

**ÁLVARO BAIK CHO**

**Aplicação da cola de fibrina em microanastomoses  
vasculares: análise comparativa com a técnica de sutura  
convencional utilizando um modelo experimental de retalho  
microcirúrgico**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo, para obtenção do título de  
Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Ortopedia e Traumatologia  
Orientador: Prof. Dr. Rames Mattar Júnior

SÃO PAULO  
2008

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Cho, Álvaro Baik

Aplicação da cola de fibrina em microanastomoses vasculares : análise comparativa com a técnica de sutura convencional utilizando um modelo experimental de retalho microcirúrgico / Álvaro Baik Cho. -- São Paulo, 2008.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Departamento de Ortopedia e Traumatologia.

Área de concentração: Ortopedia e Traumatologia.

Orientador: Rames Mattar Júnior.

Descritores: 1.Microcirurgia 2.Retalhos cirúrgicos 3.Anastomose cirúrgica  
4.Adesivo tecidual de fibrina 5.Modelos animais de doenças 6.Procedimentos  
cirúrgicos reconstitutivos

USP/FM/SBD-073/08

A toda minha família, em especial:

Aos meus avós, Chang Duk Kim e Hi Sun An,  
pelo incentivo e apoio imprescindíveis.

Aos meus pais, Jung Sun Kim e Bo Yong Baik,  
pelo amor e dedicação incondicionais.

A minha querida esposa, Ana, pelo seu imenso  
amor, apoio e paciência.

A minha filha, Isabelle, razão de tudo, pela alegria  
indescritível que me proporciona.

A Deus, pela minha maravilhosa família, pelo seu amor e misericórdia  
infinitos e pelas incontáveis bênçãos concedidas em minha vida.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu professor e amigo, Prof. Dr. Rames Mattar Júnior, minha eterna gratidão pelos ensinamentos e pela confiança depositada.

Aos Professores, Tarcísio Eloy Pessoa de Barros Filho, Arnaldo Valdir Zumiotti e Olavo Pires de Camargo, Titulares do Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, por permitirem a realização desta tese.

A Dra. Cláudia Regina G. C. Mendes de Oliveira, chefe do Serviço de Anatomia Patológica do IOT-HC-FMUSP e à Dra. Renée Zon Fillipe, patologista responsável pela avaliação das lâminas deste estudo.

Ao Prof Dr. Alberto Tesconi Croci, Dr. Marcelo Rosa de Rezende e Dr. Teng Hsiang Wei, pela amizade, sugestões e correções.

Ao Dr. Emygdio José Leomil de Paula, pelo apoio, amizade e incentivo constante ao meu aprimoramento profissional.

Ao Dr. Raul Bolliger Neto, responsável pela metodologia estatística deste estudo.

À Valéria Vieira Chida, (Veterinária), Waldemar Francisco J. Maleta (Técnico Veterinário), Vivian Yuri Suguiama (Técnica de Laboratório) e Tiago Cano Viana (Técnico Administrativo) do Centro de Experimentação e Treinamento em Cirurgia do Hospital Israelita Albert Einstein, pela dedicação e cuidado com os animais utilizados neste estudo.

Ao Serviço de Anatomia Patológica do IOT-HC-FMUSP, em especial ao biomédico Carlos Fernando Saito e ao biólogo Sérgio Antônio Barbosa do Nascimento, pela dedicação e cuidado na confecção das lâminas utilizadas neste estudo.

À Ângela Tavares Paes, bioestatística do Instituto de Ensino e Pesquisa do Hospital Israelita Albert Einstein, pelo suporte técnico.

A Sra. Jane Donini dos Santos Ferreira, administradora do Laboratório de Microcirurgia do IOT-HC-FMUSP.

Ao Instituto de Ensino e Pesquisa do Hospital Israelita Albert Einstein por permitir a utilização do Centro de Experimentação e Treinamento em Cirurgia e pelo apoio financeiro.

À Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo pelo apoio financeiro.

“O fim de uma coisa vale mais do que o seu  
começo”

*Eclesiastes 7:8*

## SUMÁRIO

Lista de abreviaturas	
Lista de símbolos	
Resumo	
Summary	
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	6
3. MÉTODOS.....	29
3.1. Animais e Modelo Experimental.....	29
3.2. Planejamento.....	30
3.3. Instrumental.....	30
3.4. Cola de Fibrina.....	31
3.5. Operação.....	34
3.5.1. Anestesia e Preparo.....	34
3.5.2. Procedimento Cirúrgico.....	35
3.6. Pós-operatório.....	52
3.7. Reoperação.....	53
3.8. Anátomo-Patológico.....	56
3.9. Avaliação dos Resultados.....	57
3.10. Metodologia Estatística.....	59
4. RESULTADOS.....	60
5. DISCUSSÃO.....	72
6. CONCLUSÕES.....	85
7. ANEXOS.....	86
8. REFERÊNCIAS.....	90

## LISTA DE ABREVIATURAS

CF	cola(s) de fibrina
T-T	término-terminal(ais)
T-L	término-lateral(ais)
et al.	e outros
CETEC	Centro de Experimentação e Treinamento em Cirurgia
IOT-HC-FMUSP	Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
vol.	volume
p.	página(s)

## LISTA DE SÍMBOLOS

g	grama(s)
mg	miligrama(s)
l	litro
ml	mililitro(s)
mm	milímetro(s)
cm	centímetro(s)
min	minutos
h	hora
°C	graus Celsius
UI	unidade(s) internacional(s)
$\chi^2$	qui-quadrado
$\mu$	micra(s)
x	vezes
CO <sub>2</sub>	dióxido de carbono
log	logaritmo
<	menor
≤	menor ou igual
>	maior

## RESUMO

Cho, A.B. Aplicação da cola de fibrina em microanastomoses vasculares: análise comparativa com a técnica de sutura convencional utilizando um modelo experimental de retalho microcirúrgico [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2008. 96p.

**INTRODUÇÃO:** A microanastomose vascular é um componente importante na cirurgia de transferência livre de tecidos. Atualmente, a técnica de sutura convencional ainda é considerada o padrão ouro, no entanto, ela apresenta alguns inconvenientes por ser tecnicamente difícil, consumir muito tempo e ter uma longa curva de aprendizado. Na busca de uma técnica mais fácil e rápida, métodos alternativos de anastomose são estudados incluindo a cola de fibrina. Apesar dos bons resultados publicados, a sua aceitação na prática clínica ainda é limitada. Controvérsias a cerca de sua trombogenicidade e resistência mecânica geram dúvidas em relação a sua segurança. A ausência de um modelo experimental mais fidedigno impede que os potenciais benefícios de sua aplicação clínica sejam apreciados. O objetivo deste estudo é esclarecer essas controvérsias e estudar os benefícios da aplicação da cola de fibrina em um ambiente que simule a prática clínica. **MÉTODOS:** O modelo experimental utilizado foi a transferência livre de um retalho inguinal para a região cervical anterior. A circulação do retalho era restaurada através de microanastomoses vasculares entre as artérias femoral e carótida (término-lateral) e entre as veias femoral e jugular externa (término-terminal). Utilizamos 20 coelhos que foram divididos em dois grupos (n= 10) de acordo com a técnica de sutura empregada: Grupo I (sutura convencional) e Grupo II (sutura com cola). **RESULTADOS:** A aplicação da cola de fibrina reduziu significativamente o número de pontos necessários para se completar as anastomoses, 4 pontos a menos nas artérias e 4,5 pontos a menos nas veias. No Grupo I, a média do tempo de anastomose arterial foi de 17,21 minutos, contra 12,72 minutos no Grupo II. Nas anastomoses venosas, a média de tempo no Grupo I foi de 22,93 minutos, contra 16,57 minutos no Grupo II. A aplicação da cola de fibrina também diminuiu o tempo de isquemia do retalho e o tempo de cirurgia em 11,5 minutos e 15,67 minutos, respectivamente. A taxa de sobrevida do retalho foi de 90% nos dois grupos. **CONCLUSÕES:** A aplicação da cola de fibrina em microanastomoses vasculares demonstrou ser confiável e eficiente no presente estudo.

## SUMMARY

Cho, A.B. Application of fibrin glue in microvascular anastomosis: comparative analysis with the conventional suture technique using an experimental free flap model [Thesis]. Faculty of Medicine, University of São Paulo, SP (Brazil); 2008. 96p.

**INTRODUCTION:** Microvascular anastomosis is an important component of the free flap surgical procedure. Currently, the conventional suture is still considered the gold standard technique. However, it presents some problems for being technically demanding, time consuming and with a long learning curve. In looking for an easier and faster technique, alternative methods of anastomosis were studied including the fibrin glue. Despite the good results reported in the literature, its acceptance in the clinical setting is still small. Controversies regarding its thrombogenicity and mechanical resistance create some concerns about its safeness. The absence of a more realistic experimental model has not allowed a full appreciation of its potential benefits in clinical use. The aim of this study is to clarify these controversies and demonstrate the advantages of fibrin glue application in an environment that can reproduce the clinical practice. **METHODS:** A free inguinal flap transfer to the anterior cervical region was used as an experimental model. The circulation of the flap was restored by means of microvascular anastomosis between the femoral and carotid arteries (end-to-side) and between the femoral and jugular veins (end-to-end). The procedures were performed in 20 rabbits that were divided into two groups (n= 10) according to the anastomosis technique: Group I (conventional) and Group II (fibrin glue). **RESULTS:** The application of fibrin glue significantly reduced the amount of sutures required to complete the anastomoses: 4 less sutures in the arteries and 4,5 less sutures in the veins. In Group I, the mean arterial anastomosis time was 17,21 minutes against 12,72 minutes in Group II. In the veins, the mean anastomosis time in Group I was 22,93 minutes against 16,57 minutes in Group II. The application of fibrin glue also reduced the flap ischemic time and the total operative time by 11,5 minutes and 15,67 minutes, respectively. The flaps' survival rate was 90% in both groups. **CONCLUSIONS:** The application of fibrin glue in microvascular anastomoses was reliable and effective in this study.

## 1. INTRODUÇÃO

A capacidade de restabelecer o fluxo sanguíneo para os tecidos através de microanastomoses vasculares é um requisito essencial para o cirurgião que atua na área de microcirurgia reconstrutiva. Atualmente, a técnica de sutura convencional ainda é considerada o padrão ouro, devido a sua confiabilidade e versatilidade. Entretanto, ela apresenta alguns inconvenientes como, dificuldade técnica, longa curva de aprendizado e tempo de execução prolongado. A contínua melhoria na qualidade e precisão dos instrumentos microcirúrgicos e o aprimoramento tecnológico dos microscópios empregados neste tipo de cirurgia permitem que vasos de diâmetros cada vez menores sejam abordados com alto índice de sucesso (Koshima et al., 2000). No entanto, desde a primeira descrição da técnica microcirúrgica para anastomose de pequenos vasos (1 a 2 mm), por Jacobson e Suarez (1960), a técnica de microanastomose vascular permanece praticamente inalterada. Na busca de uma técnica mais fácil e rápida, métodos alternativos de anastomose são estudados, tais como, aparelhos de acoplamento mecânico, grampos vasculares, laser e colas.

Os aparelhos de acoplamento mecânico baseiam-se num sistema que promove a eversão e coaptação dos vasos através de um encaixe do tipo pino-anel, sem utilização de pontos de sutura. Daniel e Olding (1984), Nylander et al. (1989) e Ahn et al. (1994) demonstram sua experiência com o método, obtendo altos índices de permeabilidade com redução significativa

do tempo de anastomose. Entretanto, o método não é aplicável quando há discrepância moderada de diâmetro entre os vasos e quando as paredes dos vasos são espessas. Além disso, exige treinamento prévio para adaptação ao instrumental e à técnica, e causa uma perda considerável do comprimento do vaso resultante do acoplamento. Seu emprego em anastomoses término-laterais (T-L) demonstra ser ainda mais complexo e de praticidade questionável (Ragnarsson et al., 1989; Delacure et al., 1999).

Os grampos vasculares são aplicados após a passagem de dois ou três pontos de sutura convencionais e eversão das bordas dos vasos, com o intuito de tornar a anastomose menos traumática (não penetram na luz dos vasos) e mais rápida. Zeebregts et al. (2000 e 2002) observam ótimos resultados na microscopia eletrônica, porém sem redução significativa do tempo de anastomose quando aplicados em artérias. Também ressaltam a necessidade de treinamento prévio para o manuseio do instrumental. Portanto, as limitações deste método mostram-se muito semelhantes aos dos aparelhos de acoplamento, não sendo práticos para realização de anastomoses arteriais.

Alguns centros utilizam experimentalmente o laser em microanastomoses término-terminais (T-T) e T-L com bons resultados (Sartorius et al., 1986; He et al., 1999). Entretanto, o método exige treinamento prévio para manipulação do laser, não elimina totalmente a necessidade de pontos de sutura e o custo do equipamento é elevado. Além disso, existe uma tendência para o desenvolvimento de pseudo-aneurismas com o passar do tempo (Grubbs et al., 1988).

Os cianoacrilatos são colas sintéticas derivadas do ácido acrílico. Apesar de haver relatos favoráveis quanto a sua utilização em microanastomoses vasculares, levando em conta sua resistência mecânica, facilidade de aplicação e redução no tempo de anastomose, a maioria dos estudos não é otimista (Green et al., 1986; Casanova et al., 1987; Middleton et al., 1991; Lemaire et al., 2000; Hall et al., 2000; Kim et al., 2004). Mesmo os derivados de cadeia mais longa, menos histotóxicos, provocam um processo inflamatório intenso com separação da lâmina elástica, calcificação da camada média, afilamento e distorção da parede do vaso. Alguns casos de pseudo-aneurismas são relatados como consequência do afilamento da parede dos vasos. A infiltração da cola para dentro da luz do vaso causa trombose, invariavelmente. Além disso, os cianoacrilatos não são muito adequados para aplicação em superfícies úmidas.

A cola de fibrina (CF) é utilizada pela primeira vez em 1909, por Bergel (apud. MATRAS, 1985), em forma de pó de fibrina para hemostasia de ferimentos. Young e Medawar (1940) realizam anastomoses de nervos periféricos com fibrinogênio em caráter experimental. Entretanto, sua aplicação é limitada devido à instabilidade da fibrina. Na década de 70, o avanço nas técnicas de isolamento dos fatores de coagulação permite o aumento da concentração do fibrinogênio e a adição do fator XIII, tornando a CF mais resistente e estável (Jackson 2001). Desde então, a CF passa a ser empregada em estudos experimentais e clínicos com as mais variadas aplicações.

A CF mimetiza as etapas finais da cascata de coagulação. Na presença do cloreto de cálcio, o fibrinogênio e o fator XIII são ativados pela trombina. O fibrinogênio é convertido em monômeros de fibrina que se polimerizam, formando um coágulo de fibrina. A CF é biocompatível e biodegradável, além de não provocar necrose tecidual ou reação do tipo corpo estranho. Ela é utilizada em microanastomoses vasculares pela primeira vez por Matras et al. (1977). No entanto, são Pearl et al. (1977) que desenvolvem um estudo mais elaborado para avaliar os efeitos da aplicação da CF em microanastomoses vasculares. A partir da década de 80, outros estudos são publicados para testar a CF em microanastomoses vasculares. Alguns autores associam a técnica de anastomose por intussuscepção com a aplicação da CF, tornando esta técnica mais confiável (Karl et al., 1981; Sugiura et al., 1985; Bowen et al., 1996; Saitoh e Nakatsuchi, 1996). Outros autores utilizam a CF com o intuito de reduzir ao mínimo o número de pontos e o tempo necessário para se completar uma anastomose (Baffoni et al., 1985; Aksik et al., 1986; Hamm et al., 1986; Isogai et al., 1992; Padubidri et al., 1996; Han et al., 1998; Reicher, 2002; Cho e Mattar Júnior, 2007).

Apesar dos bons resultados obtidos na maioria destes estudos experimentais, a aceitação da CF na prática clínica ainda é pequena, estando limitada a apenas três estudos (Aksik et al., 1986; Isogai et al., 1996; Han et al., 1998). Na opinião dos autores, essa falta de entusiasmo pode ser explicada pela desconfiança com que a aplicação da CF em microanastomoses vasculares ainda é vista pela maioria dos microcirurgiões. Controvérsias a cerca de sua trombogenicidade e

resistência mecânica (Sagi et al., 1987; Moskovitz et al., 1994; Dascombe et al., 1997; Marek et al., 1998; Gupta, 2007) geram dúvidas em relação a sua segurança. Além disso, a ausência de um modelo experimental mais fidedigno impede que os potenciais benefícios de sua aplicação sejam plenamente apreciados.

Com o objetivo de esclarecer essas controvérsias em relação à aplicação da CF em microanastomoses vasculares, e de demonstrar objetivamente seus benefícios num ambiente que simule a prática clínica, nos sentimos motivados a realizar este estudo.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

Bergel (1909) (apud. Matras, 1985) utiliza, pela primeira vez, um adesivo biológico na forma de pó de fibrina para hemostasia e cicatrização de ferimentos. O autor recomenda o emprego de fibrina esterilizada e liofilizada em procedimentos cirúrgicos.

Young e Medawar (1940) conduzem um estudo experimental em coelhos, onde o nervo ciático (porção tibial) é seccionado bilateralmente ao nível da coxa. Num dos lados, é realizada uma sutura epineural externa com dois pontos. No outro lado, os cotos nervosos são coaptados e colados com um concentrado de plasma de galinha, sem utilização de pontos de sutura. Comparando os dois métodos, os autores observam que nos nervos colados, as fibras regeneradas atravessam as junções de maneira mais organizada em relação aos nervos suturados e, ainda, o período de latência tende a ser mais curto. A taxa de regeneração das fibras nervosas é semelhante nos dois métodos.

Em 1960, Jacobson e Suarez utilizam, pela primeira vez, o termo microcirurgia, durante uma apresentação sobre anastomose experimental em vasos de 1 a 2 mm no Colégio Americano de Cirurgiões.

Em 1977, uma manobra técnica é descrita por Harashina com o objetivo de minimizar as chances de inclusão inadvertida da parede oposta do vaso durante o processo de microanastomose vascular. Esta manobra consiste em deixar o penúltimo ponto de sutura de cada parede do vaso sem amarrar. Desta maneira, a melhor visualização da luz do vaso facilita a passagem do último ponto, diminuindo assim, as chances de sutura na parede oposta. Após a passagem do último ponto, os dois pontos são amarrados.

Matras et al. (1977) utilizam, pela primeira vez, a CF em microanastomoses vasculares. As anastomoses são realizadas com sucesso nas artérias carótidas de ratos, utilizando apenas dois pontos de sutura e CF. Observam uma ótima coaptação dos cotos vasculares, sem sinais de necrose ou fibrose exuberante no exame anatomopatológico das anastomoses, após três semanas de pós-operatório.

Pearl et al. (1977) utilizam um modelo experimental de transplante microcirúrgico de retalhos inguinais em ratos para testar a aplicação da CF em microanastomoses vasculares. Os retalhos são nutridos pelos ramos epigástricos inferiores dos vasos femorais. Após sua completa elevação e ligadura do pedículo vascular os retalhos são reposicionados no local de origem e as microanastomoses vasculares são realizadas entre os mesmos vasos previamente seccionados. No grupo controle as anastomoses são realizadas com sutura contínua (12-16 passagens), enquanto que no grupo

da cola, as anastomoses são realizadas com quatro pontos de sutura e aplicação de CF. A taxa de sobrevivência dos retalhos é semelhante nos dois grupos, entretanto o tempo de anastomose é significativamente menor no grupo onde é utilizada CF (19,7 contra 46,9 min). Em outro estudo paralelo, a utilização da CF reduz significativamente a morbidade e a mortalidade em ratos heparinizados submetidos a microanastomoses vasculares.

Albertengo et al. (1981) comparam a taxa de sobrevivência de retalhos livres após microanastomoses arteriais T-T e T-L. Para este fim, utilizam um modelo experimental em ratos onde um retalho inguinal, pediculado nos vasos femorais, é transferido para a região cervical anterior. A circulação do retalho é restabelecida através de microanastomoses vasculares entre as artérias femoral e carótida, e entre as veias femoral e jugular interna. Não observam diferença significativa na taxa de sobrevivência dos retalhos entre as duas técnicas de anastomose.

O processo de reparação normal das microanastomoses vasculares é estudado por Lindman e Daniel em 1981. Os autores realizam 10 anastomoses arteriais e 10 anastomoses venosas em vasos femorais de coelhos, utilizando a técnica de sutura convencional. Constatam que o endotélio está completamente regenerado entre sete a 10 dias. A necrose da túnica média ocorre principalmente na região dos nós de sutura, sendo que o tecido necrótico é substituído por uma proliferação miointimal (hiperplasia subintimal) ao longo dos 10 primeiros dias, mantendo a espessura original

da parede das artérias. A resposta inflamatória na túnica adventícia é mais intensa ao redor do 10º dia (reação granulomatosa do tipo corpo estranho). Após 30 dias, o processo inflamatório agudo desaparece progressivamente sendo substituído por um processo inflamatório crônico discreto.

Karl et al. (1981) realizam anastomoses arteriais e venosas nos vasos femorais de ratos, utilizando a técnica de intussuscepção associada à CF. Concluem que a técnica empregada apresenta como desvantagem a redução do diâmetro da luz do vaso. Entretanto, os autores sugerem que mais estudos sejam realizados para avaliação da CF na prática clínica.

Brunner (1984) compara os achados histológicos entre duas técnicas de anastomose em aortas de ratos. Num dos grupos é utilizada a técnica de telescopagem com aplicação de CF e no outro, é utilizada a técnica de sutura convencional. Até a terceira semana de pós-operatório, linfócitos e granulócitos eosinofílicos são observados na túnica adventícia, participando no processo de redução da CF. Após três semanas, esse processo inflamatório diminuiu e as anastomoses estão cicatrizadas. O autor conclui que o processo de reparação parece ser mais rápido com a utilização da CF.

Daniel e Olding (1984) apresentam um acoplador vascular de Vicryl (Ethicon®) absorvível composto de três partes, dois pinos e um colar de conexão. Os cotos dos vasos a serem anastomosados são evertidos sobre

os pinos e interconectados com o colar. Realizam 200 anastomoses em artéria carótida e veia facial de coelhos utilizando acopladores de 1,5 mm. Obtêm um índice de permeabilidade geral de 94% com tempo médio de anastomose de cinco minutos. Concluem que o método é eficiente e rápido, porém tem capacidade limitada para acomodar discrepâncias de calibre entre os vasos, provoca encurtamento dos vasos de 2 a 5 mm e exige um auxiliar bem treinado.

Baffoni et al. (1985) realizam um estudo experimental, em ratos, utilizando a CF em microanastomoses vasculares de vasos femorais. As anastomoses são realizadas nas artérias e veias, com três e quatro pontos de sutura, respectivamente. A permeabilidade obtida nas artérias após 20 dias é de 100% (20/20), enquanto que nas veias é de 80% (8/10), após 10 dias. Concluem que a CF reduz notavelmente o tempo de anastomose e a intensidade do trauma na parede vascular, favorecendo uma reparação vascular mais rápida.

Em 1985, Matras publica uma revisão sobre a CF, seu mecanismo de ação e suas possíveis aplicações clínicas. Observa que os avanços na pesquisa básica possibilitam a produção de plasma em altas concentrações e o isolamento dos fatores de coagulação na sua forma pura, com conseqüente melhora da CF. A autora conclui que:

- As lesões esplênicas e a obtenção de hemostasia em ferimentos de pacientes hemofílicos são indicações absolutas para o emprego da CF
- As indicações relativas são inúmeras, tais como nas neurorrafias, microanastomoses vasculares, fixação de enxertos de pele, hemostasia em ferimentos dos mais diversos tecidos, vedação de próteses vasculares e dura-máter, etc
- As desvantagens da CF estão relacionadas ao risco teórico de transmissão viral e ao custo financeiro
- Os resultados contraditórios obtidos em estudos experimentais, com o emprego da CF, são decorrentes de metodologias inadequadas, pois a concentração dos componentes das colas tem um impacto crucial nos resultados;
- Existe um enorme campo para o desenvolvimento de estudos experimentais e clínicos relacionados à CF, entretanto, está claro que a união de tecidos através de métodos biológicos já conquistou seu espaço, em muitas especialidades cirúrgicas.

Sugiura et al. (1985) demonstram um novo método de anastomose arterial para casos em que a interposição de enxertos de veias seja necessária. Realizam 45 anastomoses de artéria carótida, com interposição de enxertos de veia jugular externa, em ratos. Na anastomose proximal utilizam a técnica de intussuscepção com dois pontos de sutura e, na distal, utilizam apenas quatro pontos de sutura. Em ambas, a CF é aplicada. Obtém

um índice de permeabilidade de 97% após três semanas, com tempo médio de anastomose de 26 minutos. Concluem que a CF e a técnica de intussuscepção reduzem a quantidade de pontos necessários por anastomose e tornam o procedimento mais simples e rápido.

Aksik et al. (1986) realizam um estudo experimental em ratos, seguido por um estudo clínico em pacientes com patologias cérebro-vasculares, utilizando CF e esponja hemostática em anastomoses arteriais T-L. No estudo experimental, as anastomoses são executadas entre as artérias carótidas com quatro a seis pontos de sutura e aplicação de uma esponja hemostática e CF, em 41 coelhos e 26 ratos. O exame histológico, após duas semanas de pós-operatório, evidencia uma endotelização adequada das anastomoses com boa coaptação das paredes vasculares e processo inflamatório mínimo. No estudo clínico, 68 pacientes são submetidos a anastomoses T-L entre as artérias temporal superficial e cerebral média, utilizando a mesma técnica descrita nos experimentos. Observam um índice de permeabilidade de 97,2% durante as duas primeiras semanas de pós-operatório e de 88%, após três meses a um ano. Concluem que a técnica de anastomose testada é mais fisiológica que o método convencional de sutura.

Green et al. (1986) realizam microanastomoses em artéria femoral de ratos, com três pontos de sutura e cola de Histoacryl (butil-2-cianoacrilato). Ao exame histológico, observam reação inflamatória intensa ao redor da cola de Histoacryl no pós-operatório precoce. Após 10 semanas da cirurgia, os

vasos demonstram afilamento da parede com divisão da lâmina elástica. Alguns vasos apresentam dilatações aneurismáticas com calcificações distróficas na camada média. Os autores concluem que a cola de Histoacryl não deve ser utilizada em microanastomoses vasculares. Sugerem que, no futuro, a CF possa ser a resposta para o aperfeiçoamento da técnica de microanastomose vascular.

Hamm et al. (1986) estudam o impacto da aplicação da CF em microanastomoses T-L, entre a artéria e a veia femoral de ratos. Observam que as anastomoses realizadas com oito pontos e aplicação da CF são tão eficazes quanto às realizadas pelo método convencional de sutura com 12 a 14 pontos, em relação à taxa de permeabilidade. Entretanto, as anastomoses realizadas com quatro pontos e aplicação da CF apresentam altas taxas de trombose devido à infiltração da CF para dentro da luz dos vasos. Concluem que a técnica de sutura associada à CF pode ser de grande utilidade em situações especiais.

Sartorius et al. (1986) realizam anastomoses T-L entre as artérias carótidas de 20 ratos, com quatro pontos de sutura e laser CO<sub>2</sub>, obtendo permeabilidade de 100% após oito semanas. Os autores observam a presença de necrose coagulativa na camada média dos vasos, porém sem perda da continuidade da membrana elástica interna. Concluem que a anastomose T-L, com auxílio de laser CO<sub>2</sub>, é tecnicamente exeqüível e com potencial aplicabilidade clínica.

Casanova et al. (1987) utilizam a técnica de intussuscepção sem pontos de sutura, associada ao iso-propil-cianoacrilato, para a realização de 66 microanastomoses arteriais em ratos. Obtém um índice de permeabilidade de 95,4% após 90 dias. No exame histológico, o processo inflamatório reacional à presença do adesivo fica limitado à camada adventícia, não interferindo com a luz do vaso. Os autores concluem que o método testado é rápido, efetivo e simples, com resultados comparáveis a outras técnicas de microanastomoses mais difundidas.

Sagi et al (1987) realizam anastomoses em vasos femorais de ratos utilizando anéis de vicryl e CF. Os cotos vasculares são evertidos sobre os anéis e então aproximados. A CF é aplicada a seguir para manter a coaptação da anastomose. Nenhum ponto de sutura é utilizado. Os autores concluem que o método é ineficaz, pois a CF, isoladamente, não tem resistência suficiente para manter a anastomose.

Warter et al. (1987) estudam os efeitos da CF na histopatologia de vasos intactos e vasos submetidos à anastomose pela técnica convencional de sutura, porém com número reduzido de pontos. Utilizam artérias carótidas de coelhos no experimento. Observam que a qualidade de reparação da parede dos vasos submetidos à anastomose com CF é equivalente ao método convencional. Não observam nenhum aumento da trombogenicidade nos vasos onde a CF é aplicada. Os autores concluem que o método de

anastomose assistida pela CF reduz o tempo cirúrgico e as lesões nas paredes dos vasos provocadas pelos pontos de sutura.

Grubbs et al. (1988) comparam três técnicas diferentes de anastomose em artérias femorais de ratos com diâmetro médio de 1,0 mm. Os animais são divididos em três grupos: sutura convencional com oito a 10 pontos (I), sutura com três pontos assistida por laser (II) e sutura com três pontos assistida por laser e CF (III). Observam que a resistência da anastomose a vazamentos é superior nos grupos I e III. A frequência de aneurismas é semelhante nos grupos I e III, porém é significativamente maior no grupo II. O índice de permeabilidade é de 88%, 94% e 100% nos grupos I, II e III, respectivamente. Concluem que a CF tem um impacto positivo na anastomose assistida por laser, em todos os parâmetros avaliados.

Kamiji et al (1989) testam a utilização de um “stent” dissolvível, composto por polietilenoglicol 4000 (PEG-4000) associado à CF. Realizam 35 anastomoses arteriais e 10 venosas, em vasos femorais de ratos, utilizando dois pontos de sutura para facilitar a introdução do “stent” e melhorar a coaptação dos cotos vasculares. Em 15 das anastomoses arteriais são utilizados enxertos de interposição. Não há nenhum caso de trombose após uma semana de pós-operatório. Concluem que o método testado é rápido e de fácil execução, podendo ser empregado até mesmo em vasos de 0,5 mm ou menos.

Nylander et al. (1989) realizam quatro casos de reimplante (três dedos e uma mão), com sucesso, utilizando o Unilink<sup>®</sup> (3M) para as anastomoses vasculares. O Unilink<sup>®</sup> consiste num aparelho de acoplamento de encaixe tipo pino-anel, onde as bordas dos vasos são evertidas sobre os pinos. Observam permeabilidade presente nas anastomoses após 12 a 26 meses de seguimento. Ressaltam que com treinamento moderado é possível completar uma anastomose em menos que três minutos.

Ragnarsson et al. (1989) realizam um estudo experimental em coelhos para testar a utilização do Unilink<sup>®</sup> em anastomoses T-L entre a artéria renal e aorta. Apesar dos bons resultados em relação à taxa de permeabilidade e ao tempo de anastomose, a necessidade de dilatação prévia da aorta com um balão de angioplastia ocasiona alterações significativas na parede dos vasos.

Middleton et al (1991) realizam anastomoses em artéria femoral de ratos utilizando quatro pontos de sutura e cola de Histoacryl (butil-2-cianoacrilato), obtendo resultados equivalentes à técnica convencional. As anastomoses são realizadas em menos tempo e com menor sangramento. As potenciais desvantagens, como a histotoxicidade e a distorção das paredes dos vasos, parecem estar relacionadas com a espessura dos vasos e com a quantidade de cola aplicada.

A resistência mecânica da CF é estudada por Flahiff et al. (1992), através de um modelo experimental em aorta de suínos. São utilizadas duas colas contendo diferentes concentrações de fibrinogênio e três métodos diferentes de anastomose. Testes de resistência à tensão e à pressão intravascular são realizados em todas as amostras. Constatam que a CF com alta concentração de fibrinogênio é mais resistente que a cola com baixa concentração, porém a diferença não é estatisticamente significativa. Períodos de incubação mais prolongados da CF, 45 minutos ao invés de cinco minutos, não resultam em aumento da resistência mecânica. O método de anastomose convencional é superior (dobro da resistência à pressão) em relação aos métodos de anastomose que utilizam apenas a CF. Os autores concluem que a combinação do método de sutura convencional associado à aplicação da CF promoveria uma anastomose mais rápida e simples, com menor número de pontos e com resistência adequada.

Isogai et al. (1992) avaliam o impacto da utilização da CF na redução do sangramento anastomótico em artérias femorais de ratos normotensos e hipertensos. No grupo de ratos normotensos, concluem que a CF permite uma anastomose satisfatória, com menos pontos de sutura e menor sangramento. No grupo de ratos hipertensos, observam que a CF é extremamente eficaz na prevenção do sangramento anastomótico, mesmo em níveis pressóricos muito elevados.

Ahn et al. (1994) realizam 100 retalhos microcirúrgicos utilizando o aparelho de acoplamento da 3M<sup>®</sup>. Obtém um índice de permeabilidade de 98,4%, nas 123 anastomoses (24 artérias e 99 veias) realizadas com o aparelho. Em nove anastomoses (cinco artérias e quatro veias), o aparelho da 3M<sup>®</sup> não é empregado com sucesso, devido à espessura aumentada da parede dos vasos e à discrepância de calibre entre os vasos, sendo substituído pela técnica de sutura convencional. O tempo médio de anastomose é de quatro minutos. Concluem que o método é ideal para anastomoses T-T de artérias e veias com paredes finas e de calibre equivalente. A técnica exige treinamento prévio, mesmo para os microcirurgiões mais experientes e não é aplicável em anastomoses T-L.

Moskovitz et al (1994) combinam a utilização de “stents” dissolvíveis (mistura de glicerídeos) com a aplicação da CF em anastomoses de artérias epigástricas de ratos. Não é utilizado nenhum ponto de sutura para suporte. No grupo controle, são realizadas anastomoses convencionais com quatro a cinco pontos de nylon 11-0. A permeabilidade imediata (duas horas) do grupo experimental é de 100%, caindo progressivamente para 91%, 74%, 62% e 23% após 24 horas, sete dias, 14 dias e 30 dias, respectivamente. Isto ocorre devido à formação de aneurismas que aumentam de tamanho no decorrer do pós-operatório. No grupo controle, a permeabilidade imediata é de 86%, caindo progressivamente para 55% e 45% após 24 horas e sete dias, respectivamente. A permeabilidade se mantém em 45% até os 30 dias. Os autores explicam que a alta taxa de aneurismas no grupo experimental

ocorre, pois a CF não é capaz de manter sua resistência por tempo suficiente, até a cicatrização da parede do vaso. Há uma redução no tempo de anastomose de 28 para 18 minutos no grupo experimental.

Saitoh e Nakatsuchi (1995 e 1996) realizam 35 anastomoses de artéria femoral com interposição de enxertos de veia epigástrica inferior em ratos. Utilizam a técnica de intussuscepção com quatro pontos de sutura, associada à aplicação da CF, tanto nas anastomoses proximais, quanto nas distais. Todas as anastomoses mantêm-se permeáveis após três meses. No exame histopatológico, observam um índice médio de estenose de 34% e 13% nas anastomoses proximais e distais, respectivamente, causada pelos vasos invaginados. Não encontram nenhum resquício da CF, após este período. Concluem que a CF aumenta significativamente o índice de permeabilidade das anastomoses realizadas pelo método de intussuscepção com interposição de enxertos de veia.

Isogai et al. (1996) relatam sua experiência com a utilização da CF em 36 reimplantes de dedos, num período de quatro anos. As anastomoses arteriais e venosas são realizadas com quatro a seis pontos de sutura e aplicação da CF, dependendo do nível de amputação. Trinta e dois dedos sobrevivem e o tempo médio de cirurgia é de 3,2 horas por dedo reimplantado. Os autores comparam retrospectivamente esses dados com os reimplantes realizados pelo método convencional de sutura, onde são dados seis a 10 pontos de sutura por vaso e o tempo médio de cirurgia é de

4,5 horas por dedo reimplantado. Concluem que a CF pode ser utilizada de maneira segura e eficaz para reduzir o tempo de cirurgia, nos reimplantes de extremidades.

Bowen et al. (1996) realizam 100 revascularizações de retalho inguinal em 50 coelhos. Num dos lados (controle), é utilizada a técnica convencional de anastomose. No outro lado, a anastomose é executada pela técnica de intussuscepção, com dois pontos de sutura e aplicação de CF. O tempo de anastomose é menor no grupo experimental e as anastomoses são realizadas com menor dificuldade. Não há diferença significativa em relação à permeabilidade das anastomoses ou à sobrevida dos retalhos entre os dois grupos. Os autores concluem que a técnica de anastomose com CF é tão eficiente quanto a técnica convencional, além de ser mais fácil e rápida.

Padubidri et al. (1996) comparam a técnica de anastomose T-L convencional com a técnica de sutura com CF, através da confecção de fístulas arteriovenosas em vasos femorais de ratos. Neste modelo experimental, a artéria é ligada distalmente e anastomosada na veia. A anastomose é realizada com apenas dois pontos de sutura e a CF é aplicada com auxílio de um micro-pincel. Os autores concluem que a técnica de anastomose T-L com CF é melhor, mais rápida e estável que a técnica convencional.

Dascombe et al. (1997) testam a hipótese de que a trombina presente na CF possa desencadear algum tipo de efeito pró-coagulante, quando aplicada sobre a superfície de vasos intactos ou anastomosados. Utilizam um modelo experimental com artérias de placentas humanas que são perfundidas com plaquetas radioativas. Dois tipos de CF são utilizados, uma delas contendo trombina bovina e a outra, batroxobina. A aplicação da cola contendo trombina resulta num aumento significativo da deposição plaquetária, tanto nos vasos intactos quanto nos vasos submetidos à anastomose. Através de marcação radioativa da trombina contida na CF, é sugerido que há passagem transmural da trombina para dentro da luz dos vasos intactos e anastomosados, na mesma proporção. Os autores levantam dúvidas sobre a segurança da aplicação das CF contendo trombina, em microanastomoses vasculares.

Han et al. (1998) realizam um estudo experimental e clínico com a aplicação da CF em microanastomoses vasculares. No modelo experimental, utilizam a artéria femoral de ratos. Comparam a anastomose convencional com oito pontos de sutura, com a realizada através de sutura mínima (quatro pontos) e aplicação da CF. Observam uma redução significativa no tempo de anastomose pela aplicação da CF (16 minutos), em relação ao método convencional (21 minutos). A permeabilidade imediata é de 100% em ambos métodos. A permeabilidade tardia é de 90% pelo método convencional e de 85% pelo método testado. No exame histológico, notam uma menor agressão à íntima e uma cicatrização mais adequada nas

anastomoses tratadas com CF. No estudo clínico, realizam 18 reimplantes de dedo e um retalho escapular microcirúrgico. Obtém 94,4% de sucesso nos reimplantes e o retalho evolui bem, sem qualquer intercorrência. Concluem que a técnica de sutura mínima com CF é confiável e altamente eficaz e recomendam sua utilização na prática clínica.

Marek et al (1998) avaliam a trombogenicidade da CF utilizando diferentes concentrações de trombina, em anastomoses de vasos epigástricos de ratos. Os piores resultados ocorrem nos grupos onde a trombina é utilizada em altas concentrações (1000 UI), principalmente quando utilizada isoladamente em anastomoses venosas. Concluem que a aplicação da CF, diretamente sobre microanastomoses vasculares, aumenta o índice de trombose e deve ser evitada.

Delacure et al. (1999) realizam 33 anastomoses venosas T-L em 27 pacientes submetidos a retalhos microcirúrgicos, utilizando um aparelho de acoplamento mecânico, obtendo 100% de sobrevida dos retalhos. Eles constatam que a utilização deste aparelho em anastomoses T-L é mais complexa em relação às anastomoses T-T e possui as mesmas limitações.

He et al. (1999) combinam a utilização de “stents” dissolvíveis (glicerídeos, diglicerídeos e triglicerídeos) com o laser de CO<sub>2</sub> para anastomoses em artérias femorais de ratos. Sessenta minutos após as anastomoses, todas as artérias estão permeáveis, tanto no grupo

experimental quanto no grupo controle (sutura convencional). Um marcador radioativo de hemáceas ( $^{51}\text{Cr}$ ) é injetado na artéria carótida dos ratos, imediatamente antes deles serem eutanasiados. O fluxo sanguíneo dos membros inferiores é avaliado através da medição de sua radioatividade, sendo equivalente entre os grupos. Os autores concluem que o emprego dos “stents”, torna a utilização do laser de  $\text{CO}_2$  mais seguro e rápido, com resultados semelhantes ao método convencional de sutura.

Drake et al. (2000) conduzem um estudo experimental para avaliar os efeitos de CF com diferentes concentrações de trombina, em microanastomoses venosas. Dividem os animais em quatro grupos: grupo I (técnica convencional de sutura), grupo II (sutura e CF com concentração de trombina de 1000 UI/ml), grupo III (sutura e CF com concentração de trombina de 500 UI/ml) e grupo IV (sutura e CF sem trombina). O modelo experimental utilizado é um retalho inguinal baseado na artéria epigástrica inferior e as anastomoses são realizadas nas veias femorais. Constatam que nos grupos III e IV a taxa de sobrevivência dos retalhos é semelhante ao grupo controle (I), ao contrário do grupo II, onde a taxa é significativamente inferior. Concluem que a utilização correta da CF, com concentrações adequadas de trombina ou até mesmo sem trombina, pode simplificar a técnica de microanastomose vascular tornando-a mais rápida e menos traumática.

Hall et al. (2000) combinam a técnica de anastomose por intussuscepção (sem pontos de sutura) com a utilização de cola de 2-octil

cianoacrilato, nas artérias femorais de ratos. No exame histológico, observam endotelização dos vasos, com estreitamento da média e adventícia, na região de dupla parede. Os autores consideram que a presença de discrepâncias no calibre dos vasos a serem anastomosados, pode representar um problema na aplicação desta técnica. Sugerem que mais estudos sejam realizados para avaliação da aplicabilidade clínica desta técnica.

Koshima et al. (2000) descrevem uma nova técnica microcirúrgica de reconstrução mamária utilizando um retalho perfurante. As anastomoses vasculares são realizadas empregando-se a técnica de “supermicrocirurgia” (anastomose em vasos de 0,6 a 1,0 mm de diâmetro).

Lemaire et al (2000) combinam a utilização de “stents” dissolvíveis de polietilenoglicol 3350 com adesivo de Histoacryl (butil-2-cianoacrilato), em anastomose de artéria carótida e aorta de ratos. Observam uma redução significativa do tempo de anastomose com o emprego dos “stents” e do adesivo de Histoacryl, em relação ao grupo controle (técnica convencional de sutura). O índice de permeabilidade é semelhante entre os grupos. No anátomopatológico, os vasos mostram processo inflamatório granulomatoso na adventícia e necrose coagulativa da camada média, porém com manutenção da continuidade endotelial. A toxicidade tecidual do Hystoacryl é atribuída à dissipação de calor e liberação de formaldeído que ocorre durante a polimerização da cola. Concluem que o método empregado é

eficiente e rápido, porém a toxicidade tecidual do Hystoacryl deve ser melhor avaliada.

Lopez-Monjardin e Pena-Salcedo (2000) analisam as técnicas disponíveis para contornar o problema de discrepância de tamanho entre vasos submetidos a microanastomoses vasculares. Eles observam que para incompatibilidades maiores entre artérias, a anastomose T-L oferece uma melhor relação risco-benefício do que a anastomose T-T, preservando o fluxo distal da artéria doadora e minimizando o espasmo.

Zeebregts et al. (2000) comparam o método de sutura convencional com grampos vasculares não-penetrantes (“VCS clip applier system<sup>®</sup>”), em anastomoses arteriais de ratos. Obtém 100% de permeabilidade nos dois métodos, com histomorfometria mais favorável nos casos grampeados. Ressaltam que o método exige treinamento específico e tem uma curva de aprendizado.

Frost-Arner et al. (2001) comparam a trombogenicidade entre as diversas CF disponíveis no mercado e testam a utilização isolada da trombina e do fibrinogênio. Os autores realizam anastomoses venosas em retalhos inguinais de 90 ratos, pediculados nos vasos epigástricos inferiores, mantendo as artérias intactas. Em cada grupo (sete), uma cola diferente é aplicada sobre a anastomose e sobre a superfície do retalho, exceto no grupo controle (sem cola). O grupo controle e o grupo do “Hemaseel APR

[Immuno AG, Vienna, Austria]” obtém resultados superiores (100%), em relação à sobrevida dos retalhos. Os autores concluem que a utilização da trombina em altas concentrações (1000 UI/ml), ou isoladamente, está relacionada ao maior índice de trombose das anastomoses vasculares. Entretanto, observam que a seleção adequada da CF, isto é, com baixas concentrações de trombina (menor ou igual a 500 UI/ml) e associada ao fibrinogênio, não aumenta a incidência de trombose nas anastomoses. Concluem também, que a forma de aplicação da CF e suas propriedades mecânicas (viscosidade), têm um impacto significativo nos resultados.

Jackson (2001) realiza uma revisão geral sobre as CF: seu desenvolvimento, tipos de cola disponíveis e sua utilização na prática clínica. Recorda as modificações mais relevantes na composição das primeiras colas utilizadas, como a adição de fator XIII e aprotinina e a elevação na concentração do fibrinogênio, que contribuíram para seu aperfeiçoamento. As mudanças ocorridas em sua forma de obtenção e a introdução de métodos de inativação viral tornam sua utilização mais segura.

Spotnitz (2001) expõe detalhadamente o mecanismo de ação das CF e analisa os diferentes tipos de cola disponíveis no mercado. Constata que os preparados comerciais são seguros e apresentam algumas vantagens em relação à cola autóloga tais como, fácil preparação e aplicação, estabilidade e praticidade para armazenamento e transporte.

Reicher (2002) realiza um estudo experimental em ratos, onde a aorta e a cava são anastomosadas após secção limitada de suas paredes anteriores. O autor compara a sutura convencional com quatro pontos, com a sutura realizada com dois pontos e aplicação da CF. Concluí que os vasos suturados com auxílio da CF apresentam melhores resultados no exame histopatológico e no mapeamento dúplex, refletindo um menor grau de estenose e lesão da parede vascular.

Zeebregts et al. (2002) compara a técnica de sutura convencional com a utilização de clipes e aparelhos de acoplamento em microanastomoses vasculares numa série clínica de 216 retalhos livres. Não observam qualquer vantagem dos clipes sobre a sutura convencional nas anastomoses arteriais. Somente uma anastomose arterial é realizada utilizando o aparelho de acoplamento. No entanto, o tempo das anastomoses venosas é significativamente reduzido com a utilização dos clipes e do aparelho de acoplamento.

Kim et al. (2004) realizam um estudo experimental em cachorros, onde aplicam a cola de cianoacrilato (Hystoacryl<sup>®</sup>) em anastomoses vasculares da artéria radial e veia cefálica. Obtém bons resultados em relação à permeabilidade imediata e tardia com este método e salientam a importância de não aplicar a cola de cianoacrilato em excesso.

Cho e Mattar Júnior (2007) comparam microanastomoses arteriais realizadas através da técnica de sutura convencional com as realizadas através de sutura mínima e aplicação da CF em artéria carótida e femoral de ratos. Observam que a aplicação da CF reduz significativamente o número de pontos de sutura e o tempo necessário para se completar as anastomoses, além de reduzir o sangramento. Não constata aumento significativo da trombogenicidade ou da incidência de aneurismas nas anastomoses realizadas com a CF.

Gupta (2007) envia uma carta ao editor do periódico "Plastic and Reconstructive Surgery" criticando alguns aspectos do artigo publicado por Cho e Mattar Júnior em 2007. Ele questiona o fato da CF ter sido aplicada apenas em artérias. O autor relata que as anastomoses venosas são mais suscetíveis à trombose e tecnicamente mais difíceis de serem executadas. Estudos que demonstram o aumento da trombogenicidade e da incidência de aneurismas com o emprego da CF são citados. A capacidade de se aplicar a CF em campos cirúrgicos restritos também é questionada.

### **3. MÉTODOS**

Este estudo foi realizado no Centro de Experimentação e Treinamento em Cirurgia (CETEC) do Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE), em conjunto com o Serviço de Anatomia Patológica do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (IOT-HC-FMUSP), no período compreendido entre Outubro de 2006 a Julho de 2007, com a aprovação da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (protocolo número 916/05).

#### **3.1. Animais e Modelo Experimental**

Foram utilizados 27 coelhos machos adultos da linhagem Nova Zelândia com peso médio de 2912 g. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais no Biotério do CETEC do HIAE, sob condições controladas de luz e temperatura com livre demanda de ração e água.

O modelo experimental escolhido foi a transferência livre de um retalho inguinal para a região cervical anterior. O retalho era nutrido pelos vasos epigástricos inferiores, que por sua vez, eram ramos dos vasos femorais. A perfusão do retalho era restaurada através de uma microanastomose término-lateral (T-L) entre as artérias femoral e carótida. O

retorno venoso era restabelecido através de uma microanastomose término-terminal (T-T) entre as veias femoral e jugular.

### **3.2 Planejamento**

Inicialmente, foi realizado um estudo piloto com sete coelhos (quatro coelhos pela técnica de sutura convencional e três coelhos pela técnica de sutura com CF) para avaliação do modelo experimental, treinamento da técnica cirúrgica (curva de aprendizado) e também, para se estimar a quantidade do número de pontos de sutura necessários por anastomose, na sutura convencional e na sutura com cola. No estudo propriamente dito, operamos 20 coelhos que foram divididos em dois grupos (10 animais em cada grupo) de acordo com a técnica de sutura empregada: Grupo I (sutura convencional) e Grupo II (sutura com cola).

### **3.3 Instrumental**

No instrumental de microcirurgia utilizado constavam pinças, tesouras e porta-agulhas das marcas Assi<sup>®</sup> e Aesculap<sup>®</sup>, além de clampes duplos e simples da marca Aesculap<sup>®</sup>. Uma mini-régua graduada a cada 0,5 mm foi utilizada para mensuração do diâmetro externo dos vasos (Figura 1). O microscópio utilizado foi da marca D.F.Vasconcelos<sup>®</sup> com capacidade de aumento de até 29x. Para todas as microanastomoses, foram utilizados fios

de nylon 10-0 com agulha de 75 $\mu$  (W2850) da Ethicon<sup>®</sup>. A hemostasia intra-operatória foi realizada com um bisturi elétrico bipolar da marca Valleylab<sup>®</sup>.

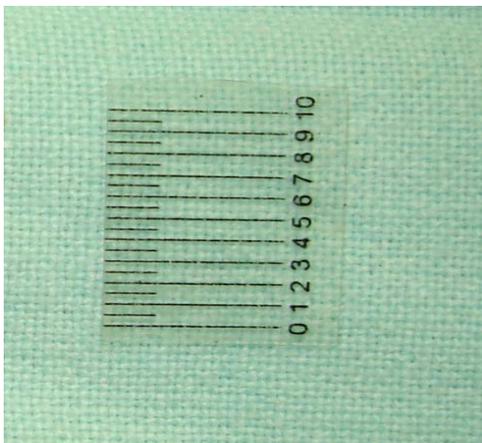


Figura 1. Mini-régua graduada a cada 0,5 milímetro.

### 3.4. Cola de Fibrina

A CF utilizada em todos os casos do Grupo II foi o Tissucol\*. Cada “kit” de 1,0 ml era formado por dois componentes: fibrinogênio (dois frascos com tampa azul) e trombina (dois frascos com tampa preta) (Figura 2). O frasco maior com tampa azul continha o fibrinogênio liofilizado (Tissucol\*) e o frasco menor com tampa azul continha a solução de aprotinina bovina (1,0 ml). O frasco maior com tampa preta correspondia à trombina liofilizada e o frasco menor com tampa preta correspondia à solução de cloreto de cálcio (1,0 ml). Após sua reconstituição, o componente azul continha: 70-110 mg de fibrinogênio, 2-9 mg de fibronectina, 10-50 UI<sup>2</sup> de fator XIII, 40-120  $\mu$ g de plasminogênio e 3000 KIU/ml<sup>3</sup> de aprotinina (bovina). O componente preto continha: 500 UI<sup>4</sup> de trombina e 40 mmol de cloreto de cálcio/l.

---

\* Baxter [Immuno AG, Vienna, Austria]

Os dois componentes foram preparados conforme as instruções do fabricante, com o auxílio do “kit” de preparação e do Fibrinotherm\*. Em primeiro lugar, os frascos eram pré-aquecidos a 37 °C. A seguir, as soluções contidas nos frascos menores eram aspiradas e injetadas nos frascos maiores correspondentes para a reconstituição dos dois componentes. A última etapa do preparo da CF consistia na homogeneização de seus componentes. Enquanto a trombina era homogeneizada quase que espontaneamente, o fibrinogênio era homogeneizado no agitador do Fibrinotherm\* a fim de evitar a formação de bolhas. Todo este processo levava cerca de 10 a 15 min.



Figura 2. Forma de apresentação dos dois componentes da cola de fibrina. Os frascos com tampa azul correspondem ao fibrinogênio e os frascos com tampa preta à trombina.

---

\* Baxter [Immuno AG, Vienna, Austria]

Os dois componentes eram então aspirados em suas respectivas seringas e acoplados no sistema Duploject\* (Figura 3). Este sistema permitia a aplicação e mistura simultânea dos dois componentes, tornando a cola mais homogênea, resistente e de polimerização praticamente instantânea. Logo após sua aplicação, a cola apresentava-se como um líquido viscoso e transparente. Ao longo de 2 a 3 min, sua viscosidade ia aumentando progressivamente até que se solidificava, assumindo uma coloração esbranquiçada e opaca. A cola atingia sua resistência máxima em 2 h (70% em cerca de 10 min), após sua aplicação, segundo informações técnicas do fabricante.



Figura 3. Seringas acopladas no sistema Duploject\* para aplicação e mistura simultânea dos dois componentes da cola.

---

\* Baxter [Immuno AG, Vienna, Austria]

### **3.5 Operação**

#### **3.5.1. Anestesia e Preparo**

Inicialmente, os animais foram pré-anestesiados com uma injeção intramuscular contendo acepromazina (1,0 ml), quetamina (0,6 ml) e xilazina (0,6 ml). A seguir, a tricotomia foi realizada na região inguinal direita, parte interna da coxa direita e região cervical anterior. As áreas de implantação dos eletrodos para monitorização cardíaca também foram tricotomizadas. Uma máscara confeccionada com um recipiente de soro fisiológico cortado ao meio e vedado com uma luva de látex foi utilizada para a anestesia inalatória e ventilação mecânica dos animais. A máscara envolvia toda a via aérea do animal incluindo a região submandibular. Os animais eram posicionados em decúbito dorsal horizontal com discreta hiperextensão do pescoço e tração caudal das patas dianteiras a fim de facilitar o acesso à região cervical anterior. Os membros inferiores eram mantidos em abdução espontânea (Figura 4). A anestesia inalatória (isoflurane) foi conduzida pela veterinária. Os animais eram monitorizados através de um oxímetro (posicionado na orelha esquerda) e eletrodos cardíacos.



Figura 4. Posicionamento do animal para a cirurgia.

Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados sob condições rigorosas de anti-sepsia. As regiões a serem operadas eram escovadas e pintadas com solução de iodo-povidine a 10%. Todo instrumental utilizado era esterilizado em autoclave.

### 3.5.2 Procedimento Cirúrgico

Um retalho de 5,0 x 2,5 cm era desenhado na região inguinal direita, com seu maior eixo centrado ao longo da prega inguinal (projeção do ligamento inguinal) (Figura 5). A pele de toda circunferência do retalho era incisada até o plano subcutâneo. A dissecação do retalho iniciava-se pela sua margem proximal que era dissecada até a fáscia muscular subjacente. O subcutâneo era suturado à pele com dois pontos de nylon 5-0 para evitar seu descolamento. Nesta etapa, o pedículo vascular do retalho, formado pelos vasos epigástricos inferiores, já podia ser visualizado (Figura 6).



Figura 5. Desenho do retalho na região inguinal direita. Prega inguinal representada pelo traçado azul.

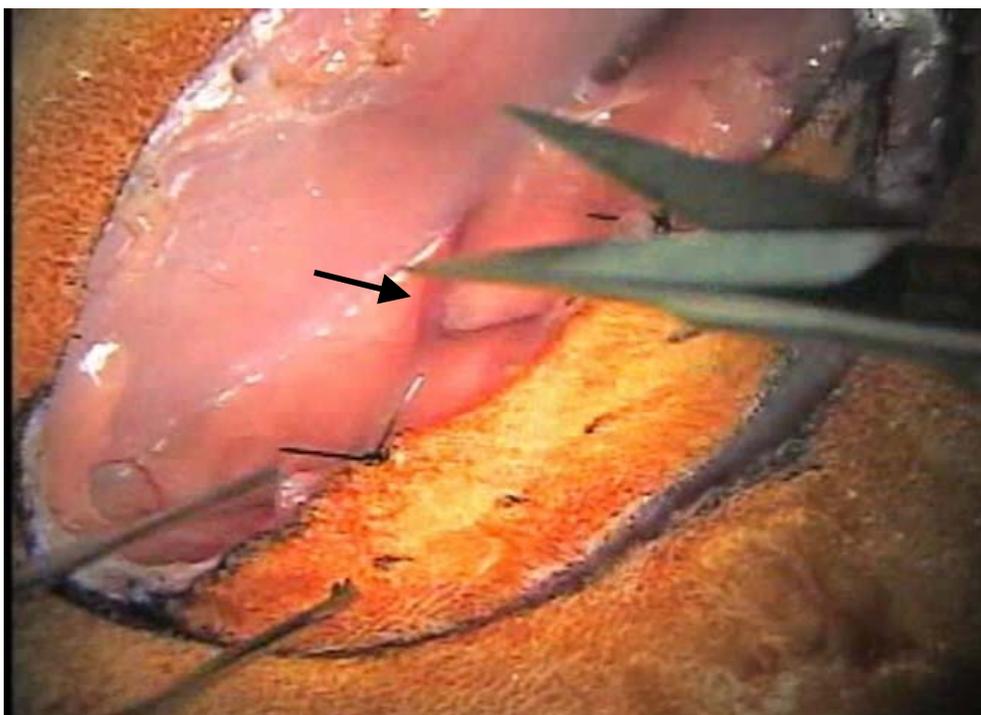


Figura 6. Visualização dos vasos epigástricos inferiores após dissecção da margem proximal do retalho. Seta: vasos epigástricos inferiores.

O procedimento era repetido na margem distal do retalho. O retalho era então elevado de lateral para medial com cuidado para não lesar o pedículo. Com o retalho completamente solto, conectado apenas pelo seu pedículo

vascular, um afastador auto-estático era posicionado de maneira a facilitar o acesso aos vasos femorais. O delgado músculo que recobria o feixe femoral era divulsionado longitudinalmente. O nervo femoral era cuidadosamente separado e afastado para lateral. Os vasos femorais eram então dissecados desde o ligamento inguinal, até cerca de 0,5 cm distal à emergência dos vasos epigástricos inferiores onde eram ligados (Figura 7). Proximalmente, a veia e artéria femoral eram separadas entre si (Figura 8). Os vasos eram irrigados com solução de lidocaína a 2% para reduzir o espasmo e o retalho era reposicionado em seu leito e coberto com uma gaze umedecida em soro fisiológico 0,9%.

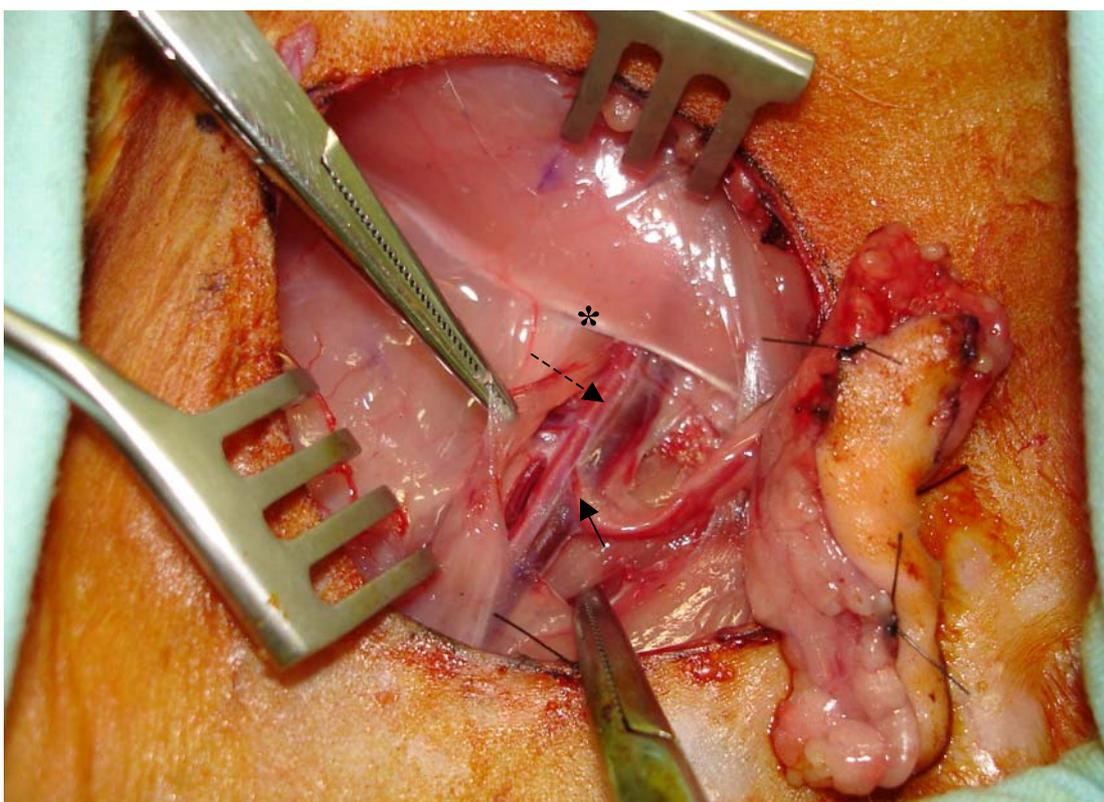


Figura 7. Dissecção dos vasos femorais desde o ligamento inguinal até cerca de 0,5 cm distal à emergência dos vasos epigástricos inferiores. (\*): ligamento inguinal; seta descontinua: vasos femorais; seta contínua: vasos epigástricos inferiores.

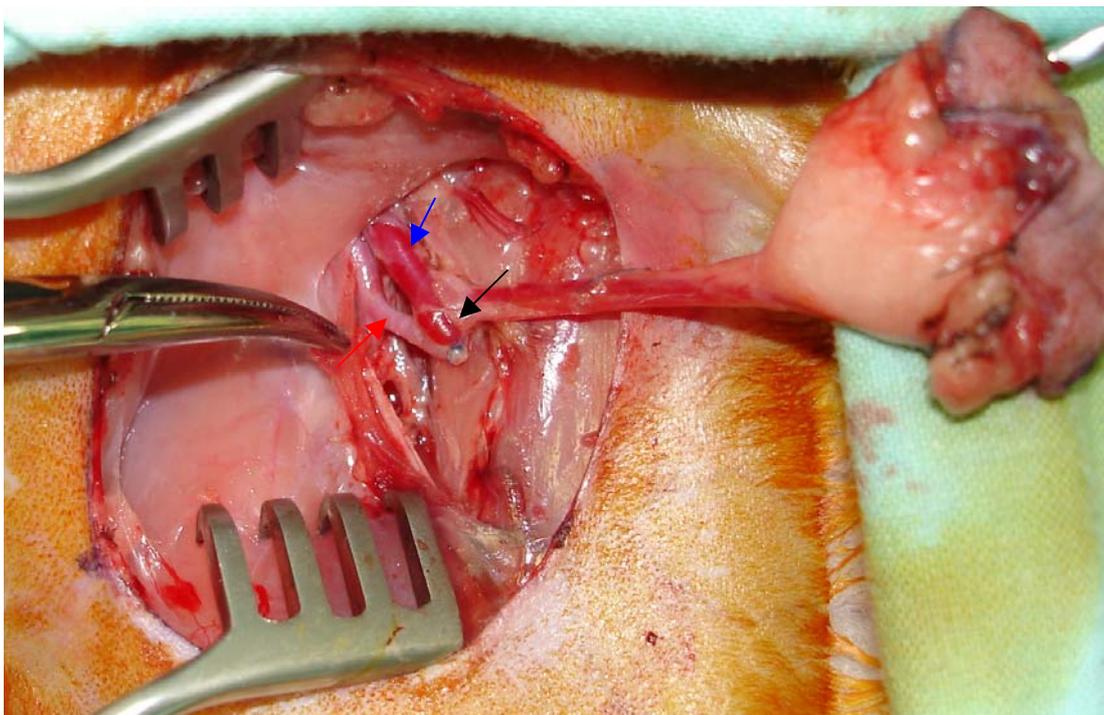


Figura 8. Ligadura dos vasos femorais distalmente à emergência dos vasos epigástricos inferiores. Proximalmente, a veia e artéria femoral eram separadas entre si. Seta vermelha: artéria femoral; seta azul: veia femoral; seta preta: emergência dos vasos epigástricos inferiores.

A exploração da área receptora, na região cervical anterior, foi realizada através de uma incisão longitudinal mediana de aproximadamente 4 cm, estendendo-se desde cartilagem tireóidea até o esterno, abrangendo a pele e o músculo platisma. O tecido subcutâneo foi descolado da pele para identificação e dissecação da veia jugular externa direita e seus dois ramos principais (Figura 9).



Figura 9. Dissecção da veia jugular externa e seus dois ramos principais.

Estes ramos foram ligados distalmente e o tecido subcutâneo foi ressecado, expondo os músculos esterno-hióideo e omo-hióideo (Figura 10). O feixe neurovascular, formado pela artéria carótida comum e o nervo vago direito, situava-se entre esses dois músculos. O músculo esterno-hióideo foi ressecado para facilitar a exposição e dissecção da artéria carótida.



Figura 10. Exposição da artéria carótida pela elevação e afastamento medial do músculo omo-hióideo. O músculo esterno-hióideo foi ressecado para facilitar a exposição.

O músculo omo-hióideo foi afastado medialmente através de dois pontos de sutura entre o músculo e o campo cirúrgico. A artéria foi liberada do tecido conectivo que a unia ao nervo vago por uma extensão de aproximadamente 2,5 cm. Um anteparo de borracha era posicionado sob a artéria para facilitar a anastomose e a artéria era irrigada com solução de lidocaína a 2% (Figura 11). O microscópio era ligado e posicionado na área receptora.

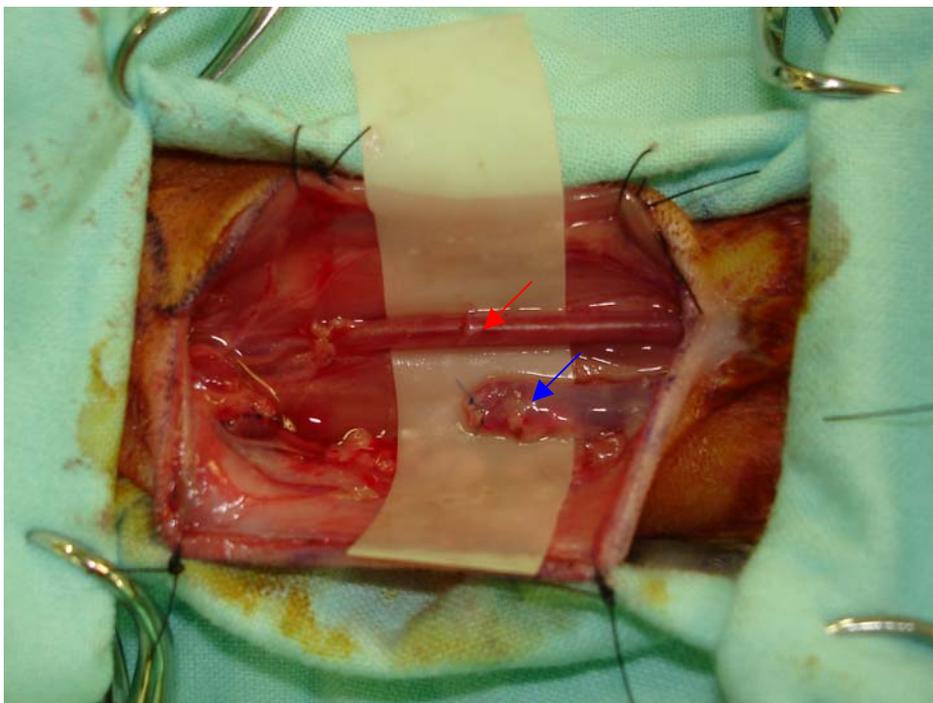


Figura 11. Colocação do anteparo de borracha sob a artéria carótida. Podemos observar também a veia jugular externa completamente dissecada com seus dois ramos distais ligados. Seta vermelha: artéria carótida; seta azul: veia jugular externa.

A perfusão do retalho inguinal era sempre checada previamente a ligadura de seu pedículo. A artéria e veia femoral eram ligadas separadamente e seccionadas com tesoura microcirúrgica (Figura 12).

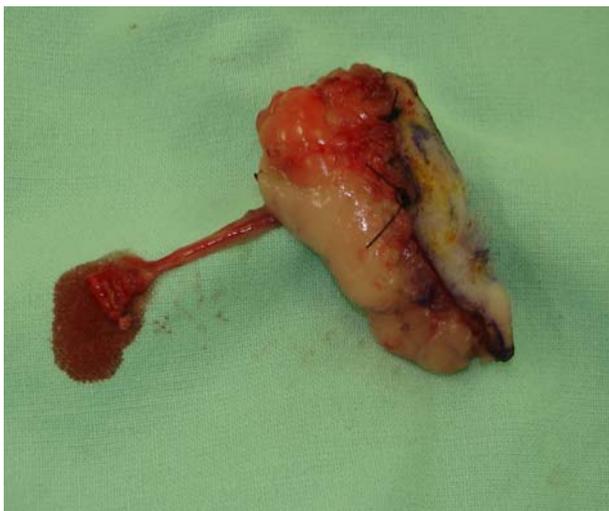


Figura 12. Retalho inguinal pronto para sua transferência, após ligadura proximal do seu pedículo vascular.

O retalho era transferido para região cervical anterior, com seu pedículo posicionado de modo a permitir a execução das anastomoses sem tensão. Sob visão do microscópio, a adventícia dos cotos vasculares era removida e a artéria e veia femoral eram separadas entre si. Após cuidadosa dilatação e irrigação intra-luminal dos vasos com heparina sódica (5000 UI/ml), o local da arteriotomia na artéria carótida era escolhido e o excesso de adventícia era removido. O diâmetro externo da artéria carótida e do coto da artéria femoral eram mensurados com a mini-régua (Figura 13).

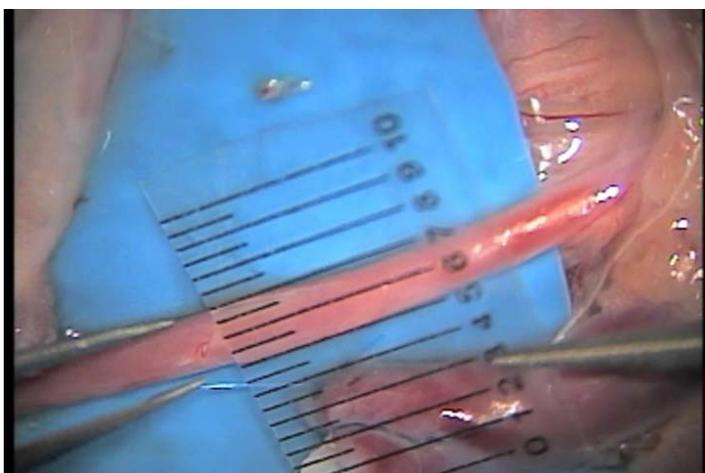


Figura 13. Mensuração do diâmetro externo da artéria carótida com a mini-régua.

Dois clampes simples eram aplicados na artéria carótida, com aproximadamente 2 cm de distância entre eles. A arteriotomia, em elipse, foi realizada de modo que seu tamanho fosse semelhante ao diâmetro externo da artéria femoral. O coto da artéria femoral era posicionado logo acima da arteriotomia da carótida formando um “T” invertido. A arteriotomia e o coto da artéria femoral eram irrigados novamente com heparina sódica (Figura 14).

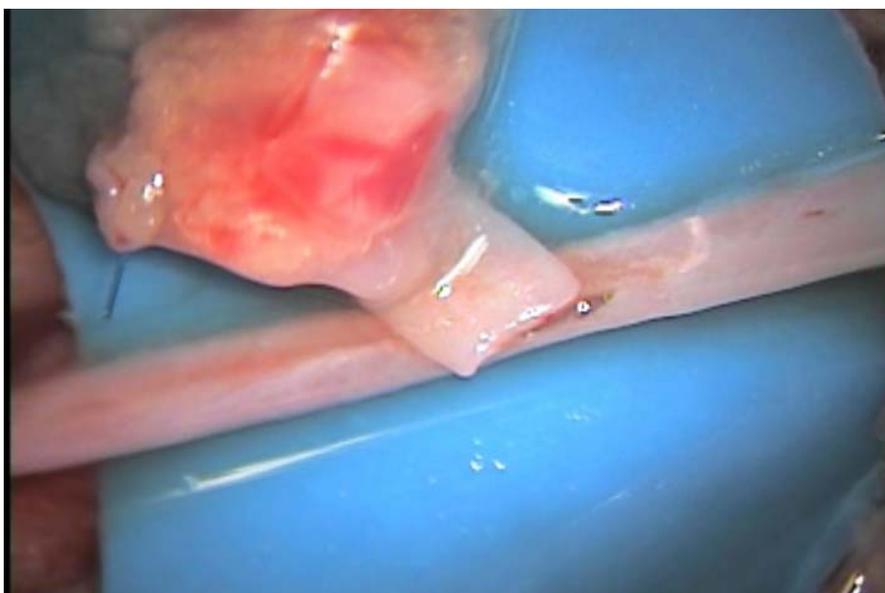


Figura 14. Arteriotomia da artéria carótida e posicionamento da artéria femoral para o início da anastomose término-lateral.

Os dois primeiros pontos de sutura (pontos de ancoragem) da anastomose T-L foram passados a 180° entre eles, isto é, se imaginarmos as marcações de um relógio o primeiro ponto era passado às 3 h e o segundo às 9 h (Figura 15). A anastomose da parede anterior era executada primeiramente. O retalho e seu pedículo eram então virados para baixo, facilitando a apresentação da parede posterior para a sua anastomose

(Figura 16). Após o término da anastomose, o retalho e seu pedículo retornavam a sua posição inicial.

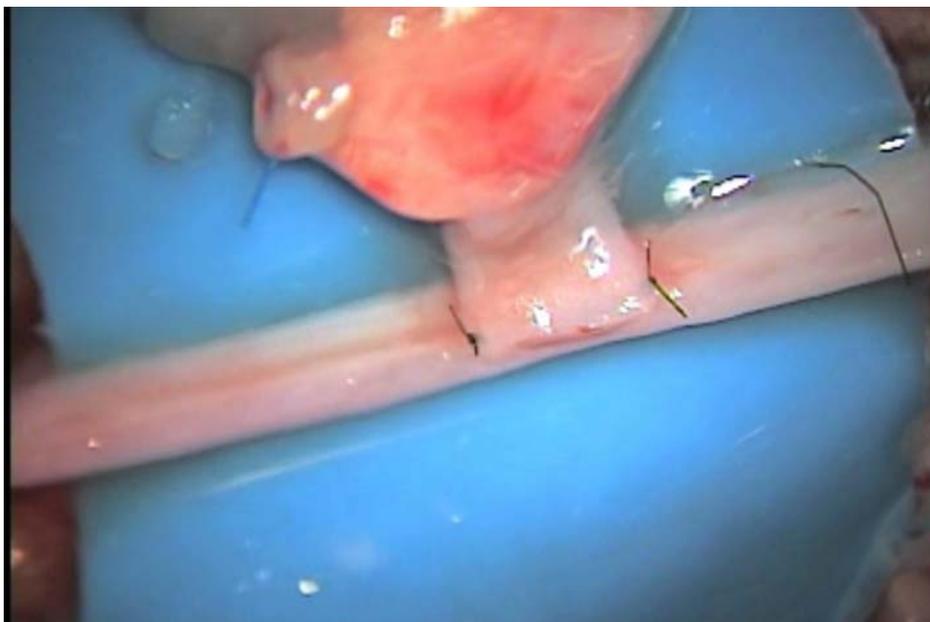


Figura 15. Os dois primeiros pontos de sutura (pontos de ancoragem) da anastomose término-lateral foram passados a 180° entre eles.

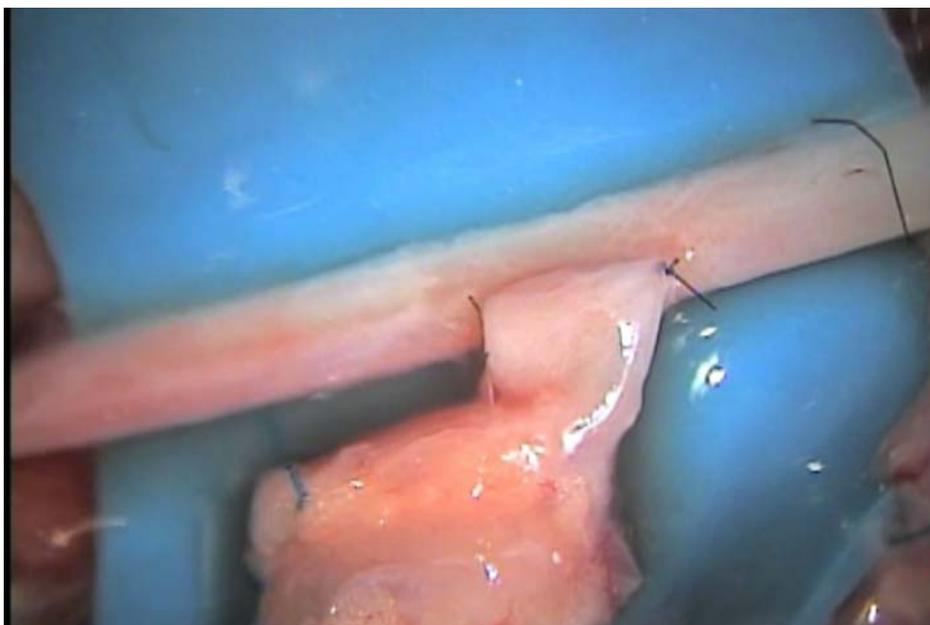


Figura 16. Apresentação da parede posterior da anastomose término-lateral facilitada pela virada do retalho e seu pedículo para baixo.

A seguir, os cotos venosos eram posicionados num clampe duplo, sob um anteparo de borracha, para execução da anastomose T-T (Figura 17).

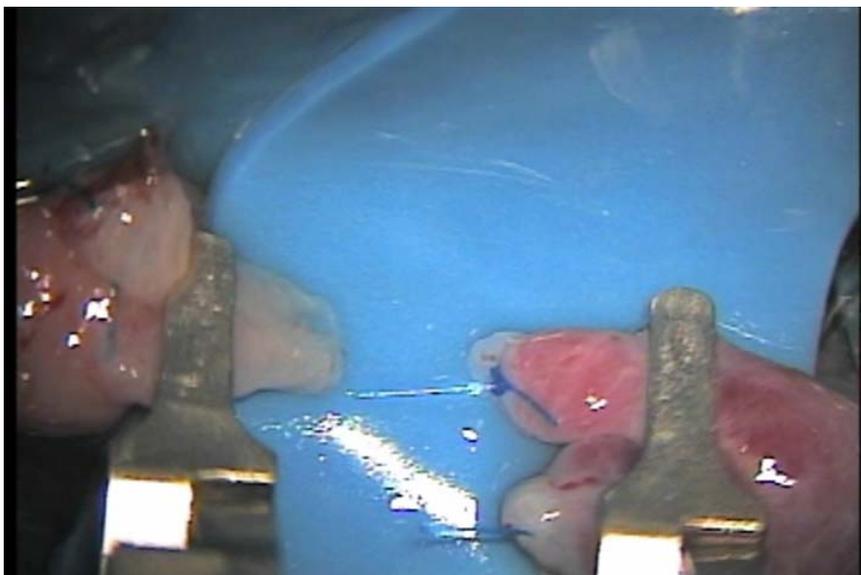


Figura 17. Colocação do clampe duplo na veia femoral (a esquerda) e no ramo medial da veia jugular externa (a direita) para execução da anastomose término-terminal.

Após dissecação da adventícia e irrigação intra-luminal dos vasos com heparina sódica, o diâmetro externo das veias eram mensuradas com a mini-régua (Figura 18). Os dois primeiros pontos de sutura (pontos de ancoragem) eram posicionados a  $120^\circ$  entre eles. O clampe era então virado e o terceiro ponto era passado na parede posterior entre os dois primeiros, totalizando três pontos a  $120^\circ$  entre si. A sutura da parede posterior era finalizada e o clampe retornava a sua posição inicial para sutura da parede anterior.



Figura 18. Mensuração do diâmetro externo do ramo medial da veia jugular externa.

No Grupo I (sutura convencional), as anastomoses foram realizadas com pontos separados, tendo variado entre nove e 12 pontos nas anastomoses arteriais, e entre 10 e 18 pontos nas anastomoses venosas (Figuras 19 e 20).

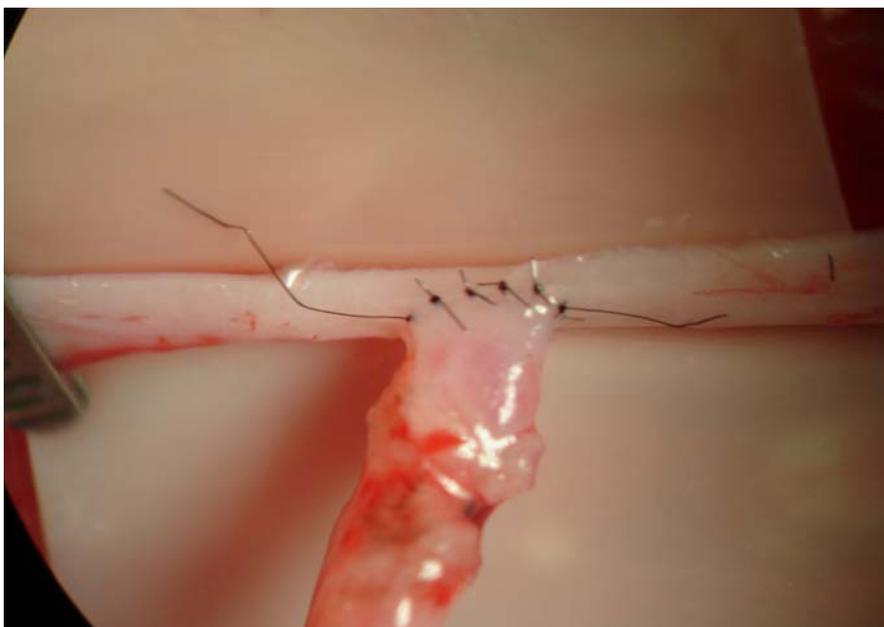


Figura 19. Anastomose arterial término-lateral no Grupo I.

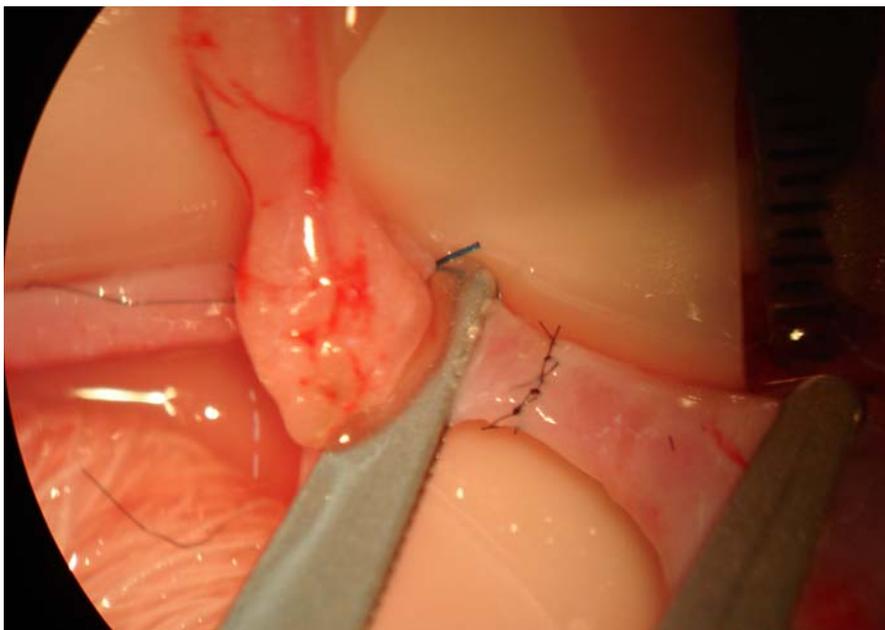


Figura 20. Anastomose venosa término-terminal no Grupo I.

Durante a execução das anastomoses arteriais, a manobra de Harashina (1977) foi utilizada com frequência para facilitar a passagem do último ponto de sutura na parede anterior e posterior (Figura 21). Após a conclusão de ambas as anastomoses, o clampe duplo era removido das veias, de proximal para distal. Em seguida, os clampes simples eram removidos da artéria carótida, de distal para proximal, restabelecendo a circulação no retalho (Figura 22).

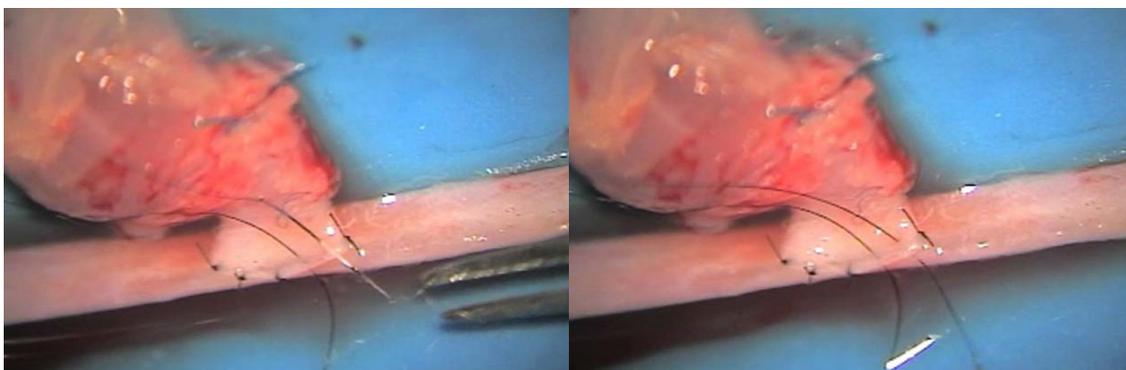


Figura 21. A manobra de Harashina: O penúltimo ponto de sutura não foi amarrado para facilitar a passagem do último ponto.

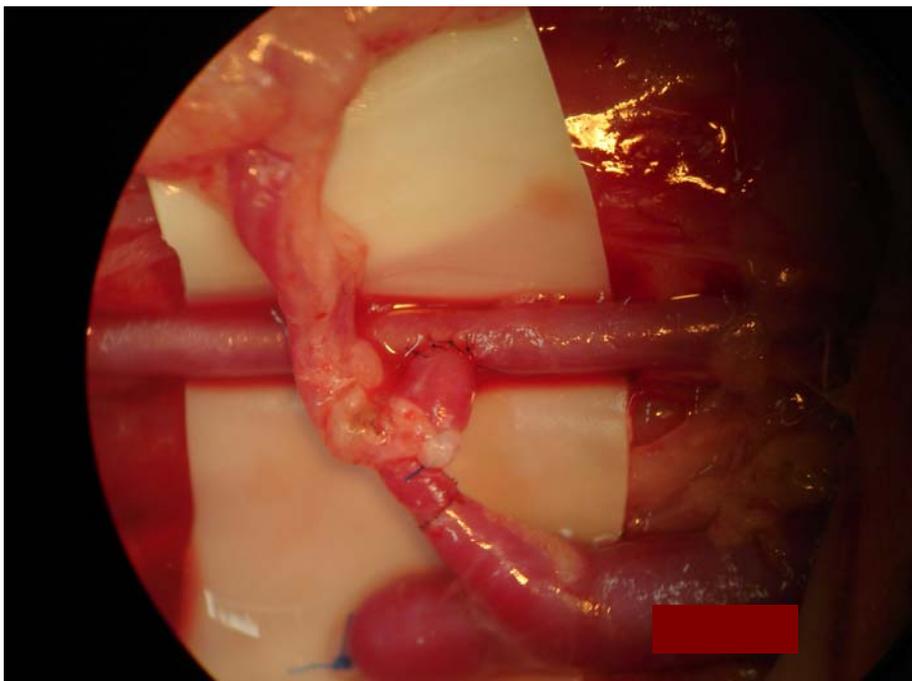


Figura 22. Restabelecimento da circulação do retalho após a conclusão das anastomoses no Grupo I.

No Grupo II (sutura com cola), as anastomoses foram realizadas com um número reduzido de pontos e aplicação da CF, tendo variado entre seis e sete pontos nas anastomoses arteriais, e entre seis e nove pontos nas anastomoses venosas. Todo o processo de dissecação e preparação dos cotos vasculares foram idênticos à técnica de sutura convencional, incluindo os dois pontos iniciais de ancoragem das anastomoses. Os demais pontos eram dados com um espaçamento maior entre eles e distribuídos da maneira mais uniforme possível pela circunferência das anastomoses (Figuras 23 e 24).

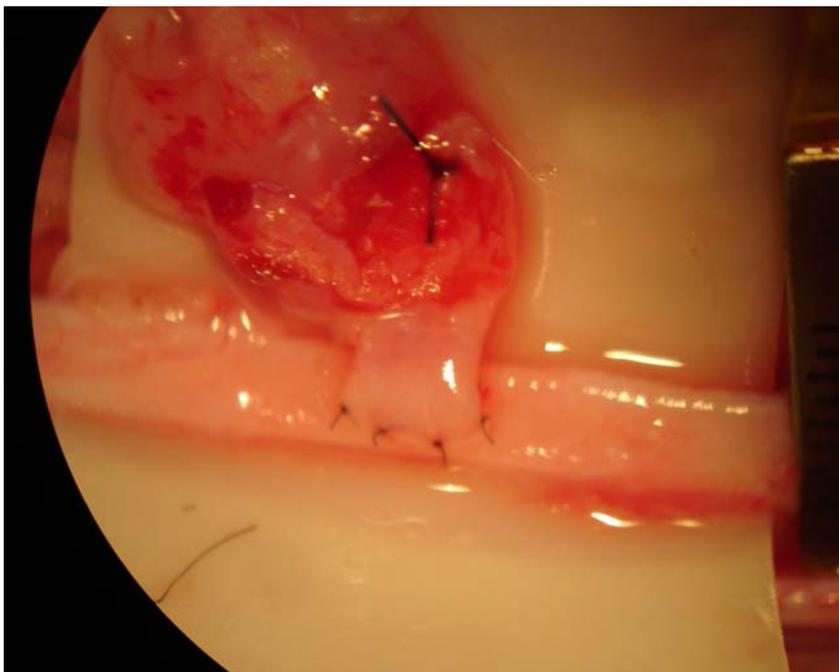


Figura 23. Anastomose arterial término-lateral no grupo II, antes da aplicação da cola. Podemos notar o maior espaçamento entre os pontos de sutura em relação ao grupo I.

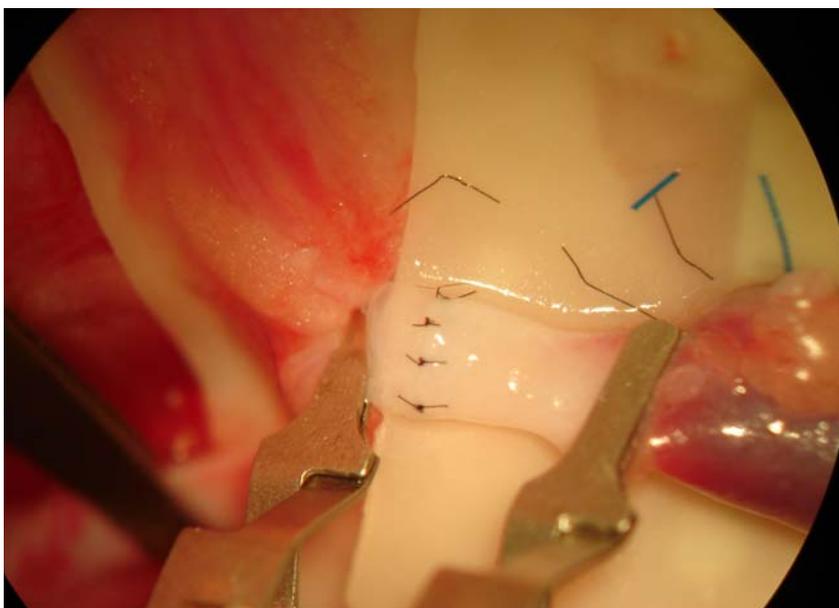


Figura 24. Anastomose venosa término-terminal no grupo II, antes da aplicação da cola. Novamente, podemos observar o maior espaçamento entre os pontos de sutura.

Na anastomose arterial, após o último ponto de sutura, a região sob o anteparo de borracha era seca com uma gaze. Aproximadamente 0,5 ml da mistura dos dois componentes da CF eram aplicados ao redor da

anastomose com o Duploject\*. Durante o período inicial de polimerização da cola (30 a 60 segundos), ela era manipulada de forma a concentrar-se em torno da anastomose com o auxílio de pinças microcirúrgicas (Figura 25).

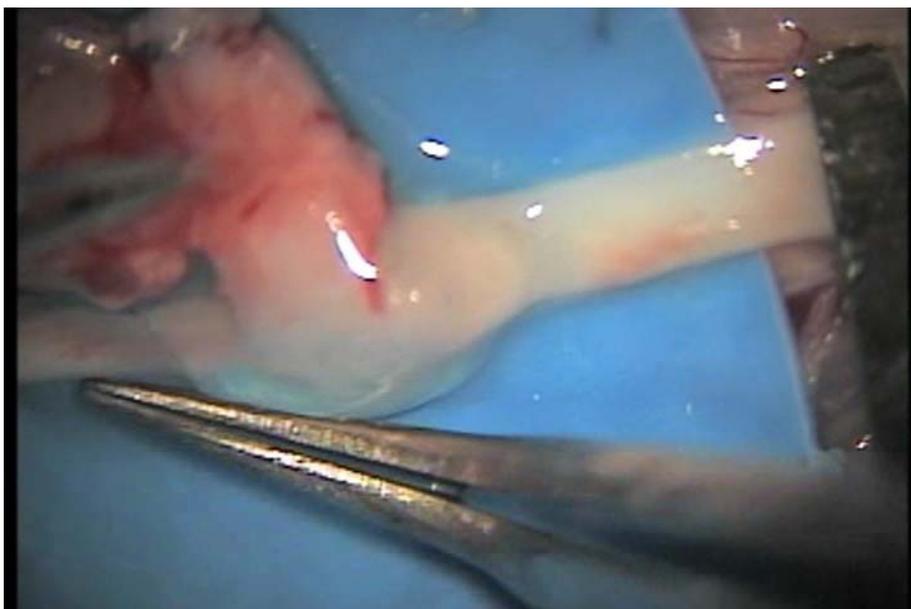


Figura 25. Anastomose arterial término-lateral no Grupo II. Durante o período inicial de polimerização (30 a 60 segundos), a cola era manipulada de forma a concentrar-se em torno da anastomose.

O coto venoso do pedículo era rebatido em direção oposta à anastomose arterial, previamente a aplicação da cola, a fim de evitar que ele fosse englobado pela CF. Cerca de 1 min após a aplicação da CF na anastomose arterial, a anastomose venosa era iniciada. Os cotos venosos eram clampeados e um novo anteparo de borracha era colocado sob eles, separando-os da anastomose arterial. Após o último ponto de sutura, a CF era aplicada de modo idêntico à anastomose arterial (Figura 26).

---

\* Baxter [Immuno AG, Vienna, Austria]

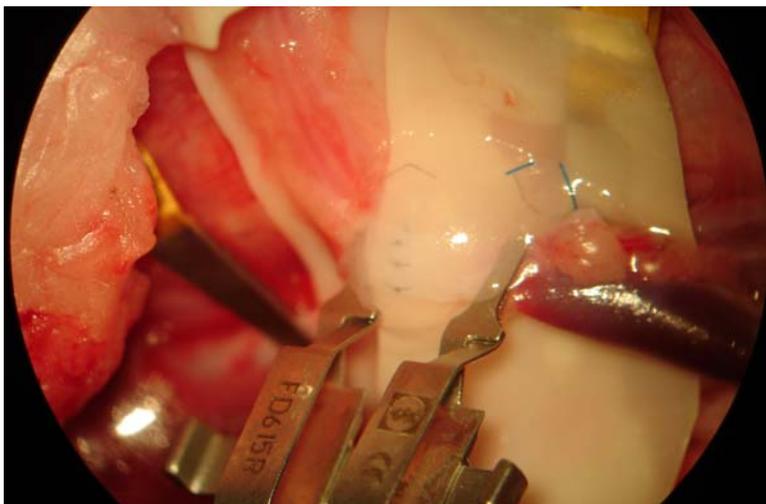


Figura 26. Anastomose venosa término-terminal logo após a aplicação da cola.

Aguardava-se cerca de 2 min e meio para que ocorresse a solidificação da cola e então o clampe duplo era removido das veias, de proximal para distal. Em seguida, os clampes simples eram removidos da artéria carótida, de distal para proximal, restabelecendo a circulação no retalho (Figura 27). O excesso de cola foi removido cuidadosamente das anastomoses com uma tesoura para não interferir com a mobilidade natural do vaso.

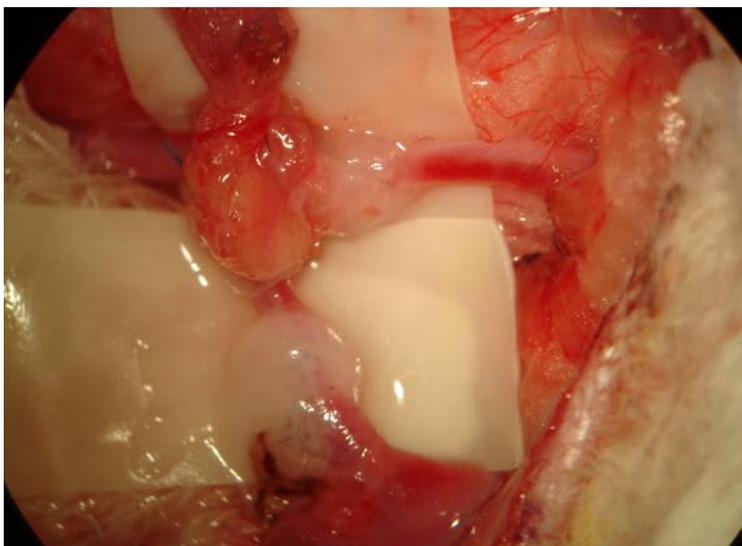


Figura 27. Restabelecimento da circulação do retalho após a conclusão das anastomoses no grupo II.

A perfusão do retalho era checada através de sua coloração, reenchimento capilar e turgor, além da presença de fluxo sanguíneo no seu pedículo (pulsação dos vasos epigástricos inferiores). O retalho era então posicionado e suturado na área receptora (região cervical), com cuidado para que não ocorresse torção de seu pedículo (Figura 28). A sutura de pele foi realizada com pontos simples de mononylon 5-0, sempre utilizando o mesmo número de pontos (16) em todos os casos. A região doadora (região inguinal direita) era fechada, simultaneamente, com pontos separados de nylon 5-0.



Figura 28. Retalho inguinal posicionado e suturado na região cervical.

Um antibiótico (enrofloxacin 0,5 ml) era administrado por via subcutânea (1x/dia durante uma semana) e uma pomada anti-séptica composta por Sulfato de Gentamicina era aplicada nas áreas doadora e receptora que eram cobertas com gazes. A região cervical era imobilizada com um colar customizado para evitar que o animal se auto-mutilasse (Figura 29). Os colares foram confeccionados com Thermoplast® por uma terapeuta ocupacional utilizando um coelho sob sedação para modelagem dos colares. Eles eram envoltos por uma malha tubular que era amarrada ao redor do

pescoço do animal (Figura 30). A área doadora era envolvida com uma faixa crepe.



Figura 29. Colar cervical de thermoplast®.



Figura 30. Colocação do colar cervical nos coelhos.

### 3.6. Pós-operatório

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais com livre demanda de água e ração e condições controladas de luz e temperatura. A partir do segundo dia de pós-operatório, a região cervical era inspecionada periodicamente pela veterinária para avaliar o aspecto do retalho e a presença de sangramento, hematoma ou infecção.

O colar cervical era mantido por um período mínimo de uma semana. Se o animal conseguisse remover o colar antes desse período, ele era recolocado.

### **3.7. Reoperação**

Após um período que variou de 14 a 35 dias de pós-operatório, os coelhos foram submetidos a uma nova intervenção para reabordagem das anastomoses. O procedimento anestésico foi realizado da mesma maneira que na primeira cirurgia, entretanto a tricotomia foi limitada apenas à região cervical anterior. A viabilidade e a cicatrização do retalho na aérea receptora foram avaliadas clinicamente (Figura 31). Os pontos de sutura de pele remanescentes eram removidos e toda circunferência do retalho era reincisada. O retalho e seu pedículo eram completamente elevados do leito receptor, mantendo apenas as anastomoses intactas (Figura 32). Neste ponto, a perfusão do retalho era novamente checada, através do sangramento de suas bordas e da pulsação expansiva de seu pedículo. A artéria carótida direita era identificada e isolada, distal e proximamente à anastomose. A partir daí, as anastomoses eram cuidadosamente dissecadas e separadas das partes moles adjacentes, até serem completamente individualizadas (Figura 33)



Figura 31. Aspecto clínico do retalho inguinal após o 14º dia de pós-operatório, momentos antes da reoperação.



Figura 32. Durante a reoperação, o retalho e seu pedículo eram completamente elevados do leito receptor.

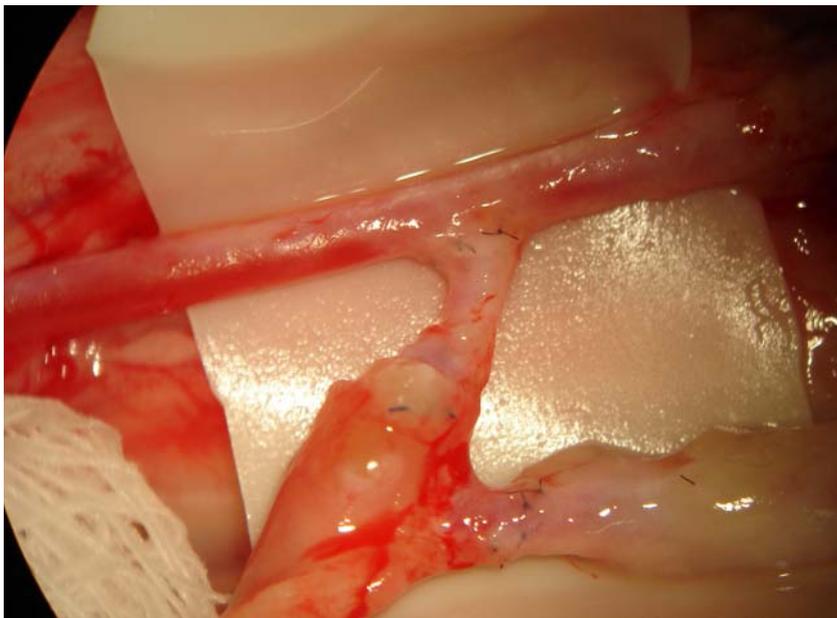


Figura 33. Dissecção das anastomoses na reoperação de um animal do grupo II.

O teste definitivo de permeabilidade das anastomoses foi realizado através da secção dos vasos e observação direta da presença de fluxo sanguíneo. O ramo da veia jugular externa era seccionado proximalmente à anastomose venosa, resultando num sangramento venoso lento. O pedículo do retalho era então seccionado distalmente à anastomose arterial, resultando num sangramento pulsátil da artéria epigástrica inferior.

A veia jugular era ligada distalmente e um segmento de aproximadamente 0,4 cm das veias jugular externa e femoral, contendo a anastomose, era obtido. A artéria carótida era ligada nas suas duas extremidades e um segmento em “T” da anastomose arterial era ressecado, incluindo aproximadamente 0,8 cm da artéria carótida e 0,2 cm da artéria femoral. O lúmen dos segmentos vasculares era irrigado com uma solução de formol a 10% com auxílio de uma seringa e um jelco. Os animais, ainda

anestesiados, foram submetidos a eutanásia através de injeção letal intravenosa de uma solução contendo 1 ml de Cloreto de Potássio a 19.1%. Os segmentos vasculares foram ancorados a um pequeno pedaço de espuma pelas suas extremidades com agulhas microcirúrgicas, a fim de evitar a deformação dos vasos.

### **3.8. Anatomopatológico**

Os segmentos dos vasos foram colocados em pequenos frascos contendo formol a 10% por um período mínimo de 24 h e foram encaminhadas ao Serviço de Anatomia Patológica do IOT-HC-FMUSP.

Após processamento adequado, as peças cirúrgicas foram incluídas por inteiro em blocos de parafina. Os cortes foram realizados a cada 3 µm no plano longitudinal dos vasos. Nas anastomoses arteriais, o plano dos cortes foi realizado de modo a incluir o eixo longitudinal das artérias carótida e femoral (junção em “T”). Cada amostra foi avaliada por três métodos de coloração: Hematoxilina-Eosina (H.E.), Tricrômico de Masson e Verhoff. As lâminas foram examinadas através de um microscópio óptico convencional da marca Zeiss® com aumento entre 50 e 200x.

O processo inflamatório perivascular foi graduado em ausente, discreto, moderado ou intenso em cada uma das amostras obtidas, quando isso foi possível. Além disso, a presença de trombos ou aneurismas também foi avaliada.

Todas as lâminas foram avaliadas por uma patologista experiente que não tinha conhecimento a quais grupos pertenciam as lâminas.

### 3.9. Avaliação dos Resultados

Dados relativos ao peso dos animais, diâmetro externo dos vasos e número de pontos de sutura necessários para se completar as anastomoses foram comparados entre os dois grupos.

Em relação ao tempo decorrido para execução das principais etapas da cirurgia, foram avaliados: tempo de anastomose arterial, tempo de anastomose venosa, tempo de isquemia do retalho e tempo total de cirurgia. Para este fim, foi utilizado um cronômetro digital com capacidade para cronometrar até quatro tempos (T1, T2, T3 e T4) de forma independente (Figura 34).



Figura 34. Cronômetro digital com capacidade para cronometrar até quatro tempos de forma independente.

O tempo total de cirurgia (T1) começava com a primeira incisão de pele na região inguinal e terminava com o último ponto de pele para o

fechamento da região cervical. O tempo de isquemia do retalho (T2) iniciava-se com a ligadura da artéria femoral do pedículo e terminava com o restabelecimento da circulação do retalho, através da soltura do clampe duplo das veias e do clampe simples distal da artéria carótida.

No tempo de anastomose arterial (T3), o cronômetro era acionado somente quando a pinça e o porta-agulha estavam no campo visual do microscópio, imediatamente antes da passagem do primeiro ponto. O período de preparo dos cotos arteriais para anastomose não foi incluso, pois julgamos que era independente da técnica de sutura empregada. No grupo I, o cronômetro foi interrompido logo após a conclusão da anastomose, após o último ponto de sutura. No grupo II, o cronômetro foi interrompido somente com o início da preparação dos cotos venosos para a anastomose. Portanto, após o último ponto de sutura, o tempo gasto com a aplicação e manipulação da CF ao redor da anastomose foram inclusos na cronometragem. No tempo de anastomose venosa (T4), foram utilizados os mesmos critérios da anastomose arterial para o início da cronometragem. Em ambos os grupos, o cronômetro foi parado após a remoção do clampe duplo das veias. No grupo I, isso ocorreu logo após o último ponto de sutura, enquanto que no grupo II, aguardaram-se cerca de 2 min e meio para a polimerização da CF.

Logo após a soltura dos clampes, houve um sangramento variável nas anastomoses, oriundo dos orifícios dos pontos de sutura. Este sangramento foi prontamente contido com uma gaze que era levemente comprimida sobre as anastomoses por cerca de 3 min. A gaze era então

pesada numa balança de precisão, descontando-se o peso da gaze seca, para quantificar o sangramento das anastomoses.

A permeabilidade imediata das anastomoses era facilmente avaliada observando-se o enchimento e a pulsação do pedículo vascular, além da coloração rosada e do turgor do retalho. A permeabilidade tardia era aferida indiretamente por meio da monitorização periódica dos retalhos, e diretamente através da observação de sangramento distal às anastomoses durante a reoperação dos animais. A viabilidade do retalho era avaliada clinicamente pela comparação de sua coloração e turgor com a pele adjacente da região cervical.

### **3.10. Metodologia Estatística**

Para a caracterização das amostras de dados quantitativos, foi realizada a estatística descritiva dos parâmetros medidos: média, desvio-padrão, erro padrão da média, valor mínimo e valor máximo. Na descrição das amostras de dados qualitativos, foi feita a distribuição de freqüência e proporção.

Nas comparações entre grupos de dados paramétricos foi empregado o teste "t" de Student e para os dados não-paramétricos, o teste "U" de Mann-Whitney. Para a comparação entre as freqüências de parâmetros qualitativos foi utilizado o teste exato de Fisher.

Em todos os casos, foi adotado o nível de significância de 5% ( $\alpha=0,05$ ). Os resultados significativos foram assinalados com asterisco (\*).

#### 4. RESULTADOS

A média de peso dos animais no Grupo I foi de 2955 g, enquanto que no Grupo II foi de 2870 g. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Tabela 1).

Tabela 1. Distribuição do peso dos animais nos grupos.

	<b>Grupo I</b>	<b>Grupo II</b>
	3400	2950
	3900	2800
	2450	3000
	2950	2950
	2500	2850
	2450	2550
	2800	2950
	3100	2750
	2800	2900
	3200	3000
Nº Animais	10	10
Média	2955	2870
Desvio Padrão	463,95	139,84
Erro Padrão	146,71	44,22
Mínimo	2450	2550
Máximo	3900	3000
Teste "t" de Student		$p= 0,59$

Nota: Medida de peso expressa em gramas.

Em relação à média do diâmetro externo dos vasos, também não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Quadro 1). Informações mais detalhadas estão disponíveis nos anexos A e B.

Quadro 1: Média do diâmetro externo dos vasos nos grupos

	Grupo I	Grupo II	<i>p</i>
Artéria femoral	1,52 (1,2-1,8)	1,63 (1,5-1,8)	0,23
Artéria carótida	1,95 (1,5-2,0)	2,05 (2,0-2,5)	0,17
Veia femoral	2,04 (2,0-2,2)	1,98 (1,8-2,0)	0,09
Veia jugular externa	2,1 (2,0-2,5)	2,04 (2,0-2,2)	0,18

NOTA: Os valores entre parênteses indicam o mínimo e o máximo de cada variável. Medida de diâmetro expressa em milímetros.

A quantidade de pontos de sutura por anastomose arterial e venosa encontra-se nas Tabelas 3 e 4. A média de pontos de sutura por anastomose arterial no Grupo II (sutura com cola) foi 38,6% menor em relação ao Grupo I (sutura convencional). Nas anastomoses venosas, a média de pontos no Grupo II (sutura com cola) foi 36,7% menor em relação ao Grupo I (sutura convencional). A diferença do número de pontos por anastomose entre os grupos, tanto na anastomose arterial quanto na venosa, foi estatisticamente significativa.

Tabela 3. Quantidade de pontos de sutura por anastomose arterial nos grupos.

	<b>Grupo I</b>	<b>Grupo II</b>
	12	6
	10	6
	10	6
	10	7
	10	7
	10	6
	9	6
	10	6
	10	6
	10	6
Nº Animais	10	10
Média	10,1	6,2
Desvio Padrão	0,74	0,42
Erro Padrão	0,23	0,13
Mínimo	9	6
Máximo	12	7
Teste "t" de Student		$p < 0,001^*$

Tabela 4. Quantidade de pontos de sutura por anastomose venosa nos grupos.

	<b>Grupo I</b>	<b>Grupo II</b>
	18	8
	14	9
	12	8
	12	8
	11	8
	11	8
	10	7
	11	6
	10	7
	11	7
Nº Animais	10	10
Média	12	7,6
Desvio Padrão	2,40	0,84
Erro Padrão	0,76	0,27
Mínimo	10	6
Máximo	18	9
Teste "t" de Student		$p < 0,001^*$

O tempo necessário para se completar cada anastomose arterial (T3), foi em média, de 17,21 min no Grupo I e de 12,72 min no Grupo II. Esta diferença foi estatisticamente significativa ( $p < 0,001^*$ ). Nas anastomoses venosas (T4), foi em média, de 22,93 min no Grupo I e de 16,57 min no Grupo II. Esta diferença também foi estatisticamente significativa ( $p < 0,001^*$ ) (Tabelas 5 e 6).

Tabela 5. Distribuição do tempo de anastomose arterial (T3) nos grupos

	<b>Grupo I</b>	<b>Grupo II</b>
	21,55	12,65
	18,96	14,81
	18,75	13,8
	19,23	12,61
	15,55	11,7
	16	11,96
	15,51	11,41
	14,73	14,05
	16,75	12,38
	15,05	11,83
Nº Animais	10	10
Média	17,21	12,72
Desvio Padrão	2,27	1,13
Erro Padrão	0,79	0,36
Mínimo	14,73	11,41
Máximo	21,55	14,81
Teste "t" de Student	$p < 0,001^*$	

Tabela 6. Distribuição do tempo de anastomose venosa (T4) nos grupos

	<b>Grupo I</b>	<b>Grupo II</b>
	25,78	20,21
	25	18,88
	27	20,3
	25,61	17,83
	22,05	15,68
	20,16	13,38
	19,91	15,25
	19,05	...
	19	14,85
	25,73	12,75
N° Animais	10	10
Média	22,93	16,57
Desvio Padrão	3,2	2,84
Erro Padrão	1,01	0,94
Mínimo	19	12,75
Máximo	27	20,3
Teste "t" de Student		$p < 0,001^*$

A média do tempo de isquemia do retalho (T2) foi de 67,65 min no Grupo I, contra 56,5 min no Grupo II. Essa diferença de 11,15 min foi estatisticamente significativa ( $p = 0,001^*$ ) (Tabela 7).

A duração total do procedimento, ou tempo de cirurgia (T1), também foi significativamente reduzida. Enquanto que no Grupo I, o tempo médio de cirurgia foi de 163,23 min, no Grupo II foi de 147,58 min (Tabela 8).

Tabela 7. Distribuição do tempo de isquemia do retalho (T2) nos grupos.

	<b>Grupo I</b>	<b>Grupo II</b>
	73,1	58,68
	77,8	64,56
	76,96	61,46
	77,91	57,96
	64,41	51,6
	60,05	52,43
	59,78	56,08
	56,91	60,03
	60,53	48,91
	69,05	53,25
N° Animais	10	10
Média	67,65	56,5
Desvio Padrão	8,32	4,92
Erro Padrão	2,63	1,56
Mínimo	56,91	48,91
Máximo	77,91	64,65
Teste "t" de Student		$p= 0,001^*$

Tabela 8. Distribuição do tempo de cirurgia (T1) nos grupos.

	<b>Grupo I</b>	<b>Grupo II</b>
	185,35	160,65
	181,81	174,71
	201,21	157,1
	164,61	171,2
	153,33	141,81
	159,06	139,76
	139,95	128,88
	141,66	143,45
	153,5	133,58
	151,81	124,5
N° Animais	10	10
Média	163,23	147,56
Desvio Padrão	20,07	4,92
Erro Padrão	6,35	1,56
Mínimo	139,95	124,5
Máximo	201,21	174,71
Teste "t" de Student		$p= 0,039^*$

Após a soltura dos clampes no Grupo I, houve uma quantidade variável de sangramento pelas anastomoses que foi quantificada através da pesagem das gazes (Anexo C). Esse sangramento variou de 0,08 a 1,85 g, tendo sido em média de 0,37 g. Por outro lado, no Grupo II, não foi constatado qualquer sangramento ( $p= 0,039^*$  pelo teste “U” de Mann-Whitney).

O tempo médio de seguimento dos animais foi de 14,2 dias em ambos os grupos, tendo variado entre 4 a 35 dias no Grupo I, e entre 3 a 21 dias no Grupo II (Anexo D). Sete animais morreram antes de completar duas semanas de pós-operatório:

Causa da morte	Grupo I	Grupo II
Arrancamento do retalho	4	1
Ruptura das anastomoses	1	1
Total de óbitos	5	2

Em cinco deles, quatro do grupo I e um do grupo II, a causa da morte não foi relacionada com a técnica microcirúrgica. Estes animais arrancaram parcialmente os retalhos após se livrarem dos colares cervicais, causando sangramento maciço. Os outros dois animais, um de cada grupo, morreram devido a um intenso sangramento cervical pós-operatório atribuído a uma possível falha mecânica e ruptura das anastomoses. Não houve nenhum caso de necrose parcial ou total de retalho. A taxa de sobrevivência do retalho foi de 90% (9/10) em ambos os grupos, pois consideramos apenas os dois

óbitos por falha mecânica das anastomoses como uma causa relacionada à técnica de anastomose empregada. Até o momento dos óbitos dos animais os retalhos apresentavam-se com aspecto, perfusão e turgor que demonstravam viabilidade.

Dos 20 coelhos operados, 13 evoluíram sem intercorrências e foram submetidos a reoperação entre o 14º e o 35º dia de pós-operatório, cinco do Grupo I e oito do Grupo II (Anexo D). Esta grande variação no intervalo entre a primeira cirurgia e a reoperação foi devido à ocorrência de feriados e de cursos ministrados no CETEC que provocaram o adiamento de algumas cirurgias. Durante a reexploração dos vasos no Grupo II, observamos a presença residual da CF nas anastomoses, formando uma espécie de invólucro opaco (Figura 35). Após a remoção da maior parte da CF, as anastomoses mostraram-se de aspecto normal (Figura 36). A taxa de permeabilidade das anastomoses foi de 100% (5/5 no Grupo I, e 8/8 no Grupo II) em ambos os grupos.

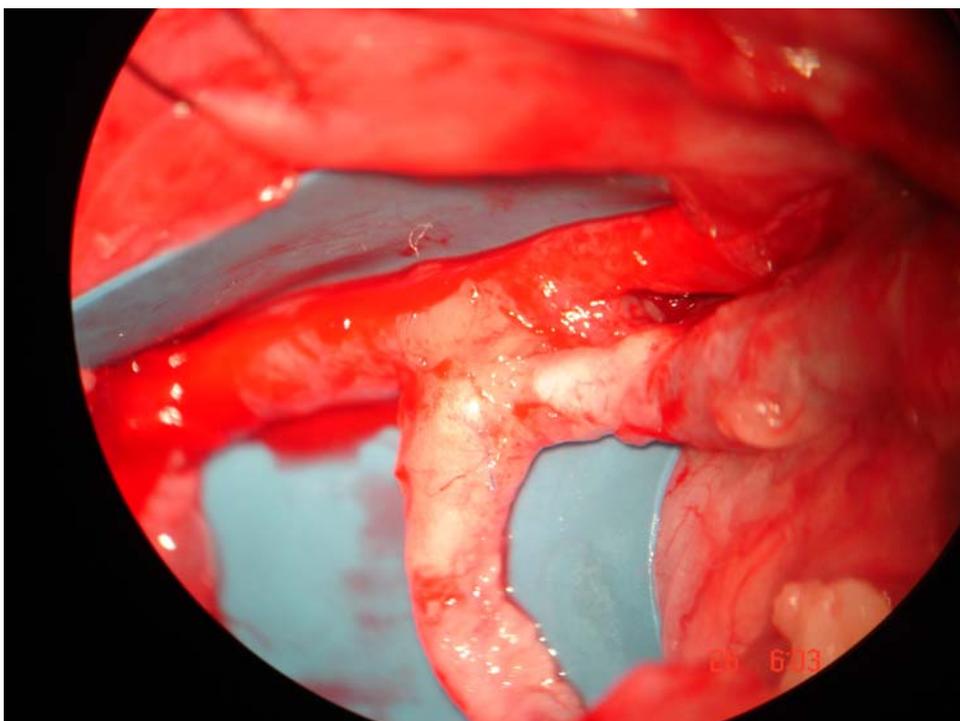


Figura 35. Persistência de cola de fibrina residual nas anastomoses.

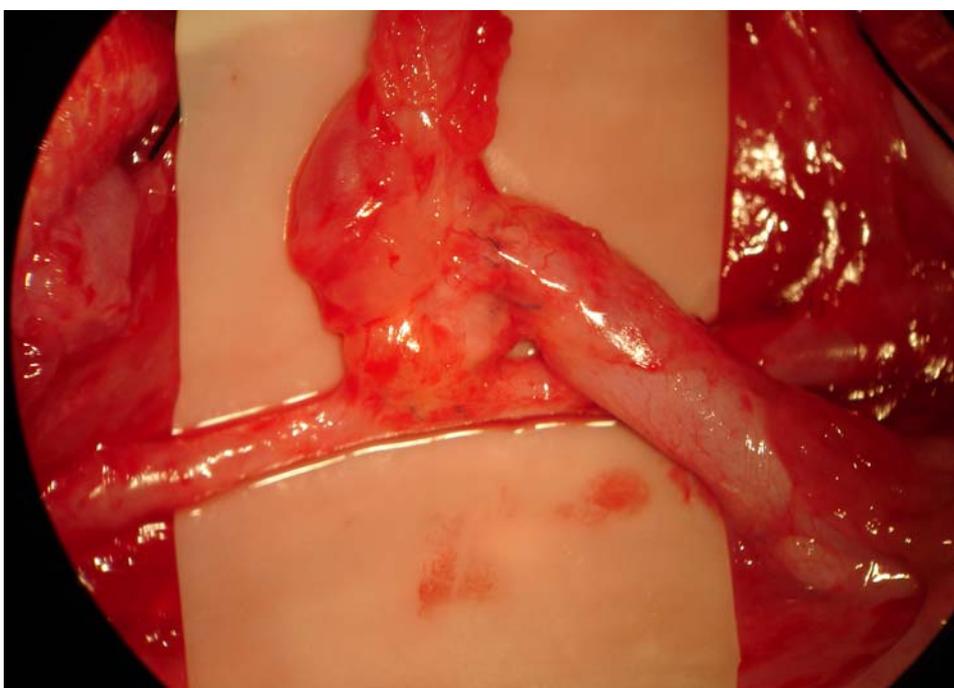


Figura 36. Aspecto normal das anastomoses após remoção da cola de fibrina residual.

Durante o estudo anatomopatológico, foi constatado que a qualidade dos cortes correspondentes às anastomoses venosas permitiram apenas a

avaliação da existência ou não de trombose ou aneurismas. Na avaliação das anastomoses arteriais, observamos um processo inflamatório perivascular mais intenso no Grupo II (Tabela 9). No entanto, esta inflamação foi restrita à túnica adventícia, não comprometendo a túnica média ou a luz do vaso (Figuras 37 e 38).

Tabela 9. Distribuição da graduação de inflamação perivascular nas anastomoses arteriais dos grupos.

Inflamação Perivascular	Grupo I	Grupo II
<b>Discreta</b>	4	2
<b>Moderada</b>	1	6
Nº Amostras	5	8

Teste Exato de Fisher:  $p= 0,061$

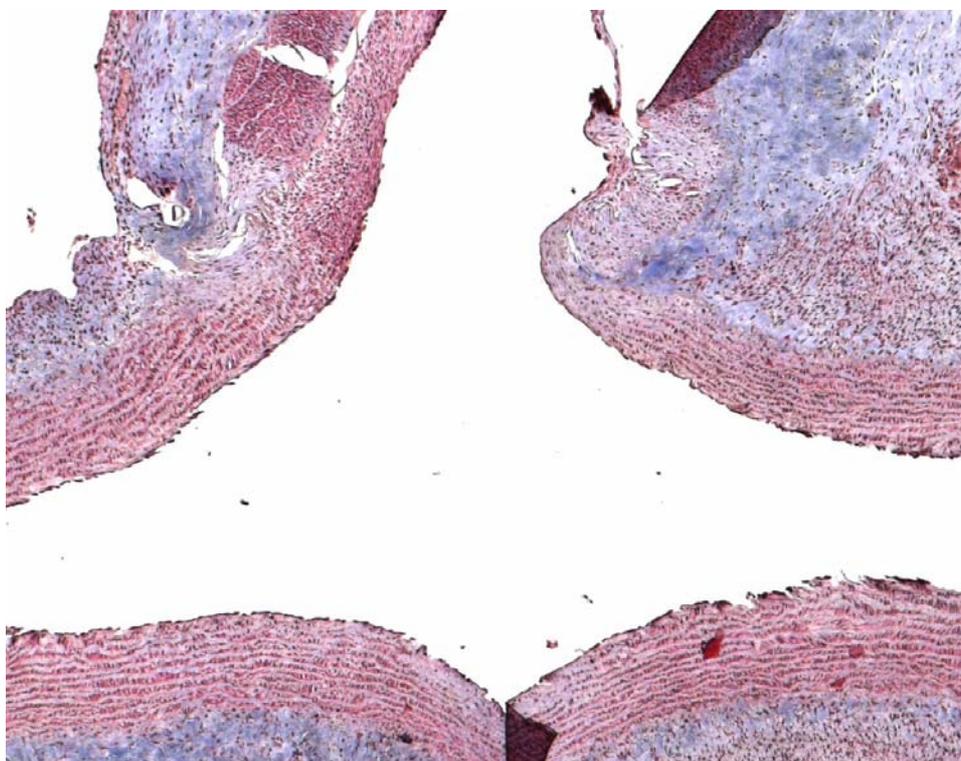


Figura 37 Anastomose arterial término-lateral pela técnica de sutura convencional. Observamos um processo inflamatório discreto na adventícia (em azul). Masson, 50x



Figura 38. Anastomose arterial término-lateral pela técnica de sutura com cola. Observamos um processo inflamatório moderado na adventícia (em azul). Masson, 50x

O restabelecimento da continuidade do endotélio e da lâmina elástica interna pôde ser observado na maioria das anastomoses arteriais em ambos os grupos. (Figuras 39 e 40). Não houve nenhum caso de aneurisma ou trombose nas anastomoses estudadas.

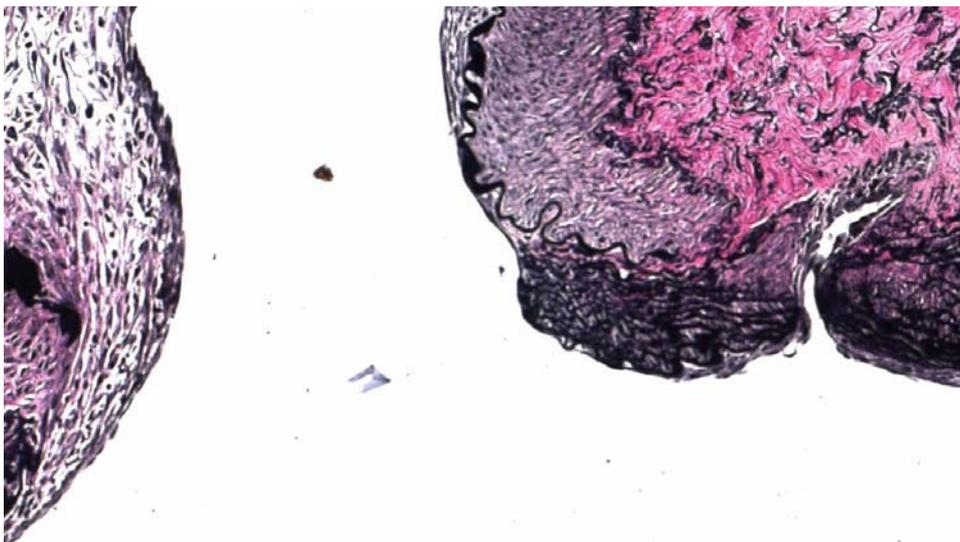


Figura 39. Anastomose arterial término-lateral pela técnica de sutura com cola. Continuidade da lâmina elástica interna restabelecida (em preto). Vehoff, 100x

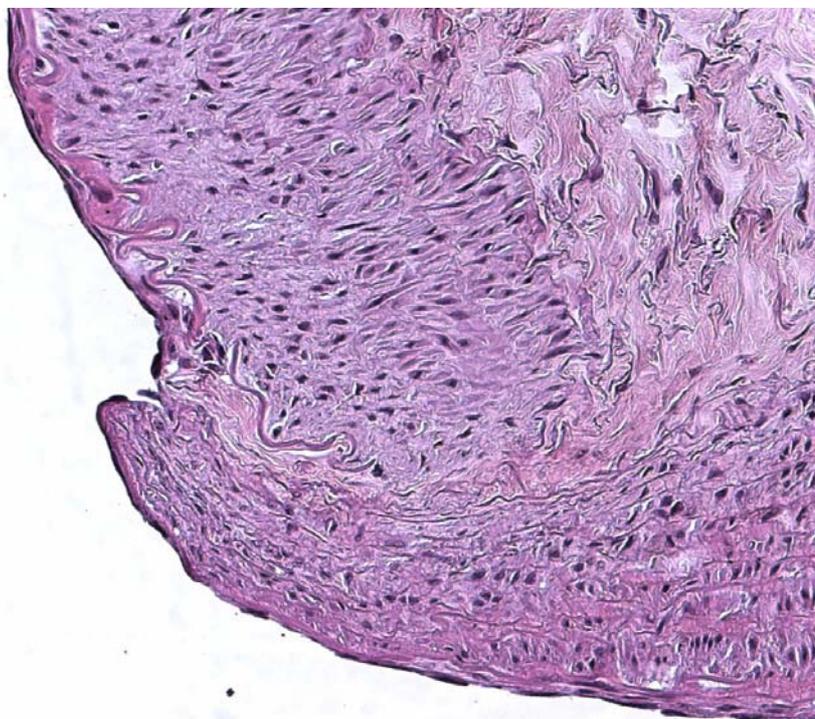


Figura 40. Anastomose arterial término-lateral pela técnica de sutura com cola. Continuidade do endotélio restabelecida. Hematoxilina e Eosina, 200x

## 5. DISCUSSÃO

Os dois grupos foram homogêneos em relação ao peso dos animais e ao diâmetro externo dos vasos utilizados nas microanastomoses. Considerando-se a média geral dos dois grupos, o diâmetro externo da artéria carótida foi de 2,0 mm e o da artéria femoral foi de 1,6 mm. O diâmetro externo do ramo medial da veia jugular externa foi de 2,1 mm e o da veia femoral foi de 2,0 mm. Isso demonstra que o tamanho destes vasos (aproximadamente 2,0 mm) foi comparável aos encontrados nos pedículos dos retalhos mais freqüentemente utilizados na pratica clínica. Além disso, a proporção entre os vasos também foi adequada para cada tipo de anastomose, pois nas anastomoses arteriais T-L, a artéria receptora era maior que a doadora e nas anastomoses venosas T-T, os dois vasos eram compatíveis na grande maioria dos casos.

No Grupo I, a média de pontos de sutura por anastomose foi de 10,1 nas artérias e 12 nas veias. No Grupo II, foi de 6,2 nas artérias e 7,6 nas veias. A aplicação da CF permitiu que as anastomoses fossem finalizadas com aproximadamente 4 pontos a menos nas artérias e com 4,5 pontos a menos nas veias. Isso significou uma redução do número de pontos da ordem de 39% nas anastomoses arteriais e de 37% nas anastomoses venosas. Durante a execução de uma microanastomose vascular, à medida que se progride para o término da anastomose, o espaço entre as bordas dos vasos torna-se mais estreito cada vez que um ponto é amarrado,

tornando cada ponto subsequente mais difícil de passar. O último ponto de cada parede é o pior, pois as bordas dos vasos estão tão próximas que não podem ser separadas. Para contornar este problema, Harashina (1977) descreve uma manobra onde o penúltimo ponto de cada parede não é amarrado até que o último ponto seja passado, quando então os dois pontos são amarrados. Desta maneira, o último ponto pode ser passado com uma visão clara da luz do vaso e o risco de inclusão acidental da parede oposta é reduzido. No presente estudo, os pontos de sutura foram distribuídos de forma homogênea pelas anastomoses em ambos os grupos. Portanto, a densidade de pontos de sutura por anastomose foi menor nas anastomoses submetidas à aplicação da CF. Conseqüentemente, o intervalo entre os pontos foi sempre maior nas anastomoses do Grupo II, onde a manobra de Harashina não foi necessária, ao contrário do Grupo I, onde ela foi utilizada com freqüência.

A possibilidade de minimizar a quantidade de pontos de sutura necessários para se completar uma anastomose, através da aplicação da CF, também foi constatada em outros estudos experimentais. Pearl et al. (1977), Isogai et al. (1992), e Han et al. (1998) obtêm uma redução que varia de 33 a 50%, utilizando artéria femoral de ratos. Padubidri et al. (1996) realizam anastomoses T-L entre a artéria e veia femoral de ratos, utilizando até 60% a menos de pontos, sem comprometimento funcional das anastomoses. Por outro lado, Sagi et al. (1986) fracassam completamente em sua tentativa de anastomosar artérias e veias femorais de ratos, empregando apenas CF em conjunto com anéis de vicryl. Todas

anastomoses se rompem assim que os clampes são removidos. Da mesma maneira, Moskovitz et al. (1994) realizam microanastomoses T-T em artéria epigástricas de ratos, utilizando CF em associação com “stents” intra-vasculares dissolvíveis, mas a incidência de aneurismas é maior que 70% após 30 dias. O que estes dois estudos têm em comum, além dos maus resultados obtidos, é que seus autores confiaram exclusivamente na CF para manter as anastomoses, não tendo utilizado nenhum ponto de sutura.

Nós não acreditamos que a CF possa manter sozinha uma microanastomose vascular, pois os pontos de sutura ainda são mais resistentes. FLAHIFF et al. (1992) demonstram, através de ensaios biomecânicos, que a resistência das anastomoses suturadas aos testes de pressão é aproximadamente o dobro, em relação às realizadas exclusivamente com CF. Estes autores sugerem que a adição de alguns pontos de sutura à anastomose com CF, pode resultar num aumento significativo de sua resistência. No presente estudo, as anastomoses foram executadas com sucesso conforme sugerido por FLAHIFF et al. (1992). Portanto, a aplicação da CF permitiu uma redução expressiva do número de pontos por anastomose, sem contudo comprometer sua resistência mecânica.

O tempo necessário para se completar as microanastomoses vasculares, ou o tempo de anastomose, foi significativamente menor com a aplicação da CF. No Grupo I, a média do tempo de anastomose arterial foi de 17,21 min, enquanto que no Grupo II, foi de 12,72 min. Nas anastomoses venosas, a média do tempo de anastomose no Grupo I foi de 22,93 min,

enquanto que no Grupo II foi de 16,57 min. Isto correspondeu a uma redução de aproximadamente 4,5 min ou 26% no tempo de anastomose arterial, e 6,5 min ou 28% no tempo de anastomose venosa. Estes achados estão de acordo com a literatura, onde todos os trabalhos que estudaram o efeito da aplicação da CF no tempo de anastomose, também obtiveram resultados semelhantes (Pearl et al., 1977; Padubidri et al., 1996; Bowen et al., 1996; Han et al., 1998; Cho e Mattar Júnior, 2007). No entanto, a magnitude da diferença de tempo entre a sutura convencional e a sutura com CF, variou muito de acordo com a metodologia empregada.

A redução nos tempos de anastomose arterial e venosa refletiu diretamente sobre o tempo de isquemia do retalho que foi abreviado em aproximadamente 11 min. Portanto, a aplicação da CF reduziu em cerca de 16,5% o período de sofrimento vascular do retalho no presente estudo. Revisando a literatura, não encontramos nenhuma referência específica à medição do tempo de isquemia nos estudos que empregaram um retalho livre como modelo experimental para testar a CF (Pearl et al., 1977; Bowen et al., 1996). Portanto, nosso estudo foi pioneiro na avaliação do impacto da CF na redução do período de sofrimento vascular ao qual um retalho é submetido durante a execução de um procedimento microcirúrgico.

A duração total do procedimento também foi influenciada, em última instância, pela redução nos tempos de anastomose. No Grupo I, a média do tempo de cirurgia foi de 163,23 min, enquanto que no Grupo II foi de 147,56 min. Essa diferença de 15,67 min correspondeu a quase 10% do tempo de cirurgia do Grupo I. No estudo de Pearl et al. (1977), o tempo de cirurgia é

encurtado em 21,4 min com a aplicação da CF, enquanto que no estudo de Bowen et al. (1996) esta diferença é de 5,5 min. Novamente, esta variação da magnitude destas diferenças de tempo pode ser atribuída à metodologia empregada.

No Grupo I, o sangramento oriundo dos orifícios dos pontos de sutura das anastomoses foi, em média, de 0,38 g. No Grupo II, não houve qualquer sangramento das anastomoses, após a soltura dos clampes. Devido a esta diferença significativa observada entre os grupos, não nos restaram dúvidas a cerca da propriedade hemostática da CF. Esta propriedade poderia ser muito útil em situações como o transplante de fígado inter-vivos, onde a anastomose arterial é submetida a uma grande pressão sangüínea e os pacientes são portadores de coagulopatias severas. Uma outra situação seria durante a execução de anastomoses em vasos com paredes friáveis devido a um processo inflamatório crônico, como nas osteomielites crônicas da perna. Pearl et al. (1977) observam que a aplicação da CF em ratos heparinizados reduz a morbidade e a mortalidade relacionadas ao sangramento das microanastomoses, além de aumentar a sobrevida dos retalhos. Da mesma forma, a aplicação da CF em ratos com hipertensão induzida reduz drasticamente a quantidade de sangramento anastomótico no estudo de Isogai et al. (1992). Padubidri et al. (1996) também constatam que há uma redução significativa do sangramento com a aplicação da CF, através da pesagem do sangue proveniente das anastomoses.

Não foi observado nenhum caso de perda parcial ou total de retalho no presente estudo. No entanto, em dois animais (um em cada grupo) houve

intensa hemorragia e formação de hematoma na região cervical no pós-operatório imediato que aumentou progressivamente. Um deles morreu no 6º dia de pós-operatório (Grupo II) e o outro, no 8º dia de pós-operatório (Grupo I). Apesar do grande aumento de volume causado pelo hematoma, os retalhos mantiveram um aspecto viável. Esses óbitos foram atribuídos a uma falha mecânica das anastomoses, causada provavelmente por um número insuficiente de pontos ou pela própria movimentação do animal que, apesar do colar cervical, poderia ter provocado tração excessiva no local das anastomoses. Consideramos que esta falha mecânica esteve diretamente relacionada à técnica de sutura empregada. Portanto, a taxa de sobrevivência do retalho foi de 90% (9/10) em ambos os grupos. Desta maneira, houve apenas um caso de insucesso do retalho em cada grupo. Estes resultados estão de acordo com os achados de Pearl et al. (1977) e Bowen et al. (1996) que obtêm uma taxa de sobrevivência semelhante (90%) entre os retalhos submetidos à técnica de sutura convencional e os retalhos submetidos à técnica de sutura com CF.

Os demais cinco casos de óbitos, quatro no Grupo I e um no Grupo II, não foram relacionados à técnica microcirúrgica, pois os retalhos foram arrancados pelos próprios animais que conseguiram se livrar do colar cervical precocemente. Todos eles apresentavam-se viáveis até a última avaliação antes da ocorrência do óbito. Os exames pós-óbito também confirmaram a viabilidade dos retalhos através de sua coloração e turgor que se mantiveram semelhantes à pele adjacente. Portanto, podemos inferir que se os animais não tivessem se auto-mutilado, os retalhos teriam sobrevivido,

pois todos os óbitos ocorreram após o 2º dia de pós-operatório, quando normalmente o risco de trombose das anastomoses é menor.

Dos 13 coelhos que foram submetidos a reoperação, nenhum deles apresentava trombose de qualquer uma das anastomoses, arterial ou venosa. Portanto, a taxa de permeabilidade das anastomoses foi de 100% em ambos os grupos. A grande maioria dos estudos (Pearl et al., 1977; Baffoni et al., 1985; Sugiura et al., 1985; Aksik et al., 1986; Bowen et al., 1996; Padubidri et al., 1996; Han et al., 1998; Cho e Mattar Júnior, 2007) também obtém resultados positivos com a aplicação da CF, com taxas de permeabilidade que variam de 80 a 100%.

Apesar disso, alguns autores lançam dúvidas acerca da segurança da aplicação da CF em microanastomoses vasculares. Dascombe et al. (1997) demonstram que a trombina contida na CF, possui atividade transmural sobre vasos intactos. Porém, este estudo emprega um modelo experimental *in vitro*, que não se traduz, necessariamente, num aumento da trombogenicidade em modelos experimentais *in vivo*. O aumento da incidência de trombose pela aplicação da CF relatado por outros autores (Marek et al., 1998), está relacionado à utilização inadequada de seus componentes, como a aplicação isolada ou em concentrações elevadas de trombina (>500 UI). Num artigo de revisão, Matras (1985) já salienta que concentrações adequadas dos componentes da CF são cruciais para o sucesso do método. Esta afirmação é comprovada por outros autores (Drake et al., 2000; Frost-Arner et al. 2001), que não observam aumento

significativo da frequência de trombose, quando a trombina é utilizada em concentrações adequadas ( $\leq 500\text{UI}$ ) e em conjunto com o fibrinogênio.

De maneira geral, a dissecação das anastomoses durante as reoperações foi um pouco mais trabalhosa no Grupo II, devido à presença residual da CF e à fibrose perivascular. No entanto, a CF pode ser removida sem maiores dificuldades e as anastomoses mostraram-se de aspecto normal em todos os casos. Durante a reexploração dos vasos, constatamos que todas as anastomoses estavam funcionantes e não houve nenhum caso de aneurisma.

No exame anatomopatológico, observamos um processo inflamatório mais intenso nas anastomoses arteriais do Grupo II que correspondeu à fibrose perivascular observada durante a reexploração (Figuras 37 e 38). No entanto, esta diferença não foi estatisticamente significativa ( $p= 0,061$ ). Além disso, este processo foi limitado à camada mais superficial e não causou nenhum distúrbio às camadas mais internas, ao contrário dos cianoacrilatos. Provavelmente, o processo inflamatório mais intenso no grupo II esteve relacionado ao uso de proteínas estranhas ao animal como o fibrinogênio e a trombina humana. Outra possível explicação poderia ter sido o fato de que o tempo médio de seguimento dos animais que chegaram a ser submetidos a reoperação foi menor no grupo II (22,8 dias no grupo I, contra 16,6 dias no grupo II). Lidman et al. (1981) e Brunner (1984) observam uma redução progressiva da resposta inflamatória ao redor das anastomoses com o passar do tempo.

Akisik et al. (1986); Hamm et al. (1986); Padubidri et al. (1996); Han et al. (1998) observam uma redução do processo inflamatório nas anastomoses tratadas com CF. Estes autores atribuem a melhor qualidade de cicatrização das anastomoses à redução do trauma e do material de sutura, na parede dos vasos tratados com a CF. Por outro lado, Pearl et al. (1977); Warter et al. (1987); Bowen et al. (1996); Cho e Mattar Júnior (2007) não notam diferenças significativas entre as duas técnicas de sutura, assim como foi observado no presente estudo.

Apesar do risco teórico de transmissão de doenças virais com a utilização da CF, os preparados comerciais disponíveis atualmente são produzidos a partir de derivados de plasma humano obtidos de doadores profissionais rigorosamente selecionados e periodicamente testados para exclusão de doenças infecciosas (Jackson, 2001). Além disso, são empregadas diversas técnicas de inativação viral durante a obtenção destes derivados, com um fator de eliminação viral que pode chegar a  $10,6 \log_{10}$ . (Spotnitz, 2001). Portanto, o risco de transmissão viral é praticamente virtual.

O modelo experimental de transferência livre de tecido utilizado neste estudo foi inspirado no trabalho de Albertengo et al. (1981) que realiza o mesmo tipo de procedimento em ratos para fins de comparação entre anastomoses T-T e T-L. Entretanto, nós preferimos a utilização de coelhos devido ao maior porte destes animais e conseqüentemente, ao maior diâmetro externo dos vasos. Já nas primeiras cirurgias, durante a execução do estudo piloto, pudemos constatar que o modelo experimental reproduzia fielmente todas as etapas envolvidas na realização de um retalho

microcirúrgico: exploração dos vasos e elevação do retalho na área doadora, exploração dos vasos na área receptora e transferência do retalho para área receptora com microanastomoses vasculares. O modelo também mostrou ser reproduzível e de simples execução, considerando-se um procedimento microcirúrgico.

Pearl et al. (1977) e Marek et al. (1998) também testam a aplicação da CF em retalhos livres, porém utilizando modelos experimentais que não reproduzem o que é realizado na prática clínico-cirúrgica. Nestes estudos, um retalho inguinal é elevado em coelhos ou ratos, pediculado nos vasos femorais, de maneira similar ao realizado no presente estudo. No entanto, após a ligadura de seu pedículo, a perfusão do retalho é restabelecida “in-situ”, isto é, as anastomoses vasculares são realizadas entre os próprios vasos previamente seccionados. Outros autores (Bowen et al., 1996; Drake et al., 2000; Frost-Arner et al., 2001), utilizando o mesmo modelo experimental, limitam-se a testar a CF em apenas uma das anastomoses, mantendo sempre um dos vasos (artéria ou veia) do pedículo intacto. Em todas estas situações, as anastomoses são sempre T-T e realizadas entre vasos perfeitamente idênticos no que diz respeito ao seu diâmetro externo e à espessura de sua parede. Além disso, os retalhos não são transferidos para outras regiões, sendo suturados em seu leito original.

Numa situação clínica verdadeira, estas condições são praticamente impossíveis de serem encontradas. O que se observa na prática é que, normalmente, a artéria receptora é consideravelmente maior do que a artéria doadora, principalmente nas reconstruções dos membros inferiores, o que

torna a anastomose T-L mais vantajosa que a anastomose T-T (López-Monjardin e Peñã-Salcedo, 2000). As veias doadora e receptora raramente possuem exatamente o mesmo diâmetro externo e espessura de parede, apesar de serem compatíveis o suficiente para permitir uma anastomose T-T. Portanto, acreditamos que o modelo de retalho microcirúrgico utilizado em nosso estudo, aproximou-se muito mais da realidade clínica do que os estudos previamente mencionados. Desta maneira, a aplicação da CF em microanastomoses vasculares pôde ser testada de maneira mais fidedigna.

Este estudo apresentou algumas fraquezas. Houve perda de seguimento precoce de um número significativo de animais operados (7/20), sendo que a maioria deles (5/7) ocorreu por motivos alheios à técnica cirúrgica avaliada. No entanto, é muito importante ressaltar que os parâmetros avaliados no intra-operatório (número de pontos, tempos de anastomose, isquemia e cirurgia e permeabilidade das anastomoses) destes animais, não sofreram qualquer influência pelo fato deles terem morrido antes do 14º dia de pós-operatório. Em relação aos parâmetros pós-operatórios, consideramos a taxa de permeabilidade tardia somente dos animais sobreviventes que foi de 100% nos dois grupos (5/5 no grupo I e 8/8 no grupo II). Como todos os óbitos ocorreram num período superior a 48 horas, quando normalmente o risco de perda do retalho é reduzido, consideramos que a taxa de sobrevivência dos retalhos foi de 90% nos dois grupos (9/10 nos dois grupos). Desta forma, se cometemos algum viés, o fizemos em favor do grupo I (sutura convencional), pois consideramos que em quatro dos cinco animais que morreram os retalhos teriam sobrevivido,

enquanto que no grupo II (sutura com cola), consideramos que em um dos dois animais que morreram o retalho teria sobrevivido. O estudo do processo inflamatório perivascular foi realizado exclusivamente através da análise das artérias nos dois grupos, pois as amostras das veias não permitiram um preparo adequado das lâminas. Isto pode ter ocorrido devido às características próprias das veias dos coelhos que tinham uma parede muito delgada e deformavam-se com facilidade. Além disso, a quantidade de amostras das artérias analisadas pode não ter sido representativa no grupo I (5/10). Apesar disso, continuamos acreditando que o modelo experimental utilizado foi adequado, mas deve ser aperfeiçoado de modo a minimizar as perdas de seguimento causadas pelos óbitos e melhorar a metodologia de fixação e preparo das anastomoses venosas para o estudo anatomopatológico.

Em suma, a aplicação da CF em microanastomoses vasculares, neste modelo experimental, foi segura e confiável. Apesar da redução significativa dos pontos de sutura, a taxa de permeabilidade e a resistência mecânica das anastomoses mantiveram-se adequadas. A aplicação da CF beneficiou tanto as anastomoses arteriais, quanto as venosas, tornando-as mais fáceis e rápidas de serem executadas. O período de isquemia dos retalhos e a duração das cirurgias foram significativamente abreviadas como consequência direta do aumento de velocidade de execução das anastomoses. Além disso, confirmamos a importante propriedade hemostática da CF sobre as anastomoses vasculares. O estado atual da pesquisa experimental com a aplicação da CF em microanastomoses

vasculares nos leva em direção ao próximo passo desta investigação que seria a realização de estudos clínicos prospectivos randomizados.

## 6. CONCLUSÕES

Podemos afirmar que, neste modelo experimental, a aplicação da CF em microanastomoses vasculares de retalhos livres:

1. Facilitou e abreviou a execução das anastomoses vasculares.
2. Não provocou aumento da incidência de trombose ou aneurismas.
3. Diminuiu a quantidade de sangramento das anastomoses.

Portanto, de acordo com os resultados obtidos neste estudo, concluímos que a relação risco-benefício da aplicação da CF em microanastomoses vasculares foi favorável a sua utilização.

## 7. ANEXOS

Anexo A. Distribuição do diâmetro externo das artérias nos grupos.

	<b>Grupo I</b>		<b>Grupo II</b>	
	Carótida Femoral		Carótida Femoral	
	2,0	1,2	2,0	1,5
	2,0	1,2	2,0	1,5
	2,0	1,5	2,0	1,5
	2,0	1,6	2,5	1,5
	1,5	1,3	2,0	1,5
	2,0	1,5	2,0	1,8
	2,0	1,5	2,0	1,8
	2,0	1,8	2,0	1,6
	2,0	1,8	2,0	1,8
	2,0	1,8	2,0	1,8
Nº Animais	10		10	
Média	1,95	1,52	2,05	1,63
Desvio Padrão	0,16	0,23	0,16	0,15
Erro Padrão	0,05	0,07	0,05	0,05
Mínimo	1,5	1,2	2,0	1,5
Máximo	2,0	1,8	2,5	1,8

NOTA: Medida de diâmetro expressa em milímetros.

Anexo B. Distribuição do diâmetro externo das veias nos grupos.

	Grupo I		Grupo II	
	Jugular	Femoral	Jugular	Femoral
	2,5	2,0	2,0	2,0
	2,5	2,0	2,0	1,8
	2,0	2,0	2,0	2,0
	2,0	2,0	2,0	2,0
	2,2	2,2	2,0	2,0
	2,0	2,0	2,0	2,0
	2,0	2,0	2,0	2,0
	2,0	2,0	2,0	2,0
	2,0	2,0	2,2	2,0
	2,2	2,2	2,2	2,0
Nº Animais	10		10	
Média	2,14	2,04	2,04	1,98
Desvio Padrão	0,20	0,08	0,08	0,06
Erro Padrão	0,06	0,02	0,02	0,02
Mínimo	2,0	2,0	2,0	1,8
Máximo	2,5	2,2	2,2	2,0

Nota: medida de diâmetro expressa em milímetros.

Anexo C. Distribuição da quantidade de sangramento das anastomoses nos grupos.

	<b>Grupo I</b>	<b>Grupo II</b>
	1,85	...
	0,08	...
	0,15	0
	...	0
	0,37	0
	0,15	0
	0,18	0
	0,16	0
	0,15	0
	0,3	0
Nº Animais	10	10
Média	0,37	0
Desvio Padrão	0,55	0
Erro Padrão	0,18	0
Mínimo	0,08	0
Máximo	1,85	0
Teste "U" de Mann-Whitney	$p = 0,029^*$	

Nota: valores expressos em gramas.

Anexo D. Distribuição do tempo de seguimento pós-operatório nos grupos.

	<b>Grupo I</b>	<b>Grupo II</b>
	35	21
	14	14
	<b>2</b>	<b>6</b>
	<b>8</b>	14
	30	21
	17	14
	18	21
	<b>8</b>	14
	<b>4</b>	14
	<b>6</b>	<b>3</b>
Nº Animais	10	10
Média	14,2	14,2
Desvio Padrão	11,06	6,07
Erro Padrão	3,5	1,92
Mínimo	2	3
Máximo	35	21
Teste "t" de Student	$p= 1$	

Notas: valores expressos em dias. Os valores destacados em azul indicam os óbitos decorrentes do arrancamento do retalho. Os valores destacados em vermelho indicam os óbitos decorrentes da ruptura das anastomoses.

## 8. REFERÊNCIAS

Ahn, C.Y.; Shaw, W.W.; Berns, S.; Markowitz, B.L. Clinical experience with the 3M microvascular coupling anastomotic device in 100 free-tissue transfers. **Plast. Reconstr. Surg.**, vol. 93, p. 1481-1484, 1994.

Albertengo, J.B.; Rodriguez, A.; Buncke, H.J.; Hall, E.J. A comparative study of flap survival rates in end-to-end and end-to-side microvascular anastomosis. **Plast. Reconstr. Surg.**, vol. 67, p. 194-199, 1981.

Aksik, I.A.; Kikut, R.P.; Apshkalne, D.L. Extracranial anastomosis performed by means of biological gluing materials: experimental and clinical study. **Microsurgery**, vol. 7, p. 2-8, 1986.

Baffoni, A.; Formelli, G.; De Maria, F.; Perrone, A.; Gentile, G.; SANI, G. Impiego della colla di fibrina umana nelle microanastomosi di arteria e vena femorale di ratto. **Boll. Soc. It. Biol. Sper.**, vol. 61, p. 1015-1019, 1985.

Bergel, S. Ueber wickungen des fibrins. **Dtsch. Med. Wochensch.**, vol. 35, p. 663-665, 1909.

Bowen, C.V.A.; Leach, D.H.; Crosby, N.L.; Reynolds, R. Microvascular anastomoses. A comparative study of fibrinogen adhesive and interrupted suture techniques. **Plast. Reconstr. Surg.**, vol. 97, p. 792-800, 1996.

Brunner, F.X. Histological findings in sutured and fibrin-glued microvascular anastomosis. **Arch. Otorhinolaryngol.**, vol. 240, p. 311-318, 1984.

Casanova, R.; Guilherme, A.H.; Beatrice, V.E.; Velasquez, C.; Grotting, J. Microarterial sutureless sleeve anastomosis using a polymeric adhesive: an experimental study. **J. Reconstr. Microsurg.**, vol. 3, p. 201-207, 1987.

Cho, A.B. e Mattar Júnior, R. Effect of fibrin adhesive application in microvascular anastomosis: a comparative experimental study. **Plast. Reconstr. Surg.**, vol. 119, p. 95-103, 2007.

Cunha, A.C.; Freddi, M.J.A.L.; Crestana, M.F.; Aragão, M.S.; Cardoso, S.C.; Vilhena, V. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. 2ª ed. São Paulo: SBD /FMUSP; 2005.

Daniel, R.K.; Olding, M. An absorbable anastomotic device for microvascular surgery: experimental studies. **Plast. Reconstr. Surg.**, vol. 74, p. 329-336, 1984.

Dascombe, W.H.; Dumanian, G.; Hong, C.; Heil, B.V.; Labadie, K.; Hessel, B.; Blombäck, B.; Johnson, P.C. Application of thrombin based fibrin glue and non-thrombin based batroxobin glue on intact human blood vessels: evidence for transmural thrombin activity. **Thromb. Haemost.**, vol. 78, p. 947-951, 1997.

Delacure, M.D.; Kuriakose, A.; Spies, A.L. Clinical experience in end-to-side venous anastomoses with a microvascular anastomotic coupling device in head and neck reconstruction. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.** Vol. 125, p. 869-874, 1999.

Drake, D.B.; Faulkner, B.C.; Amiss, L.R.; Spotnitz, W.D.; Morgan, R.F. Thrombogenic effects of a nonthrombin-based fibrin sealant compared with thrombin-based fibrin sealant on microvenous anastomoses in a rat model. **Ann. Plast. Surg.**, vol. 45, p. 520-524, 2000.

Flahiff, C., Feldman, D.; Saltz, R.; Huang, S. Mechanical properties of fibrin adhesives for blood vessel anastomosis. **J. Biomed. Mat. Res.**, vol. 26, p.481-491, 1992.

Frost-Arner, L.; Spotnitz, W.D.; Rodcheaver, G.T.; Drake, D.B. Comparison of the thrombogenicity of internationally available fibrin sealants in an established microsurgical model. **Plast. Reconstr. Surg.**, vol. 108, p. 1655-1660, 2001.

Green, A.R.; Milling, M.A.P.; Green, A.R.T. Butylcyanoacrylate adhesives in microvascular surgery: na experimental pilot study. **J. Reconstr. Microsurg.**, vol. 2, p. 103-105, 1986.

Grubbs, P.E.; Wang, S.; Marini, C.; Basu, S.; Rose, D.M., Cunningham, J.P. Enhacement of CO<sub>2</sub> laser assisted microvascular anastomoses by fibrin glue. **J. Surg. Res.**, vol. 45, p. 112-119, 1988.

Gupta, A. Comment on: *Plast. Reconstr. Surg.*, vol. 119, p. 95-103, 2007. **Plast. Reconstr. Surg.**, vol. 120, p. 577-578, 2007.

Hall, W.W.; Wrye, S.W.; Banducci, D.R.; Ehrlich, P. Microvascular anastomosis using 2-octyl cyanoacrylate in the rat femoral artery. **Ann, Plast. Surg.**, vol. 44, p. 508-511, 2000.

Hamm, V.K.D.; Beer, R.; Pothe, H. Tierexperimentelle untersuchungen an nath-klebe-microgefäßanastomosen unter verwendung eines fibrinklebers auf der basis der humanplasmafraktion cohn I. **Zent. bl. Neurochir.** vol. 47, p.322-333, 1986.

Han, S.K.; Kim, S.W.; Kim, W.K. Microvascular anastomosis with minimal suture and fibrin glue: experimental and clinical study. **Microsurgery**, vol. 18, p. 306-311, 1998.

Harashina, T. Use of the untied suture in microvascular anastomoses. **Plast. Reconstr. Surg.**, vol. 59, p. 134-135, 1977.

He, F.C.; Wei, L.P.; Lanzetta, M.; Owen, E.R. Assessment of tissue blood flow following small artery welding with an intraluminal dissolvable stent. **Microsurgery**, vol. 19, p. 148-152, 1999.

Isogai, N.; Cooley, B.C.; Kamiishi, H. Clinical Outcome Of Digital replantation using the fibrin glue-assisted microvascular anastomosis technique. **J. Hand Surg.**, 21B, p. 573-575, 1996.

Isogai, N.; Fukunishi, K.; Kamiisui, H. Use of fibrin glue to minimize bleeding of microvascular repairs in hypertensive rats. **Microsurgery**, vol. 13, p. 321-324, 1992.

Jackson, M.R. Fibrin sealants in surgical practice: an overview. **Am. J. Surg.**, vol. 182 p. 1S-7S, 2001.

Jacobson, J.H. e Suarez, E.I. Microsurgery In Anastomosis Of Small vessels. **Surg. Forum.**, vol. 11, p. 243, 1960.

Kamiji, T.; Maeda, M.; Matsumoto, K.; Nishioka, K. Microvascular anastomosis using polyethylene glycol 4000 and fibrin glue. **Br. J. Plast. Surg.**, vol. 42, p. 54-58, 1989.

Karl, P.; Tilgner, A.; Heiner, H. A new adhesive technique for microvascular anastomoses: a preliminary report. **Br. J. Plast. Surg.**, vol. 34, p. 61-63, 1981.

Kim, B-Y.; Choi, B-H.; Huh, J-Y.; Lee, S-H.; Zhu, S-J.; Cho, B-P. Microvascular anastomosis using cyanoacrylate adhesives. **J. Reconstr. Microsurg.**, vol. 20, p. 317-321, 2004.

Koshima, I., Inagawa, K., Yamamoto, M., Moriguchi, T. New microsurgical breast reconstruction using paraumbilical perforator adiposal flaps. **Plast. Reconstr. Surg.**, vol. 106, p. 61-65, 2000.

Lemaire, D.; Mongeau, J.; Dorion, D. Microvascular anastomosis using histoacryl glue and an intravascular soluble stent. **J. Otolaryngol.**, vol. 29, p. 199-205, 2000.

Lidman, D.; Daniel, R.K. The normal healing process of microvascular anastomoses. **Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.**, vol. 15, p. 103-110, 1981.

Lopez-Monjardin, H. e Pena-Salcedo, J.A. Techniques for management of size discrepancies in microvascular anastomosis. **Microsurgery**, vol. 20, p. 162-166, 2000.

Marek, C.A.; Amiss, L.R.; Morgan, R.F., Spotnitz, W.D.; Brake, D.B. Acute Thrombogenic Effects Of Fibrin Sealant On Microvascular anastomoses in a rat model. **Ann. Plast. Surg.**, vol. 41, p. 415-419, 1998.

Matras, H.; Chiari, F.; Kletter, G.; Dinges, H.P. Zur Klebung kleinster gefäße tierversuch. **Dtsch. Z. Mund-Kiefer-Gesichts-Chir**, vol. 1, p. 19-23, 1977.

Matras, H. Fibrin seal: the state of the art. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, vol. 43, p. 605-611, 1985.

Middleton, W.G.; Matthews, W.; Chiasson, D.A. Histoacryl glue in microvascular surgery. **J. Otolaryngol.**, vol. 20, p. 363-366, 1991.

Moskovitz, M.J.; Bass, L.; Zhang, L.; Siebert, J.W. Microvascular anastomoses utilizing new intravascular stents. **Ann. Plast. Surg.**, vol. 32, p. 612-618, 1994.

Nylander, G.; Ragnarsson, R.; Bergreen, A.; Östrup, L.T. The Unilink system for mechanical microvascular anastomosis in hand surgery. **J. Hand Surg.**, vol. 14, p. 44-48, 1989.

Padubidri, A.N.; Browne, E.; Kononov, A. Fibrin glue-assisted end-to-side anastomosis of rat femoral vessels: comparisovn with conventional suture method. **Ann. Plast. Surg.**, vol. 37, p. 41-47, 1996.

Pearl, R.P.; Wustrack, K. O.; Harburry, C.; Rubenstein, E.; Kaplan, E.N. Microvascular anastomosis using a blood product sealant-adhesive. **Surg. Gynecol. Obstet.** vol.144, p. 227-231, 1977.

Ragnarsson, R.; Bergreen, A.; Ostrup, L.T. Arterial End-To-Side anastomosis with the Unilink system. **Ann. Plast. Surg.** Vol. 22, p. 405-415, 1989.

Reicher, M.E. Sutura convencional e assistida pela cola de fibrina em aorta e cava de ratos wistar-EPM1: Alterações hemodinâmicas e histológicas. São Paulo, 2002. 63 p. Tese (Doutorado) – Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo.

Sagi, A.; Yu, H.L.; Ferder, M.; Gordon, M.J.; Strauch, B. "No Suture" microanastomosis using vicryl rings and fibrin adhesive system: an unsuccessful attempt. **Plast. Reconstr. Surg.**, vol. 79, p. 776-777, 1987.

Saitoh, S.; Nakatsuchi, Y. Long-Term Results of vein grafts interposed in arterial defects using the telescoping anastomotic technique and fibrin glue. **J. Hand Surg.**, vol. 21B, p. 47-52, 1996.

Sartorius, C.J.; Shapiro, S.A.; Campbell, R.L.; Klatte, E.C.; Clark, S.A. Experimental laser-assisted end-to-side microvascular anastomosis. **Microsugery**, vol. 7, p. 79-83, 1986.

Spotnitz, W.D. Commercial fibrin sealants in surgical care. **Am. J. Surg.**, vol. 182 p. 8S-14S, 2001.

Sugiura, K.; Nakatsuchi, Y.; Yagi, R.; Sugimoto, Y. A new method for venous interposition grafts using fibrin glue. **Microsurgery**, vol. 6, p. 125-128, 1985.

Terminologia Anatômica. Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 1998.

Warter, A.; Betelli, E.; Schmitthaeusler, R.; Thiebaut, J.B.; Buchheit, F. Histopathologie de la réparation artérielle microchirurgicale: apport des cryoprécipités fibrineux. **Ann. Pathol.**, vol. 7, p. 31-40, 1987.

Young, J.Z. e Medawar, P.B. Fibrin suture of peripheral nerves: measurement of the rate of regeneration. **The Lancet**, vol. 3, p. 126-128, 1940.

Zeebregts, C.J.; Dungen J.J.V.D.; Kalicharan, D.; Cromheecke, M.; Want, J.V.D.; Schilfgaarde, R.V. Nonpenetrating vascular clips for small-caliber anastomosis. **Microsurgery**, vol. 20, p. 131-138, 2000.

Zeebregts, C.J.; Acosta, R.; Bolander, L.; Schilfgaarde, R.V.; Jakobsson, O. Clinical experience with non-penetrating vascular clips in free-flap reconstructions. **Br. J. Plast. Surg.**, vol. 55, p. 105-110, 2002.