

# ANÁLISE COMPARATIVA DE ESPONJAS HEMOSTÁTICAS CIRÚRGICAS EM FERIMENTO DE FÍGADO: ESTUDO EM RATOS

*Comparative analysis of surgical hemostatic sponges in liver injury: study in rats*

Carlos Edmundo Rodrigues **FONTES**<sup>1</sup>, Marino Jose **MARDEGAM**<sup>1</sup>, Orlando Ribeiro **PRADO-FILHO**<sup>1</sup>, Marcos Victor **FERREIRA**<sup>1</sup>

**Como citar este artigo:** Fontes CER, Mardegam MJ, Prado-Filho OR, Ferreira MV. Análise comparativa de esponjas hemostáticas cirúrgicas em ferimento de fígado: estudo em ratos. ABCD Arq Bras Cir Dig. 2018;31(1):e1342. DOI: /10.1590/0102-672020180001e1342

Trabalho realizado na <sup>1</sup>Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil

**RESUMO – Racional** – A obtenção de hemostasia eficaz nas lesões traumáticas ou cirúrgicas de vísceras parenquimatosas, em especial do fígado, sempre foi desafiante. **Objetivo:** Comparar o uso de hemostáticos absorvíveis em ferimento hepático quanto à capacidade hemostática e de integração aos tecidos em curto prazo. **Métodos:** Foram utilizados 15 ratos Wistar separados em três grupos. Foi realizada laparotomia e ferimento padronizado em lobo hepático direito. Os animais do grupo I foram tratados com esponja de gelatina sobre os ferimentos; os do grupo II com esponja de colágeno equino, e os do grupo III com celulose regenerada oxidada. Na ocasião foi estudada a capacidade hemostática. No 7º dia de pós-operatório nova laparotomia foi realizada e foram coletadas amostras para estudos histológicos (H&E e picrosírius) avaliando os processos por microscopia ótica e de polarização para quantificação de colágeno (tipos I e III). **Resultados:** Todos os materiais usados apresentaram efeitos hemostáticos semelhantes, não havendo diferença significativa no tempo de hemostasia. Na avaliação da reparação tecidual e aderências provocadas, assim como análise do processo inflamatório, os tratados com esponja de gelatina apresentaram maior inflamação e aderências às estruturas contíguas ao procedimento em relação aos outros grupos. **Conclusão:** Os animais tratados com a esponja de colágeno e celulose regenerada apresentaram resultados melhores que aqueles com esponja de gelatina.

**DESCRITORES** - Ferimentos. Lesões. Fígado. Hemostáticos.

## Correspondência:

Carlos Edmundo Rodrigues Fontes  
E-mail: cerfontes@uem.br; fontesc540@gmail.com

Fonte de financiamento: não há  
Conflito de interesse: não há.

Recebido para publicação: 05/12/2017  
Aceito para publicação: 08/02/2018

**HEADINGS** - Hemostasis. Wounds. Injuries. Liver.

**ABSTRACT – Background** – Obtaining effective hemostasis either in the traumatic or surgical lesions of parenchymal viscera, especially the liver, has always been a challenge. **Aim:** Comparative study between the use of different hemostatic sponges in hepatic wound and their capacity of integration to cells in a short period. **Methods:** Fifteen Wistar rats were divided into three groups. Through laparotomy a standardized wound in hepatic right lobe was made. The animals were treated with three sponges, being gelatin in group I, equine collagen in group II, and oxidized cellulose in group III. The hemostatic capacity was analysed. On the 7<sup>o</sup> day after surgery samples for histology analysis (H&E and picrosirius) were collected for inflammatory evaluation and collagen quantification (types I and III) with polarized microscopy. **Results:** All materials used had similar haemostatic effects, with no significant difference in hemostasis time. In the assessment of tissue repair and adhesions provoked, as well as analysis of the inflammatory process, the gelatin sponge presented greater inflammation and adhesions to the contiguous structures to the procedure in relation to the other groups. **Conclusion:** Animals which had their wounds treated with collagen and regenerated cellulose sponges presented better results in relationship to the ones treated with gelatin sponge.

## INTRODUÇÃO

As feridas e hemorragias subsequentes sempre provocaram a procura de agentes de alto poder hemostático, sendo este sempre um dos principais objetivos da cirurgia na tentativa de melhorar os resultados destas situações críticas com que se depara o cirurgião<sup>11,12,15</sup>. A obtenção de hemostasia eficaz das lesões traumáticas ou cirúrgicas de vísceras parenquimatosas, em especial do fígado, sempre foi um desafio<sup>8-10</sup>. A utilização de substâncias postuladas por vários autores procuram estimular a produção de colágeno e baixa reação inflamatória quando comparadas com as suturas convencionais<sup>2,4,5,10</sup>.

Na busca da hemostasia de lesões hepática, além dos adesivos e materiais já conhecidos, encontram-se outros estudos utilizando eletrocautério emplastrado com gel<sup>10</sup> e selantes de fibrina que têm diferentes graus de aderência e formação de abscessos<sup>3</sup>.

Em recente estudo adesivos biológicos de colágeno, fibrinogênio e trombina foram utilizados em ferimentos experimentais em ratos demonstrando serem eficazes no tratamento destas lesões, promovendo boa hemostasia e baixa incidência de aderências às estruturas vizinhas<sup>11</sup>.

Nesta mesma linha, o presente trabalho pretendeu estudar comparativamente o uso de três esponjas cirúrgicas como agentes hemostáticos em ferimentos hepáticos, para evidenciar as capacidades hemostática e de integração aos tecidos em curto prazo.

# MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Estadual de Maringá sob número 011/2010COPEP/UEM. Foram utilizados 15 ratos Wistar proveniente do biotério desta universidade com peso médio de 200 g e distribuídos em três grupos. Em todos foi realizada abertura da região ventral e produzido ferimento padronizado em lobo direito hepático de 2x2 cm. Os animais foram tratados por envelopamento da ferida com esponjas, sendo de gelatina no grupo I; de colágeno equino no grupo II; e de celulose regenerada oxidada no grupo III. Na ocasião, foi estudada a capacidade hemostática analisando o tempo de parada do sangramento da lesão. No 7º dia do pós-operatório, foram coletadas amostras para estudos histológicos (H&E e picrossirius), avaliando os processos inflamatórios (análise qualitativa da presença de neutrófilos, células gigantes, granuloma e neovascularização) e, por microscopia de polarização, a quantificação de colágeno (tipos I e III). As imagens foram capturadas por câmera de alta resolução AxioCam (Zeiss, Jena, Alemanha) acoplada ao microscópio de luz Axioskop Plus (Zeiss) equipado com filtros para imunofluorescência (FITC) em objetiva de 40X. As imagens foram posteriormente analisadas através do programa Image-Pro Plus, versão 4.5.029 (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, EUA)

### Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise pelo teste de Tukey através do programa GraphPad Prism 5.04. O nível de significância utilizado foi de 5% ( $p < 0,05$ ).

# RESULTADOS

Todos os materiais usados apresentaram efeitos hemostáticos semelhantes, não havendo diferença significativa no tempo de hemostasia. No 7º dia do pós-operatório os animais foram submetidos a novo procedimento operatório para avaliação da reparação tecidual e aderências provocadas, assim como análise do processo inflamatório. Os tratados com esponja de gelatina apresentaram maior inflamação e aderências às estruturas contíguas ao procedimento em relação aos outros grupos (Figuras 1, 2 e 3).

Na análise histológica não houve significância qualitativa para os achados propostos nos parâmetros predeterminados para processo inflamatório e critérios qualitativos da presença de neutrófilos, células gigantes, granuloma, neovascularização nos três grupos. Na quantificação de colágeno dos tipos I e III, porém, os segmentos tratados com colágeno equino e celulose demonstraram estimular mais a reparação tecidual com aparecimento de quantidade maior de colágeno do tipo I.

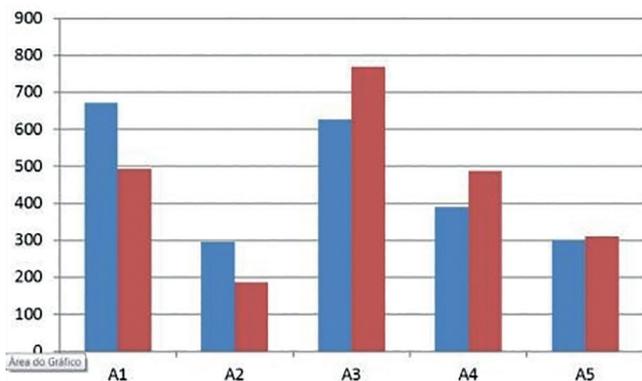


FIGURA 1 – Média e mediana qualitativa do processo inflamatório no grupo 1

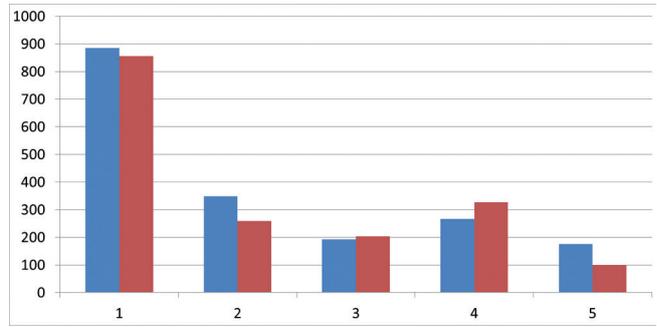


FIGURA 2 – Média e mediana qualitativa do processo inflamatório no grupo 2

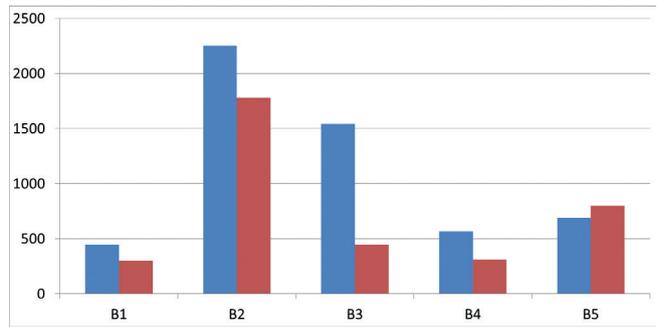


FIGURA 3 – Média e mediana qualitativa do processo inflamatório no grupo 3

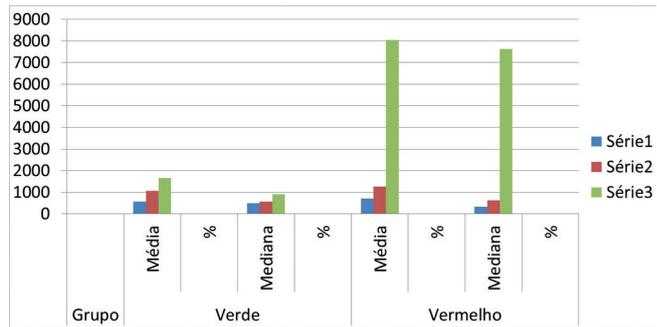


FIGURA 4 - Quantificação da presença de colágeno do tipo I jovem (vermelho) e tipo III maduro (verde) nos três grupos estudados ( $p < 0,05$ )

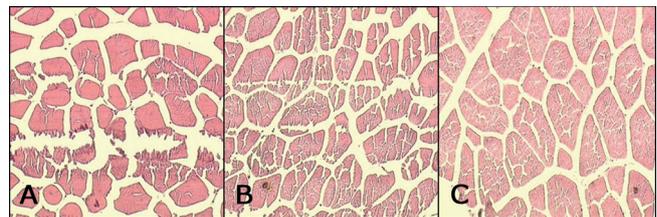


FIGURA 5 – H&E nos grupos 1(A), 2(B) e 3(C) no 7º dia do pós-operatório (100x)

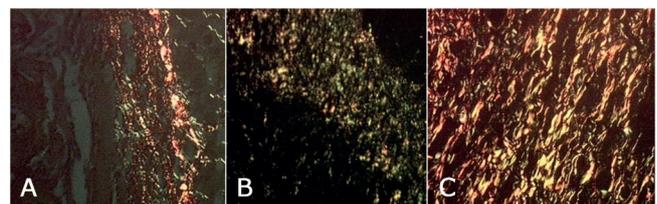


FIGURA 6 - Coloração picrossirius colágeno do tipo I (vermelho) e do tipo III (verde) dos grupos 1 (A), 2 (B) e 3 (C) no 7º dia do pós-operatório (microscopia de polarização)

## DISCUSSÃO

O animal escolhido para este estudo foi o rato devido às suas características biológicas e seu metabolismo aumentado em relação ao homem, podendo desta maneira aferir análise tardia em relação ao processo de cicatrização em tempo menor de observação. Outro aspecto importante na escolha foi a facilidade de se obter amostra homogênea<sup>6</sup>.

A textura e características da manipulação do parênquima hepático do animal simulam com muita semelhança o fígado humano. Ferida provocada experimentalmente em fígado de rato tem sido utilizada por vários autores para o estudo da hemostasia e regeneração tecidual ao longo dos anos, utilizando-se vários agentes físicos e químicos<sup>1,9,11</sup>. Estes estudos têm demonstrado que é factível a sua utilização nas lesões hepáticas iatrogênicas ou traumáticas diminuindo o tempo de sangramento e acelerando o processo de regeneração tecidual. O ferimento padronizado foi estabelecido a partir do estudo de um grupo piloto. A área e profundidade escolhidas foram aquelas em que seria necessário procedimento hemostático. A hemostasia do ferimento provocado foi conseguida nos três grupos antes do fechamento da cavidade, o que ocorreu em cerca de três minutos após a aplicação das esponjas. A análise dos resultados mostrou que nos três grupos produziu-se hemostasia em tempos semelhantes, não havendo sob este critério nenhuma vantagem de um sobre o outro.

A parte técnica de aplicação das esponjas não apresentou dificuldades em seu uso em nenhum grupo, sendo todas de fácil manuseio.

A cicatrização com regeneração tecidual adequada envolve uma série de eventos biológicos na resposta inflamatória local com formação de tecido conjuntivo para remodelar a área afetada. Das fases de cicatrização há de se destacar a fibroplasia que aparece após quarenta e oito horas por invasão de fibroblastos que se multiplicam produzindo substância fundamental amorfa que vai orientar as fibras de colágeno que são responsáveis pela força e integridade do tecido de reparação.

O escopo deste estudo foi avaliar a utilização de esponjas cirúrgicas e sua capacidade em estimular a reparação tecidual, com estímulo para o aparecimento de colágeno na ferida a ser reparada. A utilização de esponjas de colágeno equino, celulose regenerada oxidada e gelatina cria dúvida decisória durante a tentativa de hemostasia de qual é melhor.

Os adesivos cirúrgicos representam boa opção para tais situações, e já demonstraram boa eficácia em vários estudos<sup>4,5,6,7,9,10,11,13,14</sup>, porém, nem sempre estão disponíveis nos hospitais no momento em que se necessita. As esponjas por sua vez são de mais fácil manuseio e são encontradas na maioria dos hospitais.

Este estudo pretendeu responder a essa dúvida clínica no uso de um material já bastante utilizado que é a esponja de celulose regenerada oxidada e a de gelatina.

O estudo qualitativo utilizando microscopia convencional e coloração de H&E dos segmentos hepáticos ressecados, não demonstraram diferenças estatisticamente significantes quanto ao processo inflamatório.

Quando os três grupos foram submetidos à análise estatística ficou evidente que a esponja de colágeno equino e a de celulose regenerada estimularam mais o aparecimento

de colágeno na reparação tecidual que a de gelatina (Figura 4).

Considerando os dados obtidos se pode afirmar que do ponto vista da hemostasia e do processo inflamatório não existe diferença significativa entre os três grupos, porém as esponjas de colágeno equino e de celulose regenerada contribuíram mais do que a de gelatina com aparecimento de maior quantidade de colágeno dos tipos I e III, o que configura processo de reparação mais favorável (Figuras 5 e 6)

## CONCLUSÃO

As esponjas de colágeno e celulose regenerada apresentaram maior quantidade de colágeno na área lesada demonstrando maior estímulo na reparação tecidual, do que a esponja de gelatina. A esponja de celulose regenerada estimulou mais a produção de colágeno do tipo I do que a de colágeno. Não houve diferenças estatisticamente significantes nos aspectos hemostático ou inflamatório nos três grupos estudados.

## REFERÊNCIAS

1. Bastos da Cunha, E. G. . Contribuição ao Estudo das Reconstituições do trânsito intestinal sem Sutura empregando o adesivo 2-butil cianoacrilato. Tese apresentada a concurso de livre docência da Disciplina de Cirurgia Geral e Especializada da Universidade Federal Fluminense. 1976.
2. Cohn SM, Cross JH, Ivy ME, et al. Fibrine Glue Terminates Massive Bleeding after Complex Hepatic Injury. *J Trauma*. 1998 ; 45 : 666-72.
3. Coutinho TCG, Malafaia O, Torres OJM, Ribas Filho, JM, Kaminski AF, Cella IF, Jurkonis LB Estudo comparativo entre eletrocautério e selante de fibrina após hepatectomia em ratos. *Rev.Col.Bras.Cir.-2014; Vol41(3) : 198-202.*
4. Fagundes DJ, Taha MO, Monteiro Souza EF. *Conduitas em Cirurgia*. Editora Atheneu: Adesivos em Cirurgia. São Paulo; 2001. P. 669-74.
5. Fagundes DJ, Taha MO, Rivoire HC. Adesivos cirúrgicos. Revisão e atualização. *JBM 2002;82(3):101-3.*
6. Fontes CER, Taha OM, Fagundes DJ, Ferreira MV, Prado Filho OR, Mardegam MJ. Estudo comparativo do uso de cola de fibrina e cianoacrilato em ferimento de fígado. *derato. Acta Cirúrgica Brasileira -2004; Vol19(1):37-42.*
7. Holcomb JB, Pulsateri AE, Hess JR, et al. Implications of New Dry Fibrine Sealant Technology of Trauma Surgery [ review ] . *Surg Clin North Am*. 1997; 77 : 943-52.
8. Holcomb JB, Pulsateri AE, . Dry Fibrine Dressings Reduce Blood Loss, Resuscitation Volume, and Improves Survival in Hypothermic Coagulopathic with Grade V Liver Injuries. *J Trauma*. 1999 ; 47 : 233-240.
9. Jackson MR, MacPhee MJ, Drohan WN, Alving BM. Fibrin sealant: current and potential clinical applications; Blood Coagul Fibrinolysis. *Surg Clin North Am 1996; 7(8):737-46.*
10. Matos Filho AS, Petroianu A, Alberti RL, Vidigal PVT, Dos Reis DCF Hemostasia hepática utilizando eletrocautério seco ou emplastrado com lidocaína ou neomicina ou glicerina ou vasilina, em coelhos. *Rev. Col.Bras.Cir-2009 ; Vol 36(5) : 442-448.*
11. Oliveira FM, Carvalho MV, Marchi E, Pinto CAL O adesivo biológico de colágeno, fibrinogênio e trombina é eficaz no tratamento de lesões hepáticas experimentais. *Rev.Col.Bras.Cir.-2016 Vol43(4): 254-261.*
12. Shapiro AJ, Dinsmore RC, North JH. Tensile strength of wound closure with cyanoacrylate glue. *Am Surg*; 2001; 67(11):1113-5.
13. Souza M, Fagundes DJ, Gomes PO, Ascensão AM, Guimarães CA, Mendonça Jr ITM, Guimarães AC, Martins VL. Fios de sutura – Uma revisão histórica. *Rev Ciênc Biol Saúde 2001;2(1):98-100*
14. Taha OM, De Rosa K, Fagundes DJ. The role of biological adhesive and suture material on rabbit hepatic injury. *Acta Cirúrgica Brasileira-2006; Vol.21(5): 310-31.*
15. Vicentine, Fernando Pompeu Piza et al. Pediatric liver transplantation with Ex-situ liver transection and the application of the human Fibrinogen and thrombin sponge in the wound area. *ABCD, arq. bras. cir. dig., Dec 2016, vol.29, no.4, p.236-239*