



UNICAMP



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

FÁBIO DE FREITAS DUARTE

**“APLICAÇÕES CLÍNICAS
DOS SELANTES BIOLÓGICOS”**

Piracicaba

1998



TCE/UNICAMP
D85a
FOP



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

FÁBIO DE FREITAS DUARTE

**“APLICAÇÕES CLÍNICAS
DOS SELANTES BIOLÓGICOS”**

Trabalho apresentado à FOP-
UNICAMP como requisito parcial
para a obtenção do título de
especialista em Periodontia.

Orientador: Prof^o Dr^o Enilson Antonio Sallum

Q50

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
BIBLIOTECA
Piracicaba

1998

N.º Classif.	
N.º autor	D85a
V.	
Tombo	060

Unidade - FOP/UNICAMP

CE/UNICAMP

0830 Ed.

obl. Ex.

Tombo 4733

C D

Proc. 16P-124/2010

Preço R\$11,00

Data 13/04/2010

Registro 767801

Ficha Catalográfica

D85a	<p>Duarte, Fábio de Freitas. Aplicações clínicas dos selantes biológicos. / Fábio de Freitas Duarte. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 1999. 47f.</p> <p>Orientador : Prof. Dr. Enilson Antonio Sallum. Monografia (Especialização) -- Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.</p> <p>1. Periodontia. 2. Coagulantes. 3. Odontologia. I. Sallum, Enilson Antonio. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.</p>
------	---

Ficha Catalográfica Elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB / 8 - 6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba / UNICAMP.

Não há grande realização que não
comece pelo sonho. É justamente a
possibilidade de realiza-lo que torna
a vida interessante.

DEDICATÓRIA

PEDRO e VALQUIRIA, meus pais, responsáveis pela minha existência, carinho e paz. **FELIPE e PATRICIA**, meus irmãos pelo convívio e amizade.

ROSANA minha linda esposa, pelo estímulo, compreensão, amor e renúncia às horas de convívio.

AMANDA, minha filha, razão do meu viver.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao meu professor, mestre e principalmente pai PEDRO JOSÉ DUARTE, meu agradecimento pela educação, instrução, carinho, amizade e orientação, pois desempenhou importante papel no desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor ENILSON ANTONIO SALLUM, meu agradecimento pela amizade e estímulo sempre mediante julgamentos fundamentados e conhecimentos técnicos corretos.

“O ideal da vida não é a esperança de chegar a ser perfeito, mas a vontade de ser cada vez melhor.”

Ao professor ANTONIO WILSON SALLUM, meu agradecimento pelo estímulo, apoio e principalmente por ter a sua amizade.

“A educação não é o encher de um pote, mas o atear de uma chama.”

AGRADECIMENTOS

A todos os professores e colaboradores da cadeira de Periodontia da FOP-UNICAMP, meus agradecimentos pois tiveram importante papel em minha formação profissional.

“Quase todos os nossos êxitos dependem, em parte de outras pessoas.”

SUMÁRIO

CAPÍTULOS	Folha
1. RESUMO	02
2. INTRODUÇÃO	04
3. PROPOSIÇÃO	06
4. REVISTA DA LITERATURA	07
4.1 Breve Histórico	07
4.1.1 A Idéia do Selante	09
4.2 Princípios do Sistema de Selante de Fibrina	10
4.3 Componentes do Selante	12
4.3.1 Fibrinogênio	12
4.3.2 Fibronectina	13
4.3.3 Fator XIII	15
4.3.4 Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (PDGF)	15
4.3.5 Plasminogênio	16
4.3.6 Aprotinina	17
4.3.7 Trombina	18
4.4 Técnicas de Aplicação	18
4.5 Estudos Experimentais	21
5. DISCUSSÃO	25
6. CONCLUSÕES	33
7. SUMMARY	35
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

1. RESUMO

Uma nova inserção conjuntiva numa superfície periodontalmente afetada pode ser encarada como uma das grandes metas da periodontia atual. Alguns estudos sugerem que a primeira exigência para um resultado regenerativo próspero pode descansar na adesão precoce do coágulo à superfície da raiz, possivelmente em virtude de uma união inicial de fibrina.

O selante de fibrina apresenta propriedades hemostáticas e adesivas, impedindo um contato prematuro do epitélio com a superfície radicular. Além disso por consistir de um concentrado de plasma humano, a cola reúne ainda outras substâncias biologicamente ativas, de potente ação local, capazes de aprimorar a regeneração dos tecidos periodontais. Este adesivo mimetiza as reações finais do processo normal de coagulação, ou seja, acelera o processo de cura.

A técnica de aplicação é fácil e a cola adere depressa aos tecidos, no entanto alguns fatores limitam o seu uso, entre eles o fator custo e a possibilidade de transmissões virais, descartada pela literatura até o presente momento. Como o coágulo de fibrina sofre lise gradual e é completamente absorvido num prazo de duas semanas, surge recentemente a possibilidade do aprisionamento de antibióticos e antimicrobianos em seu interior para uma liberação lenta e a consequente manutenção de concentrações adequadas por tempo prolongado no interior da bolsa periodontal. A suspensão de antibióticos tendo como veículo a cola de fibrina abre excelentes perspectivas futuras e justifica o uso de tão promissora técnica.

PALAVRAS CHAVE: cola de fibrina, coágulo sanguíneo, fatores plasmáticos

2. INTRODUÇÃO

A grande meta da periodontia nos dias atuais é a completa regeneração dos tecidos perdidos durante o processo inflamatório e conseqüentemente conseguir uma nova inserção conjuntiva numa superfície radicular periodontalmente afetada⁶⁰. Pelo processo de regeneração competem os tipos celulares presentes no periodonto, no entanto, os eventos críticos que determinam inserção conjuntiva ocorrem dentro de um curto período de tempo após o início da cura¹². A grande dificuldade em obter esta resposta durante o processo de reparo dos tecidos é que o epitélio gengival rapidamente migra sobre a face de tecido conjuntivo da bolsa tratada, contatando a parede dura (superfície radicular), formando o epitélio juncional longo e bloqueando qualquer possibilidade de regeneração pelos tecidos do ligamento periodontal⁶⁰.

Historicamente foram desenvolvidas técnicas cirúrgicas tentando parar ou retardar o epitélio de um contato precoce com a superfície da raiz^{17, 6, 62}, onde as suturas sempre tiveram um sólido lugar como um meio de união de tecidos e margens de feridas, mas apesar dos sofisticados materiais e técnicas de sutura eles estão cheios de problemas que refletem em seus defeitos inerentes³¹. Porém alguns estudos sugerem que a migração do epitélio possa não acontecer ou ser limitada sob certas condições^{9, 10, 11, 46}, onde a primeira exigência para um resultado regenerativo próspero pode descansar na adesão precoce do coágulo à superfície da raiz, possivelmente em virtude de uma união inicial de fibrina⁴⁹. A aderência rápida do coágulo pode formar uma barreira suficiente para evitar a migração apical do epitélio^{49, 66}.

A tentativa de selamento precoce com plasma sanguíneo relatada na literatura eventualmente confirma ser desanimadora devido à inadequada capacidade de tensão dos selantes, no entanto o desenvolvimento de um processo de crioprecipitação especial tornou possível a produção de um adesivo tecidual biológico resistente (a cola de fibrina)³, uma substância biocompatível e assimilável que possui a nítida possibilidade de ser substituída por colágeno sem a necessidade de ser removida⁷.

Deixando de lado suas propriedades adesivas e hemostáticas, o selante têm sido fundado para aumentar a cura da ferida. Isso pode ser atribuído à presença do fator XIII, que é sabido, acelera o processo⁵⁸. Por consistir de um concentrado de plasma humano a cola reúne ainda outras substâncias em concentrações mais elevadas capazes de aprimorar a regeneração dos tecidos periodontais, entre elas o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), uma substância indutora de

crescimento de ocorrência natural com atividade local potente. É postulado que qualquer um dos componentes presentes no adesivo agindo sozinho ou em combinação pode responder pelos resultados favoráveis^{51,39}.

3. PROPOSIÇÃO

Assim, diante do exposto, constitui propósito do presente trabalho revisar na literatura os achados que justifiquem o uso de tão promissora técnica, além de listar as vantagens e desvantagens de seu uso isolado ou associado a outras substâncias.

4. REVISTA DA LITERATURA

4.1 Breve Histórico

A possibilidade de se utilizar uma substância que torne a síntese dos diversos tecidos mais rápida e eficiente representa uma idéia bastante atraente. Tal substância deveria ter efeito hemostático, provocar aderência firme dos tecidos sem alterar o processo de reparação e não possuir efeitos colaterais ou ação carcinogênica. As substâncias que poderiam apresentar essas propriedades são os adesivos biológicos.

Uma vez que as fibras teciduais são constituídas de grandes cadeias de polipeptídios, parece lógica a investigação de estruturas similares com propriedades aderentes. É neste contexto que surge o papel central da fibrina no coágulo

sanguíneo e na cura da ferida e a tentativa de procurar, usando o seu precursor, o fibrinogênio, a união tecidual. A busca por uma substância adesiva remonta muito tempo, os primeiros estudos para controlar o sangramento com fibrina datam de 1909, quando BERGEL⁵ relatou o efeito hemostático do pó de fibrina. Logo após, GREY¹⁶ e HARVEY¹⁷ usaram tampões e leves placas de fibrina para controlar o sangramento em órgãos parenquimais. YOUNG e MEDAWAR⁶⁹ tentaram reunir o nervo ciático de coelhos com fibrinogênio, que foi extraído do plasma de pintinhos do qual formou-se um coágulo adicionando-se extrato de embriões; TARLOV E BENJAMIN⁶¹ trabalharam com plasma de coelhos homólogos e autólogos e desenvolveram uma técnica especial para aperfeiçoar a coaptação de nervos, como um substituto às suturas, usando fios de tantalun. A combinação de fibrinogênio com a trombina foi usada pela primeira vez em 1944 por CRONKITE¹⁴ et al e TEDRICK⁶² et al para ancorar enxertos de pele, mas o efeito adesivo foi pobre, provavelmente devido às concentrações inadequadas de fibrinogênio. Como resultado o método não foi amplamente aceito.

Após um período de poucas investigações nesse campo, o interesse pelos adesivos poliméricos sintéticos iniciou-se em 1962 com o uso de caseína e álcool polivinil e outros como isocianetos (poliuretanos), derivados da borracha, policrilatos, anidridos, resina de epoxi e resina de formaldeído¹³.

A partir de 1960 surgiram os cianocrilatos que pareciam ser uma alternativa viável²⁰. O primeiro cianocrilato foi o *metil-2-cianocrilato* que inicialmente parecia promissor, mas o grupo metil, embora com capacidade bactericida², era muito instável e tóxico. Procurou-se alterar sua composição, mas a redução dos efeitos deletérios foi pequena além de prejudicar sua capacidade adesiva. Por outro lado, a

presença de água fez diminuir ainda mais sua ação adesiva. Assim, pela ação carcinogênica, toxicidade e perda de resistência na presença de água, os cianocrilatos foram quase que totalmente abandonados, sendo que hoje, sua utilização é excepcional. Desde de 1970 a substância mais estudada é o adesivo de fibrina devido à sua rapidez na reparação dos tecidos e hemostasia rápida¹³.

4.1.1 A Idéia do Selante

De acordo com revisão realizada por MATRAS³¹, em 1985, a idéia do sistema de selante de fibrina para uso corrente foi sugerida inicialmente durante pesquisas sobre os efeitos da fibrina na cura de feridas na pele de ratos. Duas circunstâncias propiciaram a continuação da idéia original^{60, 61} e a continuação dos experimentos em nervos: 1) o advento do microscópio cirúrgico com o desenvolvimento de técnicas mais sofisticadas em microcirurgia e 2) os avanços na pesquisa básica, o que possibilitou a produção de plasma altamente concentrado e o isolamento de alguns fatores de coagulação em sua forma mais purificada.

Nos estudos iniciais foi utilizada uma solução crioprecipitada de plasma de coelho, que formou um coágulo pela adição de uma solução trombina. Os métodos e resultados foram publicados pela primeira vez em 1972 e o procedimento foi usado pela primeira vez em humanos no Centro de Traumatologia de Viena, em 1974.

O sistema de selante de fibrina foi posteriormente utilizado em microcirurgia vascular, onde o número de suturas foi reduzido e a conseqüente destruição parcial e possível oclusão trombótica dos vasos foi evitada. Os resultados indicaram que

muito mais tecido de cicatrização funcional com fibras elásticas abundantes desenvolveram-se dentro de 14 dias⁴.

Outra área de interesse foi a pele, onde estudos demonstraram que enxertos e incisões selados desenvolviam uma delicada cicatriz quase imperceptível, o que foi apontado como uma das vantagens da técnica. A possibilidade de selamento de osso também foi investigada, evidências mostraram que cura e nova formação óssea ocorreram precocemente ao grupo controle quando utilizou-se osso removido misturado ao selante para encher defeitos experimentais em tibia de coelhos.

4.2 Princípios do Sistema de Selante de Fibrina

Este adesivo, mimetiza as reações finais do processo normal de coagulação, ou seja, o fibrinogênio ao interagir com a trombina libera uma fibrina monomérica, a qual na presença do fator XIII e do cálcio torna essa fibrina polimérica com diversas pontes, esse produto é o adesivo³⁵. O sistema descrito por MATRAS³¹, em 1985, possui dois componentes, o primeiro componente consiste principalmente de fibrinogênio e contém proteínas plasmáticas como globulina insolúvel indiferenciada (CIG) e albumina, como também o fator XIII. Trombina e cloreto de cálcio compõe o segundo componente e um antifibrinolítico (de preferência aprotinina) foi acrescentado a um deles. Quando os dois componentes são misturados a trombina converte o fibrinogênio em fibrina para que o coágulo se inicie e a mistura solidifique. Ao mesmo tempo a trombina ativa o fator XIII em fator XIIIa na presença de cálcio ionizado. Num caminho mais distante o fator XIIIa ativado catalisa o elo de união de fibrina e CIG, isso aumenta o vigor do coágulo.

Durante a cura da ferida o material do coágulo sofre lise gradual e é completamente absorvido. Enquanto a estabilidade do coágulo deveria ser suficiente para prevenir um rompimento do selo, esta não deveria ser excessiva, para que a cura da ferida não seja demorada. Levando-se em conta as diferentes atividades fibrinolíticas dos vários tecidos a concentração de antifibrinolítico (aprotinina) pode ser variada para obter a persistência desejada do coágulo. De acordo com estudo prévio, a gengiva humana apresenta alta atividade fibrinolítica. De fato a persistência do coágulo não deveria exceder alguns dias e, ao término de 1 semana, histologicamente, quase não deveriam ser achadas sobras do coágulo. Nos primeiros três dias depois da incorporação do selante um infiltrado inflamatório celular desenvolve-se. Este infiltrado consiste principalmente de granulócitos e neutrófilos. O aparecimento destes junto com o de macrófagos mais o lançamento de enzimas proteolíticas e de enzimas fibrinolíticas específicas marcam a lise precoce do selante. Linfócitos e células plasmáticas estão ausentes durante os primeiros cinco a seis dias. Como o selante é gradualmente absorvido, o tecido de granulação não específico fica mais denso e é eventualmente convertido para tecido de cicatrização. Se usado em quantidades apropriadamente pequenas, o selante de fibrina sofre completa lise biológica e absorções dentro de nada mais que 2 semanas.

A cascata de coagulação à interface dentina-tecido conjuntivo geralmente seguirá a via de coagulação extrínseca e subsequentemente incluirá ativação de várias enzimas proteolíticas que conduzem à conversão de protrombina em trombina. Brevemente, serão lançados fosfolipídeos do tecido extravascular frente à dano tecidual e será iniciado o processo de coagulação. Ca^{++} e fator tecidual

aprotinina ativarão o fator VII (proconvertina) e subseqüentemente ativa o fator de Stuart (X) e protrombina (II) para a formação de trombina. Trombina converte fibrinogênio (I) para monômeros de fibrina que se cruzam para formar um coágulo de fibrina. Baseado neste mecanismo, BARTOLUCCI e PRATO³, propuseram em 1982 o Tissucol[†] para uso em cirurgia periodontal. O Tissucol está disponível como um kit e consiste em 5 unidades: (1) Tissucol Liofilizado (fibrinogênio, fator XIII, fibronectina, fator de crescimento derivado de plaquetas - PDGF, plasminogênio e antiplasmina); (2) Aprotinina; (3) Trombina; (4) Cloreto de Cálcio; e (5) Água Destilada. Fibrinogênio e fibronectina compõe a parte principal do coágulo de fibrina quando ativados pela trombina que é somada no último instante. O coágulo de fibrina provê homeostase e forma uma cadeia que une colágeno e glicosaminoglicanas (componentes normais da matriz de tecido) de tal modo que a adesão de tecidos acontece.

4.3 Componentes do Selante

4.3.1 Fibrinogênio

É uma proteína obtida de um crioprecipitado de plasma humano, de alto peso molecular (MW = 340,000) e apresenta-se cerca de 30 vezes mais concentrada no sistema de selante que sua quantidade normal no plasma⁵⁵.

Novos refinamentos do componente fibrinogênio por métodos de produção especial, ultimamente aumentaram a concentração total de proteínas em selantes humanos para perto de 100mg/ml. Disso 70 a 80% é considerado fibrinogênio. Como

| _____

altas concentrações tornaram-se disponíveis e esforços foram feitos para aumentar a eficiência de produção, material autólogo foi substituído por plasma homólogo³¹.

4.3.2 Fibronectina

Consiste de uma glicoproteína de alto peso molecular (MW = 440,000), multifuncional que se apresenta 10 vezes mais concentrada no selante que no plasma humano⁵⁵. A fibronectina é produzida por fibroblastos, monócitos, células endoteliais e outras células e, juntamente com o fibrinogênio, compõe a parte principal do coágulo de fibrina quando ativados pela trombina. Por se ligar a receptores específicos, a fibronectina têm a capacidade de atrair fibroblastos para dentro do coágulo para produzir novo colágeno⁴⁴, portanto, a fibronectina nas feridas em processo de cicatrização pode induzir a migração celular e possivelmente a organização tissular.

Um sistema proposto para explicar o mecanismo inicial para a união entre a fibrina e o colágeno envolve a proteína plasmática fibronectina. Ela pode servir para ancorar o coágulo sanguíneo ao colágeno circundante devido à sua propriedade de ser covalentemente unida à fibrina e ao colágeno pelo fator XIIIa^{33, 36, 37}. Têm sido mostrado recentemente que a fibronectina, de todas as proteínas plasmáticas, foi absorvida mais fortemente pelo colágeno, e esse mecanismo poderia facilitar a inserção da fibrina ao colágeno²⁵.

Segundo FERNYHOUGH & PAGE¹⁹, em 1983, glicoproteínas de inserção específica e fatores plasmáticos podem ser os substratos essenciais para as interações celulares e moleculares básicas entre fibroblastos e a superfície da raiz.

KURKINEN et al²⁹ (1980), ao estudarem o aparecimento sequencial de fibronectina e colágeno em tecidos de granulação experimentais, concluíram que a glicoproteína fibronectina funciona como uma matriz primária para a organização de colágeno durante o processo de cura dos tecidos e que ainda, segundo HYNES & YAMADA²⁷ (1982), promove migração, adesão, inserção, orientação e atividade sintética de fibroblastos ativados. No coágulo, a fibronectina plasmática funciona como substrato para o fator XIII ativado, formando ligações covalentes entre a fibrina e o colágeno³⁷.

Informação extensa existe sobre o comportamento do sangue frente a superfícies naturais em vitro e em vivo³⁰. O enredo hipotético seguinte está baseado no conhecimento atual sobre interações do sangue com superfícies sólidas e como isso pode ser aplicado na ferida periodontal. A adesão inicial entre os elementos do sangue e a dentina na cura periodontal é mediada por proteínas plasmáticas absorvidas à superfície radicular. O sangue coagulando que enche o espaço morto entre a superfície da raiz e o aspecto interno do retalho pode inserir à superfície radicular coberta de proteínas por mecanismos endógenos da cascata de coagulação. Mecanismos de inserção específicos entre o colágeno dentinário exposto adsorvido por proteínas plasmáticas, e fibras e estruturas celulares do coágulo sanguíneo podem ser exercidos através de proteínas de inserção como a fibronectina⁶³.

4.3.3 Fator XIII

O fator XIII é uma transglutaminase, uma enzima que representa um papel essencial estabilizando vínculos entre a fibronectina e a fibrina no coágulo e entre o

coágulo (fibrina e fibronectina) e colágeno e glicosaminoglicanas. Há evidências experimentais (MOSHER³⁷, 1979) que o colágeno bem como a Globulina Insolúvel Indiferenciada (CIG) se unem à fibrina na presença do fator XIIIa. Como o colágeno é um componente essencial do tecido conjuntivo, este fenômeno pode explicar a boa adesividade do selante aos tecidos. O fator XIII também une antiplasminas ao coágulo de fibrina. Deste modo o fator XIII dá estabilidade molecular ao retículo tridimensional do coágulo de fibrina.

Segundo trabalho realizado por GRINNELL et al²³, em 1980, onde estudou-se a adesão de fibroblastos a um substrato de fibrinogênio e fibrina, a fibrina e o fator XIII estimulam a adesão e o crescimento de fibroblastos. Ainda segundo GRINNELL et al²², em 1981, uma estrutura de fibrina estabilizada é essencial para a migração de fibroblastos e para a deposição de produtos por eles sintetizados.

A concentração do fator XIII no Tissucol é aproximadamente 10 vezes a concentração normal do plasma⁵⁵.

4.3.4 Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (PDGF)

É um polipeptídeo biologicamente ativo, com efeito potente sobre as células do ligamento periodontal. O PDGF fica armazenado em grânulos alfa das plaquetas e provavelmente é produzido por megacariócitos. Outras fontes de PDGF são macrófagos, células endoteliais e osteócitos. São liberados dos grânulos quando as plaquetas aderem a locais de rompimento de vasos e/ou membranas basais são expostas. O PDGF das plaquetas inicia o processo de reparo e o presente nos macrófagos continua a cicatrização da ferida⁶⁵.

In vitro, o PDGF mostrou ser quimiotático e mitótico potente para as células do ligamento periodontal e fibroblastos, estimulando a proliferação das células⁸, mesmo em concentrações tão baixas como 0,1 ng/ml²⁸. Sua concentração no Tissucol é mais alta que em plasma normal, embora varie grandemente em diferentes preparações⁵⁵. Estimulou a aposição óssea de maneira dose dependente, através da estimulação da proliferação de células precursoras de osteoblastos⁴⁵.

Assim, in vitro o PDGF demonstrou exercer importante papel na maioria das atividades das células fibroblásticas do ligamento periodontal, tais como proliferação, quimiotaxia e síntese de proteínas colagênicas³², demonstrou ser o principal mitógeno para as células do ligamento periodontal⁴³. Pode ser considerado portanto, um potente modificador local do padrão de regeneração tecidual.

4.3.5 Plasminogênio

Plasminogênio é uma glicoproteína, de baixo peso molecular (MW = 90,000), que é transformada em plasmina sob o efeito de trombina ativada. A plasmina, em troca têm uma atividade proteolítica que causa lise do coágulo de fibrina e fibronectina. O plasminogênio é associado com fibrinogênio, mas a relação entre plasminogênio e fibrinogênio é cerca de 30 vezes menor no Tissucol que no plasma humano⁴⁷.

4.3.6 Aprotinina

O controle da fibrinólise assume papel central para o sucesso do selante (controle da degradação). Completa absorção é uma de suas maiores vantagens, e selantes mostraram ser funcionais até a cura da ferida estar completa. Como a atividade proteolítica intrínseca do selante é baixa, a atividade proteolítica do tecido a ser selado atua como um papel crítico. Isto é determinado pelos ativadores do plasminogênio, que estão localizados em vários tecidos e principalmente nas células endoteliais. Tecidos ricamente vascularizados, tal como pulmão e rim, possuem uma alta atividade fibrinolítica, portanto esta fibrina é rapidamente degradada. Tecidos nervosos mostraram uma igual alta atividade fibrinolítica. Várias substâncias estão sendo testadas para essa ação antifibrinolítica, incluindo o ácido aminocapróico e inibidor CI-esterase. Os melhores resultados têm sido obtidos com a aprotinina.

A aprotinina é um polipeptídeo obtido do pulmão bovino que inibe a fibrinólise através de uma união com a plasmina na base de 1:1, sendo que doses de aprotinina podem ser adaptadas para requerimentos de tecidos específicos.

4.3.7 Trombina

É um polipeptídeo (MW = 40,000) com atividade enzimática como uma serino-protease. Sua atividade principal consiste na ativação do fibrinogênio e do fator XIII que em troca conduz à formação e estabilização do coágulo. A velocidade de formação do coágulo é relacionada diretamente com a concentração de trombina.

Cloreto de Cálcio é uma combinação iônica que é essencial para a atividade da trombina.

MOSHER & VAHERI³⁸, em 1978, trabalhando com culturas de fibroblastos humanos, concluíram que a trombina induz a síntese de fibronectina. ZETTER et al⁷⁰, estudando os potenciais de resposta mitogênica da trombina em culturas de fibroblastos, relataram que ela estimula o crescimento de fibroblastos e a síntese de colágeno.

Em estudos preliminares um concentrado de trombina bovina foi usado numa dose de 500 NIH - U/ml dissolvida em 12 mmol CaCl₂, mas a rápida formação do coágulo sugeriu que a concentração de trombina era muito alta, enquanto que a concentração de cálcio ionizado pareceu ser muito baixa para a solidificação do coágulo. Atualmente, modificações dessas concentrações são usadas para controlar o processo de coagulação.

4.4 Técnicas de Aplicação

Segundo MATRAS³¹, o sistema de selante consiste de fibrinogênio liofilizado junto com um reconstituente (água destilada), fibrina em pó, solução de aprotinina e solução de CaCl₂. O selante liofilizado é reconstituído com a água destilada ou com soluções de aprotinina em concentrações variadas.

A solução trombina - CaCl₂ contém 4 NIH-U ou 500 NIH - U de trombina/ml em 40 mmol de solução de CaCl₂. Os frascos são preparados para 37° C preferencialmente no aquecedor/agitador combinado Fibrinotherm[†]. Para obter a

[†] Immuno AG, Viena, Austria

concentração de aprotinina desejada, a solução estocada é diluída com água. A solução deste modo preparada é então injetada dentro de um frasco contendo o selante liofilizado preparado, e o frasco é inserido dentro do agitador magnético. Após 10 minutos o agitador é desligado, e os componentes são mantidos no aquecedor a 37° C até serem usados. Isto é importante para a viscosidade, que diminui rapidamente quando a temperatura cai, e para a manutenção da atividade da trombina. Quando prontos para uso os componentes são colocados em separado em dois aplicadores idênticos.

Dois métodos alternativos são disponíveis para a aplicação. Na aplicação sequencial dos 2 componentes, a chamada “técnica do sanduíche”, o selante é colocado com uma quantidade idêntica de solução trombina numa concentração de 500 NIH - U/ml. Esta técnica apresenta problemas na ocorrência imediata do coágulo na interface entre os 2 componentes, resultando numa mistura falha e num coágulo não homogêneo de baixa tensão. Em variação a esta técnica, cada uma das superfícies a serem coladas é coberta com um dos componentes e as duas partes são subseqüentemente pressionadas. No entanto como os componentes são gotejados a mistura é pobremente controlada. A segunda alternativa, a técnica da mistura prévia, oferece consideráveis vantagens. Quando uma baixa dose de solução trombina numa concentração de 400 NIH - U/ml é misturada com o selante e aplicada num sítio desejado a formação do coágulo e a ocorrência da união é completada em cerca de 3 a 4 minutos. Durante este intervalo a adaptação das pontas pode ser corrigida e podem ser feitos outros ajustes secundários no campo operatório.

A técnica de aplicação é fácil e a cola adere depressa aos tecidos. A quantidade de Tissucol média é de 0,1 ml por dente (cada lado). Uma vez reconstituídos os componentes permanecem ativos por cerca de 4 horas, e podem ser usados várias vezes necessitando somente a troca da agulha. Os efeitos de hemostasia e adesão podem ser modulados usando trombina em diferentes concentrações. O kit provê 2 concentrações diferentes, 400 ou 500 NIH-U/ml (Instituto Nacional de Saúde), para a coagulação lenta ou rápida, respectivamente⁴⁷. A concentração de 400 NIH-U/ml permite 20 a 30 segundos para ajustar as bordas antes da coagulação, já a concentração de 500 NIH-U/ml reduz os tempos de operação e coagulação, é útil para coaptar pequenos retalhos e o procedimento deve ser realizado em menos de 5 a 10 segundos. É importante salientar que utilizando-se a menor concentração necessita-se de pressão de cerca de 3 minutos com gase molhada para que se completem os vínculos químicos dentro do coágulo. Com a concentração mais alta pressão mínima é suficiente para obter estabilidade.

Os longos tempos de coagulação são, no entanto, insuficientes para o controle da hemorragia. Para este propósito, uma unidade de injeção dupla que pode ser usada para concentrações altas e baixas de trombina, foi desenvolvida para o uso de um único operador. Esta unidade consiste de uma seringa, chamada Duploject[†], que pode acomodar uma cabeça coletora e uma cânula de mistura descartável. Uma vez o selante misturado à solução trombina de dose alta na cânula de mistura e aplicado ao tecido, nada mais que 30 a 60 segundos são disponíveis para ajustes. A unidade Duploject também pode ser provida com uma cabeça de spray, ideal para lacrar superfícies extensas além de economizar selante. Uma variante especial da técnica da mistura prévia consiste misturar ao selante partículas

de osso ou antibióticos e esperar a mistura ficar parcialmente coagulada. Isto produz um material elástico ideal para preencher defeitos ósseos.

4.5 Estudos Experimentais

Em um estudo piloto realizado por BARTOLUCCI & PINI PRATO³ em 1982, tentou-se investigar as qualidades bioadesivas clínicas do Tissucol em cirurgia periodontal. Para isso foi selecionado um deslize lateral de retalho onde não foi utilizado cimento cirúrgico. Fotografou-se antes, imediatamente após a cirurgia, 1 semana, 2 semanas e 1 mês pós cirúrgico. Os resultados mostraram inflamação desprezível dos tecidos, a ponta do enxerto se manteve na posição desejada e o processo curativo pareceu mais rápido que quando suturas eram usadas.

Em 1987, PINI PRATO et al⁴⁷, tentaram comparar clinicamente a sutura de seda convencional (Ethicon 4.0) com a cola de fibrina, para a seleção dos pacientes foi exigido que estes apresentassem controle formal de placa durante pelo menos 3 meses pré-operatórios. Os resultados mostraram que o sangramento foi mais persistente com as suturas que com a aplicação de Tissucol, um alo vermelho ao redor das suturas era evidente, aos 7 dias pós-operativos, no lado controle e edema era desprezível em ambos os lados. O re-exame clínico aos 14 e 21 dias pós-operatórios não revelaram nenhuma diferença significativa entre o lado teste e o lado controle.

Ainda em 1987, RIPAMONTI et al⁵¹, avaliaram a regeneração da inserção de tecido conjuntivo promovida por um sistema de adesivo à base de fibrina/fibronectina em um modelo experimental de babuínos. Para isso, defeitos periodontais foram

criados cirurgicamente e as raízes expostas foram aplainadas e desmineralizadas com ácido cítrico. Para fechamento do retalho nos quadrantes experimentais, o sistema adesivo foi introduzido entre as superfícies de raiz e o retalho mucoperiósteo. A análise de discrepância demonstrou diferenças significativas entre o grupo controle e o experimental com respeito a duração e adaptação da inserção de tecido conjuntivo, a extensão de cemento neo formado com fibras de tecido conjuntivo inseridas e a quantia de regeneração óssea, indicando que o potencial para inserção de tecido conjuntivo e regeneração de osso pode ser aumentado pelo uso de glicoproteínas de inserção específica e fatores plasmáticos.

Num relato de caso clínico, PINI PRATO et al⁴⁶ (1988), descrevem um abscesso crônico com duração de 6 anos associado a um defeito ósseo. Foram utilizadas 2 membranas (Vestibular e Palatina) e em seu interior foi injetado o selante (1 mililitro), isto ajudou fixando as membranas e mantendo o espaço. Esta operação resultou em 9mm de ganho de inserção clínica e em 11mm de preenchimento do defeito ósseo. 3 meses após, a profundidade de sondagem não excedia 2mm. É importante salientar que, segundo o autor, a morfologia do defeito ósseo tinha potencial para regeneração, apresentava cumes de osso ao redor da lesão.

Com o propósito de testar a hipótese de que a adesão do coágulo para a superfície da raiz aplainada é importante WIKESJÖ et al⁶⁶ (1991), usando um modelo de cachorro bigle, condicionou a raiz aplainada com heparina na tentativa de comprometer a adesão do coágulo de fibrina. Não foi observada hemorragia nas superfícies tratadas com heparina, no entanto, uma gradual recessão gengival foi notada durante o processo de cura. A extensão do reparo de tecido conjuntivo era

menor para as superfícies tratadas com heparina do que as tratadas com solução salina, e conseqüentemente a falta de reparo era acompanhada de epitélio juncional longo. Pode ser concluído através desse estudo que o tratamento da superfície da raiz com heparina compromete a inserção de tecido conjuntivo e confirma ser a adesão do coágulo uma condição prévia para a inserção de tecido conjuntivo em defeitos periodontais. No entanto, ainda segundo WIKESJÖ et al⁶⁷ (1991), num estudo que teve por objetivo estudar os eventos precoces do processo de cura à interface dentina/tecido conjuntivo, pode ser concluído que na ausência de trauma mecânico, proliferação epitelial e infecção, a maturação da ferida à interface tecido conjuntivo/dentina pode não ser necessariamente afetada por tratamentos que aumentem ou inibam a adesão do coágulo à superfície da raiz.

DOGAN et al¹⁵, em 1992, na tentativa de avaliar os efeitos da aplicação da cola de fibrina (Tissucol) na cura periodontal de defeitos de furca grau III em cachorros, utilizou 7 cachorros nos quais foram criados cirurgicamente defeitos de furca GIII e depois induzida a doença periodontal com fio ortodôntico. Aos 7 dias a organização do coágulo e maturação das novas fibras colágenas era relativamente mais pronunciada no grupo teste que no grupo controle. Aos 21 dias foi observada mais formação de nova inserção na área supra cristal, onde uma nova cobertura de cimento se estendeu coronariamente mostrando tecido conjuntivo celular com inserção de fibras à superfície radicular. Aos 42 dias a inserção de tecido conjuntivo e formação de osso alveolar foi maior no grupo teste que no grupo controle, sendo que espécimes do grupo teste aos 42 dias mostraram significativamente mais tecido conjuntivo e reparação óssea quando comparado aos de 21 dias.

5. DISCUSSÃO

A cura de defeitos periodontais seguida de cirurgia a retalho é conceitualmente um processo mais complexo que a cura da ferida na maioria dos outros locais do corpo. Quando as pontas de retalhos mucoperiósteos são posicionadas e suturadas, para cobrir defeitos periodontais grandes, acabam por contém varias interfaces entre tecidos que fundamentalmente diferem biologicamente e em composição. Porém, o ponto a ser enfatizado é que a ferida em processo de cicatrização é um meio dinâmico e mutável e pouco é conhecido sobre o comportamento do sangue frente a sistemas relativamente estáticos como a ferida periodontal periférica. Assim, a superfície de tecido conjuntivo vai, por um lado, se opor à margem vascularizada da ferida, inclusive tecido conjuntivo gengival e osso alveolar, e por outro lado, a superfície radicular raspada avascular. Para prevenir

invasão epitelial ou bacteriana, a cura à interface entre a superfície da raiz e a ponta do retalho é dependente de uma organização precoce do coágulo sanguíneo e o estabelecimento de uma inserção resistente a forças mecânicas que podem agir no retalho.

Vários estudos têm relatado o aprimoramento da inserção de tecido conjuntivo em defeitos periodontais nos quais a superfície radicular foi condicionada com ácido cítrico^{48,56}. A inserção de tecido conjuntivo aumentada foi atribuída à desintoxicação da raiz periodontalmente exposta, remoção da "smear layer" e a consequente exposição, pelo ácido, de uma matriz de colágeno dentinária^{48,56}.

De acordo com POLSON⁴⁹, em 1983, parece que a união de fibrina exposta a fibrilas de colágeno na superfície radicular raspada e tratada com ácido cítrico foi responsável por prevenir a migração apical do epitélio, indicando que uma união inicial de fibrina pode ser um precursor essencial de uma nova inserção. O estudo realizado por WIKESJÖ⁶⁶, apresenta evidência indireta em defesa deste conceito; onde condicionou-se a raiz aplainada com heparina na tentativa de comprometer a adesão do coágulo de fibrina, e realmente, as superfícies de raiz sujeitas ao tratamento com o anticoagulante mostraram significativamente menos inserção de tecido conjuntivo que as superfícies tratadas com solução salina. Isto sugere que uma união de fibrina intacta para a superfície da raiz seja essencial ao resultado de cura periodontal.

Enquanto isso parecia essencial para que a migração apical do epitélio estivesse sendo prevenida e se alcançasse inserção de tecido conjuntivo a superfícies radiculares periodontalmente expostas, a resposta final de cura

dependerá de interações entre o fenótipo expressado pela repopulação celular da área e a superfície radicular^{34, 41, 48, 56}.

No entanto a terapia periodontal tradicional resulta em regeneração mínima somente da porção mais apical do defeito com a formação de um epitélio juncional longo. Baseado nisto surge que: o potencial de inserção de tecido conjuntivo e regeneração de osso pode ser aumentado se uma superfície radicular cirurgicamente exposta, raspada e tratada com ácido cítrico é tratada adicionalmente com glicoproteínas de inserção específicas e fatores plasmáticos. É nesse contexto que surge a necessidade da utilização meios para a coaptação dos bordos da ferida que preencham certos requisitos: 1) facilidade de manuseio e aceitação por parte do clínico, 2) resistência à forças de tração que podem romper os tecidos e 3) biocompatibilidade com os tecidos adjacentes.

O meio habitual para fixar tecidos em cirurgia periodontal é a sutura com fio de seda 4.0. Adesivos sintéticos (cianocrilatos) foram descartados por causa de sua dureza, toxicidade e falta de aceitação pelo clínico. Do ponto de vista biológico a cola de fibrina parece inócua e efetiva e também provoca a cura precoce da ferida, enquanto o cianocrilato afeta negativamente a cura da ferida. Suturas reabsorvíveis são usadas mas causam fortes respostas inflamatórias⁵⁴. Suturas com monofilamentos sintéticos não absorvíveis causam menos reação tecidual mas são extremamente desajeitados para o uso de rotina em periodontia. A técnica de aplicação é fácil e a cola de fibrina adere depressa aos tecidos.

A sutura convencional provê só uma fixação marginal, enquanto a cola de fibrina faz o tecido aderir em sua superfície inteira. Esta adesão aliada à rápida hemostasia, ajuda prevenindo o deslocamento e a formação de hematoma. A cola

de fibrina provê fixação virtual sem qualquer dano tecidual, enquanto a sutura causa tensão mecânica. Tal trauma é potencialmente prejudicial, especialmente em pontas minúsculas quando a provisão de sangue é crítica no período pós operatório, como em procedimentos de cobertura de raiz.

Quanto à resistência, as feridas suturadas cuidadosamente têm aproximadamente 70% da resistência da pele não lesada imediatamente após a cirurgia, em grande parte devido à colocação das suturas. Quando as suturas são removidas, geralmente ao final da primeira semana, a resistência da ferida se aproxima a 10%. Ocorre durante as próximas quatro semanas um aumento rápido da resistência da ferida. Esse ritmo de aumento fica em seguida mais lento e virtualmente se estabiliza aproximadamente após o terceiro mês após a incisão original. O selante coagula em cerca de 20 a 30 segundos e ganha força no curso das próximas duas horas determinando, portanto, uma resistência inicial maior.

O adesivo não causa reação inflamatória além da área onde foi aplicado, induzindo à cicatrização da área. Também torna-se muito mais fácil fixar pontas de retalhos e enxertos em áreas difíceis (por exemplo, molares superiores, lado lingual) usando a cola. A maior facilidade reduz o tempo operatório e também faz o procedimento menos incômodo para o paciente e principalmente para o cirurgião. Uma das grandes vantagens desta cola é que a fibrina liga-se às superfícies de colágeno expostas, tanto do lado da superfície aplainada quanto do tecido conjuntivo.

Indicações para o selante estão limitadas através de alguns fatores: 1) O adesivo de fibrina sofre desnaturação em contato com álcool ou com iodo¹⁷; antes

de ser utilizado, deve ser mantido entre 2 e 8 graus centígrados, e uma vez preparado, deve ser aplicado em no máximo 4 horas¹⁸.

Como o adesivo de fibrina é em parte derivado de plasma humano, o processo de composição deve ser rigorosamente limpo para evitar ao máximo a transmissão viral^{53,64}. O fibrinogênio pode tanto vir de "pool" de doadores humanos quanto de amostras de sangue retiradas do próprio paciente. Alguns autores propuseram a utilização de preparados a partir do sangue do próprio paciente no sentido de evitar possíveis transmissões, entretanto sua ação aderente fica reduzida à metade^{16,57}. A respeito do risco de hepatite, os fabricantes estabeleceram critérios estritos para a seleção de doadores, onde estes devem ter sorologia negativa para doenças infecciosas e as amostras do "pool" são inativadas após liofilização por 30 horas a 60° centígrados (termo-viro-inativação) visando principalmente os vírus da hepatite e da AIDS. Ainda que não se tenha provado que o uso da cola de fibrina obtida de "pool" de doadores e tratada da maneira acima aumente o risco de hepatite não-A e não-B, a opção de se retirar amostra de sangue do próprio paciente torna o uso desta cola seguro em relação ao contágio.

Não há nenhuma evidência na literatura, abrangendo trabalhos de estatística específicos relatados por SCHEELE⁵² (1981) e outros, da transmissão de hepatite B pelo selante. Várias explicações foram propostas. Sugere-se que a transmissão de hepatite e o problema do aparecimento de algum vírus na cadeia de fibrina podem ser inativadas pela atividade proteolítica dos fluidos do tecido e por elementos celulares no curso de lise e absorção do coágulo. Segundo PINI PRATO et al⁴⁷ (1987), apesar de ser um crioprecipitado de plasma humano, o aquecimento a vapor do Tissucol durante o preparo previne qualquer risco de transmissão de Aids e,

apesar do uso difundido na Europa, não foi informada nenhuma evidência de transmissão de hepatite infecciosa até o presente momento.

Recentemente, foi anunciada por uma equipe de Botucatu, dirigida pelo professor Benedito Barravieira, que o terrível veneno da cascavel, assim como o da jararaca, pode aumentar muito a eficiência das diversas colas de pele existentes. O segredo das cobras é que seu veneno contém um complicado coquetel de moléculas dos mais variados tipos e formas, de onde foi isolada uma substância classificada como uma "enzima tipo trombina"¹. Desde de 1989, pesquisadores do CEVAP (Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos - Botucatu), notaram que ela acelerava muito o processo de regeneração do corpo⁵⁰ e que é capaz de soldar os tecidos biológicos.

Dito isso, pode-se analisar as dificuldades das colas estrangeiras, que usam trombina bovina, e não de cobra, e fibrinogênio humano em lugar do bovino. O problema começa com o fibrinogênio humano, que pode transmitir doenças como a hepatite e a Aids, e termina com a baixa potência da trombina bovina. O novo produto apresenta duas vantagens potenciais. Primeiro, evita o risco de contágio por trocar o fibrinogênio do homem pelo do boi. Depois, substitui a trombina bovina pela da cascavel. Testes iniciais mostraram que ela é até 500 vezes mais eficaz na cicatrização⁵⁰. No entanto, segundo hipótese levantada por RIPAMONTI et al⁵¹, a utilização de materiais heterólogos, como o plasma bovino, em substituição ao plasma humano, pode causar reações imunológicas locais e ocasionar um processo inflamatório indesejado num período cicatricial crítico. Apesar dos resultados favoráveis da nova técnica, são exigidas pesquisas para determinar até que ponto a substituição dos componentes plasmáticos humanos por similares bovinos pode

interferir no processo regenerativo e conseqüentemente delinear seu uso em periodontia.

Sem dúvida as propriedades biológicas do selante de fibrina derivado de componentes humanos, contendo fibrinogênio, fibronectina, trombina e fator XIII, podem ter contribuição favorável ao processo regenerativo, facilitando a nova inserção e a formação óssea, no entanto, mais estudos são exigidos para testar o efeito do sistema de selante de fibrina em superfícies radiculares expostas à doença, e determinar em vitro e em vivo a concentração ótima de substâncias biologicamente ativas à interface tecido/raiz durante a cura de feridas periodontais, desde que experiências indicam que as glicoproteínas de inserção podem ter uma natureza dualística e podem mediar positiva ou negativamente dependendo das concentrações presentes e se estão em solução ou presas a um substrato⁶⁸.

Segundo STANEK et al⁵⁹, em 1978, uma cepa de *Staphylococcus aureus* cresce menos num coágulo de fibrina que num coágulo sanguíneo. No entanto de acordo com HOUSTON & ROTSTEIN²⁶ (1988), o adesivo parece aumentar a incidência de abscessos pela grande oferta de fibrina, favorecendo a proliferação bacteriana, entretanto atualmente a adição de trombamicina na composição parece reduzir tal efeito, sendo ainda matéria de estudo⁴⁰.

A possibilidade proposta por NEY et al⁴⁰, em 1990, em se obter uma suspensão de antibiótico na cola de fibrina no intuito de provocar a liberação lenta de medicamentos, abre excelentes perspectivas futuras para o uso da cola em periodontia, onde uma das grandes dificuldades da utilização de antimicrobianos locais reside na impossibilidade de se manter concentrações adequadas por tempo suficiente na região desejada, ou seja no interior da bolsa periodontal.

Realmente as atenções recentes têm sido voltadas para o meio de aplicação de drogas locais com a intenção de assegurar uma eficácia na aplicação de antibióticos locais na terapia periodontal, onde o sistema de distribuição da droga é feito pela imobilização de antibióticos e de agentes antimicrobianos com uma substância transportadora que possibilita sua aplicação local de maneira controlada. A pretensão do uso de um dispositivo de liberação lenta é a obtenção de um efeito máximo com uma dose mínima da droga, ou seja, a concentração de antibiótico no líquido dentro da bolsa periodontal deve ultrapassar a concentração mínima inibitória contra a microflora periodontal.

6. CONCLUSÕES

1. O uso da cola de fibrina, através de sua elevada capacidade de tensão, pode ser considerado um método eficaz no intuito de conter a migração epitelial para a superfície da raiz e a conseqüente formação de um epitélio juncional longo ;

2. Este adesivo possui componentes com atividade local potente que podem não só responder por suas propriedades biocompatíveis mas também por sua capacidade de acelerar e aprimorar o processo de cura e regeneração periodontal;

3. A técnica de aplicação é fácil e a cola adere depressa aos tecidos, proporcionando pronta hemostasia e prevenindo deslocamentos. A maior facilidade

reduz o tempo operatório e torna o procedimento menos incômodo para o paciente e principalmente para o cirurgião;

4. A literatura confirma, até o presente momento, ser uma técnica segura quanto à transmissão de AIDS e Hepatite.

5. O uso da cola como um mecanismo de liberação lenta de medicamentos abre excelentes perspectivas para o uso de antibióticos locais em periodontia, mantendo-se concentrações adequadas por tempo suficiente no interior da bolsa periodontal.

7. SUMMARY

An ultimate goal of periodontics is predictable new connective tissue attachment to a periodontitis affected root surface. Some studies, suggest that the first demand for a prosper regenerative result can rest in the precocious adhesion of the clot in a root surface, possibly by virtue of an initial union of fibrin.

The fibrin sealant present hemostatic and adhesive properties, impeding the epithelium of a premature contact with the root surface. Besides, for consisting of a concentrate of humam plasma, the glue still gathers others substances biologically active, of potent local action, improving the regeneration of the periodontal tissues. This adhesive mimic the final reactions of the normal process of clotting, that is to say, it accelerates the cure.

The application technique is easy and the sealant sticks quickly to the tissues, however, some factors limit its use, among them the factor cost and the possibility of turn transmissions, discarded by the literature until the present moment. As the fibrin clot suffers gradual lyse and it is completely absorbed in a period of two weeks, it appears the possibility of imprisonment of antibiotics in its interior for a gradual slow liberation and the consequent maintenance of adapted concentrations by prolonged time inside the periodontal bag. The suspension of antibiotics tends a vehicle the fibrin glue opens excellent future perspectives for the use of such promising technique.

KEY WORDS: fibrin glue, sanguine clot, plasmatic factors

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALEXANDER, G. et al. Gyroxin, a toxin from the venom of *Crotalus Durissus Terrificus*, is a thrombin-like enzyme. **Toxicon**, Great Britain, v.26, n.10, p.953-960, 1988.
2. AWE, W.C., ROBERTS, W., BRAUNWALD, N.S. Rapidly polymerizing hemostatic agent: study of tissue response and bacteriological properties. **Surg.**, v.54, p. 322-328, 1963.
3. BARTOLUCCI, E.G., PINI PRATO, G., Short Communication. Preliminary Observations on the use of a biologic Sealing System (Tissucol) in Periodontal Surgery. **J Periodontol.**, Chicago, v.53, n.12, p.731-735, Dec., 1982.

4. BAXTER, T.J. et al. The histopathology of small vessels following microvascular repair. **Br J Surg.**, v.59, p.617, 1972.
5. BERGEL, S. Über Wirkungen des Fibrins. **Dtsch Med Wochenschr**, v.35, p.633
Apud MATRAS, H. op. cit. ref. 31
6. BOGLE, G. et al. New attachment after surgical treatment and acid conditioning of roots in naturally occurring periodontal disease in dogs. **J Periodont Res.**, v.16, p.130-133, 1981.
7. BONATI, J.A. et al. Experimental use of fibrin glue to seal corneal perforations. **Arq Bras Oftal.**, v.58, n.2, p.82-92, abril, 1995.
8. BOYAN, L.A. et al. Mitogenic and chemotatic responses of human periodontal ligament cells to the different isoforms of platelet derived growth factor. **J Dent Res.**, v.73, n.10, p.1593-1600, Oct., 1994.
9. CAFFESSE, R.G. et al. The effect of citric acid and fibronectin application on healing following surgical treatment of naturally occurring periodontal disease in Beagle dogs. **J Clin Periodontol.**, v.12, p.578-590, 1985.
10. CAFFESSE, R.G. et al. Clinical evaluation of the use of citric acid and autologous fibronectin in periodontal surgery. **J Periodontol.**, v.59, p.565-569, 1988.

11. CATON, J.G. et al. Healing after application of Tissue-Adhesive Material to denuded and acid-treated root surfaces. **J Periodontol.**, v.57, p.385-390, 1986.
12. COLE, R.T. et al. Connective tissue regeneration to periodontally diseased teeth. A histological study. **J Periodont Res.**, v.15, p.1, 1980.
13. COOPER, C.W., FALB, R.D. Surgical adhesives. **An N Y Acad Sci.**, v.146, p.214-224, 1968.
14. CRONKITE, E.P., LOZNER, E.L., DEEVER, J.M. Use of thrombin and fibrinogen in skin grafting. **JAMA**, v.124, p.976, 1944.
15. DOGAN, A. et al. Effects of Fibrin Adhesive Material (Tissucol) Application on Furcation Defects in Dogs. **J Nihon Univ Sch Dent.**, v.34, p.34-41, 1992.
16. DURHAM, L.H. et al. A method for preparation of fibrin glue. **J Laryngol Otol.**, v.101, p.1182-1186, 1987.
17. ELLEGAARD, B., KARRING, T., LÖE, H. New periodontal attachment procedure based on retardation of epithelial migration. **J Clin Periodont.**, Copenhagen, v.1, p.75-88, 1974.

18. ELLIS, D.A.F., PELAUSA, E.O. Fibrin glue in fascial plastic and reconstructive surgery. **J Laryngol Oto.**, v.17, p.74-77, 1988.
19. FERNYHOUGH, W., PAGE, R.C. Attachment, growth and synthesis by human gingival fibroblasts on demineralized or fibronectin-treated normal and diseased tooth roots. **J Periodontol.**, v.54, p.133-140, 1983.
20. FISCHL, R.A. An adhesive for primary closure of skin incisions. **Plastic Reconstruc Surg.**, v.30, p.607-610, 1962.
21. GREY, E.G. Fibrin as a hemostatic in cerebral surgery. **Surg Gynecol Obstet.**, v.21, p.452, 1915.
22. GRINNELL, F., BILLINGHAM, R.E., BURGESS, L. Distribution of fibronectin during wound healing in vivo. **Journal of Investigative Dermatology**, v.76, p.181-189, 1981.
23. GRINNELL, F., FELD, M., MINTER, D. Fibroblast adhesion to fibrinogen and fibrin substrate: Requeriment for cold insoluble globulin (plasma fibronectin). **Cell**, v.19, p.517-525, 1980.
24. HARVEY, S.C. The use of fibrin papers and forms in surgery. **Boston Med Surg J.**, v.174, p.658, 1916.

25. HORMANN, H., JILEK, F. Interaction of fibrinogen/fibrin and fibronectin with collagen. **Artery**, v.8, p.482, 1980.
26. HOUSTON, K.A., ROTSTEIN, O.D. Fibrin sealant in high-risk colonic anastomoses. **Arch Surg.**, v.123, p.230-234, 1988.
27. HYNES, R.O., YAMADA, K.M. Fibronectins: Multifunctional modular glycoproteins. **J Cell Biol.**, v.95, p.369-377, 1982.
28. KATSURAGI, Y., ODZIMIED, C., TERRA-NOVA, V.P. Modulation of PDL cell migration and proliferation by PDGF and bFGF. **J Dent Res.**, v.68 (special issue), p.393, March, 1989. [Abstract, 1693]
29. KURKINEN, M. et al. Sequential appearance of fibronectin and collagen in experimental granulation tissue. **Laboratory Investigation**, v.43, p.47-51, 1980.
30. LEONARD, E.F., TURITTO, V.T., VROMAN, L. Blood in contact with natural and artificial surfaces. **Annals of the New York Academy of Sciences** 516, New York: New York Academy of Sciences, 1987.
31. MATRAS, H. Fibrin Seal: The State of the Art. **J Oral Maxillofac Surg.**, v.43, p.605-611, 1985.

32. MATSUDA, N. et al. Mitogenic, chemostatic and synthetic responses of rat periodontal ligament fibroblastic cells to polypeptide growth factors in vitro. **J Periodontol.**, v.63, n.6, p.515-525, jun., 1992.
33. Mc DONAGH, J. Fibronectin. A molecular glue. **Arch Patho Lab Med.**, v.5, p.393, 1981.
34. MELCHER, A.H. On the repair potential of periodontal tissues. **J Periodontol.**, v.47, n.5, p.256-260, may, 1970.
35. MORANDINI, W., ORTIZ, V. Adesivos biológicos em cirurgia. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.7, n.2, p.80-85, 1992.
36. MOSHER, D.F. Cross-linking of cold insoluble globulin by fibrin-stabilizing factor. **J Biol Chem.**, v.250, p.6614, 1975.
37. MOSHER, D.F., SCHAD, P.E., KLEINMAN, H.K. Cross-linking of fibronectin to collagen by blood coagulation Factor XIII. **J Clin Invest.**, v.64, p.781, 1979.
38. MOSHER, D.F., VAHERI, A. Thrombin stimulates the production and release of a major surface-associated glycoprotein (fibronectin) in cultures of human fibroblasts. **Experimental Cell Research**, v.112, p.323-334, 1978.

39. NASJLETI, C.E. et al. Effect of lyophilized autologous plasma on periodontal healing of replanted teeth. **J Periodontol.**, v.57, p.568-578, 1986.
40. NEY, A.L. et al. Fibrin glue-antibiotic suspension in the prevention of prosthetic graft infection. **J Trauma.**, v.30, p.1000-1006, 1990.
41. NYMAN, S. et al. The regenerative potential of the periodontal ligament. **J Dent Res.**, v.61, p.234, Abst 497, 1982.
42. _____. New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. **J Clin Periodont.**, v.9, p.290-296, 1982.
43. OATES, T.W., ROUSE, C.A., COCHRAN, D.L. Mitogenic effects of growth factors on human periodontal ligament cells in vitro. **J Periodontol.**, v.64, n.2, p.142-148, Feb. 1993.
44. PENA, S.D.J., HUGHES, R.C. Fibronectin-plasma membrane interaction in the adhesion and spreading of hamster fibroblasts. **Nature**, v.276, p.80, 1978.
45. PFEILSCHIFTER, J. et al. Stimulation of bone matrix apposition in vitro by local growth factors: a comparison between insulin-like growth factor I, platelet-derived growth factor and transforming growth factor b. **Endocrinology**, v.127, n.1, p.69-75, July. 1990.

46. PINI PRATO, G., CORTELLINI, P., CLAUSER, C. Fibrin and fibronectin sealing system in a guided tissue regeneration procedure. A case report. **J Periodontol.**, v.59, n.10, p.679-683, October, 1988.
47. _____, et al. Human fibrin glue versus sutures in periodontal surgery. **J Periodontol.**, v.58, n.6, p.426-431, June, 1987.
48. POLSON, A.M. The root surface and regeneration; present therapeutic limitations and future biologic potentials. **J Clin Periodontol.**, v.13, p.995-999, 1986.
49. POLSON, A.M., PROYE, M. Fibrin linkage: A precursor for new attachment. **J Periodontol.**, v.55, n.3, p.141-147, march, 1983.
50. PRADO, R.C. O veneno do bem. **Super Interessante**, ano 11, n.4, p.58-65, abril, 1997.
51. RIPAMONTI, V. et al. Regeneration of the connective tissue attachment on surgically exposed roots using fibrin-fibronectin adhesive system. An experimental study on the baboon (*Papio ursinus*). **J Periodont Res.**, v.22, p.320-326, 1987.
52. SCHEELE, J. et al. Hepatitisrisiko der Fibrinklebung in der Allgemein Chirurgie. **Med Welt.**, v.32, p.783, 1981. Apud MATRAS, H. op. cit. ref. 31

53. SCHLAG, G., REDL, H. Fibrin sealant in orthopedic surgery. **Clin Orthop.**, v.227, p.269-285, 1988.
54. SCOHEN, F.J. Surgical sutures. **New Phys.**, v.25, p.40, 1976.
55. SEELICH, T., REDL, H. Das Fibrinklebesystem biochemische grundlagen der Klebemetode. **Dtsch Z Mund-Kiefes-Gesichts-Chir** (suppl.), v.3, p.22, 1979.
Apud PINI PRATO, G. et al. op. cit. ref. 47
56. SELVIG, K.A. Current concepts of connective tissue attachment to diseased tooth surfaces. **J Biol Buccale**, v.11, p.79-94, 1983.
57. SILBERSTEIN, L.E. et al. An autologous fibrinogen-based adhesive for use in otologic surgery. **Transfusion**, v.28, p.319-321, 1988.
58. SPÄNGLER, H.P. Gewebeklebung und lokale Blutstillung mit Fibrinogen Thrombin und Blutgerinnungsfaktor XIII. **Wien Klin Wochenschr** 88 (suppl. 49), v.1, 1976. Apud MATRAS, H. op. cit. ref. 31
59. STANEK, G., BOSCH, P., WEBER, P. Vergleichende quantitative untersuchung des wachstums von *Staphylococcus aureus* in Fibrin-Klebesystem und in Blutkoagulum. **Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg.**, v.240, p.441-446, 1978.

60. STEFANI, C.M. et al. Fatores de crescimento: novas perspectivas para a regeneração periodontal. **Revista Periodontia**, v.6, n.1, p.13-19, jan/jun, 1997.
61. TARLOV, I.M., BENJAMIN, B. Plasma clot and suture of nerves. **Surg Gynecol Obstet.**, v.76, p.366, 1943.
62. TEDRICK, R.T., WARNER, E.D. Fibrin fixation of skin transplants. **Surgery**, v.15, p.90, 1944.
63. TERRANOVA, V.P., WIKESJÖ, U.M.E. Extracellular matrices and polypeptide growth factors as mediators of functions of cells of the periodontium. A review. **J Periodontol.**, v.58, p.371-380, 1987.
64. WEISMAN, R.A. et al. Biochemical characterization of autologous fibrinogen adhesive. **Laryngoscope**, v.97, p.1186-1190, 1987.
65. WIRTHLIN, M.R. Growth substances: potential use in periodontics. **J West Soc Periodont.** (periodontal abstracts), Northridge, v.37, n.3, p.101-125, 1989.
66. WIKESJÖ, U.M.E., CLAFFEY, N., EGELBERG, J. Periodontal repair in dogs. Effect of heparin treatment of the roots surfaces. **J Clin Periodontol.**, v.18, p.60-64, 1991.

67. _____ et al. Early healing events at the dentin-connective tissue interface. Light and transmission electron microscopy observations. **J Periodontol.**, v.62, n.1, p.5-14, 1991.
68. YAMADA, K.M., KENNEDY, D.W. Dualistic nature of adhesive protein function: fibronectin and its biologically active peptide fragments can autoinhibit fibronectin function. **J Cell Biol.**, v.99, p.29-36, 1984.
69. YOUNG, J.Z., MEDAWAR, P.B. Fibrin suture of peripheral nerves. **Lancet**, v.239, p.126, 1940.
70. ZETTER, B.R. et al. Thrombin potentiates the mitogenic response of cultured fibroblasts to serum and other growth promoting agents. **J Cell Phys.**, v.92, p.233-240, 1977.