

MARIA ELVIRA PIZZIGATTI CORRÊA

ADESIVOS DE FIBRINA
AVALIAÇÃO CLÍNICA E EXPERIMENTAL

Orientadora: Dra. Maria Lourdes Barjas-Castro

Co-Orientadora: Profa. Dra. Joyce Maria Annicchino Bizzacchi



UNICAMP
2005

ADESIVOS DE FIBRINA

AVALIAÇÃO CLÍNICA E EXPERIMENTAL

Aluna: Maria Elvira Pizzigatti Corrêa

Orientadora: Dra. Maria Lourdes Barjas-Castro

Co-Orientadora: Profa. Dra. Joyce Maria Annicchino Bizzacchi

*Tese apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de Campinas para
obtenção do título de Doutor em Clínica Médica, área de
Clínica Médica.*

Campinas

2005

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA

BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

C817a

Corrêa, Maria Elvira Pizzigatti

Adesivos de fibrina avaliação clínica e experimental. / Maria Elvira Pizzigatti Corrêa. Campinas, SP : [s.n.], 2005.

Orientadores: Maria Lourdes Barjas Castro, Joyce Maria Annicchino Bizzacchi

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

1. Hemofilia. 2. Cicatrização de feridas. 3. Regeneração Tecidual Guiada. 4. Adesivo Tecidual de Fibrina. I. Castro, Maria Lourdes Barjas. II. Bizzacchi, Joyce Maria Annicchino. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV Título.

(Slp/fcm)

DEDICATÓRIA

Ao meu irmão Cláudio (*in memoriam*), por quem tudo isso começou....
A minha família, Pedro e Irene pelo apoio incondicional, aos meus irmãos Pedro
(Adriana) e Edson (Carla) e aos meus sobrinhos, Geórgia, Tiago, Clara e Marina,
que trouxeram brilho novo à minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao Hemocentro, na pessoa da Profa. Dra. Joyce Maria Annichino-Bizzacchi, coordenadora desta Instituição, aos docentes, Prof. Dr. Cármino Antonio de Souza, Profa. Dra. Irene Lorand-Metze, Profa. Dra. Sara Terezinha Olalla Saad e ao Prof. Dr. Fernando Ferreira Costa, pelo constante incentivo e apoio.

A Prof. Dra. Maria de Lourdes Barjas-Castro (orientadora e grande amiga) pela supervisão, orientação e ensinamentos, mas principalmente, pela sua amizade e apoio em tantos momentos que passamos durante esses anos de trabalho em conjunto.

Às técnicas e biólogas do Laboratório de Hemostasia do Hemocentro, Ucha e Deva, Cristina, Andréa e Tânia pela extrema paciência que tiveram em todo desenvolvimento do projeto com a cola de fibrina.... Vocês são incríveis.

Ao Departamento de Diagnostico Oral, área de Patologia na pessoa do Prof. Dr. Oslei Paes de Almeida por toda ajuda, idéias e sugestões a esse trabalho. Aos biólogos, técnicos do Departamento, aos pós-graduandos, principalmente ao Dr. Danyel e ao Dr. Eduardo, pelo auxílio no desenvolvimento dos trabalhos experimentais.

Aos pacientes que entraram no estudo, pela sua coragem, bravura e apoio ao desenvolvimento do trabalho com a cola de fibrina.

Aos responsáveis pelo Biotério Central da Unicamp e pelo Biotério da FOP, por toda paciência e disposição para ajudar no desenvolvimento do trabalho.

Ao Prof. Dr. Jacks Jorge Jr, amigo de todas as horas, incentivador incansável e grande responsável pelo meu desenvolvimento.

Aos estagiários do Ambulatório de Odontologia do Hemocentro.... gostaria de agradecer a todos vocês, por tudo o quanto vocês têm me ajudado durante esses anos de convívio, aprendizado e, principalmente, amizade. Vocês fazem parte desse trabalho e por isso, sou extremamente grata a todos vocês.

À Gislaine e Wagner, Vagner, Margareth, Aranha, Afonso, Kátia, Katinha, Márcia todos doutores de corpos, mas amigos e irmãos em almas.... obrigada pela amizade.

Ao Roberto Zuli, ao Marcelo Correa Alves e ao Gabriel Coelho, pela ajuda nas avaliações estatísticas dos trabalhos.

Ao Leonardo e à Arlete, do Apoio Didático do Hemocentro, pela ajuda na formatação dessa tese.

Às Enfermeiras e técnicas do Ambulatório de Procedimentos Especializados, pelo apoio, bom humor, pelo carinho que tratam os pacientes e pela amizade.

A todos os funcionários, amigos e colegas do Hemocentro e da FOP/Unicamp, pela cooperação, apoio e paciência. Vocês tornam nossos dias, nossas idas e vindas muito mais prazerosas.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	iv
AGRADECIMENTOS	v
LISTA DE ABREVIATURAS.....	x
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABELAS	xiv
RESUMO.....	xvi
ABSTRACT	xix
INTRODUÇÃO	21
1 – Selante de Fibrina, Adesivo de Fibrina e Cola de fibrina.....	22
2 – Histórico do Selante de Fibrina	23
3 – Produção dos Adesivos Teciduais	24
3.1 – Triagem de doadores	24
3.2 – Triagem Sorológica para Doenças Infecciosas Transmitidas pelo Sangue.....	24
3.3 – Preparo do Plasma Fresco Congelado (PFC)	25
3.4 – Preparo da Cola de fibrina.....	25
3.5 – Preparo do Selante de Fibrina Comercial.....	27
4 – Efeitos Adversos do Uso dos Adesivos Teciduais.....	30
5 – Aplicabilidade do Selante de Fibrina	31
5.1 – Uso dos Selantes de Fibrina e das Colas de Fibrina em Procedimentos Cirúrgicos Odontológicos	31
5.2 – Estudo Experimental com Adesivos Teciduais no Processo de Reparação Tecidual	33
OBJETIVOS	39
CAPÍTULO I – Estudo Clínico Do Uso Da Cola de fibrina Após Extrações Dentárias Em Pacientes Hemofílicos	41
Pacientes e Métodos.....	42
I.1 – Pacientes.....	43

I.1.2 – Avaliação Clínica	43
I.1.3 – Protocolo Cirúrgico	47
I.1.4. Critérios de Avaliação do Procedimento.....	49
I.1.5 – Seguimento do Paciente	50
I.2 – Avaliação Estatística	50
I.3 – Controles de Qualidade da Cola de fibrina Autóloga.....	50
I.3.1 – Microbiológico	50
I.3.2 – Quantificação do Fibrinogênio na Cola de fibrina.....	51
<i>Resultados Clínicos</i>	53
I.4 – Uso da Cola de fibrina Autóloga em Extrações Dentárias de Pacientes Hemofílicos.....	54
I.5 – Resultados Microbiológicos.....	57
I.6 – Resultados Bioquímicos	57
<i>Discussão</i>	58
I.7 – Estudo Clínico do uso da Cola de fibrina Autóloga em Extrações Dentárias em Pacientes Portadores de Coagulopatias Hereditárias	59
CAPÍTULO II – Estudo Experimental Da Reparação Tecidual Em Pele Utilizando O Selante de Fibrina	66
Casuística, Materiais e Métodos	67
II.1 – Casuística.....	68
II.2 – Avaliação Histomorfométrica.....	69
II.3 – Avaliação Estatística	69
<i>Resultados</i>	70
II.4 – Resultados do Estudo Experimental da Reparação Tecidual em Pele	71
II.4.1 – Grupo Controle	71
II.4.2 – Grupo com Selante de Fibrina Comercial.....	71
II.5 – Resultados Estatísticos	75
<i>Discussão</i>	80
II.6 – Estudo Experimental da Reparação Tecidual em Pele utilizando Selante de Fibrina	81
CAPÍTULO III – Estudo Experimental Da Reparação Alveolar Utilizando Cola de fibrina E Selante de Fibrina Comercial	85

Causuística, Materiais e Métodos	86
III.1 – Causuística.....	87
III.2 – Avaliação Histomorfométrica.....	88
III.3 – Avaliação Estatística	89
<i>Resultados</i>	90
III.4 – Resultados da Avaliação Experimental da Reparação Alveolar utilizando Cola de fibrina e Selante Comercial	91
III.5 – Resultados Histológicos	91
III.5.1 – Grupo Controle	91
III.5.2 – Grupo com Selante de Fibrina Comercial.....	91
III.5.3 – Grupo com Cola de fibrina.....	92
III.6 – Resultados Estatísticos	97
III.6.1 – Região Posterior.....	97
III.6.2 – Região Anterior.....	101
III.6.3 – Estudo das médias das áreas de neoformação óssea das regiões “Anterior” e “Posterior”.....	104
Discussão.....	106
III.7 – Estudo Experimental da Reparação Alveolar utilizando Cola de fibrina e Selante de Fibrina Comercial	107
CONCLUSÕES	111
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	114
ANEXOS	129

LISTA DE ABREVIATURAS

Lista de Abreviaturas

HG = hemofilia grave

HM= hemofilia moderada

HL= hemofilia leve

IG = índice gengival

IP = índice de placa

CPOD = Índice de Dentes Cariados, Perdidos e Obturados

C = Dentes Cariados

P = Dentes Perdidos

O = Dentes Obturados

D = Número de Dentes

VO = via oral

EV = via endovenosa

HE = hematoxilina e eosina

FS = *fibrin sealant*

PFC = plasma fresco congelado

UI / IU = unidades internacionais (*international units*)

TGF- β 2 = fator de crescimento tecidual - β 2

dL= decilitro (s)

mL = mililitro (s)

mg = miligrama

mg% = miligramas por cento

Kg = quilograma

OMS = Organização Mundial da Saúde

S = superfície dentária

M = molaridade (mol)

mM= milimol

RPM = rotações por minuto

L = litro (s)

pH= potencial hidrogeniônico

TTPA = tempo de tromboplastina parcialmente ativada

TPAP = tempo de protombina e ativação de protrombina

TT = tempo de trombina

FOP = Faculdade de Odontologia de Piracicaba

CEEA = Comissão de Ética na Experimentação Animal

EDTA = ácido etileodiaminotetracético

GC = grupo controle

CF = grupo cola de fibrina

SF = grupo Selante de Fibrina

GL = grau de liberdade

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Rede Plasmática da Coagulação evidenciando a via final comum com a ativação do fibrinogênio pela trombina.....	22
Figura 2: Fotos microscópicas (X10) obtidas 7 dias no pós-cirúrgico.	74
Figura 3: Fotos microscópicas (X10) obtidas 14 dias do pós-cirúrgico.	74
Figura 4: Fotos microscópicas obtidas 28 dias do pós-cirúrgico.	74
Figura 5: <i>Boxplots</i> mostrando o número de células encontradas nos grupos com Selante de Fibrina e Grupo Controle.	77
Figura 6: <i>Boxplots</i> mostrando o número de células encontradas nos grupos com Selante de Fibrina e Grupo Controle (dados não normalizados).	78
Figura 7: <i>Boxplots</i> mostrando o número de células encontradas por grupos (com Selante de Fibrina e Grupo Controle), normalizados pelas medianas dos controles e agrupadas em relação ao dia da coleta.	78
Figura 8: <i>Boxplot</i> mostrando as diferenças ponto a ponto do número de células dos grupos com Selante de Fibrina e Grupo Controle, normalizados pelos valores de controle para cada dia de coleta (1, 7, 14, 21 e 28 dias) após a cirurgia.....	79
Figura 9: <i>Boxplots</i> mostrando as diferenças ponto a ponto do número de células dos grupos com Selante de Fibrina e Grupo Controle, normalizados pelos valores de controle e dias de coleta agrupados.	79
Figura 10: Foto da tela do programa KS-400(Carl Zeiss, Jena – Jena, Germany), mostrando a delimitação da área de osso neoformado.....	89
Figura 11: Fotos microscópicas obtidas após as primeiras 24 horas do pós-cirúrgico (X25).	94
Figura 12: Fotos microscópicas obtidas no 7 ^o dia pós –cirúrgico (X25).	94
Figura 13: Fotos microscópicas obtidas no 14 ^o dia pós –cirúrgico (X25).	94
Figura 14: Fotos microscópicas obtidas no 28 ^o dia pós –cirúrgico (X25).	94
Figura 15: Fotos microscópicas obtidas no 7 ^o dia pós-extração dentária (X25). ...	96
Figura 16: Fotos microscópicas obtidas no 14 ^o dia pós-extração dentária (X25). .	96

Figura 17: Fotos microscópicas obtidas no 28 ^o dia pós-extração dentária (X25). .	96
Figura 18: Médias e intervalos de confiança obtidas a partir das áreas de neoformação óssea dos grupos Cola de fibrina, Selante de Fibrina e Grupo Controle, da variável “Posterior”. Barras com a mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey, $\alpha=0,05$). .	99
Figura 19: Médias e intervalos de confiança obtida a partir das áreas de neoformação ósseas dos grupos Cola de fibrina, Selante de Fibrina e Grupo Controle, da variável “Posterior”. Barras com a mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey, $\alpha=0,05$) .	100
Figura 20: Regressões polinomiais quadráticas das áreas de neoformação óssea dos Grupos Selante de Fibrina, Cola de Fibrina e Grupo controle, na variável “Posterior” em função do Tempo.	100
Figura 21: Médias e intervalos de confiança das áreas de neoformação óssea dos Grupos Selante de Fibrina, Cola de fibrina e Grupo Controle, da região “Anterior” nos diferentes níveis do fator “Tempo”. Barras com a mesma letra não se diferem entre si. Teste de Tukey ($\alpha=0,05$).....	102
Figura 22: Médias e intervalos de confiança das áreas de neoformação óssea da região “Anterior” nos diferentes níveis do fator “Tempo”. Barras com a mesma letra não se diferem entre si. Teste de Tukey ($\alpha=0,05$).....	103
Figura 23: Regressões polinomiais quadráticas dos resultados das áreas de neoformação óssea da região “Anterior ” em função do Tempo.	103
Figura 24: <i>Boxplot</i> representando a média das áreas de neoformação óssea obtidas nos grupos Cola de fibrina, Selante Comerciaria e Grupo Controle em cada período estudado.....	105
Figura 25: Gráfico onde os pontos representam as médias totais obtidas das áreas de neoformação óssea, obtidas das porções “Anterior” e “Posterior” dos grupos Cola de fibrina, Selante de Fibrina e Grupo Controle. Gráfico A mostra a variação da neoformação óssea em relação aos diferentes grupos estudados, enquanto o Gráfico B a neoformação óssea em relação ao Tempo.	105

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Selantes de Fibrina Comerciais, composições, apresentações e meios de inativação viral.....	29
Tabela 2: Critérios para o Índice Gengival (Silness & Løe &, 1963).....	44
Tabela 3: Valores numéricos associados ao grau de gengivite (adaptada de Carranza & Newman).....	44
Tabela 4: Critérios para o Índice de Placa Silness & Løe, 1964.....	45
Tabela 5: Pacientes e episódios de sangramento segundo a gravidade da hemofilia; número de dentes extraídos e número de raízes dentárias	55
Tabela 6: Correlação entre os índices CPOD, Índice de Placa e Índice Gengival e episódios de sangramento.	56
Tabela 7: Concentração de Fibrinogênio no plasma submetido a técnica de precipitação do fibrinogênio (Fibriquik®, Organon Teknica).....	57
Tabela 8: Achados histológicos em pele. Estudo experimental da reparação tecidual em pele, nos Grupos Controle e Selante de Fibrina Comercial.	75
Tabela 9: Resultados histomorfométricos do estudo experimental da reparação tecidual em pele, nos períodos de 24 horas, 7, 14, 21 e 28 dias após a cirurgia nos grupos com Selante de Fibrina e Grupo Controle.	76
Tabela 10: Mensuração das diferenças ponderadas entre os números de células inflamatórias encontradas nos Grupos de Selante de Fibrina e Controle do estudo experimental da reparação tecidual em pele.	76
Tabela 11: Análise da variâncias para um experimento inteiramente casualizado sobre a área de neoformação óssea alveolar, com arranjo fatorial dos Grupos Selante de Fibrina Comercial, Cola de fibrina e Tempo da região “Posterior”. ..	98
Tabela 12: Comparação das médias da área de neoformação óssea alveolar dos grupos Selante de Fibrina Comercial (Beriplast P®), Cola de fibrina e Grupo Controle da região Posterior, através das médias, desvios padrão e intervalos de confiança da variável “Posterior” - Teste de Tukey ($\alpha=0,05$).....	98

Tabela 13: Análise da variâncias para um experimento inteiramente casualizado sobre o Estudo Experimental da Regeneração Óssea Alveolar, com arranjo fatorial dos Grupos Cola de fibrina, Selante de Fibrina Comercial, Grupo Controle e “Tempo” da região “Anterior”.....	101
Tabela 14: Comparação das médias das áreas de neoformação óssea obtidas no Estudo Experimental da Regeneração Óssea Alveolar, nos grupos de Selantes de Fibrina, Grupo Cola de fibrina e Grupo Controle, através das médias, desvios padrão e intervalos de confiança da variável “Anterior” - Teste de Tukey ($\alpha=0,05$).....	102

RESUMO

Os adesivos teciduais são produtos originários de proteínas do plasma humano, utilizados como agentes hemostáticos em diferentes procedimentos cirúrgicos.

Objetivos: avaliar a influência da cola de fibrina como agente hemostático local após extrações dentárias em pacientes hemofílicos. Analisar a influência dos adesivos nos processos de reparação tecidual em pele e em alvéolo dentário em modelo animal.

Capítulo I

Pacientes e Métodos: Foram realizadas extrações dentárias em 31 pacientes hemofílicos, sem prévia terapia de reposição de fatores de coagulação. Os pacientes receberam antifibrinolítico oral (Ipsilon® - 200mg/kg, VO, 8/8 horas, por 7 dias). Foi realizada a avaliação da saúde bucal através dos índices: Gengival (IG); Índice de Placa (IP) e através do Índice CPOD (dentes cariados, perdidos e obturados). Após as extrações os alvéolos foram preenchidos com cola de fibrina autóloga. Os pacientes foram avaliados 24 horas após o procedimento. Resultados: em seis procedimentos (19,4%) foram observados sangramentos que foram controlados com reaplicação da cola de fibrina e dose única de fator de coagulação (um hemofílico grave, 3 hemofílicos moderados e em 2 hemofílicos leves). As médias dos índices IG, IP e CPOD foram, no grupo que sangrou, 1,7; 1,8; e 18 e, no que não apresentou sangramento, 1,8; 1,8; e 19, respectivamente. Conclusão: A cola de fibrina foi efetiva como agente hemostático local após extrações dentárias em pacientes hemofílicos, reduzindo significativamente a terapia de reposição de fatores de coagulação. As condições de saúde bucal, refletidas pelos resultados obtidos através da avaliação dos índices IG, IP e CPOD, demonstraram não haver influência desses fatores na eficácia da cola de fibrina autóloga como agente hemostático local.

Capítulo II

Material e Métodos: Vinte e cinco ratos Wistar foram submetidos a duas incisões em dorso de pele após anestesia intramuscular. Na incisão do lado direito, foram inseridas esponjas embebidas em Selante de Fibrina associado ao fator XIII e aprotinina (Beriplast P® - Aventis Beringher) e, na incisão do lado esquerdo, foram inseridas esponjas sem adesivos, como controle. Os animais foram divididos em cinco grupos e sacrificados nos dias 1, 7, 14, 21, e 28 após a cirurgia. O tecido do dorso do animal foi dissecado e preparado blocos para análise microscópica (HE). O estudo histomorfométrico foi realizado em microscópio KS400 (40x - Zeiss, Jena). A composição celular do tecido de granulação foi analisada randomicamente, em 20 campos de cada amostra. Os dados foram estatisticamente analisados usando o *Wilcoxon signed rank test*. Os resultados mostraram um elevado número de células inflamatórias na periferia do grupo com Selante de Fibrina comparado com o controle. Esses dados sugerem que o Selante de Fibrina induziu uma intensa e prolongada resposta inflamatória no processo cicatricial e que o Selante de Fibrina persistiu até 28 dias após a cirurgia.

Capítulo III:

Material e Métodos: Setenta e cinco ratos Wistar foram submetidos a extração do incisivo superior após anestesia intramuscular. Os ratos foram divididos em 3 diferentes grupos e os adesivos foram aplicados nos alvéolos. O primeiro grupo (25 ratos) recebeu cola de fibrina, o segundo grupo (25) Selante de Fibrina (Beriplast P® - Aventis Beringher) e o terceiro (25) foi considerado como grupo controle. Os animais foram sacrificados por inalação de éter nos dias 1, 7, 14, e 28 após a cirurgia. Os crânios foram dissecados, submetidos a descalcificação e preparados para análise microscópica (HE). O estudo histomorfométrico foi realizado pelo sistema KS400 (Zeiss, Jena). Neoformação óssea foi cuidadosamente delimitada em quatro regiões alveolares. Os dados foram analisados estatisticamente usando regressão múltipla, ANOVA e *Turkey test*. Os resultados mostraram que a neoformação óssea (μm^2) no grupo controle e com Selante de Fibrina foram estatisticamente similar, entretanto o alvéolo que

recebeu a cola de fibrina apresentou menor área de formação óssea comparada com o grupo que recebeu o Selante ($p=0,0034$). Concluindo, os adesivos de fibrina não influenciaram no processo de cicatrização óssea.

ABSTRACT

Fibrins adhesives are plasma protein derivate and it has been used in different surgical procedures as a local hemostatic agent.

Objectives: Evaluate the autologous fibrin glue as a local hemostatic agent after tooth extraction in hemophilia patients. Analyze the influence of the fibrin adhesives in a tissue healing process in skin and alveolar bone in an animal model.

Chapter I:

Patients and Methods: Thirty-one hemophilic patients were submitted to teeth extractions using autologous fibrin glue and an oral antifibrinolytic drug (epsilon-aminocaproic acid). Oral health indexes (plaque-PI, gingival-GI and decay-missing-filling-teeth-DMFT index) were evaluated before tooth extraction. Results: Post-surgical bleeding episodes were observed in 6 hemophilic patients (1 severe, 3 moderate and 2 mild type). The media of PI and GI in the bleeding group were 1.8 and 1.7, respectively and in the non-bleeding group 1.8 for both (PI: $p=0.8$; GI: $p=0.56$). The global DMFT index was 18 in the bleeding group and 19.6 in the non-bleeding group ($p=0.67$). Conclusion: The autologous fibrin glue was efficient as a local hemostatic agent after tooth extraction in hemophilia patients. The status of oral health did not interfere in the dental extraction bleeding of hemophilic patients.

Chapter II:

Material and Methods: Twenty-five Wistar rats were submitted to intramuscular anesthesia. Two incisions were realized on animal back and subcutaneous ventrally pockets were made. Into the right side a vegetal sponge imbibed in FS associated to factor XIII and aprotinina (BerioplastP®-Aventis-Beringher) was introduced and in the left side the sponge without FS was insert as control. Animals were divided in 5 groups and they were sacrificed on days 1, 7, 14, 21 and 28 after the surgery. Animal back tissues were dissected and blocks were prepared for light microscopy study (H&E). The morphometric study was performed by microscopy (KS400)-40x. Twenty randomized fields from each

sponge were analyzed and the cellular composition of the granulation tissue was examined with regard to its content of capillaries, granulation tissue cells and inflammatory cells. The data were statistically analyzed using the Wilcoxon signed rank test for the weight differences between the numbers of inflammatory cells for each animal in both groups. The results showed a high number of inflammatory cells in the peripheral area of the FS group comparing with the controls. The results suggest that the FS induced an intense and prolonged inflammatory response in wound healing, and the FS persisted up to 28 days after surgery.

Chapter III:

Material and Methods: Seventy-five Wistar rats were submitted to a superior incisor extraction after intramuscular anesthesia. The rats were divided into three different groups and the sealants were introduced into the alveolar bone. The first group (25) received human homemade fibrin glue, the second group (25) FS associated to factor XIII and aprotinin (Beriplast®—Aventis-Beringher) and the third group (25) was the control. Animals were sacrificed by prolonged diethyl inhalation on days 1, 7, 14 and 28 after surgery. Animal craniums were dissected and submitted to a decalcification, and prepared for H&E light microscopy. The morphometric study was performed by means of an interactive computerized image analysis system KS400 (Zeiss, Jena). New bone formation was carefully delimited in four different alveolar regions of each specimen. The data were statistically analyzed using multiple regression, ANOVA and Tukey's test. Results showed that the amount of alveolar bone formation (μm^2) in the control group and commercial sealant was statistically similar. However, alveolus receiving homemade sealant presented less amount of new bone formation comparing to commercial sealant and control group ($p=0.0034$). The present study demonstrated that fibrin adhesives did not influence on the alveolar healing process.

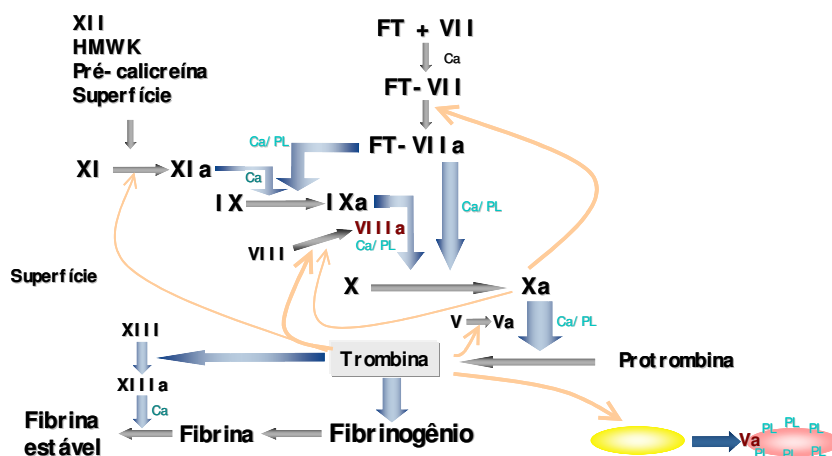
Introdução

1 – Adesivos de Fibrina: Selante de Fibrina e Cola de fibrina

Os Adesivos de Fibrina também conhecidos como Selantes de Fibrina e Cola de fibrina, são produtos originários de proteínas do plasma humano, que mimetizam a via final da rede de coagulação. Nesses produtos, o fibrinogênio é proteolicamente clivado e convertido em polímeros de fibrina pela ação da trombina. O Fator XIII, quando ativado pela trombina na presença de Ca^{+2} , reage com os polímeros de fibrina resultando um coágulo estável e insolúvel (Alving et al., 1995; Martinowitz & Spotnitz, 1997) (Figura 1).

Os Selantes de Fibrina são utilizados em diferentes campos cirúrgicos, como agentes hemostáticos, como indutores de processo de cicatrização, no selamento de cavidades e como meio de liberação de drogas em sítios cirúrgicos (Alving et al., 1995).

Figura 1: Rede Plasmática da Coagulação evidenciando a via final comum com a ativação do fibrinogênio pela trombina



FT= fator tecidual; Pl= plaqueta; Ca= íon cálcio; HMWK = cofator solúvel, zimôgeno de alto peso molecular; Fator a= fator ativado

2 – Histórico do Selante de Fibrina

A idéia do uso de componentes do plasma, no cuidado de feridas para realização da hemostasia local e auxiliar no processo de cicatrização, é remota ao período da Primeira Guerra Mundial (Grey, 1915). Posteriormente, Young & Medawar (1940) e Tarlov et al., (1943) mostraram sucesso na utilização de produtos plasmáticos na anastomose de nervos periféricos em animais. Entretanto, devido a pouca estabilidade e baixa adesão desses produtos, associados às técnicas cirúrgicas utilizadas na época, os resultados obtidos não foram satisfatórios.

Na década de 60, com o desenvolvimento do fracionamento de Cohn I (Cohn et al., 1946) e, conseqüentemente, com a melhora dos métodos de obtenção do crioprecipitado, os produtos compostos por fibrinogênio alcançaram uma melhor qualidade e seu uso começou a se diversificar entre as diferentes especialidades cirúrgicas (Alving et al., 1995). Matras et al., (1972 e 1973) descreveram a aplicação do Selante de Fibrina em reparo de nervo periférico em coelhos. Os resultados positivos demonstrados relativos à cicatrização e à melhora da capacidade de adesão, encorajaram o uso do produto em outros procedimentos cirúrgicos. O mesmo autor, Matras (1982) demonstrou a aplicabilidade do Selante de Fibrina como selador de cavidades ósseas em cirurgias bucomaxilofaciais, nas anastomoses de nervos faciais e em microcirurgias vasculares.

O primeiro Selante de Fibrina foi lançado na Europa na década de 80 (Alving, 1995). Nos EUA até a década de 90, os Selantes de Fibrina não eram comercializados, em função da revogação do seu uso pelo *Food and Drugs Administration (FDA)* em 1978 (Alving et al., 1995; Tock et al., 1998). Frente a essa dificuldade, outras fontes para obtenção de fibrinogênio foram utilizadas como a versão “*home made*” do Selante de Fibrina. Estes produtos podem ser obtidos a partir da doação autóloga ou alogênica de plasma ou de sangue total realizadas em Serviços de Hemoterapia (Bancos de Sangue) (Rousou et al., 1984; Dresdale et al., 1985; Alving et al., 1995). O plasma fresco congelado (Hartman et al., 1992) ou plasma rico em plaquetas (Oz M et al., 1992) em conjunto com a

trombina bovina comercial são também utilizados para obtenção do Selante de Fibrina.

3 – Produção dos Adesivos Teciduais

3.1 – Triagem de doadores

A triagem de doadores é um passo fundamental da coleta de sangue, que é normatizada internacionalmente pela AABB (*The American Association of Blood Bank- AABB 2002*), pela Legislação Européia (Legislação Européia e a Transfusão Sangüínea – Diretiva 2002/98/CE do Parlamento Europeu, 2005) e também pelas Diretrizes Brasileira, Resolução RDC 153 (ANVISA/2004).

Na triagem dos doadores, a história médica é normalmente obtida através de um questionário e de uma entrevista pessoal com um profissional de saúde de nível superior qualificado. Nessa entrevista são incluídas questões sobre fatores relevantes susceptíveis que possam contribuir para a identificação e exclusão de indivíduos cujas características possam constituir um risco para a saúde de terceiros, tais como a possibilidade de transmissão de doenças, ou um risco para a sua própria saúde (AABB 2002; RDC 153 ANVISA/MS; The Council of Europe, 2005).

3.2 – Triagem Sorológica para Doenças Infecciosas

Transmitidas pelo Sangue

O sangue total coletado passa por uma triagem laboratorial, onde são pesquisados anticorpos dirigidos contra o vírus da imunodeficiência adquirida tipo 1 e 2 (anti HIV-1 e anti HIV-2); antígeno de superfície para hepatite B (HBsAg), antígeno “core” da hepatite B (anti-HBc), vírus da hepatite C (anti-HCV); vírus linfotrópico T I e II (anti HTVL-I/II); *Trypanossoma cruzi* (doença de Chagas) e *Treponema pallidum* (sífilis) (RDC – 153/ MS).

3.3 – Preparo do Plasma Fresco Congelado (PFC)

O plasma fresco congelado (PFC) é um hemocomponente preparado a partir do sangue total ou do plasma coletado por aférese, congelado antes de 6 horas e armazenado a - 30°C com o objetivo de manter a viabilidade dos fatores de coagulação (AABB 2002). O PFC contém albumina, imunoglobulinas e fatores de coagulação (Fator VIII $\geq 70\%$ UI/100mL).

A partir do processamento do plasma, esse pode ser utilizado nas próprias unidades transfusionais, para produção de outros hemocomponentes, inclusive para o preparo da Cola de fibrina. O plasma excedente pode ser encaminhado para Plantas de Fracionamento Industrial para produção de diferentes hemoderivados, incluindo o preparo do Selante de Fibrina.

3.4 – Preparo da Cola de fibrina

A Cola de fibrina, também conhecida como *“home made”* é um hemocomponente produzido a partir do crioprecipitado obtido do PFC. O PFC utilizado para a produção da Cola de fibrina pode ser obtido a partir de doações autólogas ou alogênicas (Durham et al., 1987; Dresdale et al., 1985; Spotnitz et al., 1987; Howard et al., 1990).

3.4.1 – Obtenção do Crioprecipitado do Fator VIII

O crioprecipitado é um hemocomponente obtido a partir do PFC e contém Fator VIII (≥ 70 UI), Fator de von Willebrand (>100 UI), fibrinogênio (≥ 140 mg por unidade), Fator XIII e fibronectina (AABB, 2002).

3.4.2 – Purificação do Fibrinogênio

A obtenção do fibrinogênio a partir do crioprecipitado para a produção da cola de fibrina pode ser feita utilizando substâncias químicas como sulfato de amônia ou polietileno glicol (Dresdale et al., 1985; Siedentop et al., 1985; Durham et al., 1987; Spotnitz et al., 1987; Silberstein et al., 1988). De Moraes et al., (1998)

demonstraram a purificação do fibrinogênio a partir do uso da técnica de precipitação da glicina e obtiveram uma concentração final de 800mg/mL de fibrinogênio. A concentração final de fibrinogênio nas Colas de Fibrina (*“home made”*) pode variar de acordo com a metodologia empregada para a obtenção do mesmo (Reiss & Oz; 1996; De Moraes et al., 1998).

Outros métodos de obtenção do fibrinogênio por automação estão sendo utilizados, mas o impacto clínico dessas novas metodologias ainda não é claro na literatura (Tock et al., 1998).

3.4.3 – Trombina e outros componentes da Cola de fibrina

O Fibrinogênio é clivado pela trombina em monômeros de fibrina. Normalmente, a trombina utilizada na produção das Colas de Fibrina é de origem bovina e sua concentração pode variar conforme a origem e/ou fabricante, apresentando concentrações em média de 300UI/mL (Spotnitz, 2001). Normalmente, o cloreto de cálcio está contido nas soluções de trombina comercial, ou pode ser acrescida à trombina, até uma concentração de 40mM (De Moraes et al., 1998). Fator XIII também pode estar presente na cola de fibrina, em quantidades variáveis, na dependência do método de precipitação de fibrinogênio utilizado (Dresdale et al., 1985).

3.4.4 – Segurança da Cola de fibrina

O risco de transmissão de doenças infecto-contagiosas pelo uso das Colas de Fibrina está relacionado com a seleção de doadores, triagem sorológica para doenças infecto-contagiosas e com o método de inativação viral utilizado na sua produção. O fracionamento plasmático por si só é capaz de reduzir a infectividade de certas frações plasmática pela precipitação seletiva (Menache & Aronson, 1985). Crioprecipitados ou fibrinogênio (fração 1) parecem conter um pouco menos que 10% da infectividade viral comparando com o plasma inicial (Trepo et

al., 1998). A doação autóloga para a produção da Cola de fibrina Autóloga elimina os riscos de infecções cruzadas (Trepo et al., 1998).

3.5 – Preparo do Selante de Fibrina Comercial

O Selante de Fibrina Comercial é produzido a partir do “pool” de plasma obtido por aféreses ou produzidos a partir da centrifugação do sangue total.

3.5.1 – Inativação Viral

Os Selantes de Fibrina são submetidos a diferentes métodos de inativação viral como tratamento químico com solvente-detergente, nanofiltração, pausteurização, calor seco e úmido (Tabela 1) (Hilfenhaus & Weidmann, 1985; Joch, 2003).

O objetivo dos métodos de inativação viral é reduzir a infectividade do produto, pela quebra de proteínas ou do invólucro lipídico quando presente e/ou destruição do ácido nucléico viral. A inativação viral deve ser conseguida, preservando a integridade molecular das proteínas plasmáticas e, portanto, a função dos fatores de coagulação (Joch, 2003).

Inativação viral por meio físico pode ser conseguida por métodos de desnaturação proteica por calor e pelo uso da irradiação ionizante e ultravioleta (Tock et al., 1998). Os processos mais freqüentemente utilizados para inativação viral dos Selantes de Fibrina incluem o calor úmido por 10 horas a 60⁰C, calor seco por 72 horas a 80⁰C ou a nanofiltração associada ao calor seco por 1 hora a 100⁰C (Alving et al., 1995; Trepo et al., 1998; Busby, 1998).

3.5.2 – Fibrinogênio

A concentração de fibrinogênio presente nos Selantes de Fibrina Comerciais pode variar entre 40 – 110mg/mL de acordo com o fabricante (Alving, 1995; Martinowitz & Salt, 1996; Jackson, 2001).

3.5.3 – Trombina

Assim como na Cola de fibrina, a trombina é utilizada no Selante de Fibrina por clivar o fibrinogênio em fibrina, formando coágulo. A concentração de trombina nos Selantes de Fibrina Comerciais varia entre 40 a 1000UI/mL (Spotnitz, 2001). Ultimamente, a trombina humana tem substituído a trombina bovina presente nos Selantes de Fibrina em virtude do risco do desenvolvimento de inibidores do Fator V, conforme discutido posteriormente (Spotnitz, 2001).

3.5.4 – Inibidores da Fibrinólise

A presença de inibidores da fibrinólise nos Selantes de Fibrina Comerciais, está relacionada com a manutenção prolongada do coágulo no sítio cirúrgico (Tock et al., 1998).

A aprotinina é uma proteína derivada do tecido pulmonar bovino que inibe a ação da tripsina, da calicreína urinária, da plasmina e dos fatores teciduais plasmáticos durante a fibrinólise (Fritz & Wunderer 1983). Sua concentração nos Selantes de Fibrina pode estar acima de 10.000KUI/mL enquanto que, nas Colas de Fibrina, nem sempre está presente (Spotnitz, 2001). Outras apresentações comerciais utilizam o ácido tranexâmico, que age no terminal lisina do plasminogênio, como inibidor da fibrinólise, numa concentração de 92mg/mL (Martinowitz & Schulman, 1995; Villar et al., 2002).

Alguns autores questionam o uso de antifibrinolíticos, quer aprotinina ou o ácido tranexâmico, nos Selantes de Fibrina, pois acreditam que não há evidências clínicas que demonstrem a necessidade ou mesmo quaisquer benefício clínico do seu uso (Alving et al., 1995; Tock et al., 1998).

3.5.5 – Fator XIII

O Fator XIII está associado clinicamente à estabilização do coágulo (Duckert et al., 1960) e também está envolvido no processo de reparação tecidual, aumentando a proliferação de fibroblastos (Dickneite et al., 2002).

A concentração do Fator XIII nos Selantes de Fibrina varia nas diferentes apresentações comerciais entre 20 a 80 U/mL (Alving et al., 1995; Martinowitz & Salt, 1996; Jackson, 2001).

Apesar da importância fisiológica do FXIII na coagulação, a função do mesmo nos “coágulos exógenos” promovidos pelos Selantes, não está bem esclarecida (Tock et al., 1998).

A Tabela (1) mostra os diferentes Selantes de Fibrina Comerciais, suas composições e os processos de inativação viral a que são submetidos.

Tabela 1: Selantes de Fibrina Comerciais, composições, apresentações e meios de inativação viral.

Apresentação Comercial	Apresentação	Fibrinogênio mg/mL	Fator XIII Humano U/mL	Trombina Humana UI/mL	Aprotinina Bovina KIU/mL	Inativação Viral
Tissel®, Tissucol® (Duo-Baxter-Immuno, AG, Áustria)*	congelado	70 -110	10 – 50	500	3,000	Duas fases de vapor seco a 60°C e 80°C
Tissel®, Tissucol® (Kit Baxter-Immuno, AG, USA)	liofilizado	70 -110	10 – 50	500 e 4,0	3,000	Duas fases de vapor seco a 60°C e 80°C
Tissel® (VH kit Baxter-Immuno, AG, USA)	liofilizado	75 - 115	-	500	3,000	Duas fases de vapor seco a 60°C e 80°C
Beriplast P® (Aventis Berhing, Alemanha)*	liofilizado	90 (65 – 115)	60 (40 –80)	500	3,000	Duas fases de vapor seco a 60°C e 80°C
Hemassel® (APR, Haemacure, Canadá – Kit Baxter-Immuno)	liofilizado	75 - 115	-	500	3,000	Pasteurização e duas fases de vapor seco a 60°C e 80°C
Quixil® (Omrix Biopharmaceutical AS, Israel)*	congelado	60 –100	Nenhum	1,000	Ácido tranexâmico (92 mg/ml)	Solvente – detergente
Bolheal® (Kaketsuken Pharmaceutical – Japão)	liofilizado	80	75	250	1,000	Solvente/detergente e calor seco a 65°C por 144hrs
Biocol® (LFB-Lille – França)	liofilizado	127	11	558	3,000	Solvente/detergente
VI Guard® F.S. Vitex; VI Technologies (USA)	liofilizado	50 – 95	3 – 35	200	Nenhum	Solvente/detergente e luz ultravioleta

*Adaptado de Albala, 2003; *Selantes comerciais disponíveis no mercado Brasileiro*

4 – Efeitos Adversos do Uso dos Adesivos Teciduais

A trombina bovina, que freqüentemente fazia parte da composição dos adesivos teciduais, tem sido substituída pela trombina humana, já que existem publicações que evidenciam riscos do uso desse produto em humanos (Tock et al., 1998). Jackson et al., (1996) e Christie et al., (1997) relataram que os Selantes Comerciais produzidos com trombina bovina que continha fator V e calicreína parece ter sido responsável pelo desenvolvimento de inibidores do fator V e de casos de hipotensões graves (Berguer et al., 1991; Pusateri et al., 1997). Estudos experimentais utilizando trombina humana produzida pela American Red Cross mostraram hipotensão temporária em animais. A análise da trombina demonstrou a presença de contaminação pela calicreína, o que justificaria o quadro de hipotensão temporária (Tock et al., 1998).

O uso tópico de trombinas bovinas está relacionado ao aparecimento de coagulopatias adquiridas, secundárias à exposição ao Fator V bovino (Banninger et al., 1993), e reações anafiláticas (Tock et al., 1998). Zehnder & Leung (1990) descreveram um caso em que o paciente desenvolveu anticorpos contra trombina e Fator V, após exposição tópica ao produto. Os autores Rapaport et al., (1992) e Pusateri et al (1997) demonstraram através do teste de imunoeletroforese a presença de anticorpos contra trombina e Fator V, além de outros anticorpos que reconhecem antígenos bovinos. Estes resultados sugerem a existência de imunização adicional contra diversas proteínas presentes nos preparados de trombina bovina. Esses achados reforçaram a idéia da introdução da trombina humana nos Selantes de Fibrina Comerciais, enquanto as Colas de Fibrina ainda continuam utilizando o produto bovino nas suas formulações (Tock et al., 1998).

O uso de aprotinina bovina nos Selantes de Fibrina pode estar relacionado com a ocorrência de reações anafiláticas (Scheule et al., 1999; Beierlein et al., 2000).

A transmissão do Parvovírus B19 foi relatada por Hino et al., (2000) em um estudo envolvendo 3 pacientes expostos ao Selante de Fibrina que foi submetido ao calor seco como procedimento de inativação viral. Santagostino et al., (1997)

descreveram que o tratamento solvente/detergente não é suficiente para a inativação de vírus não envelopados e, que o uso concomitante do tratamento seco é recomendado para se alcançar índices elevados de segurança do produto.

5 – Aplicabilidade do Selante de Fibrina

O Selante de Fibrina vem sendo utilizado em diferentes procedimentos cirúrgicos como agente hemostático, selador de cavidades, estimulador do processo de reparação tecidual, além de veículo de liberação lenta de drogas ou agentes de crescimento (Stechison, 1992; Toma et al., 1992; Tawes et al., 1994; Sirieix et al., 1998; Chan & Boisjoly, 2004; Spotnitz & Prabhu, 2005).

5.1 – Uso dos Selantes de Fibrina e das Colas de Fibrina em Procedimentos Cirúrgicos Odontológicos

Matras (1982) descreveu o uso do Selante de Fibrina em cirurgias buco-maxilofaciais, e demonstrou apresentar alta capacidade de selamento de cavidade cística, ação hemostática local, incremento da capacidade de adesão em anastomose de nervos faciais e em microcirurgias vasculares.

Os Selantes de Fibrina têm sido utilizados como agente hemostático local após cirurgias orais em pacientes portadores de coagulopatias. Martinowitz & Schulman (1995) relataram o uso da cola de fibrina (*“home made”*) em procedimentos de extração dentária em pacientes portadores de coagulopatias hereditárias (hemofilia e doença de von Willebrand), coagulopatias adquiridas (pacientes em uso de anticoagulantes orais) e em outras deficiências de coagulação. Os autores demonstraram que o Selante de Fibrina possibilitou a realização de procedimentos cirúrgicos com redução do consumo de fatores de coagulação nas coagulopatias hereditárias e apresentou um bom efeito hemostático nos pacientes anticoagulados.

Rakocz et al., (1993) relataram o uso da Cola de fibrina em 135 extrações dentárias em 25 pacientes hemofílicos e em 43 portadores de outras coagulopatias, sem prévia reposição de fatores de coagulação. Os autores

descreveram que houve um segundo episódio de sangramento em 9 de 12 pacientes portadores de Hemofilia A Grave, e demonstraram que o aumento da concentração de trombina no selante, associado ao bochecho com antifibrinolítico (ácido tranexâmico), reduziu os episódios de sangramento para 3 de 25 pacientes. Somente os pacientes portadores de hemofilia apresentaram sangramentos secundários.

Correa et al., (1996) relataram 90 procedimentos de extração dentária em 30 pacientes Hemofílicos e em 10 pacientes portadores da Doença de von Willebrand. A Cola de fibrina foi utilizada como meio auxiliar de hemostasia local após as extrações dentárias. Os pacientes foram divididos em dois grupos, um grupo de pacientes recebeu uma dose previa de terapia de fatores de coagulação (50UI/Kg) associado com uso da cola de fibrina após as exodontias. Outro grupo, não recebeu terapia de reposição de fatores de coagulação prévia, somente a cola de fibrina foi utilizada como meio de hemostasia local. Os resultados do trabalho mostraram que no grupo onde foi utilizada a terapia de reposição associada ao uso da cola de fibrina, das 42 extrações feitas, 32 (76%) não apresentaram sangramento secundário. No grupo onde somente a cola foi utilizada, foram realizadas 48 exodontias onde 41 (85%) não apresentaram sangramento secundário, o que foi estatisticamente significativo.

Isarangkura et al., (1999) relataram o uso da cola de fibrina em 145 diferentes procedimentos cirúrgicos (cirurgias cardíacas, extrações dentárias, cirurgias ortopédicas) realizadas em pacientes com diversas coagulopatias. Nesse grupo, foram realizadas 43 extrações dentárias e somente em 3 (7%) houve necessidade de terapia de reposição de fatores de coagulação para controle de episódios de sangramentos secundários. Os autores ainda chamaram atenção que o uso da cola de fibrina possibilitou a realização desses procedimentos, reduzindo significativamente o custo final dos mesmos.

Wepner et al., (1986) em um trabalho retrospectivo englobando um período de 8 anos (1977 a 1985) avaliaram o uso do Selante de Fibrina Comercial em 1143 procedimentos cirúrgicos orais realizados em 293 pacientes sob anticoagulação oral, 54 hemofílicos, 14 portadores da Doença de von Willebrand, 61 pacientes portadores de outras coagulopatias e em 12 pacientes não

coagulopatas. Os autores concluíram que para aqueles pacientes coagulopatas, o uso do Selante de Fibrina possibilitou a realização dos procedimentos com segurança, não havendo necessidade da retirada da medicação anticoagulante. Os autores relataram que a obtenção da hemostasia para os pacientes hemofílicos, mesmo com o uso do selante, foi mais difícil. Dezesesseis deles (29%) apresentaram sangramento secundários às exodontias, sendo necessário a terapia de reposição posteriormente aos procedimentos.

Piot et al., (2002) relataram o uso de Selante de Fibrina Comercial em 103 extrações dentárias em 45 pacientes hemofílicos; 32 pacientes portadores da Doença de von Willebrand e em 16 pacientes portadores de outras doenças hemorrágicas. Os pacientes plaquetopênicos receberam transfusões de plaquetas e os hemofílicos, terapia de reposição de fatores de coagulação previamente aos procedimentos. O Selante de Fibrina Comercial foi utilizado em todos os procedimentos. Os resultados demonstraram que em apenas dois procedimentos em pacientes hemofílicos apresentaram sangramentos secundários.

5.2 – Estudo Experimental com Adesivos Teciduais no Processo de Reparação Tecidual

Os Selantes de Fibrina têm sido utilizados em diferentes estudos experimentais para avaliação de sua influência na reparação tecidual. Os Selantes são utilizados em suas fórmulas originais ou como veículos de introdução de outros elementos que possam interferir no processo cicatricial.

Dinges et al., (1986), realizaram um estudo experimental, histomorfométrico da cicatrização epitelial em ratos recebendo adriamicina endovenosa e aplicação local de Selante de Fibrina. Os autores demonstraram que o grupo que recebeu adriamicina apresentou um retardo no processo cicatricial, mesmo na presença do selante. No grupo tratado somente com o selante, foi observado um grande aumento da formação de tecido de granulação constituído basicamente por fibroblastos. Apesar do processo inflamatório intenso, a composição celular não mostrou ter sido alterada pela presença do adesivo.

Romanos & Strub, (1998) estudaram a influência do Selante de Fibrina na matriz extracelular assim como as alterações da matriz de tecido conectivo durante o processo de cicatrização de derme de ratos. Os resultados demonstraram que o Selante de Fibrina era biocompatível, e não produziu um processo inflamatório extenso na matriz. A neoformação vascular, a formação de interface de tecido conectivo epitelial com alta estabilidade, assim como a formação de matrizes com alta resistência contra enzimas proteolíticas (colagenases) também podem sofrer influência do Selante de Fibrina.

Scardino et al., (1999) avaliaram histologicamente a cicatrização epitelial sob influência de dois selantes diferentes, um com produto derivado de plasma humano e outro, derivado plasma bovino. Os autores mostraram a presença de um infiltrado inflamatório crônico em ambos grupos, de intensidade leve a moderada. A resposta inflamatória foi mais persistente no grupo que utilizou o selante de derivados bovinos, provavelmente relacionada à diferença de filogenia entre os produtos comerciais utilizados e o modelo animal escolhido para o trabalho.

Grant et al., (2002) estudaram a influência de cultura de ceratinócitos autólogos na cicatrização de pele utilizando a cola de fibrina autóloga como veículo das células. Os autores compararam essa mistura de ceratinócitos e cola, com um grupo controle que recebeu somente a cola de fibrina. Os resultados demonstraram que após quatro dias da cirurgia houve formação de colônias de ceratinócitos no leito cirúrgico. Após 14 dias foi observada a formação de um tecido cicatricial no grupo que recebeu a mistura de ceratinócitos com a cola, enquanto que não foi observado o mesmo padrão de cicatrização no grupo que recebeu somente a cola. Os autores sugerem que a cola pode ser um veículo eficiente na liberação de cultura de células epiteliais para potencializar o processo cicatricial.

Petratos et al., (2002) utilizaram o Selante de Fibrina associado ao fator de crescimento- $\beta 2$ (TGF- $\beta 2$) na cicatrização de pele em porcos, comparando com o processo cicatricial promovido por sutura e com o uso de apenas Selante de Fibrina. Os autores demonstraram que, três dias após a cirurgia houve reversão dos efeitos inibitórios do Selante de Fibrina na força de tensão do processo

cicatricial no grupo que recebeu o Selante de Fibrina associado ao fator de crescimento- β 2 (TGF- β 2), comparado com os dois outros grupos. Os autores observaram remanescentes do Selante de Fibrina no grupo que recebeu esse produto até o sétimo dia após a cirurgia sem a organização de um tecido cicatricial conforme observado nos outros grupos. No grupo que recebeu o Selante de Fibrina associado ao fator de crescimento- β 2 (TGF- β 2) e no grupo de sutura, foi observada a presença de infiltração por fibroblastos e deposição de matriz extracelular. Com esses resultados, os autores sugeriram que a adição do TGF- β 2 ao Selante de Fibrina pode promover uma reparação tecidual superior quando comparado com os outros grupos.

Marx & Mou, (2002), em estudo de cicatrização epitelial em ratos, demonstraram que a presença da aprotinina do Selante de Fibrina atrasa a degradação da fibrina e, concomitantemente, a regeneração tecidual. Os autores ainda relataram a presença de um intenso infiltrado inflamatório na derme até o quarto dia do estudo que se normalizou ao redor do 7^o dia de avaliação onde observaram completa re-epitelização, com proeminente fibroplastia, deposição de colágeno e neo-vascularização ao longo da linha de incisão. Os autores ainda concluem que a presença do Fator XIII no Selante de Fibrina não contribui significativamente na adesão tecidual.

5.2.2 – Reparação Óssea

Os efeitos do Selante de Fibrina no processo de reparação tecidual óssea, principalmente em osso alveolar e, na efetividade do incremento ósseo induzido pelo Selante não estão ainda definidos pela literatura (Soffer et al., 2003).

Estudos de implantes ósseos heterólogos em coelhos (Bosch et al., 1980) e cortical óssea homóloga (Greco et al., 1988) mostraram que o Selante de Fibrina produziu um reparo ósseo precoce. As propriedades físicas do “calo ósseo” parecem ser maiores quando essas são oriundas do Selante de Fibrina (Keller et al., 1985), mas esse efeito parece ser breve, pois após 5 ou 7 semanas, os ossos parecem ter a mesma resistência final (Bohler J, 1982; Bieli, 1993). Em contraste, Lucht et al., (1986) observaram que a adição do Selante de Fibrina não afetou a

formação óssea da tíbia, quando preenchida por osso autólogo em cães. Por outro lado, o uso de fibrina gerou uma ação inibidora natural no reparo osteocondral em ratos (Brittberg et al., 1997).

Okamoto et al., (1995) avaliaram o processo de cicatrização em tíbia de 25 ratos. Os autores dividiram os animais em dois grupos, onde o primeiro recebeu somente o Selante de Fibrina (Tissucol® - Baxter, Alemanha) e o outro grupo, recebeu Selante de Fibrina associado ao ácido épsilon amino-capróico (EACA®). Os animais foram sacrificados em 1, 3, 7, 14 e 21 dias após a cirurgia. Os autores demonstraram que o selante não interferiu no processo cicatricial ósseo, quer sozinho ou em conjunto com o antifibrinolítico, e que em ambos os grupos, houve reabsorção completa dos materiais até 21 dias do pós-cirúrgico.

O processo de regeneração óssea alveolar em humanos foi descrito por Amler (1969). Segundo o autor, que estudou a seqüência da regeneração alveolar em cadáveres, a fase inicial se caracteriza pela presença da formação do coágulo intra-alveolar, seguido pela substituição desse coágulo por tecido de granulação após aproximadamente 7 dias da exodontia. Nesse período também pode aparecer osteóides na base do alvéolo. A substituição do tecido de granulação por tecido conectivo se dá aproximadamente 20 dias do pós-operatório. Ao redor de 38 dias pós-extração, 1/3 do alvéolo está preenchido por trabeculado ósseo. A primeira evidência de epitelação acontece ao redor de 4 dias pós exodontia e a fusão, acontece entre 24 a 35 dias ou mais.

O processo de cicatrização óssea alveolar em ratos é bem determinado pela literatura. Carvalho et al., (1997), demonstraram em estudo histomorfométrico que, no final da primeira semana há formação de um delicado trabeculado ósseo permeado por osteoblastos, principalmente na área apical e no terço médio da face interna da parede bucal do alvéolo após a extração do incisivo superior de ratos. Durante esse período, podem ser observados vasos neoformados e coágulo remanescente, principalmente na região central. Na segunda semana, ocorre neoformação óssea progressiva e o alvéolo é igualmente preenchido por tecido conectivo maduro e trabeculado ósseo. Na terceira semana, todo o alvéolo é preenchido por um trabeculado ósseo fino, observado até a 6^o semana. Na

avaliação histomorfométrica os autores demonstraram que o processo de cicatrização alveolar pode ser contínuo, mesmo após os primeiros 21 dias, como anteriormente relatado (Okamoto & Russo, 1973; Santos Jr & Melhado, 1990). Bodner et al., (1993) estudaram o processo de cicatrização alveolar em ratos através de imagens radiológicas consecutivas, mostrando que ao redor do dia 28 após a extração do molar inferior, o alvéolo dentário mostrou que a região apical possuía uma densidade óssea maior, quando comparada com a região cervical. Os autores discutem que, a razão para que o processo de cicatrização na região apical seja mais rápido que na região cervical, pode estar relacionado a menor área total, quando comparada com a região cervical.

Okamoto et al., (1994), estudaram o papel do coágulo na formação do tecido de granulação em osso alveolar pós-extração dentária. Os autores avaliaram o tecido de granulação em 2 grupos de ratos, sendo que em um deles, o coágulo era removido com irrigação salina 6 ou 8 minutos após a extração dentária. Os animais foram sacrificados após 12 horas, 1, 4, 7 e 10 dias do pós-cirúrgico. Os autores concluíram que no grupo onde o coágulo foi removido houve um atraso do processo cicatricial, quando comparado com o grupo controle. Os autores salientam a importância da qualidade, da constituição, da manutenção e da retração do coágulo no processo de cicatrização alveolar.

Alves-Rezende & Okamoto (1997) demonstraram que o uso do Selante de Fibrina no processo de cicatrização alveolar em ratos não interfere na cicatrização, e, que o selante permitiu a neoformação óssea. A persistência do selante, mesmo após 24 dias da extração não interferiu na evolução do processo cicatricial normal.

Yücel et al., (2003) em estudo de cicatrização alveolar em ratos utilizando Selante de Fibrina, demonstraram que o processo de cicatrização óssea no grupo que utilizou o Selante de Fibrina houve um maior incremento ósseo em relação ao grupo controle, que foi submetido à sutura local. No grupo de Selante de Fibrina, não houve reação de corpo estranho, formação de abscesso e necrose quando avaliados histologicamente, em comparação ao grupo controle.

Os dados da literatura demonstram que os Selantes de Fibrina comerciais assim com a cola de fibrina “*home made*” são eficazes no controle da hemostasia local, principalmente em pacientes portadores de coagulopatias. Entretanto, apesar do reconhecido papel dos agentes fibrinolíticos encontrados na cavidade bucal, principalmente na vigência de processos inflamatórios, não foram encontrados trabalhos que correlacionassem os índices de saúde bucal dos pacientes hemofílicos com a efetividade do uso da cola de fibrina autóloga como agente hemostático após extrações dentárias.

O papel do Selante de Fibrina como indutor do processo cicatricial em pele é reconhecido, entretanto os resultados da literatura são controversos, principalmente quando relacionados aos riscos de formação de fibrose. Este padrão cicatricial pode estar associado aos diferentes componentes do Selante de Fibrina assim como às variações de suas concentrações.

A avaliação prospectiva da cicatrização óssea alveolar induzida pelo uso isolado do Selante de Fibrina é pouco explorada pela literatura. Os autores discutem a ação do Selante como veículo de outras substâncias osteoindutoras. A cola de fibrina “*home made*” não foi até o momento, estudada prospectivamente no processo de cicatrização alveolar.

Objetivos

1. Estudo clínico da eficiência da Cola de fibrina em procedimentos cirúrgicos odontológicos em pacientes hemofílicos como agente hemostático local.

1.1 – Avaliar a influência dos índices de saúde bucal na eficácia da cola de fibrina como agente hemostático local.

2. Avaliar a participação do Selante de Fibrina Comercial no processo de reparação tecidual em pele em ratos.

3. Avaliar a influência do Selante de Fibrina Comercial e da Cola de fibrina na reparação tecidual alveolar após extração dentária em ratos.

***Capítulo I – Estudo Clínico Do Uso da
Cola de Fibrina após Extrações Dentárias
em Pacientes Hemofílicos***

Pacientes e Métodos

Capítulo I – Estudo Clínico Do Uso Da Cola de fibrina Após Extrações Dentárias Em Pacientes Hemofílicos

I.1 – Pacientes

Foram avaliados retrospectivamente 31 procedimentos cirúrgicos odontológicos realizados em 31 pacientes portadores de hemofilia acompanhados no Ambulatório de Hematologia e no Ambulatório de Odontologia do Hemocentro da Unicamp, durante o período de 1996 a 2000. A média de idade do grupo foi de 32 (13-72) anos. Todos os procedimentos de extração dentária foram realizados sem prévia reposição de fatores de coagulação.

Nesse grupo de 31 pacientes, oito pacientes eram portadores de Hemofilia Grave (<1 UI/dL Fator VIII/IX), 10 Hemofilia Moderada (≥ 1 - <5 UI/dL Fator VIII/IX) e 13 apresentavam Hemofilia Leve (≥ 5 UI/dL Fator VIII/IX) (Goldman et al., 2000). Todos os pacientes foram avaliados previamente quanto à presença de Inibidores dos Fatores VIII/IX (anticorpos neutralizantes da função coagulante do Fator VIII/IX) (Kasper, 1991; Verbruggen et al., 1995; 2002).

I.1.2 – Avaliação Clínica

Os pacientes foram submetidos à avaliação clínica odontológica onde foram coletados o Índice Gengival (IG) preconizado por Løe e Silness (1963), o Índice de Placa (IP) por Løe (1964). As condições dentárias foram avaliadas pelo Índice de dentes cariados, perdidos e obturados (CPOD) preconizado pela Organização Mundial de Saúde (OMS, 1977). A avaliação dentária foi ainda complementada com radiografia panorâmica. Os índices IG e IP foram coletados no dia do procedimento de extração dentária, enquanto que o CPOD na primeira consulta do paciente.

O Índice Gengival tem como propósito avaliar a gravidade da gengivite e sua localização em quatro sítios possíveis. Os tecidos ao redor de cada dente foram divididos em quatro unidades gengivais mensuráveis (papila distovestibular; margem vestibular, papila mesiovestibular e toda margem lingual). A mensuração foi feita através da sonda periodontal, que é um instrumento com ponta romba, e espelho bucal. Assim, cada uma das quatro unidades dentária pôde ser avaliada segundo os critérios descritos na Tabela (2) (Carranza & Newman, 1996). O Índice Gengival pode ser usado para avaliar um segmento da boca ou um grupo de

dentes (Løe H., 1964). Para esse trabalho, foram avaliados seis dentes índices (primeiro molar superior direito; incisivo lateral superior direito; primeiro pré-molar superior esquerdo; primeiro molar inferior esquerdo; incisivo lateral inferior esquerdo e o primeiro pré-molar inferior direito).

O resultado obtido da soma dos valores de cada região mensurada e da divisão dos mesmos pelo número de dentes examinados foi considerado com o valor do IG do paciente. Os valores numéricos do IG foram associados clinicamente a diferentes graus de gengivite, conforme descrito na Tabela (3).

Tabela 2: Critérios para o Índice Gengival (Silness & Løe &, 1963).

Índice Gengival
0 = Gengiva normal
1 = Inflamação leve, pequena alteração de cor, pouco edema; nenhum sangramento à palpação*
2 = Inflamação moderada, rubor, edema e superfície brilhante; sangramento à palpação*
3 = Inflamação grave, rubor intenso e edema, ulcerações; tendência a sangramento espontâneo**

*sonda periodontal percorre horizontalmente a parede de tecido mole da entrada do sulco gengival

** Løe H, 1967.

Tabela 3: Valores numéricos associados ao grau de gengivite (adaptada de Carranza & Newman).

Score Gengival	Grau de Gengivite
0,1 – 1,0	Leve
1,1 – 2,0	Moderada
2,1 – 3,0	Grave

O Índice de Placa (IP) (Tabela 4) avalia a espessura de placa na área gengival do dente. Por ter sido desenvolvido como um componente de comparação do IG de Løe e Silness (1967), ele examina as mesmas unidades de

contagem dos dentes: distovestibular, vestibular, mesiovestibular e lingual. O exame é realizado utilizando-se espelho bucal e uma sonda exploradora dentária após o dente ser secado com jato de ar. Como na avaliação anterior, foram utilizados os mesmos dentes índices (primeiro molar superior direito; incisivo lateral superior direito; primeiro pré-molar superior esquerdo; primeiro molar inferior esquerdo; incisivo lateral inferior esquerdo e o primeiro pré-molar inferior direito). Da mesma forma, o resultado obtido da soma dos valores de cada região dentária mensurada e da divisão dos mesmos pelo número de dentes examinados foi considerado com o valor do IP do paciente. Os valores numéricos do IP foram associados clinicamente à quantidade de placa bacteriana, conforme descrito na Tabela (4).

Tabela 4: Critérios para o Índice de Placa Silness & Løe, 1964.

Índice de Placa
0 = Nenhuma placa na área gengival
1 = Uma película de placa aderida à margem gengival livre e à área adjacente do dente. A placa pode ser reconhecida apenas correndo-se uma sonda pela superfície do dente
2 = Acúmulo moderado de resíduos moles dentro da bolsa gengival, na margem gengival e/ou na superfície adjacente do dente que pode ser vista a olho nu
3 = Abundância de matéria mole dentro da bolsa gengival e/ou na margem gengival e na superfície adjacente do dente*

*Løe , 1967

O Índice CPOD representa a média do número total de dentes permanentes cariados (C), perdidos (P) (extraídos e ou com extração indicada) e obturados (O) em um grupo de indivíduos. A letra inicial “D” acrescida ao final significa “dente”, para diferenciar de outros índices, como por exemplo, aquele que estuda as superfícies dentárias (S). Os resultados obtidos através dessa avaliação, são apresentados considerando-se o total de dentes CPO segundo seus componentes e não dente por dente como nos levantamentos locais tradicionais (WHO, 1997).

A utilização deste índice neste trabalho seguiu uma linha não estrita de interpretação diagnóstica, pois todas as lesões ou ausências de dentes constatadas foram levadas em consideração, mesmo que tivessem como causa outras razões que não a cárie dental, a doença periodontal, motivos ortodônticos, etc.

Foi considerado um dente cariado, aquela estrutura dentária que apresentava evidências clínicas de descalcificação, existindo uma cavidade definida com descoloração ou opacidade ao longo das margens, em quaisquer faces (vestibular, lingual – palatina, mesial, distal ou oclusal). Manchas brancas (fase inicial do processo de descalcificação do esmalte) não cavitadas e fissuras ou cicatrículas pigmentados não foram considerados como cárie. Dentes restaurados que apresentavam infiltrações ou outros pontos cavitados também foram considerados como cariados, assim como os restos radiculares (presença somente da raiz dentária).

Foram considerados como dentes obturados aqueles que apresentassem um material restaurador reconstituindo-os, não apresentando infiltrações, nem fraturas ou qualquer outra alteração que pudesse ser sugestiva de presença de cárie.

As ausências dentárias no arco foram avaliadas como “dentes perdidos”. Em caso de dúvida sobre o motivo da ausência, foi questionado ao paciente se ele se lembrava do porquê da extração e também foi avaliado a presença ou ausência do dente correspondente.

As indicações de extração dentárias foram baseadas na presença de cáries profundas com envolvimento pulpar, doença periodontal avançada com perda da inserção óssea > 50%, ou a presença de raízes residuais. Também foram extraídos dentes por indicação ortodôntica.

I.1.3 – Protocolo Cirúrgico

I.1.3.1 – Pré Cirúrgico

I.1.3.2 – Preparo da cola de fibrina autóloga

Os 31 pacientes Hemofílicos foram encaminhados para o Ambulatório de Hematologia para a coleta de 50ml de sangue periférico para o preparo da cola de fibrina Autóloga. A cola de fibrina autóloga foi preparada segundo técnica descrita por Moraes et al. (1998), pelo Laboratório de Hemostasia do Hemocentro da Unicamp.

Técnica de Preparo da Cola de fibrina

Sangue periférico (50mL) foi coletado em tubos contendo citrato de sódio a 3.8% (9:1). O plasma foi obtido após a centrifugação do sangue por 10 minutos a 3000rpm. Fibrinogênio plasmático foi purificado usando a técnica de precipitação por glicina. Sulfato anidro de magnésio e sulfato de bário (concentração final: 20mM/L e 90g/L, respectivamente) foram adicionados ao plasma (25mL), agitado por uma hora e o sobrenadante foi fracionado por centrifugação. Glicina foi adicionada lentamente até uma concentração final de 2.2M/L e o produto foi agitado por 30 min seguido por centrifugação (3000 rpm). O sobrenadante resultante dessa segunda centrifugação foi descartado e o material depositado foi resuspenso para o volume inicial, usando solução de citrato de sódio (0.055M; pH 7.4). O processo utilizando a glicina foi repetido. Finalmente, o material depositado foi resuspenso em solução tampão de PBS para a obtenção de uma concentração final de fibrinogênio. O fibrinogênio obtido foi acondicionado em pequenos tubos plásticos (*ependorfs*) de 3ml e congelado a -20°C.

Quando necessário, o fibrinogênio autólogo foi descongelado e resuspendido com cloreto de cálcio (40mM). A solução foi colocada em uma seringa de insulina (cerca de 3mL) e em outra seringa, era adicionado 3mL de trombina bovina (300IU). As duas seringas eram unidas com fita crepe para que os volumes pudessem ser injetados simultaneamente no fundo do alvéolo dentário, preenchendo-o totalmente.

I.1.3.3 – Preparo do paciente

Nenhum paciente incluído na avaliação recebeu terapia de reposição de fatores de coagulação previamente à extração dentária. Foi prescrito a todos os pacientes, o uso de antifibrinolítico oral (ácido ϵ -amino η -capróico - Ipsilon® Nikkho Brasil, Ilha do Governador, RJ, Brasil) na posologia de 200mg/kg via oral a cada 8 horas, iniciando 24 horas antes do procedimento e mantendo por no mínimo uma semana. A indicação antibiótica foi feita de acordo com as necessidades locais, ou seja, na presença de lesões apicais, fístulas ou doenças periodontais avançadas. O antibiótico de escolha foi a amoxicilina na posologia de 500mg via oral, a cada 8 horas durante cinco dias muitas vezes associado ao metrodinazol na posologia de 250mg a cada 8 horas (Haffajee et al., 2001).

Os pacientes que apresentaram hemorragia pós-cirúrgica foram avaliados e a conduta adotada foi à terapia de reposição de fatores de coagulação (50UI/kg) associado ao antifibrinolítico endovenoso (Ipsilon® 20mg). A reavaliação odontológica foi sempre realizada 24 ou 48 horas após o atendimento do episódio hemorrágico.

I.1.3.2 – Trans-cirúrgico

Os procedimentos cirúrgicos foram feitos seguindo técnica cirúrgica odontológica para extração simples. Para os dentes da mandíbula a técnica anestésica empregada foi a interligamentosa (periodontal) evitando assim, a técnica do bloqueio do ramo do nervo alveolar inferior (Evans & Aledort, 1978). Após as extrações, as feridas cirúrgicas foram suturadas com fio de algodão 3-0, não reabsorvível.

A Cola de fibrina Autóloga foi preparada e mantida sob refrigeração até o momento do uso. Após a sutura, a cola de fibrina foi colocada no interior do alvéolo até seu completo preenchimento. O material excedente foi removido e uma gaze embebida com Ipsilon® (10 mL - ampola de 1g) foi colocada no local por aproximadamente uma hora.

I.1.3.3 – Pós-Cirúrgico

Os pacientes foram mantidos no Ambulatório até pelo menos uma hora após o procedimento e foram dispensados após o último exame intra-oral para a certificação de que não haveria sangramento imediato.

Os pacientes foram orientados quanto à alimentação (não ingestão de alimentos quentes e duros até o momento da remoção da sutura) e à manutenção da higiene oral e ao uso de gelo local (extra-oral) durante as primeiras 24 horas do procedimento. O retorno foi marcado para após o sétimo dia do procedimento para reavaliação clínica e remoção da sutura, com exceção daqueles casos com sangramento.

Os pacientes foram orientados ainda a realizar compressas locais com antifibrinolíticos (macerar um comprimido de Ipsilon®-500mg e colocar em uma gaze, comprimindo-o contra o sítio cirúrgico) quando na presença de pequenos sangramentos (saliva sanguinolenta), principalmente noturnos. Nos casos onde as medidas acima não foram suficientes para controlar os possíveis sangramentos, o paciente foi orientado a voltar ao serviço para reavaliação.

I.1.4. Critérios de Avaliação do Procedimento

A avaliação clínica pós-extração dentária seguiu os critérios descritos abaixo:

1 – Sem sangramento – para aqueles procedimentos em que não houveram quaisquer episódios de sangramento secundário, para aqueles onde os pacientes relataram um sangramento leve (saliva sanguinolenta), mas que pode ser controlado pelas medidas locais como compressas com antifibrinolítico e gelo.

2 – Com sangramento – para aqueles casos de sangramento secundário nos quais houve necessidade de Terapia de Reposição de fatores de coagulação associados ou não ao antifibrinolítico endovenoso (EV).

I.1.5 – Seguimento do Paciente

I.1.5.1 – Critérios para avaliação do desenvolvimento de inibidores contra fatores de coagulação

Todos os pacientes que foram submetidos à extração dentária foram acompanhados pelo Ambulatório de Hematologia do Hemocentro da Unicamp através de avaliações clínicas e laboratoriais dos parâmetros de coagulação utilizando-se dos exames de tempo de protrombina e ativação protrombina (TPAP); tempo de tromboplastina parcialmente ativada (TTPA); tempo de trombina (TT) e fibrinogênio. Esses exames foram repetidos rotineiramente a cada seis meses até os dias de hoje.

Foram considerados resultados positivos para a investigação de inibidores aqueles testes em que não se normalizaram os tempos de coagulação após a mistura 1:1 do plasma do paciente com plasma normal.

I.2 – Avaliação Estatística

Os dados obtidos foram analisados através do *Kurskall-Wallis H* teste, com o S Plus, 2002, Inc. Seattle, USA.

I.3 – Controles de Qualidade da Cola de fibrina Autóloga

I.3.1 – Microbiológico

Foi utilizado o Sistema de Detecção Microbiana BacT/Alert®Ped-BacT™ (Organon Teknika – USA) para a detecção de microorganismos aeróbicos e anaeróbicos facultativos na amostra.

Foram analisadas 19 amostras de cola de fibrina autóloga, obtidas de pacientes hemofílicos que foram submetidos à extração dentária no estudo clínico. Essas amostras foram organizadas aleatoriamente em 4 grupos na forma de “pool” (“Pool” 1:6 amostras, “Pool” 2:5; “Pool” 3: 5 e “Pool” 4:6).

Técnica BacT/Alert®Ped-BacT™ de detecção:

O Sistema de Detecção Microbiana BacT/Alert® utiliza um sensor colorimétrico e luz refletida para monitorar a presença e a produção de dióxido de carbono que está dissolvido no meio da cultura. Na presença de microorganismos na amostra testada, é produzido dióxido de carbono como resultado do metabolismo dos substratos do meio de cultura. A cor do sensor a gás permeável localizado no fundo de cada frasco é alterada pelo dióxido de carbono, passando de verde para amarelo (Thorpe et al., 1990).

Os procedimentos para o teste seguiram as instruções do fabricante. O software contido no Sistema de Detecção Microbiana BacT/Alert® determinou se os frascos de cultura eram positivos ou negativos.

As amostras com resultados positivos foram encaminhadas para cultura para identificação do microorganismo contaminante.

I.3.2 – Quantificação do Fibrinogênio na Cola de fibrina

O método utilizado no estudo é baseado na conversão do fibrinogênio em fibrina por ação da trombina (Clauss-funcional) (Von Clauss, 1957). Ao adicionar a trombina a uma amostra de plasma o fibrinogênio é convertido enzimaticamente em fibrina a qual se polimeriza progressivamente dando lugar a uma rede de fibrina. O Fator XIII ativado pela trombina catalisa a formação das ligações cruzadas estáveis produzindo um coágulo visível. O tempo que transcorre entre a adição da trombina e a formação do coágulo é inversamente proporcional à quantidade de fibrinogênio da amostra (Anexo 1).

As amostras foram testadas em triplicata para cada uma das diluições. Quando o tempo de coagulação indicou um nível de fibrinogênio muito baixo, o teste foi repetido utilizando-se uma diluição do plasma de 1:5 a 1:2 ao contrário da diluição 1:10 indicada na técnica. O valor obtido foi dividido por 2 ou 5, respectivamente, para corrigir a menor diluição. Entretanto, se o tempo da coagulação indicou um nível muito elevado de fibrinogênio, o teste foi repetido

utilizando-se uma diluição de 1:20. O valor foi multiplicado por 2 para posterior correção.

A mensuração do fibrinogênio foi feita através da Técnica Fibriquik® (Biomérieux, Suíça). Os resultados foram expressos em miligramas por cento (mg%) sendo que a concentração foi deduzida a partir de uma curva de calibração com padrão de fibrinogênio (Anexo 1).

Resultados Clínicos

I.4 – Uso da Cola de fibrina Autóloga em Extrações Dentárias de

Pacientes Hemofílicos

Foram extraídos 53 dentes em 31 pacientes hemofílicos, todos do sexo masculinos (media 1-4 dentes/procedimento). A mediana de idade foi de 32(13 – 72) anos. Desses, 31 pacientes, oito (26%) eram portadores de Hemofilia Grave (HG), 10 Hemofilia Moderada (HM) (32%) e 13 Hemofilia Leve (HL) (42%).

Em seis procedimentos (19,4%) foram observados sangramentos posteriores que foram controlados com reaplicação da cola de fibrina autóloga e transfusão de dose única de fator de coagulação (50UI/Kg). Dois pacientes receberam, além da reaplicação do Selante de Fibrina, nova sutura local. Os episódios de sangramento ocorreram em um paciente portador de Hemofilia Grave, em três portadores de Hemofilia Moderada e em dois Hemofílicos Leves.

Vinte e cinco procedimentos realizados em sete pacientes portadores de HG, sete pacientes HM e em 11 com HL não apresentaram sangramentos (Tabela 5).

A média do índice de placa (IP) foi de 1,8 (0,3 – 3,0) nos dois grupos, com e sem sangramento ($p=0,8$). A média do Índice Gengival (IG) foi de 1,7 (0,66 – 3,0) no grupo que apresentou sangramento e de 1,8 (0,5 – 3,0) no grupo que não sangrou ($p=0,56$) (*Wilcoxon rank sum test - S Plus 2002 Inc, Seattle; USA*)(Tabela 6).

A média global do CPOD no grupo que sangrou foi de 18 (0,3 – 30) sendo que a média isolada dos subgrupos foram de 8,6 (4 –14) dentes cariados, 5 (0 – 11) dentes perdidos e 4 (0 – 13) dentes obturados. No grupo que não apresentou sangramento, a média do CPOD foi de 19 (3 – 31), sendo 8,2 (0 – 20) dentes cariados, 8 (0 – 26) dentes perdidos e 3,2 (0 – 14) dentes obturados ($p=0,6$) (*Wilcoxon rank sum test – S Plus 2002 Inc, Seattle, USA*).

A presença de necrose pulpar (cárie avançada com presença de lesão apical radiográfica) e a presença de raízes residuais foram as principais razões para a realização das exodontias (49 dentes). Quatro dentes foram extraídos por indicação ortodôntica. Levando-se em consideração o número de raízes, 31 deles eram uni-radiculares (incluindo incisivos superiores e inferiores, caninos e pré-

molares superiores e inferiores), 14 bi-radiculares (pré-molares superiores e molares inferiores) e oito tri-radiculares (molares superiores).

Nenhum paciente apresentou qualquer alteração nos exames laboratoriais que pudessem ser compatíveis com a presença de inibidores do Fator V e, nenhum deles apresentou inibidores para os Fatores VIII ou IX durante o estudo.

Tabela 5: Pacientes e episódios de sangramento segundo a gravidade da hemofilia; número de dentes extraídos e número de raízes dentárias

Tipo Hemofilia (n=31)	N. de Procedimentos	Dentes extraídos (dentes/procedimento)	N. de Raízes			Sangramento(n) Dentes extraídos raízes (n)
			1	2	3***	
Grave	8	17 (1 – 4)	8	8	1	1 procedimento 1 dente / bi**
Moderada	10	16 (1 – 4)	10	1	5	3 procedimentos 3 dentes / uni*
Leve	13	20 (1 – 3)	13	5	2	2 procedimentos 1 ⁰ : 3 dentes / uni 2 ⁰ : 1 dente / uni

* Uni = unirradicular; ** bi = bi-radicular; *** 1, 2, 3 = uniradicular, bi-radicular; tri-radicular

Tabela 6: Correlação entre os índices CPOD, Índice de Placa e Índice Gengival e episódios de sangramento.

	Grupo com Sangramento media (min – máx)	Grupo sem Sangramento media (min – máx)	P*
CPOD (total)	18 (4-27)	19 (3-31)	0,67
Cariados	8,6 (4-14)	8,2 (0-20)	
Perdidos	5 (0-11)	8 (0-26)	
Obturados	4 (0-13)	3,2 (0 –14)	
Índice Placa	1,8 (0,3-3,0)	1,8 (0,2-3,0)	0,8
Índice Gengival	1,7 (0,6-3,0)	1,8 (0,5-3,0)	0,56

* Wilcoxon rank-sum test – S Plus 2002 Inc, Seattle

I.5 – Resultados Microbiológicos

Nos 5 “pools” submetidos ao sistema de detecção microbiana Bact/Alert® (Organon Tecknic) 2 (dois) apresentaram resultados positivos. Os microorganismos identificados na cultura foram *Staphilococcus simulans* e *Cândida guilliermondi*.

I.6 – Resultados Bioquímicos

Dezenove amostras de plasma submetido a técnica de precipitação do fibrinogênio foram analisadas para quantificação do mesmo. A mediana da concentração de fibrinogênio encontrada em 17 amostras avaliadas foi de 718,82 (133 – 1044mg/dL). Em uma amostra foi obtido um valor inferior ao controle (133mg/dL). A Tabela (7) mostra os resultados obtidos para cada amostra individualmente.

Tabela 7: Concentração de Fibrinogênio no plasma submetido a técnica de precipitação do fibrinogênio (Fibriquik®, Organon Teknicka).

Paciente	Concentração Fibrinogênio (mg/dL)
01	1174
02	>1044
03	> 1044
04	846
05	866
06	954
07	>1044
08	336
09	494
10	426
12	>1044
13	528
14	446
15	463
17	642
18	1044
19	133*
20	907
21	549

* valor abaixo do normal

Discussão

1.7 – Estudo Clínico do uso da Cola de fibrina Autóloga em Extrações Dentárias em Pacientes Portadores de Coagulopatias Hereditárias

A Hemofilia é uma coagulopatia hereditária ligada ao cromossomo X, que tem como característica clínica a presença de sangramentos prolongados e risco de hemorragias após procedimentos cirúrgicos, incluindo as cirurgias odontológicas (Blatt et al., 1984; Brown et al., 1986; Blanchette et al., 1991; Sindet-Pedersen, 1991).

Sangramentos secundários a procedimentos cirúrgicos-odontológicos em pacientes hemofílicos podem ser observados, mesmo frente à transfusão prévia de fatores de coagulação (Wepner et al., 1982; Morimoto et al., 2003). Existem vários protocolos na literatura que visam estabelecer a melhor maneira de se preparar o paciente portador de hemofilia para os procedimentos cirúrgicos odontológicos, que tentam equacionar os riscos de sangramento, com a terapia de reposição de fatores de coagulação, com o uso de drogas antifibrinolíticas, métodos de hemostasia local e, também, o custo final do tratamento (Needleman et al., 1976; Sindet-Pedersen S & Stenbjerg S, 1986; Johnson W et al., 1988; Martinowitz et al., 1996; Stubs & Lloyd, 2001; Ghosh et al., 2004; Brewer et al., 2003; Frachon et al., 2005).

Piot et al., (2002) preconizaram a terapia de reposição de fatores de coagulação para todos os pacientes hemofílicos submetidos a extração dentária (45 pacientes) sob anestesia geral ou para aqueles que receberam anestesia de bloqueio do tronco alveolar inferior. Os autores preconizaram a elevação do nível plasmático para 50UI/dL do Fator VIII ou IX, uma hora antes do procedimento e 24 horas após a cirurgia. Das 103 extrações realizadas com esse protocolo, um paciente portador de doença de von Willebrand tipo I e um paciente hemofílico A leve apresentaram sangramento secundário, onde houve necessidade de nova transfusão de fatores de coagulação. Todos os pacientes estiveram hospitalizados durante os procedimentos.

Frachon et al., (2005), avaliaram retrospectivamente um protocolo que preconizava a terapia de reposição de fator (50UI/Kg FVIII e 70UI/Kg Fator IX) uma hora antes do procedimento, além do uso de método de hemostasia local,

como selantes de fibrina (Tissucol® - Baxter ou Beriplast® - Aventis); gelatina oxidada; sutura, compressão com gaze embebida em ácido tranexâmico durante 3 dias além de moldeiras tipo “*splints*” para proteção da ferida cirúrgica. Foram reavaliadas 55 extrações (19 procedimentos) realizadas em 16 pacientes portadores de hemofilia. Apesar da terapia de reposição realizada e dos cuidados locais, 6/19 (31,5%) pacientes retornaram com sangramento tardio (após 24 horas até 8 dias do pós-cirúrgico). Os autores ressaltam que os pacientes que apresentaram sangramento eram portadores de hemofilia A grave, dois deles com inibidor.

Selante de Fibrina tem sido utilizado em diferentes campos cirúrgicos como meio de liberação lenta de drogas, como agente selador de cavidades, promotor da cicatrização, adesivo tecidual e como agente hemostático local. Após a publicação de Matras (1997), a utilização do Selante e Fibrina em procedimentos cirúrgicos odontológicos, começou a ser disseminada, principalmente para aquelas realizadas em pacientes portadores de coagulopatias (Wepner et al., 1982; Piot et al., 2002; Carter et al., 2003; Carter et al., 2003).

Especificamente com pacientes hemofílicos, Martinowitz et al., (1996) descreveram que quando o Selante de Fibrina foi associado ao procedimento cirúrgico odontológico, a necessidade da terapia de reposição de fatores de coagulação diminuiu em cerca de 90% dos casos. Isarangkura et al., (1999) demonstrou a aplicabilidade da cola de fibrina produzida em Banco de Sangue (“*home made*”) como meio hemostático local para diferentes cirurgias, inclusive extrações dentárias de pacientes portadores de coagulopatias hereditárias.

Neste estudo foi avaliado o efeito hemostático da Cola de fibrina Autóloga, produzida de acordo com De Moraes et al., (1998) em extrações dentárias de pacientes hemofílicos, sem prévia transfusão de hemoderivados, associado ao uso de antifibrinolítico via oral. Na Cola de fibrina Autóloga o fibrinogênio utilizado advém do crioprecipitado obtido a partir da coleta de sangue periférico do próprio paciente e, misturada com trombina bovina. Os resultados demonstraram que dos 31 procedimentos de extração dentária (53 dentes removidos), foram observados 6 (19,3%) episódios de sangramentos. Os pacientes que apresentaram sangramento receberam terapia de reposição de fatores de coagulação (50UI/dL)

em dose única e re-aplicação local da cola de fibrina. Nova sutura foi feita em dois pacientes. Os sangramentos aconteceram em um paciente portador de hemofilia grave, em três portadores de hemofilia moderada e em dois com hemofilia leve. A investigação clínica detalhada dos pacientes e a avaliação cirúrgica local cuidadosa não mostraram correlação entre a gravidade da hemofilia e a ocorrência de sangramento pós-procedimento em hemofílicos moderados (3) e leve (2), quando comparados com os graves (1). Provavelmente, um dos fatores que poderiam afetar os resultados obtidos em relação aos episódios de sangramento, seria a utilização inadequada do antifibrinolítico pelos pacientes. Em 25 (80,7%) procedimentos não houve sangramento secundário às extrações dentárias. Esses procedimentos foram realizados em sete pacientes portadores de hemofilia grave, sete hemofílicos moderados 11 hemofílicos leves.

Frente aos resultados obtidos, o protocolo proposto, onde foi utilizada a Cola de fibrina Autóloga, mostrou ser eficiente no controle da hemostasia local após extrações dentárias em pacientes portadores de hemofilia, sem prévia transfusão de fatores de coagulação. A Cola de fibrina utilizada demonstrou apresentar propriedades suficientes para promover hemostasia local, além de mostrar capacidade de suportar a ação fibrinolítica encontrada na cavidade bucal. A Cola de fibrina, produzida a partir de crioprecipitados tem sido utilizada como meio hemostático local em diferentes cirurgias orais de pacientes portadores de coagulopatias, quer hereditárias ou adquiridas com resultados equivalentes aos encontrados nesse trabalho (Tawes et al., 1994; Isarangkura et al., 1999; Carter et al., 2003; Thorn et al., 2003). Isarangkura et al (1999) ressaltaram a redução do custo final do tratamento cirúrgico odontológico dos pacientes coagulopatas, quando utilizada a cola de fibrina.

Vários são os trabalhos onde a técnica de obtenção do fibrinogênio para a produção da Cola de fibrina é discutida (Siedentop et al., 1985; Siendentop et al, 1986; Roy et al., 1994; Karl et al., 1995; Thorn et al., 2003). A técnica utilizada neste trabalho (de Moraes et al., 1998) mostrou ser eficiente quanto a sua capacidade hemostática.

O estudo microbiológico das amostras da cola foi feito de maneira randomizada, de amostras armazenadas a -20°C utilizando metodologia capaz de

detecção de microorganismos aeróbicos e cocos anaeróbicos. Foram encontradas contaminações por *Staphylococcus simulans* e *Candida guilliermondii* em dois *pools* diferentes. Essas prováveis contaminações não foram relacionadas com quadro infeccioso oral após o procedimento cirúrgico.

Trombina bovina foi utilizada no preparo da cola e todos os pacientes que entraram no estudo foram acompanhados clínica e laboratorialmente por dois anos, e nenhuma alteração quanto à presença de inibidores do Fator V ou da Trombina foram observados. Relatos na literatura mostram que a trombina bovina utilizada em algumas formulações da Cola de fibrina poderia estar contaminada com Fator V bovino e calicreína (Jackson et al., 1996; Christie et al., 1997). A presença desses contaminantes de origem bovina poderia levar ao desenvolvimento de anticorpos contra o Fator V que reagiria com o Fator V do próprio paciente, levando a uma coagulopatia adquirida (Banninger et al., 1993). Outro problema associado ao uso da trombina bovina é o aparecimento de reações anafiláticas, que, apesar de raras, podem apresentar sério risco ao paciente (Tock et al., 1998).

Os Índices de Saúde Bucal, como Índice de Placa Bacteriana, Índice Gengival e o CPOD, obtidos na primeira consulta de cada paciente, foram obtidos com o objetivo de correlacionar as condições de saúde bucal com os episódios de sangramento secundários aos procedimentos.

São poucos os trabalhos que avaliam as condições bucais dos pacientes hemofílicos adultos e que fazem correlação entre esses achados e o risco de sangramento após extrações dentárias. O Índice CPOD avaliado mostrou ser alto nos dois grupos, mas não diferiu daquele encontrado na população brasileira em geral, como relatado por Pereira et al., 1996. Interessante notar que, mesmo quando avaliado individualmente, em cada componente do Índice CPOD pode ser notada a presença de grande quantidade de dentes cariados e extraídos (média de 8 dentes cariados em ambos grupos, e de 5 e 8 dentes perdidos no grupo que sangrou e que não apresentou sangramento, respectivamente) frente ao número de dentes obturados (média 4 no grupo que sangrou e de 3,2 no que não sangrou), demonstrando a necessidade de um trabalho educacional de base odontológica com esse grupo de pacientes. Os resultados das médias dos Índices

de Placa (média 1,8 - em ambos grupos) e dos Índices Gengivais (1,7 no grupo que sangrou e de 1,8 no grupo que não sangrou) obtidos na primeira consulta, indicaram que esses pacientes apresentavam placa bacteriana visível e gengivite moderada.

Alguns trabalhos demonstraram as condições de saúde bucal de crianças e adolescentes hemofílicos. Correa et al., (1998) descreveram que não existem diferenças entre os Índices de Placa Bacteriana, Índice Gengival e CPOD entre as crianças hemofílicas, as portadoras de hemoglobinopatias (talassemia e anemia falciforme). Sonbol et al, (2001) estudaram crianças hemofílicas e relataram um menor Índice de Placa Bacteriana, quando comparado com o grupo controle. Os mesmos autores ainda mostraram que, quando avaliado o Índice Gengival nos dois grupos, este não apresentou diferença entre eles. Mielnik-Blaszczak (1999), em estudo de saúde bucal de crianças hemofílicas e portadoras da doença de von Willebrand, mostrou não haver diferenças entre as condições de saúde bucal desses pacientes, quando comparado com crianças saudáveis da mesma idade. Entretanto, o autor constatou diferenças quando comparou os grupos de crianças hemofílicas graves e com doença de von Willebrand, demonstrando piores condições de higiene oral naqueles portadores de hemofilia.

Bjoerlin & Nilsson, (1968) mostraram que a fibrinólise em cavidade bucal é uma das principais causas de sangramento após extração dental em pacientes sem distúrbios de coagulação. Hidaka et al., (1981) relataram aumento da atividade fibrinolítica em fluido gengival de pacientes com doenças periodontais quando comparados com indivíduos com gengivas saudáveis. Moody (1982) e Sindet-Pedersen (1987), demonstraram a presença de plasminogênio tecidual (t-PA) e ausência de ativadores de plasminogênio uroquinase (u-PA) na saliva humana de voluntários saudáveis. Em outro trabalho Sindet-Pedersen (1997) mostrou que a fibrinólise na cavidade bucal pode ser inibida pela administração local do antifibrinolítico (ácido tranexâmico). A distribuição plasmática do ácido tranexâmico quando administrado sistemicamente se dá até no máximo 120 minutos (7microgramas/mL) e a droga não pode ser detectada na saliva. Após o uso local, a concentração plasmática permaneceu abaixo de 2microgramas/mL enquanto que a concentração na saliva foi acima de 200microgramas/mL após 30

minutos do bochecho, permanecendo em níveis terapêuticos por 2 horas. Em 1990, os autores Sindet-Pedersen et al., (1990) em um estudo em saliva não estimulada e em células de mucosa bucal, demonstraram que as células epiteliais bucais produzem a maior quantidade de plasminogênio tecidual (t-PA) encontrado na saliva total. Kinnby (2002) demonstrou haver um aumento da atividade fibrinolítica em fluido crevicular em processo inflamatório gengival provocado por placa bacteriana, demonstrando que a presença de bactérias em sulco gengival altera a correlação entre a t-PA e do PAI-1.

No estudo apresentado, os pacientes envolvidos, apesar de apresentarem gengivite e placa bacteriana visível, não mostraram correlação entre os Índices de Placa e Gengival com a presença de sangramento secundário. Sindet-Pedersen & Jepersen (1986) demonstraram em estudo com saliva não estimulado de pacientes saudáveis, que o ativador tecidual do plasminogênio (t-PA) encontrado na saliva é derivado das células descamativas epiteliais descritas anteriormente como portadoras de atividades fibrinolíticas (Southam, 1981). Em função desse achado, os autores Sindet-Pedersen & Stengjerg (1986) discutem o uso de antifibrinolíticos (ácido tranexâmico) na forma de bochecho previamente às cirurgias orais (exodontias), pois dessa forma, a atividade plasminolítica da saliva seria inibida pelo antifibrinolítico.

Os pacientes avaliados neste estudo receberam orientação para a utilização sistêmica do antifibrinolítico (ácido ϵ -amino-capróico - Ipsilon®). Needleman et al., (1976) mostrou que o uso do ácido ϵ -amino-capróico (100mg/kg – EV) concomitante à terapia de reposição de Fatores de Coagulação (40UI/Kg FVIII) foi eficaz na redução de complicações hemorrágicas em pacientes hemofílicos, após diferentes procedimentos odontológicos (anestesia, tratamento periodontal e cirurgias). Frente às dificuldades econômicas encontradas pelos pacientes desse estudo, o uso sistemático do antifibrinolítico não foi uma realidade para todos. Portanto, como já citado anteriormente, o sangramento secundário encontrado nesse trabalho pode também estar relacionado ao não uso do antifibrinolítico pelos pacientes.

Portanto, os resultados obtidos nesse trabalho sugerem que a Cola de fibrina produzida de acordo com de Moraes et al, (1998), associada ao uso de

antifibrinolítico oral, foram eficientes no controle de sangramento após extrações dentárias de pacientes portadores de hemofilia, sem prévia terapia de reposição de fatores de coagulação. Os pacientes que fizeram uso da Cola Autóloga não desenvolveram inibidores de coagulação frente ao uso da trombina bovina. As condições de saúde bucal não influenciaram no sangramento secundário às extrações dentárias.

***Capítulo II – Estudo Experimental da
Reparação Tecidual em Pele Utilizando o
Selante de Fibrina***

Casuística, Materiais e Métodos

Capítulo II – Estudo Experimental Da Reparação Tecidual Em Pele Utilizando O Selante de Fibrina

Foi avaliada experimentalmente a capacidade de reparação tecidual em derme induzida pelo Selante de Fibrina Comercial. Os animais foram adquiridos no Biotério Central da Unicamp e o trabalho foi desenvolvido no Biotério da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP) / Unicamp, em trabalho conjunto com o Departamento de Patologia Oral da Faculdade. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA) do Instituto de Biologia da Unicamp, sob número de protocolo 331.

II.1 – Casuística

Para esse estudo foram utilizados 25 ratos da raça Wistar com cerca de 200g (cerca de sete semanas de vida), de ambos sexos.

Todos os animais foram submetidos à anestesia intramuscular com cloridrato de ketamina 10% (10mg/kg - Francotar®, Virbac do Brasil) e 2-(2,6-xilidino)-5,6-dihidro-4H-1,3 cloridrato de tiazina (5mg/kg Rompun® - Bayer SA, Brasil).

Após a anestesia, os animais foram submetidos à tricotomia da região dorsal, bilateralmente, onde após a limpeza da pele com álcool 70% foram feitas duas incisões (à direita e à esquerda). Em região sub-cutânea, foram implantadas esponjas vegetais medindo 0,5x0,5cm previamente auto-clavadas. A esponja que foi implantada no lado direito estava embebida com o Selante de Fibrina Comercial (Beriplast P®—Aventis-Beringher, Alemanha) enquanto a que foi colocada no lado esquerdo serviu de controle do procedimento. O Selante de Fibrina comercial Beriplast P® (1mL) é composto por fibrinogênio humano (65-115mg), trombina humana (4.600UI), Fator XIII (40-80UI) e aprotinina bovina (0.56PEU).

Os 25 animais foram divididos em 5 grupos e sacrificados com inalação prolongada de éter após períodos definidos de 24 horas, sete, 14, 21 e 28 dias após a cirurgia. Os fragmentos retirados do sub-cutâneo foram submetidos a processamentos laboratoriais, onde após a inclusão em parafina, cortes subseqüentes foram realizados com 5 µm de espessura e foram corados em H&E

de acordo com as normas da AFIP (Thoma, 1955) para posterior análise em microscópico óptico.

II.2 – Avaliação Histomorfométrica

Para a avaliação histomorfométrica, foi utilizado o microscópio KS 400 (Carl Zeiss, Jena – Jena, Germany) com objetiva de aumento de 40X. Foram selecionados 20 campos aleatórios em cada lâmina sendo 10 na periferia e 10 no centro da esponja. Na análise histológica do material foram contados todos os núcleos de células inflamatórias sem distinção do tipo celular. As lâminas foram avaliadas aleatoriamente por um único observador.

Tanto as avaliações histológicas em microscopia ópticas quanto a análise pela histomorfometria foram realizadas às cegas, por um único observador.

II.3 – Avaliação Estatística

Os dados foram avaliados estatisticamente utilizando-se *Wilcoxon rank sum test* e o *Wilcoxon rank signed test* para o peso das diferenças entre o número de células inflamatórias de cada animal em ambos grupos – Selante de Fibrina e Grupo Controle (S-plus 2000, Math Soft Inc, Seattle, WA).

Resultados

II.4 – Resultados do Estudo Experimental da Reparação Tecidual em Pele

Os resultados obtidos a partir das amostras obtidas dos cortes histológicos da derme dos animais onde foram colocadas as esponjas embebidas em Selante de Fibrina Beriplast P® (Aventis-Berhingher, Alemanha) estão abaixo descritos.

II.4.1 – Grupo Controle

As amostras histológicas obtidas da derme dos animais sacrificados no grupo controle mostraram um processo inflamatório agudo neutrofílico, que permeou toda a esponja, entrando em seu interstício de forma regular, não havendo predileção pelos diferentes espaços (interior ou periferia). O processo inflamatório inicial foi seguido da formação de um tecido de granulação frouxo não colageinizado ao redor do 14^o dia, com algumas células gigantes margeando a esponja. A área da derme em que foi colocada as esponjas foi remodelada ao redor do 28^o dia pós cirúrgico. Em quatro animais, dois no 14^o dia e dois no 28^o dias não foram possíveis identificar a área onde foram colocadas as esponjas. Não foi observado processo infeccioso em nenhum animal e em nenhum tempo de observação.

II.4.2 – Grupo com Selante de Fibrina Comercial

As amostras obtidas da derme dos animais que receberam esponjas embebidas com Selante de Fibrina mostraram nas primeiras 24 horas, a presença de um material amorfo, denso, eosinofílico e homogêneo (Selante de Fibrina) no interstício da esponja. Células inflamatórias agudas, principalmente neutrofílicas permaneceram na periferia da esponja, raramente conseguindo penetrar no interstício (região central) da esponja.

O halo celular periférico, inicialmente constituído de células inflamatórias agudas (neutrófilos), foi substituído por um tecido de granulação formado por células crônicas. Poucas células inflamatórias conseguiam permear a área central da esponja, onde uma grande porção de Selante de Fibrina pode ser observado,

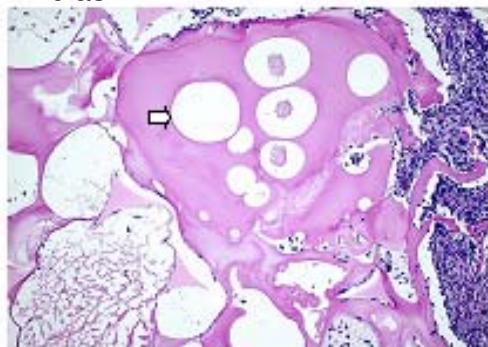
ao redor do 14^o dia. Ao redor do 21^o dia, foi observado a presença de um tecido de granulação composto por linfócitos, plasmócitos e macrófagos na área periférica, além de vasos congestos. Células gigantes foram observadas no interstício da esponja. Esse tecido de granulação, denso, bastante celularizado, com fibroblastos organizados e vasos congestos circundando a esponja embebida em Selante de Fibrina, foi persistente até o 28^o dia após a cirurgia. Células gigantes multinucleadas puderam ainda ser observadas próximo a esponja.

Os dados histológicos dos dois grupos estão sumarizados na Tabela (8). As figuras (2, 3, e 4) mostram comparativamente, os achados histológicos encontrados nos grupos Selante de Fibrina e Controle, durante os períodos de 7, 14 e 28 dias do pós-operatório. Não foram observadas reações infecciosas em nenhum dos animais em nenhum tempo de observação do estudo.

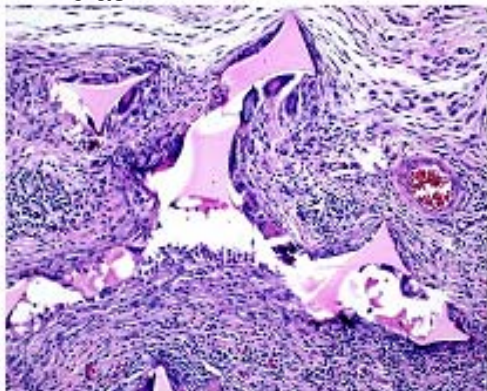
Enunciado: Cortes histológicos da pele de rato nos dias 7, 14, 28 nos grupos com Selante de Fibrina e no grupo controle (fotos 2, 3, e 4).

Grupo Selante de Fibrina (A)

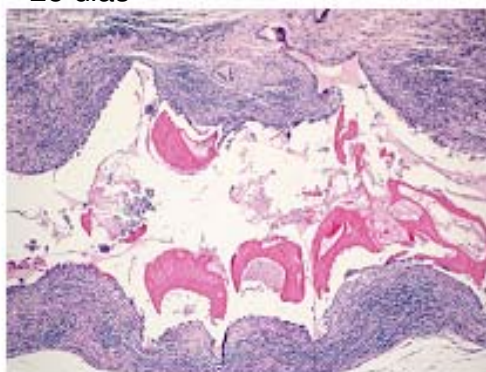
7 dias



14 dias

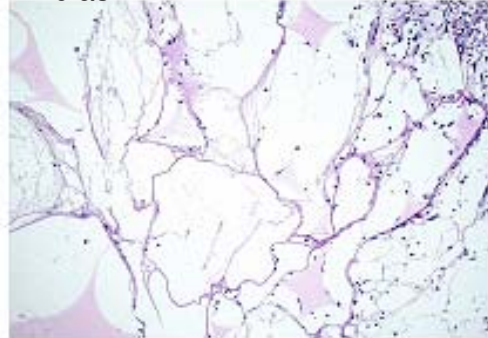


28 dias

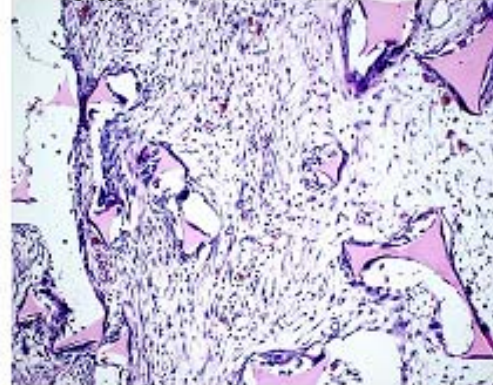


Grupo Controle (B)

7 dias



14 dias



28 dias

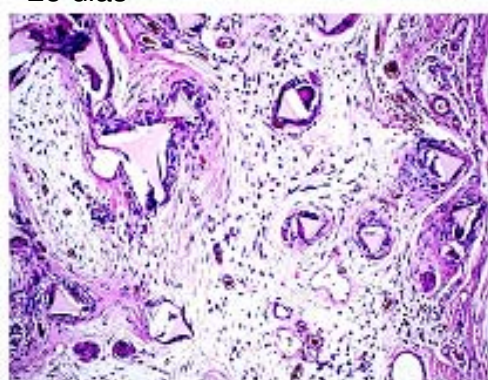


Figura 2: Fotos microscópicas (X10) obtidas 7 dias no pós-cirúrgico.

2A: Tecido de granulação ao redor do material eosinofílico (Selante de Fibrina – seta) – células inflamatórias não conseguem penetrar no material.

2B: Controle: reação inflamatória aguda que invade o interstício da esponja, produzindo uma reação de corpo estranho (células gigantes - seta)

Figura 3: Fotos microscópicas (X10) obtidas 14 dias do pós-cirúrgico.

3A: Reação inflamatória densa ao redor da esponja que apresenta permanência de restos de Selante de Fibrina

3B: Controle: Formação de um tecido de granulação frouxo organizado, envolvendo todo material. Presença de células gigantes ao redor da esponja.

Figura 4: Fotos microscópicas obtidas 28 dias do pós-cirúrgico.

4A: Tecido de granulação organizado, rico em fibroblastos envolvendo o Selante de Fibrina remanescente (X 2.5)

4B Controle: Poucas células inflamatórias e tecido de regeneração frouxo ao redor da esponja (X 10)

Tabela 8: Achados histológicos em pele. Estudo experimental da reparação tecidual em pele, nos Grupos Controle e Selante de Fibrina Comercial.

Período*	Achados Histológicos	
	Grupo Controle	Grupo com Selante de Fibrina
24 horas	Inflamação aguda	Inflamação aguda
7 dias	Inflamação crônica neutrofílica com poucas células gigantes	Inflamação crônica permeando o material, poucas células no interior da esponja.
14 dias	Esparsas células inflamatórias envolvendo a esponja, presença de tecido de granulação em toda área do material.	Células inflamatórias envolvendo a periferia do material, tecido de granulação desorganizado na periferia; intenso processo inflamatório no interior do material e presença do Selante de Fibrina.
21 dias	Presença de um tecido de granulação frouxo, com poucas células inflamatórias ao redor da esponja.	Presença de tecido de granulação desorganizado rico em células inflamatórias crônicas na periferia. Na área central, intensa reação inflamatória com presença de Selante de Fibrina remanescente.
28 dias	Presença de tecido de regeneração frouxo, com poucas células inflamatórias ao redor da esponja.	Presença de denso tecido de granulação ao redor do material, rico em fibroblastos enquanto que na área central, células inflamatórias presentes ao redor do Selante de Fibrina.

* Período = intervalo entre o dia de inclusão da esponja na derme dos animais e a data de sacrifício dos animais

II.5 – Resultados Estatísticos

Os dados (anexo 3) foram analisados através do *Wilcoxon signed rank test* (S Plus 2002, Seattle, USA) para a mensuração do peso das diferenças entre os números de células inflamatórias de cada animal em ambos grupos (Tabela 9).

Os resultados demonstraram diferenças significativas entre os dois grupos estudados ($p < 0,001$), conforme Tabela (10).

Tabela 9: Resultados histomorfométricos do estudo experimental da reparação tecidual em pele, nos períodos de 24 horas, 7, 14, 21 e 28 dias após a cirurgia nos grupos com Selante de Fibrina e Grupo Controle.

Dias	Grupo Selante de Fibrina Media (min-max)	Grupo Controle Media (min-max)	Número do peso das diferenças	P value
1	1390 (1181-2267)	1516 (803-1616)	25	0.04
7	1211 (1021-1595)	750 (585-849)	20	<0.001
14	2479 (1242-2934)	1092 (997-1346)	72	<0.001
21	1052 (803-1874)	880 (590-1902)	64	<0.001
28	3008 (1476-3515)	936 (877-1157)	9	0.002

* Wilcoxon signed rank test

Tabela 10: Mensuração das diferenças ponderadas entre os números de células inflamatórias encontradas nos Grupos de Selante de Fibrina e Controle do estudo experimental da reparação tecidual em pele.

Periodos	Comparação entre grupos ⁽¹⁾			Comparação entre grupos ^{*(2)}			Diferenças ponto a ponto para cada grupo/dia de coleta ^{** (3)}		Diferenças ponto a ponto ^{*** (4)}	
	Controle	SelanteFibrina		Controle	SelanteFibrina		SelanteFibrina/Controle		SelanteFibrina/Controle	
	N	n	P ⁽⁵⁾	N	n	P ⁽⁵⁾	n	P ⁽⁶⁾	n	P ⁽⁶⁾
24 horas	5	5	0,69	28	30	<0,001	25	0,04	190	<0,001
7 dias	4	5	0,016				20	<0,001		
14 dias	8	9	<0,001				72	<0,001		
21 dias	8	8	0,23				64	<0,001		
28 dias	3	3	0,10				9	0,002		

*normalizado pela mediana de controle e agrupando todos os dias de coleta

**normalizado por controle

*** normalizado do controle e agrupando todos os dias de coleta

GSF= grupo Selante de Fibrina

GC= grupo controle

1=grupo Selante de Fibrina versus grupo controle para cada dia de coleta

2= grupo Selante de Fibrina versus grupo controle, normalizados pela mediana de controle e agrupando todos os dias de coleta

3=[valor(GSF) - valor (GC)] / | valor (GC) | (ponto a ponto) para cada dia de coleta

4=[valor(GSF) - valor (GC)] / | valor (GC) | (ponto a ponto) agrupando todos os dias de coleta

5= Wilcoxon rank-sum test

6= Wilcoxon signed-rank test

Os resultados do estudo histomorfométricos estão demonstrados nos “*boxplots*” nas figuras 5, 6, 7, 8 e 9 definidos pelos *quartis* superiores e inferiores, onde a mediana do número de células é marcada pela subdivisão das caixas.

Figura 5: *Boxplots* mostrando o número de células encontradas nos grupos com Selante de Fibrina e Grupo Controle.

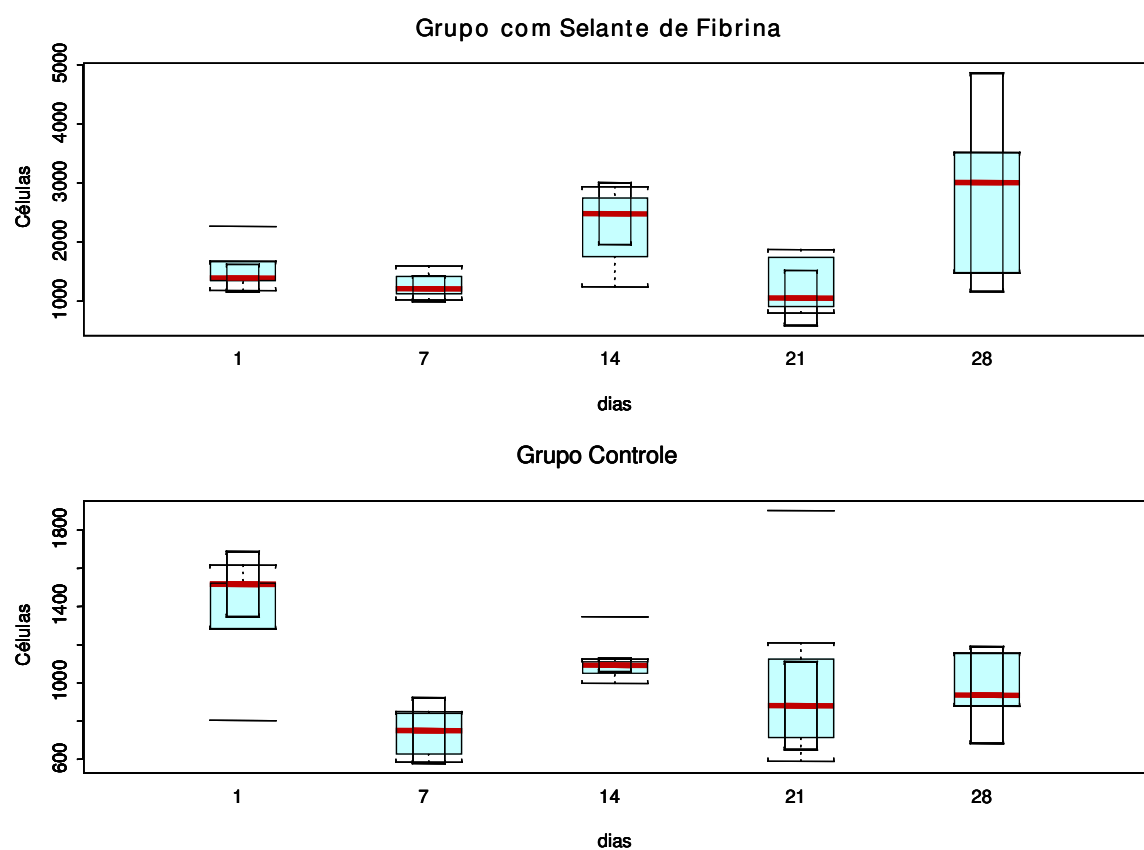


Figura 6: *Boxplots* mostrando o número de células encontradas nos grupos com Selante de Fibrina e Grupo Controle (dados não normalizados).

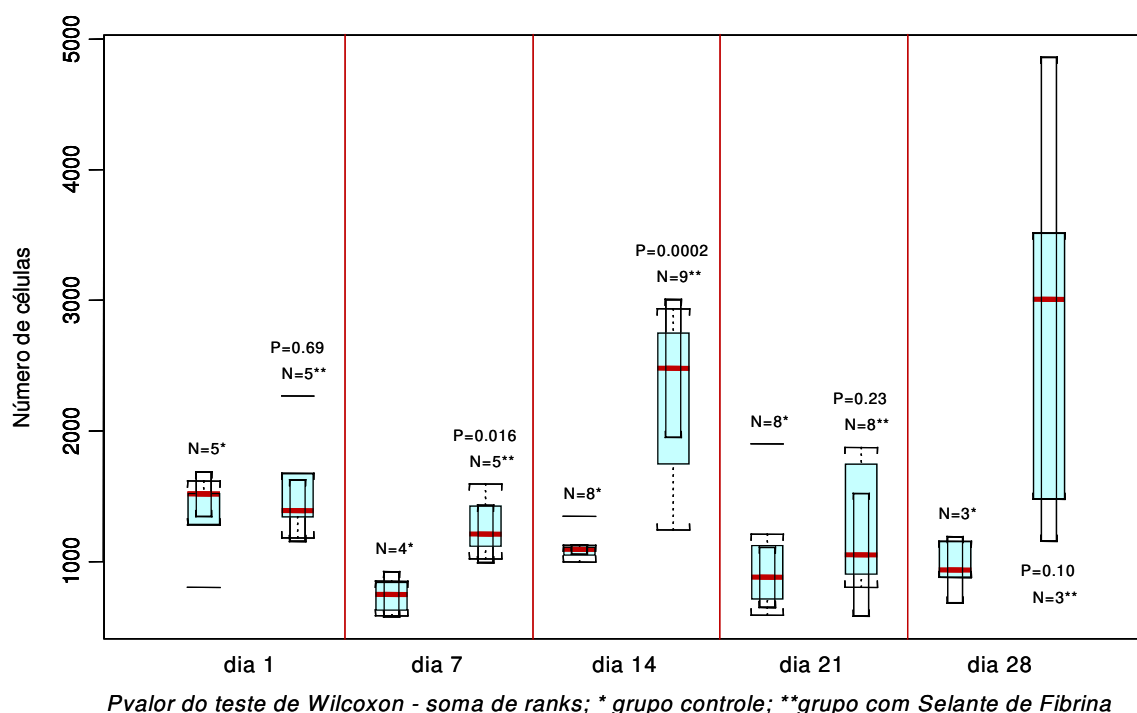


Figura 7: *Boxplots* mostrando o número de células encontradas por grupos (com Selante de Fibrina e Grupo Controle), normalizados pelas medianas dos controles e agrupadas em relação ao dia da coleta.

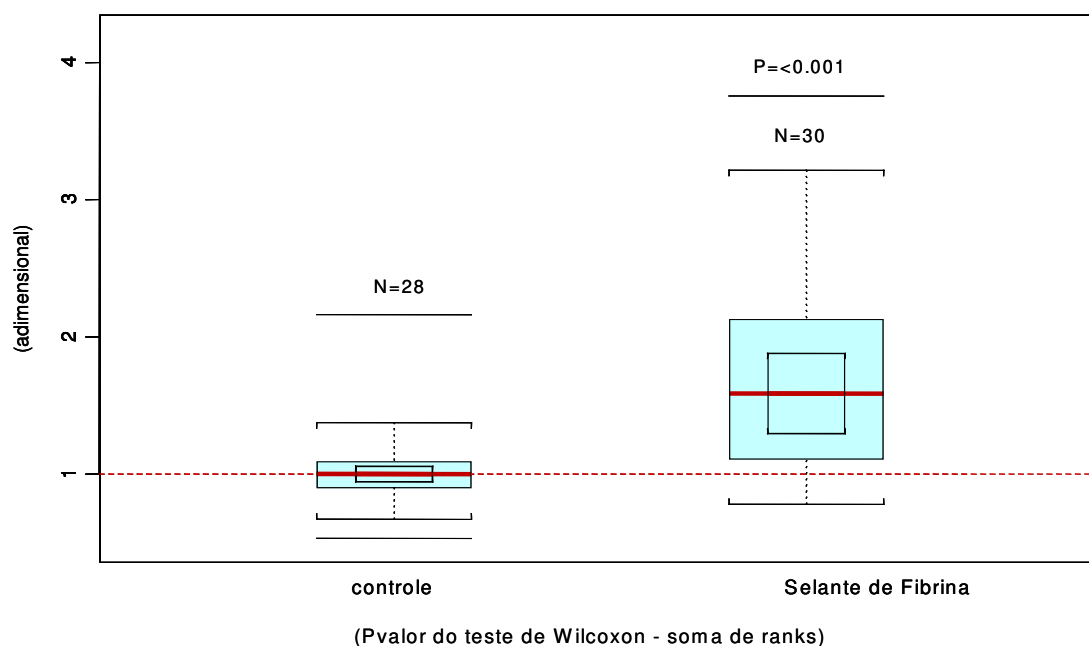


Figura 8: *Boxplot* mostrando as diferenças ponto a ponto do número de células dos grupos com Selante de Fibrina e Grupo Controle, normalizados pelos valores de controle para cada dia de coleta (1, 7, 14, 21 e 28 dias) após a cirurgia.

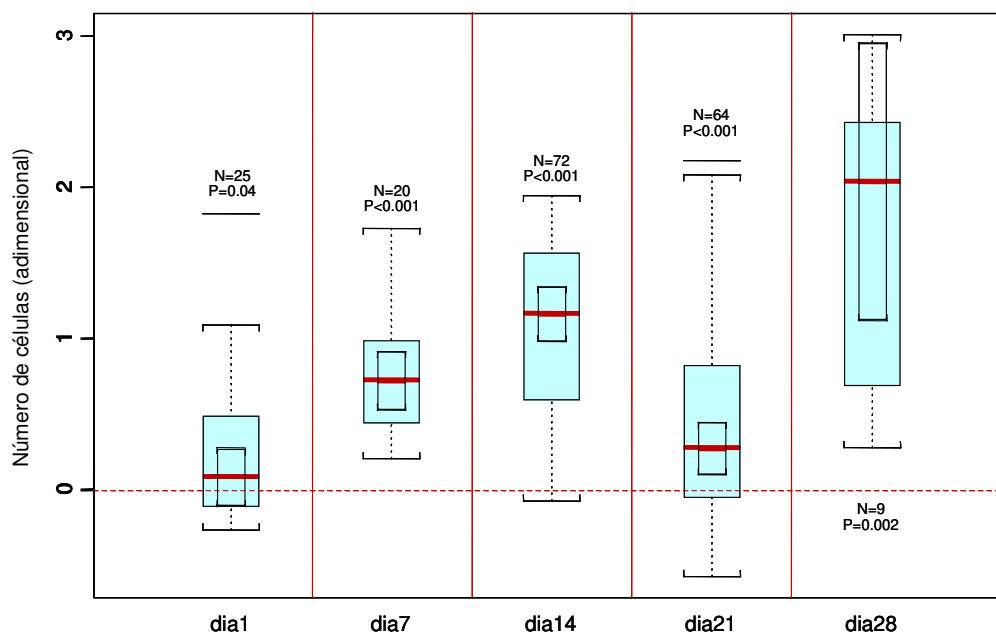
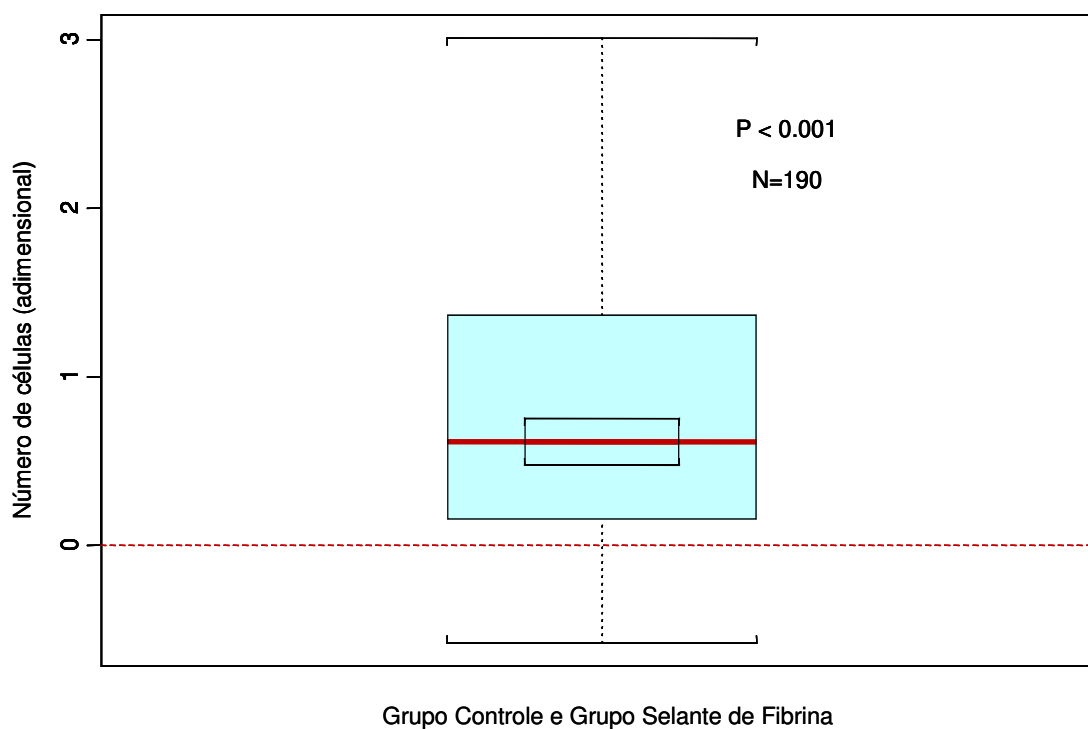


Figura 9: *Boxplots* mostrando as diferenças ponto a ponto do número de células dos grupos com Selante de Fibrina e Grupo Controle, normalizados pelos valores de controle e dias de coleta agrupados.



Discussão

II.6 – Estudo Experimental da Reparação Tecidual em Pele utilizando

Selante de Fibrina

Os selantes de fibrina ou mesmo as colas de fibrina (*“home made”*) possuem grande aplicabilidade clínica, principalmente por mimetizar a via final da rede de coagulação e contribuir no processo inicial da reparação tecidual (Soffer et al., 2003).

Os componentes dos selantes participam ativamente desses processos. A concentração de fibrinogênio presente nos adesivos de fibrina determina a “força” mecânica do coágulo e pode indicar a sua capacidade de selamento (Kjaergard & Weiss, 1994). A fibrina atua como barreira hemostática e meio de migração celular (Matras, 1985; Schlag & Redl, 1988). A trombina, cuja concentração presente no selante determina a velocidade de formação do coágulo, também funciona como agente mitógeno para fibroblastos e para células endoteliais (Soffer et al., 2003). O Fator XIIIa cataliza a reação dos inibidores de plasmina, colágeno e de outras glicoproteínas, como fibronectina, vitronectina, trombospondina e fator de von Willebrand e dá suporte para a manutenção do coágulo no sítio “selado” (Martinowitz & Saltz, 1996).

Entretanto, existe uma diferença quantitativa dos componentes dos adesivos teciduais que varia conforme a metodologia de produção e que podem influenciar significativamente nos resultados finais do seu uso, principalmente no processo de reparação tecidual (Abdala, 2003).

Matras (1982), quando descreveu as propriedades dos selantes de fibrina, discutiu também que a estabilidade do coágulo é determinada pela ação fibrinolítica presente na área a ser “selada” e pela concentração do agente antifibrinolítico presente no coágulo. O coágulo proveniente do uso do selante, segundo a autora, deve possuir adesividade suficiente para prevenir o deslocamento da área “selada”, e, ao mesmo tempo, ser fisiologicamente reabsorvível para que o processo de cicatrização tecidual não seja atrasado. Segundo a autora, uma das maiores vantagens do uso do Selante de Fibrina está na prerrogativa de que o selante é fisiologicamente reabsorvível. Nesse mesmo relato, a autora sugere que a concentração ideal de aprotinina para enxerto de

pele e selamento de dura, seria ao redor de 3000KIU/mL. Kuderna (1979) relata que, para anastomose de nervo periférico, a concentração de aprotinina ideal seria ao redor de 100KIU/mL. Michel & Harmand (1990), discutindo ainda a ação dos componentes dos selantes de fibrina no processo de cicatrização tecidual, estudaram o efeito da trombina e do cálcio no crescimento de fibroblastos humanos e na produção de colágeno. Os autores demonstraram que fibroblastos provenientes de pele humana, na presença de 50IU de trombina/mL e de 2M de íons de cálcio, poderiam aumentar a síntese de colágeno tipo I e III, melhorando assim, o processo cicatricial.

Clark (2000) em um trabalho de revisão de literatura sobre a ação do Selante de Fibrina na reparação tecidual discute que, o uso do selante como promotor da cicatrização tecidual e na prevenção de adesão abdominal parece ser contraditório, já que um agente que promove reparo de tecido pode aumentar a capacidade de adesão tecidual e não preveni-la. O autor ainda ressaltou que há muitos dados inconsistentes na literatura, devido aos diferentes selantes utilizados nos estudos, diferentes modelos animais, diferentes situações clínicas e métodos de aplicação do mesmo. Segundo análise da literatura, o autor comentou a necessidade da padronização dos selantes de fibrina e dos meios de aplicação dos mesmos para que essas discrepâncias na literatura possam ser resolvidas.

No estudo apresentado foi estudado o processo cicatricial em pele, induzido pelo Selante de Fibrina comercial Beriplast P® (Aventis-Beringher, Alemanha). O Selante Beriplast P® contém fibrinogênio humano (65-115mg), trombina humana (4.600UI), Fator XIII (40-80UI) e aprotinina bovina (0.56PEU). Em nenhum grupo estudado houve infecção. Nos dois grupos foram encontradas reações inflamatórias de corpo estranho (presença de células gigantes), que provavelmente estavam relacionadas à presença da esponja. Os resultados encontrados também demonstraram que no grupo onde o Selante de Fibrina foi inserido, houve uma intensa reação inflamatória quando comparada com o grupo controle. Essa reação inflamatória era composta de células inflamatória agudas, seguida pela formação de um processo de inflamação crônico e por um tecido de granulação rico em fibroblastos. Esse infiltrado persistente rico em fibroblastos

sugere que em longo prazo, poderia haver formação de um processo cicatricial rico em colágeno e, conseqüentemente, mais fibrose.

A reação inflamatória no grupo de ratos que recebeu o selante foi persistente até o período final do estudo (28 dias). No grupo controle, o processo de reparação tecidual seguiu um curso aparentemente normal, mostrando a formação de um tecido cicatricial na área onde a esponja foi colocada. A reação inflamatória encontrada no grupo de estudo parecia estar relacionada à presença remanescente do Selante de Fibrina. Interessante notar que, as células inflamatórias da fase aguda ou mesmo as da fase crônica, permaneceram na periferia do material (esponja e selante), sugerindo que o Selante formou uma massa densa não permitindo que a penetração das células inflamatórias no interstício da esponja, contrário do que aconteceu no grupo controle.

Esses achados estão de acordo com os resultados do trabalho de Hanson & Quinn (2002). Os autores estudaram os diferentes componentes dos selantes de fibrina na quimiotaxia dos neutrófilos e demonstraram que o aumento da concentração de fibrina do selante resulta na inibição da habilidade dessas células migrarem através do coágulo. Esse resultado foi ligado à concentração de fibrina, ou seja, um coágulo com concentração de $>2,0\text{mg/mL}$ de fibrina, pode bloquear completamente a quimiotaxia dos neutrófilos. A presença do FXIII também influencia a quimiotaxia, ou seja, os autores sugerem que selantes com deficiência de FXIII permitem uma maior migração neutrofílica quando comparados com as preparações que contêm o FXIII. Segundo os autores, a presença de antifibrinolíticos não interfere na migração celular. Os autores concluem que a formulação dos selantes pode influenciar no processo de cicatrização tecidual, principalmente no respeito à quimiotaxia de neutrófilos.

A persistência do Selante de Fibrina por 28 dias do pós-cirúrgico coincide com os resultados do trabalho feito por Krishnan et al., (2003). Os autores estudaram o processo cicatrização em pele, em fígado e em dura mater de ratos, utilizando dois tipos diferentes de selantes comerciais, um com antifibrinolítico (aprotinina e ácido épsilon- aminocapróico), e outro sem esses produtos. Os autores demonstraram não haver diferença na capacidade de adesão dos tecidos pelos dois grupos de selantes. Entretanto, nos resultados em pele, os autores

demonstraram a permanência do selante com antifibrinolíticos, até 15 dias do pós-cirúrgico, enquanto que no outro grupo, o selante já havia sido reabsorvido. Em dura mater, não houve diferença no crescimento ósseo entre os dois grupos. Os autores sugerem que é desnecessário o uso de antifibrinolíticos no Selante de Fibrina, pois a permanência por longo tempo do selante no tecido pode afetar desfavoravelmente a migração das células de reparo, agindo em detrimento da cicatrização epitelial.

Em contraste, Hafez et al., (2004) em estudo histológico, onde foi utilizado o Selante de Fibrina (Tissel®- Baxter, Áustria) como meio auxiliar na cicatrização de correção do cordão peniano em coelhos demonstrou a formação de angiogênese e infiltrado inflamatório na camada de selante até duas semanas do pós-operatório. Os autores ainda comentaram que o Selante de Fibrina proporcionou o crescimento controlado do número de fibras colágenas, demonstrando efetividade no procedimento cirúrgico proposto. Da mesma maneira, Saltz et al (1991) usando cola de fibrina demonstraram bons resultados estéticos após aplicação da cola em feridas de mão e face, sem formação de fibrose.

Scardino et al., (1999) e Virgílio et al., (1999) demonstraram em modelo animal, a presença de um processo inflamatório crônico moderado e persistente por cerca de 30 dias do pós-operatório, em dorso de ratos. Os autores sugeriram que a persistência do processo inflamatório, associado com infecção, isquemia tecidual e reação inflamatória de corpo estranho poderiam precipitar fatores que aumentariam a formação de adesão tecidual indesejável.

Portanto, os resultados desse trabalho sugerem que o Selante de Fibrina comercial Beriplast P® (Aventis-Beringher, Alemanha) no modelo animal estudado, promoveu um processo inflamatório intenso e persistente até o final do período de estudo, quando comparado ao grupo controle. Esses resultados demonstram que esse selante pode induzir a formação de fibrose no processo de cicatrização de pele.

***Capítulo III – Estudo Experimental da
Reparação Alveolar Utilizando Cola de
Fibrina e Selante de Fibrina Comercial***

Casuística, Materiais e Métodos

Capítulo III – Estudo Experimental Da Reparação Alveolar Utilizando Cola de fibrina E Selante de Fibrina Comercial

Foi avaliada experimentalmente a capacidade de reparação óssea alveolar induzida pela Cola de fibrina e pelo Selante de Fibrina Comercial, comparada com um Grupo Controle. Os animais foram adquiridos do Biotério Central da Unicamp e o trabalho foi desenvolvido no Biotério da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP)/Unicamp, em conjunto com o Departamento de Patologia Oral da Faculdade. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEAA) do Instituto de Biologia da Unicamp, sob número de protocolo 331.

III.1 – Casuística

O estudo da avaliação do processo de cicatrização óssea alveolar foi feito com 75 ratos da raça Wistar, com sete semanas de vida (cerca de 200g), independente do sexo do animal.

Todos os animais foram submetidos à anestesia intramuscular com cloridrato de ketamina 10% (10mg/kg de peso - Francotar®, Virbac do Brasil) e 2-(2,6-xilidino)-5,6-dihidro-4H-1,3 cloridrato de tiazina (5mg/kg de peso Rompun® - Bayer SA, Brasil).

Depois de anestesiados, foi extraído o incisivo central superior direito de cada animal com fórceps infantil número 1 (para incisivos superiores) (Okamoto, 1973).

Após a extração os animais foram divididos em 3 grupos distintos, onde os alvéolos foram preenchidos com a Cola de fibrina, com Selante de Fibrina Comercial (Beriplast P®), sendo que o último grupo de animais não recebeu nenhum selante sendo considerado como Grupo Controle. O local da extração foi suturado e os animais receberam alimentação com ração pulverizada até sete dias no pós-operatório.

A Cola de fibrina foi preparada a partir de crioprecipitado obtido dos pacientes hemofílicos que entraram no estudo clínico, seguindo a técnica preconizada por De Moraes et al (1983). As características bioquímicas da Cola de fibrina utilizada são; fibrinogênio (846-1208 mg/dL); trombina bovina (300UI) e cloreto de cálcio (25mg/ml). Nenhum antifibrinolítico foi incorporado a esse

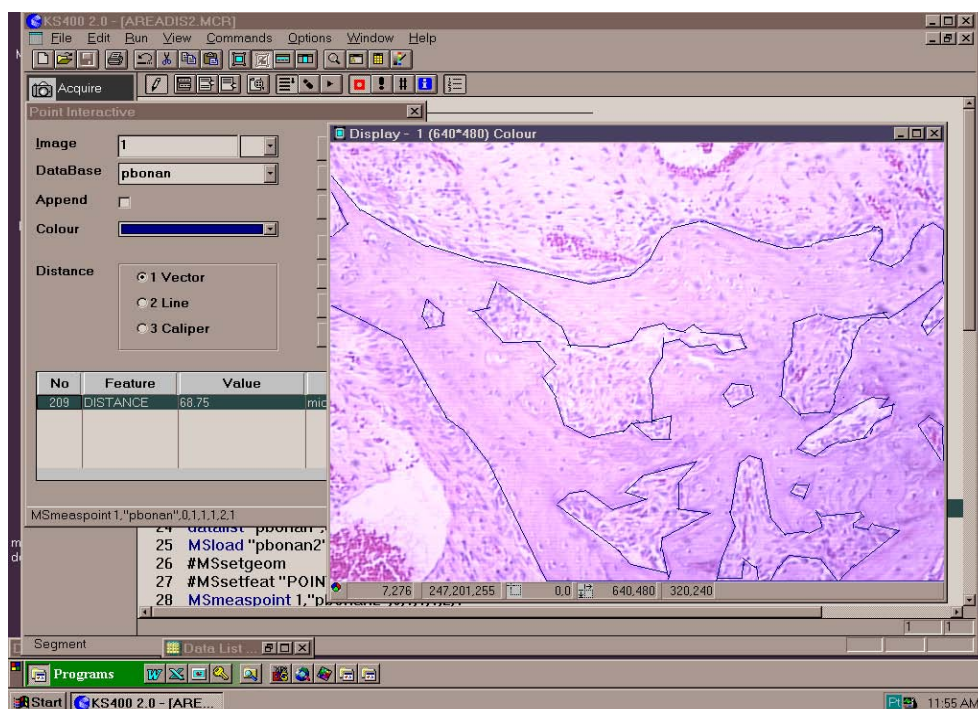
selante. O Selante de Fibrina Beriplast P® é composto por fibrinogênio humano (65-115mg), trombina humana (4.600UI), Fator XIII (40-80UI) e aprotinina bovina (0.56PEU). A técnica de aplicação intra-alveolar foi similar àquela empregada na clínica odontológica, tentando preencher o alvéolo totalmente, até extravasar. O material excedente foi recortado e a mucosa suturada.

Os animais foram sacrificados com inalação prolongada de éter em períodos de 24 horas, 7, 14 e 28 dias após a cirurgia. Os crânios foram dessecados e submetidos à descalcificação em solução de ácido etileodiaminotetracético 4,13% p/v (E.D.T.A Invitrogen®, EUA), pH8,0 em temperatura ambiente e sob agitação constantes por cerca de 07 a 10 dias. Posteriormente, foram feitos cortes longitudinais e seções transversais para inclusão em parafina. Da secção transversal foram originadas duas porções, a porção anterior, que incluía da cervical à mediana do alvéolo e a porção posterior, que envolvia da porção média até a apical. Após a inclusão em parafina cortes subsequentes foram realizados com 5 µm de espessura e foram corados em H&E de acordo com as normas da AFIP (Thoma, 1955) para posterior análise em microscópico ótico.

III.2 – Avaliação Histomorfométrica

O estudo morfométrico foi realizado utilizando o microscópio KS 400 (Carl Zeiss, Jena – Jena, Germany) em objetiva de aumento de 10X. A mensuração da área de osso neoformado foi feita em dois pontos aleatórios (região apical e terço médio da porção posterior / área cervical e média anterior) de cada porção. Foi realizado o contorno da área óssea com o “mouse” do computador, em área estática definida pela imagem projetada no computador. A calibração do aparelho seguiu os seguintes parâmetros: distância X e Y: 100 µm; escala X e Y: 0,323625 µm/pixel sendo o resultado final dado em µm (Figura 10). As lâminas foram analisadas aleatoriamente às cegas por um único observador.

Figura 10: Foto da tela do programa KS-400(Carl Zeiss, Jena – Jena, Germany), mostrando a delimitação da área de osso neoformado.



III.3 – Avaliação Estatística

Os dados foram estudados estatisticamente, utilizando-se o *Tukey test*, Regressão Múltipla e ANOVA considerando o tempo de cicatrização (incidência de osso neoformado induzido pelos diferentes selantes) em cada período de tempo estudado (S-plus 2000, Math Soft Inc, Seattle, WA).

Resultados

III.4 – Resultados da Avaliação Experimental da Reparação Alveolar utilizando Cola de fibrina ou o Selante Comercial

Os resultados da análise das amostras obtidas dos cortes alveolares dos grupos que receberam Selante de Fibrina Beriplast P® (Aventis - Berhinger, Alemanha); Cola de fibrina e Grupo Controle, mostraram:

III.5 – Resultados Histológicos

III.5.1 – Grupo Controle

Nas primeiras vinte e quatro horas do pós-cirúrgico, o alvéolo dentário do rato mostrou-se preenchido por um processo hemorrágico intenso, presente tanto na porção posterior quanto na anterior das amostras obtidas. Não foi observada a presença do “saco embrionário dentário” nos cortes analisados. As amostras avaliadas após 7 dias do procedimento mostraram um processo cicatricial inicial, com formação de matriz óssea em ambas porções estudadas que evolui para a reparação óssea, não completa, até o dia 28 do pós-cirúrgico.

III.5.2 – Grupo com Selante de Fibrina Comercial

O grupo que recebeu o Selante de Fibrina Comercial no alvéolo não foi possível observar a presença do Selante na porção apical do corte “posterior” em duas das amostras obtidas (2/5). Nas primeiras 24 horas do pós-cirúrgico, pode ser observado uma grande quantidade de sangue intra-alveolar em ambas porções (anterior e posterior). Na avaliação do grupo de 7 dias, foi identificada matriz óssea e uma grande área de osso neoformado pode ser observada até o final do período de estudo. Reminiscência do Selante de Fibrina comercial pode ser observado intra-alveolar até o 28^o após a cirurgia.

Foi observada também, a presença áreas de retenção de sangue envolvidas por matriz óssea em todas as amostras obtidas até o 28^o do pós-

operatório, o que não foi vista no Grupo Controle. As Figuras (11-17) mostram os achados histológicos encontrados durante o período de estudo.

III.5.3 – Grupo com Cola de fibrina

Nas primeiras vinte e quatro hora do pós-operatório pode ser observada uma grande quantidade de sangue intra-alveolar. A presença da Cola de fibrina não pode ser identificada, pois havia uma material eosinofílico, provavelmente resultante da mistura do sangue animal com a cola de fibrina. No sétimo dia, pode ser observada a presença de matriz óssea, e, em todos as lâminas, a presença de sangue envolto por osso neoformado. Após esse período, houve a formação de matriz óssea até o final do período de avaliação, com a manutenção de pequenos grupos de sangue envolto por matriz e osso neoformado, como o observado no Grupo com Selante Comercial.

As figuras (11-14) mostram os achados histológicos de neoformação óssea, das regiões “Posterior” dos Grupos Controle (GC), Cola de fibrina (CF) e Selante de Fibrina Comercial (SF), após 24 horas, 7, 14 e 28 dias pós-cirúrgico, respectivamente. As figuras (15-17) mostram os achados histológicos da neoformação óssea na região “Anterior” dos Grupos Controle (GC), Cola de fibrina (CF) e Selante de Fibrina Comercial (SF), nos períodos de 7, 14 e 28 dias pós-cirúrgico, respectivamente.

Enunciado: Cortes histológicos da região alveolar posterior nos Grupos Controle, Cola de fibrina e Selante Comercial, nos períodos de 24 horas, 7, 14 e 28 dias do pós cirúrgico (fotos 11, 12, 13 e 14).

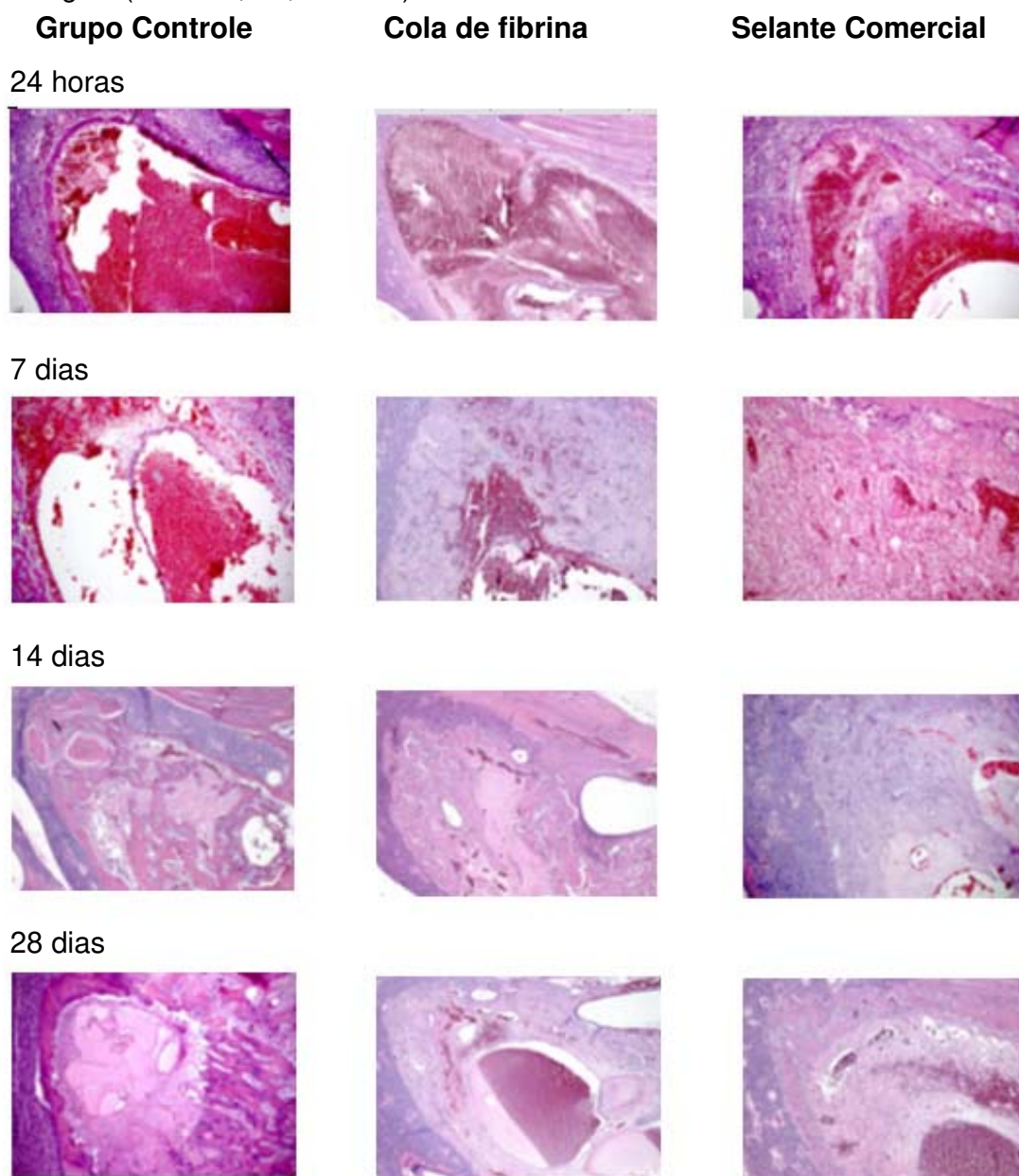


Figura 11: Fotos microscópicas obtidas após as primeiras 24 horas do pós-cirúrgico (X25).

Grupo Controle: presença de sangue intra-alveolar

Grupo Cola de fibrina: presença de sangue intra-alveolar

Grupo Selante de Fibrina: presença de sangue intra-alveolar

Figura 12: Fotos microscópicas obtidas no 7^o dia pós –cirúrgico (X25).

Grupo Controle: remanescente do processo de sangramento intra-alveolar

Grupo Cola de fibrina: formação de matriz óssea e osso neoformado; presença de sangue envolto em matriz óssea

Grupo Selante de Fibrina: formação de matriz óssea e osso neoformado circundando núcleos de sangue, o selante comercial não foi perceptível histologicamente.

Figura 13: Fotos microscópicas obtidas no 14^o dia pós –cirúrgico (X25).

Grupo Controle: regeneração óssea praticamente envolvendo todo o alvéolo

Grupo Cola de fibrina: regeneração óssea alveolar envolvendo um material eosinofílico, provavelmente cola de fibrina, que engloba remanescente sanguíneo.

Grupo Selante de Fibrina: presença de matriz óssea e osso neoformado, além de áreas com remanescente sanguíneo (provavelmente Selante de Fibrina).

Figura 14: Fotos microscópicas obtidas no 28^o dia pós –cirúrgico (X25).

Grupo Controle: matriz óssea e osso neoformado, praticamente preenchendo todo alvéolo

Grupo Cola de fibrina: matriz óssea e osso neoformado, mas ainda pode ser observado a presença de restos de sangue envoltos por material eosinofílico

Grupo Selante de Fibrina: matriz óssea e osso neoformado, com presença de resto de sangue envolto por matriz óssea

Enunciado: Cortes histológicos da região alveolar posterior nos Grupos Controle, Cola de fibrina e Selante Comercial, nos períodos de 7, 14 e 28 dias do pós cirúrgico (fotos 15, 16 E 17).

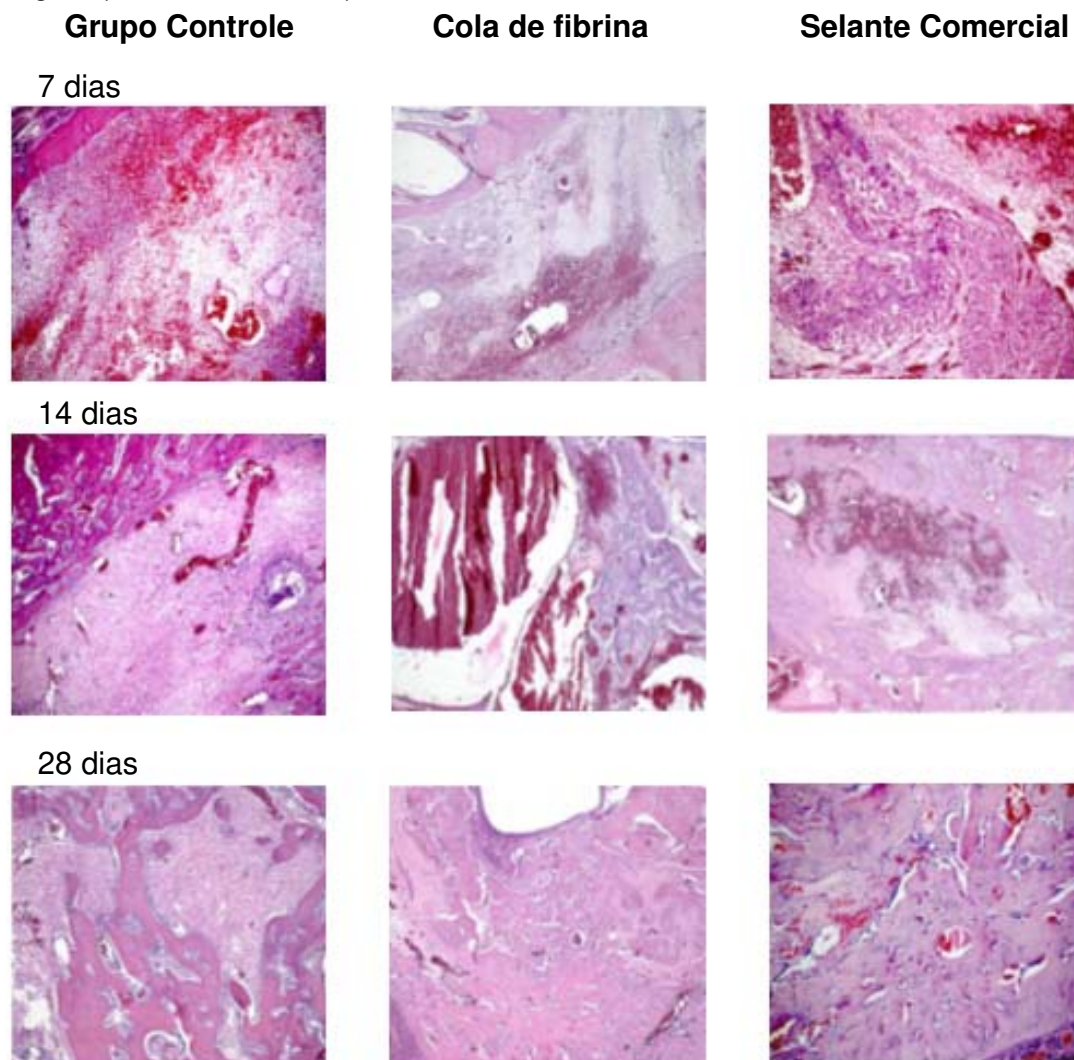


Figura 15: Fotos microscópicas obtidas no 7^o dia pós-extração dentária (X25).

Grupo Controle: sangue intra-alveolar

Grupo Cola de fibrina: sangue intra-alveolar, mostrando pequenos núcleos de neoformação óssea

Grupo Selante de Fibrina: Sangue intra-alveolar e epitélio de esmalte

Figura 16: Fotos microscópicas obtidas no 14^o dia pós-extração dentária (X25).

Grupo Controle: áreas de neoformação óssea envolvendo áreas com sangue

Grupo Cola de fibrina: matriz óssea e formação de vacúolos onde pode ser observada a presença de uma material eosinofílico, provavelmente cola de fibrina, juntamente com restos de sangue.

Grupo Selante de Fibrina: presença de matriz óssea e osso neoformado, além de áreas com remanescente sanguíneo.

Figura 17: Fotos microscópicas obtidas no 28^o dia pós-extração dentária (X25).

Grupo Controle: matriz óssea e osso neoformado praticamente em todo alvéolo envolvendo algumas áreas com sangue

Grupo Cola de fibrina: matriz óssea e osso neoformado, mas ainda pode ser observada a presença de restos de sangue envolto por material eosinofílico, provavelmente cola de fibrina.

Grupo Selante de Fibrina: matriz óssea e osso neoformado, com presença vacúolos onde pode ser observado a presença de material eosinofílico juntamente com resto de sangue

III.6 – Resultados Estatísticos

III.6.1 – Região Posterior

Os dados analisados estão na planilha (Anexo 4). Foram utilizados os testes de *Regressão Múltipla* e *ANOVA* para a avaliação dos resultados obtidos sobre as variáveis “Posterior” e “Anterior”. O fator “Cola” conta com três níveis; Selante Comercial; Cola de fibrina e Grupo Controle; ao passo que o fator Tempo conta com quatro níveis (1, 7, 14 e 28). Como todos os níveis dos dois fatores foram combinados gerando um total de 12 (doze) grupos, tratou-se de um experimento inteiramente casualizado com arranjo fatorial de dois fatores (3x4). O teste de *Tukey* foi utilizado para comparações de médias que permitiu definir quais eram diferentes entre si.

Os resultados do ANOVA mostraram que o fator “Cola” ($p=0,0034$) e o fator “Tempo” ($p<0,001$) foram significativos para o procedimento cicatricial alveolar. Quando testados entre si, o resultado não foi estatisticamente significativo ($p=0,3895$) (Tabela 11).

O teste de *Tukey* permitiu concluir que o resultado obtido a partir das médias das áreas de reparação óssea do “Cola de fibrina” é significantemente inferior daquela obtida nos grupos “Selante Comercial” e “Controle” ($p<0,005$). A Tabela (12) mostra as médias e intervalos de confiança nos diferentes níveis do fator “Selante”.

A Tabela (12 e Figura 18) demonstra a análise de comparações dos grupos de Cola de fibrina, Selante de Fibrina Comercial e Grupo Controle, através das médias, desvios padrão e intervalos de confiança da variável “Posterior” calculados com base nos dados obtidos. Nessa tabela podemos observar uma menor formação óssea regenerativa no grupo que utilizou a Cola de fibrina e um aumento da neoformação no grupo do Selante de Fibrina Comercial, quando comparados com o grupo Controle.

Tabela 11: Análise da variâncias para um experimento inteiramente casualizado sobre a área de neoformação óssea alveolar, com arranjo fatorial dos Grupos Selante de Fibrina Comercial, Cola de fibrina e Tempo da região “Posterior”.

Causa da variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrados Médios	Estatística F	p
Adesivo	2	0.22312070	0.11156035	6.41	0,0034
Tempo	3	3.98940659	1.32980220	76.46	<.0001
Linear	1	2.23842996	2.23842996	128.70	<.0001
Quadrática de Tempo	1	1.20065778	1.20065778	69.03	<.0001
Cola/Tempo	6	0.11244629	0.01874105	1.081	0.3895
Resíduo	47	0.81745145	0.01739258		
Total corrigido	58	5.28214616			

Coeficiente de Determinação (R^2) : 0.845243

Coeficiente de variância (C.V.) : 2.355439

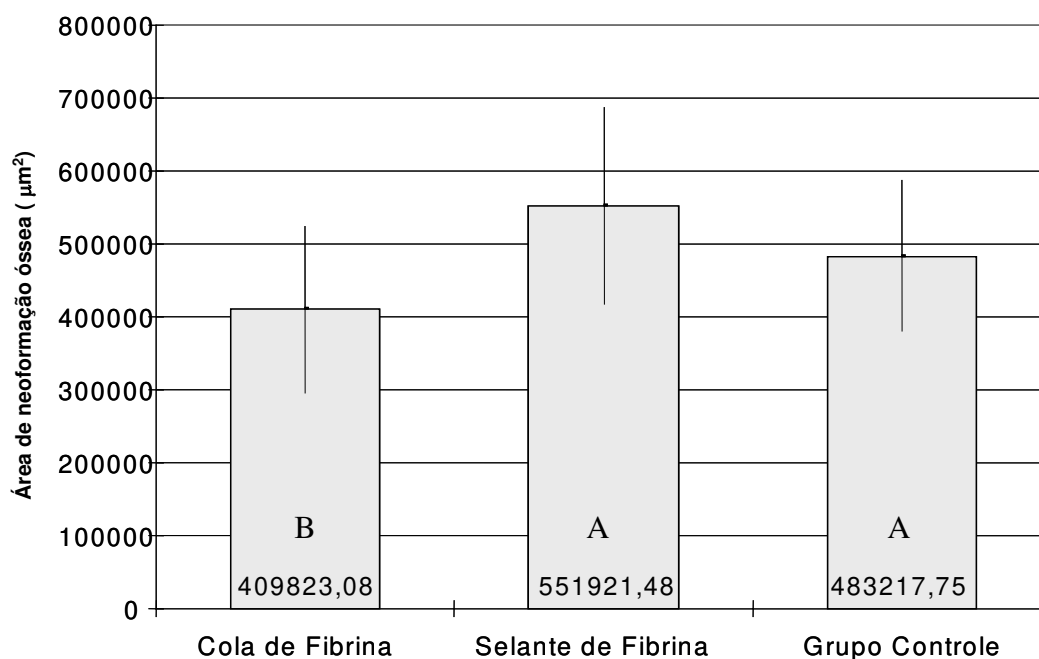
GL = grau de liberdade

Tabela 12: Comparação das médias da área de neoformação óssea alveolar dos grupos Selante de Fibrina Comercial (Beriplast P®), Cola de fibrina e Grupo Controle da região Posterior, através das médias, desvios padrão e intervalos de confiança da variável “Posterior” - Teste de Tukey ($\alpha=0,05$)

Grupos	N	média	Desvio padrão	Limite de confiança 95%		Grupos de Tukey*
				Inferior	superior	
Selante de Fibrina	20	551921.48	280311.29	687027.20	416815.76	A
Controle	20	483217.75	220391.25	586364.03	380071.47	A
Cola de fibrina	21	409823.08	244023.91	524029.78	295616.37	B

*Médias com letras iguais não se diferem entre si.

Figura 18: Médias e intervalos de confiança obtidas a partir das áreas de neoformação óssea dos grupos Cola de fibrina, Selante de Fibrina e Grupo Controle, da variável “Posterior”. Barras com a mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey, $\alpha=0,05$).



Quando se comparam as médias do “Tempo” em relação aos diferentes grupos de tratamento “Colas”, pode-se observar que o processo regenerativo ocorreu nos três grupos de forma similar, sem influência do Adesivo de Fibrina utilizado, conforme mostra Figura (19 e 20).

Figura 19: Médias e intervalos de confiança obtida a partir das áreas de neoformação óssea dos grupos Cola de fibrina, Selante de Fibrina e Grupo Controle, da variável “Posterior”. Barras com a mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey, $\alpha=0,05$)

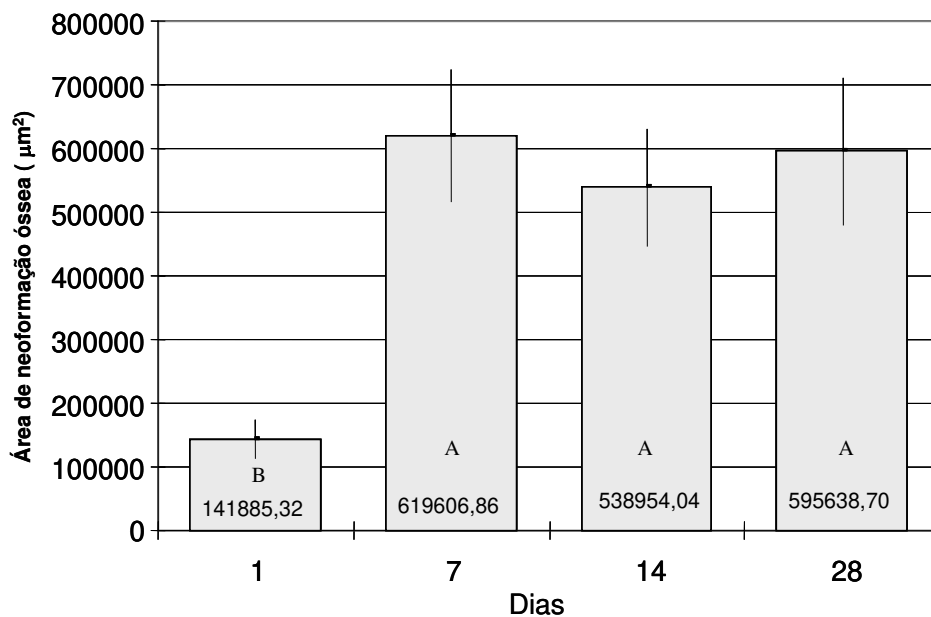
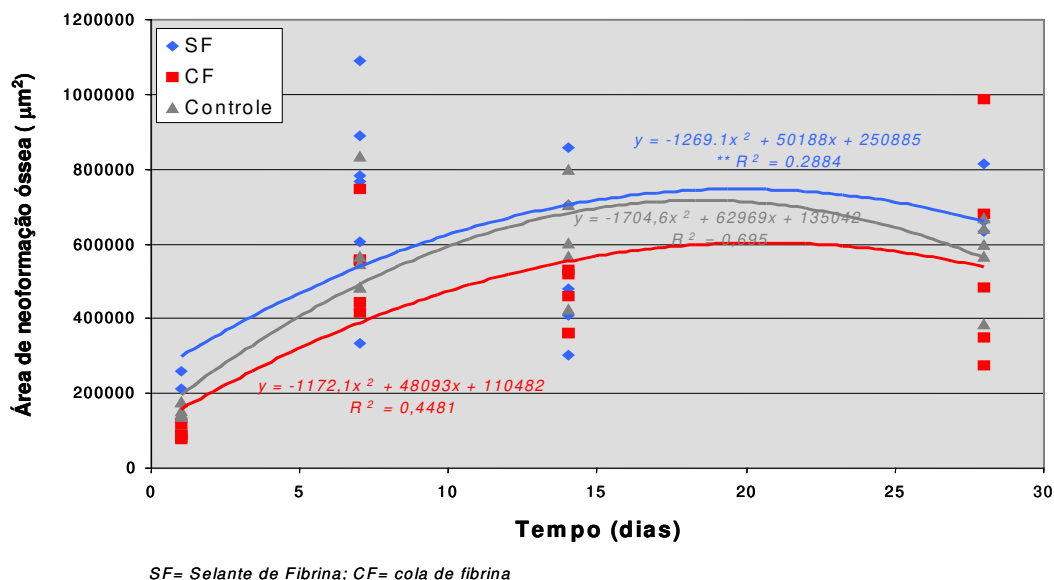


Figura 20: Regressões polinomiais quadráticas das áreas de neoformação óssea dos Grupos Selante de Fibrina, Cola de Fibrina e Grupo controle, na variável “Posterior” em função do Tempo.



III.6.2 – Região Anterior

Os resultados do ANOVA mostraram que o fator “Adesivo” ($p=0,0014$) e o fator “Tempo” ($p<0,001$) foram significativos para o procedimento cicatricial alveolar. Quando testados entre si, o resultado não foi estatisticamente significativo ($p=0,7453$).

Quando estudado os valores obtidos na avaliação da porção anterior dos alvéolos dos três grupos pelo Teste de Tukey, pode ser observado que a média de área neoformada no grupo da Cola de fibrina foi significativamente menor às médias obtidas nos grupos Selante de Fibrina Comercial e Grupo Controle ($p<0,005$) conforme Tabela (13 e 14). A Figura (21) demonstra as médias e intervalos de confiança obtidos a partir da análise da variável “Anterior”.

Tabela 13: Análise da variâncias para um experimento inteiramente casualizado sobre o Estudo Experimental da Regeneração Óssea Alveolar, com arranjo fatorial dos Grupos Cola de fibrina, Selante de Fibrina Comercial, Grupo Controle e “Tempo” da região “Anterior”.

Causa da variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrados Médios	Estatística F	p
Adesivo de Fibrina	2	235107.946	117553.973	7.59	0.0014
Tempo	3	1067233.036	355744.345	22.97	<.0001
Linear	1	965649.3278	965649.3278	62.35	<0.001
Quadrática	1	66196.3266	66196.3266	4.27	0.0441
de Tempo				0.58	0.7453
Cola/Tempo	6	53788.858	8964.810		
Resíduo	48	743432.950	15488.186		
Total corrigido	59	2086168.576			

Coeficiente de Determinação (R^2) : 0.643667

Coeficiente de variância (C.V.) : 16.92110

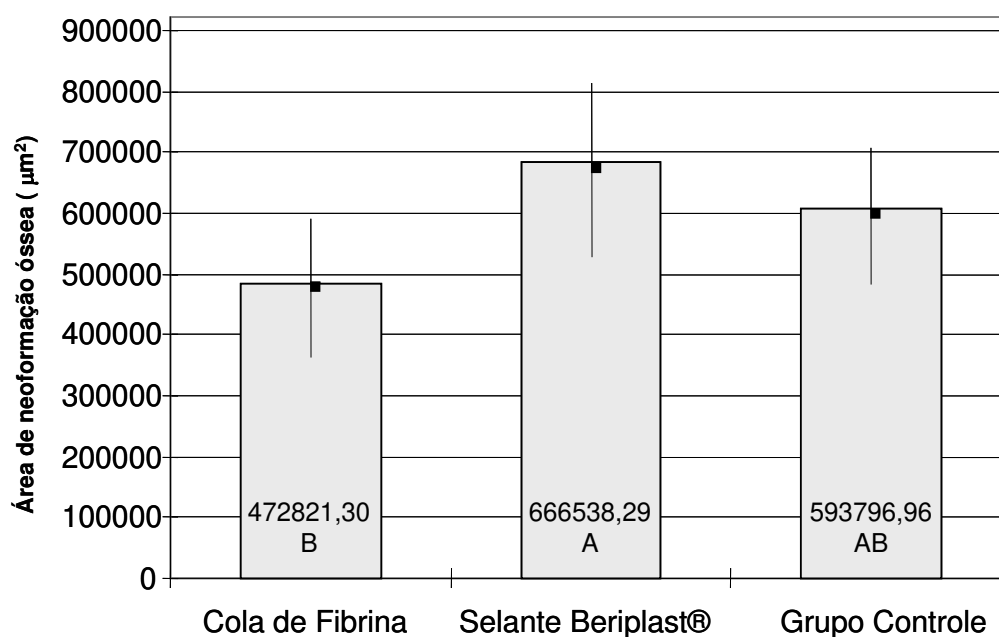
GL= grau de liberdade

Tabela 14: Comparação das médias das áreas de neoformação óssea obtidas no Estudo Experimental da Regeneração Óssea Alveolar, nos grupos de Selantes de Fibrina, Grupo Cola de fibrina e Grupo Controle, através das médias, desvios padrão e intervalos de confiança da variável “Anterior” - Teste de Tukey ($\alpha=0,05$)

Grupos	N	média	Desvio padrão	Limite de confiança 95%		Grupos de Tukey*
				Inferior	superior	
Selante de Fibrina	20	666538.29	294809.51	804513.39	528563.20	A
Controle	20	593796.96	225281.12	702378.98	485214.93	A B
Autólogo	21	472821.30	242644.10	583271.57	362371.03	B

*Médias com letras iguais não se diferem entre si.

Figura 21: Médias e intervalos de confiança das áreas de neoformação óssea dos Grupos Selante de Fibrina, Cola de fibrina e Grupo Controle, da região “Anterior” nos diferentes níveis do fator “Tempo”. Barras com a mesma letra não se diferem entre si. Teste de Tukey ($\alpha=0,05$)



Quando se comparam as médias do “Tempo” em relação aos diferentes grupos de tratamento “Adesivos”, pode-se observar que houve um indício de diferença entre as médias do “tempo 1” (24 horas após a extração dentária) em relação às outras médias obtidas em outros tempos, conforme mostra a Figura (22 e 23), mas o comportamento do processo de reparação independe do tratamento dado ao alvéolo em sua porção anterior.

Figura 22: Médias e intervalos de confiança das áreas de neoformação óssea da região “Anterior” nos diferentes níveis do fator “Tempo”. Barras com a mesma letra não se diferem entre si. Teste de Tukey ($\alpha=0,05$).

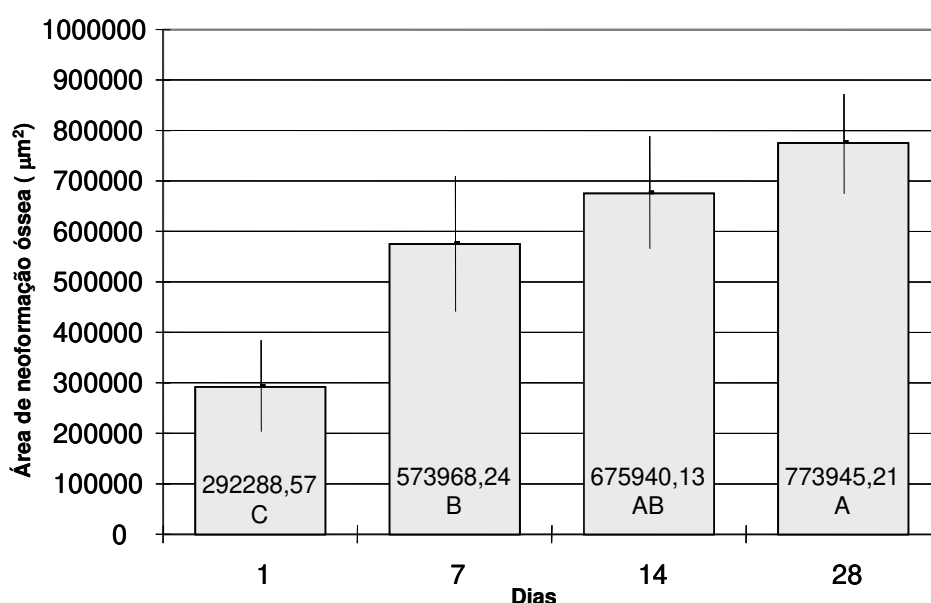
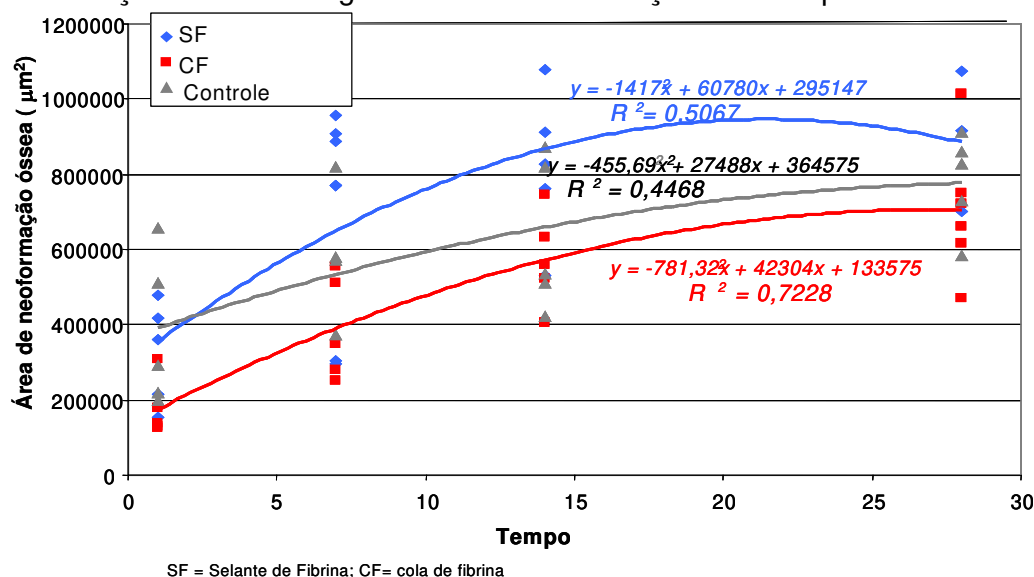


Figura 23: Regressões polinomiais quadráticas dos resultados das áreas de neoformação óssea da região “Anterior” em função do Tempo.



III.6.3 – Estudo das médias das áreas de neoformação óssea das regiões “Anterior” e “Posterior”

A análise da variância (ANOVA) realizada mostrou que o efeito do “Adesivo de Fibrina” ($p < 0,005$) e “Tempo” ($p < 0,005$) são significativos, mas avaliando-se em conjunto “Adesivo de Fibrina” e “Tempo” a interação entre os dois não é significativa ($p = 0,95$).

Quando avaliada a Cola de fibrina comparada com ao Selante Comercial, o resultado mostrou um aumento significativo na neoformação óssea no grupo com Selante Comercial ($p < 0,001$ – Teste de Tukey).

Quando analisados os resultados da média das áreas obtidas das variáveis “Anterior” e “Posterior” pode ser observado que as amostras (Cola de fibrina, Selante Comercial e Grupo controle) não se diferenciaram entre si no período de tempo, em relação ao processo de cicatrização óssea alveolar. Esses resultados estão exemplificados pelos *boxplots* (Figuras 24 e 25) onde as caixas são definidas pelos “*quartis*” superiores e inferiores e a mediana da área é marcada pela subdivisão das caixas.

Quando comparados os grupos de “Adesivos de Fibrina” (Cola de fibrina e Selante Comercial) com o Grupo Controle, o Selante Comercial apresentou um discreto incremento no processo cicatricial ($p = 0,05$), enquanto que a Cola de fibrina apresentou um discreto “retardo” no processo comparado com o Grupo Controle ($p = 0,15$) (Teste de Tukey) (Figura 25). Apesar dessa diferença, os Selantes não influenciam negativamente o processo cicatricial alveolar, conforme mostra Figura (25).

Figura 24: *Boxplot* representando a média das áreas de neoformação óssea obtidas nos grupos Cola de fibrina, Selante Comercial e Grupo Controle em cada período estudado.

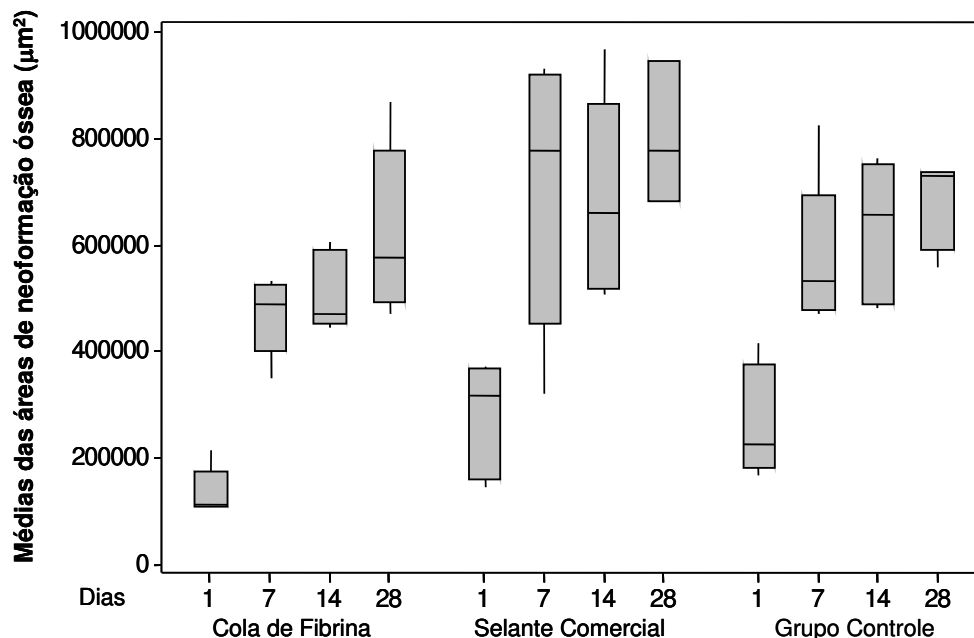
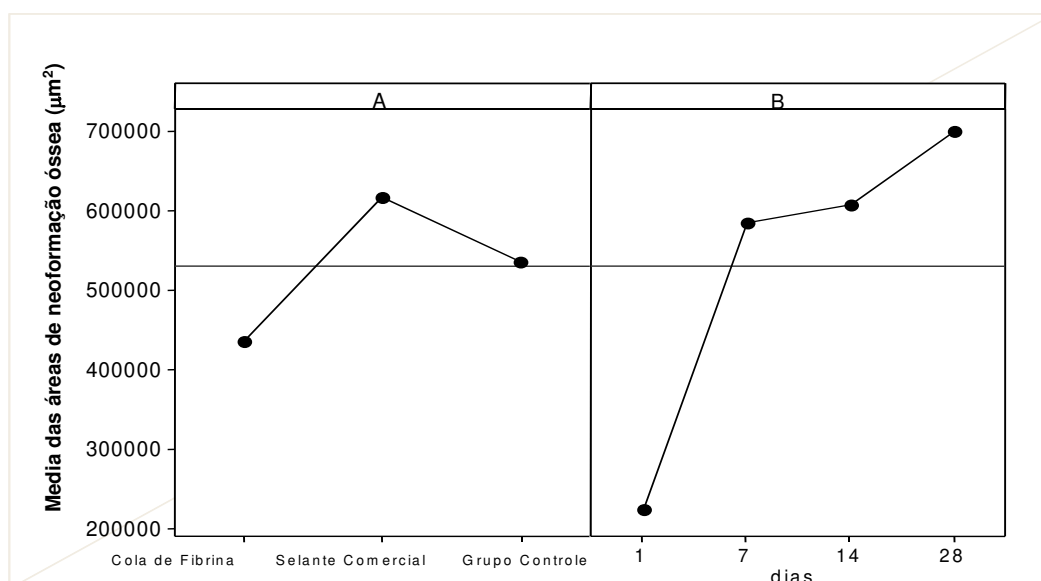


Figura 25: Gráfico onde os pontos representam as médias totais obtidas das áreas de neoformação óssea, obtidas das porções “Anterior” e “Posterior” dos grupos Cola de fibrina, Selante de Fibrina e Grupo Controle. Gráfico A mostra a variação da neoformação óssea em relação aos diferentes grupos estudados, enquanto o Gráfico B a neoformação óssea em relação ao Tempo.



Discussão

III.7 – Estudo Experimental da Reparação Alveolar utilizando Cola de fibrina e Selante de Fibrina Comercial

Estudos sobre o efeito do uso do Selante de Fibrina no processo de cicatrização óssea ainda são conflitantes (Soffer et al., 2003). Bosch et al., (1980) e Greco e al., (1988) demonstraram que o Selante de Fibrina produziu uma melhor reparação óssea em implante ósseo heterólogo e em implante de cortical óssea homóloga em coelhos. Keller et al., (1985) relataram que as propriedades físicas do “calo ósseo” induzido pelo Selante de Fibrina, principalmente quanto à resistência, parecem ser melhores quando comparadas com grupos controles, entretanto esse efeito parece ser temporário, já que alguns autores demonstram que essa melhora da resistência se iguala a grupos controles, após 5 ou 7 semanas (Bohler, 1982; Bieli, 1993). Lucht et al., (1986) demonstraram que o uso do Selante de Fibrina juntamente com pedaço de osso autólogo em tibia de cachorro, não interferiu na cicatrização óssea. Turgut et al., (1999) demonstraram que o selante pode retardar a fusão osteogênica em enxerto de cortical óssea em gatos. Sullivan et al., (1997) utilizaram cola de fibrina homóloga e autóloga em cirurgia de aumento de seio maxilar em 10 pacientes, demonstrando que há eficácia da cola como na consolidação do enxerto ósseo, e como também na reparação da membrana sinusal.

Neste trabalho foi estudado o processo de reparação óssea alveolar induzido pelo uso do Selante de Fibrina comercial (Beriplast P®, Aventis/Beringher) e pela cola de fibrina após extração do incisivo superior de ratos, comparado com um grupo controle. Os resultados demonstram que a reparação óssea ocorreu durante o período de estudo (28 dias), sem presença de infecção clínica. Yücel et al., (2003) em estudo sobre os efeitos do Selante de Fibrina em cicatrização de feridas de cavidade oral, demonstraram que o uso do Selante de Fibrina proporcionou uma cicatrização óssea sem formação de reação inflamatória de corpo estranho, nem mesmo de infecções secundárias, servindo também para proteção da ferida cirúrgica, já que o autor não usou sutura para proteção do alvéolo pós-extração dentária dos ratos.

Okamoto et al., (1994) demonstraram a importância da manutenção do coágulo alveolar para o processo de cicatrização normal. Neste trabalho, o coágulo pode ser observado no interior do alvéolo durante as primeiras 24 horas até o sétimo dia do pós-operatório. No grupo que utilizou o Selante de Fibrina, pode ser observada a permanência de sangue envolto pelo Selante até o período final do estudo. Esse sangue pode ter sido oriundo do sangramento intra-alveolar pós-extração e que permaneceu envolto pela densa massa formada pelo Selante. No grupo onde a Cola de fibrina foi utilizada, a identificação histológica da Cola de fibrina foi dificultada em função do sangramento intra-alveolar.

O uso de Selante de Fibrina em cavidade oral, mesmo em modelos animais, pode ser influenciado pela ação fibrinolítica encontrada em gengiva (Lindberg et al., 2001) e em epitélio da mucosa oral (Myhre-Jensen & Astrup, 1971). Nossos resultados mostraram que mesmo após 28 dias do pós-cirúrgico, remanescentes do Selante puderam ser observados dentro do alvéolo, provavelmente em consequência da ação do antifibrinolítico deste produto. Resultados semelhantes foram descritos por Okamoto et al., (1995). Difícil afirmar se o mesmo aconteceu com o grupo que recebeu a Cola de fibrina, já que a identificação histológica da Cola foi prejudicada provavelmente por ter se misturado com o coágulo do alvéolo. Essa observação pode ser justificada pela diferença entre as concentrações dos componentes dos adesivos. A Cola de fibrina apresentou, em média, uma concentração de 718 (133 – 1044mg/dL) de fibrinogênio e de 300UI/mL de trombina. O Selante tinha uma concentração que variava entre 65-115mg/mL de fibrinogênio e 4.600UI/mL de trombina.

Os resultados do estudo histomorfométrico mostraram que não houveram diferenças significativas entre o tempo e o processo cicatricial entre os grupos estudados, demonstrando que o Selante de Fibrina e cola de fibrina não interferiram no processo cicatricial. Entretanto foi observado à partir da avaliação do 7^o dia após a extração, que o grupo que recebeu Selante de Fibrina apresentava uma maior área de osso neoformado em comparação com o grupo da cola ($p < 0,005$), porém não foram estatisticamente diferentes quando comparados com o grupo controle. Essas diferenças permaneceram até o final do

período do estudo. Não houve diferenças nas áreas de osso neoformado entre as porções posteriores (apicais) e as porções anteriores (cervicais) em todos os grupos estudados.

Esses resultados podem ser comparados com os descritos por Carvalho et al., (1997), que estudaram o processo cicatricial alveolar em ratos. Os autores demonstraram que no final da primeira semana após a extração do incisivo superior houve formação de um delicado trabeculado ósseo margeado por osteoblastos, principalmente no ápice alveolar e no terço médio na face interna da parede palatina, além da presença de tecido conectivo abundante, vasos neoformados e coágulos na região central do alvéolo. Os autores ainda ressaltam que no final da segunda semana, foi observada uma neoformação óssea progressiva e, que no final da terceira semana, todo alvéolo parecia ter sido preenchido com um fino trabeculado ósseo, presente até a sexta semana do estudo. Na avaliação histomorfométrica, os autores relataram a quantificação progressiva do osso neoformado em paralelo ao decréscimo do volume de tecido conectivo até a sexta semana do estudo, mostrando também uma significativa diminuição do volume do trabeculado ósseo no terço cervical do alvéolo durante todo o tempo de estudo, com exceção da sexta semana. Esse estudo demonstrou que o processo de cicatrização alveolar em ratos ultrapassa o período de seis semanas.

Okamoto et al., (1995), demonstraram em estudo sobre regeneração óssea na presença do Selante de Fibrina, que o selante (Tissucol® Baxter, Áustria) não interferiu na formação do tecido conectivo e ósseo. Os autores também constataram a presença do Selante de Fibrina no alvéolo 21 dias após a extração dentária, o que não interferiu no processo de cicatrização óssea. Entretanto, Fabris et al., (1998) descreveram que o Selante de Fibrina poderia inibir a proliferação das células do ligamento periodontal, responsáveis pela proliferação de fibroblastos na fase inicial do processo de cicatrização alveolar (Shafer et al., 1998).

Tayapongsak et al., (1994) demonstraram através de avaliação radiográfica, que a utilização de cola de fibrina propiciou a consolidação óssea precoce na

reconstrução maxilar em 33 pacientes. Lekovic et al., (2001) também obtiveram bons resultados com o uso da associação de cola de fibrina autóloga com osso bovino mineral na correção de defeitos intraósseos.

Poucos são os trabalhos que avaliaram a área de osso neoformado induzido por cola de fibrina em alvéolo após extração dentária. As colas de fibrina são usualmente utilizadas como agente hemostático local após extrações ou cirurgias orais maiores, principalmente naqueles pacientes portadores de coagulopatias (Blinder et al., 1999; Halfpenny et al., 2001). Em outras situações cirúrgicas, as colas são associadas a outros elementos como, por exemplo, membrana de Teflon no tratamento de defeitos intraósseos (Cortellini et al., 1995).

Portanto, nossos resultados demonstraram que a cola de fibrina não contribuiu significativamente para a neoformação óssea comparada ao Selante de Fibrina comercial e ao grupo controle e, que o uso desse produto como osteoindutor necessita ser melhor avaliado.

Conclusões

1 – Avaliação da influencia da cola de fibrina autóloga em cirurgias orais de pacientes portadores de hemofilia:

1.1 – a cola de fibrina foi efetiva como agente hemostático local após extração dentária de pacients hemofílicos, reduzindo significativamente a terapia de reposição dos fatores de coagulação;

1.2 – os índices de saúde bucal IP, IG e CPOD mostraram que as condições de saúde bucal não influenciaram na eficácia da cola de fibrina como agente hemostático local;

1.3 – a metodologia proposta por de Moraes et al (1998) para a produção da cola de fibrina mostrou ser tecnicamente viável e efetiva na promoção da hemostasia local;

1.4 – a cola de fibrina produzida com trombina bovina utilizada após a extração dentária não induziu a formação de inibidores contra fator V e trombina.

2 – A influência do adesivo de fibrina na reparação tecidual em ratos:

2.1 – Estudo experimental em pele:

2.1.1 – o Selante de Fibrina no modelo de processo cicatricial utilizado, promoveu uma reação inflamatória intensa e persistente que permaneceu até 28 dias após cirurgia;

2.1.2 – o Selante de Fibrina produziu uma massa densa que persistiu ate o 28^o dia, não permitindo a penetração de células inflamatórias no interstício da esponja;

2.1.3 – a presença de um processo inflamatório crônico rico em fibroblastos e colágeno, sugere que a cicatrização final possa apresentar grande quantidade de fibrose.

2.2 – Estudo experimental em alvéolo:

2.2.1 – os adesivos de fibrina não influenciaram no processo de reparação óssea;

2.2.2 – a área de neoformação óssea induzida pelo Selante de Fibrina foi maior que aquela produzida pela cola de fibrina

Referências Bibliográficas

- ALBALA DM: Fibrin sealants in clinical practice. **Cardiovasc Surg** 11(1): 5-11, 2003
- ALVES-REZENDE MC, OKAMOTO T: Effects of fibrin adhesive material (Tissucol) on alveolar healing in rats under stress. **Braz Dent J** 8(1):13-9, 1997
- ALVING BM; WEINSTEIN MJ; FINLAYN SON JS; MENITONE JE, FRATANTONI JC: Fibrin sealant: summary of a conference on characteristics and clinical uses. **Transfusion**, 35:783-790, 1995
- AMERY MJ, EDWARDSON PA, FARIBROTHER JE, HOLLINGSBEE I, HOLM NE, WESTWOOD B, CEDERHOLM-WILLIAMS SA. The first totally autologous fibrin sealant, which does not require added thrombin (abst). **Thromb Haemost**, 73:1463, 1995
- AMLER MH: The time sequence of tissue regeneration in human extraction wounds. **OS.O.M. & O.P.**, 309-319, 1969
- BANNINGHER H, HARDEGEER T, TOLBER A, BARTH A, SCHUPBACH P, REINHART W, LAMMLE B, FURALN M: Fibrin glue in surgery: frequent development of inhibitors of bovine thrombin and human factor V. **Br J Haematol** 85(3):528-32, 1993
- BEIERLEN W, SCHEULE AM, ANTONIADIS G, BRAUN C, SCHOSSER R: An immediate, allergic skin reaction to aprotinin after reexposure to fibrin sealant. **Transfusion** 40:302-5, 2000
- BEIERLEN W, SCHEULE AM, ZIEMER G: Anaphylactic aprotinin reaction. **Ann Thorac Surg** 69(4):1298, 2000
- BERGUER R, STAERKEL R, MOORE EE, MOORE FA, GALLOWAY WB, MOCKUS MB. Warning fatal reaction to the use of fibrin glue indeep hepatic wounds. Case reports. **J Trauma** 31(3):408-11, 1991
- BIELI M: Does fibrin glue accelerate wound healing? An autoradiography study of bone defects. **Helv Chir Acta** 59(5-6):797-801, 1993
- BJORLIN G, NILSSON IM: Fibrinolytic activity in alveoli after tooth extraction. *Odontol Revy* 19(2):197-204,1968

- BLANCHETTE VS, SPARLING C, TURNER C: Inherited bleeding disorders. **Baillieres Clin Haematol** 4:291-332, 1991
- BLATT PM, WHITE CG, MCMILLAN CW, WEBSTER WP: Failure of activated prothrombin complex concentrates in a hemophiliac with an anti-factor VIII antibody. **JAMA** 251:67, 1984
- BLINDER D, MANOR Y, MARTINOWITZ U, TAICHER S, HASHOMER T: Dental extractions in patients maintained on continued oral anticoagulant: comparison of local hemostatic modalities. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** 88:137-40, 1999
- BODNER L, KAFFE I, LITTENER MM, COHEN J: Extraction site healing in rats. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 75:367-72, 1993
- BOHLER J: An approach to non-union of fractures *Surg Annu* 14:299-315, 1982
- BOSCH P, LINTNER F, ARBES H, BRAND G: Experimental investigations of the effect of the fibrin adhesive on the Kiel heterologous bone graft. **Arch Orthop Trauma Surg** 96(3):177-85, 1980
- BREWER AK, ROEBUCK EM, DONACHIE M, HAZARD A, GORDON K, FUNG D, CLARLSON J: The dental management of adult patients with haemophilia and other congenital bleeding disorders. **Haemophilia** 9(6):673-7, 2003
- BRITTBERG M, SJOGREN-JANSSON E, LINDAHL A, PETERSON L: Influence of fibrin sealant (Tisseel) on osteochondral defect repair in the rabbit knee. **Biomaterials** 18(3):235-42, 1997
- BROWN B, STEED DL, WEBSTER MW: General surgery in adult hemophiliacs. *Surgery* 99:154-159, 1986
- BUSBY T. Personal communication, **American Red Cross**, Rockcille, MD, 1998
- CARRANZA F, NEWMAN: Classification of periodontal disease. *In* *Clinical Periodontology*. FCaM Newman (Eds). New York, WB Saunders Company 1996, pp 61-64
- CARTER G, GROSS A, LLOYD J, TOCCHETTI R: Tranexamic acid mouthwash versus autologous fibrin glue in patients taking warfarin undergoing dental extractions: a randomized prospective clinical study. **J Oral Maxillofac Surg**. 61(12):1432-5, 2003.

- CARVALHO TLL, BOMBONATO KF, BRETEGANI LG: Histometric analysis of rat alveolar wound healing. **Braz Dent J** 8(1):9-12, 1997
- CHAN SM, BOISJOLY H: Advances in the use of adhesives in ophthalmology. **Curr Opin Ophthalmol** 15(4):305-10, 2004
- CHRISTIE RJ, CARRINGTON L, ALVING B. Postoperative bleeding induced by topical bovin thrombin: report of two cases. **Surgery** 121:708-710, 1997
- CLARK RA: Fibrin sealant in wound repair: a systematic survey of the literature. **Expert Opin Investig Drugs** 9(10):2371-92, 2000
- COHN EJ, STRONG LE, HUGHES WL Jr: Preparation and properties of serum and plasma proteins. IV A system for the separation into fraction of the proteins and lipoprotein components of biological tissues and fluids. **J Am Chem Soc** 68:459, 1946
- CORREA MEP; ARRUDA VR; JORGEJJ, ANNICHINO-BIZZACCHI JM.: The efficacy of autologous fibrin glue in patients with hereditary hemorrhagic disorders. **Haemophilia**; 2(1):36, 1996 (abstract)
- CORTELLINI P, PINI PRATO GP, TONOTI MS: No detrimental effect of fibrin glue on the regeneration of intrabony defects. A controlled clinical trial. **J Clin Periodontol** 22:697-702, 1995
- DE MORAES AM, ANNICHINO-BIZZACCHI JM, ROSSI AB. Use of autologous fibrin glue in dermatologic surgery: application of skin graft and second intention healing. **Rev Paul Med**;116(4):1747-52, 1998
- DICKNEITE G, METZNER HJ, KROEZ M, HEIN B, NICOLAY E: The importance of factor XIII as a component of fibrin sealants. **J Surg Res** 107:186-195, 2002
- DINGES HP, REDL H, THUMBER M, SCHIESSER A, SCHLAG G: Morphometric studies on wound healing after systemic administration of adriamycin and local application of fibrin sealant. Application of a new wound healing model using spongiosa implants. **Pathol Res Pract** 181(6):746-54, 1986
- DRESDALE A, BOWMAN FO JR, MALM JR, REEMTSMA K, SMITH CR, SPOTNITZ HM; ROSE EA: Hemostatic effectiveness of fibrin glue derived from single-donor fresh frozen plasma. **Ann Thorac Surg** 40(4):385-7, 1985

- DURHAM LH, WILLAT D. J., YUNG M. W., JONES I, STEVENSON PA, RAMADAN M F: Method for preparation of fibrin glue. **J Laryngol Otol** 11:1182-6, 1987
- DURKET F, JUNG E, SHMERLING DH: A hitherto undescribed congenital haemorrhagic diathesis probably due to fibrin stabilizing factor deficiency. **Thrombos Diath Haemorrh** 5:179-86, 1960
- EVANS BE, ALEDORT LM: Hemophilia and dental treatment. **J Am Dent Assoc** 96(5):827-34, 1978
- FABRIS G, TROM BELLI L, SCHINCAGLIA GP, CAVALLINI R, CALURA G, DEL SENNO L: Effects of a fibrin-fibronectin sealing system on proliferation and type I collagen synthesis of human PDL fibroblasts in vitro. **J Clin Periodontol** 25:11-4, 1998
- FRANCHON X, POMMEREUIL M, BERTHIER AM, LEJEUNE S, HOURDIN-EUDE S, QUEREO J, MEZIERE X, DE MELLO G, GAMIER J: Management options for dental extraction in hemophiliacs: a study of 55 extractions (2000-2002). **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** 99(3):270-5, 2005
- FRITZ H, WUNDENRER G: (Biochemistry and applications of aprotinin, the kallikrein inhibitor from bovine organs). **Arzneimittelforschung** 33(4):479-94, 1983
- GHOSH K, SHETTY S, JIJINA F, MOHANTY D: Role of epsilon amino caproic acid in the management of haemophilic patients with inhibitors. **Haemophilia** 10(1):58-62, 2004
- GOLDMAN B, DRAZEM G, GRIGGS K, MANDELL P. *In*: Cecil Textbook of Medicine 21st edition, W.B Saunders Company, USA, pg 1004-5, 2000
- GRANT I, WARWICK K, MARSHALL J, GREEN C, MARTIN R: The co-application of sprayed cultured autologous keratinocytes and autologous fibrin sealant in a porcine wound model. **Br J Plast Surg** 55(3):219-27, 2002
- GRECO F, DE PALMA L, SPECCHIA N, LISAI P: Experimental investigation into reparative osteogenesis with fibrin adhesive. **Arch Orthop Trauma Surg** 107(2):99-104, 1988

- GREY EC: Fibrin as a haemostatic in cerebral surgery. **Surg Gynecol Obstet** 21:452, 1915
- HAFEZ AT, EL-ASSMY A, EL-HAMID MA: Fibrin glue for the suture-less correction of penile chordee: a pilot study in a rabbit model. **BJU Int** 94(3):433-6, 2004
- HAFFAJEE AD, SMITH C, TORRESYAP G, THOMPSON M, GUERRERRO D, SOCRANSKY SS: Efficacy of manual and powered toothbrushes (II). Effect on microbiological parameters. **J Clin Periodontol**. 28(10):947-54, 2001
- HALFPENNY W, FRASER JS, ADLAM DM: Comparison of 2 hemostatic agents for the prevention of postextraction hemorrhage in patients on anticoagulants. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** 92(3):257-9, 2001
- HANSON AJ, QWUINN MT: Effect of fibrin sealant composition on human neutrophil chemotaxis. **J Biomed Mater Res** 5;61(3):474-81, 2002
- HARTMAN AP, GALANAKIS DK, HONIG MP, SEIFERT FC, Anagnostopoulous CE: Autologous whole plasma fibrin gel intraoperative procurement. **Arch Surg** 127(3):357-9, 1992
- HIDAKA N, MAEDA K, KAWAKAMI C, AONO M, OKADA H: Fibrinolytic activity in periodontal disease. The relationship between fibrinolytic activity and severity of periodontal disease. **J Periodontol** 52:181-6, 1981
- HILFENHAUS J, WEIDMANN E: Fibrin glue safety: inactivation of potential viral contaminants by pasteurization of the human plasma components. **Drug Research** 35:1617-19, 1985
- HINO M, ISHIKO O, HONDA KI, YAMANE T, OHTA K, TAKUBO T, TATSUMI N: Transmission of symptomatic parvovirus B19 infection by fibrin sealant used during surgery. **Br J Haematol** 108(1):194-5, 2000
- HOWARD PL, BOVILL EG, GOLDEN E. Postthaw stability of fibrinogen in cryoprecipitate stored between 1 and 6⁰C. **Transfusion** 31(1):30-1, 1991
- ISARANGKURA P, CHIEWSILP P, CHUANSUMRIT A, SUWANNRAKS M, KEOROCHANA S, ATTNAWANICH S, TARDTONG P, MARTINOWITZ U, HOROSZOWSKI H: Low cost locally prepared fibrin glue for clinical applications: reported of 145 cases. Committee of Bangkok International Hemophilia Training Center. **J Med Assoc Thai**. 82 Suppl 1:S49-56, 1999

- JACKSON MR, MACPHEE MJ, DROHAN WN, ALVING BM. Fibrin sealant: current and potential clinical applications. **Blood Coagul Fibrinolysis** 7(8):737-46, 1996
- JACKSON MR: Fibrin sealants in surgical practice. An overview. **Am J Surg** 82:1S-7S, 2001
- JOCH C: The safety of fibrin sealants. **Cardiovasc Surg Suppl** 1:23-8, 2003
- KASPER CK: Comments on adverse reactions with recombinant factor VIII. **Semin Hematol** 28(2 Supl): 43, 1991
- KELLER J, ANDREASSEN TT, JOYCE F, KNUDSEN VE, JORGENSEN PH, LUCHT U: Fixation of osteochondral fractures. Fibrin sealant tested in dogs. **Acta Orthop Scand** 56(4):323-6, 1985
- KINNBY B: The plasminogen activating system in periodontal health and disease. **Biol Chem** 383(1):85-92, 2002
- KJAERGARD HK, WEIS-FOGH US. Important factors influencing the strength of autologous fibrin glue; the fibrin concentration and reaction time. Comparison of strength with commercial fibrin glue. **Eur Surg Res.** 26:273-6, 1994
- KRISHNAN LK, VIJAVAN LAL A, UMA SPR, MOHANTY M: Fibrinolysis inhibitors adversely affect remodeling of tissues sealed with fibrin glue. **Biomaterials** 24(2):321-7, 2003
- KUDERNA H: (Medialization of the lateral calcaneus wall). **Hefte Unfallheilkd** 134:243-8, 1979
- LEKOVIC V, CAMARGO PM, WEILAENDER M, VASILIC N, DJORDJEVIC M, KENNEY EB: The use of bovine porous bone mineral in combination with enamel matrix proteins or with an autologous fibrinogen/fibronectina system in the treatment of intrabony periodontal defects in humans. **J Periodontol** 72:1157-63, 2001
- LINDEBERG P, KINNBY B, LECANDER I, LANG NP, MATSSON L: Increasing expression of tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 2 in dog gingival tissues with progressive inflammation. **Arch Oral Biol** 46:23-31, 2001
- LÖE H: Periodontal disease in pregnancy. **Acta Odontol Scand** 21:533-35, 1964

- LÖE H: The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index Systems. **J Periodontol** 38(6):Suppl:610-6, 1967
- LUCHT U, BUNGER C, MOLLER JT, OYCE F, PLENK H Jr: Fibrin sealant in bone transplantation. No effects on blood flow and bone formation in dogs. **Acta Orthop Scand** Feb;57(1):19-24, 1986
- MARTINOWITZ U, SPOTNITZ D. Fibrin tissue adhesives. **Thromb Haemost**, 78(1):661-666, 1997
- MARTINOWITZ U, SCULMAN S, HOROSZOWSKI H, HEIM M: Role of fibrin sealants in surgical procedures on patients with hemostatic disorders. **Clin Orthopaedics and Related Research** 328: 65-75, 1996
- MARTINOWITZ U, SCHULMAN S: Coagulation factor concentrates by continuous infusion. **Transfus Med Rev**. 11(1):56-63, 1995
- MARTINOWITZ U; SALTZ R: Fibrin sealant. **Curr Opin Hematol** 3:396-402, 1996
- MARX G, MOU X: Characterizing fibrin glue performance as modulated by heparin, aprotinin, and factor XIII. **J Lab Clin Med** 140(3):152-60, 2002
- MATRAS H, BRAUN F, LASSMANN H, AMMERER HP, MAMOLI B: Plasma clot welding of nerves (experimental report). **J Maxillofac Surg** 1:236, 1973
- MATRAS H. Fibrin seal: the state of the art. **J Oral Maxillofac Surg**, 43:605-11, 1985
- MATRAS H. The use of Fibrin Sealant in Oral and Maxillofacial Surgery. **J Oral Maxillofac Surg**, 40:617-622, 1982
- MATRAS H; DINGES HP; LASSMANN H, MAMOLI B: (Suture-free interfascicular nerve transplantation in animal experiments) (Ger) **Wien Med Wochenschr**; 122: 517-23, 1972
- MENACHE D, ARONSON DL: Measures to inactivate viral contaminants of pooled plasma products. **Prog Clin Biol Res**. 182:407-23, 1985
- MICHAEL D, HARAMAND MF: Fibrin seal in wound healing: effect of thrombin and [Ca²⁺] on human skin fibroblast growth and collagen production. **J Dermatol Sci** 1(5):325-33, 1990

- MIELNIK-BLASZCZAK M: Evaluation of dentition status and oral hygiene in Polish children and adolescents with congenital haemorrhagic diatheses. **Int J Paediatr Dent** 9:99-103, 1999
- MOODY GH: Plasminogen in human saliva. **Int J Oral Surg** 11(2):110-4, 1982
- MORIMOTO Y, YOSHIOKA A, SHIMA M, KIRITA T: Intraoral hemostasis using a recombinant activated factor VII preparation in a hemophilia a patient with inhibitor. **J Oral Maxillofac Surg** 61(9):1095-7, 2003
- MYHRE-JENSEN O, ASTRUP T: Fibrinolytic activity of squamous epithelium of the oral cavity and oesophagus of rat, guinea pig and rabbit. **Archs Oral Biol** 16:1099-1107, 1971
- NEEDLEMAN HL, KABAN LB, KEVY SV: The use of epsilon-aminocaproic acid for the management of hemophilia in dental and oral surgery patients. **J Am Dent Assoc.** 93(3):586-90, 1976
- OKAMOTO T, RUSSO MC: Wound healing following tooth extraction, Histochemical study in rats. **Rev Fac Odont Araçatuba** 2:153-164, 1973
- OKAMOTO T, OKAMOTO R, ALVES-REZENDE MC, GABRIELLI MF: Interference of the blood clot on granulation tissue formation after tooth extraction. Histomorphological study in rats. **Braz Dent J** 5(2):85-92, 1994
- OKAMOTO T, ALVES-REZENDE MC, OKAMOTO AC, BUSCARIOLO IA, GARCIA IR Jr: Osseous regeneration in the presence of fibrin adhesive material (Tissucol) and epsilon-aminocaproic acid (EACA). **Braz Dent J** 6(2):77-83, 1995
- OZ MC, JEEVANANDAM V, SMITH CR, WILLIAMS MR, KAYNAN AM, FRANK RA, MOSCA R, REISS RF, ROSE FA. Autologous fibrin glue from intraoperatively collected platelet-rich plasma. **Ann Thorac Surg** 53(3):530-1, 1992
- PEREIRA AC, CASTELLANOS RA, DA SILVA SR, WATANABE MG, QUELUZ DP, MENEHIM MC: Oral health and periodontal status in Brazilian elderly. **Braz Dent J** 7:97-102, 1996
- PETRATOS PB, FELSEN D, TRIERWEILER G, PRATT b, MCPHERSON JM, POPPAS DP: Transforming growth factor - β 2(TGF- β 2) reverses the inhibitory

- effects of fibrin sealant on cutaneous wound repair in the pig. **Wound Rep Reg** 10:252-58; 2002
- PIOT B, SIGAUD-FIKS M, HUET P, FRESSINAUD E, TROSSAERT M, MERCIER J: Management of dental extractions in patients with bleeding disorders. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** 93:247-50, 2002
- PUSATERI A, HOLCOMB J, HARRIS R et al: Hemodynamic effect of intravenous bovine or human thrombin in swine. **Hemostas Thrombs** 1997 (abstract)
- RAKOCZ M, MAZAR A, VARON D, SPIERER S, BLINDER D, MARTINOWITZ U: Dental extractions in patients with bleeding disorders. The use of fibrin glue. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 75(3):280-2, 1993
- RAPAPORT SI, ZIVELIN A, MINOW RA, HUNTER CS, DONNELLY K: Clinical significance of antibodies to bovine and human thrombin and factor V after surgical use of bovine thrombin. **Am J Clin Pathol** 97(1):84-91, 1992
- REISS RF, OZ MC: Autologous fibrin glue: production and clinical use. **Transfus Med Rev** 10(2):85-92, 1996
- RESOLUÇÃO RDC nº 153 (Revoga RDC nº Resolução RDC 343, 13 de Dezembro de 2003) - Diário Oficial da União; Poder Executivo, 14 de junho de 2004 ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php>
- ROMANOS GE, STRUB JR: Effect of Tissucol on connective tissue matrix during wound healing: an immunohistochemical study in rat skin. **J Biomed Mater Res** 5;39(3):462-8, 1998
- ROUSOU JA, ENGELMAN RM, BREYER RH: Fibrin glue: an effective hemostatic agent for nonsuturable intraoperative bleeding. **Ann Thorac Surg** 38(4):409-10, 1984
- SALTZ R, SIERRA D, FELDMAN D, SALTZ MB, DIMICK A, VASCONEZ LO: Experimental and clinical applications of fibrin glue. **Plast Reconstr Surg** 88(6):1005-15, 1991
- SANTAGOSTINO E, MANNUCCI PM, GRINGERI A, AZZO A, MORFINI M, MUSSO R, SANTORO R, SCHIAVONI M. Transmission of parvovirus B19 by

- coagulation factor concentrates exposed to 100 degrees C heat after lyophilization. **Transfusion** 37(5):517-22, 1997
- SANTOS Jr PV, MELHADO RM: Efeitos da estimulação untra-sônica sobre o processo de reparo em ferida de extração dental: estudo histológico em ratos. **Revis Odont UNESP** 19:291-299, 1990
- SCARDINO MS, SWAIM SF, MORSE BS, SARTIN EA, WRIGHT JC, HOFFMAN CE: Evaluation of fibrin sealants in cutaneous wound closure. **J Biomed Mater Res** 48(3):315-21, 1999
- SCHEULE AM, BEIERLEN W, WENDEL HP, JURMANN MJ, EKTEINS FS, ZIEMER G: Aprotinin in fibrin tissue adhesives induces specific antibody response and increases antibody response of high-dose intravenous application. **J Thorac Cardiovasc Surg** 118(2):348-53
- SCHLAG G, REDL H: Fibrin sealant in orthopedic surgery. **Clin Orthop Relat Res**;227:269-85, 1988
- SHAFER WG, HINE MK, LY BM: Cicatrização das Feridas Bucais: *In* Tratado de Patologia Bucal, WB Saunders Company, Ed Guanabara Koogan Sa, 4⁰ Ed., 1983, pg 549-567
- SIEDENTOP KH, Harris DM, Sanchez B: Autologous fibrin tissue adhesive. **Laryngoscope** 95(9 Pt 1):1074-6, 1985
- SIEDENTOP KH, HARRIS DM, HAM K, SANCHEZ B: Extended experimental and preliminary surgical findings with autologous fibrin tissue adhesive made from patients own blood. **Laryngoscope** 96(10):1062-4, 1986
- SIENDENTOP KH; SANCHEZ B: An autologous fibrin tissue adhesive with great bonding power. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg**, 121:769-72, 1995
- SILBERSTEIN LE, WILLIAMS LJ, HUGHLETT MA, MAGEE DA, WEISMAN RA. An autologous fibrinogen-based adhesive for use in otologic surgery. **Transfusion** 28(4):319-21, 1988
- SILNESS J, LÖE H: Periodontal disease in pregnancy. Response to local treatment. **Acta Odontol Scand** 24:747-59, 1963

- SINET-PEDERSEN S, GRAM J, JESPERSEN J. The possible role of oral epithelial cells in tissue-type plasminogen activator-related fibrinolysis in human saliva. **J Dent Res**, 69(6):1283-1286, 1990
- SINET-PEDERSEN S, GRAM J, JESPERSEN J: Characterization of plasminogen activators in unstimulated and stimulated human whole saliva. **J Dent Res** 66(6):1199-203, 1987
- SINET-PEDERSEN S, STENBJERG S: Effect of local antifibrinolytic treatment with tranexâmico acid in hemophiliacs undergoing oral surgery. **J Oral Maxillofac Surg** 44:703-7, 1986
- SINET-PEDERSEN S. Haemostasis in oral surgery – The possible pathogenetic implications of oral fibrinolysis on bleeding. Experimental and clinical studies of the haemostatic balance in the oral cavity, with particular reference to patients with acquired and congenital defects of the coagulation system. **Dan Med Bull**, 38(6):427-43, 1991
- SINET-PEDERSEN S: Distribution of tranexâmico acid to plasma and saliva after oral administration and mouth rinsing: a pharmacokinetic study. **J Clin Pharmacol** 27(12):1005-8, 1997
- SIRIEIX D, CHEMLA E, CASTIER Y, MASSONNET-CASTEL S, FABIANI JN, Baron JF: Comparative study of different biological glues in an experimental model of surgical bleeding in anesthetized rats: platelet-rich and -poor plasma-based glue with and without aprotinin versus commercial fibrinogen-based glue. **Ann Vasc Surg** 12(4):311-6, 1998
- SOFFER E, OUHAVOUN JP, ANAGNOSTOU F: Fibrin sealants and platelet preparations in bone and periodontal healing. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**. 95(5):521-8, 2003
- SONBOL H, PELARGIDOU M, LUCAS VC, GELBIER MJ, MASON C, ROBERTS GJ: Dental health indices and caries-related microflora in children with severe haemophilia. **Haemophilia** 7:468-74, 2001
- SOUTHAM JC: The fibrinolytic activity of human oral epithelium and epidermis. **Br J Dermatol** 105(6):679-84, 1981

- SPOTNITZ WD, PRABHU R: Fibrin sealant tissue adhesive-review and update. **J Long Term Eff Med Implants** 15(3):245-70, 2005
- SPOTNITZ WD; MINTZ PD; AVERY N, et al.. Fibrin glue from stored human plasma. An inexpensive and efficient method for local blood bank preparation. **Amm Surg** 53:460-2, 1987
- SPOTNITZ WD: Commercial fibrin sealants in surgical care. **Am J Surg**, 182: 8S-14S, 2001
- STECHINSON MT: Rapid polymerization fibrin glue from autologous or single-donor blood: preparation and indications. **J Neurosurg** 76(4):626-8, 1992
- STUBBS M; LLOYD J: A protocol for the dental management of von Willebrand's disease, haemophilia A and haemophilia B. **Aust Dent J** 46(1):37-40, 2001
- SULLIVAN SM; BULARD RA, MEADERS R, PATTERSON MK: The use of fibrin adhesive in sinus lift procedures. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** 84:616-9, 1997
- TARLOV IM, DENSLOW C, SWARZ S, PINELEZ D: Plasma clot suture of nerves. **Arch Surg** 47:44, 1943
- TAWES RL, SYOBRAK GR, DUVALL TB: Autologous fibrin glue: the last step in operative hemostasis. **Am J Surg** 168(2):120-2, 1994
- TAYAPONGSAK P, O'BRIEN DA, MONTEIRO CB, ARCO-DIAZ LY. Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow. **J Oral Maxillofac Surg** 52:161-6, 1994
- THE AMERICAN ASSOCIATION OF BLOOD BANK - AABB 2002. **In:** Technical Manual, 14th Edition, Mark E Brecher (Editor), American Association of Blood Banks, 2002: pgs 89-96
- THE COUNCIL OF EUROPE (Legislação Europeia e a Transusão Sangüínea – Diretiva 2002/98/CE) do Parlamento Europeu e do Conselho; 21Março 2005. ABO 21:46, 2005
- THOMA KH: Oral pathology and the Armed Forces Institute of Pathology. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 8(2):113-7, 1955

- THORN JJ, SORENSEN H, WEIS-FOGH U, ANDERSEN M: Autologous fibrin glue with growth factors in reconstructive maxillofacial surgery. **Int J Oral Maxillofac Surg** 33(1):95-100, 2004
- THORPE TC, WILSON ML, TURNER JE, DUISEPPI JL, WILLET M, MIRRET S, RELLER LB: BacT/Alert: an automated colorimetric microbial detection system. **J Clin Microbiol** 28(7):1608-12, 1990
- TOCK B, DROHAN W, HESS J, PUSARETI A, HOLCOMB J, MACPHEE M: Haemophilia and advanced fibrin sealant technologies. **Haemophilia** 4(4):449-55, 1998
- TOMA AG, FISHER EW, CHEESMAN AD: Autologous fibrin glue in the repair of dural defects in craniofacial resections. **J Laryngol Otol** 106(4):356-7, 1992
- TREPO C, HANTZ O, JACQUIER M, NEMOZ G, CAPPEL R, TREPO D. Different fates of hepatitis B virus markers during plasma fractionation. A clue to the infectivity of blood derivatives. **Vox Sanguis** 35:143, 1998
- TURGUT M, ERKUS M, TAYUS N: The effect of fibrin adhesive (Tisseel) on interbody allograft fusion: an experimental study with cats. **Acta Neurochir** 141:273-278, 1999
- VERBRUGGEN B, NOYAKOYA I, WESSELS H, BOEZEMAN J, VAN DEN BERG M, MAUSER-BUNSHOTEN E: The Nijmegen modification of the Bethesda assay for factor VIII:C inhibitors: improved specificity and reliability. **Thromb Haemost** 73(2):247-51, 1995
- VERBRUGGEN B, VAN HEERDE W, NOYAKOVA I, LILLICRAP D, GILES A: A 4% solution of bovine serum albumin may be used in place of factor VIII:C deficient plasma in the control sample in the Nijmegen Modification of the Bethesda factor VIII:C inhibitor assay. **Thromb Haemost** 88(2):362-4, 2002.
- VILLAR A, JIMENEZ-YUSTE V, QUINTANA M, HERNANDEZ-NAVARRO F: The use of haemostatic drugs in haemophilia: desmopressin and antifibrinolytic agents. **Haemophilia** 8(3):189-93, 2002
- VIRGILIO C, ELBASSIR M, HIDALGO A, SCHABER B, FRENCH S, AMIN S, STABILE BE: Fibrin glue reduces the severity of intra-abdominal adhesions in a rat model. **Am J Surg** 178(6):577-80, 1999

- VON CLAUSS A. (Geruningsphysiologische schnellmethode zur bestimmung des fibrinogens.) **Acta Haematol** 17:237-246, 1957
- WEPNER F, FRIES R, PLATZ H: The use of the fibrin adhesion system for local hemostasis in oral surgery. **J Oral Maxillofac Surg** 40(9):555-8, 1982
- WEPNER F: Wound management in oral surgery using the fibrin adhesion system (Tissucol/Tisseel). **Maxillof and Dent Surg** 4:171-6, 1986
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Assessment form. *In* Oral Health Surveys – Basic Methods, 4st Edn, Geneve, WHO, 1997, pp 31-7
- YOUNG JZ, MEDAWAR PB: Fibrin suture of peripheral nerves. **Lancet** 239:126, 1940
- YÜCEL EA, ORAL O, OLGAÇ V, ORAL CK: Effects of fibrin glue on wound healing in oral cavity. **J Dent** 31, 569-575, 2003
- ZEHNDER JL, LEUNG LL: Development of antibodies to thrombin and factor V with recurrent bleeding in a patient exposed to topical bovine thrombin. *Blood* Nov 15; 76(10):2011-6, 1990

Anexos

Anexo 1

Método de Quantificação do Fibrinogênio

Materiais: tubos de vidro, banho Maria a 37°C e cronômetro e micropipetas automáticas (100µl; 200µl e 500µl).

Reagente: Kit Fibriguik (Organon Teknika - USA)

Reagente de trombina (contém 100 unidades de NIH de trombina bovina por ml com estabilizantes e tampão)

Padrão de referência do fibrinogênio, que devem ser reconstituídos de acordo com as instruções do fabricante, deixando em repouso antes do uso por cerca de 30 minutos para posterior homogeneização.

Calibração da Curva do Fibrinogênio:

Para o preparo da curva de calibração, faz-se necessária a diluição do fibrinogênio de acordo com o Padrão de Referência do Fibrinogênio em Tampão Veronal de Owren (barbital sódico 0,028M; pH 7,35 sem conservantes) de acordo com a tabela seguinte:

Tabela 1. Diluições para o preparo da Curva de Calibração

1	2	3	4	5	6
Diluição de referência	Diluir	Diluyente Tampão (mL)	Concentração de fibrinogênio	Fator de diluição	Fibrinogênio (mg/dl)
1	0,5 ml de plasma de referência	2,0		X 2,00 =	
2	1,0 ml da diluição	1,0		X 1,00 =	
3	1,0 ml de diluição 2	1,0		X 0,50 =	
4	1,0 ml da diluição 3	1,0		X 0,25 =	

A coluna 4 deve ser preenchida com a concentração de fibrinogênio indicada na etiqueta do Padrão de Referência do Fibrinogênio.

Procedimento:

Fibriquik pode ser usado com métodos manual ou automatizado para a detecção do coágulo. A calibração e análise das amostras deverão sempre ser realizadas seguindo a mesma técnica:

- 1 – realizar todos os testes em duplicata
- 2 – utilizar os reagentes de trombina para fibrinogênio em temperatura ambiente (20°C – 25°C)
- 3 – preparar uma diluição 1:10 das amostras dos pacientes e controles a serem testados (100µl de plasma da amostra e 900µl de tampão Veronal de Owren)
- 4 – pipetar 200µl de cada diluição das amostras em tubos etiquetados ou em cavidades de uma placa teste e incubar à temperatura de 37°C por 2 minutos
- 5 – adicionar 100µl do reagente de trombina para fibrinogênio em cada tubo ou cavidade contendo 200µl de plasma diluído. Acionar o cronômetro simultaneamente para determinar o tempo de coagulação
- 6 – anotar o tempo de formação de coágulo
- 7 – ler a concentração de fibrinogênio (mg/dL) a partir da curva de calibração

Os resultados são expressos em miligramas por cento (mg%) sendo que a concentração é deduzida a partir de uma curva com padrão de fibrinogênio.

Valores de referências:

Sistema	Fib- Faixa Normal
Mecânico	146 a 380 mg/dl
Foto Óptico (CAM MX)	150 a 400 mg/dl

Anexo 2 – Tabela Geral dos Pacientes Portadores de Hemofilia que foram submetidos a procedimentos cirúrgicos odontológicos de extração dentária, utilizando a cola de fibrina autóloga como agente hemostático local.

N.	Ida	Diag	C	P	O	D	IP	IG	SD	N.Exo	Hemo
1	40,2	AL	16	9	0	25	1,5	1,5	3	3	0
2	56,8	AM	15	9	2	26	3	2	3	3	0
3	58,2	BG	0	26	0	26	3	3	3	4	0
4	71,8	AM	20	7	0	27	NA	NA	3	3	0
5	66,9	BL	5	22	1	28	2,5	3	1	2	0
6	40,5	AL	8	2	6	16	NA	NA	3	2	0
7	56,9	BM	7	1	14	25	3	3	3	1	0
8	23,2	AM	5	4	13	22	0,8	0,8	3	1	1
9	14,2	BM	1	0	2	3	NA	NA	3	1	0
10	38	AL	14	11	2	27	3	3	3	3	1
11	32,3	AG	18	10	0	28	1	1	3	2	1
12	26,4	AG	8	5	0	13	3	1,8	3	3	0
13	31,8	BM	6	4	0	10	1,3	1	3	1	0
14	65,2	AG	7	25	0	31	NA	NA	3	3	0
15	18,9	BG	15	2	0	17	1	1	3	1	0
16	NA	BL	4	7	2	13	NA	NA	2	1	0
17	29,3	AG	5	6	3	14	1,6	1,6	3	1	0
18	41,4	AM	5	9	11	25	NA	NA	2	1	0
19	32	BL	6	2	8	16	1,2	1	2	1	1
20	25,7	BM	14	5	0	19	3	2	3	1	1
21	NA	AM	13	5	10	28	1,3	1,6	3	3	0
22	29,1	AL	14	9	0	23	3	3	3	1	0
23	42,3	AL	0	6	6	12	0,6	0,5	1	1	0
24	28	AL	2	3	4	9	2	3	3	1	0
25	45,5	BL	6	4	13	23	1,3	0,9	3	2	0
26	24,3	AM	9	10	1	20	0,3	0,7	3	1	1
27	40,4	BL	14	3	0	17	2,4	3	3	1	0
28	58,9	AL	11	20	0	31	1	1	3	1	0
29	28,1	AG	1	0	7	8	1	1,2	3	2	0
30	23,1	AG	4	0	0	4	2,7	2,6	3	1	0
31	45,4	BL	5	8	0	13	1,8	1,2	3	1	0

N= número de pacientes, Ida= idade; Diag= diagnóstico; C=dentes cariados; P= dentes perdidos; O= dentes obturados; D= total de dentes avaliados; IP=índice de placa; IG= índice gengival; SD= situação dentária (1= dente cariado; 2= doença periodontal; 3= envolvimento endodôntico); N.Exo= número de dentes extraídos; Hemo= hemorragia (0= sem hemorragia; 1= com hemorragia); A= hemofilia A; B= hemofilia B; G= grave; M= moderada; L= leve

Anexo 3 – Tabela dos resultados da Avaliação Histomorfométrica do Estudo Experimental da Reparação Tecidual em Pele de ratos, utilizando o Selante de Fibrina.

Núm. Lâmina	Estudo Histomorfométrico em pele - 10 campos observados									
es12c	221	199	204	158	163	268	276	158	194	96
es12c-perif	107	103	84	82	102	115	97	116	138	53
es12n	82	76	81	62	97	51	81	55	61	89
es12n-perif	62	98	66	78	55	63	77	36	27	49
es11n	64	63	63	64	44	40	65	46	95	57
es11n-perf	46	51	23	53	48	50	76	35	59	49
es11c	201	163	202	203	103	164	129	163	242	133
es11c-perif	54	94	111	122	48	67	86	99	57	38
es11n	33	68	66	74	39	82	54	40	71	32
es11n-perif	48	60	47	72	64	45	37	55	65	55
es15c	218	216	173	295	159	161	204	258	201	131
es15c-perif	71	61	62	41	79	78	53	64	58	79
es15n	46	57	79	45	93	62	47	75	39	26
es15n-perif	43	45	51	33	21	31	37	71	58	38
es13c	247	170	175	221	161	213	187	204	276	140
es13c-perif	92	97	99	96	104	99	96	113	60	43
es13n	39	41	53	31	33	37	73	30	32	58
es13n-perif	44	42	86	88	63	38	69	44	77	39
es14n	46	46	26	36	35	41	24	71	72	43
es14n-perif	55	52	72	79	53	73	52	62	110	76
es14c	142	93	120	146	174	136	146	129	167	184
es14c-perif	68	128	110	144	191	133	147	139	131	124
es1n	46	148	62	86	35	31	113	129	69	66
es1n-perif	61	40	89	88	97	47	23	125	120	50
es1c	células inflamatórias na periferia									
es1c-perif	108	126	213	106	129	229	125	80	151	123
es2n	54	54	27	142	117	109	46	80	42	127
es2n-perif	162	133	39	71	29	43	68	40	28	105
es2c	células inflamatórias na periferia									
es2c-perif	151	80	209	146	104	221	83	157	64	124
es3c	113	127	193	67	49	324	243	192	203	70
es3c-perif	94	93	99	46	50	62	45	72	35	90
es3n	61	43	107	20	128	16	23	20	28	11
es3n-perif	65	24	29	29	31	36	30	25	48	29
es4n	100	103	20	134	112	91	136	137	55	115
es4n-perif	53	37	45	53	27	140	67	63	61	67
es4c	93	67	111	42	121	93	67	42	2	55
es4c-perif	109	54	107	72	50	67	146	133	197	48
es5n	61	66	84	29	50	121	88	71	86	62
es5n-perif	82	64	75	57	58	31	50	44	30	72
es5c	69	15	33	205	90	63	24	50	4	16
es5c-perif	35	61	57	55	76	76	90	54	54	54

Núm. Lâmina	Estudo Histomorfométrico em pele - 10 campos observados									
es6n	8	23	8	30	17	8	13	7	10	10
es6n-perif	85	73	67	95	76	77	74	86	46	36
es6c	64	37	14	58	134	31	69	31	32	31
es6c-perif	88	113	98	94	117	126	126	160	70	102
es7n	2	13	2	11	19	29	3	5	28	6
es7n-perif	111	70	86	48	90	44	45	73	49	104
es7c	29	11	10	5	8	19	13	6	21	7
es7c-perif	93	74	125	149	104	138	107	93	78	121
es8n	4	22	3	7	8	12	33	4	9	11
es8n-perif	40	90	28	54	41	36	73	66	66	55
es8c	10	5	3	2	5	3	0	0	6	4
es8c-perif	128	120	83	119	137	119	105	51	75	46
es9n	6	2	2	8	6	3	17	13	11	4
es9n-preif	65	83	46	73	39	36	35	34	49	53
es9c	29	11	1	3	5	15	13	0	8	7
es9c-perif	128	167	162	83	131	136	107	149	120	63
es10n		não avaliado								
es10n-perif		não avaliado								
es10c		não avaliado								
es10c-perif		não avaliado								
es16n	98	37	56	30	79	51	102	47	33	34
es16n-perif	46	36	62	68	61	19	53	43	73	66
es16c	39	4	6	9	0	19	22	10	15	52
es16c-perif	172	195	98	227	174	108	121	231	154	141
es17n	60	40	36	39	23	90	48	33	38	47
es17n-perif	57	36	72	56	67	65	52	54	55	109
es17c	136	112	91	67	98	57	94	130	108	93
es17c-perif	77	140	80	50	64	52	57	71	89	78
es18n	51	25	24	25	91	37	39	41	72	86
es18n-perif	55	62	89	33	62	82	53	65	54	56
es18c	86	55	30	53	73	58	68	90	80	80
es18c-perif	40	26	68	102	56	71	82	53	20	51
es19 n		não avaliado								
es19n-perif		não avaliado								
es19c	184	82 +interior	85	70	162	88	14	156	100	156
es19c-perif	30	50	51	44	41	70	56	77	57	75
es20n	30	30	57	39	30	62	67	76	34	40
es20n-perif	48	37	82	28	71	35	72	52	69	85
es20c	88	54	112	85	52	124	67	109	178	130
es20c-perif	93	105	71	99	64	76	88	78	78	66
es21n	19	48	21	35	41	28	26	27	25	46
es21n-perif	53	27	32	22	54	42	27	35	42	29
es21c	47	43	38	42	49	43	87	65	35	70
es21c-perif	34	42	48	47	35	45	24	40	70	44
es22n	85	97	54	83	76	68	88	40	68	74
es22n-perif	34	30	42	38	28	47	75	52	71	60
es22c	96	166	116	83	106	72	160	97	125	156
es22c-perif	30	37	90	32	65	112	84	66	145	36

Núm. Lâmina	Estudo Histomorfométrico em pele - 10 campos observados									
es23n	29	26	20	64	48	35	57	31	37	32
es23n-perif	57	55	35	47	33	50	40	49	59	47
es23c	82	194	86	130	80	180	158	73	51	129
es23c-perif	58	35	48	77	71	33	41	76	36	43
es24n	40	32	19	30	43	64	90	38	31	54
es24n-perif	52	37	46	32	47	80	48	33	52	41
es24c	33	70	36	55	64	31	46	53	33	28
es24c-perif	25	40	64	56	50	47	25	23	26	51
es25n	47	40	34	29	24	47	46	35	54	56
es25n-perif	42	28	27	32	31	43	38	37	37	15
es25c	64	83	46	63	54	30	33	27	59	69
es25c-perif	28	36	39	19	28	41	86	58	47	37
es26n	118	142	223	156	64	116	129	214	37	111
es26n-perif	47	67	62	65	56	62	56	60	52	65
es26c	68	60	121	97	50	70	76	49	76	77
es26c-perif	53	26	45	41	32	39	64	47	31	34
es27n	25	22	28	38	35	22	20	35	15	30
es27n-perif	20	33	21	35	19	21	46	42	46	37
es27c	45	44	36	23	54	56	35	42	36	31
es27c-perif	45	63	69	14	24	41	33	53	41	18
es28n	58	35	27	58	21	34	51	32	80	67
es28n-perif	48	48	50	32	34	37	35	38	31	61
es29n	30	64	23	90	79	60	46	54	51	33
es29n-perif	32	54	37	46	36	34	31	40	39	57
es29c	67	73	94	161	101	86	101	175	57	100
es29c-perif	47	33	54	60	57	52	37	32	30	59
es30n		não avaliado								
es30n-perif		não avaliado								
es30c		não avaliado								
es30c-perif		não avaliado								
es31n	75	51	69	43	60	117	67	39	46	93
es31n-perif	26	40	54	52	48	70	60	51	46	50
es31c	236	194	187	128	200	256	269	298	197	267
es31c-perif	183	148	116	126	195	116	167	69	103	60
es32n		não avaliado								
es32n-perif		não avaliado								
es32c	240	310	320	211	187	194	162	151	169	172
es32c-perif	68	79	48	85	39	122	97	103	80	171

Sf= Selante de Fibrina; perif = periferia do material

Anexo 4 – Tabela dos resultados da Avaliação Histomorfométrica do Estudo Experimental da Reparação Alveolar em ratos, utilizando a Cola de fibrina e o Selante de Fibrina

Núm.lâmina	Porção Posterior		Porção Anterior		Média	Adesivo	Dias
211	111274,75	135691,3	338502,17	91059	169131,81	selante	1
221	.	.	219116,24	506009,52	362562,88	selante	1
231	172336,87	98599,71	71216,67	237485,7	144909,74	selante	1
241	243947,68	279241,17	431013,31	528451,32	370663,37	selante	1
251	75324,12	349984,4	573581,48	265148,8	316009,7	selante	1
311	497458,69	353241,3	999979,09	779607,79	657571,72	selante	7
321	342236,22	325879	184348,07	422352,38	318703,92	selante	7
331	1119831,8	1058873,4	750865,97	791805,69	930344,21	selante	7
341	936925,47	626646,51	882180,12	660201,11	776488,3	selante	7
351	806492,97	408308,2	383144,84	209897,22	451960,81	selante	7
361	839653,42	935167,17	1046177,6	866061,47	921764,92	selante	7
401	911928,07	622964,31	1111928,03	704906,01	837931,61	selante	7
261	1048739,6	665169,48	1026065,59	1128720,9	967173,89	selante	14
271	356539,72	604854,17	512405,26	547650,56	505362,43	selante	14
281	534301,33	285561,62	858261,44	964401,87	660631,57	selante	14
291	313120,99	290312,15	912540,04	611181,3	531788,62	selante	14
301	375863,44	1032451,75	866092,58	787440,23	765462	selante	14
371	736572,84	583850,12	817373,58	588393,22	681547,44	selante	28
381	685233,98	582092,94	889420,03	946146,5	775723,36	selante	28
391	528741,74	1097603,8	1111513,14	1038885,8	944186,13	selante	28
411	89669,11	88154,74	135639,43	218732,46	133048,94	cola	1
421	93984,01	90893,05	101493,6	146022,17	108098,21	cola	1
431	95145,72	65128,09	168582,07	109386,97	109560,71	cola	1
441	75095,93	88714,85	67918,25	190799,68	105632,18	cola	1
451	104014,09	133409,37	484628,07	135183,05	214308,65	cola	1
511	672917,63	447868,4	307748,11	386858,14	453848,07	cola	7
521	628752,1	259941,87	318971,01	183041,15	347676,53	cola	7
531	534021,28	298516,7	314915,46	798402,51	486463,99	cola	7
541	634446,53	863966,25	169069,57	393486,09	515242,11	cola	7
551	481952	626210,86	305766,99	718255,25	533046,28	cola	7
461	512747,55	523939,34	621927,08	643480,85	575523,71	cola	14
471	608743,8	117861,2	292158,44	755699,49	443615,73	cola	14
481	606586,35	456145,55	751934,32	62387,83	469263,51	cola	14
491	372181,25	348895,28	374214,23	741935,36	459306,53	cola	14
501	615278,39	303910,33	625464,06	869971,85	603656,16	cola	14
561	574224,54	395073	1087552,97	940410,59	749315,28	cola	28
571	914936,05	1058759,3	876392,34	620713,51	867700,3	cola	28
581	.	.	371673	568955,41	470314,21	cola	28
591	383487,12	164080,47	998474,82	443148,97	497297,85	cola	28
601	360076,7	999190,79	374598	859485,39	648337,72	cola	28
611	489025,95	214977,66	537993,89	785022,17	506754,92	cola	28
11	165843,76	184368,81	638305,05	677419,24	416484,22	controle	1
21	173280,75	121761,21	703785,79	318587,23	329353,75	controle	1
31	143418,71	166829,14	413017,25	167773,02	222759,53	controle	1
41	101929,24	172461,33	132932,25	262275,65	167399,62	controle	1
51	142267,38	210019,67	133679,06	300912,72	196719,71	controle	1
111	1136375,7	528440,94	957659,83	676257,53	824683,5	controle	7
121	486059,45	610735,3	719282,11	424935,1	560252,99	controle	7
131	341447,92	628824,7	682232,02	473622,99	531531,91	controle	7
141	573716,32	394533,69	.	.	484125,01	controle	7

Núm.lâmina	Porção Posterior		Porção Anterior		Média	Adesivo	Dias
151	628140,13	504158,94	419665,94	323358,52	468830,88	controle	7
61	701960,26	707239,79	894875,9	746011,95	762521,98	controle	14
71	810351,49	784711	448978,25	576361,28	655100,51	controle	14
81	855153,17	281267,46	630702,1	211212,5	494583,81	controle	14
91	581288,15	621885,59	872326,37	873674,78	737293,72	controle	14
101	553002,71	298558,19	653925,83	416201,57	480422,08	controle	14
161	308059,28	465470,31	445202,7	1014749,3	558370,41	controle	28
171	609397,26	672253,31	658468,93	992116,83	733059,08	controle	28
181	524800,24	672886,52	730712,46	985156,97	728389,05	controle	28
191	376786,58	754537,78	746312,49	1075759,6	738349,11	controle	28
201	662234,1	672253,81	246416,31	919416,92	625080,29	controle	28

N= número