

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINARIA E ZOOTECNICA

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA E SEGURANÇA DOS
BIOMATERIAIS NA HEMOSTASIA EM NEFRECTOMIA
PARCIAL LAPAROSCÓPICA – ESTUDO EXPERIMENTAL EM
SUÍNOS**

Emerson Gonçalves **Martins** de Siqueira

apresentada

ao Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Animal,
Área de Cirurgia Experimental e Cirurgia de Pequenos
Animais, da Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia, Universidade Estadual Paulista – UNESP, para
obtenção do Título de mestre.

Botucatu – SP

Mês/ 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINARIA E ZOOTECNICA

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA E SEGURANÇA DOS
BIOMATERIAIS NA HEMOSTASIA EM NEFRECTOMIA
PARCIAL LAPAROSCÓPICA – ESTUDO EXPERIMENTAL EM
SUÍNOS**

DEmerson Gonçalves Martins de Siqueira dissertação

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Animal, Área de Cirurgia Experimental e Cirurgia de Pequenos Animais, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista – UNESP, para obtenção do Título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr^a Juliany Gomes Quitzan

Co-orientador: Prof. Dr^o Paulo Roberto Kawano

Botucatu – SP

Mês/ 2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Siqueira, Emerson Gonçalves Martins de.

Avaliação da eficácia e segurança dos biomateriais na hemostasia em nefrectomia parcial laparoscópica : estudo experimental em suínos / Emerson Gonçalves Martins de Siqueira. - Botucatu, 2016

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Juliany Gomes Quitzan

Coorientador: Paulo Roberto Kawano

Capes: 40102149

1. Nefrectomia. 2. Rins - Cirurgia. 3. Laparoscopia.
4. Cirurgia laparoscópica. 5. Materiais biomédicos.
6. Hemostasia.

Palavras-chave: Laparoscopia; Nefrectomia; Vídeo cirurgia.

Nome do autor: **Emerson Gonçalves Martins de Siqueira**

Botucatu, 20 de junho de 2016

**TÍTULO: AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA E SEGURANÇA DOS
BIOMATERIAIS NA HEMOSTASIA EM NEFRECTOMIA
PARCIAL LAPAROSCÓPICA – ESTUDO EXPERIMENTAL EM
SUÍNOS**

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

Prof^a Assistente doutora Dr^a Juliany Gomes Qutizan

Presidente e Orientadora

Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu – FMVZ Unesp

Prof^a Adjunto Dr^a Renee Laufer Amorim

Membro

Departamento de Clínica Veterinária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu – FMVZ Unesp

Prof^o Assistente Dr^o Hamilto Akihissa Yamamoto

Membro

Departamento de Urologia

Faculdade de Medicina de Botucatu – FMB Unesp

DEDICATÓRIA

À minha mãe, meu irmão e minha esposa

A tia Anésia (in memoriam)

Ao amigo Rodrigo Bucinskas Carnaz (in memoriam)

AGRADECIMENTOS

À faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia e Faculdade de medicina de Botucatu que abriram espaço para a realização do presente trabalho, assim como aos seus professores e servidores.

À equipe do Departamento de Urologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, do setor de patologia veterinária e cirurgia veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu.

À professora Juliany Gomes Quitzan pelo apoio pedagógico, técnico e psicológico dos últimos 4 anos.

À Minha mãe pelo exemplo de pessoa, por toda estrutura, apoio e incentivo.

Ao meu irmão William, alguém que sempre foi meu espelho e meu ídolo.

A minha esposa Flavia Vassalo pelo carinho e paciência durante todos estes anos.

Ao meu primo Matheus pelas palavras de sempre.

Ao meu pai.

A Tia Anésia (in memoriam) por ter auxiliado em minha criação com muito carinho.

A minha sogra Valquiria Vassalo que cuida de mim como cuida de sua filha. Ao meu sogro Mario Vassalo pelo exemplo de pai que é para mim. Um exemplo que seguirei por toda vida.

Aos amigos Cesar, João Augusto, Letícia Inamassu, Guilherme Matteucci, Bruno Ceolin , Roberto Naoe, Paola e Jean. Também aos amigos Xequê (in memoriam), Nayla (in memoriam) e Mille (in memoriam), Lola, Amy, Nero e Vitória.

Ao amigo Rodrigo Bucinkas Carnaz (in memoriam) uma mente brilhante que tão precocemente nos deixou. Que saiba que aonde eu for levarei seu nome.

Aos meus professores do Sesi 413, em especial a professora Arminanda Regina que abriu meus olhos para a área de biológicas e para o desenvolvimento do meu raciocínio. Também a professora Heloisa Lebrão Machado quem me ajudou a conhecer um mundo diferente e em minha formação de opinião.

Aos meus professores do colégio objetivo em especial a Paulo Coutinho, Claudio Recco e Daily Matos.

Ao senhor Nilo Antunes e professora Vera que acreditaram em mim quando nem mesmo eu acreditava. Hoje só chego ao fim desse projeto graças a eles.

SUMÁRIO

Capítulo I

1. Introdução	10
2. Revisão de Literatura	11

Capítulo II

Introdução

3. Objetivos	16
4. Material e Métodos	16
4.1. Animais de experimentação	16
4.2. Grupos experimentais.....	17
4.3. Sequência experimental.....	18
4.4. Cuidados pós operatórios	21
4.5. Eutanásia	21
4.6. Análise histopatológica do rim.....	21
4.7. Análise Estatística	22
5. Resultados.....	23
5.1. Tempo de cirurgia	23
5.2. Tempo de sangramento	23
5.3. Perda sanguínea.....	24
5.4. Análise histopatológica	25
5.4.1. Necrose	25
5.4.2. Tecido de granulação.....	25
5.4.3. Presença de células gigantes multinucleadas	26
5.4.4. Inflamação	27
5.4.5. Complicações	28
6. Discussão.....	29
7. Conclusão.....	32
8. Referências Bibliográficas	33
9. Apêndices.....	37

SIQUEIRA, E.G.M. Avaliação da eficácia e segurança dos biomateriais na hemostasia em nefrectomia parcial laparoscópica – estudo experimental em suínos. Botucatu, 2014. 33p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Cirurgia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

Nas cirurgias laparoscópicas, os agentes hemostáticos apresentam importância quando atuam no controle eficaz do sangramento e diminuição do tempo cirúrgico. Assim o presente trabalho propõe a realização de nefrectomia parcial laparoscópica e a realização de hemostasia com diferentes agentes hemostáticos, visando avaliar sua eficácia no controle de sangramento transoperatório e biocompatibilidade. Um dos grupos não utilizou qualquer agente hemostático, sendo a hemostasia realizada por isquemia por clampeamento. Os outros dois grupos utilizaram como agentes hemostáticos submucosa intestinal suína e uma esponja de gelatina suína purificada. No presente estudo foi observada biocompatibilidade com ambos os materiais analisados, porém foi constatada menor perda sanguínea transoperatória no grupo que utilizou a gelatina suína purificada.

Palavras chave: cirurgia; rim; videocirurgia; biocompatibilidade; sangramento.

SIQUEIRA, E.G.M. The efficacy and safety evaluation of biomaterials in hemostasis in laparoscopic partial nephrectomy - experimental study in pigs. Botucatu, 2014. 33p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Cirurgia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

Malignant tumors represent a high incidence in medical clinic service, being the most frequently histopathologic type the renal cells carcinoma (RCC). Radiodiagnosis progress allows us to discover these tumors earlier. Thereby, less invasive technics became increasingly necessary. In low invasive surgery procedures, hemostatic agents showed importance specially by the opportunity to decrease surgical duration and by their biocompatibility. Therefore, this study proposes the execution of parcial laparoscopic nefrectomy with hemostasis with diferent hemostatic agents, aiming to evaluate their efficacy in controlling transoperative bleeding and biocompatibility. one of the groups did not used any kind of hemostatic agent, being the hemostasia done by ischemic clamping. The other two groups used hemostatic agents, like suine intestinal submucousa and a sponge made of suine purified skin. The present study was observed biocompatibility with both hemostatic agents used, however it was found less transoperative bleeding in the group that used suine purified skin.

Keywords: surgery; kidney; videosurgery; biocompatibility; bleeding.

Capítulo 1

1. INTRODUÇÃO

Os tumores malignos de rim e pelve renal compreendem aproximadamente 3% dos casos novos de câncer em humanos nos Estados Unidos (SIEGEL et al., 2015), sendo o carcinoma de células renais (CCR) o tipo histológico mais comum (MEUTEN et al., 2008). Os avanços tecnológicos, sobretudo na área de radiodiagnóstico contribuíram para a descoberta cada vez mais precoce desses tumores.

Assim como ocorreu no diagnóstico, novas modalidades terapêuticas evoluíram com a finalidade de impactar positivamente na sobrevida dos pacientes portadores de CCR (BRYAN et al., 2006). Neste contexto, métodos alternativos minimamente invasivos têm sido propostos visando diminuir a morbidade relacionada ao trauma da cirurgia aberta (DOUGALL et al., 1996; GILL et al 1999, SHARIATI et al., 2014.). Seja qual for a técnica empregada o objetivo da cirurgia é a completa extirpação tumoral associada a preservação de néfrons (RUSSO et al., 2010). A crioablação (GILL et al., 2000), radiofrequência, radiocirurgia e nefrectomia parcial laparoscópica são algumas das opções atualmente disponíveis dentro deste arsenal terapêutico (RUSSO et al., 2010).

Inicialmente, a indicação da nefrectomia parcial laparoscópica (NPL) limitava-se a pequenos tumores periféricos, sendo hoje expandida até mesmo para tumores hiliares e em estádios maiores (TURNER et al., 2008). Uma das principais preocupações durante a NPL é a obtenção de adequada hemostasia. Diferentes materiais já foram sugeridos com esta finalidade, tais como a matriz gelatinosa de trombina, gel de Wbrin, cola de cianoacrilato, celulose oxidada, submucosa intestinal suína (SIS), gelatina suína

purificada, entre outros (BREDA et al., 2007, MSEZANE, 2008; NAITOH et al., 2013). Embora haja comprovado benefício, não existe consenso, até o presente momento, acerca do agente hemostático (AH) ideal (BREDA et al., 2007).

O presente estudo justifica-se pelo crescente uso das cirurgias laparoscópicas nas diferentes modalidades médicas e necessidade de uso de agentes hemostáticos eficazes, especialmente em cirurgias urológicas, onde incluem-se as nefrectomias parciais. Neste contexto, objetiva-se avaliar a eficácia hemostática e integração tecidual de dois diferentes biomateriais - a submucosa intestinal suína e a gelatina suína purificada, após nefrectomia parcial laparoscópica em suínos, comparando-os entre si e com o grupo isquemia, onde nenhum agente hemostático foi utilizado.

Constituem-se objetivos específicos:

- Avaliar os parâmetros intra-operatórios (tempo cirúrgico, tempo de sangramento e perda sanguínea) nos animais dos diferentes grupos, comparando-os entre si e com o grupo onde foi realizada somente isquemia;
- Avaliar a integração dos agentes hemostáticos ao tecido renal de acordo com parâmetros histopatológicos (inflamação, presença de células gigantes multinucleadas, necrose e tecido de granulação), comparando-os entre si e com o grupo isquemia, onde nenhum agente hemostático foi utilizado;
- Avaliar as possíveis complicações cirúrgicas agudas, decorrentes do procedimento cirúrgico, nos diferentes grupos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A acessibilidade aos avanços tecnológicos na área de radiodiagnóstico, destacando-se a popularização da ultrassonografia e da tomografia computadorizada

contribuiu para que os tumores renais passassem a ser diagnosticados com maior frequência em exames de imagem de rotina (PANTUCK et al., 2001). Entre os anos de 1950 e 2000, serviços norte-americanos registraram aumento de 126% na casuística do CCR. No entanto, apesar do aumento no número de diagnósticos, a detecção de tumores menores e em estádios mais precoces (BRYAN et al., 2006) fez com que a taxa de mortalidade dos pacientes acometidos por esta condição fosse três vezes menor que sua incidência no mesmo período (PANTUCK et al., 2001).

Durante muito tempo, a nefrectomia radical (NR) foi considerada o “padrão ouro” na abordagem dos tumores renais. Sua alta morbidade (HUANG et al. 2009) associada aos potenciais riscos de precipitação de insuficiência renal crônica (CAPITANIO et al., 2015) contribuíram para a popularização de modalidades de tratamento menos agressivas (SUN et al., 2012). Sendo assim, a nefrectomia parcial aberta (NPA) passou a ser indicada para tumores renais menores que quatro centímetros, mostrando resultados oncológicos equivalentes aos da nefrectomia radical. Lee e colaboradores (2000) compararam os resultados da nefrectomia radical e parcial no tratamento de tumores renais menores ou iguais a quatro centímetros e observaram que não houve diferença na sobrevida livre de doença em cinco anos (97% e 95%, respectivamente), sem recorrências em ambos os casos (LEE et al, 2000). Apesar da NPA ter representado um avanço no tratamento do CCR, a constante busca por vias de acesso menos invasivas acabou por resultar no aprimoramento da cirurgia preservadora de néfrons por via laparoscópica e, mais recentemente, robô-assistida (LESLIE et al., 2013; HOU et al., 2015)

A nefrectomia laparoscópica consagrou-se ao longo do tempo como um método rápido, seguro e menos invasivo que a nefrectomia aberta convencional, com seu uso cada vez mais difundido tanto em procedimentos radicais quanto parciais (RUSSO et

al., 2010). É importante ressaltar, que independentemente da via endoscópica utilizada, seja ela laparoscópica ou robótica, esta deve ser tão eficiente quanto a técnica aberta a fim de manter os princípios oncológicos do tratamento cirúrgico do tumor renal e, conseqüentemente, seus resultados funcionais (MSEZANE, et al., 2008; TEH et al., 2010; NAITOH et al., 2013, LESLIE et al., 2013).

Embora a primeira nefrectomia parcial laparoscópica (NPL) tenha sido realizada em 1993 por Winfield e colaboradores, a experiência com este tipo de abordagem se limitou a tumores pequenos, periféricos e exofíticos durante muitos anos (TURNA et al, 2008). Essas indicações foram sendo cautelosamente expandidas e, atualmente, incluem tumores mais desafiadores como lesões centrais, híliares, tumores em rim único e até tumores em estadios maiores (TURNA et al, 2008).

O aperfeiçoamento da laparoscopia e a evolução dos equipamentos fez com que os resultados entre as técnicas aberta ou fechada fossem se tornando cada vez mais semelhantes, demonstrando inclusive que a lesão tecidual e o sangramento trans-operatório são significativamente menores no procedimento laparoscópico (ZIMMERMANN et al., 2008). No entanto, a dificuldade em se obter adequada hemostasia após excisão de parte do tecido renal ou extirpação tumoral é um importante fator que tem sido continuamente abordado (RUSSO et al., 2010). Celia e colaboradores (2008) concluíram que as maiores taxas de complicações em nefrectomia laparoscópica ainda correspondem à hemorragia, extravasamento de urina e falência renal, sendo o sangramento o principal responsável pela re-intervenção e conversão para cirurgia aberta (MCGINIIS et al., 2000; ZIMMEMANN et al., 2008).

Inúmeros estudos discorrem sobre o tema, abordando desde técnicas simples de clampeamento da artéria, resultando em hipoperfusão regional com clampes tipo “bulldog”, pinças Satinsky e torniquete de Rumel, até a utilização de materiais e

equipamentos empregados com objetivo de reduzir as complicações hemorrágicas durante a cirurgia laparoscópica (ZIMMERMANN et al., 2008).

O uso de selantes e colas teciduais como agentes hemostáticos (AH) renais têm sido preconizados há mais de 25 anos, com vários estudos sugerindo que, além de otimizar a hemostasia, estes biomateriais podem auxiliar na reparação do sistema coletor (PRUTHI et al, 2004; GILL et al, 2005; KLINGLER et al, 2006; ARON et al, 2007). Os agentes hemostáticos podem agir como selante primário ou atuar de forma sinérgica em regiões previamente suturadas (KHEIRABADI et al., 2002; ZIMMERMANN et al., 2008).

Bergel e colaboradores (1909), utilizando o plasma seco para facilitar a hemostasia trouxe o primeiro relato dentre a literatura referenciada. Ramakumar e colaboradores (2002) descreveram o uso de um hidrogel sintético biodegradável a base de polietilenoglicol após nefrectomias parciais laparoscópicas em suínos, obtendo hemostasia imediata e sobrevida em 100% dos casos. Estes autores também comparam outros trabalhos que utilizaram cola de fibrina ao produto sintético testado. A penetração do polímero desde as camadas mais superficiais, sem depender de sangramento para adesão é vantajosa, podendo ser mais eficaz que os sistemas a base de fibrina. Além disso os autores, inferem que a utilização de um polímero totalmente sintético reduz o risco de inflamação e infecção, que podem ocorrer nos selantes biológicos como a cola de fibrina.

Existem muitas fórmulas de colas biológicas comercialmente preparadas, constituindo-se basicamente de uma associação de fibrinogênio e trombina que, quando aplicadas em conjunto formam uma rede de fibrina sobre a superfície cruenta (MSEZANE et al., 2008). Este contato com o sangramento é necessário para ativação do produto, uma vez que mimetizam o passo final da cascata de coagulação, por

combinarem a trombina e o fibrinogênio (HONG et al., 2005; MSEZANE et al., 2008). São desvantagens dos selantes biológicos possibilidade de reação alérgica (MCGINNIS et al. 2000), além do tempo de preparo e custo elevado, que podem desencorajar o uso rotineiro destes tipos de materiais (HONG et al., 2005; NAITOH et al. 2013).

O custo do agente hemostático pode ser um fator limitante em alguns casos, incluindo usos em laparoscopia (NAITOH et al., 2013). Msezane e colaboradores (2008) compararam diversos agentes hemostáticos, avaliando o custo individual entre eles. Avaliaram também que quanto maior o número de agentes hemostáticos empregados, tanto maior será o custo. Por isso, investimentos em tecnologia e pesquisa buscam desenvolver novos selantes eficazes de custo acessível ou ainda aprimorar os hemostáticos já existentes (NAITOH et al., 2013). Alguns hemostáticos de aplicação direta sobre a superfície sangrante atualmente comercializados são celulose oxidada (Surgicell®), matriz colágena suína (Gelfoam®, Surgifoam®, Spongostan®, Surgiflo®), matriz colágena bovina associada a trombina (Flo seal®), submucosa intestinal suína (Surgisis®) dentre outros (GILL et al., 2005; HONG et al., 2005; MSEZANE et al., 2008).

O Gelfoam® é uma esponja gelatinosa bioabsorvível. Os trabalhos sobre este material datam desde a década de 40, sendo nesta época composto por celulose oxidada sem associação com fibrina (MACDONALD et al., 1946). Em 1948, Macdonald e colaboradores descreveram seu uso como a gente auxiliar em nefrotomias, exibindo boa eficácia e pouca ou nenhuma reação tecidual. Atualmente, trata-se de uma esponja gelatinosa obtida a partir de gelatina suína purificada, assim como outros produtos citados, incluindo Spongostan®. A composição colágena é associada a trombina para auxiliar o efeito hemostático, sendo amplamente utilizado como método hemostático auxiliar ou definitivo (CALTON et al., 2015). A absorção do material ocorre em 8-12

semanas, segundo acompanhamento tomográfico feito por LALL e colaboradores (2012). Embora seja considerado importante método auxiliar na hemostasia, uma potencial desvantagem é a necessidade de aplicação da esponja diretamente sobre a superfície sangrante para adequada oclusão (RAMAKUMAR et al., 2002).

Ferreti e colaboradores (2012) realizaram um estudo experimental com ratos, avaliando a eficácia de um novo agente hemostático sintético à base de celulose regenerada oxidada eterificada (Bloodstop IX® - Life Science Plus). Neste estudo, os autores compararam a eficácia hemostática em nefrectomia parcial bilateral entre Bloodstop e Surgicel® (celulose oxidada) e, frente a injúria de aorta, comparando Bloodstop, Surgicel® e Gelfoam®. O melhor efeito hemostático em ambas as situações foi obtido com o uso do Bloodstop IX®, sendo porém a esponja colágena de gelatina suína (Gelfoam®) superior ao Surgicel®.

Outro agente com uso em destaque nas nefrectomias parciais laparoscópicas é a membrana de submucosa intestinal suína (SIS). Fragmentos intestinais passaram a ter importância médica como substitutos teciduais quando, há cerca de 40 anos, foi realizada a substituição vascular por uma pequena porção de intestino. Desde então, a submucosa intestinal suína tem ganhado relevância. A SIS é descelularizada, translúcida, flexível e resiliente contendo fibras de colágeno I, III e VI. A descelularização diminui a antigenicidade tecidual e, além disso, inibe ou retarda o depósito de cálcio e debris nas membranas celulares, respeitando os princípios da bioengenharia, que visa a formação de um tecido biocompatível e com a menor antigenicidade possível (ANDRÉE et al., 2013).

A SIS foi utilizada por Schnoeller e colaboradores (2011), no tratamento de tumores até 4 cm, de forma combinada com outros agentes hemostáticos como o FloSeal® (Baxter) para fechar grandes defeitos. A membrana foi acomodada por meio

de sutura na capsula renal e teve bons efeitos hemostáticos. Uma nova avaliação realizada por Schnoeller et al., (2013) avaliaram que a SIS pode ser útil em nefrectomias parciais mais invasivas, onde tumores maiores que 5 cm forem removidos.

REFERENCIAS

ARON, M.; GILL, I. S. Minimally invasive nephron-sparing surgery (MINSS) for renal tumours: Part I: laparoscopic partial nephrectomy. **European Urology**, v. 51, n. 2, p. 337-347, 2007.

BERGEL, S. Über wirkungen des fibrins. **Deutsche Medizinische Wochenschrift**, v. 35, p. 633, 1909.

BERGEL, S. Über wirkungen des fibrins. **Deutsche Medizinische Wochenschrift**, v.35, p. 633, 1909.

BRYAN, J. N. et al. Primary renal neoplasia of dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 20, n. 5, p. 1155-1160, 2006.

CAPITANIO, U. et al. Nephron-sparing techniques independently decrease the risk of cardiovascular events relative to radical nephrectomy in patients with a T1a–T1b renal mass and normal preoperative renal function. **European Urology**, v. 67, n. 4, p. 683-

CELIA, A. et al. Laparoscopic nephron sparing surgery: a multi-institutional European survey of 592 cases. **Archivio Italiano di Urologia, Andrologia**, v. 80, n. 3, p. 85-91, 2008.

GILL, I. S. et al. Improved hemostasis during laparoscopic partial nephrectomy using gelatin matrix thrombin sealant. **Urology**, v. 65, n. 3, p. 463-466, 2005.

GILL, I. S.; NOVICK, A. C. Renal cryosurgery. **Urology**, v. 54, n. 2, p. 215-219, 1999.
hemostatic agents with fibrin sealant in a rabbit aortic anastomosis model. **Journal of**

- hemostatic agents with fibrin sealant in a rabbit aortic anastomosis model. **Journal of**
- HONG, Y. M.; LOUGHLIN, K. R. The use of hemostatic agents and sealants in urology. **The Journal of Urology**, v. 176, n. 6, p. 2367-2374, 2006.
- HOU, W.; ZHIGANG, J. I. Achieving zero ischemia in minimally invasive partial nephrectomy surgery. **International Journal of Surgery**, v. 18, p. 48-54, 2015.
- KHEIRABADI, B. S. et al. Comparative study of the efficacy of the common topical
- KLINGLER, C. H. et al. Haemostasis in laparoscopy. **European Urology**, v. 50, p.
- LEE, C. T. et al. Surgical management of renal tumors 4 cm. or less in a contemporary
- LESLIE, S. et al. Partial nephrectomy: contemporary indications, techniques and outcomes. **Nature Reviews Urology**, v. 10, n. 5, p. 275-283, 2013.
- MCGINNIS, D. E.; STRUP, S. E.; GOMELLA, L. G. Management of hemorrhage during laparoscopy. **Journal of Endourology**, v. 14, n. 10, p. 915-920, 2000.
- MSEZANE, L. P. et al. Hemostatic agents and instruments in laparoscopic renal surgery. **Journal of Endourology**, v. 22, n. 3, p. 403-408, 2008.
- NAITOH, Y. et al. Hemostatic effect of new surgical glue in animal partial nephrectomy models. **Urology**, v. 81, n. 5, p. 1095-1100, 2013.
- of renal cell carcinoma. **The Journal of Urology**, v. 166, n. 6, p. 1611-1623, 2001.
- PANTUCK, A. J.; ZISMAN, A.; BELLDERGRUN, A. S. The changing natural history paradigm shift. **Annals of Surgical Oncology**, v. 19, n. 7, p. 2380-2387, 2012.
- PRUTHI, R. S.; CHUN, J.; RICHMAN, M. The use of a fibrin tissue sealant during laparoscopic partial nephrectomy. **BJU International**, v. 93, n. 6, p. 813-817, 2004.
- RAMAKUMAR, S. et al. Local hemostasis during laparoscopic partial nephrectomy
- RUSSO, P. Partial nephrectomy for renal cancer (part II): the impact of renal ischaemia, patient preparation, surgical approaches, management of complications and utilization. **BJU International**, v. 105, n. 11, p. 1494-1507, 2010.

SCHNOELLER, T. J. et al. Partial nephrectomy using porcine small intestinal submucosa. **World Journal of Surgical Oncology**, v. 9, n. 126, p. 1-5, 2011.

SUN, M. et al. Treatment management of small renal masses in the 21st century: a

TEH, G. C. Laparoscopic approach to small renal mass. **Urologic Oncology**, v. 28, n. 6, p. 682-685, 2010.

TURNA, B. et al. Expanding indications for laparoscopic partial nephrectomy. **Urology**, v. 72, n. 3, p. 481-487, 2008.

ZIMMERMANN, R.; JANETSCHEK, G. Complications of laparoscopic partial nephrectomy. **World Journal of Urology**, v. 26, n. 6, p. 531-537, 2008.

Capítulo 2

A evolução dos métodos diagnósticos possibilitou o reconhecimento de neoplasias cada vez menores na rotina médica, fazendo com que técnicas menos invasivas fossem desenvolvidas. Dentre essas técnicas, a nefrectomia parcial laparoscópica desponta pela mínima invasão e exérese com boa margem de segurança.

A remoção com menor invasão é viabilizada também pela utilização de agentes hemostáticos. Diversos são os agentes hemostáticos comerciais utilizados na rotina médica. Com o objetivo auxiliar a investigação científica pela busca de agentes hemostáticos eficientes e biocompatíveis, o presente estudo propõe avaliar os resultados intra-operatórios e histopatológicos da aplicação da matriz acelular de colágeno (SIS) e da gelatina suína purificada (GSP), utilizando modelo suíno submetido à nefrectomia parcial laparoscópica.

3. OBJETIVOS

- Geral: o presente estudo objetivou avaliar a eficácia hemostática e integração tecidual de dois diferentes biomateriais, a submucosa intestinal suína e a gelatina suína purificada após nefrectomia parcial laparoscópica em suínos, comparando-os entre si e com o grupo isquemia, onde nenhum agente hemostático foi utilizado;
- Específicos: avaliar os parâmetros intra-operatórios (tempo cirúrgico, tempo de sangramento e perda sanguínea) nos animais dos diferentes grupos, comparando-os entre si e com o grupo onde foi realizada somente isquemia;
- Avaliar a integração dos agentes hemostáticos ao tecido renal de acordo com parâmetros histopatológicos (inflamação, presença de células gigantes multinucleadas,

necrose e tecido de granulação), comparando-os entre si e com o grupo isquemia, onde nenhum agente hemostático foi utilizado;

- Avaliar as possíveis complicações cirúrgicas agudas, decorrentes do procedimento cirúrgico, nos diferentes grupos.

4 . MATERIAL E MÉTODOS

4.1.ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

Para realização do experimento, foram utilizados 21 porcos mestiços da raça Duroc (americana) com Laijuait (francesa), com peso variando entre 20 a 25 kg. Com uma semana de antecedência ao início do experimento, os animais foram acondicionados no Biotério da Faculdade de Medicina – UNESP Botucatu em baias de cimento, com dois metros de largura por três de comprimento, para adaptação ao novo ambiente. Os animais foram mantidos à temperatura ambiente e com ciclos de iluminação natural, com livre acesso à água e ração e monitorização regular da ingesta. Exames hematológicos e de função renal (uréia e creatinina) foram realizados e somente animais com resultados dentro da normalidade foram incluídos no estudo.

De acordo com as normas de ética em pesquisa animal, este trabalho foi previamente submetido a análise e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina de Botucatu (Protocolo nº 0337).

4.2.GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os 21 animais objetos da pesquisa foram randomicamente distribuídos em três grupos:

- ☐ Grupo Isquemia (GIsq) (n=7 animais): os animais foram submetidos à nefrectomia parcial laparoscópica esquerda, com remoção de 20% do parênquima renal. A

hemostasia da superfície renal foi obtida clampeando-se o pedículo renal de forma intermitente, com liberação da artéria a cada dois minutos, até que a hemorragia cessasse espontaneamente, sem capsulorrafia renal.

- Grupo SIS (GSis) (n=7 animais): mesmo procedimento cirúrgico descrito para Gisq; porém, a hemostasia foi obtida pelo recobrimento da superfície renal com membrana de submucosa intestinal suína em quatro camadas¹ (Figura 1A), disposta de forma a recobrir completamente a área cruenta e sem associação com capsulorrafia renal.
- Grupo Gelatina Suína Purificada (GGsp) (n=7 animais): mesmo procedimento cirúrgico descrito para Gisq, sendo que a hemostasia foi obtida pelo recobrimento da superfície renal por esponja de gelatina suína purificada² (Figura 1B) disposta de forma a recobrir completamente a área cruenta e sem associação com capsulorrafia renal.

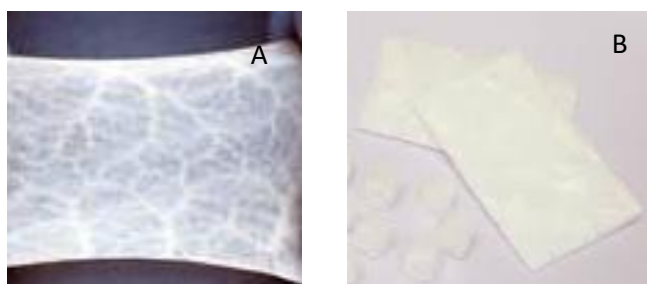


FIGURA 1 (A) - Aspecto macroscópico da Submucosa intestinal Suína (SIS), (B) - Gelatina suína purificada (GSP).

4.3.SEQUENCIA EXPERIMENTAL

¹ SIS®. Bloomington (IN-USA) – Cook Medical

² Spongostan®. USA: Ethicon Jhonson & Johnson

Todos os animais foram mantidos em jejum pré-operatório de 12 horas. Antes do procedimento cirúrgico, a sedação foi feita com acepromazina₃ (0,1mg/kg), quetamina₄ (15 mg/kg) e midazolan (0,5 mg/kg)₅, associados na mesma seringa e administrada por via intramuscular. Após canular a veia marginal da orelha com cateter intravenoso 22G, a indução anestésica foi realizada com Propofol₆, (5 mg/kg), seguida da intubação orotraqueal, com auxílio de laringoscópio. A manutenção da anestesia foi realizada com isoflurano₇ (100g/100mL) administrado por via inalatória em mistura de gases com oxigênio a 50%.

A hidratação foi mantida por meio da infusão intravenosa de solução de ringer lactato⁸ na razão de 10mL/kg/minuto, sendo intensificada de acordo com as variações dos sinais vitais do animal ou proporcionalmente à perda sanguínea no intra-operatório, objetivando a manutenção da estabilidade hemodinâmica. Adicionalmente, durante todo o procedimento cirúrgico, os animais tiveram seus parâmetros clínicos rigorosamente monitorizados com auxílio de monitor multiparamétrico Dixtal e oximetria de pulso.

Os animais foram então posicionados em goteira de Claud-Bernard em decúbito lateral direito a 45° sendo realizada antissepsia com solução de iodopovidona tópica⁹ e colocação dos campos estéreis, conforme padronização pelas técnicas cirúrgicas convencionais.

3 Acepran® [2mg/mL]. São Paulo: Vetnil

4 Vetaset®[100 mg/mL]. São Paulo: Zoetis

5 Dormonid® [5m/5mL]. São Paulo:Cristália

6 Diprivan® - [10mg/mL]. São Paulo: Cristália

7 Vetflurano®[100g/100mL]. São Paulo: Virbac

8 Fresenius®: Barueri; Fresenius Kabi Brasil LTDA

9 Solução de iodopovidine tópico a 10%. São José do Rio Preto; Rioquímica LTDA

O pneumoperitônio foi obtido a partir da punção abdominal com agulha de Veress, lateralmente à cicatriz umbilical. Após assegurar-se do correto posicionamento da agulha na cavidade peritoneal, iniciou-se a insuflação com gás carbônico por meio de insuflador modelo Cubot Medical Eletronic Insuflator[®] 2001 - Schultz[®], à velocidade de três litros por minuto, até a obtenção da pressão intraperitoneal máxima de 15 cmH₂O.

O primeiro trocarte de 10mm foi introduzido imediatamente acima da cicatriz umbilical, na musculatura do reto-abdominal a fim de comportar a lente 0° acoplada ao sistema de vídeo-câmera. Dois outros trocartes adicionais, um de cinco e outro de dez milímetros, foram posicionados na cavidade abdominal, sob visão direta, na linha axilar média esquerda, distando entre si cerca de 15 centímetros a fim de permitir a livre movimentação das pinças de laparoscopia. O trocarte de 10mm foi locado sempre de acordo com a mão dominante do cirurgião e utilizado para permitir a passagem de gases e de outros materiais, como o clipador.

Após o inventário da cavidade e identificação do ureter esquerdo, o pólo renal inferior ipsilateral foi exposto por meio de cuidadosa dissecação. A fim de se evitar sangramento incoercível durante o procedimento, a artéria renal foi previamente dissecada, isolada e reparada com auxílio de uma fita cardíaca. O diâmetro crânio-caudal do rim foi então aferido com auxílio de uma fita métrica estéril, graduada em centímetros, introduzida na cavidade pelo portal de 10 mm. Tomando-se como base o valor obtido, um segmento do pólo inferior do rim esquerdo correspondente a 20% do comprimento total foi excisado com auxílio de tesoura fria, sem uso de cautério ou manobra que pudesse interferir na hemostasia local.

Nos animais do GIsq, após a nefrectomia parcial, a artéria renal foi mantida tracionada durante dois minutos, visando assim a obtenção de hemostasia espontânea da

área cruenta. Nos animais em que não houve interrupção do sangramento, dois minutos adicionais de tração do pedículo foram acrescentados para obtenção da hemostasia.

Nos demais grupos, os devidos agentes hemostáticos foram posicionados sobre a área cruenta após realização da nefrectomia parcial, sendo neste momento liberada a tração da artéria renal (submucosa intestinal suína – GSis ou gelatina suína purificada - GGsp). A remoção do fragmento desvitalizado foi realizada ampliando-se o portal supra-umbilical, a fim de permitir a passagem da peça cirúrgica acondicionadas em saco coletor.

As gazes utilizadas durante e após o procedimento foram pesadas em balança de precisão. Descontou-se então o peso da gaze seca e o valor obtido convertido em mililitros (mL). O sangue total coletado do aspirador para adequada estimativa da perda sanguínea intra-operatória foi mensurado (mL) e este valor foi acrescentado ao peso das gazes. Em seguida, foi realizado fechamento dos portais por meio de sutura tipo sultan em musculatura, seguido por dermorrafia com pontos simples separados.

Após o término do procedimento cirúrgico, os animais foram extubados e mantidos em observação até a recuperação da consciência.

Considerou-se o tempo de cirurgia (TC) como o tempo decorrente desde a confecção do pneumoperitônio até a sutura dos portais da laparoscopia. Foi considerado tempo de sangramento o intervalo dado entre a soltura do clampeamento da artéria renal até o cessar completo do extravasamento de sangue, seja pelo parênquima ou pelos bordos do agente hemostático. O tempo de cirurgia, tempo de sangramento, a perda estimada de sangue no intra-operatório e as complicações pós-operatórias foram individualmente anotadas para cada animal, dos diferentes grupos.

4.4.CUIDADOS PÓS OPERATÓRIOS

No pós-operatório, os animais permaneceram em baias individuais, alimentação foi re-introduzida, assim como a ingesta hídrica, sendo fornecidas “*ad libitum*”. A antibioticoprofilaxia foi realizada com administração de Enrofloxacin¹⁰ por via intramuscular, na dose de 7mg/kg a cada 24 horas, iniciada no intra-operatório e mantida pelos sete dias subseqüentes, até o momento da eutanásia. Os animais receberam ainda morfina¹¹ e dipirona¹² a cada 12 horas, nos primeiros 3 dias de pós-operatório.

4.5.EUTANÁSIA

No sétimo dia de pós-operatório, os animais foram sedados de acordo com protocolo descrito anteriormente, a veia marginal da orelha foi novamente cateterizada com cateter intravenoso 22G, permitindo aplicação de tiopental sódico¹³ até obtenção de plano anestésico IV da Escala de Guedel. A eutanásia foi então realizada mediante injeção intravenosa de cloreto de potássio 19,1%¹⁴ (1 mL/kg). Após laparotomia mediana convencional e avaliação macroscópica, o rim esquerdo foi removido, seccionado longitudinalmente e armazenado em formaldeído 10%.

4.6.ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DO RIM

Após fixação em formaldeído, o processamento do material foi realizado seguindo técnica padronizada para obtenção de lâminas coradas com hematoxilina-eosina, pelo Laboratório de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e

¹⁰ Chemytril®[25mg/mL]. São Paulo; Chemitec

¹¹ Dimorf®[10mg/ml].São Paulo; Cristália

¹² Pironal®[500mg/ml]. Minas Gerais. Lema

¹³ Thiopentax®[1g]. São Paulo;Cristalia

¹⁴ Cloreto de potássio 19,1%. Precabura – CE. Isofarma

Zootecnia – UNESP – Botucatu. A leitura das lâminas foi feita de modo cego, sem que o patologista conhecesse a técnica hemostática utilizada. A análise histopatológica avaliou em todas as peças dos animais dos diferentes grupos o grau de inflamação, necrose, tecido de granulação, presença de células gigantes e demais alterações individuais. Para classificar as lesões, foi atribuído um escore de 0 a 3, sendo considerado 0 a ausência do parâmetro avaliado, 1- leve, 2- moderado e 3- intenso.

As Figuras 2a e 2b indicam os locais de inserção do GSP e SIS.

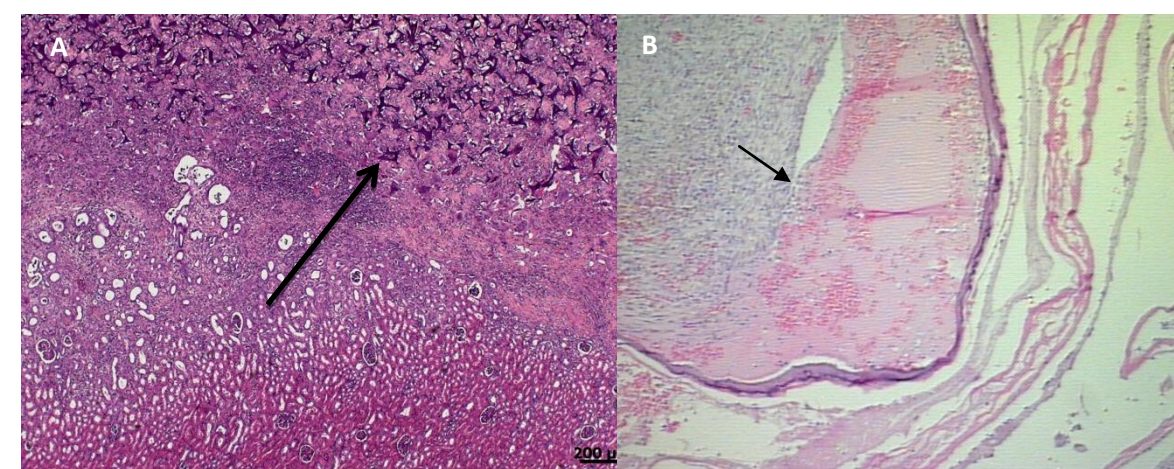


Figura 2- (A) - Corte do rim, com presença do GSP (seta). Hematoxilina e eosina (HE) (x20), (B) – corte do rim, com visualização do SIS (seta). Hematoxilina e eosina (HE) (x10)

4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise dos dados referentes a cirurgia, foi utilizado teste não paramétrico teste Kruskal Wallis para avaliação do tempo cirúrgico, tempo de sangramento e perda sanguínea. Foram considerados apenas quando $p < 0.05$. A análise das complicações cirúrgicas foi descritiva.

A avaliação histopatológica também utilizou o teste Kruskal Wallis e graduando em escore de 0-3 os graus de necrose, tecido de granulação e presença de células gigantes. Também foram considerados apenas os valores com $p < 0.05$. Também foi

realizada análise de contigência com relação a presença de ausência ou presença de células gigantes e de inflamação ($p < 0.05$).

5. RESULTADOS

5.1.TEMPO DE CIRURGIA

A Figura 3 mostra a comparação entre os tempos cirúrgicos nos 3 grupos do estudo. A média e o desvio padrão dos tempos cirúrgicos não diferiu estatisticamente entre GSis ($40,43 \pm 6,24$) e GGsp ($57,86 \pm 13,8$). Ao compará-los com o tempo cirúrgico do GIsq ($37,86 \pm 13,8$), onde nenhum agente hemostático foi utilizado, houve diferença significativa com GGsp ($p=0,02$).]

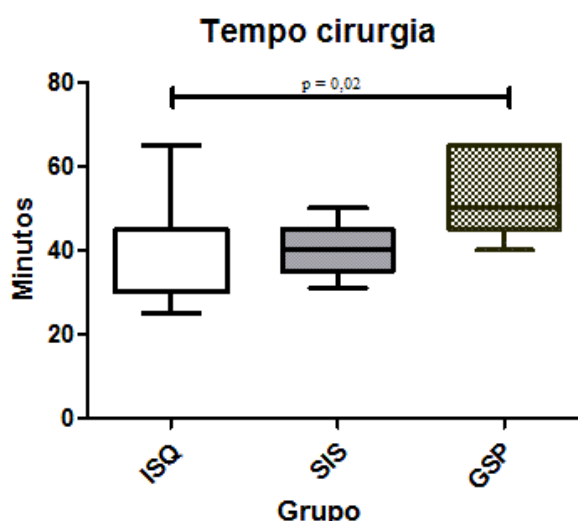


Figura 3. Representação gráfica das variações entre a média e o desvio padrão dos tempos cirúrgicos, em minutos, dos animais submetidos aos métodos hemostáticos nos diferentes grupos – isquemia (Isq), submucosa intestinal suína (Sis) e gelatina suína purificada (Gsp), com diferença estatística entre GIsq e GGsp ($p = 0,02$).

5.2.TEMPO DE SANGRAMENTO

Não houve diferença estatística entre os tempos de sangramento nos diferentes grupos - GIsq ($424 \pm 166,5$), GSis ($249,3 \pm 158,9$), GGsp ($219,0 \pm 181,0$).

A Figura 4 mostra a comparação entre os tempos de sangramento nos 3 grupos do estudo.

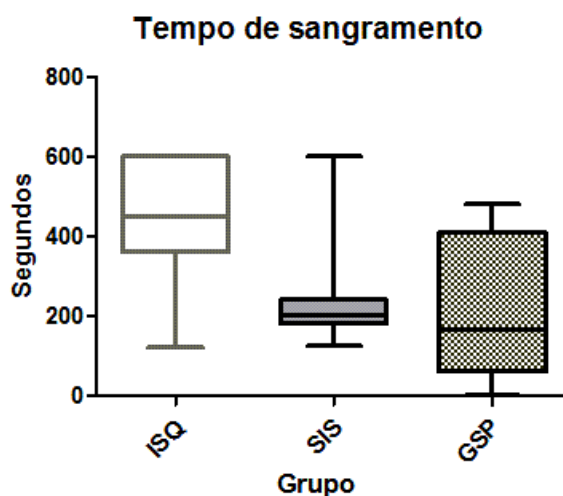


Figura 4. Representação gráfica das variações entre a média e o desvio padrão dos tempos de sangramento dos animais submetidos aos métodos hemostáticos nos diferentes grupos – isquemia (Isq), submucosa intestinal suína (Sis) e gelatina suína purificada (Gsp), sem diferença estatística significativa entre os grupos ($p = 0,1$)

5.3.PERDA SANGUÍNEA

A Figura 5 compara a perda sanguínea intra-operatória nos 3 grupos do estudo. A média e o desvio padrão não diferiu estatisticamente entre GSis ($72,14 \pm 27,67$) e GIsq ($51,43 \pm 27,49$). No entanto, há diferença estatística significativa ao comparar GSis e GGsp ($2,36 \pm 2,55$) e GIsq e GGsp. Dentro dos dados avaliados o grupo GGsp foi o que apresentou menor perda sanguínea ($p = 0,0007$).

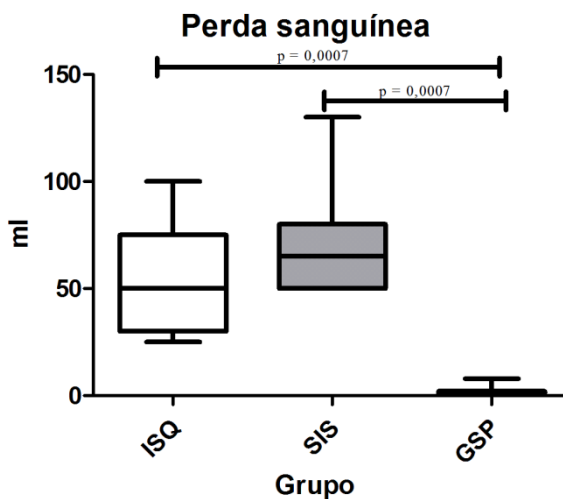


Figura 5. Representação gráfica das variações entre a media e o desvio padrão da perda sanguínea (ml) dos animais submetidos aos métodos hemostáticos nos diferentes grupos – isquemia (Isq), submucosa intestinal suína (Sis) e gelatina suína purificada (Gsp), com diferença estatística entre significativa entre GIsq e GGsp e GSis e GGsp ($p = 0,007$).

5.4.ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA

Os dados comparativos entre os diferentes escores de necrose, tecido de granulação, presença células gigantes multinucleadas e inflamação das análises histopatológicas estão apresentados na figura 6.

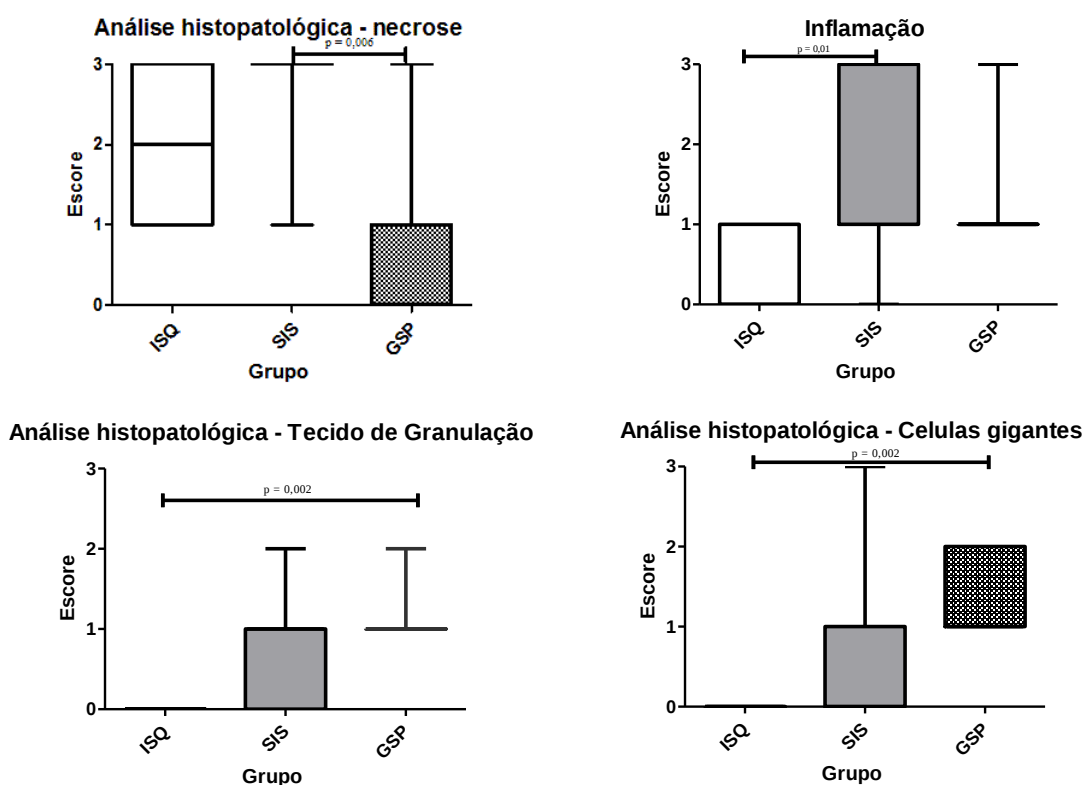


Figura 6 - Representação gráfica dos escores de necrose, formação de tecido de granulação, células gigantes multinucleadas, necrose e inflamação dos rins de animais submetidos aos diferentes agentes hemostáticos nos diferentes grupos – isquemia (Isq), submucosa intestinal suína (Sis) e gelatina suína purificada (Gsp).

5.4.1. NECROSE

Não houve diferença estatística significativa nos escores de necrose entre GIsq e GSis e entre GIsq e GGsp. No entanto, houve diferença estatística entre GSis e GGsp, tendo o GGsp apresentado o menor grau de necrose ($p = 0.006$). A Figura 6

mostra o grafico com a comparação da mediana dos escores de necrose entre os diferentes grupos.

5.4.2. TECIDO DE GRANULAÇÃO

A Figura 6 mostra a formação do tecido de granulação em rim submetido a hemostasia com GSP. Não houve diferença estatística no escore de tecido de granulação entre GIsq e GSis e entre GSis e GGsp. No entanto, houve diferença estatística significativa entre GIsq e GGsp, com mediana maior em GGsp em relação ao GIsq ($p = 0,0025$). A Figura 6 mostra o grafico com a comparação da mediana dos escores de tecido de granulação entre os diferentes grupos.

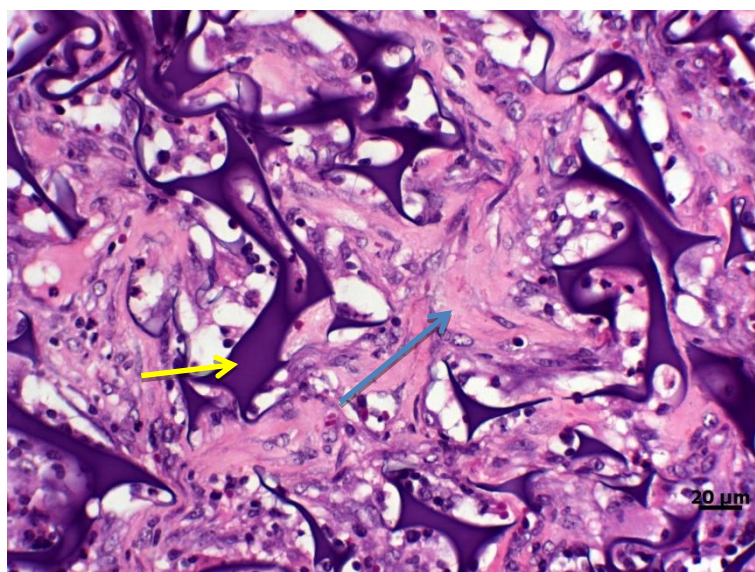


Figura 7 – Formação de tecido fibroso (seta azul) e presença do GSP (seta amarela) em rim de animal do grupo GGsp. Hematoxilina e eosina (HE) (x20)

5.4.3. PRESENÇA DE CÉLULAS GIGANTES MULTINUCLEADAS

Não houve diferença estatística no escore de células gigantes entre GIsq ($0,00 \pm 0,00$) e GSis ($0,57 \pm 1,134$) e entre GSis ($0,57 \pm 1,134$) e GGsp ($1,29 \pm 0,49$). No entanto, houve diferença estatística entre GIsq e GGsp ($p = 0,0022$), sendo a maior reação observada no grupo GGsp (Figura 9). Independentemente do escore, considerando-se apenas presença ou ausência a partir de uma análise de contingência, podemos avaliar que a presença de células gigantes tipo Langerhans foi maior no GGsp ($p=0,005$) (Figura 8). A Figura 9 mostra a presença de células gigantes em animal do grupo GSP.

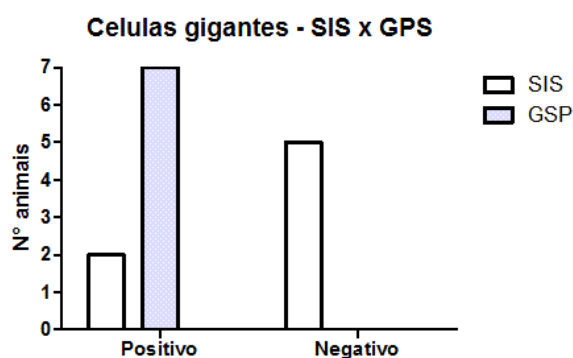


Figura 7. Representação gráfica da análise de contingência da formação de células gigantes dos animais submetidos aos métodos hemostáticos nos diferentes grupos-isquemia (Isq), submucosa intestinal suína (Sis) e gelatina suína purificada (Gsp), com prevalência de animais positivos no GGsp ($p=0,005$).

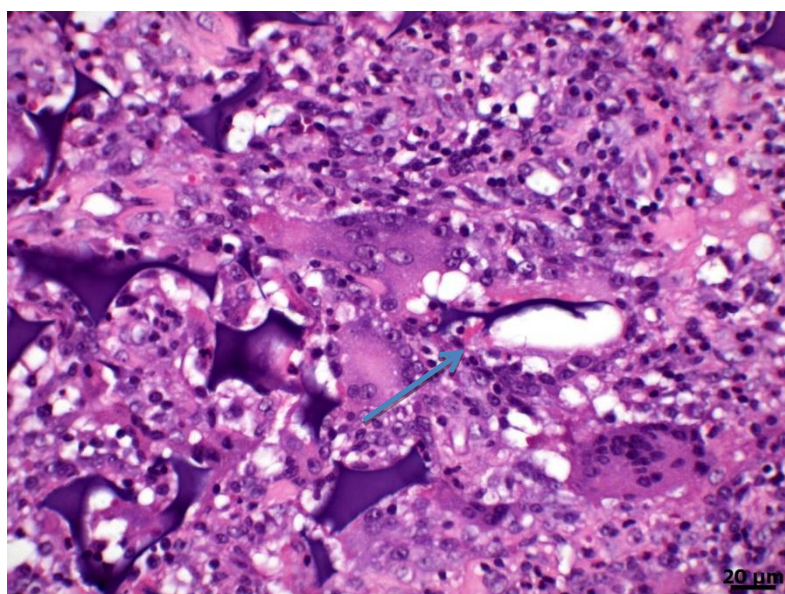


Figura 9 – Formação de células gigantes tipo multinucleadas (seta) em animal pertencente ao

grupo GGsp. Hematoxilina e eosina (HE) (x20)

5.4.4. INFLAMAÇÃO

O GSis foi o que apresentou os maiores escores de inflamação quando comparado com os outros grupos, tendo apresentado diferença estatística em relação ao GIsq. Não houve diferença estatística entre as medianas dos escores de inflamação de GIsq e GGsp e GSis e GGsp.

5.4.5. COMPLICAÇÕES

Não foram observadas complicações intra-operatórias nos animais dos diferentes grupos. Ao exame macroscópico dos rins dos animais do GIsq, identificou-se um caso de aderência renal e um caso de fístula urinária, sendo observado coleção de urina intracavitária. Animais do GSis não apresentaram complicações tardias, observadas ao exame necroscópico. No GGsp, foi observada a formação de abscesso em um dos animais, no ponto de inserção de um dos trocartes. Não houve nenhum óbito durante o experimento assim como não houve sinal de sangramento ativo.

6. DISCUSSÃO

O estudo foi realizado considerando-se o suíno como modelo experimental consagrado para a técnica laparoscópica, embora Souza e colaboradores (2016) sugiram que a comparação entre a nefrectomia parcial laparoscópica em humanos e ovelhas seja

mais fidedigna. Entretanto, observa-se na literatura corrente que agentes hemostáticos são testados principalmente no modelo suíno (de SOUZA et al., 2012; PLOUSSARD et al., 2015).

Ao longo das últimas décadas, diferentes biomateriais foram propostos, dentre eles a submucosa intestinal suína, incluindo Surgisis® (SCHNOELLER et al., 2011; SCHNOELLER et al., 2013), esponja gelatinosa de gelatina suína purificada (Spongostan®), entre outros. De acordo com Gill et al., (2005) e Ploussard e colaboradores, (2015), o uso de agentes hemostáticos na área excisada diminui a possibilidade de sangramento e consequentemente reduz o tempo cirúrgico. Além de adequada hemostasia, o agente hemostático implicará em menor tempo cirúrgico quanto mais fácil for sua manipulação. No presente estudo, embora tenha ocorrido diferença estatística apenas entre os tempos cirúrgicos dos grupos Gsp e Isq, observou-se também cirurgias mais longas no GGsp, ao comparar dados individuais com o grupo Sis (APÊNDICE II). O manuseio mais trabalhoso da esponja de gelatina suína purificada e a quantidade de memória característica deste material pode ter contribuído para o maior tempo cirúrgico nos animais deste grupo. Além disso, para que a aderência ocorra, há necessidade do contato com a área cruenta e absorção do sangue, o que pode determinar maior tempo para incorporação do material ao rim durante o ato cirúrgico (RAMAKUMAR et al., 2002; CALTON et al., 2015). Msezane e colaboradores (2008) sugerem ainda que há melhor aderência da GSP quando colocado sobre superfícies sangrantes em pacientes hipotensos, pois o fluxo sanguíneo excessivo pode dificultar sua adesão. Em nosso trabalho não houve alteração significativa nos padrões de pressão arterial que pudessem gerar um fluxo excessivo e assim dificultar a adesão do agente hemostático por este motivo.

A utilização do SIS como método hemostático no presente estudo mostrou-se eficaz, mesmo sem a utilização de outros agentes conjuntos ou sutura da capsula renal, como sugerido por Schnoeller e colaboradores (2013). Essa associação entre agentes e técnicas cirúrgicas adicionais aumentaria o tempo cirúrgico e por isso optamos por não realizá-la.

Poucos trabalhos na literatura correlacionam o tempo cirúrgico e parâmetros como tempo de sangramento e perda sanguínea. Ploussard e colaboradores (2015), correlacionaram tempo cirúrgico e perda sanguínea ao testarem agentes hemostáticos; porém, em nefrectomia parcial aberta. Foram utilizados o adesivo de fibrina Tissel® (fibrinogênio e trombina humanas) associados ou não ao FloSeal® (extrato gelatinoso derivado de bovino/trombina humana). Embora apresente dados consistentes, como fora realizado nefrectomia parcial aberta, não é possível correlacionar seus dados ao presente estudo.

O clampeamento da artéria renal no hilo renal para realização da nefrectomia parcial é um procedimento considerado lesivo ao rim (Ploussard et al., 2015). Segundo Patel e colaboradores (2011), o tempo de clampeamento de 20 minutos é relativamente seguro; porém, os autores sugerem que a isquemia quente seja tanto menor quanto possível. Em nosso estudo, o clampeamento do hilo não excedeu seis minutos em nenhum dos animais, nos diferentes grupos.

A perda sanguínea obtida em nosso estudo foi a menor dentro da literatura referenciada, citando modelos experimentais em nefrectomia parcial (PLOUSSARD et al., 2015) sobretudo com relação ao GSP. O tempo de hemostasia do GGsp foi significativamente menor, com relação aos demais grupos (GSis e GIsq). No entanto, deve-se ressaltar que foi considerado como perda o sangue extravasado, medido por meio das gazes e do volume aspirado. A absorção do sangue pela GSP pode ter

contribuído para a subestimação do volume real perdido. Outra possibilidade é que o contato íntimo da GSP com a superfície sangrante leva ao estímulo da cascata de coagulação. Seria interessante, para anular este viés, que fossem pesados os agentes hemostáticos logo após o findar do sangramento. No entanto, isto poderia apresentar riscos ao modelo experimental, dada possibilidade de sangramento ativo secundário.

Na análise histopatológica comparativa entre os três grupos, a necrose foi significativamente menor no GGsp em relação ao GSis. A formação de tecido necrótico, segundo Anders et al. (2012) pode ser explicada pela formação de trombos na microvascularização que irriga a região excisada, denominada microangiopatia trombótica isquêmica. A microangiopatia predispõe à isquemia dos bordos e posterior necrose. A eficiência da oclusão de superfície promovida pela Gsp pode estar relacionada ao menor índice de microangiopatia trombótica isquêmica e, conseqüentemente, menor necrose. Da mesma forma, o maior escore de necrose no GSis pode estar relacionado à ocorrência de mais microtrombos.

Após inflamação, organização, fagocitose e degeneração do tecido necrótico haverá formação de tecido epitelial transicional, finalizando o processo de cicatrização mesenquimal, com tecido fibroso. Apesar destes passos serem fundamentais para garantir a cicatrização renal, a oclusão por formação dos microtrombos e inflamação são fenômenos considerados danosos quando exacerbados (ANDERS et al., 2012). A menor quantidade de tecido necrótico no GGsp pode ser considerada benéfica sob este ponto de vista, incorrendo em menor reação inflamatória e processo cicatricial exuberante. No entanto, o curto período de avaliação dos animais não nos permite concluir detalhes sobre as vias finais da cicatrização renal. No GSis, além da necrose, a inflamação também foi mais pronunciada.

A esponja obtida a partir de gelatina suína purificada (Spongostan®) é considerada um material sintético com rápida absorção, biocompatível e que tende a gerar baixa reação inflamatória (Cegielski et al., 2008). Este fato foi observado nos animais do GGsp, que mostraram baixo escore de inflamação (APÊNDICE 1). Entretanto, apesar da biocompatibilidade e pouca característica inflamatória, este material gerou reação do tipo corpo estranho durante sua absorção. Cegielski e colaboradores (2008) realizaram avaliação da eficácia do Spongostan® como matriz para regeneração de cartilagem articular e a reação tipo corpo estranho encontrada no trabalho desses autores foi semelhante ao nosso. Esse mesmo tipo de reação pode ocorrer também com outros materiais, como celulose oxidada (Sabino et al., 2007).

Em relação às complicações do presente estudo, tanto a formação de aderência quanto lesão de sistema coletor e fístula urinária foram observadas em animais do GIsq. A permanência da superfície cruenta exposta, após realização da nefrectomia parcial certamente contribuiu para a ocorrência de aderências, fato não observado nos animais em que uma das membranas foi utilizada (Sis ou Gsp). Ainda, a membrana atua como não só como selante contra a perda sanguínea mas também contribui evitando possíveis fístulas urinárias (Sabino et al., 2007), evidenciando mais uma das vantagens de seu uso em nosso estudo, já que nenhum dos animais dos grupos Sis e Gsp apresentaram extravasamento de urina.

7. CONCLUSÃO

Tanto a esponja de gelatina suína purificada (GSP) quanto a submucosa intestinal suína (SIS) foram eficientes para efetivação da hemostasia e ambas se mostraram biocompatíveis. No entanto, nas condições do presente estudo, o GGsp apresentou-se como melhor método hemostático em relação ao GSis, por permitir menor perda sanguínea intraoperatória. O GGsp também apresentou os menores escores de formação de necrose e inflamação, evidenciando maior biocompatibilidade e biosegurança. No entanto, a manipulação mais trabalhosa e necessidade de contato com a área cirúrgica desta membrana aumentou tanto o tempo de hemostasia quanto o tempo cirúrgico nos animais do grupo.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERS, Hans-Joachim. Four danger response programs determine glomerular and tubulointerstitial kidney pathology: clotting, inflammation, epithelial and mesenchymal healing. **Organogenesis**, v. 8, n. 2, p. 29-40, 2012.
- CALTON, R. et al. Gel foam renal artery embolization for life-threatening renal haemorrhage. **Journal of The Association of Physicians of India**, v. 63, p. 27-29, 2015.
- CEGIELSKI, M. et al. Development of foreign body giant cells in response to implantation of spongostan® as a scaffold for cartilage tissue engineering. **In Vivo**, v. 22, n. 2, p. 203-206, 2008.

DE SOUZA, Diogo B. et al. Laparoscopic partial nephrectomy under warm ischemia reduces the glomerular density in a pig model. **Journal of Endourology**, v. 26, n. 6, p. 706-710, 2012.

GILL, I. S. et al. Improved hemostasis during laparoscopic partial nephrectomy using gelatin matrix thrombin sealant. **Urology**, v. 65, n. 3, p. 463-466, 2005.

Gill, I. S. et al. Laparoscopic cryoablation in 32 pacientes. **Urology**, v. 56, p. 748-753, 2000.

GILL, I. S.; NOVICK, A. C. Renal cryosurgery. **Urology**, v. 54, n. 2, p. 215-219, 1999.

MSEZANE, L. P. et al. Hemostatic agents and instruments in laparoscopic renal surgery. **Journal of Endourology**, v. 22, n. 3, p. 403-408, 2008.

PATEL, R. et al. Use of fibrin glue and gelfoam to repair collecting system injuries in a porcine model: implications for the technique of laparoscopic partial nephrectomy. **Journal of Endourology**, v. 17, n. 9, p. 799-804, 2003.

PLOUSSARD, G. et al. A combination of hemostatic agents may safely replace deep medullary suture during laparoscopic partial nephrectomy in a pig model. **The Journal of Urology**, v. 193, n. 1, p. 318-324, 2015.

RAMAKUMAR, S. et al. Local hemostasis during laparoscopic partial nephrectomy using biodegradable hydrogels: initial porcine experience. **Journal of Endourology**, v. 16, n. 7, p. 489-496, 2002.

SABINO, L. et al. Evaluation of renal defect healing, hemostasis, and urinary fistula after laparoscopic partial nephrectomy with oxidized cellulose. **Journal of Endourology**, v. 21, p. 551-556, 2007.

SCHNOELLER, T. J. et al. Partial nephrectomy using porcine small intestinal submucosa. **World Journal of Surgical Oncology**, v. 9, n. 126, p. 1-5, 2011.

SCHNOELLER, T. J. et al. The use of Surgisis® optimizes and simplifies partial nephrectomy for large renal tumors. **Der Urologe Ausg A**, v. 52, n. 2, p. 246-251, 2013.

9. Apêndices

APÊNDICE I: Análise histopatológica dos escores individuais de inflamação

GI _{sq}	GS _{is}	GG _{sp}
1	1	1
0	0	3
1	3	1
1	3	1
0	3	1
0	3	1
0	3	1

APÊNDICE II: Dados individuais dos tempos cirúrgicos (em minutos) nos diferentes grupos

G _{isq}	G _{Sis}	G _{Gsp}
30	31	65

65	35	60
45	40	50
30	42	40
25	50	65
30	45	50
40	40	45

APÊNDICE III: Dados individuais dos tempos de sangramento (em segundos) nos diferentes grupos

GIsq	GSis	GGsp
450	125	480
480	200	300
600	220	120
120	600	0
360	180	60
600	240	409
360	180	164

APÊNDICE IV: Dados individuais da perda sanguínea (em mililitros) nos diferentes grupos.

GIsq	GSis	GGsp
30	60	1,70

75	70	1,90
100	65	7,95
30	50	0,00
25	130	2,00
50	50	1,20
50	80	1,80

APÊNDICE V: Dados individuais dos escores de necrose nos diferentes grupos.

ISQ	SIS	GSP
1	3	1
2	3	3
2	3	0
3	3	0
1	1	0
3	3	0
3	3	0

0 ausência do parâmetro avaliado, 1 sendo leve, 2 moderado e 3 intenso

APÊNDICE VI: Dados individuais dos escores de tecido de granulação nos diferentes grupos.

ISQ	SIS	GSP
0	1	2
0	0	1

0	0	1
0	1	1
0	0	1
0	1	1
0	2	1

0 — ausência do parâmetro avaliado, 1 sendo leve, 2 moderado e 3 intenso

APÊNDICE VII: Dados individuais dos escores de formação de células gigantes multinucleadas nos diferentes grupos.

ISQ	SIS	GSP
0	0	1
0	0	1
0	1	1
0	3	2
0	0	2
0	0	1
0	0	1

0 — ausência do parâmetro avaliado, 1 sendo leve, 2 moderado e 3 intenso