



**Universidade de Brasília – UnB**  
Faculdade de Medicina  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas

**LEONARDO DE CASTRO DURÃES**

**EFEITOS DO PNEUMOPERITÔNIO COM DIÓXIDO DE  
CARBONO NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES  
COLÔNICAS. ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS.**

**Brasília-DF**  
**2010**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**LEONARDO DE CASTRO DURÃES**

**EFEITOS DO PNEUMOPERITÔNIO COM DIÓXIDO DE CARBONO NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES COLÔNICAS. ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre.

Área de Concentração: Medicina

Orientador: Prof. Dr. João Batista de Sousa

**Brasília-DF**  
2010

# **TERMO DE APROVAÇÃO**

**LEONARDO DE CASTRO DURÃES**

**EFEITOS DO PNEUMOPERITÔNIO COM DIÓXIDO DE CARBONO NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES COLÔNICAS. ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS.**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, área de concentração: Medicina, da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília – UnB , como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

Orientador:

\_\_\_\_\_

Prof. Dr. João Batista de Sousa – FM – UnB

Examinadores:

\_\_\_\_\_

Prof. Dr. Antônio Lacerda Filho – FM – UFMG

\_\_\_\_\_

Prof. Dr. Paulo Gonçalves de Oliveira – FM - UnB

Suplente:

\_\_\_\_\_

Prof. Dr. Ruy de Souza Lino Júnior – IPT – UFG

# DEDICATÓRIA

À Deus, que me ajuda e me leva pelos caminhos corretos.

À minha esposa, Eliana, meu amor, sempre do meu lado me apoiando, incentivando e ajudando.

Aos meus filhos, Fernando, Ana e Giovana, razão de tudo, que este trabalho sirva como exemplo de que sonhos podem se tornar realidade.

À minha mãe pelo amor e carinho irrestrito em todos os momentos.

Ao meu pai, que deu a base para que eu chegasse até aqui.

Ao meu sogro, Prof. Dr. Tarcisio, pelo exemplo de vida.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a todos que me ajudaram na realização deste trabalho, especialmente:

Ao Professor Doutor João Batista de Sousa, que acreditou em mim, abrindo as portas da universidade e me orienta com tranquilidade, paciência e sabedoria.

Ao Professor Doutor Paulo Gonçalves de Oliveira, que me acolheu na universidade e vem me ajudando no meu caminho na docência.

Aos colegas da coloproctologia da UnB, Dr. José Guilherme Filho, Dr. Antônio Carlos Nóbrega dos Santos, Dr. Rômulo Medeiros de Almeida, Dra. Isabel Ferreira Saenger Wurmbauer e Dra. Flávia Berford Leão dos Santos Gonçalves de Oliveira pelo agradável convívio.

Aos alunos Pedro Henrique Alves de Moraes e Igor Eduardo Caetano de Farias, pela amizade e ajuda em todos os momentos, fazendo com que este trabalho se tornasse realidade.

Aos médicos-veterinários Gabriela Mariângela Farias de Oliveira, Rafael Rocha de Andrade e Helenira Melo de Moura do Laboratório de Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília – UnB, pela ajuda e orientação na realização das operações.

Ao Professor Doutor Ruy de Souza Lino Júnior, por sua orientação e realização da análise histomorfométrica do colágeno.

Ao Professor Doutor Florêncio Figueiredo Cavalcanti Neto pela realização da análise histológica.

À Professora Fabiana Pirani Carneiro pelas fotografias das lâminas de histologia.

Ao Professor Doutor Omar Feres e membros do Laboratório de Bioquímica e Transplante Hepático da Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, pela realização da análise de hidroxiprolina.

Aos professores da Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília pelos ensinamentos.

Aos colegas da pós-graduação pela amizade e incentivo.

À UnB, universidade da nossa capital, em seu cinqüentenário, pela chance de realizar este sonho.

# EPÍGRAFE

O que vale na vida não é o ponto de partida e sim a caminhada. Caminhando e semeando, no fim terás o que colher.

Cora Coralina



## RESUMO

A cirurgia laparoscópica vem sendo cada vez mais realizada pelo cirurgião colorretal. Este procedimento utiliza o pneumoperitônio com dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) para prover exposição cirúrgica adequada da cavidade abdominal. A complicação mais temida na cirurgia colorretal é o comprometimento da cicatrização da anastomose colônica e consequente fístula anastomótica. O objetivo deste estudo é avaliar os possíveis efeitos do pneumoperitônio com CO<sub>2</sub> na cicatrização de anastomose colônica. Foram utilizados 120 ratos da linhagem Wistar. Em todos os animais foi realizada uma ressecção de segmento colônico proximal à reflexão peritoneal, e anastomose colônica término-terminal. Os animais foram distribuídos em quatro grupos: I – animais submetidos a pneumoperitônio antes da laparotomia; II – animais submetidos a pneumoperitônio após a laparotomia; III – animais submetidos a pneumoperitônio antes da laparotomia e após a laparotomia; IV – grupo controle. O pneumoperitônio foi realizado por 30 minutos na pressão de 5 mmHg. Os grupos foram divididos em 3 subgrupos para eutanásia no 3º, 7º e 14º dia pós-operatório (DPO). Foram estudados evolução clínica, peso, força de ruptura da anastomose, características histopatológicas, histomorfometria do colágeno e dosagem de hidroxiprolina. Houve 6 óbitos, sendo 4 do grupo I (p=0,097). Não houve diferença estatística entre os grupos na evolução do peso dos animais submetidos a eutanásia no mesmo DPO (3ºDPO p=0,719; 7ºDPO p=0,195; 14ºDPO p=0,651). Não houve diferença na força de ruptura da anastomose entre os grupos no mesmo DPO (3ºDPO p=0,165; 7ºDPO p=0,219; 14ºDPO p=0,539). No estudo histopatológico, no 3ºDPO houve menor hemorragia no grupo II comparado com o grupo controle (p=0,003). No 7ºDPO houve menor infiltrado mononuclear (p=0,006), maior infiltrado polimorfonuclear (p=0,001) e maior necrose focal (p=0,001) no grupo II comparado com o grupo controle. No 14ºDPO houve menor fibrose do grupo II comparado com o grupo controle (p<0,001). No estudo histomorfométrico houve uma diminuição do colágeno nos grupos I e III em relação ao grupo controle no 7ºDPO (p<0,0001), e um aumento do colágeno nos grupos I e II em relação ao grupo controle no 14ºDPO (p<0,001). Não houve diferença estatística na dosagem da hidroxiprolina entre os grupos de animais submetidos a eutanásia no 3ºDPO (p=0,152), 7ºDPO (p=0,913) e 14ºDPO (p=0,981). Os resultados do estudo permitem concluir que o pneumoperitônio com CO<sub>2</sub> na pressão de 5 mmHg não prejudica a cicatrização das anastomoses colônicas em ratos.

Palavras-chave: Pneumoperitônio, Dióxido de carbono, Anastomose, Cicatrização, Cólon.

## ABSTRACT

Laparoscopic surgery is increasingly being performed by the colorectal surgeon. This procedure uses the pneumoperitoneum with carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) to provide adequate surgical exposure of the abdominal cavity. The most feared complication in colorectal surgery is impaired of colonic anastomosis healing and subsequent anastomotic fistula. The aim of this study is to evaluate the possible effects of CO<sub>2</sub> pneumoperitoneum on the healing of colonic anastomosis. A total of 120 Wistar rats were used. In all animals a colon segment proximal to the peritoneal reflection was resected, and an end-to-end anastomosis was performed. The animals were divided into four groups: I - animals submitted to pneumoperitoneum before laparotomy; II - animals submitted to pneumoperitoneum after laparorrhaphy; III - animals submitted to pneumoperitoneum before laparotomy and after laparorrhaphy; IV - control group. Pneumoperitoneum was performed for 30 minutes at a pressure of 5 mmHg. The groups were divided into three subgroups for euthanasia in the 3<sup>rd</sup>, 7<sup>th</sup> and 14<sup>th</sup> postoperative day (POD). We studied clinical evolution, weight, breaking strength of the anastomosis, histopathological features, histomorphometry of collagen and hydroxyproline concentration. There were six deaths, four of group I (p=0.097). There was no statistical difference among the groups in the evolution of the weight of animals euthanized in the same postoperative day (3<sup>rd</sup> POD p=0.719; 7<sup>th</sup> POD p=0.195; 14<sup>th</sup> POD p=0.651). There was no difference in breaking strength of the anastomosis among the groups in the same POD (3<sup>rd</sup> POD p=0.165; 7<sup>th</sup> POD p=0.219; 14<sup>th</sup> POD p=0.539). In histopathological features, on the 3<sup>rd</sup> postoperative day there was less bleeding in group II compared to the control group (p = 0.003). On the 7<sup>th</sup> postoperative day there was less infiltration of mononuclear cell (p=0.006), increased infiltration of polymorphonuclear cell (p=0.001) and increased necrosis (p=0.001) in group II compared with the control group. On the 14<sup>th</sup> postoperative day there was less fibrosis in group II compared to the control group (p<0.001). In the histomorphometric study there was a decrease of collagen in groups I and III compared to the control group on the 7<sup>th</sup> postoperative day (p<0.001), and an increase of collagen in groups I and II compared to the control group on the 14<sup>th</sup> POD (p<0.001). There was no statistical difference in the dosage of hydroxyproline among the groups of animals euthanized at the 3<sup>rd</sup> POD (p=0.152), 7<sup>th</sup> POD (p = 0.913) and 14<sup>th</sup> POD (p = 0.981). The study results indicate that the CO<sub>2</sub> pneumoperitoneum pressure of 5 mmHg does not impair the healing of colonic anastomosis in rats.

Keywords: Pneumoperitoneum, Carbon dioxide, Anastomosis, Healing, Colon.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – INTRODUÇÃO DA AGULHA DE VERES PARA REALIZAÇÃO DO PNEUMOPERITÔNIO .....	12
FIGURA 2 – INSUFLADOR LAPAROSCÓPICO UTILIZADO PARA REALIZAÇÃO DO PNEUMOPERITÔNIO A UMA PRESSÃO DE 5 MMHG .....	12
FIGURA 3 – REALIZAÇÃO DO PNEUMOPERITÔNIO ANTES DA LAPAROTOMIA .....	13
FIGURA 4 – PNEUMOPERITÔNIO ANTES DA LAPAROTOMIA NA PRESSÃO DE 5 MMHG .....	13
FIGURA 5 – EXPOSIÇÃO DO CÓLON A SER OPERADO, LIGADURA DOS RAMOS TERMINAIS ENTRE 2,5 CM E 3,5 CM CRANIALMENTE À REFLEXÃO PERITONEAL .....	14
FIGURA 6 – RESSECÇÃO DO CÓLON COM TESOURA RETA .....	15
FIGURA 7 – ANASTOMOSE COLÔNICA TÉRMINO-TERMINAL, SUTURA CONTÍNUA COM FIO POLIPROPILENO 6-0 .....	16
FIGURA 8 – IDENTIFICAÇÃO DA ANASTOMOSE COLÔNICA PARA RESSECÇÃO DO SEGMENTO INTESTINAL .....	17
FIGURA 9 – SEGMENTO COLÔNICO DIVIDIDO PARA TESTE DE FORÇA DE RUPTURA, DOSAGEM DE HIDROXIPROLINA, EXAME HISTOPATOLÓGICO E HISTOMORFOMÉTRICO .....	18
FIGURA 10– APARELHO DE ENSAIO VERTICAL (VERSA TEST) ACOPLADO AO DINAMÔMETRO DIGITAL .....	19
FIGURA 11– SEGMENTO DO CÓLON POSICIONADO NO VERSA TESTE, SENDO REALIZADO O TESTE DE FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE .....	20
FIGURA 12– HEMORRAGIA NOS GRUPOS II E IV DE ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 3º DIA PÓS-OPERATÓRIO..	34
FIGURA 13– INFILTRADO MONONUCLEAR, INFILTRADO POLIMORFONUCLEAR E NECROSE FOCAL NOS GRUPOS II E IV DE ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 7º DIA PÓS-OPERATÓRIO .....	36
FIGURA 14– FIBROSE NOS GRUPOS II E IV DE ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 14º DIA PÓS-OPERATÓRIO.....	37
FIGURA 15– HISTOMORFOMETRIA DAS LÂMINAS CORADAS PELO PICO-SIRIUS COM LUZ POLARIZADA DOS ANIMAIS MORTOS NO 3º DIA PÓS-OPERATÓRIO .....	40

FIGURA 16– HISTOMORFOMETRIA DAS LÂMINAS CORADAS PELO PICRO-SIRIUS COM LUZ POLARIZADA DOS ANIMAIS MORTOS NO 7º DIA PÓS-OPERATÓRIO .....	42
FIGURA 17– HISTOMORFOMETRIA DAS LÂMINAS CORADAS PELO PICRO-SIRIUS COM LUZ POLARIZADA DOS ANIMAIS MORTOS NO 14º DIA PÓS-OPERATÓRIO .....	44

## LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 –	MEDIANA E VALORES INTERVALARES DOS PESOS DOS ANIMAIS NO DIA DA OPERAÇÃO E NO DIA DA EUTANÁSIA, DISTRIBUÍDOS SEGUNDO O DIA DE PÓS-OPERATÓRIO. PESO EM GRAMAS. .... 28
GRÁFICO 2 –	MEDIANA E VALORES INTERVALARES DA DIFERENÇA ENTRE O PESO NO DIA DA EUTANÁSIA E NO DIA DA OPERAÇÃO, DISTRIBUÍDOS SEGUNDO O DIA DE PÓS-OPERATÓRIO E TRATAMENTO REALIZADO. PESO EM GRAMAS. .... 29
GRÁFICO 3 –	MEDIANA E VALORES INTERVALARES DO TESTE DE FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE DOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 3º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO DE ACORDO COM O TRATAMENTO REALIZADO. VALORES EM NEWTON..... 30
GRÁFICO 4 –	MEDIANA E VALORES INTERVALARES DO TESTE DE FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE DOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 7º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO DE ACORDO COM O TRATAMENTO REALIZADO. VALORES EM NEWTON..... 31
GRÁFICO 5 –	MEDIANA E VALORES INTERVALARES DO TESTE DE FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE DOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 14º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO DE ACORDO COM O TRATAMENTO REALIZADO. VALORES EM NEWTON..... 32
GRÁFICO 6 –	MEDIANA E VALORES INTERVALARES DO TESTE DE FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE DISTRIBUÍDOS SEGUNDO O DIA DE PÓS-OPERATÓRIO. VALORES EM NEWTON..... 33
GRÁFICO 7 –	EVOLUÇÃO DA MÉDIA DO TESTE DE FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE PELO DIA DE PÓS-OPERATÓRIO. VALORES EM NEWTON..... 33
GRÁFICO 8 –	MEDIANA E VALORES INTERVALARES DA HISTOMORFOMETRIA DO COLÁGENO NAS ANASTOMOSES COLÔNICAS DOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 3º DIA PÓS-OPERATÓRIO ..... 39

GRÁFICO 9 –	MEDIANA E VALORES INTERVALARES DA HISTOMORFOMETRIA DO COLÁGENO NAS ANASTOMOSES COLÔNICAS DOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 7º DIA PÓS-OPERATÓRIO .....	41
GRÁFICO 10 –	MEDIANA E VALORES INTERVALARES DA HISTOMORFOMETRIA DO COLÁGENO NAS ANASTOMOSES COLÔNICAS DOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 14º DIA PÓS-OPERATÓRIO .....	43
GRÁFICO 11 –	MEDIANA E VALORES INTERVALARES DA CONCENTRAÇÃO DE HIDROXIPROLINA EM MG/G DE TECIDO DAS ANASTOMOSES COLÔNICAS COLHIDOS NO DIA DA OPERAÇÃO E NO DIA DA EUTANÁSIA, DISTRIBUÍDOS SEGUNDO O DIA DE PÓS-OPERATÓRIO.....	47

## LISTA DE TABELAS

- TABELA 1 – ANIMAIS QUE MORRERAM DURANTE O EXPERIMENTO SEGUNDO NÚMERO, GRUPO, DIA PÓS-OPERATÓRIO DO ÓBITO E CAUSA DO ÓBITO. .... 26
- TABELA 2 – DISTRIBUIÇÃO DA MÉDIA E DESVIO PADRÃO DOS PESOS DOS ANIMAIS NO DIA DA OPERAÇÃO E NO DIA DA EUTANÁSIA PARA TODOS OS GRUPOS E SUBGRUPOS..... 27
- TABELA 3 – VALORES DA FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE NOS ANIMAIS MORTOS NO 3º DIA PÓS-OPERATÓRIO (MÉDIA, MEDIANA, DESVIO PADRÃO, VALORES MÍNIMOS E MÁXIMOS). VALORES EM NEWTON. .... 30
- TABELA 4 – VALORES DA FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE NOS ANIMAIS MORTOS NO 7º DIA PÓS-OPERATÓRIO (MÉDIA, MEDIANA, DESVIO PADRÃO, VALORES MÍNIMOS E MÁXIMOS). VALORES EM NEWTON. .... 31
- TABELA 5 – VALORES DA FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE NOS ANIMAIS MORTOS NO 14º DIA PÓS-OPERATÓRIO (MÉDIA, MEDIANA, DESVIO PADRÃO, VALORES MÍNIMOS E MÁXIMOS). VALORES EM NEWTON. .... 32
- TABELA 6 – FREQUÊNCIA DE HEMORRAGIA NOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 3º DIA PÓS-OPERATÓRIO. .... 34
- TABELA 7 – FREQUÊNCIA DO INFILTRADO MONONUCLEAR NOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 7º DIA PÓS-OPERATÓRIO. .... 35
- TABELA 8 – FREQUÊNCIA DO INFILTRADO POLIMORFONUCLEAR NOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 7º DIA PÓS-OPERATÓRIO. .... 35
- TABELA 9 – FREQUÊNCIA DA NECROSE FOCAL NOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 7º DIA PÓS-OPERATÓRIO..... 35
- TABELA 10–FREQUÊNCIA DA FIBROSE NOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 14º DIA PÓS-OPERATÓRIO. .... 36
- TABELA 11–HISTOMORFOMETRIA DO COLÁGENO NAS ANASTOMOSES COLÔNICAS NOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 3º DIA PÓS-OPERATÓRIO, COM A COLORAÇÃO PÍCRO-SÍRIUS (MÉDIA, DESVIO PADRÃO, MEDIANA, VALORES MÍNIMOS E MÁXIMOS). VALORES EM PERCENTUAL DE PIXEL..... 38

- TABELA 12–HISTOMORFOMETRIA DO COLÁGENO NAS ANASTOMOSES COLÔNICAS NOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 7º DIA PÓS-OPERATÓRIO, COM A COLORAÇÃO PICO-SIRIUS (MÉDIA, DESVIO PADRÃO, MEDIANA, VALORES MÍNIMOS E MÁXIMOS). VALORES EM PERCENTUAL DE PIXEL..... 38
- TABELA 13–HISTOMORFOMETRIA DO COLÁGENO NAS ANASTOMOSES COLÔNICAS NOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 14º DIA PÓS-OPERATÓRIO, COM A COLORAÇÃO PICO-SIRIUS (MÉDIA, DESVIO PADRÃO, MEDIANA, VALORES MÍNIMOS E MÁXIMOS). VALORES EM PERCENTUAL DE PIXEL. .... 38
- TABELA 14–CONCENTRAÇÃO DE HIDROXIPROLINA EM MG/G DE TECIDO DA AMOSTRA PRÉ TESTE DOS ANIMAIS SUBMETIDOS A PNEUMOPERITÔNIO ANTES DA LAPAROTOMIA (GRUPOS I E III) E DOS ANIMAIS NÃO SUBMETIDOS AO PNEUMOPERITÔNIO ANTES DA LAPAROTOMIA (GRUPOS II E IV) (MÉDIA, DESVIO PADRÃO, MEDIANA, VALORES MÍNIMOS E MÁXIMOS)..... 45
- TABELA 15–CONCENTRAÇÃO DE HIDROXIPROLINA EM MG/G DE TECIDO DAS ANASTOMOSES COLÔNICAS COLHIDOS NO DIA DA OPERAÇÃO (O) E NO DIA DA EUTANÁSIA (E) DOS ANIMAIS MORTOS NO 3º DIA PÓS-OPERATÓRIO (MÉDIA, DESVIO PADRÃO, MEDIANA, VALORES MÍNIMOS E MÁXIMOS)..... 45
- TABELA 16–CONCENTRAÇÃO DA HIDROXIPROLINA EM MG/G DE TECIDO DAS ANASTOMOSES COLÔNICAS COLHIDOS NO DIA DA OPERAÇÃO (O) E NO DIA DA EUTANÁSIA (E) DOS ANIMAIS MORTOS NO 7º DIA PÓS-OPERATÓRIO (MÉDIA, DESVIO PADRÃO, MEDIANA, VALORES MÍNIMOS E MÁXIMOS)..... 46
- TABELA17– CONCENTRAÇÃO DA HIDROXIPROLINA EM MG/G DE TECIDOS DAS ANASTOMOSES COLÔNICAS COLHIDOS NO DIA DA OPERAÇÃO (O) E NO DIA DA EUTANÁSIA (E) DOS ANIMAIS MORTOS NO 14º DIA PÓS-OPERATÓRIO (MÉDIA, DESVIO PADRÃO, MEDIANA, VALORES MÍNIMOS E MÁXIMOS)..... 46



# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 OBJETIVO</b> .....	6
<b>3 MATERIAL E MÉTODO</b> .....	8
1 CONSIDERAÇÕES GERAIS .....	9
2 ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO .....	9
3 DESENHO EXPERIMENTAL .....	9
4 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO E ANESTÉSICO .....	11
4.1 Considerações gerais .....	11
4.2 Anestesia .....	11
4.3 Preparo do campo operatório e pneumoperitônio pré-laparotomia.....	11
4.4 Descrição da operação .....	14
4.5 Pneumoperitônio após fechamento da parede abdominal.....	16
5 EVOLUÇÃO PÓS-OPERATÓRIA .....	17
6 REOPERAÇÃO E ANÁLISE OPERATÓRIA .....	17
7 ESTUDO DA FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE .....	19
8 ESTUDO HISTOPATOLÓGICO .....	20
9 ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO DO COLÁGENO .....	21
10 ESTUDO BIOQUÍMICO .....	22
10.1 Extração de hidroxiprolina .....	22
10.2 Dosagem de hidroxiprolina .....	23
11 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	23
<b>4 RESULTADOS</b> .....	25
1 EVOLUÇÃO CLÍNICA DOS ANIMAIS .....	26
2 PESO DOS ANIMAIS .....	26
3 ESTUDO DA FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE .....	29
4 ESTUDO HISTOPATOLÓGICO .....	34
4.1 Terceiro dia pós-operatório .....	34

4.2 Sétimo dia pós-operatório .....	35
4.3 Décimo quarto dia pós-operatório .....	36
5 ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO DO COLÁGENO .....	37
6 ESTUDO DA CONCENTRAÇÃO DE HIDROXIPROLINA .....	44
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>48</b>
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>55</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>57</b>
<b>APÊNDICE .....</b>	<b>63</b>

## 1 – INTRODUÇÃO

## INTRODUÇÃO

A habilidade do corpo humano em cicatrizar uma anastomose gastrointestinal é um evento fascinante. A cicatrização consiste em uma perfeita e coordenada cascata de eventos celulares e moleculares que interagem para que ocorra a repavimentação e a reconstituição do tecido.

Vários progressos foram realizados na cirurgia, especialmente na colorretal. Estes, no entanto, não foram capazes de eliminar as falhas na cicatrização. Problemas na cicatrização de anastomoses colônicas, seguidas por deiscências, cursam com conseqüências devastadoras para o paciente (ABBAS, 2010). O assunto tem sido amplamente estudado nas últimas décadas, buscando melhor compreensão dos efeitos de diversos fatores sobre a cicatrização dessas anastomoses.

Vários fatores que comprometem a cicatrização da anastomose colônica já foram estudados como o preparo de cólon, técnica cirúrgica, condições do paciente (estado nutricional, obesidade, diabetes, anemia), tensão na sutura, sutura manual ou mecânica, infecção, e uso de agentes farmacológicos, com conseqüente variação na freqüência da deiscência das anastomoses (RAVO, 1988; OLIVEIRA, 1989; SOUSA, 1989; KORUDA et al., 1990; SOUSA et al., 1991; SOUSA, 1994; OLIVEIRA et al., 1994; OLIVEIRA, 1995; REYS, 2004; ALMEIDA, 2006; FREITAS, 2007).

Já foram identificados vários aspectos que contribuem para uma boa cicatrização da anastomose colorretal. Observação de princípios como anastomose livre de tensão, boa vascularização, uso de fios e grampeadores adequados, diminuem o risco de fístulas de anastomose (ABBAS, 2010).

Recentemente a cirurgia laparoscópica foi introduzida à prática cirúrgica, o que trouxe uma grande revolução. A primeira cirurgia laparoscópica no trato gastrointestinal foi a apendicectomia em 1983, seguida pela colecistectomia em 1987 (DUBOIS et al., 1991). As primeiras colectomias vídeo-laparoscópicas foram realizadas por Jacobs em 1990 (JACOBS et al., 1991). No Brasil, a primeira intervenção laparoscópica no cólon foi realizada por Regadas no ano seguinte (REGADAS et al., 1995). Após a publicação do estudo COST (Clinical Outcomes of Surgical Therapy) em 2004, que demonstrou com nível 1 de evidência o uso da colectomia vídeo-laparoscópica no câncer colônico com

resultados oncológicos semelhantes aos obtidos na cirurgia aberta e com melhor evolução pós-operatória (CLINICAL OUTCOMES OF SURGICAL THERAPY STUDY GROUP, 2004), vários cirurgiões se entusiasmaram com o procedimento realizado por via laparoscópica. Grandes estudos multicêntricos se seguiram, nos quais foi demonstrada a segurança da cirurgia laparoscópica no tratamento do câncer (BUUNEN et al, 2009; LACY et al, 2008; KUHRYS et al, 2008; JAYNE et al, 2007; VELDKAMP et al, 2005; GUILLOU et al, 2005).

O pneumoperitônio é utilizado na cirurgia laparoscópica com finalidade de prover exposição cirúrgica adequada. Apesar do uso cada vez mais freqüente do pneumoperitônio nas cirurgias colorretais, há poucos estudos que avaliaram o seu efeito sobre a cicatrização das anastomoses intestinais. (OZER et al., 2008; OZGUN et al., 2004; ROSCH et al., 2004; POLAT et al., 2002; KOLOGLU et al., 1999; OLSON et al., 1995).

O gás ideal para a confecção do pneumoperitônio em cirurgia laparoscópica deve ter as seguintes propriedades: mínima absorção peritoneal, mínimos efeitos fisiológicos, rápida excreção se absorvido, não ser inflamável, mínimos efeitos de embolização intravascular, e alta solubilidade sanguínea (GERGES et al., 2006). Ar e oxigênio não podem ser utilizados por que são inflamáveis, levando a risco no uso de cautérios ou laser. Hélio e nitrogênio, apesar de não inflamáveis, são relativamente insolúveis, e podem provocar seqüelas cardiovasculares, se ocorrer embolização intravascular. O gás que mais se aproxima das características ideais é o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), razão pela qual é o mais utilizado. O CO<sub>2</sub> apresenta baixa toxicidade e baixo custo, além de não ser inflamável. No entanto, pode causar hipercarbica, acidemia e hipertensão pulmonar (GERGES et al., 2006; FERNÁNDEZ-CRUZ et al., 1998; NEUBERGER et al., 1996).

Alguns estudos experimentais para verificar qual seria o melhor gás na cirurgia colorretal laparoscópica já foram realizados. GOITEN et al. (2005) não observaram diferença na perfusão intestinal durante pneumoperitônio prolongado com CO<sub>2</sub> ou Hélio. ROSCH et al. (2005) não observaram diferença na cicatrização de anastomoses intestinais utilizando-se pneumoperitônio com CO<sub>2</sub> e Hélio, comparado com um grupo controle.

As câmaras hiperbáricas são utilizadas para melhorar a cicatrização de feridas, por meio de um aumento da oxigenação tecidual. Este aumento

também influencia nas anastomoses colônicas, com melhora na cicatrização e na resistência da anastomose (YAGCI et al., 2006; HAMZAOGLU et al., 1998). Ainda persistem dúvidas acerca do efeito do dióxido de carbono na oxigenação tecidual, e conseqüentemente na cicatrização.

O pneumoperitônio, utilizado na cirurgia laparoscópica para visualização da cavidade abdominal, leva a aumento da pressão abdominal. Este aumento é também verificado em várias situações clínicas como na ascite, distensão abdominal por íleo ou obstrução mecânica, redução de hérnia gigante, pancreatite, sepse e trauma. Pressões acima de 20 mmHg são denominadas Hipertensão Intra-Abdominal, que causa grandes efeitos deletérios abdominais e sistêmicos (IVATURY et al., 1997). A pressão utilizada em cirurgia laparoscópica é de 12 a 15 mmHg.

O aumento da pressão intra-abdominal, causado pelo pneumoperitônio, leva a efeitos sistêmicos como alterações do equilíbrio ácido-base, de gases sanguíneos, pulmonares e cardiovasculares (SAFRAN et al., 1994). Entre as alterações no sistema cardiovascular estão incluídos a diminuição do retorno venoso, diminuição da pré-carga, aumento da resistência vascular sistêmica e pulmonar, aumento da pós-carga e diminuição do débito cardíaco. Entre as alterações pulmonares encontramos a diminuição da complacência pulmonar e o aumento da resistência do sistema respiratório. Observamos também redução da perfusão renal, levando a oligúria (SHARMA et al., 1996; GUTT et al., 2004).

Outra importante alteração verificada no aumento da pressão intra-abdominal é a diminuição do fluxo sanguíneo esplâncnico. Esta diminuição poderia ocasionar a isquemia do cólon em colectomias laparoscópicas, prejudicando a cicatrização da anastomose colônica, levando a aumento da translocação bacteriana e fístulas, (POLAT et al., 2002).

Por outro lado, um estudo realizado em porcos, utilizando microesferas para avaliar o fluxo sanguíneo intestinal, demonstrou aumento inicial do fluxo sanguíneo na mucosa intestinal nos primeiros 40 minutos de pneumoperitônio a 15 mmHg, retornando ao valor de base em 80 minutos (GOITEN et al., 2005).

KOLOGLU et al. (1999) realizaram um estudo em ratos mantidos com pneumoperitônio com ar ambiente sob diferentes pressões após anastomoses colônicas até o 4º dia pós-operatório. Foi verificada menor pressão de ruptura e

diminuição da concentração de hidroxiprolina nas anastomoses dos grupos tratados em relação ao grupo controle.

POLAT et al. (2002) estudaram cicatrização de anastomoses colônicas em ratos submetidos a pneumoperitônio com CO<sub>2</sub> à pressão de 14 mmHg, 20 mmHg, 25 mmHg e 30 mmHg antes da laparotomia por 60 minutos. Foi demonstrada piora progressiva na pressão de ruptura da anastomose e parâmetros histopatológicos com o aumento da pressão intraperitoneal.

OZGUN et al. (2004) realizaram pneumoperitônio com CO<sub>2</sub> por 180 minutos à pressão de 14 mmHg antes da laparotomia e anastomose colônica com ou sem colostomia proximal. Houve menor pressão de ruptura e menor valor de óxido nítrico nos grupos tratados. Houve aumento da resposta inflamatória avaliada pela histologia no grupo com pneumoperitônio e colostomia proximal. Não houve diferença na dosagem de hidroxiprolina entre os grupos.

OZER et al (2008) não verificaram diferença na avaliação histopatológica e na avaliação de hidroxiprolina em ratos submetidos a pneumoperitônio de 12 mmHg por 2 e 4 horas pré laparotomia, comparado com grupo controle.

Estudos medindo parâmetros cardiorrespiratórios em ratos demonstraram que as alterações fisiológicas que mais se assemelham àquelas da cirurgia laparoscópica em humanos ocorrem na pressão de 5 mmHg em ratos (BERGUER et al., 1997; ROSCH et al., 2005 AVITAL et al., 2007), sendo esta a pressão escolhida no presente estudo.

Apesar da relevância crescente da laparoscopia na cirurgia colorretal, ainda persistem dúvidas sobre a influência do pneumoperitônio com dióxido de carbono na cicatrização de anastomose colônica. Esta investigação experimental, portanto, foi delineada para avaliar os possíveis efeitos do pneumoperitônio com dióxido de carbono na cicatrização de anastomose colônica.

## **2 – OBJETIVO**



**OBJETIVO**

Esta investigação foi idealizada com o objetivo de avaliar possíveis efeitos do pneumoperitônio com dióxido de carbono na cicatrização de anastomoses no cólon esquerdo de ratos.

### **3 – MATERIAL E MÉTODO**

## MATERIAL E MÉTODO

### 1 – Considerações gerais

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Cirurgia Experimental da Área de Clínica Cirúrgica da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília – UnB, com colaboração do Laboratório de Imunopatologia de Brasília, do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás – UFG, e do Laboratório de Bioquímica e Transplante Hepático da Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.

O protocolo de pesquisa foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal – CEUA, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília – UnB. Os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as diretrizes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA.

A redação do trabalho foi realizada de acordo com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

### 2 – Animal de experimentação

Foram utilizados 120 ratos, *Rattus norvegicus*, da linhagem Wistar, machos, com aproximadamente 90 dias de vida e peso de 312 a 430 g. Os ratos foram adquiridos da empresa Bioagri Laboratórios Ltda, Planaltina – DF.

### 3 – Desenho experimental

Os 120 ratos foram distribuídos em 4 grupos de 30 animais de forma aleatória:

Grupo I – Animais submetidos a pneumoperitônio antes da laparotomia.

Grupo II – Animais submetidos a pneumoperitônio após a laparorráfia.

Grupo III – Animais submetidos a pneumoperitônio antes da laparotomia e após a laparorráfia.

Grupo IV – Grupo Controle.

Os animais foram anestesiados e submetidos a laparotomia. Foi realizada ressecção de segmento colônico de 1 cm, entre 2,5 e 3,5 cm

proximalmente à reflexão peritoneal, e reconstrução do trânsito colônico por anastomose término-terminal.

Os animais do grupo I foram submetidos a pneumoperitônio com CO<sub>2</sub> a uma pressão intra-abdominal de 5 mmHg por 30 minutos antes da laparotomia.

Os animais do grupo II, após a operação e a laparorráfia, foram submetidos a pneumoperitônio com CO<sub>2</sub> a uma pressão intra-abdominal de 5 mmHg por 30 minutos.

Os animais do grupo III foram submetidos a pneumoperitônio com CO<sub>2</sub> a uma pressão de 5 mmHg por 30 minutos antes da laparotomia e 30 minutos com a mesma pressão após a laparorráfia.

Os animais do grupo IV foram submetidos à operação sem pneumoperitônio.

Os grupos foram divididos em 3 subgrupos de 10 animais para eutanásia no 3<sup>o</sup>, 7<sup>o</sup> e 14<sup>o</sup> dia pós-operatório (DPO). Os animais dos subgrupos I-3, II-3, III-3 e IV-3 foram mortos no terceiro dia pós-operatório. Os animais dos subgrupos I-7, II-7, III-7 e IV-7 foram mortos no sétimo dia pós-operatório. Os animais dos subgrupos I-14, II-14, III-14 e IV-14 foram mortos no décimo quarto dia pós-operatório.

As operações foram realizadas em sessões, por lotes de quatro animais, sendo um de cada grupo. Inicialmente foram realizadas as operações dos animais a serem submetidos à eutanásia no terceiro dia pós-operatório (I-3, II-3, III-3, IV-3). A seguir foram realizadas as operações dos animais a serem submetidos à eutanásia no sétimo dia pós-operatório (I-7, II-7, III-7, IV-7). Por fim foram realizadas as operações dos animais a serem submetidos à eutanásia no décimo quarto dia pós-operatório (I-14, II-14, III-14, IV-14).

Os animais foram numerados seqüencialmente de acordo com a ordem de realização das operações, de 1 a 120, sendo os animais de números 1 a 40 submetidos à eutanásia no terceiro dia pós-operatório, os de números 41 a 80 submetidos à eutanásia no sétimo dia pós-operatório, e os de números 81 a 120 submetidos à eutanásia no décimo quarto dia pós-operatório.

## 4 – Procedimento cirúrgico e anestésico

### 4.1 – Considerações gerais

Os ratos permaneceram no Alojamento de Animais da Faculdade de Medicina, confinados em gaiolas, em lotes de quatro (um animal de cada grupo), com regime de doze horas de luz artificial e doze horas de escuro, recebendo dieta padrão de laboratório e água à vontade, por um período de sete dias de aclimatação.

Imediatamente antes da indução anestésica, tiveram seus pesos aferidos em balança eletrônica (Marte balança eletrônica modelo AS5500 C, Marte Balanças e Aparelhos de Precisão Ltda – São Paulo, SP) e anotados.

Os procedimentos anestésicos e cirúrgicos foram supervisionados por médicos-veterinários do Laboratório de Cirurgia Experimental.

As operações foram realizadas com material cirúrgico limpo, não estéril.

Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados pelo mesmo cirurgião.

### 4.2 – Anestesia

Os animais foram anestesiados com cloridrato de xilazina, na dose de 5 mg/kg peso por via intramuscular e cloridrato de cetamina, na dose de 25 mg/kg peso também por via intramuscular. No período trans-operatório doses adicionais de anestésico foram administradas de acordo com as necessidades.

### 4.3 – Preparo do campo operatório e pneumoperitônio pré-laparotomia

Após tricotomia da região abdominal anterior, cada animal foi colocado em decúbito dorsal sobre placa de madeira, com seus membros fixados com fita de esparadrapo. Procedeu-se, então, a antissepsia da pele do abdome com solução de polivinilpirrolidona iodo alcoólico.

Nos grupos I e III foi introduzida uma agulha de Veres intraperitonealmente, na linha média, 1 cm abaixo da cicatriz umbilical (figura 1).

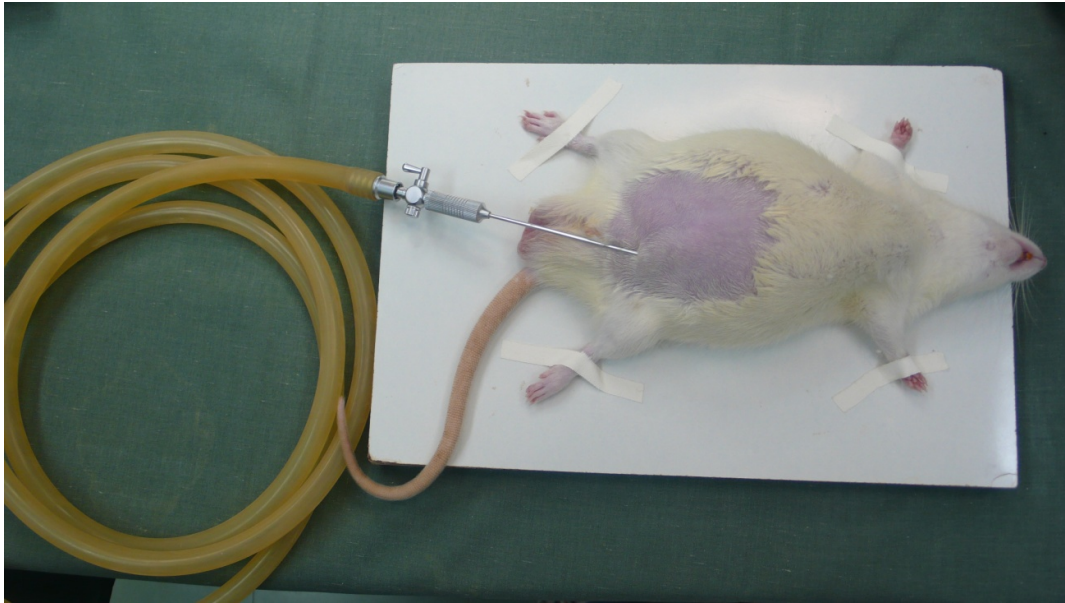


FIGURA 1 – INTRODUÇÃO DA AGULHA DE VERES PARA REALIZAÇÃO DO PNEUMOPERITÔNIO

A seguir, uma mangueira de silicone ligada a um insuflador laparoscópico (Laparo Insufflator 25 L, Endoview – Recife, PE) (figura 2) foi acoplada à agulha, sendo iniciado o pneumoperitônio com fluxo de 1 L/min a uma pressão de 5 mmHg por 30 minutos (figuras 3 e 4). Em seguida o pneumoperitônio foi desfeito, e a laparotomia foi realizada.



FIGURA 2 – INSUFLADOR LAPAROSCÓPICO UTILIZADO PARA REALIZAÇÃO DO PNEUMOPERITÔNIO A UMA PRESSÃO DE 5 MMHG



FIGURA 3 – REALIZAÇÃO DO PNEUMOPERITÔNIO ANTES DA LAPAROTOMIA



FIGURA 4 – PNEUMOPERITÔNIO ANTES DA LAPAROTOMIA NA PRESSÃO DE 5 MMHG

Nos grupos II e IV a laparotomia foi feita logo após a antissepsia, sem pneumoperitônio prévio.

#### 4.4 – Descrição da operação

Em todos os animais foi realizada a operação segundo a padronização feita por Oliveira (OLIVEIRA, 1989):

- a) Incisão mediana com aproximadamente 4 cm de extensão, com sua extremidade caudal a 1 cm da genitália externa do animal;
- b) Colocação de afastador autoestático;
- c) Malaxação divergente, caso o segmento intestinal a ser operado apresentasse conteúdo fecal;
- d) Ligadura e secção distal dos ramos terminais veno-arteriais de um segmento colônico compreendido entre 2,5 e 3,5 cm, cranialmente à reflexão peritoneal (figura 5);



FIGURA 5 – EXPOSIÇÃO DO CÓLON A SER OPERADO, LIGADURA DOS RAMOS TERMINAIS ENTRE 2,5 CM E 3,5 CM CRANIALMENTE À REFLEXÃO PERITONEAL

- e) Ressecção de um segmento colônico de 1 cm por secção com tesoura reta, estando a borda distal da ressecção a 2,5 cm da reflexão peritoneal (figura 6);



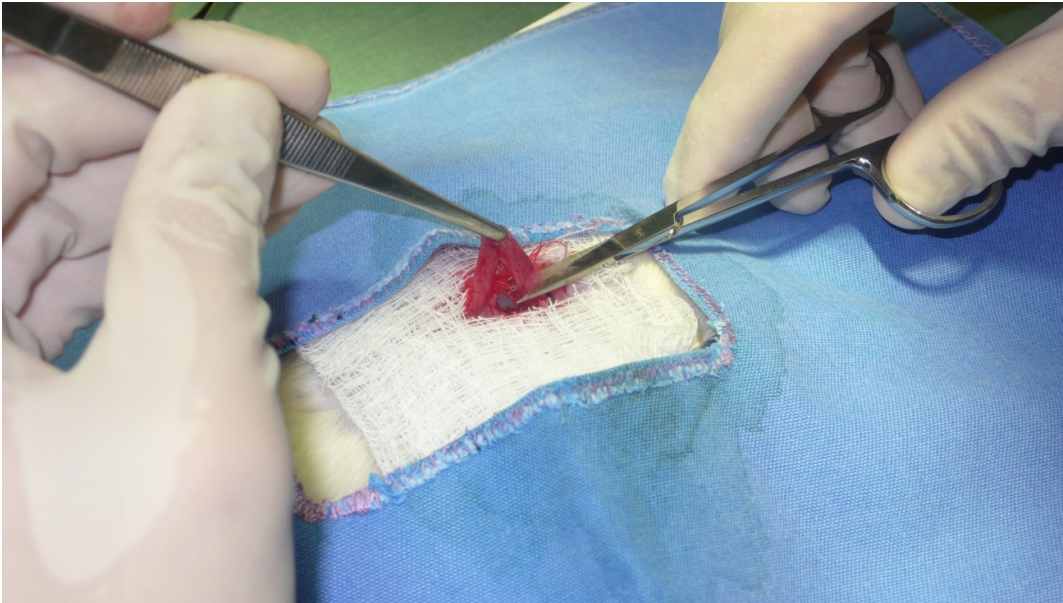


FIGURA 6 – RESSECÇÃO DO CÓLON COM TESOURA RETA

- f) O segmento ressecado era lavado em solução de NaCl a 0,9%, e o quadrante mesentérico direito era isolado e imerso em solução de NaCl a 0,9% e congelado a  $-70^{\circ}\text{C}$  para ser utilizado posteriormente para estudo da concentração de hidroxiprolina;
- g) Reconstituição do trânsito colônico com anastomose término-terminal, em plano único, com pontos contínuos, englobando todas as camadas da parede intestinal, utilizando-se fio de polipropileno 6-0 com agulha cilíndrica de 1,3 cm (BRASUTURE – São Sebastião da Grama, SP) (figura 7);

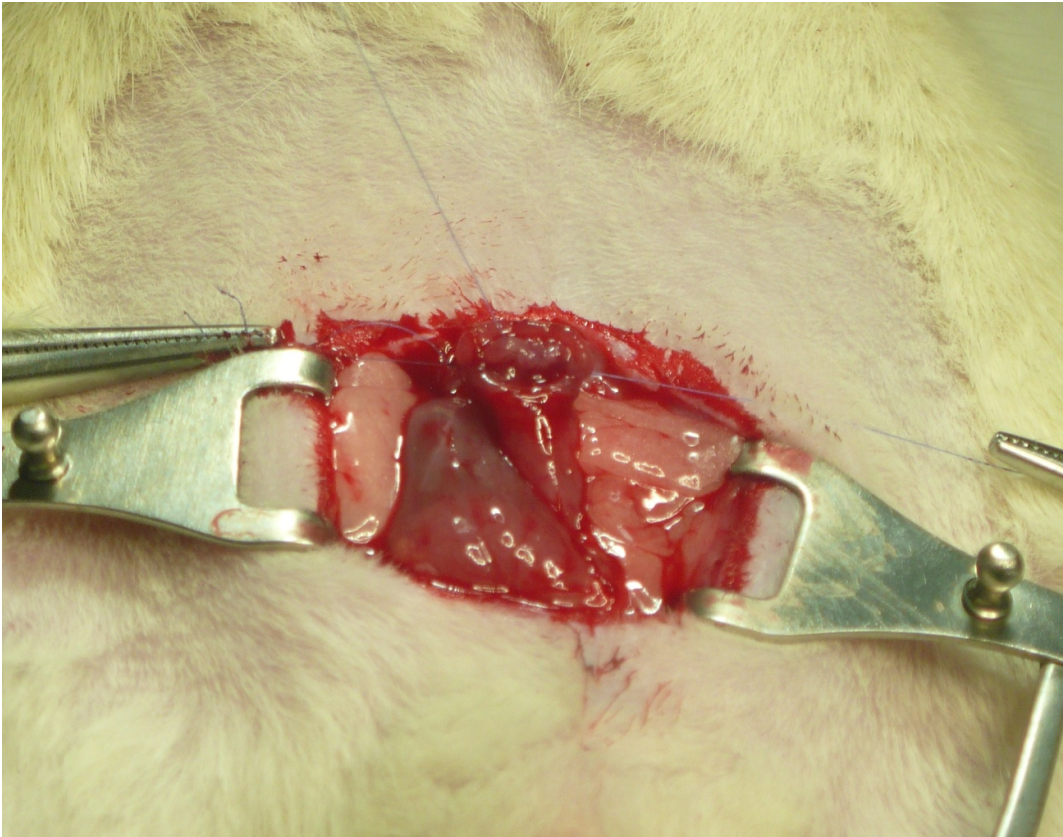


FIGURA 7 – ANASTOMOSE COLÔNICA TÉRMINO-TERMINAL, SUTURA CONTÍNUA COM FIO POLIPROPILENO 6-0

#### 4.5 – Pneumoperitônio após fechamento da parede abdominal

Nos grupos II e III, antes da síntese da parede abdominal, a agulha de Veres foi introduzida em fossa ilíaca esquerda, sob visão direta.

A síntese da parede abdominal, em todos os grupos, foi realizada em dois planos – o primeiro, incluindo o peritônio, músculo e aponeurose da linha média, com sutura contínua simples e o segundo, o tecido subcutâneo e pele, com sutura contínua, utilizando-se fio de polipropileno 5-0 com agulha cilíndrica de 1,5 cm (BRASUTURE – São Sebastião da Grama, SP).

Nos grupos II e III, após a síntese da parede abdominal, foi realizado pneumoperitônio com fluxo de 1 L/min a uma pressão de 5 mmHg por 30 minutos com mangueira de silicone acoplada na agulha de Veres e no insuflador laparoscópico (Laparo Insufflator 25 L, Endoview – Recife, PE).

## 5 – Evolução pós-operatória

Após a recuperação anestésica os animais foram colocados em gaiolas, em grupos de quatro (um de cada grupo experimental), com água e ração à vontade. Os animais que morreram foram submetidos à necropsia para determinação da possível causa do óbito.

## 6 – Reoperação e análise operatória

Os animais foram reoperados nos dias programados. Imediatamente antes da indução anestésica o peso de cada animal foi aferido e anotado (Marte balança eletrônica modelo AS5500 C, Marte Balanças e Aparelhos de Precisão Ltda – São Paulo, SP).

Após anestesia com a mesma técnica da operação inicial, foi ressecada uma área retangular da parede abdominal de cinco por seis centímetros, englobando a cicatriz da laparotomia anterior.

Foi ressecado um segmento intestinal de 4 cm contendo a anastomose em sua porção central (figura 8).

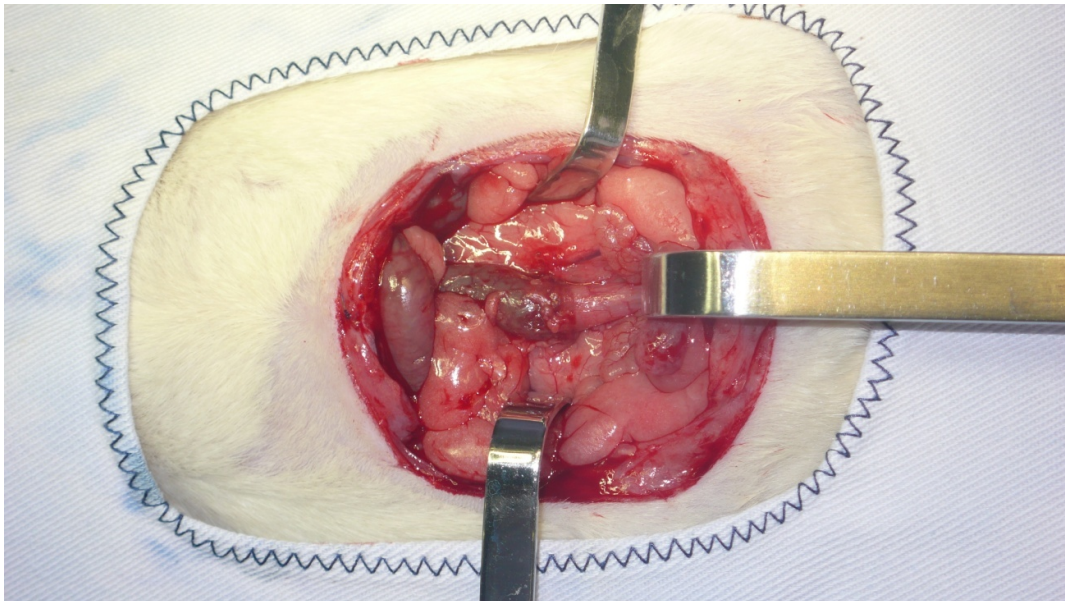


FIGURA 8 – IDENTIFICAÇÃO DA ANASTOMOSE COLÔNICA PARA RESSECÇÃO DO SEGMENTO INTESTINAL

O segmento foi seccionado ao meio, longitudinalmente, entre a borda mesentérica e a borda anti-mesentérica. O segmento esquerdo foi submetido ao teste de força de ruptura no aparelho de ensaio vertical denominado Versa Test (Mecmesin Versa Test, United Kingdom), de capacitação de tração de 2500 N, acoplado a um dinamômetro digital portátil AGF (Panambro Indústria Técnica S.A. – SP). O segmento direito foi dividido ao meio, longitudinalmente em dois fragmentos. O fragmento mesentérico direito foi lavado em solução de NaCl a 0,9%, e imerso em solução de NaCl a 0,9% e congelado a  $-70^{\circ}\text{C}$  para ser utilizado posteriormente para estudo da concentração de hidroxiprolina. O quadrante anti-mesentérico direito foi fixado em formol tamponado a 10% para exame histopatológico e análise quantitativa por histomorfometria do colágeno (figura 9).

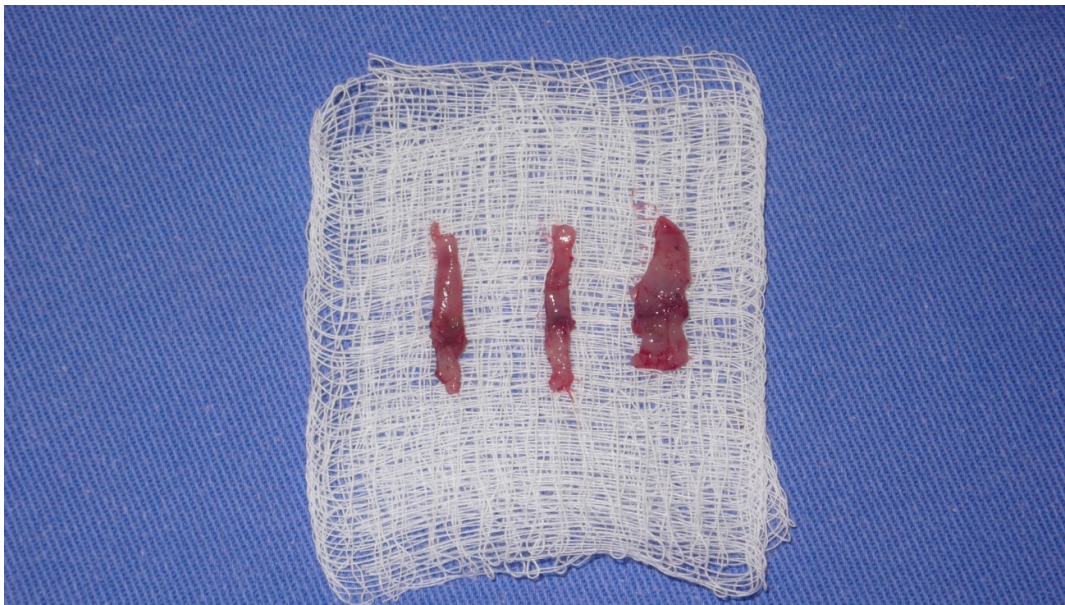


FIGURA 9 – SEGMENTO COLÔNICO DIVIDIDO PARA EXAME HISTOPATOLÓGICO E HISTOMORFOMÉTRICO, DOSAGEM DE HIDROXIPROLINA E TESTE DE FORÇA DE RUPTURA

Em seguida foi realizada eutanásia com superdose de tiobarbiturato etil sódico (Thionembatal, Thiobarbiturato Etil Sódico, Abbott Laboratórios do Brasil Ltda) aplicado na veia cava.

## 7 – Estudo da força de ruptura da anastomose

Para a determinação da força de ruptura da anastomose, foi utilizado o aparelho de ensaio vertical denominado Versa Test (Mecmesin Versa Test, United Kingdom), de capacitação de tração de 2500 N, acoplado a um dinamômetro digital portátil AGF (Panambro Indústria Técnica S.A. – SP) (figura 10).



FIGURA 10 – APARELHO DE ENSAIO VERTICAL (VERSA TEST) ACOPLADO AO DINAMÔMETRO DIGITAL

Foi ressecado um segmento intestinal de 4 cm contendo a anastomose em sua porção central. O segmento foi seccionado ao meio, entre a borda

mesentérica e a borda anti-mesentérica. A metade esquerda foi submetida ao teste.

O fragmento retangular extraído foi fixado pelas duas extremidades por meio da pinça superior do dinamômetro e da pinça inferior do Versa Teste com a cicatriz cirúrgica distando 0,5 cm entre as pinças (figura 11).



FIGURA 11 – SEGMENTO DO CÓLON POSICIONADO NO VERSA TESTE, SENDO REALIZADO O TESTE DE FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE

A velocidade do teste de ruptura foi de 25 mm/min. e o valor de ruptura foi expresso em Newton (N). O dinamômetro foi aferido antes de cada série de medidas. Os testes foram realizados de forma seqüencial; do rato 1 ao 40, nos ratos submetidos à eutanásia no 3º dia pós-operatório; do rato 41 ao 80, nos ratos submetidos à eutanásia no 7º dia pós-operatório; do rato 81 ao 120, nos ratos submetidos à eutanásia no 14º dia pós-operatório.

## 8 – Estudo histopatológico

As peças, após fixação em formol tamponado a 10 %, foram enviadas ao Laboratório de Imunopatologia de Brasília (LIB) para o preparo dos blocos de parafina. Foram realizados cortes perpendiculares à zona de anastomose, e corados pela hematoxilina e eosina, conforme a rotina do laboratório.

A avaliação da cicatrização foi realizada por microscopia de luz, por patologista experiente que desconhecia a que grupo de animais provinha o material.

Os seguintes indicadores foram considerados em cada peça:

- 1) Congestão;
- 2) Edema;
- 3) Hemorragia;
- 4) Necrose Focal;
- 5) Infiltrado Mononuclear;
- 6) Infiltrado Polimorfonuclear;
- 7) Neoformação Vascular;
- 8) Granulação;
- 9) Fibrose;
- 10) Abscesso;
- 11) Ulceração.

Os indicadores 1 a 9 foram analisados e classificados em: ausente (-), leve (+), moderado (++) , marcante (+++) ou intenso (++++).

O indicador 10 foi analisado e classificado em: ausente (-) ou presente (+).

O indicador 11 foi analisado e classificado em: ausente (-), até a camada mucosa (+), até a camada muscular (++) , ultrapassa a muscular (+++), até a serosa (++++), reepitelizado (R) ou cicatrizado (C).

## 9 – Estudo histomorfométrico do colágeno

Análise quantitativa por histomorfometria do colágeno presente nas regiões peri-anastomóticas foi realizada pela avaliação das lâminas coradas pelo *Picro-Sirius*, por meio de sistema digital de análise de imagens. Observou-se a área total dos campos por microscopia com luz com objetiva de 10X e a análise foi realizada por um observador que desconhecia de que grupo ou subgrupo de animais a lâmina provinha. A captura das imagens foi obtida através de câmera digital Sony S85 (Tóquio – Japão) acoplada a um

Microscópio de luz Zeiss Axion Star (Carl Zeiss Vision – Alemanha). Todas as imagens tiveram uma resolução de 1280 x 960 pixels e foram analisadas por meio do *software Image J* (Wayne Rasband, Research Services Branch, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA) por observador diferente do que captou as imagens e que desconhecia de que grupo ou subgrupo de animais as imagens provinham.

A análise de presença de colágeno, quanto ao aparecimento das formas jovem (tipo III) e madura (tipo I), foi realizada através da coloração de *Picro-Sirius* das lâminas contendo a região perianastomótica e leitura das mesmas por microscopia de luz polarizada (JUNQUEIRA, 1979, 1982; MONTES, 1991).

## 10 – Estudo bioquímico

Foram determinadas as concentrações de hidroxiprolina nos dois segmentos intestinais obtidos de cada animal, o primeiro ressecado na operação inicial, ou amostra pré-teste, e o segundo, contendo a anastomose, coletado na reoperação, ou amostra pós-teste.

Os processos de extração e dosagem de hidroxiprolina foram realizados segundo a técnica proposta por Stegemann & Stalder (1967) modificado por Medugorac (1980).

### 10.1 – Extração de hidroxiprolina

O tecido passou pelas seguintes etapas:

1- Pesado aproximadamente 100 mg de tecido e colocado em placas de Petri, para secar em estufa a 100°C por 4 horas.

2- Pesado novamente (peso seco) cada tecido e transferido para uma ampola de vidro, adicionando HCl 6N na proporção de 1 ml para cada 10 mg de tecido.

3- Fechado as ampolas sob chama e colocadas para hidrolisar na estufa, entre 107 e 110°C, por 18 horas.

4- Após esse período, as ampolas foram abertas e o conteúdo foi transferido para balões volumétricos de 50 ml, lavando as ampolas com 1 ou 2 ml de água Milli-Q.



5- Adicionado aos balões cerca de 100 mg de carvão ativado (Merck).

6- Simultaneamente, foi adicionado 20 ml de tampão Citrato/Acetato pH 6,0 e completado o balão para 50 ml com água Milli-Q.

7- Filtrado a solução em proveta, utilizando papel de filtro.

8- Separado parte da solução para dosagem e congelado outra parte.

## 10.2 – Dosagem de Hidroxiprolina

O extrato passou pelas seguintes etapas:

1- Em placa leitora de ELISA de 96 poços, foi adicionado 100 µl de cada amostra (em duplicata), 100 µl de água (branco) e 100 µl dos respectivos padrões.

2- Foi adicionado 50 µl de Cloramina T, e deixado à temperatura ambiente por 20 minutos.

3- Adicionado 50 µl da Solução de Erlich (dimetilaminobenzaldeído)

4- Colocado em estufa a 65°C por 15 minutos.

5- Lido em espectrofotômetro Versamax a 550 nm.

6- Comparado os resultados com uma curva padrão de OH-Prolina (Sigma H-7279) nas concentrações de 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20 µg/ml.

## 11 – Análise Estatística

Os resultados obtidos foram analisados sob o ponto de vista estatístico, utilizando-se os *softwares* SPSS 13.0 (*Special package for social sciences*), SigmaStat 2.0 e Microsoft Excel.

Para a análise dos óbitos foi realizado o teste de qui-quadrado.

Para comparar as variações entre os pesos iniciais e os pesos nas datas da eutanásia, foi utilizado a análise de variância (ANOVA).

Para o teste de resistência tênsil, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis.

Para comparar os achados histopatológicos, foi empregado o teste exato de Fisher.

Para os testes de deposição de colágeno e de concentração de hidroxiprolina foram utilizados o teste de Kruskal-Wallis e comparações múltiplas de Dunn.

Todas as probabilidades menores que 5% ( $p < 0,05$ ) foram consideradas significantes.

## **4 – RESULTADOS**

## RESULTADOS

### 1 – Evolução clínica dos animais

Dentre os 120 animais operados, seis morreram durante o experimento (animais 21,33,47,96,106 e 120). Os mesmos foram submetidos a necropsia para tentar identificar a causa do óbito (tabela 1).

TABELA 1 – ANIMAIS QUE MORRERAM DURANTE O EXPERIMENTO SEGUNDO NÚMERO, GRUPO, DIA PÓS-OPERATÓRIO DO ÓBITO E CAUSA DO ÓBITO

Animal	Grupo	Dia do Óbito	Causa do Óbito
21	I-3	1º DPO	Evisceração
33	I-3	1º DPO	Desconhecida
47	IV-7	6º DPO	Desconhecida
96	II-14	8º DPO	Desconhecida
106	I-14	4º DPO	Desconhecida
120	I-14	3º DPO	Fístula bloqueada

$p=0,097$

Dos animais a serem submetidos a eutanásia no 3º dia pós-operatório, os 2 que morreram eram do grupo I, sendo um de evisceração e um de causa desconhecida.

Dos animais a serem submetidos a eutanásia no 7º dia pós-operatório, o que morreu era do grupo IV, de causa desconhecida.

Dos animais a serem submetidos a eutanásia no 14º dia pós-operatório, houve três óbitos: dois animais do grupo I, sendo um de causa desconhecida e outro a necropsia mostrou fístula bloqueada; e um do grupo III, que morreu de causa desconhecida.

Apesar dos óbitos terem sido mais freqüentes no grupo I, não houve diferença estatística ( $p=0,097$ ).

### 2 – Peso dos animais

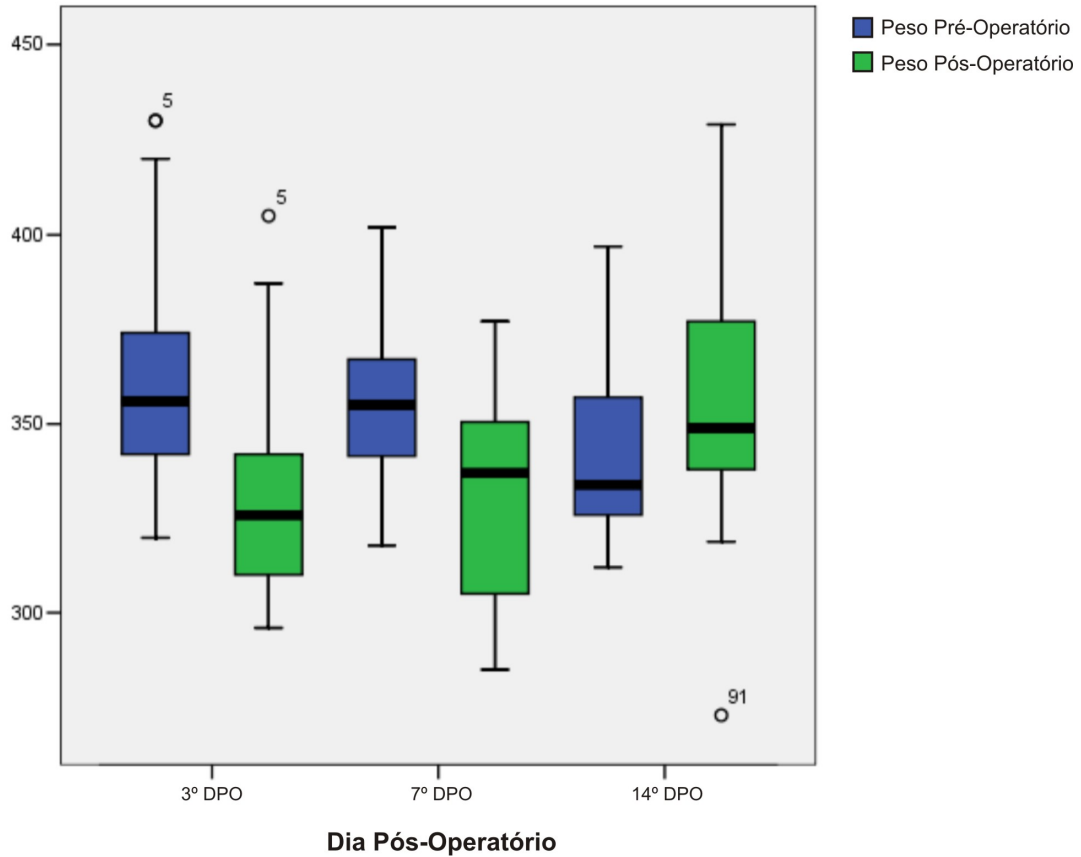
O peso inicial dos animais variou de 312 g a 430 g (média de 353,9 g) e o peso na data da eutanásia foi de 273 g a 429 g (média de 338,6 g). A

evolução dos pesos em cada subgrupo está apresentada na tabela 2 e nos apêndices 1 a 3.

TABELA 2 – DISTRIBUIÇÃO DA MÉDIA E DESVIO PADRÃO DOS PESOS DOS ANIMAIS NO DIA DA OPERAÇÃO E NO DIA DA EUTANÁSIA PARA TODOS OS GRUPOS E SUBGRUPOS

Grupos	3º DPO (p=0,719)		7º DPO (p=0,195)		14º DPO (p=0,651)	
	Peso Inicial	Peso Final	Peso Inicial	Peso Final	Peso Inicial	Peso Final
I	363,2±16,1	328,4±21,9	363,8±17,0	335,0±24,4	343,7±23,8	355,3±21,4
II	370,8±32,9	342,2±30,5	349,9±19,1	323,0±27,9	353,8±29,7	364,1±30,6
III	361,4±32,9	329,4±30,7	353,7±25,1	323,1±33,1	333,2±13,9	337,0±29,8
IV	349,4±23,4	321,0±15,9	355,9±16,1	346,6±19,3	347,7±27,3	360,3±31,7

Utilizando-se a análise de variância, não houve diferença estatística quando se compara a diferença entre os pesos finais e os pesos iniciais nos animais submetidos a eutanásia no mesmo dia pós-operatório (3º DPO – p = 0,719, 7º DPO – p = 0,195, 14º DPO – p = 0,651). Houve diferença estatística comparando-se a diferença entre os pesos finais e iniciais dos animais submetidos a eutanásia em dias diferentes (p<0,0001) (gráficos 1 e 2)



$p < 0,0001$

GRÁFICO 1 – MEDIANA E VALORES INTERVALARES DOS PESOS DOS ANIMAIS NO DIA DA OPERAÇÃO E NO DIA DA EUTANÁSIA, DISTRIBUÍDOS SEGUNDO O DIA DE PÓS-OPERATÓRIO. PESO EM GRAMAS

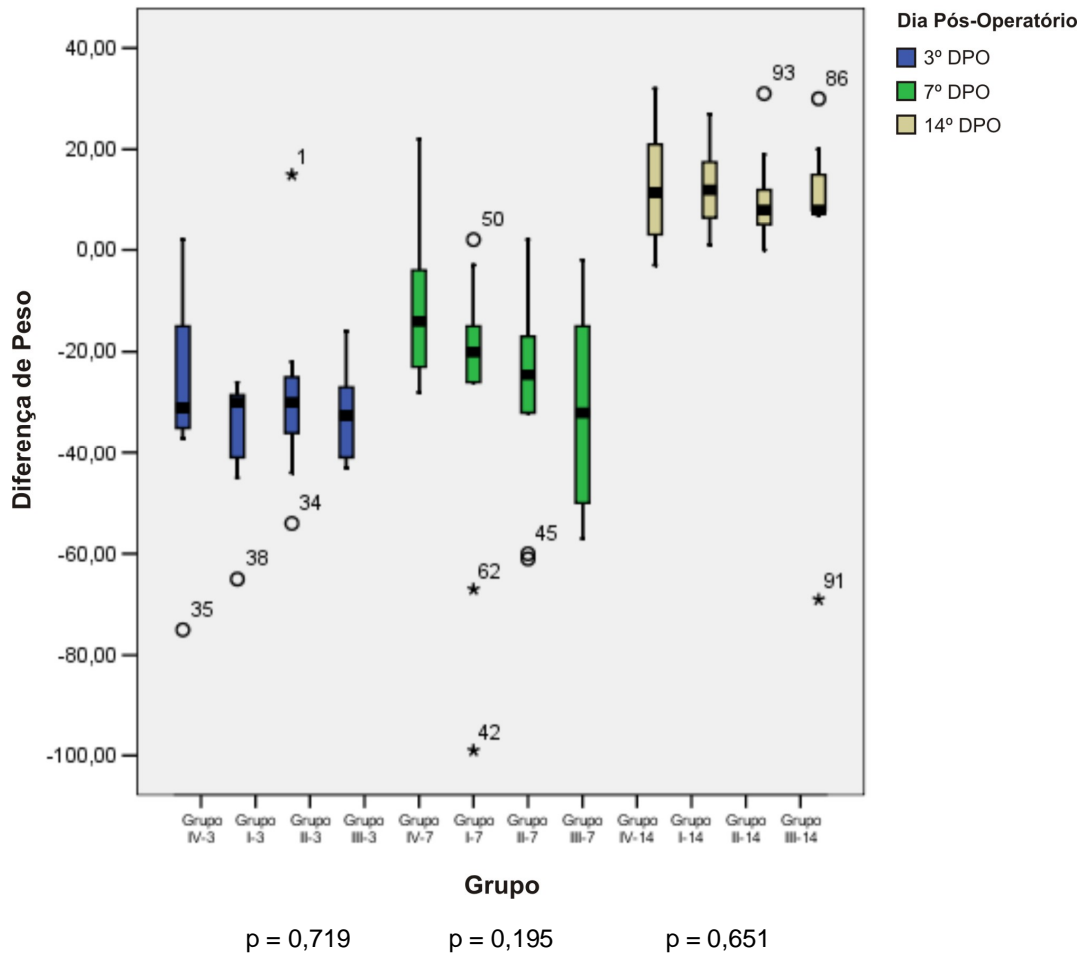


GRÁFICO 2 - MEDIANA E VALORES INTERVALARES DA DIFERENÇA ENTRE O PESO NO DIA DA EUTANÁSIA E NO DIA DA OPERAÇÃO, DISTRIBUÍDOS SEGUNDO O DIA DE PÓS-OPERATÓRIO E TRATAMENTO REALIZADO. PESO EM GRAMAS

### 3 – Estudo da força de ruptura da anastomose

O estudo da força de ruptura da anastomose foi realizado nos 114 animais que sobreviveram até a data programada para a eutanásia.

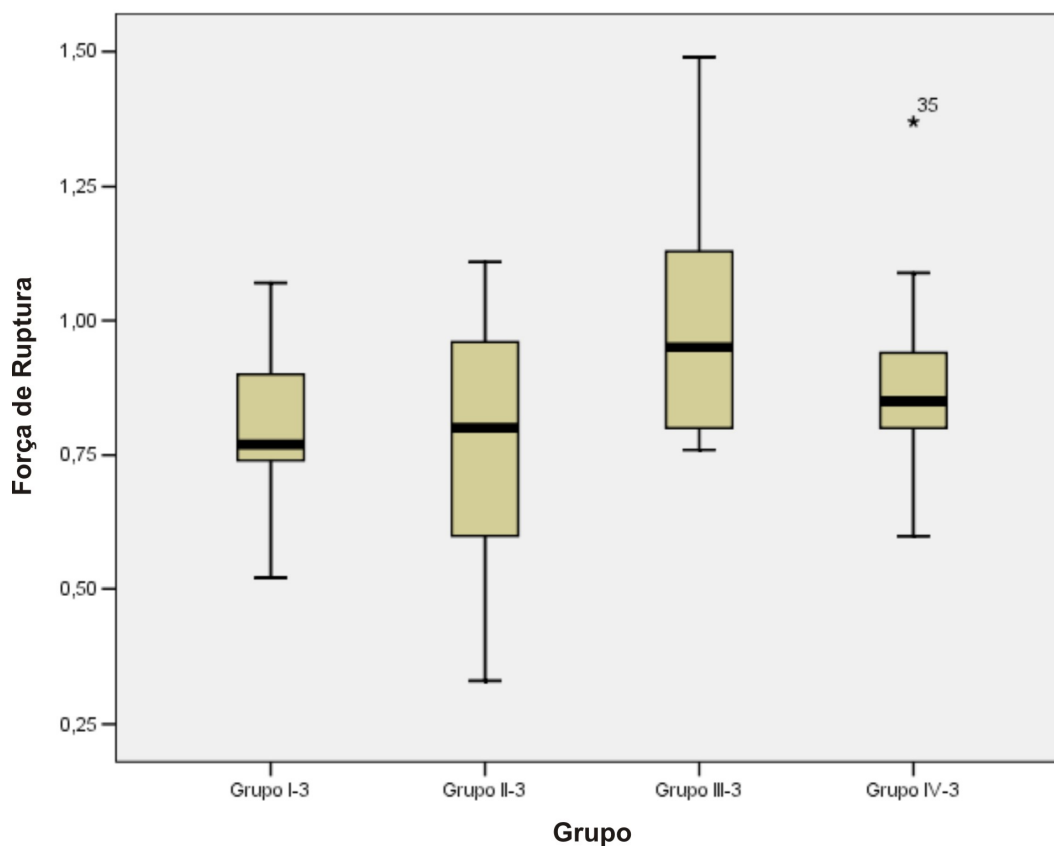
Os resultados da força de ruptura para cada animal, expresso em Newton podem ser visualizados nos apêndices 4 a 6.

Ao analisar separadamente os valores da força de ruptura da anastomose dos ratos submetidos a eutanásia no 3º dia pós-operatório, não se observa diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p=0,165$ ) (tabela 3, gráfico 3)

TABELA 3 – VALORES DA FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE NOS ANIMAIS MORTOS NO 3º DIA PÓS-OPERATÓRIO (MÉDIA, MEDIANA, DESVIO PADRÃO, VALORES MÍNIMOS E MÁXIMOS). VALORES EM NEWTON

Grupo	Grupo I-3	Grupo II-3	Grupo III-3	Grupo IV-3
N	8	10	10	10
Média	0,80	0,77	1,00	0,90
Desvio Padrão	0,17	0,24	0,24	0,21
Mediana	0,77	0,80	0,95	0,85
Mínimo	0,52	0,33	0,76	0,60
Maximo	1,07	1,11	1,49	1,37

$p=0,165$



$p=0,165$

GRÁFICO 3 - MEDIANA E VALORES INTERVALARES DO TESTE DE FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE DOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 3º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO DE ACORDO COM O TRATAMENTO REALIZADO. VALORES EM NEWTON

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ao se analisar os valores da força de ruptura da anastomose dos ratos mortos no 7º dia pós-operatório ( $p=0,219$ ) (tabela 4, gráfico 4).



TABELA 4 – VALORES DA FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE NOS ANIMAIS MORTOS NO 7º DIA PÓS-OPERATÓRIO (MÉDIA, MEDIANA, DESVIO PADRÃO, VALORES MÍNIMOS E MÁXIMOS). VALORES EM NEWTON

Grupo	Grupo I-7	Grupo II-7	Grupo III-7	Grupo IV-7
N	10	10	10	9
Média	1,63	1,58	1,91	1,68
Desvio Padrão	0,43	0,81	0,53	0,35
Mediana	1,64	1,40	1,95	1,51
Mínimo	0,70	0,84	1,00	1,39
Maximo	2,17	3,59	2,96	2,45

p=0,219

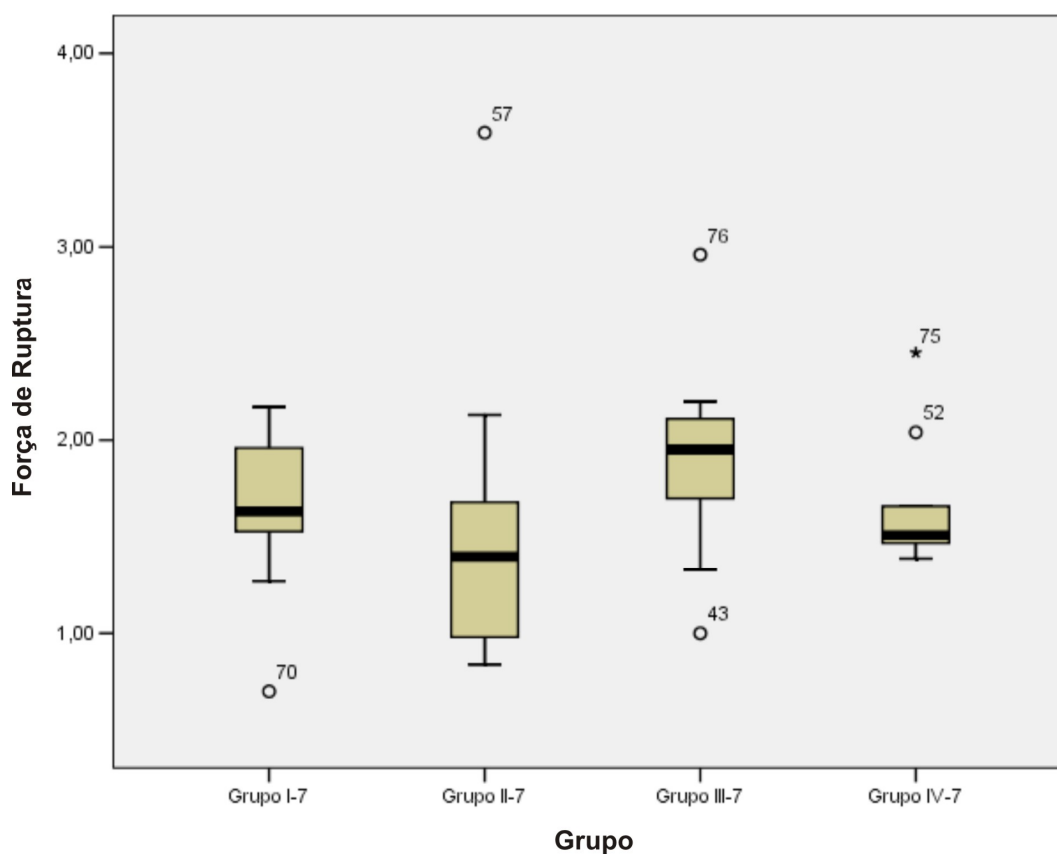


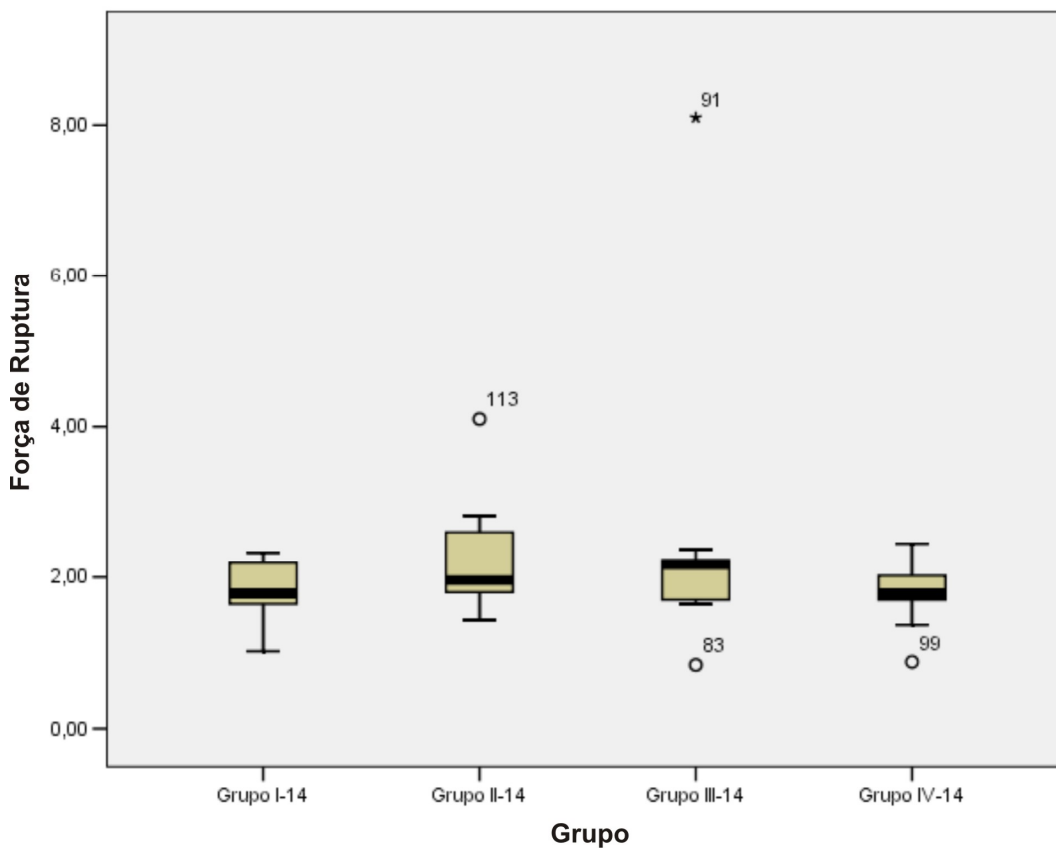
GRÁFICO 4 - MEDIANA E VALORES INTERVALARES DO TESTE DE FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE DOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 7º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO DE ACORDO COM O TRATAMENTO REALIZADO. VALORES EM NEWTON

Ao se analisar os valores da força de ruptura dos ratos submetidos a eutanásia no 14º dia pós-operatório, também não se observa diferença estatisticamente significativa entre os grupos (  $p=0,539$ ) (tabela 5, gráfico 5)

TABELA 5 – VALORES DA FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE NOS ANIMAIS MORTOS NO 14º DIA PÓS-OPERATÓRIO (MÉDIA, MEDIANA, DESVIO PADRÃO, VALORES MÍNIMOS E MÁXIMOS). VALORES EM NEWTON

Grupo	Grupo I-14	Grupo II-14	Grupo III-14	Grupo IV-14
N	8	10	9	10
Média	1,82	2,21	2,56	1,77
Desvio Padrão	0,43	0,78	2,13	0,43
Mediana	1,78	1,96	2,17	1,78
Mínimo	1,02	1,43	0,84	0,88
Maximo	2,33	4,10	8,10	2,45

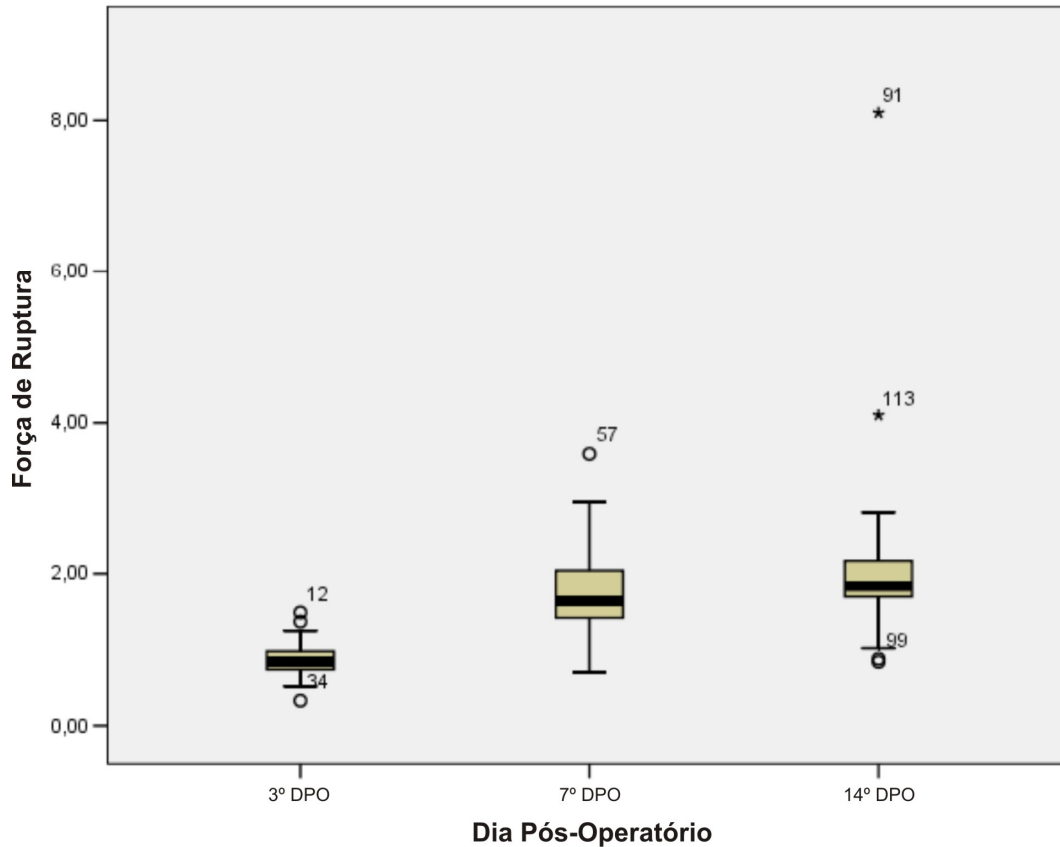
p=0,539



p=0,539

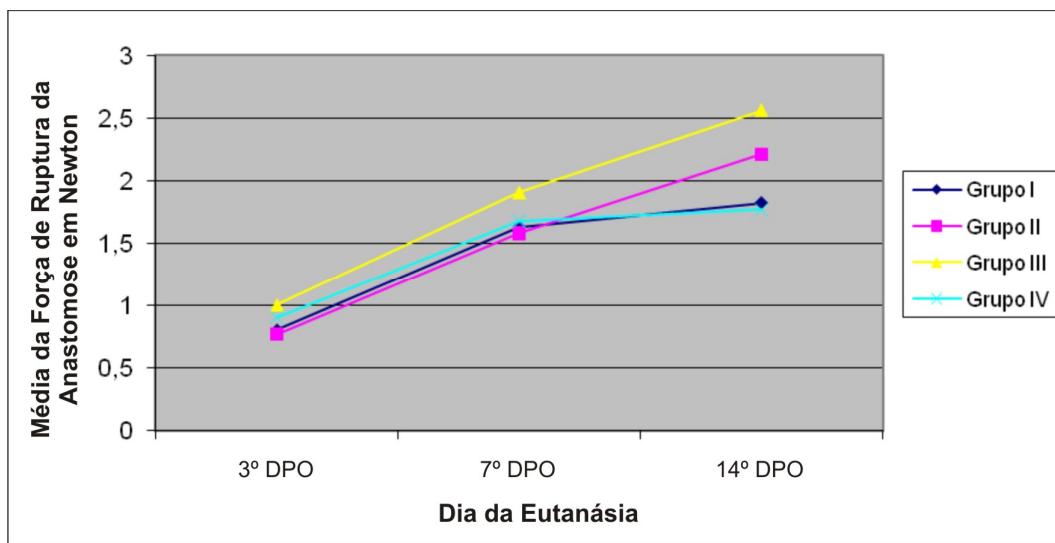
GRÁFICO 5 - MEDIANA E VALORES INTERVALARES DO TESTE DE FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE DOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 14º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO DE ACORDO COM O TRATAMENTO REALIZADO. VALORES EM NEWTON

Na análise dos resultados do teste de força de ruptura da anastomose colônica em dias diferentes de eutanásia, houve aumento progressivo da resistência, com diferença estatística ( $p < 0,0001$ ) (gráficos 6 e 7)



$p < 0,0001$

GRÁFICO 6 – MEDIANA E VALORES INTERVALARES DO TESTE DE FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE DISTRIBUÍDOS SEGUNDO O DIA DE PÓS-OPERATÓRIO. VALORES EM NEWTON



$p < 0,0001$

GRÁFICO 7 – EVOLUÇÃO DA MÉDIA DO TESTE DE FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE PELO DIA DE PÓS-OPERATÓRIO. VALORES EM NEWTON

#### 4 – Estudo Histopatológico

Os resultados estão apresentados de acordo com os indicadores histopatológicos que apresentaram diferença estatisticamente significativa para o período analisado.

Os resultados discriminados por animais estão nos apêndices 7 a 18.

##### 4.1 – Terceiro dia pós-operatório

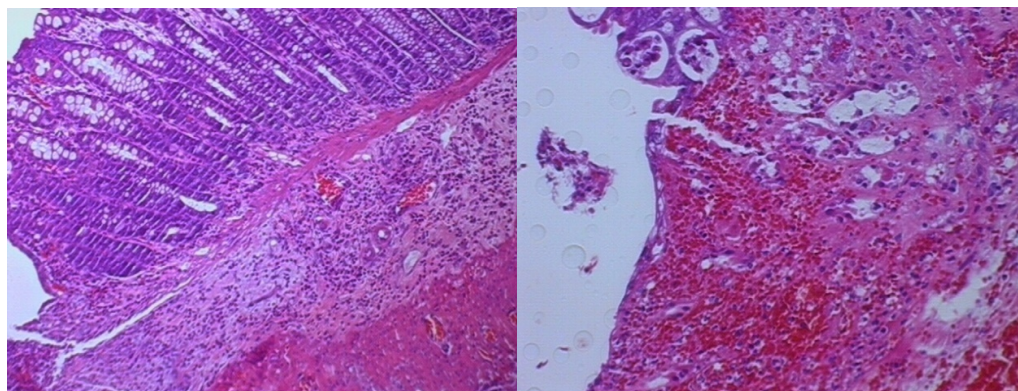
O quadro histopatológico foi predominado por fenômenos agudos caracterizados por congestão, edema, hemorragia, infiltrado polimorfonuclear e necrose focal (apêndices 7 a 10).

Há menor hemorragia no grupo II comparado com o grupo controle (IV) com significância estatística ( $p=0,003$ ) (tabela 6) (figura 12).

TABELA 6 – FREQUÊNCIA DE HEMORRAGIA NOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 3º DIA PÓS-OPERATÓRIO

		Hemorragia					
		Ausente	Leve	Moderado	Marcante	Intenso	Total
Grupo	I-3	3	0	1	2	2	8
	II-3	4	3	3	0	0	10
	III-3	0	0	1	5	4	10
	IV-3	0	2	2	3	3	10
	Total	7	5	7	10	9	38

$p=0,003$



Grupo II-3 – 100x

Grupo IV-3 – 200x

FIGURA 12 – HEMORRAGIA NOS GRUPOS II E IV DE ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 3º DIA PÓS-OPERATÓRIO

## 4.2 – Sétimo dia pós-operatório

O quadro histopatológico foi predominado por fenômenos simultâneos agudos e crônicos, caracterizados por persistência do infiltrado polimorfonuclear, aumento do infiltrado mononuclear, aparecimento de fibrose, neoformação vascular e granulação (apêndices 11 a 14).

Há menor infiltrado mononuclear ( $p=0,006$ ), maior infiltrado polimorfonuclear ( $p=0,001$ ) e maior necrose focal ( $p=0,001$ ) quando se compara o grupo II com o grupo IV (grupo controle) (tabelas 7, 8 e 9) (figura 13).

TABELA 7 – FREQUÊNCIA DO INFILTRADO MONONUCLEAR NOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 7º DIA PÓS-OPERATÓRIO

		Infiltrado Mononuclear					
		Ausente	Leve	Moderado	Marcante	Intenso	Total
Grupo	I-7	0	0	1	6	3	10
	II-7	0	1	8	1	0	10
	III-7	0	0	3	6	1	10
	IV-7	0	0	2	5	2	9
	Total	0	1	14	18	6	39

$p=0,006$

TABELA 8 – FREQUÊNCIA DO INFILTRADO POLIMORFONUCLEAR NOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 7º DIA PÓS-OPERATÓRIO

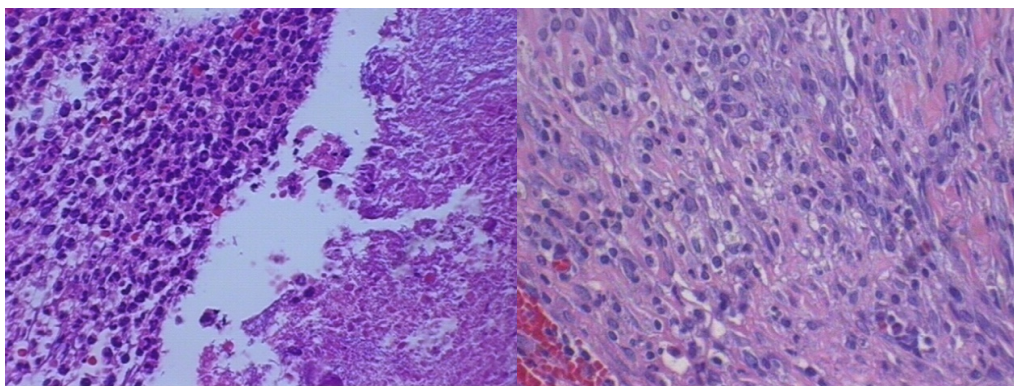
		Infiltrado Polimorfonuclear					
		Ausente	Leve	Moderado	Marcante	Intenso	Total
Grupo	I-7	0	2	6	1	1	10
	II-7	0	0	1	3	6	10
	III-7	0	1	4	1	4	10
	IV-7	0	4	3	2	0	9
	Total	0	7	14	7	11	39

$p=0,001$

TABELA 9 – FREQUÊNCIA DA NECROSE FOCAL NOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 7º DIA PÓS-OPERATÓRIO

		Necrose Focal					
		Ausente	Leve	Moderado	Marcante	Intenso	Total
Grupo	I-7	4	1	1	4	0	10
	II-7	1	0	0	2	7	10
	III-7	0	3	4	2	1	10
	IV-7	4	1	4	0	0	9
	Total	9	5	9	8	8	39

$p=0,001$



Grupo II-7 – 400 x

Grupo IV-7 – 400 x

FIGURA 13 – INFILTRADO MONONUCLEAR, INFILTRADO POLIMORFONUCLEAR E NECROSE FOCAL NOS GRUPOS II E IV DE ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 7º DIA PÓS-OPERATÓRIO

#### 4.3 – Décimo-quarto dia pós-operatório

Há desaparecimento dos fenômenos inflamatórios agudos e aparecimento intenso de fibrose (apêndices 15 a 18)

Há menor fibrose no grupo II comparado com o grupo IV (controle), com significância estatística ( $p < 0,0001$ ) (tabela 10) (figura 14).

TABELA 10 – FREQUÊNCIA DA FIBROSE NOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 14º DIA PÓS-OPERATÓRIO

		Fibrose					
		Ausente	Leve	Moderado	Marcante	Intenso	Total
Grupo	I-14	0	0	0	8	0	8
	II-14	0	0	4	5	1	10
	III-14	0	0	1	3	5	9
	IV-14	0	0	0	0	10	10
	Total	0	0	5	16	16	37

$p < 0,0001$

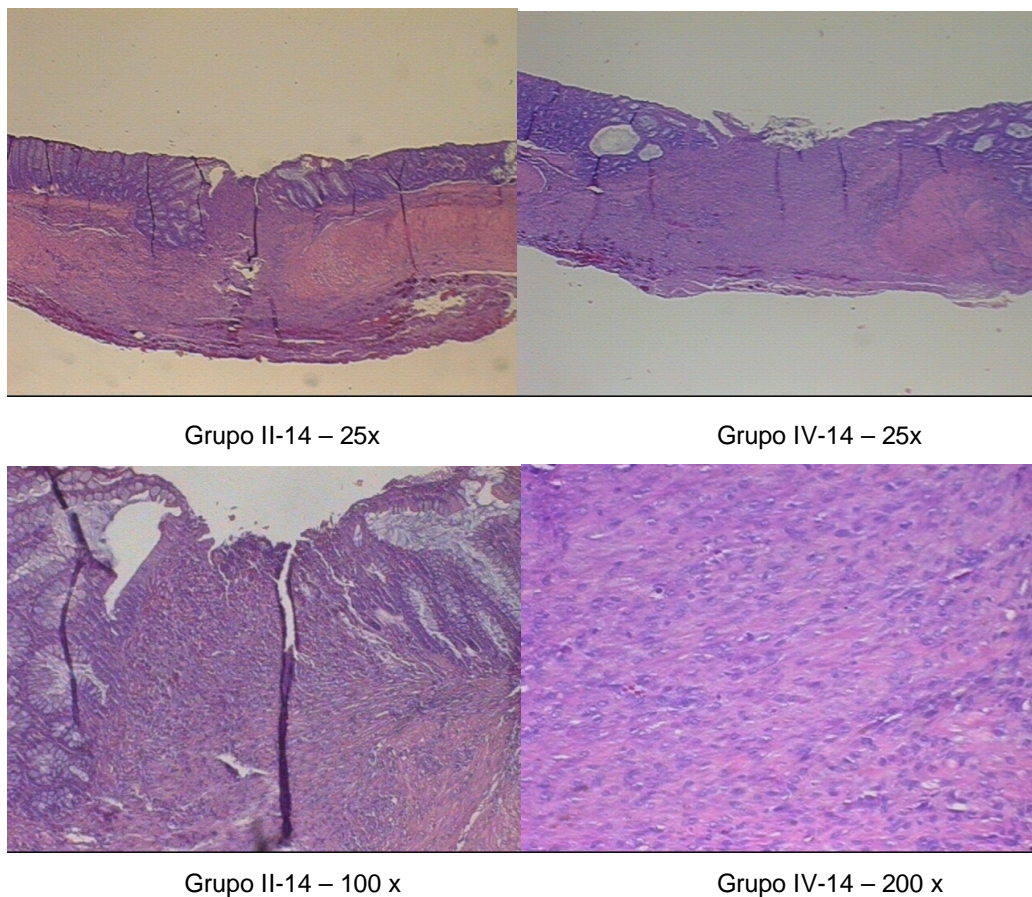


FIGURA 14 – FIBROSE NOS GRUPOS II E IV DE ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 14º DIA PÓS-OPERATÓRIO

### 5 – Estudo Histomorfométrico do Colágeno

Foram realizadas 523 fotos das regiões anastomóticas e peri-anastomóticas das lâminas. Os resultados do percentual de pixel por foto podem ser visualizados nos apêndices 19 a 21.

Os resultados do percentual de pixel, divididos por grupos, podem ser visualizados nas tabelas 11 a 13.

TABELA 11 – HISTOMORFOMETRIA DO COLÁGENO NAS ANASTOMOSES COLÔNICAS NOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 3º DIA PÓS-OPERATÓRIO, COM A COLORAÇÃO PÍCRO-SÍRIUS (MÉDIA, DESVIO PADRÃO, MEDIANA, VALORES MÍNIMOS E MÁXIMOS). VALORES EM PERCENTUAL DE PIXEL

Grupo	I-3	II-3	III-3	IV-3
N	14	16	27	25
Média	2,05	2,23	1,85	1,82
Desvio Padrão	1,34	1,07	1,95	1,75
Mediana	1,65	2,50	1,20	1,50
Mínimo	0,50	0,20	0,20	0,10
Máximo	5,00	3,70	7,80	6,00

p=0,196

TABELA 12 – HISTOMORFOMETRIA DO COLÁGENO NAS ANASTOMOSES COLÔNICAS NOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 7º DIA PÓS-OPERATÓRIO, COM A COLORAÇÃO PÍCRO-SÍRIUS (MÉDIA, DESVIO PADRÃO, MEDIANA, VALORES MÍNIMOS E MÁXIMOS). VALORES EM PERCENTUAL DE PIXEL

Grupo	I-7	II-7	III-7	IV-7
N	62	58	68	56
Média	1,67	3,00	1,56	2,81
Desvio Padrão	1,59	2,97	1,22	2,16
Mediana	0,95	1,70	1,35	2,30
Mínimo	0,10	0,20	0,20	0,20
Máximo	7,70	12,20	5,70	10,70

p<0,0001

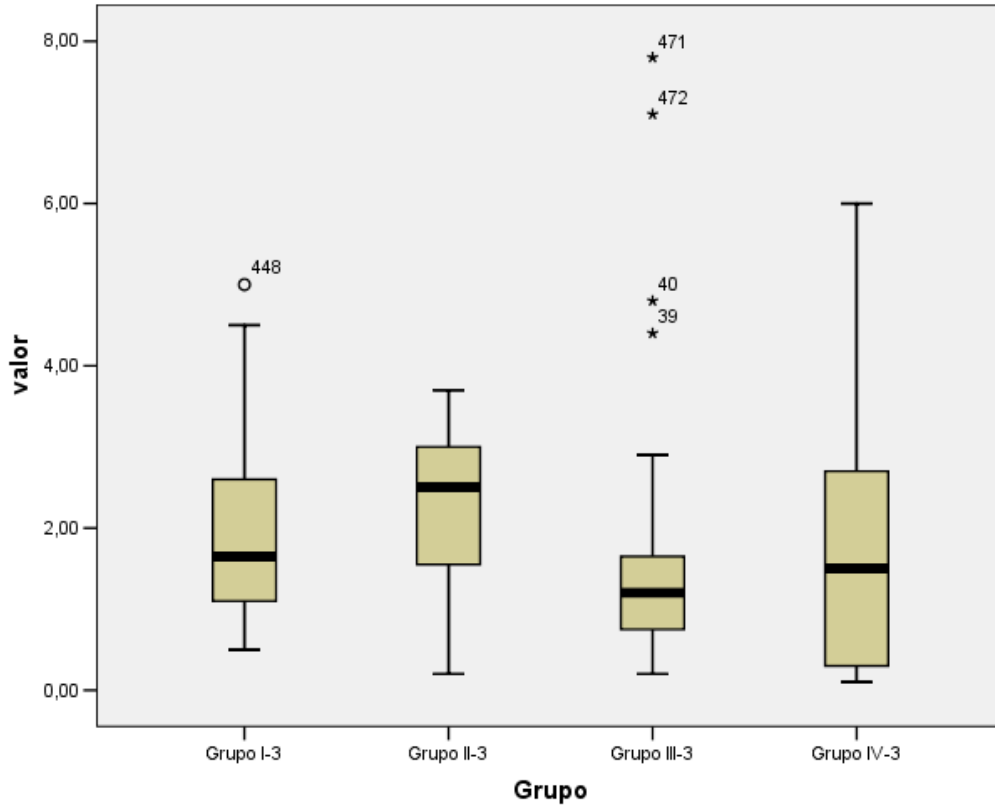
TABELA 13 – HISTOMORFOMETRIA DO COLÁGENO NAS ANASTOMOSES COLÔNICAS NOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 14º DIA PÓS-OPERATÓRIO, COM A COLORAÇÃO PÍCRO-SÍRIUS (MÉDIA, DESVIO PADRÃO, MEDIANA, VALORES MÍNIMOS E MÁXIMOS). VALORES EM PERCENTUAL DE PIXEL

Grupo	I-14	II-14	III-14	IV-14
N	46	44	48	59
Média	6,12	4,23	3,04	2,40
Desvio Padrão	3,61	2,76	3,35	1,77
Mediana	5,60	4,10	2,25	2,00
Mínimo	0,10	0,10	0,40	0,30
Máximo	18,30	13,20	19,00	9,60

p<0,0001

Não houve diferença estatisticamente significativa na histomorfometria do colágeno entre os grupos dos animais submetidos a eutanásia no 3º dia pós-operatório (p=0,196) (gráfico 8) (figura 15)





p=0,196

GRÁFICO 8 - MEDIANA E VALORES INTERVALARES DA HISTOMORFOMETRIA DO COLÁGENO NAS ANASTOMOSES COLÔNICAS DOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 3º DIA PÓS-OPERATÓRIO

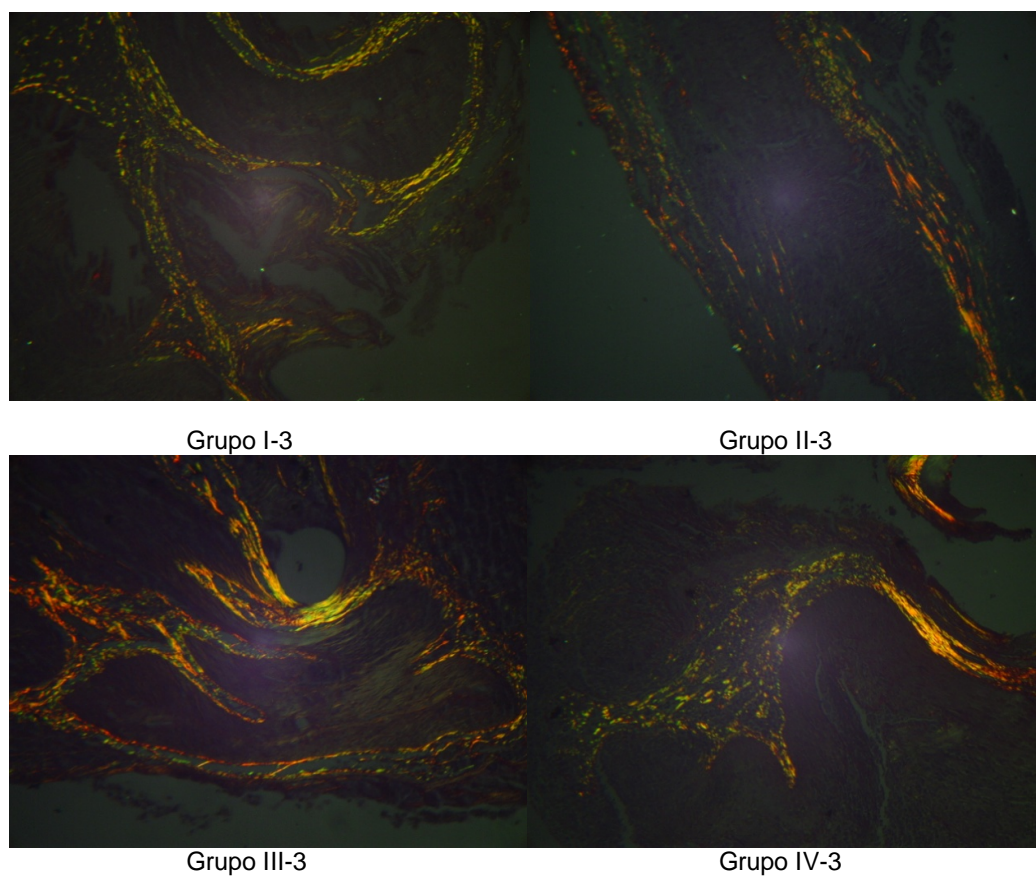
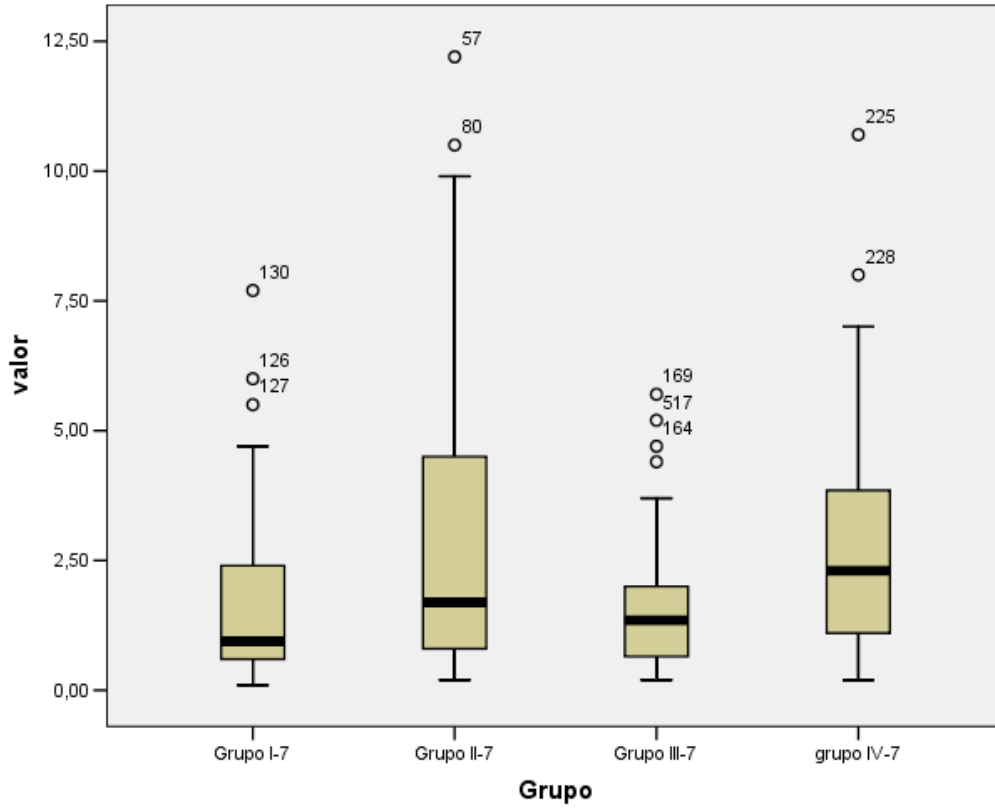


FIGURA 15 – HISTOMORFOMETRIA DAS LÂMINAS CORADAS PELO PICO-SIRIUS COM LUZ POLARIZADA DOS ANIMAIS MORTOS NO 3º DIA PÓS-OPERATÓRIO

Entre os animais submetidos a eutanásia no 7º dia pós-operatório, houve diminuição na quantidade de colágeno nos grupos I e III em relação ao grupo IV (controle) com significância estatística ( $p < 0,0001$ ) (gráfico 9) (figura 16).



$p < 0,0001$

GRÁFICO 9 - MEDIANA E VALORES INTERVALARES DA HISTOMORFOMETRIA DO COLÁGENO NAS ANASTOMOSES COLÔNICAS DOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 7º DIA PÓS-OPERATÓRIO

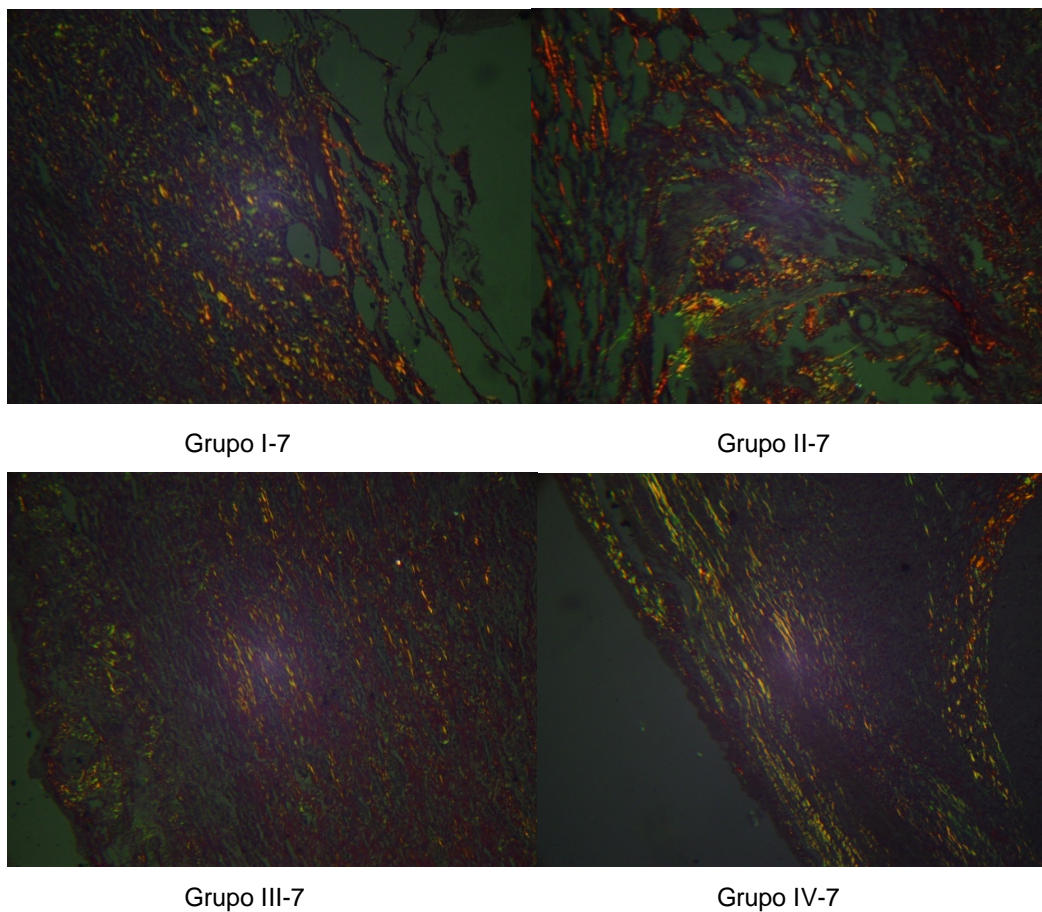
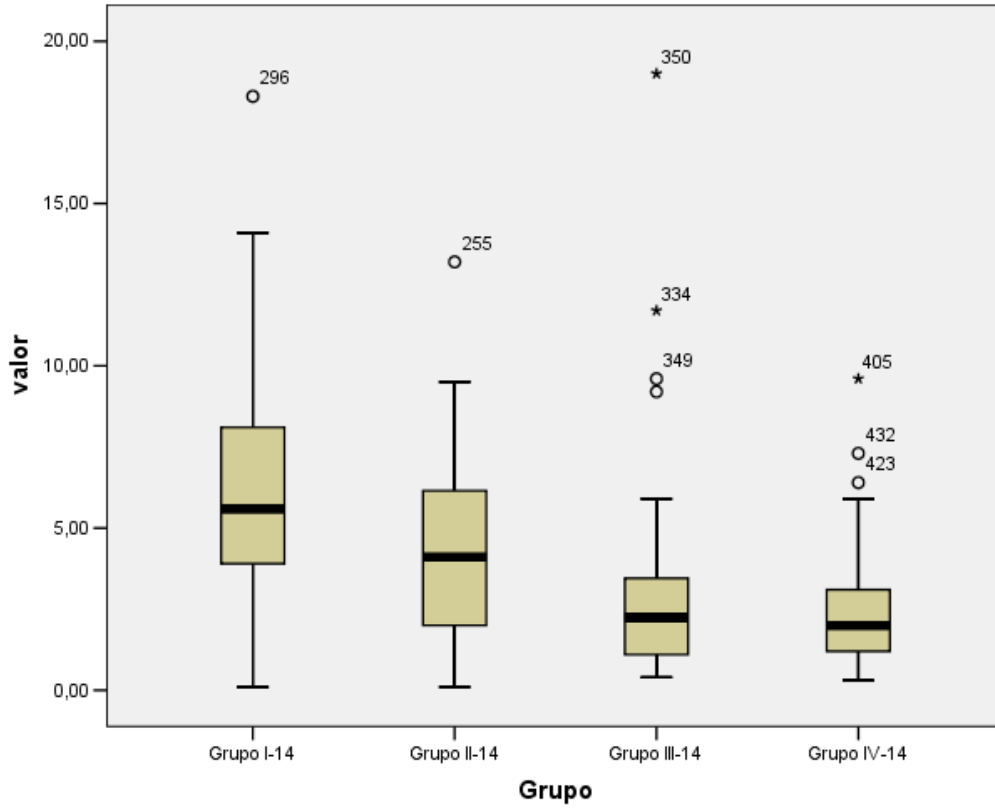


FIGURA 16 – HISTOMORFOMETRIA DAS LÂMINAS CORADAS PELO PICO-SIRIUS COM LUZ POLARIZADA DOS ANIMAIS MORTOS NO 7º DIA PÓS-OPERATÓRIO

Entre os animais submetidos a eutanásia no 14º dia pós-operatório, houve aumento na quantidade de colágeno nos grupos I e II em relação ao grupo controle (IV) com significância estatística ( $p < 0,0001$ ) (gráfico 10)(figura 17).



$p < 0,0001$

GRÁFICO 10 - MEDIANA E VALORES INTERVALARES DA HISTOMORFOMETRIA DO COLÁGENO NAS ANASTOMOSES COLÔNICAS DOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EUTANÁSIA NO 14º DIA PÓS-OPERATÓRIO

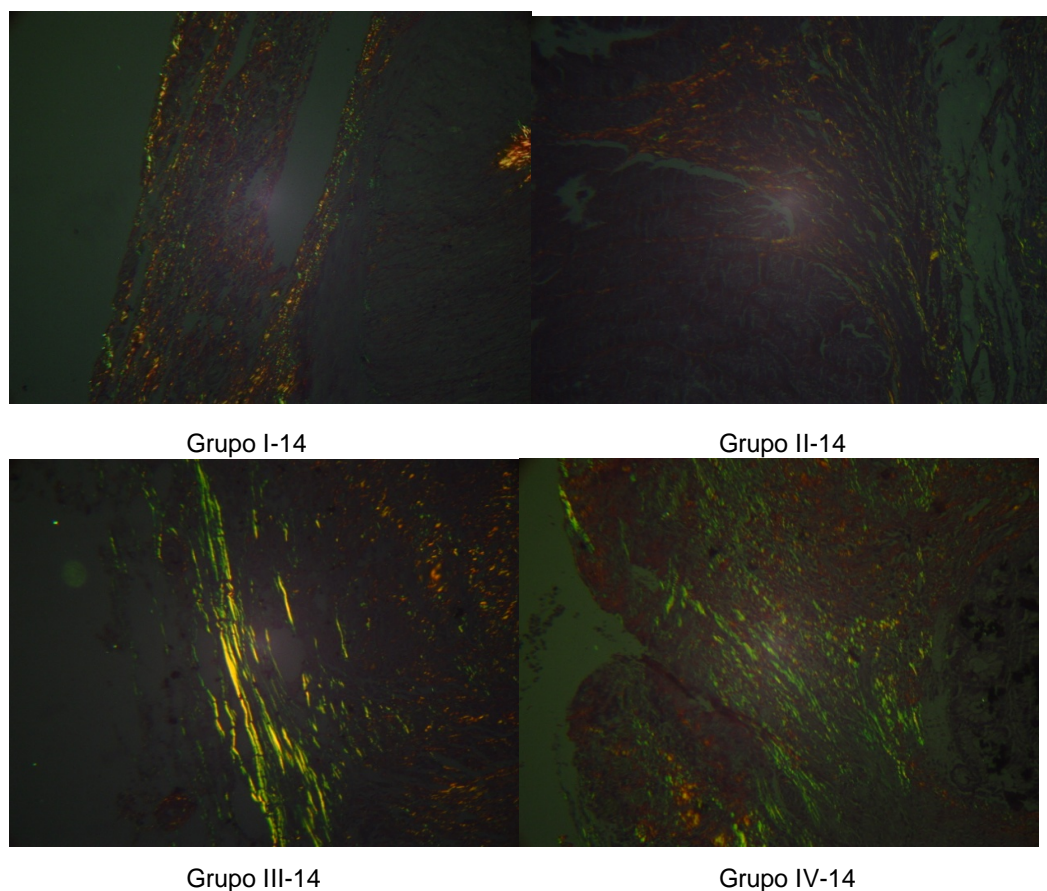


FIGURA 17 – HISTOMORFOMETRIA DAS LÂMINAS CORADAS PELO PICO-SIRIUS COM LUZ POLARIZADA DOS ANIMAIS MORTOS NO 14º DIA PÓS-OPERATÓRIO

## 6 – Estudo da Concentração de Hidroxiprolina

A concentração de hidroxiprolina nas anastomoses foi estudada nos 120 animais em amostras retiradas na operação, e nos 114 animais submetidos a reoperação nas datas programadas.

Os resultados da hidroxiprolina, em mg/g de tecido, são apresentados nos apêndices 22 a 24.

Não há diferença estatisticamente significativa entre as amostras dos grupos que receberam pneumoperitônio antes da laparotomia e coleta da amostra (grupos I e III), e dos grupos que foram submetidos à operação sem o pneumoperitônio prévio à coleta da amostra (grupos II e IV) ( $p=0,699$ ). (tabela 14).

TABELA 14 – CONCENTRAÇÃO DE HIDROXIPROLINA EM MG/G DE TECIDO DA AMOSTRA PRÉ TESTE DOS ANIMAIS SUBMETIDOS À PNEUMOPERITÔNIO ANTES DA LAPAROTOMIA (GRUPOS I E III) E DOS ANIMAIS NÃO SUBMETIDOS AO PNEUMOPERITÔNIO ANTES DA LAPAROTOMIA (GRUPOS II E IV) (MÉDIA, DESVIO PADRÃO, MEDIANA, VALORES MÍNIMOS E MÁXIMOS)

	Grupos I e III	Grupos II e IV
N	60	60
Média	1,09	1,14
Desvio Padrão	0,24	0,32
Mediana	1,10	1,10
Mínimo	0,40	0,50
Máximo	1,80	2,40

p=0,699

Houve diminuição da média dos valores de hidroxiprolina no dia da eutanásia, comparado com o dia da operação em todos os períodos estudados (tabelas 15, 16 e 17) (gráfico 11).

Ao se analisar os resultados da dosagem de hidroxiprolina das anastomoses dos ratos colhidos no dia da eutanásia, não se observa diferença estatisticamente significativa entre os grupos (3º DPO - p=0,152, 7º DPO - p=0,913 e 14º DPO - p=0,981) (tabelas 15, 16 e 17).

A evolução da concentração de hidroxiprolina de acordo com o dia de eutanásia apresentou um aumento gradativo, com diferença estatisticamente significativa (p<0,001) (gráfico 11).

TABELA 15 – CONCENTRAÇÃO DE HIDROXIPROLINA EM MG/G DE TECIDO DAS ANASTOMOSES COLÔNICAS COLHIDOS NO DIA DA OPERAÇÃO (O) E NO DIA DA EUTANÁSIA (E) DOS ANIMAIS MORTOS NO 3º DIA PÓS-OPERATÓRIO (MÉDIA, DESVIO PADRÃO, MEDIANA, VALORES MÍNIMOS E MÁXIMOS)

	Grupo							
	I-3 O	I-3 E	II-3 O	II-3 E	III-3 O	III-3 E	IV-3 O	IV-3 E
N	10	8	10	10	10	10	10	10
Média	1,06	0,45	0,97	0,57	0,97	0,51	1,12	0,40
Desvio Padrão	0,19	0,12	0,19	0,20	0,34	0,13	0,19	0,13
Mediana	1,10	0,40	1,00	0,50	1,00	0,55	1,10	0,40
Mínimo	0,60	0,30	0,70	0,40	0,40	0,30	0,80	0,20
Máximo	1,30	0,70	1,20	0,90	1,60	0,70	1,50	0,60

p=0,152

TABELA 16 – CONCENTRAÇÃO DA HIDROXIPROLINA EM MG/G DE TECIDO DAS ANASTOMOSES COLÔNICAS COLHIDOS NO DIA DA OPERAÇÃO (O) E NO DIA DA EUTANÁSIA (E) DOS ANIMAIS MORTOS NO 7º DIA PÓS-OPERATÓRIO (MÉDIA, DESVIO PADRÃO, MEDIANA, VALORES MÍNIMOS E MÁXIMOS)

	Grupo							
	I-7 O	I-7 E	II-7 O	II-7 E	III-7 O	III-7 E	IV-7 O	IV-7 E
N	10	10	10	10	10	10	10	9
Média	1,05	0,56	1,29	0,59	1,04	0,57	1,02	0,56
Desvio Padrão	0,11	0,126	0,35	0,152	0,15	0,177	0,30	0,181
Mediana	1,10	0,55	1,15	0,6	1,05	0,6	0,95	0,6
Mínimo	0,90	0,4	0,90	0,3	0,80	0,2	0,50	0,3
Máximo	1,20	0,8	2,00	0,8	1,30	0,8	1,50	0,9

p=0,913

TABELA 17 – CONCENTRAÇÃO DA HIDROXIPROLINA EM MG/G DE TECIDO DAS ANASTOMOSES COLÔNICAS COLHIDOS NO DIA DA OPERAÇÃO (O) E NO DIA DA EUTANÁSIA (E) DOS ANIMAIS MORTOS NO 14º DIA PÓS-OPERATÓRIO (MÉDIA, DESVIO PADRÃO, MEDIANA, VALORES MÍNIMOS E MÁXIMOS)

	Grupo							
	I-14 O	I-14 E	II-14 O	II-14 E	III-14 O	III-14 E	IV-14 O	IV-14 E
N	10	8	10	10	10	9	10	10
Média	1,14	0,65	1,10	0,64	1,25	0,69	1,33	0,67
Desvio Padrão	0,19	0,12	0,26	0,27	0,30	0,22	0,44	0,22
Mediana	1,15	0,65	1,10	0,65	1,15	0,60	1,20	0,70
Mínimo	0,90	0,50	0,80	0,20	0,90	0,50	1,00	0,30
Máximo	1,40	0,80	1,60	1,00	1,80	1,20	2,40	1,00

p=0,981



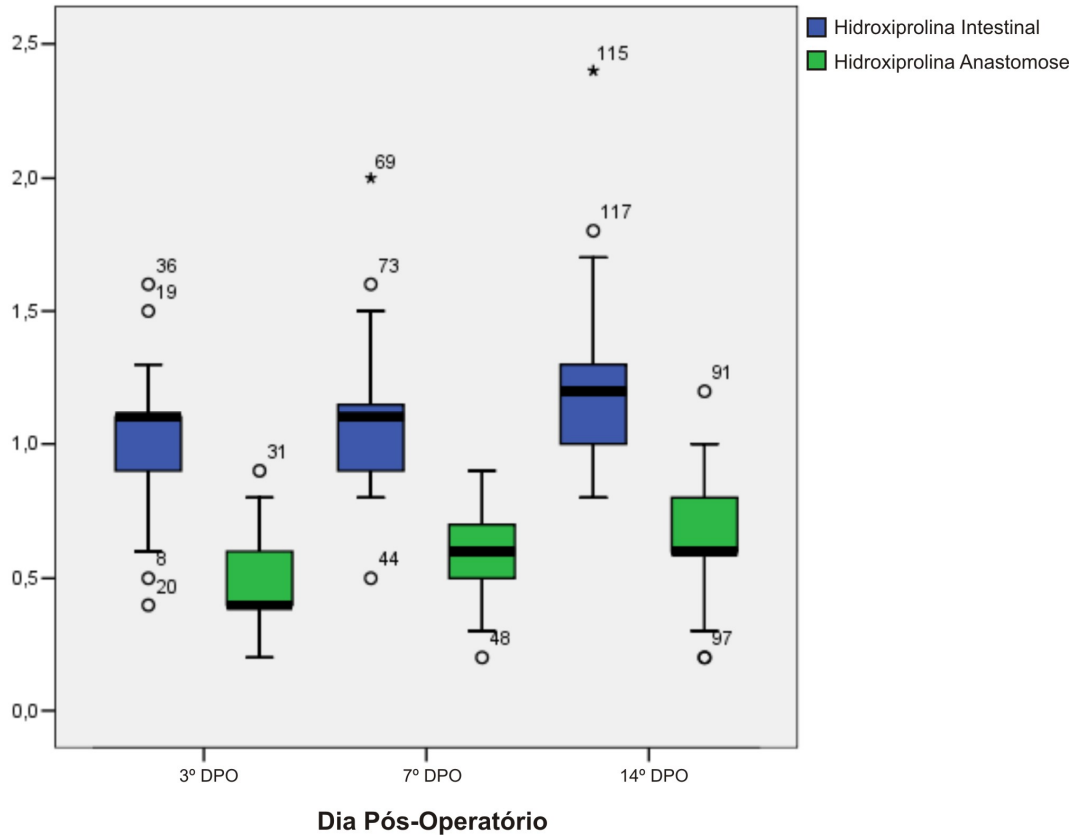


GRÁFICO 11 - MEDIANA E VALORES INTERVALARES DA CONCENTRAÇÃO DE HIDROXIROLINA EM MG/G DE TECIDO DAS ANASTOMOSES COLÔNICAS COLHIDOS NO DIA DA OPERAÇÃO E NO DIA DA EUTANÁSIA, DISTRIBUÍDOS SEGUNDO O DIA DE PÓS-OPERATÓRIO

## 5 – DISCUSSÃO

## DISCUSSÃO

A laparoscopia vem sendo cada vez mais utilizada em cirurgia colorretal. Benefícios ao paciente como menor tempo de hospitalização, menor dor pós-operatória, retorno mais rápido da função intestinal são inquestionáveis. Seus resultados oncológicos semelhante aos da cirurgia aberta também estão demonstrados por vários estudos, levando a procura cada vez maior por esta modalidade cirúrgica (BUUNEN et al., 2009; LACY et al., 2008; KUHRYS et al., 2008; JAYNE et al., 2007; VELDKAMP et al., 2005; GUILLOU et al., 2005).

As fístulas em anastomoses colônicas são complicações com alto índice de morbi-mortalidade. Apesar do uso cada vez mais freqüente do pneumoperitônio nas cirurgias, especialmente nas colorretais, o seu efeito sobre a cicatrização das anastomoses colônicas tem sido pouco estudado, o que motivou a realização do presente estudo.

O animal escolhido foi o rato (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar, em conformidade com vários estudos para avaliação da cicatrização de anastomoses intestinais (OLIVEIRA, 1989; OLIVEIRA, 1995; KOLOGLU et al., 1999; POLAT et al., 2001; OZGUN et al., 2003; REYS, 2004; ALMEIDA, 2006; KONSTANTINIDIS et al., 2006; FREITAS, 2007). O rato é de fácil padronização quanto à raça, gênero e peso, além de ter grande resistência a infecções e possuir anatomia bem conhecida. O rato apresenta praticidade para experimentos com grande número de animais com similaridade genética e fisiológica, baixo custo e facilidade de manutenção em biotério.

Os períodos programados para a reoperação e eutanásia dos animais foram fundamentadas no estudo de HERMANN et al. (1964), em que foi pesquisado a cicatrização de anastomoses colônicas de ratos mortos a intervalos desde três horas até um ano após a operação. Foi visto que o processo cicatricial apresenta três fases justapostas: exudativa ou resposta inflamatória aguda (zero a quatro dias); proliferativa ou de fibroplasia (três a quatorze dias); e de remodelagem ou de maturidade do colágeno (dez a cento e oitenta dias). Desta forma as datas de reoperação representam as três fases do processo cicatricial.

Três mecanismos poderiam influenciar a cicatrização intestinal na cirurgia laparoscópica: o aumento da pressão intra-abdominal, o tipo de gás utilizado e o tempo de exposição ao pneumoperitônio.

O aumento da pressão abdominal é causado em várias situações clínicas como na ascite, distensão abdominal por íleo ou obstrução mecânica, redução de hérnia gigante, pancreatite, sepse e trauma. Pressões acima de 20 mmHg são denominadas hipertensão intra-abdominal (IVATURY et al., 1997). A hipertensão intra-abdominal cursa com grandes efeitos deletérios abdominais e sistêmicos. Quando o aumento da pressão intra-abdominal causa hipóxia, dificuldade ventilatória, oligúria ou anúria, e é melhorada com a descompressão abdominal, é denominado Síndrome do Compartimento Abdominal. (IVATURY et al., 1997). Na cirurgia laparoscópica se usa dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) para prover exposição cirúrgica adequada da cavidade abdominal, levando a aumento da pressão abdominal. A pressão utilizada em cirurgias laparoscópicas em humanos é de 12 a 15 mmHg. Esta pressão permite boa visualização da cavidade peritoneal com poucas alterações metabólicas e cardiovasculares.

Neste estudo, o pneumoperitônio nos ratos foi realizado com pressão de 5 mmHg, já que esta é a pressão que no rato corresponde à pressão utilizada na cirurgia laparoscópica em humanos, segundo estudo de AVITAL et al (2007). Este estudo mediu parâmetros cardiorrespiratórios em ratos submetidos a pneumoperitônio com 5 mmHg, 8 mmHg e 12 mmHg. Foi demonstrado que as alterações fisiológicas que mais se assemelham àquelas da cirurgia laparoscópica em humanos ocorrem na pressão de 5 mmHg em ratos. As pressões de 8 mmHg e 12 mmHg em ratos se assemelham à hipertensão intra-abdominal. Em outros estudos, os autores também sugerem que uma pressão de até 6 mmHg em ratos equivalem a pressão intra-abdominal de 12 a 15 mmHg em humanos (BERGUER et al., 1997; ROSCH et al., 2005).

O tempo de exposição ao pneumoperitônio pode influenciar a cicatrização, porém em estudo realizado por OZER et al (2008) o tempo de pneumoperitônio não influenciou na cicatrização de anastomose colônica. Neste estudo, ratos foram submetidos a pneumoperitônio com pressão de 12 mmHg por um período de 2 horas e 4 horas antes da operação, e comparados

com um grupo controle. Não houve diferenças estatisticamente significantes nos parâmetros histopatológicos e dosagem de hidroxiprolina.

Estudos foram realizados para comparar o pneumoperitônio com dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e com hélio. NEUBERGER et al. (1996) destacaram que o uso do hélio não causa retenção de CO<sub>2</sub> e conseqüente acidose, no entanto o risco de embolia gasosa é maior com este gás. GOITEIN et al (2005) demonstraram que a perfusão intestinal não se altera comparando o pneumoperitônio com os dois gases. ROSCH et al (2005) não verificaram alterações na cicatrização intestinal de ratos submetidos a pneumoperitônio com hélio e CO<sub>2</sub>.

A hipercarbia induzida pelo uso de dióxido de carbono leva a vasodilatação periférica, podendo aumentar a oxigenação na região anastomótica, o que poderia melhorar a cicatrização (ROSCH et al., 2005).

A mortalidade global no presente estudo foi de 5%, estando de acordo com estudos prévios de cicatrização de anastomoses intestinais em ratos, que apresentam taxas de mortalidade entre 0 e 11 % (MASTBOOM et al., 1991; ALMEIDA, 2006). Dos 6 animais que morreram, quatro eram do grupo I (pneumoperitônio pré-operatório), sendo 2 do subgrupo I-3 e 2 do subgrupo I-14. Apesar disso não houve diferença estatística nos óbitos.

Os animais perderam peso inicialmente, recuperando seu peso inicial entre o 7º e 14º dia pós-operatório, o que condiz com a literatura (MASTBOOM et al., 1991). Não houve diferença estatística no peso dos animais submetidos a eutanásia no mesmo dia pós-operatório entre os grupos, o que indica que o pneumoperitônio com CO<sub>2</sub> não leva a alterações metabólicas que cursam com perda ponderal.

Na avaliação da cicatrização, um dos parâmetros utilizados foi o estudo da força de ruptura da anastomose. Esta é uma técnica apropriada que permite resultados rápidos, precisos e reprodutíveis (ROSSI et al., 2007). Neste estudo não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos, porém observamos que os valores encontrados nos ratos do grupo III (submetidos a pneumoperitônio pré e pós-operatório) são superiores aos outros grupos em todas as datas de eutanásia dos ratos (3º, 7º e 14º dia pós-operatório). Este grupo é o que melhor representa a colectomia laparoscópica, já que nestas operações é realizado o pneumoperitônio durante a dissecação, sendo o mesmo

desfeito na retirada da peça cirúrgica e anastomose ou colocação das ogivas dos grampeadores, e a seguir o pneumoperitônio é refeito para a revisão da cavidade e anastomose quando esta é realizada intraperitonealmente. Este parâmetro avaliado nos leva a crer na segurança da cirurgia laparoscópica na anastomose colônica.

No estudo histopatológico observamos diferenças no grupo II (submetido a pneumoperitônio após a laparorráfia) em relação ao grupo controle. No 3º dia pós-operatório, este grupo apresenta uma frequência menor de hemorragia. No 7º dia pós-operatório, observamos uma diminuição do infiltrado mononuclear e um aumento do infiltrado polimorfonuclear e na necrose focal. No 14º dia pós-operatório, observamos uma diminuição da fibrose. Estas alterações poderiam sugerir um retardo no processo de cicatrização neste grupo. KOLOGLU et al (1999) relataram retardo de cicatrização em ratos submetidos a pneumoperitônio contínuo após laparorráfia até data da eutanásia no 4º DPO.

Na análise histomorfométrica do colágeno, não encontramos diferença estatística na deposição de colágeno no 3º dia pós-operatório. Porém no 7º dia pós-operatório encontramos diminuição na quantidade de colágeno nos grupos I (pneumoperitônio pré laparotomia) e III (pneumoperitônio pré laparotomia e pós laparorráfia), em relação ao grupo controle. Entretanto, no 14º dia pós-operatório observamos um aumento no colágeno do grupo I (pneumoperitônio pré laparotomia) e II (pneumoperitônio pós laparorráfia). Isto pode mostrar um retardo no processo cicatricial no 7º dia pós-operatório, porém com recuperação e melhora no 14º dia pós-operatório.

Não encontramos diferença estatisticamente significativa no estudo da hidroxiprolina entre os grupos estudados, porém em todos os grupos tratados, em todas as datas de eutanásia, a média e mediana da concentração de hidroxiprolina foi superior ou igual ao grupo controle, o que mostra que o pneumoperitônio não prejudica a formação de colágeno.

Apesar dos efeitos possivelmente deletérios do aumento da pressão abdominal e do uso de dióxido de carbono, não observamos piora na cicatrização nos períodos examinados, quando utilizamos uma pressão em ratos semelhante àquela utilizada em cirurgia laparoscópica em humanos.

Quando analisamos os estudos disponíveis na literatura observamos piora da cicatrização de anastomoses intestinais naqueles em que os ratos

foram submetidos a uma pressão intra-abdominal elevada, correspondente em humanos a hipertensão intra-abdominal (POLAT et al., 2002; OSGUN et al., 2004), ou tempo de pneumoperitônio muito prolongado (KOLOGLU et al., 1999). Nos estudos em que a pressão utilizada nos ratos foi a pressão que corresponderia à utilizada na cirurgia laparoscópica não houve piora da cicatrização (ROSCH et al., 2005).

Teoricamente o aumento da pressão abdominal inerente à cirurgia laparoscópica poderia causar isquemia transitória com revascularização subsequente, levando a alterações cicatriciais e consequente aumento de fístula anastomótica. Em diferentes estudos foi demonstrado que a redução da oxigenação intestinal piora em graus variáveis o processo cicatricial (POSMA et al., 2007; POSMA et al., 2009; POSMA et al., 2010). No presente estudo, com a pressão de 5 mmHg, não houve piora na cicatrização, o que nos faz supor que não houve efeitos decorrentes de isquemia na pressão estudada. ROSCH et al. (2005) não verificaram associação entre pneumoperitônio e o aumento de sinais de isquemia nas anastomoses de intestino delgado, com pressões de 3 e 6 mmHg em ratos. POLAT et al. (2002) demonstraram que lesões de isquemia-reperfusão são proporcionais à pressão intra-abdominal utilizada. Em seu estudo houve piora na cicatrização de anastomose com pressões acima de 20 mmHg em ratos.

O processo cicatricial é complexo, e não depende apenas da quantidade de colágeno, mas também do tipo e da estrutura do colágeno. Por isso mesmo com quantidades de colágeno altas, podemos ter força de ruptura diminuídas. Não foi observado correlação entre as concentrações de colágeno e parâmetros mecânicos em estudos anteriores. (OZGUN et al., 2004).

No presente estudo foram utilizados para avaliação da cicatrização os seguintes parâmetros: evolução clínica, força de ruptura da anastomose, concentração de hidroxiprolina, avaliação histomorfométrica do colágeno e avaliação histopatológica. Não houve diferença estatística entre os grupos na evolução do peso dos animais, na força de ruptura da anastomose e na dosagem da concentração de hidroxiprolina. Na avaliação histopatológica, o grupo II apresentou menor hemorragia no 3º dia pós-operatório, menor infiltrado mononuclear, maior infiltrado polimorfonuclear, maior necrose focal no 7º dia pós-operatório e menor fibrose no 14º dia pós-operatório, quando

comparado com o grupo controle. No estudo histomorfométrico houve diminuição do colágeno nos grupos I e III em relação ao grupo controle no 7ºDPO e aumento do colágeno nos grupos I e II em relação ao grupo controle no 14ºDPO. Embora tenham ocorrido essas alterações, o uso do pneumoperitônio com dióxido de carbono na pressão de 5 mmHg não aumentou a deiscência e não reduziu a força de ruptura da anastomose, e portanto não prejudicou a cicatrização das anastomoses colônicas nos ratos.



## **6 – CONCLUSÃO**

## **CONCLUSÃO**

Nas condições experimentais em que o estudo foi conduzido, os resultados permitem concluir que o pneumoperitônio com CO<sub>2</sub> na pressão de 5 mmHg não prejudicou a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos.

## **7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, M.A. Anastomotic leak: should we continue to accept the risks? **Dis Colon Rectum**. 2010 Jun;53(6):859-860.

ALMEIDA, R.M. **Avaliação dos efeitos do hemissulfato de s-metilisotiouréia, um inibidor da enzima óxido nítrico sintase induzível, sobre a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos.** Dissertação (Mestrado) 2006. Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília – UnB.

AVITAL, S.; ITAH, R.; SZOMSTEN, S.; ROSENTHAL, R.; INBAR, R.; SCKOMIK, Y.; WEINBROUM, A. Correlation of CO<sub>2</sub> pneumoperitoneal pressures between rodents and humans. **Surg Endosc**. 2009 Jan;23(1):50-4.

BELIZON, A.; SARDINHA, C.T.; SHER, M.E. Converted laparoscopic colectomy: what are the consequences? **Surg Endosc**. 2006 Jun;20(6):947-51.

BERGUER, R.; CORNELIUS, T.; DALTON, M. The optimum pneumoperitoneum pressure for laparoscopic surgery in the rat model. A detailed cardiorespiratory study. **Surg Endosc**. 1997; 11:915-918.

BUUNEN, M.; VELDKMP, R.; HOP, W.C.; KUHR, E.; JEEKEL, J.; HAGLIND, E.; PAHLMAN, L.; CUESTA, M.A.; MSIKA, S.; MORINO, M.; LACY, A.; BONJER, H.J. Survival after laparoscopic surgery versus open surgery for colon cancer: long-term outcome of a randomized clinical trial. **Lancet Oncol**. 2009 Jan;10(1): 44-52.

CLINICAL OUTCOMES OF SURGICAL THERAPY STUDY GROUP. A comparison of laparoscopically assisted and open colectomy for colon cancer. **N Engl J Med** 2004 May; 13:350(20):2050–9.

DUBOIS, F.; BERTHELOT, G.; LEVARD, H. Laparoscopic cholecystectomy: historic perspective and personal experience. **Surg Laparosc Endosc**. 1991 Mar;1(1):52-7.

FERNÁNDEZ-CRUZ, L.; SÁENZ, A.; TAURÁ, P.; SABATER, L.; ASTUDILLO, E.; FONTANALS, J. Helium and carbon dioxide pneumoperitoneum in patients with pheochromocytoma undergoing laparoscopic adrenalectomy. **World J Surg**. 1998 Dec;22(12):1250-5.

FREITAS, L.A.M. **Avaliação dos efeitos do anticorpo monoclonal, infliximabe, na cicatrização de anastomoses colônicas. Estudo experimental em ratos.** Dissertação (Mestrado) 2007. Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília – UnB.

GERGES, F.J.; KANAZI, G.E.; JABBOUR-KHOURY, SI. Anesthesia for laparoscopy: a review. **J Clin Anesth.** 2006 Feb;18(1):67-78.

GOITEN, D.; PAPASAVAS, P.; YEANEY, W.; GAGNÉ, D.; HAYETIAN, F.; CAUSHAJ, P.; KEENAN, R.; LANDRENEAU, R. Microsphere intestinal blood flow analysis during pneumoperitoneum using carbon dioxide and helium. **Surg Endosc.** 2005 Apr;19(4):541-5.

GUILLOU, P.J.; QUIRKE, P.; THORPE, H.; WALKER, J.; JAYNE, D.G.; SMITH, A.M.; HEATH, R.M.; BROWN, J.M.; MRC CLASICC TRIAL GROUP. Short-term endpoints of conventional versus laparoscopic-assisted surgery in patients with colorectal cancer (MRC CLASICC trial): multicentre, randomized controlled trial. **Lancet.** 2005 May; 14-20:365(9472):1718-26.

GUTT, C.N.; ONIU, T.; MEHRABI, A.; SCHEMMER, P.; KASHFI, A.; KRAUS, T.; BUCHLER, M.W. Circulatory and respiratory complications of carbon dioxide insufflations. **Dig Surg.** 2004;21(2):95-105.

HAMZAOGLU, I.; KARAHASANOGLU, T.; AYDIN, S.; SAHIN, D.A.; DARKMAN, S.; SARIVAR, M.; ALEMDAROGLU, K. The effects of hyperbaric oxygen on normal and ischemic colon anastomoses. **Am J Surg.** 1998 Nov;176(5):458-61.

HERRMANN, J.B.; WOODWARD, S.C.; PULASKI, E.J. Healing of colonic anastomoses in the rat. **Surg Gynecol Obstet.** 1964 Aug;119:269-75.

IVATURY, R.R.; DIEBEL, L.; PORTER, J.M.; SIMON, R.J. Intra-abdominal hypertension and the abdominal compartment syndrome. **Surg Clin North Am.** 1997 Aug;77(4):783-800.

JACOBS, M.; VERDEJA, J. C.; GOLDSTEIN, H. S. Minimally invasive colon resection (laparoscopic colectomy). **Surg Laparosc Endosc.** 1991 Sep;1(3):144-50.

JACOB, B. P.; SALKY, B. Laparoscopic colectomy for colon adenocarcinoma: an 11-year retrospective review with 5-year survival rates. **Surg Endosc.** 2005 May;19(5):643-9.

JAYNE, D.G.; GUILLOU, P.J.; THORPE, H.; QUIRKE, P.; COPELAND, J.; SMITH, A.M.; HEATH, R.M.; BROWN, J.M.; UK MRC CLASICC TRIAL GROUP. Randomized trial of laparoscopic-assisted resection of colorectal carcinoma: 3-year results of the UK MRC CLASICC Trial Group. **J Clin Oncol.** 2007 Jul;20;25(21):3061-8.

JUNQUEIRA, L.C.; BIGNOLAS, G.; BRENTANI, R.R. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue section. **Histochem J.** 1979;11(4):447-455.

JUNQUEIRA, L.C.; MONTES, G.S.; SANCHEZ, E.M. The influence of tissue section thickness on the study of collagen by the Picosirius-polarization method. **Histochemistry**. 1982;74(1):153-156.

KOLOGLU, M.; SAYEK, I.; KOLOGLU, L.B.; ONAT, D. Effect of persistently elevated intraabominal pressure on healing of colonic anastomoses. **Am J Surg**. 1999 Oct;178(4):293-7.

KONSTANTINIDIS, H.D.; SLAVAKIS, A.P.; BALLAS, K.D.; SIOGA, A.C.; ECONOMOU, L.D.; DEMERTZIDIS, C.I.; PISSANIDOU, T.T.; ATHANASIADOU, Z.A.; SAKADAMIS, A.K. The effect of capecitabine on the healing of colonic anastomoses in rats. **Dis Colon Rectum**. 2007 Jan;50(1):89-96.

KORUDA, M. J.; ROLANDELLI, R. H. Experimental studies on the healing of colonic anastomoses. **J Surg Res**. 1990 May;48(5):504-15.

KUHRY, E.; SCHWENK, W.; GAUPSET, R.; ROMILD, U.; BONJER, J. Long-term outcome of laparoscopic surgery for colorectal cancer: a Cochrane systematic review of randomized controlled trials. **Cancer Treat Rev**. 2008 Oct;34(6):498-504.

KUHRY, E.; SCHWENK, W.; GAUPSET, R.; ROMILD, U.; BONJER, J. Long-term results of laparoscopic surgery for colorectal cancer. **Cochrane Database Syst Rev**. 2008 Apr;16(2):CD003432.

LACY, A.M.; DELGADO, S.; CASTELLS, A.; PRINS, H.A.; ARROYO, V.; IBARZABAL, A.; PIQUE, J.M. The long-term results of a randomized clinical trial of laparoscopy-assisted versus open surgery for colon cancer. **Ann Surg**. 2008 Jul;248(1):1-7

MASTBOOM, W.J.; HENDRIKS, T.; DE MAN, B.M.; DE BOER, H.H. Influence of methylprednisolone on the healing of intestinal anastomoses in rats. **Br J Surg**. 1991 Jan;78(1):54-6.

MEDUGORAC, I. Collagen content in different areas of normal and hypertrophied rat myocardium. **Cardiov Res**. 1980; 14:551-554.

MONTES, G.S.; JUNQUEIRA, L.C. The use of the Picosirius-polarization method for the study of the biopathology of collagen. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. 1991; 86 Suppl 3: 1-11.

NEUBERGER, T.J.; ANDRUS, C.H.; WITTGEN, C.M.; WADE, T.P.; KAMINSKI, D.L. Prospective comparison of helium versus carbon dioxide pneumoperitoneum. **Gastrointest Endosc**. 1996 Jan;43(1):38-41.

OLIVEIRA, P.G. **Estudo dos efeitos de uma prostaglandina sintética, o misoprostol, sobre a cicatrização de anastomose no intestino grosso de ratos**. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto – SP – Brasil 1989.

OLIVEIRA, P.G.; SOARES, E.G.; APRILLI, F. Influence of misoprostol, a synthetic prostaglandin E1 analog, on the healing of colonic anastomoses in rats. **Dis Colon Rectum**. 1994;37(7):660-663

OLIVEIRA, P.G. **Efeitos da peritonite por *Candida albicans* na cicatrização de anastomoses colônicas. Estudo experimental em ratos.** Tese (Doutorado) 1995. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.

OLSON, K. H.; BALCOS, E.G.; LOWE, M.C.; BUBRICK, M.P. A comparative study of open, laparoscopic intracorporeal, and laparoscopic assisted low anterior resection and anastomosis in pigs. **Am Surg**. 1995 Mar;61(3):197-201.

OZER, I.; ULAS, M.; ERCAN, M.; OZOGUL, Y.B.; ZENGİN, N.; BOSTANCI, E.B.; OZEL, U.; BILGIHAN, A.; AKOGLU, M. The effects of duration of CO2 pneumoperitoneum on colonic anastomosis. **J Invest Surg**. 2008 Jul-Aug;21(4):177-81.

OZGÜN, H.; BOYLU, S.; ÇEVIKEL, M.H.; YENISEY, Ç.; ERPEK, H.; ÇULHACI, N.; DEMIRKIRAN, A.E. Effects of pneumoperitoneum with or without colostomy on rat colonic anastomotic healing. **ANZ J Surg**. 2004 Mar;74(3):158-63.

POLAT, C.; ARIKAN, Y.; VATANSEV, C.; AKBULUT, G.; YILMAZ, S.; DILEK, F.H.; GOKÇE, O. The effects of increased intraabdominal pressure on colonic anastomoses. **Surg Endosc**. 2002 Sep;16(9):1314-9.

POSMA, L.A.E.; BLEICHRODT, R.P.; VAN GOOR, H.; HENDRIKS, T. Transient profound mesenteric ischemia strongly affects the strength of intestinal anastomoses in the rat. **Dis Colon Rectum**. 2007; 50:1-10.

POSMA, L.A.E.; BLEICHRODT, R.P.; LOMME, R.M.L.M.; DE MAN, B.M.; VAN GOOR, H.; HENDRIKS, T. Early anastomotic repair in the rat intestine is affected by transient preoperative mesenteric ischemia. **J Gastrointest Surg**. 2009; 13:1099-1106.

POSMA, L.A.E.; HENDRIKS, T.; VERHOFSTAD, A.A.J.; DEMAN, B.M.; LOMME, R.M.L.M.; BLEICHRODT, R.P. Reduction of oxygenation and blood flow in pedicled bowel segments in the rat and its consequences for anastomotic healing. **Dis Colon Rectum**. 2010; 53:93-100.

RAVO, B. Colorectal anastomotic healing and intracolonic bypass procedure. **Surg Clin North Am**. 1988;68: 1267-1294.

REGADAS, F.S.P.; RODRIGUES, L.V.; NICODEMO, A.M.; SIEBRA, J.A. Intervenções colorretais videolaparoscópicas. Experiência de 102 casos. **Rev Bras Colo-Proct**. 1995;15(3):110-113.

REYS, L.G.C.V. **Avaliação dos efeitos de uma heparina de baixo peso molecular, a enoxaparina, sobre a cicatrização de anastomoses cólicas em ratos.** Dissertação (Mestrado) 2004. Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília – UnB.

ROSCH, R.; STUMPF, M.; JUNGE, K.; DRINJAKOVIC, D.; SCHACHTRUPP, A.; AFIFY, M.; SCHUMPELICK, V. Influence of pneumoperitoneum on small bowel anastomoses: a histological analysis in the rat model. **J Invest Surg.** 2005;18:63-69.

ROSSI, L.F.; RAMOS, R.R.; ELY, J.B.; KESTERING, D.M.; SOLDI, M.S.; BRUM, S.P.B.; D'ACAMPORA, A.J. Considerations that may influence the result of trials assessing tensile strength in experimental surgery. **Acta Cir Bras.** 2007 Nov-Dec; 22(6):499-502.

SAFRAN, D. B.; ORLANDO, R. 3rd. Physiologic effects of pneumoperitoneum. **Am J Surg.** 1994 Feb;167(2):281-6.

SHARMA, K.C.; BRANDSTETTER, R.D.; BREN SILVER, J.M.; JUNG, L.D. Cardiopulmonary physiology and pathophysiology as a consequence of laparoscopic surgery. **Chest.** 1996 Sep;110(3):810-5.

SOUSA, J.B.; SOARES, E.G.; APRILLI, F. Effects of diclofenac sodium on intestinal anastomotic healing. Experimental study on the small intestine of rabbits. **Dis Colon Rectum.** 1991 Jul;34(7):613-7.

SOUSA, J.B. **Estudo da cicatrização em anastomoses no intestino delgado de coelhos tratados com diclofenaco sódico.** Dissertação (Mestrado) 1989. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.

SOUSA, J.B. **Evolução da cicatrização em anastomoses colônicas sob a ação do diclofenaco sódico administrado no período perioperatório. Estudo experimental em coelhos.** Tese (Doutorado) 1994. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.

STEGEMANN, H.; STALDER, K. Determination of hydroxyproline. **Clin Chim Acta.** 1967;18:267-273.

VELDKAMP, R.; KUHR, E.; HOP, W.C.; JEEKEL, J.; KAZEMIER, G.; BONJER, H.J.; HAGLIND, E.; PAHLMAN, L.; CUESTA, M.A.; MSIKA, S.; MORINO, M.; LACY, A.M.; COLON CANCER LAPAROSCOPIC OR OPEN RESECTION STUDY (COLOR). Laparoscopic surgery versus open surgery for colon cancer: short-term outcomes of a randomized trial. **Lancet Oncol.** 2005 Jul;6(7):477-84.

YAGCI, G.; OZTURK, E.; OZGURTAS, T.; GORGULU, S.; KUTLU, O.C.; TOPAL, T.; CETINER, S.; TUFAN, T. Preoperative and postoperative administration of hyperbaric oxygen improves biochemical and mechanical parameters on ischemic and normal colonic anastomoses. **J Invest Surg.** 2006 Jul-Aug;19(4):237-44.



**APÊNDICE**

Apêndice 1 – Peso no dia da cirurgia e no dia da eutanásia dos animais mortos no 3º dia pós-operatório.

Grupo I-3			Grupo II-3		
Animal	Peso Inicial	Peso Final	Animal	Peso Inicial	Peso Final
2	370	342	1	330	345
6	400	374	5	430	405
10	375	330	9	420	376
14	355	326	13	360	335
17	342	311	18	380	349
21	355	.	22	345	310
26	352	323	25	357	335
30	355	318	31	374	345
33	360	.	34	374	320
38	368	303	37	338	302
Grupo III-3			Grupo IV-3		
Animal	Peso Inicial	Peso Final	Animal	Peso Inicial	Peso Final
4	350	331	3	350	331
8	410	377	7	410	377
12	340	298	11	340	298
15	360	319	16	360	319
20	430	387	19	430	387
23	355	339	24	355	339
27	333	302	28	333	302
32	362	326	29	362	326
36	342	310	35	342	310
40	332	305	39	332	305

Apêndice 2 – Peso no dia da cirurgia e no dia da eutanásia dos animais mortos no 7º dia pós-operatório.

Grupo I-7			Grupo II-7		
Animal	Peso Inicial	Peso Final	Animal	Peso Inicial	Peso Final
42	389	290	41	336	305
46	380	365	45	345	285
50	338	340	49	318	301
53	359	356	54	351	353
58	346	326	57	326	297
62	372	305	61	380	348
67	354	328	66	355	337
70	355	336	69	360	299
74	360	339	73	360	357
78	385	365	77	368	348
Grupo III-7			Grupo IV-7		
Animal	Peso Inicial	Peso Final	Animal	Peso Inicial	Peso Final
43	335	285	44	368	340
48	350	293	47	350	.
51	337	335	52	348	370
56	338	321	55	327	329
60	366	325	59	337	314
64	324	290	63	366	343
65	390	375	68	360	356
72	350	341	71	360	346
76	345	294	75	360	344
80	402	372	79	383	377

Apêndice 3 – Peso no dia da cirurgia e no dia da eutanásia dos animais mortos no 14º dia pós-operatório.

Grupo I-14			Grupo II-14		
Animal	Peso Inicial	Peso Final	Animal	Peso Inicial	Peso Final
82	351	355	81	385	389
88	325	338	87	319	338
90	341	352	89	334	339
94	330	351	93	357	388
98	317	326	97	327	339
102	322	349	101	324	324
106	332	.	105	333	338
110	393	394	109	392	399
114	363	377	113	378	389
120	363	.	119	389	398
Grupo III-14			Grupo IV-14		
Animal	Peso Inicial	Peso Final	Animal	Peso Inicial	Peso Final
83	326	346	84	349	352
86	332	362	85	321	347
91	342	273	92	379	400
96	335	.	95	355	366
100	312	319	99	312	324
104	328	337	103	337	343
107	334	342	108	357	354
112	366	381	111	397	429
116	328	336	115	354	356
117	329	337	118	316	332

Apêndice 4 – Teste de força de ruptura da anastomose colônica dos animais submetidos a eutanásia no 3º dia pós-operatório.

Grupo I-3		Grupo II-3		Grupo III-3		Grupo IV-3	
Animal	Teste	Animal	Teste	Animal	Teste	Animal	Teste
2	0,82	1	0,6	4	1,11	3	0,86
6	0,74	5	0,88	8	0,92	7	0,6
10	0,8	9	0,88	12	1,49	11	0,94
14	0,52	13	0,56	15	0,8	16	0,76
17	0,74	18	1,11	20	0,8	19	0,8
21	.	22	0,62	23	0,76	24	0,84
26	0,74	25	0,72	27	1,25	28	0,92
30	0,98	31	1,02	32	1,13	29	1,09
33	.	34	0,33	36	0,98	35	1,37
38	1,07	37	0,96	40	0,78	39	0,84

Apêndice 5 – Teste de força de ruptura da anastomose colônica dos animais submetidos a eutanásia no 7º dia pós-operatório.

Grupo I-7		Grupo II-7		Grupo III-7		Grupo IV-7	
Animal	Teste	Animal	Teste	Animal	Teste	Animal	Teste
42	1,72	41	0,88	43	1	44	1,66
46	1,53	45	1,45	48	2,2	47	.
50	1,53	49	2,13	51	1,33	52	2,04
53	2,17	54	1,27	56	2,11	55	1,47
58	1,76	57	3,59	60	1,7	59	1,47
62	1,55	61	1,64	64	1,78	63	1,6
67	1,27	66	0,98	65	1,86	68	1,51
70	0,7	69	1,35	72	2,04	71	1,39
74	2,09	73	1,68	76	2,96	75	2,45
78	1,96	77	0,84	80	2,07	79	1,49

Apêndice 6 – Teste de força de ruptura da anastomose colônica dos animais submetidos a eutanásia no 14º dia pós-operatório.

Grupo I-14		Grupo II-14		Grupo III-14		Grupo IV-14	
Animal	Teste	Animal	Teste	Animal	Teste	Animal	Teste
82	1,78	81	1,62	83	0,84	84	1,84
88	1,74	87	2,6	86	2,37	85	1,37
90	1,55	89	2,82	91	8,1	92	2,02
94	1,02	93	1,8	96	.	95	1,7
98	2,13	97	2	100	1,7	99	0,88
102	2,33	101	1,84	104	1,64	103	2,45
106	.	105	1,96	107	2,23	108	1,8
110	2,25	109	1,96	112	2,17	111	2,15
114	1,78	113	4,1	116	2,17	115	1,76
120	.	119	1,43	117	1,82	118	1,72





Apêndice 11 – Achados histopatológicos nas anastomoses dos animais submetidos a eutanásia no 7º dia pós-operatório do grupo I.

Grupo I-7										
Animal	42	46	50	53	58	62	67	70	74	78
Congestão	+	+	+	++	+++	+	+	++	++	+
Edema	+	+	+	+	+	+	+	+	++	++
Hemorragia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Infiltrado Polimorfonuclear	+	++	++	++	++++	+++	+	++	++	++
Infiltrado Mononuclear	+++	+++	+++	++++	++	+++	+++	++++	+++	++++
Fibrose	+	++	++	++	+	++	++	++	++	+++
Ulceração	R	++	++	C	++++	++++	C	C	+	++
Neoformação Vascular	+++	+++	++++	+++	+++	+++	++	++	++++	+++
Necrose Focal	+++	+++	++	-	+++	+++	-	+	-	-
Abscesso	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-
Granulação	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++

Apêndice 12 – Achados histopatológicos nas anastomoses dos animais submetidos a eutanásia no 7º dia pós-operatório do grupo II.

Grupo II-7										
Animal	41	45	49	54	57	61	66	69	73	77
Congestão	-	-	+++	++	+++	+	+++	++++	+	+
Edema	++	-	+	+	++	+	+	+	+	+
Hemorragia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Infiltrado Polimorfonuclear	++++	++++	+++	++++	++++	++++	+++	+++	++	++++
Infiltrado Mononuclear	++	++	++	++	+	++	++	++	+++	++
Fibrose	+++	++	++	-	+	-	-	+	+	-
Ulceração	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	R	++++
Neoformação Vascular	+++	+++	+++	++	++	++	++	+++	+	++
Necrose Focal	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	-	++++
Abscesso	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
Granulação	++++	++++	++++	+++	++	+++	+++	+++	++	++



Apêndice 13 – Achados histopatológicos nas anastomoses dos animais submetidos a eutanásia no 7º dia pós-operatório do grupo III.

Grupo III-7										
Animal	43	48	51	56	60	64	65	72	76	80
Congestão	+	++	+	++	+	++	+	+	+	++
Edema	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++
Hemorragia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Infiltrado Polimorfonuclear	++++	++++	++++	++	++++	++	++	++	+	+++
Infiltrado Mononuclear	++	++	+++	+++	++++	+++	+++	++	+++	+++
Fibrose	++	++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++++
Ulceração	+++	+++	+	+++	+++	++	++++	+++	++	++
Neoformação Vascular	++++	+++	++++	+++	++++	++++	+++	++++	+++	+++
Necrose Focal	+++	++++	++	+	+++	++	+	++	+	++
Abscesso	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-
Granulação	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++

Apêndice 14 – Achados histopatológicos nas anastomoses dos animais submetidos a eutanásia no 7º dia pós-operatório do grupo IV.

Grupo IV-7										
Animal	44	47	52	55	59	63	68	71	75	79
Congestão	++		+	++	+	+	+++	+	+	+
Edema	+		+	+	+	+	+	+	+	+
Hemorragia	-		-	-	-	-	-	-	-	-
Infiltrado Polimorfonuclear	+++		++	+	+++	++	++	+	+	+
Infiltrado Mononuclear	++		++++	+++	+++	++++	+++	++	+++	+++
Fibrose	-		++	++	++	+++	++	++++	+++	++
Ulceração	+++		+++	C	+++	+	++	C	+	++
Neoformação Vascular	++		+++	+++	++	++++	+++	++	++	+++
Necrose Focal	++		++	-	++	+	++	-	-	-
Abscesso	-		+	+	-	-	-	-	+	-
Granulação	++		++++	++++	+++	++++	++++	++	++++	+++

Apêndice 15 – Achados histopatológicos nas anastomoses dos animais submetidos a eutanásia no 14º dia pós-operatório do grupo I.

Grupo I-14										
Animal	82	88	90	94	98	102	106	111	114	120
Congestão	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Edema	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-
Hemorragia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Infiltrado Polimorfonuclear	++	+	+	+	++	++	-	-	+	-
Infiltrado Mononuclear	++	+	++	+	+	+	+	+	+	-
Fibrose	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++++	++++	-
Ulceração	R	R	C	R	C	R	-	C	R	-
Neoformação Vascular	++	++	++	++	++	+	-	-	+	-
Necrose Focal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Abscesso	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Granulação	++	++	-	++	++	-	-	+	+	-

Apêndice 16 – Achados histopatológicos nas anastomoses dos animais submetidos a eutanásia no 14º dia pós-operatório do grupo II.

Grupo II-14										
Animal	81	87	89	93	97	101	105	109	113	119
Congestão	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Edema	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Hemorragia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Infiltrado Polimorfonuclear	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Infiltrado Mononuclear	+	+	+	+	+	+	+	++	+	+
Fibrose	+++	+++	+++	++	++++	++	+++	++	+++	++
Ulceração	R	R	R	R	R	R	R	-	R	+
Neoformação Vascular	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Necrose Focal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Abscesso	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Granulação	-	-	++	-	+	-	+	-	+	-

Apêndice 17 – Achados histopatológicos nas anastomoses dos animais submetidos a eutanásia no 14º dia pós-operatório do grupo III.

Grupo III-14										
Animal	83	86	91	96	100	104	107	112	116	117
Congestão	-	-	++	-	-	-	-	-	-	+
Edema	-	-	+	-	-	-	-	-	-	++
Hemorragia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Infiltrado Polimorfonuclear	+	+	+++	-	+	+	+	+	+	++
Infiltrado Mononuclear	+	+	++	-	+	+	+	+	+	+
Fibrose	++++	++++	++	+++	++++	++++	++++	+++	++++	+++
Ulceração	R	R	+++	R	R	R	R	R	R	C
Neoformação Vascular	++	++	+++	+	++	++	+	++	++	++
Necrose Focal	-	-	++++	-	-	-	-	-	+	-
Abscesso	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Granulação	+	+	-	-	++	++	-	++	++	++

Apêndice 18 – Achados histopatológicos nas anastomoses dos animais submetidos a eutanásia no 14º dia pós-operatório do grupo IV.

Grupo IV-14										
Animal	84	85	92	95	99	103	108	111	115	118
Congestão	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Edema	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hemorragia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Infiltrado Polimorfonuclear	+	+	++	+	-	++	++	-	-	++
Infiltrado Mononuclear	+	+	++	+	-	+	+	+	-	+
Fibrose	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Ulceração	R	R	R	R	C	R	C	C	C	R
Neoformação Vascular	++	++	++	+	-	++	-	-	-	-
Necrose Focal	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Abscesso	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Granulação	+	+	++	+	-	++	++	+	-	++

Apêndice 19 – Dosagem da histomorfometria do colágeno das anastomoses colônicas nos animais submetidos a eutanásia no 3º dia pós-operatório.

Foto	Valor	Grupo	Foto	Valor	Grupo	Foto	Valor	Grupo	Foto	Valor	Grupo
1	3,7	II-3	22	4	IV-3	43	1,3	III-3	458	1,9	IV-3
2	3	II-3	23	2,3	IV-3	44	2,9	III-3	459	0,3	IV-3
3	0,6	II-3	24	1,7	IV-3	45	1	III-3	460	0,6	IV-3
4	1,5	II-3	25	0,7	IV-3	440	1,6	II-3	461	0,6	III-3
5	3,5	II-3	26	2,7	IV-3	441	2,7	II-3	462	1,2	III-3
6	2,7	II-3	27	2,8	IV-3	442	2,6	II-3	463	0,7	III-3
7	2,4	II-3	28	1,2	IV-3	443	0,9	II-3	464	1,3	III-3
8	2,2	II-3	29	6	IV-3	444	3	II-3	465	1,2	III-3
9	3,5	II-3	30	4,1	IV-3	445	1,6	II-3	466	2,4	III-3
10	2,6	I-3	31	5,8	IV-3	446	0,2	II-3	467	0,2	III-3
11	1,7	I-3	32	3,6	IV-3	447	0,6	I-3	468	1	III-3
12	1,6	I-3	33	1,5	IV-3	448	5	I-3	469	1,2	III-3
13	1,9	I-3	34	1,6	IV-3	449	1,1	I-3	470	0,2	III-3
14	1,6	I-3	35	1,1	III-3	450	0,3	IV-3	471	7,8	III-3
15	2,9	I-3	36	0,4	III-3	451	0,2	IV-3	472	7,1	III-3
16	2,3	I-3	37	1,1	III-3	452	0,1	IV-3	473	1,8	III-3
17	0,5	I-3	38	1,5	III-3	453	0,2	IV-3	474	1,3	III-3
18	0,9	I-3	39	4,4	III-3	454	0,1	IV-3	475	0,7	III-3
19	4,5	I-3	40	4,8	III-3	455	0,2	IV-3	476	0,5	III-3
20	1,5	I-3	41	0,8	III-3	456	0,2	IV-3			
21	2,3	IV-3	42	1,5	III-3	457	1,2	IV-3			

Apêndice 20 – Dosagem da histomorfometria do colágeno das anastomoses colônicas nos animais submetidos a eutanásia no 7º dia pós-operatório.

Foto	Valor	Grupo	Foto	Valor	Grupo	Foto	Valor	Grupo	Foto	Valor	Grupo	Foto	Valor	Grupo
46	2,8	II-7	95	1,9	I-7	144	1,5	III-7	193	1,7	IV-7	242	3,5	IV-7
47	2,2	II-7	96	0,9	I-7	145	0,9	III-7	194	0,9	IV-7	243	1,6	IV-7
48	3,3	II-7	97	2,4	I-7	146	0,4	III-7	195	3,3	IV-7	244	3,1	IV-7
49	5,6	II-7	98	3	I-7	147	0,3	III-7	196	2,8	IV-7	245	6,7	IV-7
50	5,9	II-7	99	0,8	I-7	148	0,3	III-7	197	3,3	IV-7	246	3,3	IV-7
51	3,6	II-7	100	2,8	I-7	149	0,4	III-7	198	3	IV-7	477	0,3	II-7
52	6,1	II-7	101	1,4	I-7	150	0,3	III-7	199	2,7	IV-7	478	0,5	II-7
53	1,6	II-7	102	0,2	I-7	151	0,8	III-7	200	4,4	IV-7	479	0,4	II-7
54	1,7	II-7	103	0,2	I-7	152	1,1	III-7	201	3,8	IV-7	480	0,3	II-7
55	0,7	II-7	104	0,1	I-7	153	0,7	III-7	202	2,3	IV-7	481	1	II-7
56	9,9	II-7	105	0,2	I-7	154	2,3	III-7	203	3,5	IV-7	482	1	II-7
57	12,2	II-7	106	0,7	I-7	155	1,6	III-7	204	0,9	IV-7	483	1	II-7
58	1	II-7	107	2,4	I-7	156	0,3	III-7	205	1	IV-7	484	1,3	II-7
59	0,4	II-7	108	4,4	I-7	157	0,4	III-7	206	0,5	IV-7	485	1	II-7
60	8,6	II-7	109	0,3	I-7	158	1	III-7	207	1	IV-7	486	1	II-7
61	5,2	II-7	110	0,8	I-7	159	0,6	III-7	208	1,7	IV-7	487	0,6	II-7
62	0,4	II-7	111	2,2	I-7	160	0,2	III-7	209	3,1	IV-7	488	1,7	II-7
63	0,5	II-7	112	0,8	I-7	161	2,6	III-7	210	4	IV-7	489	1,4	II-7
64	2,5	II-7	113	1,2	I-7	162	1,3	III-7	211	2,4	IV-7	490	1,5	II-7
65	3,8	II-7	114	0,6	I-7	163	0,5	III-7	212	1,8	IV-7	491	0,4	II-7
66	4,5	II-7	115	0,6	I-7	164	4,7	III-7	213	2,1	IV-7	492	1,7	II-7
67	9,5	II-7	116	0,6	I-7	165	0,4	III-7	214	0,9	IV-7	493	0,4	II-7
68	5,7	II-7	117	0,9	I-7	166	2,4	III-7	215	0,5	IV-7	494	0,8	II-7
69	6	II-7	118	0,4	I-7	167	0,9	III-7	216	1,3	IV-7	495	0,9	II-7
70	4,4	II-7	119	0,7	I-7	168	0,9	III-7	217	1,3	IV-7	496	0,9	II-7
71	8,4	II-7	120	0,8	I-7	169	5,7	III-7	218	0,9	IV-7	497	2,4	II-7
72	3,4	II-7	121	0,5	I-7	170	2,3	III-7	219	1,3	IV-7	498	0,7	II-7
73	2,2	II-7	122	0,5	I-7	171	1,4	III-7	220	1,5	IV-7	499	1	I-7
74	1,9	II-7	123	0,6	I-7	172	1,7	III-7	221	1,4	IV-7	500	1,5	I-7
75	3	II-7	124	1,6	I-7	173	1,2	III-7	222	1	IV-7	501	1,7	I-7
76	4,4	II-7	125	3,8	I-7	174	0,8	III-7	223	1,2	IV-7	502	1,6	I-7
77	5,3	II-7	126	6	I-7	175	2,1	III-7	224	7	IV-7	503	2,3	I-7
78	5,1	II-7	127	5,5	I-7	176	0,6	III-7	225	10,7	IV-7	504	0,7	III-7
79	0,4	II-7	128	2,4	I-7	177	2,3	III-7	226	4,5	IV-7	505	0,6	III-7
80	10,5	II-7	129	4,7	I-7	178	2,4	III-7	227	1,6	IV-7	506	0,6	III-7
81	0,2	II-7	130	7,7	I-7	179	1,5	III-7	228	8	IV-7	507	1,3	III-7
82	2,1	I-7	131	2,2	I-7	180	1,7	III-7	229	2,3	IV-7	508	1	III-7
83	3,6	I-7	132	3,1	I-7	181	0,7	III-7	230	5,5	IV-7	509	1,5	III-7
84	1,8	I-7	133	0,8	I-7	182	0,9	III-7	231	5,1	IV-7	510	2,4	III-7
85	2,4	I-7	134	0,5	I-7	183	0,4	III-7	232	3,9	IV-7	511	4,4	III-7
86	0,9	I-7	135	0,1	I-7	184	0,5	III-7	233	5,2	IV-7	512	1,8	III-7
87	0,3	I-7	136	0,5	I-7	185	0,3	III-7	234	4,2	IV-7	513	1,9	III-7
88	2,6	I-7	137	0,3	I-7	186	1,6	III-7	235	1,5	IV-7	514	3,6	III-7
89	0,7	I-7	138	0,4	I-7	187	2,1	III-7	236	6,7	IV-7	515	1,5	III-7
90	0,8	I-7	139	0,9	III-7	188	1,8	III-7	237	4,7	IV-7	516	3,6	III-7
91	4,5	I-7	140	1,7	III-7	189	1,6	III-7	238	0,5	IV-7	517	5,2	III-7
92	1,3	I-7	141	1,7	III-7	190	3,7	III-7	239	0,7	IV-7	518	1,9	III-7
93	1,2	I-7	142	3,3	III-7	191	0,7	IV-7	240	0,2	IV-7	519	1,2	III-7
94	0,5	I-7	143	1,4	III-7	192	0,7	IV-7	241	3,7	IV-7			

Apêndice 21 – Dosagem da histomorfometria do colágeno das anastomoses colônicas nos animais submetidos a eutanásia no 14<sup>o</sup> dia pós-operatório.

Foto	Valor	Grupo	Foto	Valor	Grupo	Foto	Valor	Grupo	Foto	Valor	Grupo
247	2,5	II-14	297	4,7	I-14	347	2,4	III-14	397	1	IV-14
248	2,4	II-14	298	3	I-14	348	2,6	III-14	398	0,6	IV-14
249	5,2	II-14	299	12,9	I-14	349	9,6	III-14	399	0,3	IV-14
250	8,1	II-14	300	9,4	I-14	350	19	III-14	400	1,8	IV-14
251	4,4	II-14	301	11,1	I-14	351	3,4	III-14	401	1	IV-14
252	1,5	II-14	302	8,3	I-14	352	2,3	III-14	402	3,3	IV-14
253	1,6	II-14	303	5,3	I-14	353	2,4	III-14	403	1,5	IV-14
254	7,4	II-14	304	10,2	I-14	354	3,5	III-14	404	1,7	IV-14
255	13,2	II-14	305	1,8	I-14	355	1	III-14	405	9,6	IV-14
256	7,6	II-14	306	5,6	I-14	356	1	III-14	406	3,1	IV-14
257	7,2	II-14	307	3,2	I-14	357	2,4	III-14	407	2,3	IV-14
258	4,4	II-14	308	2,1	I-14	358	4,7	III-14	408	1,3	IV-14
259	6,7	II-14	309	3,9	I-14	359	3,1	III-14	409	2	IV-14
260	0,4	II-14	310	4,4	I-14	360	2,3	III-14	410	0,9	IV-14
261	2	II-14	311	8,5	I-14	361	1,7	III-14	411	0,6	IV-14
262	2,6	II-14	312	6,6	I-14	362	1,8	III-14	412	1,2	IV-14
263	1,7	II-14	313	6,9	I-14	363	3,1	III-14	413	2,9	IV-14
264	5,4	II-14	314	3,4	I-14	364	1,2	III-14	414	2,3	IV-14
265	6,5	II-14	315	4	I-14	365	1,5	III-14	415	1,2	IV-14
266	2	II-14	316	5,9	I-14	366	1	III-14	416	1	IV-14
267	5,2	II-14	317	7,5	I-14	367	0,7	III-14	417	1,2	IV-14
268	4,2	II-14	318	6	I-14	368	1,5	III-14	418	3,1	IV-14
269	1,7	II-14	319	3,7	I-14	369	1,7	III-14	419	0,4	IV-14
270	8,3	II-14	320	6,1	I-14	370	0,6	III-14	420	1	IV-14
271	4	II-14	321	8,1	I-14	371	1,3	III-14	421	1,1	IV-14
272	6,2	II-14	322	5,1	I-14	372	1,4	III-14	422	2,1	IV-14
273	7	II-14	323	6,4	I-14	373	0,9	III-14	423	6,4	IV-14
274	2,6	II-14	324	5,7	I-14	374	1,4	III-14	424	1,3	IV-14
275	4,9	II-14	325	10,4	I-14	375	1	III-14	425	2,1	IV-14
276	3	II-14	326	5,6	I-14	376	0,6	III-14	426	2,9	IV-14
277	2,3	II-14	327	0,9	I-14	377	0,8	III-14	427	4	IV-14
278	9,5	II-14	328	0,1	I-14	378	0,6	III-14	428	1,6	IV-14
279	5,1	II-14	329	1,1	I-14	379	0,5	III-14	429	3,2	IV-14
280	2,4	II-14	330	1,5	I-14	380	0,4	III-14	430	1,4	IV-14
281	3,5	II-14	331	4,3	I-14	381	2,2	IV-14	431	2,5	IV-14
282	1,4	II-14	332	5,3	I-14	382	2,5	IV-14	432	7,3	IV-14
283	0,9	II-14	333	2,1	III-14	383	3,7	IV-14	433	5,9	IV-14
284	0,1	II-14	334	11,7	III-14	384	5,5	IV-14	434	3,2	IV-14
285	4,3	II-14	335	9,2	III-14	385	1,4	IV-14	435	4,2	IV-14
286	5	II-14	336	2,2	III-14	386	1,3	IV-14	436	4	IV-14
287	5,7	I-14	337	2,5	III-14	387	2,7	IV-14	437	3	IV-14
288	2,7	I-14	338	4	III-14	388	3,7	IV-14	438	0,5	IV-14
289	8,3	I-14	339	5,3	III-14	389	1,6	IV-14	439	3,1	IV-14
290	11	I-14	340	5,9	III-14	390	1,5	IV-14	520	2,4	II-14
291	5,1	I-14	341	2,9	III-14	391	1,6	IV-14	521	1,6	II-14
292	5,4	I-14	342	5,3	III-14	392	3,1	IV-14	522	1,8	II-14
293	14,1	I-14	343	2,6	III-14	393	0,7	IV-14	523	6,1	II-14
294	5,5	I-14	344	3,7	III-14	394	2,7	IV-14			
295	6,6	I-14	345	3,8	III-14	395	1,1	IV-14			
296	18,3	I-14	346	1,4	III-14	396	1,2	IV-14			

Apêndice 22 – Dosagem da hidroxirolina no dia da cirurgia e no dia da eutanásia dos animais mortos no 3º dia pós-operatório.

Grupo I-3			Grupo II-3		
Animal	Hidroxirolina na Cirurgia	Hidroxirolina na Eutanásia	Animal	Hidroxirolina na Cirurgia	Hidroxirolina na Eutanásia
2	1,2	0,4	1	0,7	0,4
6	1	0,3	5	0,8	0,4
10	0,6	0,4	9	0,8	0,4
14	1,1	0,5	13	1,1	0,7
17	1	0,4	18	0,9	0,4
21	1,1		22	1,1	0,4
26	1	0,4	25	0,8	0,6
30	1,3	0,7	31	1,2	0,9
33	1,2		34	1,2	0,7
38	1,1	0,5	37	1,1	0,8

Grupo III-3			Grupo IV-3		
Animal	Hidroxirolina na Cirurgia	Hidroxirolina na Eutanásia	Animal	Hidroxirolina na Cirurgia	Hidroxirolina na Eutanásia
4	0,9	0,5	3	1,1	0,3
8	0,5	0,4	7	1,2	0,4
12	0,9	0,6	11	0,8	0,5
15	1,1	0,7	16	0,9	0,5
20	0,4	0,6	19	1,5	0,5
23	1	0,3	24	1,1	0,3
27	1,1	0,6	28	1,1	0,2
32	1	0,6	29	1,1	0,6
36	1,6	0,4	35	1,3	0,4
40	1,2	0,4	39	1,1	0,3

Apêndice 23 – Dosagem da hidroxirolina no dia da cirurgia e no dia da eutanásia dos animais mortos no 7º dia pós-operatório.

Grupo I-7			Grupo II-7		
Animal	Hidroxirolina na Cirurgia	Hidroxirolina na Eutanásia	Animal	Hidroxirolina na Cirurgia	Hidroxirolina na Eutanásia
42	0,9	0,4	41	1,5	0,5
46	0,9	0,5	45	1	0,3
50	0,9	0,7	49	1,2	0,8
53	1,1	0,8	54	0,9	0,6
58	1,1	0,6	57	1	0,6
62	1,1	0,6	61	1,1	0,7
67	1,1	0,5	66	1,1	0,5
70	1,1	0,4	69	2	0,6
74	1,1	0,5	73	1,6	0,5
78	1,2	0,6	77	1,5	0,8

Grupo III-7			Grupo IV-7		
Animal	Hidroxirolina na Cirurgia	Hidroxirolina na Eutanásia	Animal	Hidroxirolina na Cirurgia	Hidroxirolina na Eutanásia
43	1	0,5	44	0,5	0,4
48	1,1	0,2	47	0,9	
51	0,9	0,7	52	0,8	0,9
56	1,1	0,5	55	0,9	0,6
60	1,3	0,6	59	1,1	0,7
64	1,1	0,7	63	1,5	0,6
65	1,2	0,8	68	1,1	0,5
72	0,8	0,4	71	0,9	0,3
76	1	0,6	75	1,5	0,4
80	0,9	0,7	79	1	0,6



Apêndice 24 – Dosagem da hidroxirolina no dia da cirurgia e no dia da eutanásia dos animais mortos no 14º dia pós-operatório.

Grupo I-14			Grupo II-14		
Animal	Hidroxirolina na Cirurgia	Hidroxirolina na Eutanásia	Animal	Hidroxirolina na Cirurgia	Hidroxirolina na Eutanásia
82	0,9	0,6	81	0,8	0,8
88	1,2	0,5	87	1,6	0,6
90	1,3	0,7	89	1,1	0,9
94	1,3	0,6	93	0,9	0,7
98	1,3	0,8	97	0,8	0,2
102	0,9	0,5	101	1,3	0,6
106	1,1		105	0,9	0,6
110	0,9	0,8	109	1,2	0,2
114	1,4	0,7	113	1,1	0,8
120	1,1		119	1,3	1

Grupo III-14			Grupo IV-14		
Animal	Hidroxirolina na Cirurgia	Hidroxirolina na Eutanásia	Animal	Hidroxirolina na Cirurgia	Hidroxirolina na Eutanásia
83	0,9	0,6	84	1,1	0,5
86	1,2	0,6	85	1	0,6
91	1,1	1,2	92	1	0,7
96	1		95	1,2	0,8
100	1,4	0,5	99	1,2	0,4
104	1,3	0,8	103	1,2	0,8
107	1,7	0,5	108	1,5	1
112	1	0,8	111	1	0,3
116	1,1	0,6	115	2,4	0,9
117	1,8	0,6	118	1,7	0,7

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)