o preparado de colágeno ideal deve provocar a obstrução completa e duradoura do lúmen arterial, que determinará a necrose isquêmica do tecido embolizado, além de induzir reação inflamatória local e resposta imunológica mínimas.

Muitos dos riscos da embolização terapêutica relacionam-se à técnica de angiografia e às particularidades do órgão a ser embolizado. Entretanto, algumas complicações podem ocorrer ou ser agravadas pela intolerância ao material. Embora a isquemia isoladamente possa ocasionar um processo inflamatório local, este pode ser intensificado pelas propriedades e composição do preparado de colágeno utilizado (STROTHER *et al.*, 1987). Assim, é desejável a preferência pelos compostos sem tais

efeitos. Além disso, consideramos que características físicas relacionadas à adesividade, viscosidade e elasticidade do preparado são igualmente importantes para se determinar a taxa de persistência do colágeno, o risco de embolização inadvertida de outros órgãos e o resultado final do procedimento.

Além do efeito mecânico local, o colágeno é, naturalmente, um potente agente trombogênico, estimulando a síntese de tromboxano A_2 , que representa um dos principais agentes da agregação das plaquetas. Participa, também, da via intrínseca da cascata da coagulação, ativando o fator XII (CHVAPIL *et al.*, 1973). DAWSON *et al.* (1995) sugeriram que, as plaquetas ativadas produzem um fator de crescimento que estimularia a migração fibroblástica. Estas células ocupariam posições dinamicamente estáveis no interior do êmbolo, iniciando a síntese de colágeno. Por sua vez, o colágeno formado neste processo funcionaria como uma nova plataforma, onde outros fibroblastos recém-migrados poderiam estabelecer-se, iniciando a síntese de mais colágeno e terminando por originar uma fibrose duradoura.

5.2. Aspectos específicos da embolização com os preparados de colágeno

5.2.1. Colágeno microfibrilar purificado

O Avitene® representa o primeiro e principal composto desta categoria de preparados de colágeno para embolização terapêutica. Este material foi desenvolvido a partir de colágeno extraído de tendões bovinos, conforme o relato de KAUFMAN *et al.* (1978). Seu processo de obtenção inclui acentuada fragmentação da molécula, decorrente da solubilização com ácido clorídrico em concentração elevada, resultando na diminuição da biocompatibilidade. Desta forma, apesar de constituir-se um poderoso agente trombogênico, caracteristicamente induz acentuada reação inflamatória local. Após a embolização, ocorre descolamento da túnica íntima e fragmentação da lâmina elástica interna e da túnica média (NAKAO *et al.*, 1991). Segue-se uma arterite granulomatosa significativa, contendo células gigantes e um infiltrado inflamatório crônico no interior da

parede arterial e no espaço perivascular (KAUFMAN *et al*, 1978). A necrose da parede vascular, especialmente quando ocorre em vasos recém-formados (como nas neoplasias) ou nas malformações arteriovenosas e aneurismas, pode resultar em efeitos adversos, em virtude da ausência dos mecanismos de reparação naturais (KAUFMAN *et al*, 1978).

Histologicamente, o Avitene® é reconhecido como um material intensamente acidófilo e acelular no lúmen dos vasos sanguíneos. Verificou-se, também, incidência elevada de infiltrado de eosinófilos, possivelmente representando um grau discreto de reação inflamatória de natureza alérgica. As partículas de colágeno são absorvidas através da fagocitose por macrófagos e células gigantes do tipo corpo estranho, seguindo-se recanalização precoce após duas semanas (SCHWEITZER *et al.*, 1993).

A adesividade da molécula de colágeno também é comprometida durante a produção do Avitene®, o que explica a disseminação das partículas através do leito vascular, podendo estas alcançar as arteríolas aferentes (DIAMOND *et al*, 1979) e os capilares glomerulares (KAUFMAN *et al*, 1978). Tal processo possibilita o aumento indesejável da reação inflamatória no órgão.

O Avitene® é composto por fibras colágenas de 50 até 200 µm. No entanto, NAKAO *et al.* (1991) verificaram, sob microscopia eletrônica, a presença de numerosas partículas menores em suspensão neste preparado e que eram resultantes da fragmentação da molécula original. Estes resíduos poderiam, eventualmente, atravessar a rede capilar, determinando microembolizações pulmonares, ainda que assintomáticas.

5.2.2. Colágeno microfibrilar estabilizado com glutaraldeído

A biocompatibilidade do colágeno depende significativamente da preservação de sua estrutura helicoidal supramolecular que, por sua vez, determinará menor reação inflamatória. Este arranjo é normalmente comprometido no processo de solubilização enzimática do colágeno, em decorrência da remoção das cadeias telopeptídicas

(CHVAPIL *et al.*, 1973). Desta forma, é interessante a proposta de introdução artificial de ligações intermoleculares entre as cadeias do colágeno, com a finalidade de prolongar a sobrevida do enxerto.

Embora o glutaraldeído seja muito empregado para a estabilização do colágeno, estudos anteriores alertaram para a possibilidade de efeitos citotóxicos provocados por concentrações crescentes desta substância no implante (THODEN, VELZEN, HOOF, 1977; COOKE, OLIVER, EDWARD, 1983).

Mais recentemente, McPHERSON, SAWAMURA, ARMSTRONG (1986) compararam experimentalmente implantes subcutâneos de colágeno tratado com glutaraldeído em diferentes concentrações. Os autores verificaram diminuição da resposta imune celular e índice de persistência do enxerto de até 90 %, após quatro meses, nas amostras com glutaraldeído em concentrações iguais ou pouco inferiores a 0,01 %. Nestas condições, os enxertos apresentaram reação caracterizada por invasão fibroblástica, neovascularização e pouca ou nenhuma evidência de inflamação local. Concentrações superiores induziram uma reação do tipo corpo estranho de intensidade crescente, sendo, este fenômeno, atribuído à presença de glutaraldeído residual livre no preparado.

O comportamento biológico dos preparados de colágeno estabilizado com glutaraldeído e especialmente desenvolvidos para a embolização terapêutica foi descrito inicialmente por STROTHER *et al.* (1987), em um estudo experimental em cães, envolvendo a embolização vesical. Estes autores verificaram êmbolos compactos e amorfos preenchendo o lúmen de artérias de fino calibre e arteríolas, após dois dias do procedimento, com tumefação transitória das células endoteliais próximas. A análise, após duas semanas, não mostrou nenhuma forma de resposta celular no interior do enxerto, na parede vascular ou no tecido extravascular adjacente, com persistência do material, praticamente inalterado, após dois meses.

Contrariando estes resultados, DANIELS *et al.* (1987), ao utilizarem um preparado semelhante na embolização da artéria hepática, em cães, observaram apenas isquemia transitória, decorrente da embolização arteriolar. O estudo histológico mostrou partículas em vasos desde 20 μm até 250 μm , com início precoce de recanalização, envolvendo a migração de células endoteliais em torno do colágeno, após três dias. Os autores verificaram ainda, após dois meses, a remoção completa de todo o material e restituição da anatomia normal, sem a participação de macrófagos ou de outras células inflamatórias neste processo. Concluíram a favor da participação ativa das células endoteliais, admitindo, no entanto, a possibilidade de outros mecanismos ainda não descritos. Resultados semelhantes foram obtidos por STERNLICHT *et al.* (1989), utilizando o mesmo preparado estabilizado com glutaraldeído, na embolização hepática, em cães.

Verificamos que os estudos sobre o emprego de preparados de colágeno estabilizado com glutaraldeído não apresentaram referências específicas à embolização renal. Reconhecemos que, um tecido isquêmico, mas ainda viável após uma embolização, poderá, sob certas circunstâncias, recuperar o suprimento sanguíneo em algum grau, dependendo das particularidades anatômicas locais. Da mesma maneira, a determinação da extensão exata da obstrução vascular dependerá das características do fluxo sanguíneo no interior do órgão e da possibilidade de espasmo arterial. Assim, consideramos que a aplicação das conclusões destes estudos, na circulação sanguínea renal, deve ser cautelosa.

5.3. Considerações sobre os resultados observados com o gel de colágeno purificado

A obtenção do gel de colágeno, utilizado neste estudo, baseou-se no princípio da auto-agregação espontânea das macromoléculas, que garante uma organização supramolecular característica, quando fragmentos da molécula original são submetidos a determinadas condições físico-químicas. Com relação ao colágeno, tentativas de fibrilogênese ordenada, a partir da molécula solubilizada, foram descritas previamente,

porém, sem a obtenção de uma estrutura semelhante à original (COSTABLE, 1993; STUPP *et al.*, 1993).

Baseados neste princípio, ARRUDA, SANTANA, VIDAL (1995) e VIDAL (1995) descreveram primeiramente a obtenção de moléculas com arranjo supramolecular semelhante ao colágeno presente nos tendões, a partir da diálise prolongada com água destilada. Neste processo, as moléculas de água formariam pontes de hidrogênio com as moléculas de colágeno, facilitando o movimento das fibrilas e a reorganização de uma estrutura helicoidal semelhante à estrutura fibrilar do tendão. Os autores verificaram, também, que a interrupção precoce da diálise resultava em feixes de fibras com diâmetro e orientação irregulares.

Nestes mesmos estudos, ARRUDA *et al.* (1995) e VIDAL (1995) demonstraram, objetivamente, que a elasticidade é diretamente proporcional ao tempo de diálise do colágeno, sendo máxima após cinco a sete dias. Verificaram, ainda, que a viscosidade diminui na proporção inversa ao período de diálise. Consideramos que, enquanto a baixa viscosidade permite o emprego do preparado em cateteres de fino calibre, com manutenção da estrutura fibrilar ordenada, possibilitando embolizações superseletivas quando necessário, a elevada elasticidade do material contribui para impedir sua fragmentação e migração à distância, além de propiciar o preenchimento uniforme do lúmen arterial.

No presente experimento, as alterações anátomo-patológicas, decorrentes da interação do gel de colágeno com o endotélio arterial, evidenciaram a evolução para organização local do êmbolo com mínima resposta inflamatória e absorção do material durante o período estudado. O êmbolo de colágeno aderiu-se firmemente ao endotélio, determinando a proliferação endotelial e fibroblástica, o que está de acordo com sua função de principal matriz extracelular dos mamíferos (HAY, 1981). Consideramos, também, que este processo provavelmente resultará numa cicatriz fibrótica densa, com a

formação de colágeno autólogo, a partir dos fibroblastos migrados para o interior do êmbolo.

As variações do volume renal, observadas no presente estudo, apresentam-se de acordo com o processo biológico desencadeado a partir da embolização. O edema intersticial, observado inicialmente nos rins embolizados com gel de colágeno, pode explicar o aumento da mediana dos volumes renais, verificado no grupo sacrificado após 2 dias do procedimento, conforme ilustrado na figura 15, embora estatisticamente não significativo ($p = 0,49$). Da mesma forma, as variações dos volumes dos rins embolizados e dos rins controle, após 21 dias, são explicadas pelo processo de atrofia renal após a embolização efetiva com o gel de colágeno, que determinou uma diminuição volumétrica significativa ($p = 0,04$), acompanhada de aumento compensatório significativo dos rins contralaterais ($p = 0,04$) na maioria dos animais, conforme demonstrado na figura 16. Este aumento volumétrico resultou, provavelmente, do acréscimo secundário do fluxo sanguíneo renal e do ritmo de filtração glomerular.

Tais resultados diferem significativamente daqueles encontrados com o emprego de outros preparados de colágeno microfibrilar, não submetidos a tratamento com glutaraldeído, nos quais foi descrita intensa reação inflamatória local (KAUFMAN *et al.*, 1978; NAKAO *et al.*, 1991). Este fato confirma a relação entre a preservação da estrutura supramolecular e o comportamento biológico do colágeno, se considerarmos que, a resposta inflamatória é inversamente proporcional à biocompatibilidade do material. Nossos resultados também comprovam que, o princípio da auto-agregação das macromoléculas, sobre o qual fundamentou-se o preparo do gel de colágeno utilizado neste experimento, corresponde realmente a uma alternativa eficaz para a reconstituição da molécula, que manteve suas características intrínsecas preservadas. Além disto, trata-se de um método economicamente viável, uma vez que tem base no uso de água destilada sob determinadas condições físicas (VIDAL, 1995), o que representa tecnologia acessível e de custo relativamente baixo.

Contrariamente, embora alta biocompatibilidade possa ser obtida através da reconstituição do colágeno com glutaraldeído, seu emprego determina maior custo à produção, além de efeitos indesejáveis, decorrentes de resíduos eventualmente presentes nos preparados (McPHERSON *et al.*, 1986). Além disto, são contraditórios os resultados apresentados com o emprego destes preparados na embolização experimental de órgãos (STROTHER *et al.*, 1987; DANIELS *et al.*, 1987).

As alterações demonstradas no parênquima renal, no presente estudo, são características de um infarto isquêmico, secundário à embolização da artéria renal pelo gel de colágeno. A ausência de reação inflamatória exsudativa parenquimatosa é considerada como uma condição favorável, especialmente quando o procedimento corresponde a uma medida pré-operatória. A estase sangüínea no interior dos capilares glomerulares pode ser explicada pelas alterações hemodinâmicas no órgão, após a embolização, representadas pela diminuição acentuada da pressão capilar. A proliferação fibroblástica com formação de colágeno, verificada nos túbulos contornados, associada à atrofia e hialinização glomerular, indicam o início do desenvolvimento de fibrose generalizada no órgão, o que confirma a eficácia da obstrução arterial com o gel de colágeno.

A ausência de fragmentos do gel no interior dos glomérulos e de sinais de migração para outras vísceras sugerem que, o gel de colágeno não atravesse a rede capilar glomerular, constituindo outra evidência da segurança deste material para a embolização de órgãos.

A embolização inadvertida do rim controle contralateral, observada no cão 11 (grupo 2), mostra que a baixa viscosidade do preparado, apesar de facilitar o manuseio e permitir um preenchimento adequado do lúmen arterial, pode predispor ao refluxo para a aorta e ao infarto de outros órgãos. Relatos clínicos mostram esta complicação associada a vários agentes embolígenos propostos anteriormente, podendo ser evitada facilmente, na prática clínica, com o uso de cateteres com balão para oclusão arterial, o que impedirá o refluxo (PETER *et al.*, 1977; KERBER *et al.*, 1978; MUKAMEL *et al.*, 1979; MAZER *et*

al., 1981; CHO *et al.*, 1983). Ao se interpretar esta complicação, além das características inerentes ao agente embolígeno, devem ser considerados aspectos específicos da técnica empregada no procedimento, tais como a velocidade de infusão do material, posição exata do cateter de angiografia e volume utilizado. No presente experimento, foi padronizada a infusão do agente através de punção arterial direta, utilizando-se um cateter de venóclise de fino calibre (27 Gauges), sendo o controle realizado pela ultra-sonografia com Doppler intra-operatória. O cão 11 apresentava rins de grande volume e artérias renais calibrosas, sendo necessários 5 ml de gel para a obstrução do fluxo arterial. Este volume foi maior que aquele utilizado nos outros animais (APÊNDICE 1). Para tanto, houve a necessidade de três punções arteriais durante o procedimento, sendo uma delas próxima à emergência da artéria renal na aorta abdominal, momento em que poderia ter ocorrido o refluxo. O cão teve suas vísceras macroscopicamente examinadas após o sacrifício e durante o estudo anátomo-patológico, não sendo identificados êmbolos em outros órgãos. Apesar disto, a possibilidade de embolização retrógrada implica em cautela, indicando-se o uso de cateter com balão para oclusão arterial durante o procedimento.

6. Conclusão

1. O gel de colágeno foi eficaz na embolização arterial renal no modelo experimental estudado.
2. O uso do gel de colágeno foi seguro em relação à migração de partículas à distância.
3. Os resultados anátomo-patológicos sugerem que o gel de colágeno seja superior aos preparados descritos anteriormente, do ponto de vista da biocompatibilidade.

7. Summary

Several properties of collagen such as its high biocompatibility, low immunogenicity and intrinsic hemostatic properties as pro-aggregant substance, justify its use as an emboligenic agent. The ideal collagen-based embolic agent should produce complete and permanent arterial obstruction, leading to ischemic necrosis with a minimal inflammatory reaction and immunological response.

The aim of this study was analyze the effectiveness and safety of a purified collagen gel in producing renal arterial embolization in dogs. The collagen gel was obtained from bovine tendons type I collagen fibers, highly purified and extensively dialyzed in order to remove the immunogenic sites. The resulting gel was designed to have specific rheologic properties (viscoelasticity) which would allow optimal endothelial adhesion and arterial flow obstruction, even when injected through small caliber catheters.

Sixteen mongrel dogs (weight of 12,3 kg) underwent randomized renal arterial embolization with collagen gel. The contralateral kidney was infused with 0,9 % NaCl solution using the same procedure as in treated dogs (control). The animals were divided in two groups and were sacrificed 2 days (group 1) and 21 days (group 2) after the procedure. The abdominal organs, lungs and posterior limb muscles were dissected and samples were collected for pathological analysis, in order to verify the presence of an inflammatory reaction. The variation in kidney volume was studied by intraoperative measurement of the longitudinal and antero-posterior diameters using a sterile paquimeter. Statistic analysis was performed using the non-parametric test of Friedman ($\alpha = 5\%$).

General ischemia of the tissue and thick perirenal adherences were observed in group 1 after collagen gel embolization, although there were no significative changes in volume. Examination by light microscopy showed acidophilic emboli of birefringent collagen fibers filling the renal artery and extending into the arterioles. The glomeruli and tubules showed early signs of diffuse necrosis. There was no significant inflammatory response, indicating that the reaction represented an aseptic infarction.

A significant reduction in the volume was seen in the embolized kidneys of the animals in the group 2 ($p = 0.04$), while compensatory renal enlargement were verified in the controls ($p = 0.04$). Light microscopy showed a proliferative endothelial reaction around the emboli. Similarly, fibroblast proliferation was observed at the periphery of the

emboli. The parenchyma was atrophied and showed diffuse glomerular hyalinization and extensive tubular fibrosis. There was a reflux of collagen gel to the contralateral kidney in one animal from group 2, probably secondary to difficulties related to the animal anatomy. The other control kidneys were normal upon histological analysis.

The abdominal organs, lungs and posterior limb muscles showed no signs of undesirable collagen migration in both groups.

These results suggest that the purified collagen gel was a safe and effective agent for inducing renal arterial embolization in dogs. The absent of collagen particles migration to other organs or posterior limbs suggest that this material may be safe for the organ embolization. These results can be explained by the inherent properties of the collagen gel and suggest that this substance may be a useful and attractive for therapeutic renal arterial embolization.

8. Referências Bibliográficas

- ALEXANDER, N.; HEPTINSTALL, R.H.; PICKERING, G.W. - Effects of embolic obstruction of intrarenal arteries in the rabbit. **J. Path. & Bact.**, **81**:225-37, 1961.
- ALMGARD, L.E.; FERNSTROM, I.; HAVERLING, M.; LJUNGQVIST, A. - Treatment of renal adenocarcinoma by embolic occlusion of the renal circulation. **Br. J. Urol.**, **45**:474-79, 1973.
- ALMGARD, L.E. & LJUNGQVIST, A. - Experimental occlusion of the renal circulation in the dog. **Scand. J. Urol.**, **5**:268-72, 1971.
- ARRUDA, E.J.; SANTANA, C.C.; VIDAL, B.C. - Viscoelastic and optical properties of type I gels. EUROPEAN CONGRESS OF BIOTECHNOLOGY, 7, Nice, 1995. **Abstracts**, **3**:60, 1995.
- BARTH, K.H.; STRANDBERG, J.D.; WHITE, R.I.Jr. - Long term follow-up of transcatheter embolization with autologous clot, oxycel and gelfoam in domestic swine. **Invest. Radiol.**, **12**:273-80, 1977.
- BATISTA, O.A.; ERDI, N.Z.; FERRARO, C.F. - Novel microcrystals of polymers. **J. Appl. Polymer. Sci.**, **11**:481-98, 1967.
- BOOKSTEIN, J.J.; CHLOSTA, E.M.; FOLEY, D.; WALTER, J.F. - Transcatheter hemostasis of gastrointestinal bleeding using modified autogenous clot. **Radiology**, **113**:277-85, 1974.
- BOOKSTEIN, J.J. & GOLDSTEIN, H.M. - Successful management of postbiopsy arteriovenous fistula with selective arterial embolization. **Radiology**, **109**:535-36, 1973.

BORNSTEIN, P. & PIEZ, K.A. - The nature of the intramolecular cross-links in collagen. **Biochemistry**, 5:3460-63, 1966.

BROWN, T.W. - The fragile x syndrome. **Neurologic Clin.**, 7:107-21, 1989.

BUCHTA, M.D.; SANDS, J.; ROSENKRANTZ, H.; ROCHE, W. - Early Mechanism of action of arterially infused alcohol U.S.P. in renal devitalization. **Radiology**, 145:45-8, 1982.

CHO, K.J.; BRADY, T.M.; ANVER, M.R. - Renal artery occlusion and infarction with sotradecol. **Invest. Radiol.**, 18:68-73, 1983.

CHVAPIL, M.; KRONENTHAL, R.L.; VAN WINKLE, W.Jr. - Medical and surgical application of collagen. **Int. Rev. Conn. Tissue Res.**, 6:1-15, 1973.

CONOVER, W.J. - Friedman Test. In: _____ - **Practical nonparametric statistics**, 1 ed., New York, John Wiley & Sons Inc., 1971. p.206-15.

COOKE, A.; OLIVER, R.F.; EDWARD, M. - An in vivo cytotoxicity study of aldehyde-treated pig dermal collagen. **Br. J. Exp. Pathol.**, 64:172-76, 1983.

COSTABLE, E.C. - Molecule, assemble thyself! **Nature**, 362:412-13, 1993.

CRAGG, A.H.; ROSEL, P.; RYSAVY, B.A.; RHOLL, K.; BENDEL, W.; VLODAVER, Z.; CASTANEDA-ZUNIGA, W.R.; AMPLATZ, K. - Renal Ablation using hot contrast medium: an experimental study. **Radiology**, 148:683-86, 1983.

DANIELS, J.R.; KERLAN, R.K.; DODDS, L.; McLAUGHLIN, P.; LaBERGE, J.M.; HARRINGTON, D.; DANIELS, AM.; RING, E.J. - Peripheral hepatic arterial embolization with cross linked collagen fibers. **Invest. Radiol.**, 22:126-31, 1987.

- DAVISON, P.F.; LEVINE, L.; DRAKE, M.P.; RUBIN, A.L.; BUMP, S. - The serologic specificity of tropocollagen telopeptides. **J. Exp. Med.**, **126**:331-37, 1967.
- DAWSON, R.C.; KRISHT, A.F.; BARROW, D.L.; JOSEPH, G.I.; SHENGELAIA, G.G.; BONNER, G. - Treatment of experimental aneurysms using collagen-coated microcoils. **Neurosurgery**, **36**:133-39, 1995.
- DIAMOND, N.G.; CASARELLA, W.J.; BACHMAN, D.M.; WOLF, M. - Microfibrillar collagen hemostat: a new transcatheter embolization agent. **Radiology**, **133**:775-79, 1979.
- DOPPMAN, J.L.; AVEN, W.; BOWMAN, R.L.; WOOD, L.L.; GIRTON, M. - A rapidly polymerizing polyurethane for transcatheter embolization. **Cardiovasc. Radiol.**, **1**:109-16, 1978.
- DOPPMAN, J.L.; POPOVSKY, M.A.; GIRTON, M. - The use of iodinated contrast agents to ablate organs: experimental studies and histopathology. **Radiology**, **138**:333-40, 1981.
- DOPPMAN, J.L.; ZAPOL, W.; PIERCE, J. - Transcatheter embolization with silicone rubber preparation: experimental observations. **Invest. Radiol.**, **6**:304-9, 1971.
- DOTTER, C.T.; GOLDMAN, M.L.; RÖSCH, J. - Instant selective arterial occlusion with isobutyl 2-cyanoacrylate. **Radiology**, **114**:227-30, 1975.
- ELLMAN, B.A. - Renal infarction with absolute ethanol. **Invest. Radiol.**, **15**:318-22, 1980.

- ELLMAN, B.A.; PARKHILL, B.J.; CURRY, T.S.III; MARCUS, P.B.; PETER, P.C. - Ablation of renal tumor with absolute ethanol. Mechanism of action. **Invest. Radiol.**, **19**:416-23, 1984.
- GANG, D.L.; DOLE, K.B.; ADELMAN, L.S. - Spinal cord infarction following renal artery embolization. **J.A.M.A.**, **237**:2841-2, 1977.
- GIANTURCO, C.; ANDERSON, J.H.; WALLACE, S. - Mechanical devices for arterial occlusion. **A.J.R.**, **124**:428-35, 1975.
- GIULIANI, L.; CARMIGNANI, G.; BELGRANO, E.; PUPPO, P. - Embolization of renal cell carcinomas with isobutyl-2-cyanoacrylate. Experimental study and first clinical application. **Urology**, **10**:197-202, 1977.
- GOLDIN, A.R. - Control of duodenal hemorrhage with cyanoacrylate. **Br. J. Radiol.**, **49**:583-588, 1976.
- GOLDIN, A.R.; NAUDE, J.H.; HICKMAN, R. - Experimental percutaneous renal infarction. **Br. J. Urol.**, **46**:127-31, 1974a.
- GOLDIN, A.R.; NAUDE, J.H.; THATCHER, G.N. - Therapeutic percutaneous renal infarction. **Br. J. Urol.**, **46**:133-5, 1974b.
- GRIFFIN, D.J.; OKE, E.J.; CHO, K.J.; GIKAS, P.W. - Chemical ablation of the canine kidney using sodium tetradecyl sulfate (Sotradecol). A histopathologic study. **Invest. Radiol.**, **21**:217-20, 1986.
- HAWE, A. & RASTELLI, G.C. - Late deterioration of intracardiac ivalon sponge patches. **J. Thoracic & Cardiovasc. Surg.**, **58**:87-91, 1969.

- HAY, E.D. - Extracellular matrix. **J. Cell Biol.**, **91**:205-9, 1981.
- HLAVA, A.; STEINHART, L.; NAVRATIL, P. - Intraluminal obliteration of the renal arteries in kidney tumors. **Radiology**, **121**:323-9, 1976.
- IMAI, S.; KAJHARA, Y.; NISHISHITA, S.; HAYASHI, T. - Effect of ethanol induced occlusion of the renal artery in rabbit kidney implanted with VX2 carcinoma. **Acta Radiol.**, **30**:535-9, 1989.
- INO, T.; KISHIRO, M.; ITO, H. - New occluding spring coil made from atecollagen. **Lancet**, **347**:1187, 1996.
- KARSNER, H.T. & AUSTIN, J.H. - Studies in infarction, experimental bland infarction of the kidney and spleen. **J.A.M.A.**, **57**:951-8, 1911.
- KAUFMAN, S.L.; STRANDBERG, J.D.; BARTH, K.H. - Therapeutic embolization with detachable Silastic balloon: long term effects in swine. **Invest. Radiol.**, **14**:156-61, 1979.
- KAUFMAN, S.L.; STRANDBERG, J.D.; BARTH, K.H.; WHITE, R.I.Jr. - Transcatheter embolization with microfibrillar collagen in swine. **Invest. Radiol.**, **13**:200-4, 1978.
- KELÂMI, A. - Tissue adhesives: their use in urology. **Eur. Urol.**, **2**:182-4, 1976.
- KERBER, C.W.; BANK, W.O.; HORTON, J.A. - Polyvinil alcohol foam: prepackaged emboli for therapeutic embolization. **A.J.R.**, **130**:1193-4, 1978.
- KNAPP, T.R.; LUCK, E.; DANIELS, J.R. - Behavior of solubilized collagen as a bioimplant. **J. Surg. Res.**, **23**:96-105, 1977.

- LALLI, A.F.; PETERSON, N.; BOOKSTEIN, J.J. - Roentgen-guided infarctions of kidney and lungs: A potential therapeutic technique. **Radiology**, **93**:434-5, 1969.
- LANG, E.K. - Arteriographic diagnosis of renal infarcts. **Radiology**, **88**:1110-6, 1967.
- LIGHT, R.U. & PRENTICE, H.R. - Surgical investigation of a new absorbable sponge derived from gelatin for use in hemostasis. **J. Neurosurg.**, **2**:435-8, 1945.
- MAZER, M.J.; BALTAJE, H.; WOLF, G.L. - Therapeutic embolization of the renal artery with Gianturco coils: limitations and technical pitfalls. **Radiology**, **138**:37-46, 1981.
- McLEAN, G.K. & MERANZE, S.C. - Embolization techniques in the urinary tract. **Radiol. Clin. North Am.**, **24**:671-82, 1986.
- McPHERSON, J.M.; SAWAMURA, S.; ARMSTRONG, R. - An examination of the biologic response to injectable, glutaraldehyde cross-linked collagen implants. **J. Biomed. Mat. Res.**, **20**:93-107, 1986.
- MOSSO, J.A. & RAND, R.W. - Ferromagnetic silicone vascular occlusion: technic for selective infarction of tumors and organs. **Ann. Surg.**, **178**:663-8, 1973.
- MUKAMEL, E.; HADAR, H.; NISSENKORN, I.; SERVADIO, C. - Widespread dissemination of gelfoam particles complicating occlusion of renal circulation. **Urology**, **14**:194-7, 1979.
- NAKAO, N.; OHNISHI, M.; SHIMADA, T.; SAITO, F.; MATSUOKA, H.; HAYASHI, T.; MIURA, K.; MIURA, T. - Transcatheter hepatic arterial embolization with Avitene in dogs. **Cardiovasc. Intervent. Radiol.**, **14**:124-8, 1991.

- OBREZ, I. & ABRAMS, H.L. - Temporary occlusion of the renal artery: effects and significance. **Radiology**, **104**:545-56, 1972.
- OSTERMAN, F.A.Jr.; BELL, W.R.; MONTALI, R.J.; NOVAK, G.R.; WHITE, R.I.Jr. - Natural history of autologous blood clot embolization in swine. **Invest. Radiol.**, **11**:267-76, 1976.
- PARK, J.H.; JEON, S.C.; KANG, H.S.; IM, J.G.; HAN, M.C.; KIM, C.W. - Transcatheter renal arterial embolization with the mixture of ethanol and iodized oil (Lipiodol®). **Invest. Radiol.**, **21**:577-80, 1986.
- PETER, W.; JEFFERY, W.; PASTER, S.B. - Therapeutic renal infarction. **J. Urol.**, **118**:372-80, 1977.
- QUINN, S.F.; FRAU, D.M.; SAFF, G.H.; KAVANAGH, J.; ROBERTS, W.; CAVANAGH, D.; CLARK, R.A. - Neurologic complications of pelvic chemoembolization performed with collagen material and cisplatin. **Radiology**, **167**:55-7, 1988.
- RIZK, G.K.; ATALLAH, N.K.; BRIDI, G.I. - Renal arteriovenous fistula treated by catheter embolization. **Br. J. Radiol.**, **46**:222-4, 1973.
- ROBINSON, J.D.; YEDLICKA, J.W.; BILDSOE, M.C.; VLODAVER, Z.; HUNTER, D.W.; CASTANEDA-ZUNIGA, W.; AMPLATZ, K. - The biocompatibility of compressed collagen foam plugs. **Cardiovasc. Intervent. Radiol.**, **13**:36-9, 1990.
- RÖSCH, J.; DOTTER, C.T.; BROWN, M.J. - Selective arterial embolization: a new method for control of acute gastrointestinal bleeding. **Radiology**, **102**:303-6, 1972.

- SCHWEITZER, J.S.; CHANG, B.S.; MADSEN, P.; VINUELA, F.; MARTIN, N.A.; MARROQUIM, C.E.; VINTTERS, H.V. - The pathology of arteriovenous malformations of the brain treated bby embolotherapy. **Neuroradiology**, **35**:468-74, 1993.
- SENYK, G. & MICHAELI, D. - Induction of cell-mediated immunity and tolerance to homologous collagen in guinea pigs: demonstration of antigen-reactive cellsfor a cell-antigen. **J. Immunol.**, **111**:1381-8, 1973.
- SERBINENKO, F.A. - Balloon catheterization and occlusion of major cerebral vessels. **J. Neurosurg.**, **41**:125-45, 1974.
- STERNLICHT, M.; SALES, S.F.; DANIELS, J.R.; DANIELS, A.M. - Renal cisplatin chemoembolization with Angistat, gelfoam, and ethiodol in the rabbit: renal platinum distributions. **Radiology**, **170**:1073-5, 1989.
- STROTHER, C.M.; LARAVUSO, R.; RAPPE, A.; SU, S.L.; NORTHERN, K. - Glutaraldehyde cross-linked collagen (GAX): a new material for therapeutic embolization. **A.J.N.R.**, **8**:509-15, 1987.
- STUPP, S.I., SON, S., LIN, H.C., LI, L.S. - Synthesis of two-dimensional polymers. **Science**, **259**:59-63, 1993.
- TADAVARTHY, M.; MOLLER, J.H.; AMPLATZ, K. - Polyvinyl alcohol (Ivalon). A new embolic material. **A.J.R.**, **125**:609-16, 1975.
- TAKEDA, T.; ISAWA, M.; KOEDA, T.; SHIBATA, U. - Laboratory studies of collagen wound dressing. **J. Dermatol.**, **10**:475-8, 1983.

- THODEN, V.A.N.; VELZEN, S.K.; HOOFF, A. - Long-term results of the implantation of glutaraldehyde-fixed tissues. **Oral Surg.**, **44**:792-8, 1977.
- TURJMAN, F.; MASSOUD, T.F.; VINTERS, H.V.; JI, C.; TARDY, M.; GUGLIELMI, G.; VINUELA, F. - Collagen microbeads: experimental evaluation of an embolic agent in the rete mirabile of the swine. **A.J.N.R.**, **16**:1031-6, 1995.
- VIDAL, B.C. - From collagen type I solution to fibers with a helical pattern: a self-assembly phenomenon. **C. R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie**, **318**:831-6, 1995.
- VIDAL, B.C. - Métodos em biologia celular. In: VIDAL, B.C.; MELLO, M.L.S. - **Biologia Celular**, 1 ed., São Paulo, Livraria Atheneu, 1987. p.5-41.
- WALLACE, S.; GIANTURCO, C.; ANDERSON, J.H.; GOLDSTEIN, H.M.; DAVIS, L.J.; BREE, R.L. - Therapeutic vascular occlusion utilizing steel coil technique: clinical applications. **A.J.R.**, **127**:381-7, 1976.
- WHITE, R.I.Jr.; KAUFMAN, S.L.; BARTH, K.H.; DECAPRIO, V.; STRANDBERT, J.D. - Embolotherapy with detachable silicone balloons. **Radiology**, **131**:619-27, 1979.
- WHITE, R.I.Jr.; STRANDBERG, J.V.; GROSS, G.S.; BARTH, K.H. - Therapeutic embolization with long-term occluding agents and their effects on embolized tissues. **Radiology**, **125**:677-87, 1977.
- WIRTHLIN, L.S.; GROSS, W.S.; JAMES, T.P.; SADIQ, S. - Renal artery occlusion from migration of stainless steel coils. **J.A.M.A.**, **243**:2064-5, 1980.

WOODSIDE, J.; SCHWARZ, H.; BERGREEN, P. - Peripheral embolization
complicating bilateral renal infarction with gelfoam. **A.J.R.**, 126:1033-4, 1976.

9. Apêndices

Apêndice 1. Cronologia dos procedimentos cirúrgicos

Cão	Peso (kg) *	Sexo	Artéria renal embolizada	Volume de colágeno	Data da embolização	Data do sacrifício
1	11,3	fêmea	esquerda	2,2 ml	08/08/95	10/08/95
2	5,5	fêmea	direita	1,2 ml	15/08/95	17/08/95
3	9,5	macho	esquerda	2,4 ml	29/08/95	31/08/95
4	14,2	macho	esquerda	1,5 ml	17/10/95	19/10/95
5	12,1	macho	esquerda	3,0 ml	11/12/95	13/12/95
6	9,8	macho	direita	2,5 ml	11/12/95	13/12/95
7	10,2	fêmea	direita	2,0 ml	12/12/95	14/12/95
8	12,9	fêmea	esquerda	3,0 ml	12/12/95	14/12/95
9	11,0	macho	direita	1,6 ml	14/08/96	04/09/96
10	11,0	fêmea	esquerda	2,0 ml	22/08/96	12/09/96
11	13,0	fêmea	direita	5,0 ml	22/08/96	12/09/96
12	11,0	macho	direita	1,0 ml	04/09/96	25/09/96
13	21,0	fêmea	direita	2,5 ml	12/09/96	03/10/96
14	14,5	fêmea	esquerda	2,0 ml	20/09/96	11/10/96
15	16,0	macho	direita	3,0 ml	02/10/96	23/10/96
16	14,5	fêmea	direita	2,0 ml	16/10/96	06/11/96

* No início do estudo

Apêndice 2. Drogas utilizadas no estudo

Nilperidol®:

<i>Composição</i>	Citrato de fentanil (equivalente a 0,05 mg de fentanil base) ..	0,0785 mg
	Droperidol	2,5 mg
	Veículo estéril q.s.p.	1 ml

Apresentação Ampola de 2 ml

Fornecedor Cristália Produtos Farmacêuticos Ltda.
Rodovia Itapira-Lindóia, km 14, Itapira, São Paulo.

Tiopental®:

<i>Composição</i>	Thiopental Sódico	1,0 g
-------------------	-------------------------	-------

Apresentação Frasco-ampola de 1,0 g

Fornecedor Cristália Produtos Farmacêuticos Ltda.
Rodovia Itapira-Lindóia, km 14, Itapira, São Paulo.

Pentabiótico Veterinário Pequeno Porte®:

<i>Composição</i>	Penicilina G benzatina	600.000 UI
	Penicilina G procaína	300.000 UI
	Penicilina G potássica	300.000 UI
	Sulfato de dihidroestreptomicina base	250 mg
	Sulfato de estreptomicina base	250 mg

Apresentação Frasco-ampola de 3 ml

Fornecedor Laboratórios Wyeth Ltda.
Rodovia Anchieta, km 14, S.Bernardo do Campo, São Paulo

Dipirona®:

<i>Composição</i>	Dipirona sódica.....	1000 mg
-------------------	----------------------	---------

Apresentação Frasco-ampola de 2 ml

Fornecedor FURP - Fundação para o Remédio Popular
Rua Endres, 1800, Guarulhos, São Paulo.

Apêndice 3. Equipamentos especiais utilizados no estudo

Doppler Vascular DV-10®:

<i>Especificações</i>	Consumo de energia:	22 mA
	Transdutor:	10 MHz
<i>Fornecedor</i>	Microem Produtos Eletrônicos Ltda. Rua Itanhaem, 1338, Ribeirão Preto, São Paulo.	

Apêndice 4. Medidas renais (em milímetros)

Grupo 1 - Medida dos diâmetros renais pré e pós-embolização com gel de colágeno

Cão	Diâmetro longitudinal		Diâmetro ântero-posterior	
	Pré	Pós	Pré	Pós
1	53,0	51,0	26,0	24,0
2	46,0	50,0	21,0	24,0
3	48,0	47,0	24,0	24,0
4	58,0	65,0	32,0	33,0
5	53,0	56,0	27,0	27,0
6	52,0	55,0	24,0	29,0
7	51,0	56,0	24,0	27,0
8	61,0	60,0	27,0	25,0

Grupo 1 - Medida dos diâmetros renais pré e pós-infusão de solução de NaCl 0,9 %

Cão	Diâmetro longitudinal		Diâmetro ântero-posterior	
	Pré	Pós	Pré	Pós
1	53,0	55,0	30,0	27,0
2	46,5	48,5	27,0	27,0
3	42,0	49,0	24,0	23,0
4	61,0	67,0	32,0	35,0
5	52,0	57,0	28,0	27,0
6	54,0	55,0	27,0	26,0
7	49,0	50,0	26,0	26,0
8	60,0	68,0	25,0	32,0

Apêndice 4. Medidas renais (em milímetros) (continuação)**Grupo 2 - Medida dos diâmetros renais pré e pós-embolização com gel de colágeno**

Cão	Diâmetro longitudinal		Diâmetro ântero-posterior	
	Pré	Pós	Pré	Pós
9	55,0	55,0	26,0	27,0
10	54,0	40,0	25,0	21,0
11	73,0	77,0	36,0	33,0
12	56,0	46,0	24,0	21,0
13	64,0	57,0	29,0	22,0
14	58,0	45,0	33,0	19,0
15	61,0	69,0	40,0	32,0
16	61,0	59,0	32,0	26,0

Grupo 2 - Medida dos diâmetros renais pré e pós-infusão de solução de NaCl 0,9 %

Cão	Diâmetro longitudinal		Diâmetro ântero-posterior	
	Pré	Pós	Pré	Pós
9	51,0	51,0	26,0	29,0
10	55,0	55,0	30,0	32,0
11	79,0	69,0	38,0	37,0
12	56,0	52,0	25,0	31,0
13	64,0	64,0	32,0	36,0
14	64,0	64,0	30,0	34,0
15	61,0	73,0	30,0	42,0
16	62,0	63,0	34,0	35,0