

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIRURGIA

MIGUEL AUGUSTO ARCOVERDE NOGUEIRA

AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO PROCESSO INFLAMATÓRIO E CICATRICAL DA
ANASTOMOSE POR INVAGINAÇÃO COLO-CÓLICA EM COMPARAÇÃO À
ANASTOMOSE POR SUTURA MANUAL, PLANO ÚNICO. ESTUDO EM CÃES.

Fortaleza

2016

MIGUEL AUGUSTO ARCOVERDE NOGUEIRA

AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO PROCESSO INFLAMATÓRIO E
CICATRICIAL DA ANASTOMOSE POR INVAGINAÇÃO COLO-CÓLICA EM
COMPARAÇÃO À ANASTOMOSE POR SUTURA MANUAL, PLANO ÚNICO.
ESTUDO EM CÃES.

Tese submetida à Coordenação do Programa de
Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia da
Universidade Federal do Ceará, como requisito
parcial para obtenção do Grau de Doutor em
Ciências Médico-Cirúrgicas.

Orientador: Prof. Titular Emérito Francisco Sérgio Pinheiro Regadas

Fortaleza

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

N1a NOGUEIRA, MIGUEL AUGUSTO ARCOVERDE.
AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO PROCESSO INFLAMATÓRIO E CICATRICIAL DA
ANASTOMOSE POR INVAGINAÇÃO COLO-CÓLICA EM COMPARAÇÃO À ANASTOMOSE POR
SUTURA MANUAL, PLANO ÚNICO. ESTUDO EM CÃES / MIGUEL AUGUSTO ARCOVERDE
NOGUEIRA. – 2016.
79 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia,
Odontologia e Enfermagem, Curso de Enfermagem, Fortaleza, 2016.
Orientação: Prof. Dr. FRANCISCO SERGIO PINHEIRO REGADAS.

1. Preparo Intestinal . 2. Cicatrização. 3. Resposta Inflamatória. 4. Colágeno. I. Título.

CDD

MIGUEL AUGUSTO ARGOVERDE NOGUEIRA

AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO PROCESSO INFLAMATÓRIO E CICATRICAL DA
ANASTOMOSE POR INVAGINAÇÃO COLO-CÓLICA EM COMPARAÇÃO À
ANASTOMOSE POR SUTURA MANUAL, PLANO ÚNICO. ESTUDO EM CÃES.

Tese submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências Médico-Cirúrgicas.

Aprovada em 24/06/2016

BANCA EXAMINADORA

Carlos Renato Sales Bezerra

Augusto Cláudio de Almeida Tinoco

Sthela Maria Murad Regadas

Lusmar Veras Rodrigues

Francisco Sérgio Pinheiro Regadas

*A meu Deus, pois sem ele não teria conseguido concluir
essa missão, na qual passei por problemas que somente
com sua ajuda consegui superar*

*Agradeço as oportunidades abertas pelos laços de
amizade e respeito ao Professor e Pai Sérgio Regadas*

AGRADECIMENTOS

Dr. LUSMAR VERAS RODRIGUES. Professor Titular do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará (UFC), Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da UFC, pela sua amizade, atenção e consideração para com os docentes e discentes desta Faculdade.

Dr. FRANCISCO SÉRGIO PINHEIRO REGADAS. Professor Titular Emérito do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará (UFC), ao me proporcionar a oportunidade do conhecimento e aperfeiçoamento profissional.

Dra STHELA MARIA MURAD REGADAS. Professora Adjunta do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará (UFC), faz-se no âmbito universitário, de valor inestimável, no âmbito pessoal: minha eterna gratidão.

Dr. JOSÉ ALBERTO DIAS LEITE. Professor Titular do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará sem sua incansável busca pelo saber, haveria uma lacuna irreparável nesta Tese.

DR. WELLIGTON RIBEIRO FIGUEIREDO. Professor da Clínica Cirúrgica da FACID, pelo empenho no desenvolvimento desta Tese.

Dr. ERBERT PORTELA MARTINS FILHO, médico Residente de Proctologia no Hospital Getúlio Vargas, pela dedicação para com nosso experimento e pela disposição constante ao Trabalho Científico.

Dr. MIGUEL MENDES ARCOVERDE, Engenheiro Civil, que nos momentos de tormenta, soube ser além de Tio, um pai amigo e conselheiro, em situações que, por vezes dificultou a redação desta Tese.

DRa. FLÁVIA NUNES GONÇALVES BANDEIRA DE MELO, Psicóloga, pelo apoio, atenção, carinho e cuidado. Sempre ao meu lado mesmo nos momentos mais difíceis desta jornada.

MAGDA MARIA GOMES FONTENELE e MARIA LUCIENE VIEIRA DE OLIVEIRA, Secretárias do programa de Pós-Graduação de cirurgia da UFC que, boa convivência, nos tornamos mais que bons amigos, compartilhando anseios, sorrisos, boas histórias e, por vezes, lágrimas:

“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim.”

(Chico Xavier)

RESUMO

AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DA ANASTOMOSE POR INVAGINAÇÃO NO CÓLON EM COMPARAÇÃO À ANASTOMOSE POR SUTURA SIMPLES. ESTUDO EXPERIMENTAL EM CÃES. Miguel Augusto Arcoverde Nogueira. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Cirurgia. Orientador: Professor Emérito Francisco Sérgio Pinheiro Regadas.

Neste estudo experimental, foram avaliadas a resposta inflamatória e cicatricial em anastomoses cólicas em cães submetidos com fio de prolene 3.0, sutura contínua comparando-se a anastomose por invaginação colo-cólica em cães. Foram utilizados 2 grupos com 30 animais (*Cannis familiaris*) fêmeas em cada grupo, pesando entre 8,00 e 19,25 kg, obtidos do Canil Municipal de Teresina - Pi. Em ambos os grupos houve preparo intestinal com Glicerina 12% via retal. No Grupo Controle, foram realizadas laparotomias com colotomia transversa a 20 cm da margem anal e anastomose colo-cólica com fio de polipropileno 000, em sutura contínua, extramucosa. Nos animais do grupo Estudo foi realizado anastomose por invaginação colo-cólica contida por quatro pontos de prolene 3.0 nos pontos cardinais. Todos os animais foram avaliados no pós-operatório por Médico Veterinário, alimentaram-se à base de ração padrão e água, *ad libitum*, instituída quando se observou evacuação. Os animais de ambos os grupos foram submetidos à eutanásia no 7º (n= 10) e 21º (n= 20) DPO, com Cloreto de Potássio 10%, via endovenosa após anestesia com Cloridrato de Cetamina, quando se fez nova laparotomia para exérese do segmento cólico anastomosado para análise histológica e imuno-histoquímica. Avaliou-se aderências abdominais, edema na anastomose, vasoproliferação, concentração de colágenos tipo I e III, óxido nítrico e mieloperoxidase. Realizou-se análise estatística com *Test t Student* para amostras não pareadas para dados paramétricos e *Mann-Whitney test* para dados não paramétricos. Durante a realização do experimento não ocorreu óbito em nenhum animal em cada grupo. Não ocorreu diferença estatisticamente significativa entre os grupos com relação à presença de aderências intra-abdominais, ao edema na anastomose, a vasoproliferação, colágenos tipo I e III, óxido nítrico e mieloperoxidase no 7º. e 21º. DPO. Conclui-se que o tipo de anastomose não altera o processo inflamatório e cicatricial das anastomoses, sendo a evolução clínica semelhante para ambos os grupos.

Palavras-chave: Preparo Intestinal, Cicatrização, Resposta Inflamatória, Colágeno

ABSTRACT

Comparative Evaluation of Healing Response Between Colo-Colic Invagination Anastomosis and Single-layer Running Suture. Experimental Study in Dogs. MIGUEL AUGUSTO ARCOVERDE NOGUEIRA. Stricto sensu Post-Graduation (Ph.D. in surgery). Advisor: Professor Francisco Sérgio Pinheiro Regadas.

Objective: Evaluate the healing response of colo-colic invagination anastomosis comparing with single-layer running suture. Methods: Sixty female dogs (*Canis familiaris*) weighing 8.0-19.5 Kg supplied by a municipal dog pound were randomly distributed in two groups. In Group I (control), the animals were submitted to colo-colic anastomosis with a single-layer running suture (polypropylene thread 000). In Group II (study), the animals were submitted to colo-colic anastomosis by invagination secured by four cardinal sutures (polypropylene thread 000). At the end of the study period, the animals underwent to a second laparotomy to excise the anastomosed colon segment for histological and immunohistochemical analysis. The study parameters included body weight, abdominal adhesions, edema, vasoproliferation, type I and III collagen, myeloperoxidase and nitric oxide. The findings were statistically analyzed with Student's t test (parametric data) and the Mann-Whitney test (non-parametric data). Results: The animals were euthanized with 20% potassium chloride (i.v.) under anesthesia with ketamine. Ten from each group were euthanized on the 7th postoperative day (POD7) and 20 on the 21st postoperative day (POD21). None animal died prior to euthanasia. Body weight was statistically similar in both groups. The median weight was 10.86 Kg, 9.98 Kg in Groups I, II respectively ($p=0.41$) on POD7 and 11.86 Kg, 11.55 Kg in Groups I, II respectively ($p=0.71$) on POD21. The abdominal adhesions incidence was statistically similar in both groups, ($p=0.7383$ on POD7; $p=0.5685$ on POD21), as well as for the levels of edema ($p=0.3006$ on POD7; $p=0.7990$ on POD21), vasoproliferation ($p=0.1191$ on POD7; $p=0.0758$ on POD21), type I collagen ($p=0.4591$ on POD7; $p=0.3357$ on POD21), type III collagen ($p=0.2166$ on POD7; $p=0.2712$ on POD21) and nitric oxide ($p=0.3980$ on POD7; $p=0.4796$ on POD21). The myeloperoxidase levels were also statistically similar for both groups ($p=0.580$ on POD7; $p=0.755$ on POD21). Conclusion: It was not demonstrated in this experimental study any significant difference on healing response between colo-colic anastomosis performed by invagination with single-layer running suture.

Keywords: Intestinal preparation, healing, inflammatory response, collagen

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

a.C	Antes de Cristo
CEUA	Comitê de Ética de Uso de Animais
COD.	Código
COX-2	Ciclo-Oxigenase-2
DP	Desvio Padrão
Dr.	Doutor
DPO	Dia Pós-operatório
EGF	Fator de Crescimento Epidermal
Et al.	E colaboradores
FACID	Faculdade Integrada Diferencial
FACIME	Faculdade de Ciências Médicas
FCF	Fator de Crescimento de Fibroblastos
FR	French
IM	intramuscular
INOS	Óxido Nítrico Sintase Induzida
IV	intravenoso
LAPAC	Laboratório de Patologia Clínica
MPO	Mieloperoxidase
Ms	Mestre
NOS	Óxido Nítrico Sintase
Prof.	Professor
PCS	Picosirius Red
PBS	Phosphate Buffered Saline
PGDF	Fator de Crescimento Derivado das Plaquetas
RGB	Red, Green, Blue
SC	subcutânea
UESPI	Universidade Estadual do Piauí
USA	United States of America
VEGF	Fator de Crescimento de Endotélio Vascular

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVO	20
3 MATERIAL E MÉTODO	21
3.1 Amostra	21
3.2 Material Cirúrgico	21
3.2.1 Mesa Cirúrgica	21
3.2.2 Balança	22
3.2.3 Anestésicos e drogas utilizados durante o procedimento	22
3.2.4 Caixa de Laparotomia	22
3.3 Preparo pré-operatório	22
3.4 Preparo anestésico e peri-operatório	23
3.5 Procedimento cirúrgico	23
3.6 Pós-operatório	26
3.7 Parâmetros avaliados..	26
3.7.1 Peso do animal	26
3.7.2 Evolução Clínica..	26
3.7.3 Avaliação da cavidade abdominal nos 7º e 21º dias do pós-operatório.....	26
3.7.4 Avaliação Macroscópica da Cavidade Abdominal..	27
3.7.5 Avaliação Histológica.....	27
3.7.6 Avaliação Imuno-histoquímica.....	28
3.8 Análise Estatística.....	29
4.0 Resultados.....	30
4.1. Peso dos animais.....	30
4.2. Evolução Clínica.....	32
4.3. Avaliação das Aderências.....	32
4.4. Edema das anastomoses.....	36
4.5. Vasoproliferação.....	38
4.6. Colágeno Tipo I.....	41
4.7. Colágeno Tipo III.....	43

4.8. Óxido Nítrico..	45
4.9. Mieloperoxidase.....	48
5.0. Discussão... ..	51
6.0. Conclusão.....	55
Referências	56
Apêndices.....	62
Anexos... ..	78

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Posicionamento do cão para o procedimento cirúrgico.....	23
Figura 2 – Identificação do cólon descendente.....	24
Figura 3 – Dissecção do mesocólon e preparo para invaginação	24
Figura 4 – Sutura em plano único contínuo.....	25
Figura 5 – Aspecto final do coto proximal... ..	25
Figura 6 - Mediana do peso em Kg dos animais do Grupo Controle e do Grupo Estudo – eutanásia realizada no 7º DPO.....	30
Figura 7 - Mediana do peso em Kg dos animais do Grupo Controle e do Grupo Estudo – eutanásias realizadas no 21º DPO.....	31
Figura 8 - Mediana do peso em Kg dos animais do Grupo Controle – eutanásias realizadas no 7º e 21º DPO, respectivamente.....	31
Figura 9 - Mediana do peso em Kg dos animais do Grupo Estudo – eutanásias realizadas no 7º e 21 DPO, respectivamente.....	32
Figura 10 - Índice das aderências existentes entre os animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 7º DPO....	33
Figura 11 - Índice das aderências abdominais existentes entre os animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 21º DPO.....	33
Figura 12 - Índice das aderências abdominais existentes entre os animais do Grupo Controle – eutanásias realizadas no 7º e 21º DPO.....	34
Figura 13 - Índice das aderências abdominais existentes entre os animais do Grupo Estudo – eutanásias realizadas no 7º e 21º DPO.....	34
Figura 14 - Aderências tipo I.....	35
Figura 15 - Aderências Grau II.....	35
Figura 16 - Aderências Grau III.....	35
Figura 17 - Aderências Grau IV.....	36
Figura 18 - Intensidade do edema nas anastomoses colo-cólicas entre os animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 7º DPO.....	36
Figura 19 - Intensidade do edema nas anastomoses colo-cólicas entre os animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 21º DPO.....	37

Figura 20 - Intensidade do edema nas anastomoses colo-cólicas entre os animais do grupo Controle – eutanásias realizadas no 7º e 21º DPO.....	37
Figura 21 - Intensidade do edema nas anastomoses colo-cólicas entre os animais do Grupo Estudo – eutanásias realizadas no 7º e 21º DPO.....	38
Figura 22 - Edema moderado.....	38
Figura 23 Frequência da vasoproliferação nas anastomoses colo-cólicas entre os animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 7º DPO....	39
Figura 24 - Frequência da vasoproliferação nas anastomoses entre os animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 21º DPO.....	39
Figura 25 - Frequência da vasoproliferação nas anastomoses entre os animais do Grupo Controle – eutanásias realizadas no 7º e 21º DPO.....	40
Figura 26 - Frequência da vasoproliferação nas anastomoses entre os animais do Grupo Estudo – eutanásias realizadas no 7º e 21º DPO.....	40
Figura 27 - Vasoproliferação Intensa.....	41
Figura 28 - Níveis de colágeno tipo I encontrados na área anastomótica dos animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 7º DPO.	41
Figura 29 - Níveis de colágeno tipo I encontrados na área anastomótica dos animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 21º DPO..	42
Figura 30 - Níveis de colágeno tipo I encontrados na área anastomótica nos animais do Grupo Controle – eutanásias realizadas no 7º e 21º DPO.....	42
Figura 31 - Níveis de colágeno tipo I encontrados na área anastomótica nos animais do Grupo Estudo – eutanásias realizadas no 7º e 21º DPO.....	43
Figura 32 - Níveis de colágeno tipo III encontrados na área de anastomose nos animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 7º DPO	44
Figura 33 – Níveis de colágeno tipo III encontrados na área de anastomose nos animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 21º DPO.	44
Figura 34 – Níveis de colágeno tipo III encontrados na área de anastomose nos animais do Grupo Controle – eutanásias realizadas no 7º e 21º DPO.....	45
Figura 35 – Níveis de colágeno tipo III encontrados na área de anastomose nos animais do Grupo Estudo – eutanásias realizadas no 7º e 21º DPO.....	45
Figura 36 – Distribuição da Frequência dos animais nos Grupos Controle e Estudo, na área anastomótica colo-cólica em relação ao iNOS – eutanásia realizada no 7º DPO.	46

Figura 37 – Distribuição da Frequência nos animais dos Grupos Controle e Estudo, na área da anastomose colo-cólica em relação ao iNOS – eutanásia realizada no 21° DPO.....	46
Figura 38 – Distribuição da Frequência nos animais do Grupo Controle, na área da anastomose colo-cólica em relação ao iNOS – eutanásias realizadas no 7° e 21° DPO.....	47
Figura 39 – Distribuição da Frequência nos animais do Grupo Estudo, na área da anastomose colo-cólica em relação ao iNOS – eutanásias realizadas no 7° e 21° DPO.....	47
Figura 40 – iNOS,Intensa atividade.....	48
Figura 41 – Níveis de atividade de mieloperoxidase nas anastomoses dos animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 7° DPO	48
Figura 42 – Níveis de atividade de mieloperoxidase na anastomose dos animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 21° DPO	49
Figura 43 – Níveis de atividade de mieloperoxidase na anastomose dos animais do Grupo Controle – eutanásia realizada no 7° e 21° DPO.	49
Figura 44 – Níveis de atividade de mieloperoxidase na anastomose dos animais do Grupo Estudo – eutanásia realizada no 7° e 21° DPO	50
Figura 45 – Mieloperoxidase intensa.....	50

1 INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da cirurgia, os procedimentos no colón e reto foram descritos como desafiadores pelas suas elevadas taxas de complicações. Hipócrates (460-377 a.C.) já condenava a realização de procedimentos colorretais devido às suas complicações e contaminação do intestino grosso. No século XIX, Hasteld concluiu em suas pesquisas que a principal causa de deiscências e de mortalidade da cirurgia colorretal era a presença de fezes na luz do intestino grosso. (ALMEIDA, 2006; BEZERRA, 2010; CASTRO & LANDEIRA-FERNANDEZ, 2010; GÜENAGA, MATOS & WILLE-JØRGENSEN, 2012; LINS-NETO et al., 2012).

Houve uma acentuada redução da morbi-mortalidade nessas cirurgias com a introdução, no início do século XX, de fármacos que tinham efeito direto nos micro-organismos presentes na flora intestinal. A introdução dos antibióticos diminuiu as complicações dessas cirurgias significativamente (HABR-GAMA et al., 1981).

Na literatura, o primeiro caso de anastomose por invaginação data do final do século XIX, realizado por Sonnenburg, segundo Moore e Forrest-Hamilton (1954) porém sem realizar relato do caso, onde foi descrita uma anastomose íleo-cólica por invaginação, porém Maylard, em 1913, também praticou uma invaginação íleo-cólica na Escócia. Na Alemanha, em 1923, Goepel relatou a técnica de invaginação com sucesso. Posteriormente, Babcock (1926) reproduziu gastrectomias parciais com invaginação do estômago sobre o duodeno.

Um modelo de anastomose colo-cólica com invaginação das camadas submucosa-mucosa do segmento proximal em sero-muscular distal em cães foi descrito pela primeira vez por Luchesi (1987) através de estudo experimental em cães.

A técnica de invaginação de segmentos do aparelho digestório também foi relatada em anastomose esôfago-gástrica em esofagectomias para megaesôfago, por Aquino (1966). Neste estudo, houve a descrição da invaginação esôfago-esofágica, com mucosectomia e conservação da túnica muscular esofágica, obtendo resultados satisfatórios, mesmo com 22% de fístulas, porém, sem nenhum óbito.

Alguns anos depois, Décio et al. (2000) descreveram um estudo comparando anastomose esôfago-gástrica em plano único com anastomose por invaginação de submucosa e mucosa com prévia exérese da camada muscular em ratos, e concluíram que as anastomoses

por invaginação apresentaram menor incidência de complicações, configurando segurança à técnica.

Mais recentemente, Szucs et al. (2003) e Kanto et al. (2005), através de estudos experimentais em cães, também descreveram segurança e menores taxas de complicações em anastomose colo-cólica por essa técnica.

A anastomose intestinal colo-cólica por invaginação intestinal foi um modelo descrito, segundo os autores, com aplicabilidade, e torna-se um método alternativo de anastomose, porém, ainda com muita dificuldade de aceitação pelos cirurgiões por falta de estudos, principalmente sobre a cicatrização dessas anastomoses (SZUCS et al., 2003; KANTO et al., 2005).

O processo inicial da cicatrização de uma anastomose é a ativação plaquetária e, conseqüentemente, a formação de um coágulo de fibrina, havendo liberação de mediadores químicos da inflamação, seguindo-se as fases da cicatrização, as quais se sobrepõem umas às outras: hemostasia / inflamação, proliferação e maturação /remodelação (PAKSOY et al., 2001; MEDEIROS et al., 2004; GOES et al., 2005; BEZERRA, 2014). Havendo algum desequilíbrio ou alteração que modifique essas fases, podem ocorrer complicações que levam ao aumento da morbidade nas anastomoses, esses eventos são os seguintes: presença de tensão na anastomose, infecção, preparo intestinal pré-cirúrgico, tipo de sutura, tipo de fio utilizado (reação inflamatória local), estado de comorbidade dos pacientes (quimioterapia, desnutrição, sepse, baixa volemia). Dentre eles, o principal fator é a sepse intra-abdominal (ALMEIDA, 2006; SERVIN et al., 2006; PAIGE & THERESE, 2009; BEZERRA et al., 2014).

Através de alguns marcadores histológicos, pode-se estudar histologicamente a resposta cicatricial da anastomose colo-cólica, tais como: a quantidade e o tipo de colágeno, a quantidade de neutrófilos existentes no sítio da anastomose, alterações quantitativas da mieloperoxidase, quantidade de óxido nítrico e a presença do edema e da vasoproliferação, sobretudo nos primeiros dias do pós-operatório (HESP et al., 1984; MUNIREDDY, KAVALUKAS & BARBUL, 2010; BEZERRA et al., 2014).

O colágeno é a proteína mais abundante nos mamíferos. Existem entre doze a dezenove tipos diferentes no organismo humano, sendo que os mais importantes para a cicatrização das anastomoses são os Tipos: I, III e V. A síntese do colágeno é realizada nos fibroblastos, todavia observou-se que no trato gastrointestinal também são sintetizados por

células musculares lisas com menor intensidade (RAVO, 1998; GONÇALVES C.G., 2006, MUNIREDDY, KAVALUKAS & BARBUL, 2010).

O colágeno tipo I é localizado em várias partes do organismo, mais comumente nos tendões, no tecido conjuntivo frouxo comum, no tecido conjuntivo denso e nas cartilagens fibrosas. Na ferida operatória e no processo de cicatrização, esse colágeno é considerado como colágeno maduro. Já o colágeno tipo III, mais encontrado nos músculos dos intestinos, nos pulmões, no fígado, no útero, no tecido de cicatrização, com predominância nos primeiros dias da cicatrização, é denominado colágeno imaturo. Há uma equação que determina o índice de maturação do colágeno (DA COSTA et. al., 2003; LEMOS et. al., 2004; BERNHARDT, 2008).

Há uma diminuição da força tênsil da anastomose nas primeiras quarenta e oito horas do procedimento cirúrgico não complicado, pois há um desequilíbrio marcante na deposição e degradação na matriz extracelular. O colágeno tipo III (fase inflamatória) e tipo I (fase proliferativa) predominam na matriz, nos primeiros dias do procedimento cirúrgico (Gráfico 1). (CRONIN, JACKSON & DUNPHY, 1968; GRAHAN et al., 1987; GONÇALVES C.G., 2006; SCHREINEMACHER et al., 2011).

Os neutrófilos são as células inflamatórias mais importantes da fase inflamatória da cicatrização. Eles produzem a mieloperoxidase e são fortemente influenciáveis por alguns fatores existentes nas anastomoses gastrointestinais, e têm como principal agente a força tênsil empregada entre as bordas da anastomose. Quando existe tensão nas bordas das feridas, existe uma migração dessas células para a região anastomótica, aumentando a produção de mieloperoxidase, diminuindo a força tênsil, predispondo à deiscência pela sua capacidade de proteólise. O aumento da mieloperoxidase age de forma inversa à possibilidade de rompimento da anastomose e formação de deiscência ou fístulas (HÖGSTRÖM, HAGLUND & ZEDERFELDT, 1990; EINSERICH et al., 2002; SILVA, 2009, BEZERRA et al, 2014).

O óxido nítrico é essencial nas fases inflamatórias da cicatrização, em que há três isoformas, as quais são classificadas em constitutivas (duas) e induzidas (uma). A isoforma induzida promove vasodilatação no local da anastomose, participando de forma direta nas reações inflamatórias ocorridas na cicatrização do cólon, além de ser um dos mediadores da síntese do colágeno. É produzida nos sítios anastomóticos pelos macrófagos, ativada por citocinas inflamatórias e por polissacarídeos bacterianos através da estimulação do iNOS, sendo também produzida em menor quantidade por fibroblastos, células endoteliais e queratócitos (BEGNAMI et al., 2004; ALMEIDA, 2006; BEZERRA et al, 2014).

A avaliação do edema na cicatrização da anastomose torna-se importante como um parâmetro indireto. Quanto maior o edema (principalmente nas primeiras fases da cicatrização), maior será a resposta inflamatória, ocorrendo maior formação de colágeno com menor qualidade e diminuição da força tênsil, predispondo a complicações. Sua avaliação histológica se faz por uma escala subjetiva de pontos (SOUSA, 1989; PRIOLLI et al., 2003; BEZERRA et al, 2014).

A angiogênese (vasoproliferação) é um processo integrado e simultâneo com a fibroplasia e a formação da matriz extracelular. Vários fatores levam à proliferação das células endoteliais, derivando principalmente das plaquetas PGDF (fator de crescimento derivado das plaquetas) e de células inflamatórias ativadas (EGF – fator de crescimento epidermal, VEGF – fator de crescimento de endotélio vascular). Alguns fatores influenciam de forma inversa a presença da quantidade de novos vasos na anastomose, a exemplo: idade avançada, má nutrição, Diabetes Mellitus e uso crônico de corticosteróides (MEDEIROS et al., 2004; NÓBREGA et al., 2007).

Na anastomose por invaginação, como nas anastomoses por sutura, em um ou dois planos, e nas demais anastomoses no trato digestório, as alterações na cicatrização do cólon no pós-operatório tardio, no que diz respeito às alterações no edema, neo-vascularização, colágeno tipo I e III, Óxido Nítrico, Mieloperoxidase, comprometem a integridade das anastomoses, havendo aumento na possibilidade de complicações. A alteração em quaisquer das etapas acima citadas modifica o processo cicatricial (SANTOS JR., 2004; ZMORA et al. 2005; INOMATA, 2005; BEZERRA et al, 2014).

Os cirurgiões estão sempre à procura de métodos de aperfeiçoamento das anastomoses intestinais com o objetivo de reduzir as taxas de complicação, como por exemplo, o uso de materiais de sutura, que provocam menos reações inflamatórias; dispositivos mecânicos como grampeadores, e anéis biofragmentáveis, até mesmo novas técnicas de anastomose intestinal. Muitas dessas inovações tecnológicas representaram redução significativa das taxas de deiscências anastomóticas. Mas, apesar de todos os avanços nessa área, continua sendo ainda um importante fator associado à mortalidade pós-operatória em cirurgia colorretal.

Associado a necessidades de situações que pode ser útil a anastomose por invaginação devido a falta de material mecânico disponível ou pela posição anatômica que impossibilita a anastomose termino-terminal.

2 OBJETIVO

Avaliação inflamatória e cicatricial da anastomose colo-cólica por invaginação término-terminal comparado à sutura manual contínua com fio de polipropileno 000 em plano único em cães.

3 MATERIAL E MÉTODO

O experimento obedeceu aos princípios éticos da legislação brasileira e ao Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, sendo aprovado pelo Comitê de Ética de Uso de Animais (CEUA) da Faculdade Integral Diferencial (FACID), com o número de protocolo 08/12.

3.1 Amostra

Foram utilizados 60 (sessenta) cães mestiços (*Canis familiares*), fêmeas, com peso corporal entre 8,0 e 19,5 Kg. Os animais, clinicamente sadios, foram oriundos do canil da Prefeitura Municipal de Teresina, Piauí. Eles ficaram mantidos em quarentena por 15 dias no biotério de uma clínica veterinária privada, conveniada com a Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual do Piauí.

Os animais permaneceram em canis individuais e foram submetidos à vacinação antirrábica e a exames clínicos, observados de perto por um professor médico veterinário, que também acompanhou a realização dos procedimentos cirúrgicos.

Após o período de quarentena, os animais foram randomizados utilizando-se o programa Microsoft Excel®, e distribuídos em dois grupos de 30 animais:

- Grupo I (controle) – animais submetidos à anastomose cólo-cólica término-terminal, com sutura contínua em plano único com fio de polipropileno 000;
- Grupo II (estudo) – animais submetidos à anastomose cólo-cólica término-terminal, em invaginação, com segmento proximal no lúmen do distal, utilizando 4 pontos de fixação com polipropileno 000.

Em cada grupo, praticou-se a eutanásia de todos os animais após o procedimento. Dos 30 (trinta) animais em cada grupo, 10 (dez) foram submetidos à eutanásia no sétimo dia de pós-operatório, e os demais, 20 (vinte), no vigésimo primeiro dia de pós-operatório.

3.2 Material Cirúrgico

3.2.1. Mesa Cirúrgica: Mesa de aço inoxidável, tipo veterinária, com hastes de metal para contenção dos animais, medindo 1,5 m de comprimento por 0,6 m de largura.

3.2.2. Balança:

Balança veterinária da marca Fillizola® com capacidade para até 110 Kg.

3.2.3. Anestésicos e drogas utilizados durante o procedimento:

Para a antibioticoprofilaxia, utilizou-se Penicilina (40.000U/Kg IM) e Metronidazol (30mg/Kg IV). Para a analgesia, usou-se o Tramadol (2mg/Kg IM). A anestesia foi realizada com Propofol (5mg/Kg IV, lento) e Isoflurano inalatório. Para o procedimento da eutanásia, administrou-se o Cloridrato de Cetamina (50 mg/ml) e o Cloreto de Potássio a 20%.

3.2.4. Caixa de laparotomia:

Material cirúrgico utilizado em cirurgias colo-retais.

3.3. Preparo pré-operatório

Todos os animais foram mantidos em canis separados, com alimentação padrão (300 a 500g de ração Purina® para cães adultos, por dia, assim como água à vontade) até a véspera do procedimento. Submetidos a um preparo intestinal, iniciado na manhã do dia anterior, utilizando a administração de 100ml de solução glicerinada a 12%, via retal, através de sonda retal de 14 Fr, de 8/8 horas. Nesse dia, receberam somente dieta líquida, sem resíduos. Os animais foram encaminhados para o centro cirúrgico após obedecerem a um jejum pré-operatório de 10 horas.

3.4. Preparo anestésico e peri-operatório

Os animais foram encaminhados ao laboratório de cirurgia experimental da mesma instituição, onde se administrou a antibioticoprofilaxia com Penicilina (40.000U/Kg IM) e o Metronidazol (30mg/Kg IV) no momento do ato anestésico, mantendo-o de 12/12 horas; a Penicilina, de 6/6 horas durante as primeiras 24hs após o procedimento, e o Meloxicam (0,2mg/Kg SC), de 12/12 horas durante 3 dias.

No pré-operatório, foi administrado o Tramadol (2mg/Kg IM), o qual foi mantido de 4/4 horas nas primeiras 24hs de pós-operatório. Os animais foram anestesiados com Propofol

(5mg/Kg IV, lento) seguida da entubação orotraqueal, depois colocados em ventilação mecânica com isoflurano, em circuito semi-fechado.

Após a anestesia, fez-se o toque retal em todos os animais, classificando o preparo intestinal deles segundo a proposta de O'Dweyr et al., (1989), conforme tabela 1.

A avaliação do preparo intestinal pelo toque retal foi confirmada após abertura do cólon durante o procedimento.

Tabela 1 - Classificação do preparo intestinal proposta por O'Dweyr (1989)

Grau	Descrição
4	Excelente ausência de fezes
3	Bom mínimo de resíduo fecal
2	Razoável fezes líquidas
1	Sujo fezes sólidas

Fonte: O'Dweyr et al (1989).

Os animais foram posicionados em decúbito dorsal, fixados à mesa com cordão de algodão e realizada a tricotomia, seguida de antissepsia com iodo povidine degermante e, posteriormente, povidine tópico. Colocação de campos estéreis. (Figura 1).



Figura 1 - Posicionamento do animal para o procedimento cirúrgico Animal 4 do grupo estudo.

3.5. Procedimento cirúrgico

Realizou-se a laparotomia com incisão mediana, trans-umbilical, com aproximadamente 12 cm de extensão, através de diérese da pele, tecido celular subcutâneo, aponeurose, peritônio. Fez-se a inspeção da cavidade abdominal em busca de enfermidades hematogênicas e ginecológicas.

O cólon descendente foi inicialmente identificado a 20cm da margem anal, apreendido por clampe intestinal reto (Figura 2).



Figura 2 - Identificação do cólon descendente. Animal 4 do grupo estudo.

O mesocólon foi dissecado em direção a sua raiz por 3cm de extensão no qual se fez uma colotomia transversa linear com tesoura. Foi realizada uma anastomose com sutura contínua em plano único com fio de polipropileno 000 (Grupo I). Ilustrada na figura 3 e 4.

Nos animais do Grupo II, o coto proximal foi invaginado (aproximadamente 3 cm após dissecação do mesocólon preservando a artéria marginal) no lúmen do coto distal e fixado com quatro pontos cardinais com fio de polipropileno 000 envolvendo todos os planos intestinais (figuras 5).



Figura 3 - Dissecção do mesocólon e preparo para invaginação. Animal 4 do grupo estudo.



Figura 4 - Sutura em plano único contínuo no animal 17 do grupo controle.



Figura 5 - Aspecto final da invaginação do coto proximal. Animal 4 do grupo estudo.

A aponeurose abdominal foi suturada com fio de polipropileno 000 em sutura contínua, em plano único, e a pele com nylon 0000 com pontos separados.

3.6. Pós-operatório

Após o procedimento cirúrgico, os animais voltaram ao biotério e foram submetidos à avaliação clínica diária e à dieta à base de ração, e água foi instituída assim que ocorreu a evacuação.

Os animais seguiram no biotério em canis individuais e foram novamente laparotomizados no laboratório mediante anestesia geral, avaliando-se a integridade das anastomoses. Em seguida, procedeu-se a uma colectomia segmentar, ou seja, retirou-se o segmento do cólon que envolvia a anastomose, de aproximadamente 6cm, cerca de 3cm proximais e distais. Esse segmento do cólon foi encaminhado para análise histológica.

Foi praticada a eutanásia com cloreto de potássio 20% IV em todos os animais de ambos os grupos, no final do procedimento, sob anestesia geral. De modo que não houve sofrimento para estes exemplares. Tal procedimento foi realizado nos animais dos dois grupos, I e II, em dois períodos: no 7º e 21º dia de pós-operatório.

3.7. Parâmetros avaliados

3.7.1 Peso do animal

Medido através de balança veterinária.

3.7.2 Evolução clínica

Foi observada a evolução clínica dos animais de ambos os grupos até a eutanásia (n=10) durante os primeiros 7 dias, e os demais (n=20) nos 21 dias. Percebeu-se interação com o meio ambiente, o início da dieta, deambulação, primeira evacuação e aspecto da ferida operatória.

3.7.3. Avaliação da cavidade abdominal nos 7º e 21º dia de pós-operatório:

Realizou-se nova laparotomia com eutanásia dos animais no 7º e 21º dia de pós-operatório. No inventário da cavidade abdominal foram inspecionadas: a região da

anastomose, as aderências intestinais, as fístulas e as aderências. As aderências intestinais foram visualizadas e classificadas macroscopicamente de acordo com Knightly et al., (1962), descritas na tabela 2.

3.7.4. Avaliação Macroscópica da cavidade Abdominal:

Verificou-se na segunda abordagem da cavidade abdominal para retirada da peça cirúrgica: Presença do índice de aderências, segundo KNIGHTLY (1962), ausência de fístulas entre alças,

Após verificação desses parâmetros, procedeu-se abertura das peças não havendo estenose em qualquer caso de ambos os grupos.

Tabela 2 - Índice de Aderências de Knightly (1962).

Grau	Descrição
0	Ausência de aderência
1	Aderência única e facilmente separável
2	Aderências em pequena extensão e que se rompem com pequena tração
3	Aderências viscerais extensas que se estendem até a parede
4	Aderências numerosas, extensas e densas que envolvem o mesentério, intestino, omento e parede abdominal

Fonte: Knightly et al (1962).

3.7.5. Avaliação histológica

Os segmentos cólicos que continham a anastomose foram encaminhados para avaliação histológica. Esses segmentos foram incisados no sentido longitudinal na borda anti-mesentérica, a seguir, fixadas com formol a 10% e encaminhadas para estudo histológico. Após a microtomia a 4µm de espessura, os cortes histológicos foram corados pelo método de hematoxilina e eosina, conforme a rotina do laboratório de patologia LAPAC.

A avaliação da cicatrização do segmento cólico foi realizada pela microscopia de luz, por patologista experiente. Nessas lâminas foi avaliada a proliferação vascular e o edema, quantificado em quatro níveis: ausente(0), leve(1), moderado(2) e intenso(3), segundo classificação de Sousa (1989).

Na confecção das lâminas para estudo do colágeno tipo I e III, obedeceu-se à mesma técnica descrita para a coloração com Hematoxilina-Eosina descrita anteriormente. Após microtomia a 4µm de espessura, os cortes foram submetidos à coloração de picosirius-red,

para identificação dos colágenos maduro (tipo I) e imaturo (tipo III), por técnica de microscopia com luz polarizada e análise morfométrica computadorizada. Os cortes histológicos foram avaliados por meio de microscópio óptico da marca *Olympus*, em aumento de 400 vezes, em que se utilizou fonte de luz polarizada. As imagens foram captadas por câmera *Samsung*, transmitidas ao monitor colorido AOC, no qual se fez a análise das imagens por meio de aplicativo (sistema de análise morfométrica) para Windows em computador com processador Intel dual Core. A calibração do sistema foi realizada com base na densidade óptica dos pontos de resolução (pixels). No sistema RGB (*Red, Green, Blue*), foram considerados valores para os vários tons de vermelho, amarelo e laranja (colágeno tipo I) e para os vários tons de verde (colágeno tipo III). As lâminas foram avaliadas nas mesmas condições de regulagem, dentro de parâmetros exigidos pelo aplicativo.

Nos cortes histológicos, determinou-se o campo microscópico sobre a anastomose, onde se obteve a medida, em porcentagem, de três áreas distintas dos campos (superior, média e inferior). Em cada uma delas, calculou-se o percentual da área ocupada pelas fibras dos colágenos, em relação à área total examinada. Considerou-se como medida da porcentagem de fibras colágenas a média de 6 fotos (áreas superior, média e inferior). Após a média de ambos os colágenos (I e III), calculou-se o Índice de Maturação do Colágeno pela fórmula a seguir:

IMaC = % Colágeno Tipo I (maduro) / % Colágeno Tipo III (imaturo) (LEMOS, 2014).

3.7.6. Avaliação imunohistoquímica

Foram utilizados anticorpos monoclonais para identificar os antígenos mieloperoxidase e do Óxido Nítrico Sintase Induzida (iNOS). Os anticorpos são os seguintes: mieloperoxidase, monoclonal, com o clone MPO-7, na diluição 1:5000 (*DAKO Corporation, Dakopatts, Carpinteria, USA*) e com o do Óxido Nítrico induzido, policlonal, na diluição 1:100 (*Spring Bioscience Corporation, USA*). Os cortes histológicos foram desparafinados em banho de xilol à temperatura de 110°C e banhos subsequentes à temperatura ambiente.

Após esse processo, os cortes foram imersos em álcool etílico nas concentrações de 100%, 80% e 50%, sequencial e posteriormente, lavados em água corrente destilada. A atividade da peroxidase endógena foi bloqueada em três banhos de H₂O₂ a 10 volumes, durante três minutos, seguida de lavagem em solução salina tamponada com fosfato, pH 7,4 a 7,6 (PBS).

Para a recuperação antigênica, ou seja, a quebra das ligações entre os grupos amino das proteínas e o consequente resgate do sítio antigênico, encoberto pela ação do formol e da proteína sobre o tecido, foi utilizada panela a vapor *T-fall*®, com o objetivo de desmascarar antígenos. As lâminas foram colocadas em tampão citrato de sódio pH 6,0 durante 30 minutos a 95° C, e após esse período de tempo, foi submetida a resfriamento por 20 minutos, lavadas em água corrente e colocadas em tampão PBS, em seguida foram incubadas com anticorpo primário específico “*overnight*” a 4°C.

Após a incubação, as lâminas foram submetidas a três lavagens em PBS, secadas e incubadas com “*Em Vision TM System (DAKO, cód K 1491)*” por 1 hora, a 37° C. Mais uma vez, as lâminas foram lavadas em água corrente, água destilada e contracoradas com hematoxilina de Mayer por 30 segundos. Os cortes foram embebidos em álcool a 100% em xilol, para desidratação, em seguida colocados em lamínulas de resina Entellan (MERCK, Cód. 1.07961.0100). Ainda, usou-se tecido de pulmão e de amígdalas para o controle positivo de Óxido Nítrico Sintase induzida e mieloperoxidase, respectivamente. Assim, classificou-se como ausente (0), leve (1), moderada (2) e intensa (3) a presença do Óxido Nítrico Sintase induzida (iNOS).

3.8. Análise estatística

Foram avaliadas as variáveis: peso, aderências abdominais, edema, vasoproliferação, colágeno tipo I, colágeno tipo III, mieloperoxidase e óxido nítrico. Os grupos estudo e controle foram comparados entre si, assim como cada grupo foram comparados entre os períodos de eutanásia, para cada um dos parâmetros informados pelo teste t *Student* para amostras não pareadas, para dados paramétricos, e *Mann-Whitney test* para dados não paramétricos em ambas as datas de eutanásia. Este procedimento possibilita inferir se as diferenças observadas nos valores das variáveis são consequência da variabilidade natural dos sistemas biológicos (diferença estatisticamente não significativa) ou se a intervenção realizada produziu um efeito de diferenciação entre os grupos o qual extrapola a variabilidade ao acaso dos sistemas biológicos (diferença estatisticamente significativa).

O intervalo de confiança adotado foi de 95% ($p < 0,05$), logo, ao realizarem-se os testes de comparação das variáveis, o resultado é sempre sumarizado no valor estatístico “p” (significância). O valor precisa ser menor que 0,05 para que uma diferença seja considerada

estatisticamente significativa. Os dados foram analisados no programa estatístico *GraphPad Prism*® 5.0.

4. RESULTADOS

4.1. Peso dos animais

O peso dos animais do Grupo Controle variou entre 7,4 kg a 13,30 kg naqueles submetidos à eutanásia no 7º DPO, com mediana de 10,86 kg; nos animais do mesmo Grupo submetidos à eutanásia no 21º DPO, o peso variou entre 7,90 Kg a 16,30 Kg, com mediana 11,86 Kg. No Grupo Estudo, os animais submetidos à eutanásia no 7º DPO, o peso variou entre 7,00 Kg e 14,30 Kg, apresentando mediana igual a 9,98 Kg. Nos animais desse Grupo em que se realizou a eutanásia no 21º DPO, o peso variou entre 9,00 Kg e 17,00 Kg, apresentando mediana de 11,55 Kg, não havendo diferença significativa entre o peso dos Grupos Controle e Estudo no 7º DPO (Figura 6) e no 21º DPO (Figura 7), $p = 0,4133$ e $p = 0,7176$, respectivamente.

Ao se realizar o estudo comparativo entre o peso dos animais em ambos os grupos, nas diferentes datas de eutanásia, não houve diferenças significantes, sendo utilizado o *test t Student*, $p= 0,305$ e $p=0,143$ (Figuras 8 e 9).

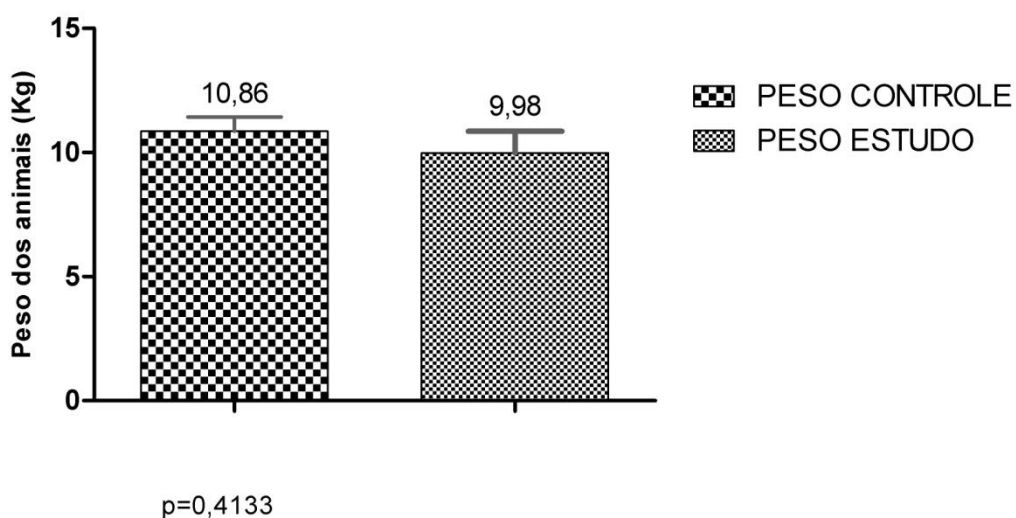


Figura 6 - Mediana do peso em Kg dos animais do Grupo Controle e do Grupo Estudo – eutanásia realizada no 7º DPO.

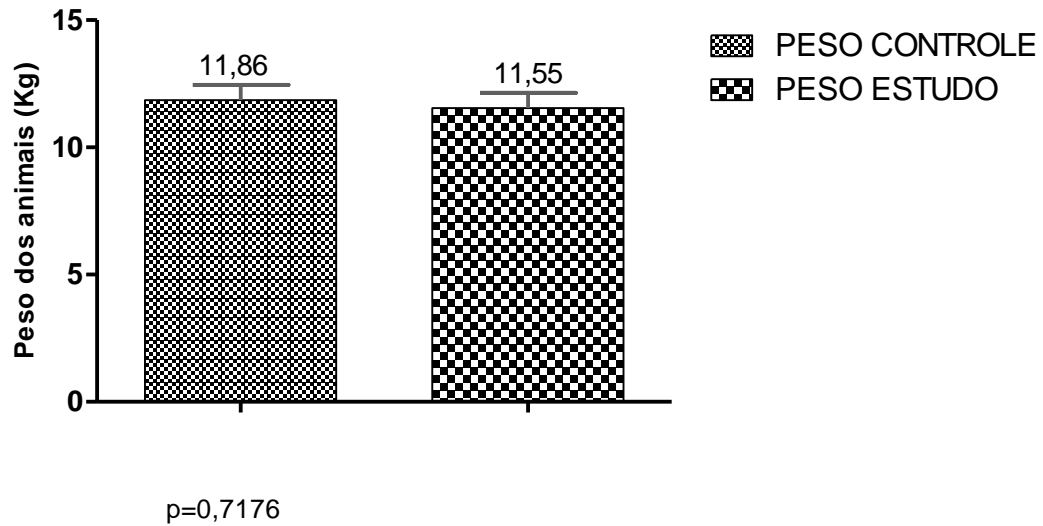


Figura 7 - Mediana do peso em Kg dos animais do Grupo Controle e do Grupo Estudo – eutanásias realizadas no 21º DPO.

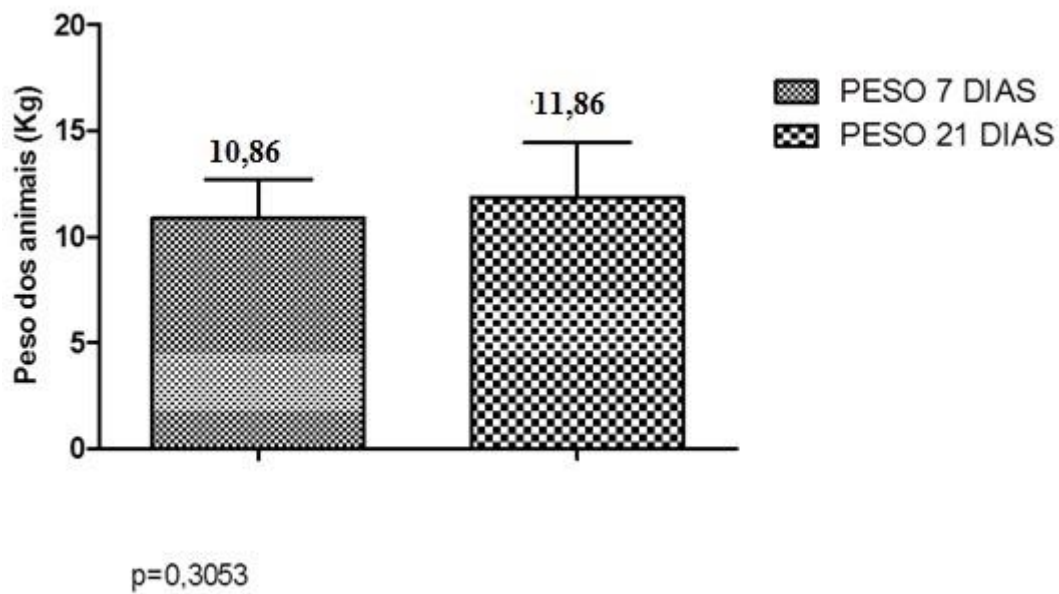


Figura 8 - Mediana do peso em Kg dos animais do Grupo Controle – eutanásias realizadas no 7º e 21º DPO, respectivamente.

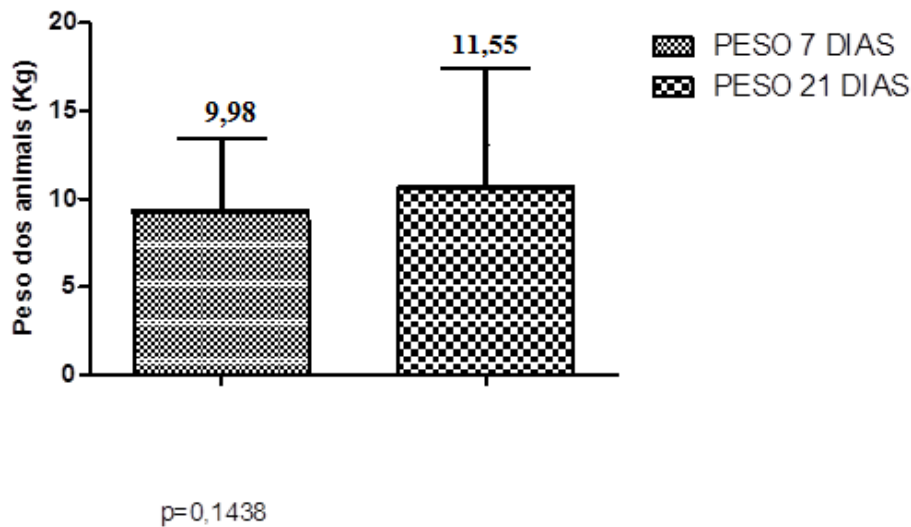


Figura 9 - Mediana do peso em Kg dos animais do Grupo Estudo – eutanásias realizadas no 7º e 21º

4.2. Evolução clínica

Todos os cães, de ambos os grupos, apresentaram evolução clínica satisfatória, deambulando precocemente e aceitando bem a dieta por via oral, porém, a dieta só foi liberada quando se observou a primeira evacuação, que ocorreu nas primeiras 24 horas de pós-operatório, em ambos os Grupos. Os animais dos referidos Grupos não apresentaram distensão abdominal, diarreia, náuseas ou vômitos, ou quaisquer outros sinais clínicos que indicassem sofrimento.

Todos os animais evoluíram satisfatoriamente, não ocorrendo nenhum óbito. Foi observado apenas um caso com deiscência da ferida operatória em um animal do grupo Estudo, sendo abordado novamente com ressutura da parede.

4.3. Avaliação das aderências

Ao se analisar o índice das aderências entre os Grupos Controle e Estudo, no 7º e no 21º DPO, utilizando-se o *Mann-Whitney test*, não houve diferença significativa, com $p = 0,7383$ e $p = 0,5685$, respectivamente (Figuras 10 e 11), porém, ao se realizar a análise nos animais dos Grupos Controle e Estudo, nas diferentes datas de pós-operatório, sétimo e

vigésimo primeiro DPO, houve diferença significativa, com $p = 0,0309$ e $p < 0,0001$ (Gráficos 12 e 13), respectivamente em ambos os grupos.

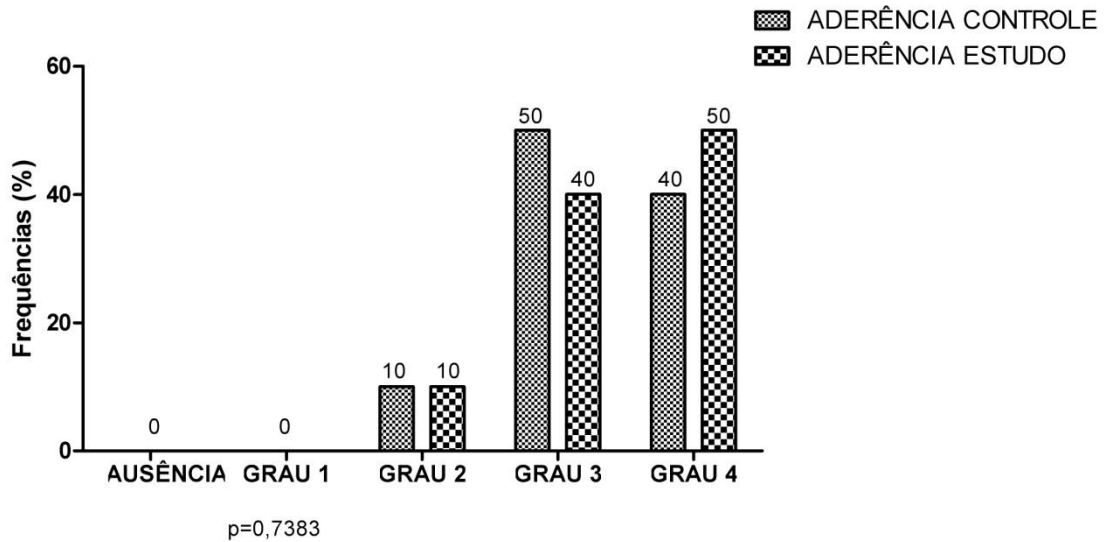


Figura 10 - Índice das aderências existentes entre os animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 7º DPO.

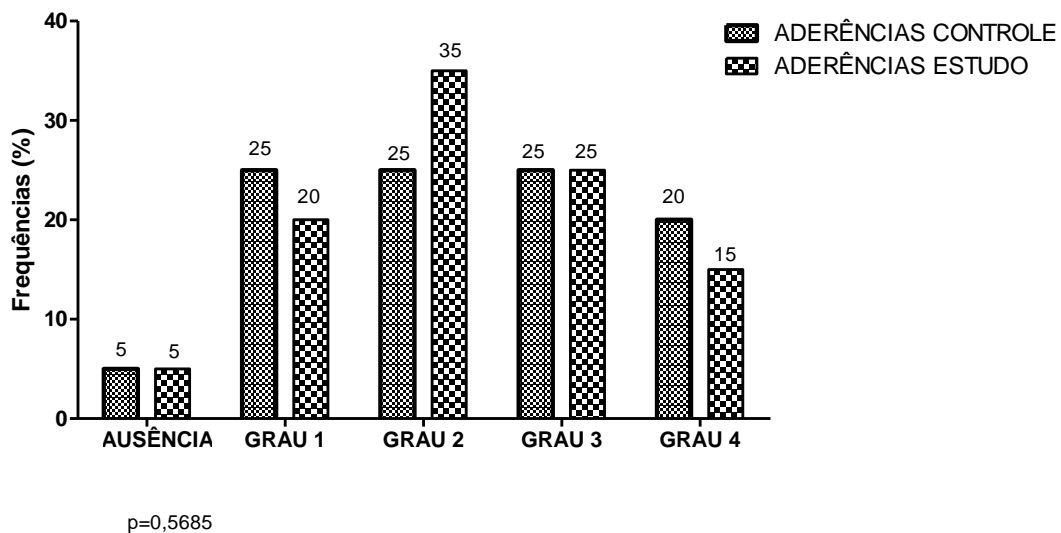
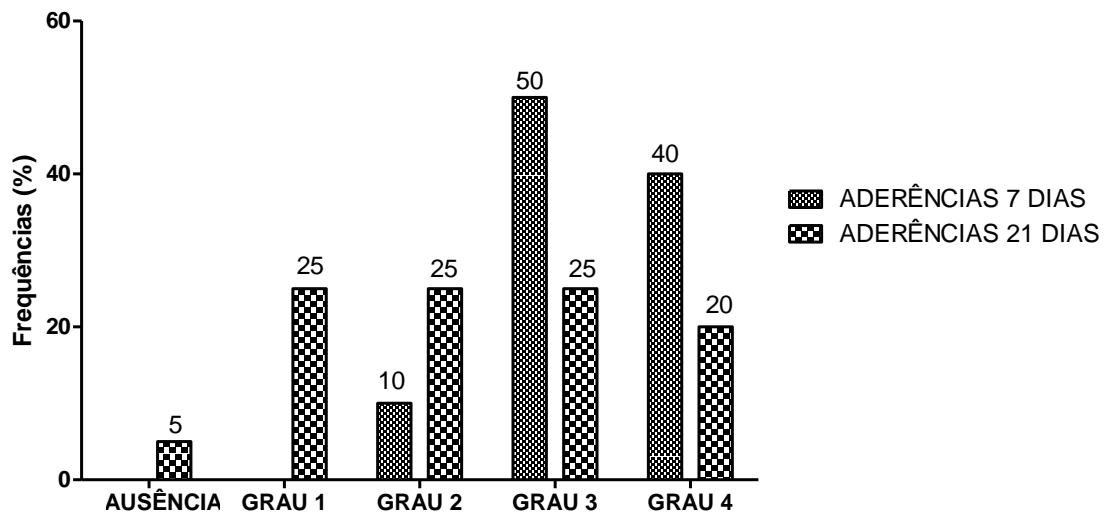
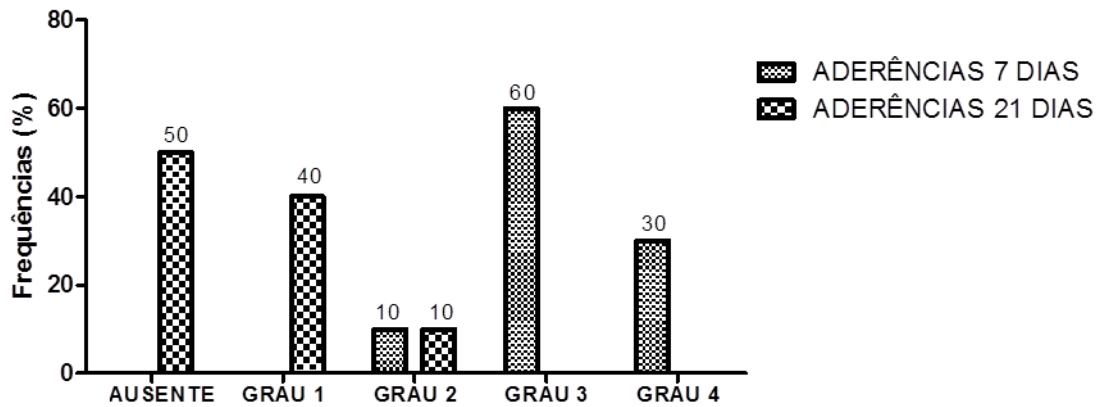


Figura 11 - Índice das aderências abdominais existentes entre os animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 21º DPO.



$p=0,0309$

Figura12 - Índice das aderências abdominais existentes entre os animais do Grupo Controle – eutanásias realizadas no 7º e 21º DPO.



$p < 0.0001$

Figura 13 - Frequência das aderências abdominais existentes entre os animais do Grupo Estudo – eutanásias realizadas no 7º e 21º DPO.



Figura 14 – Aderências tipo I
Animal 5 do grupo controle

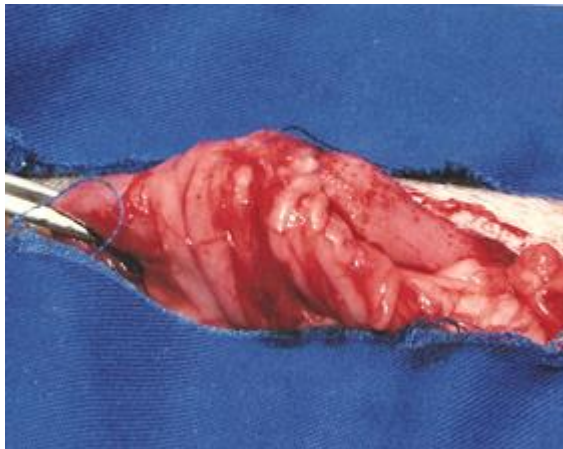


Figura 15 – Aderências Grau II
Animal 8 do grupo controle

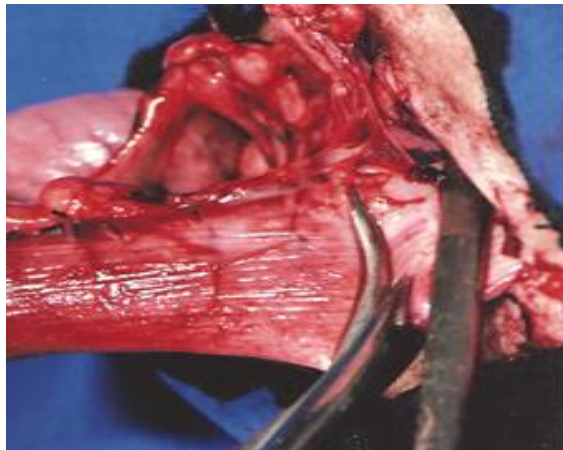


Figura 16 – Aderências Grau III
Animal 12 do grupo controle

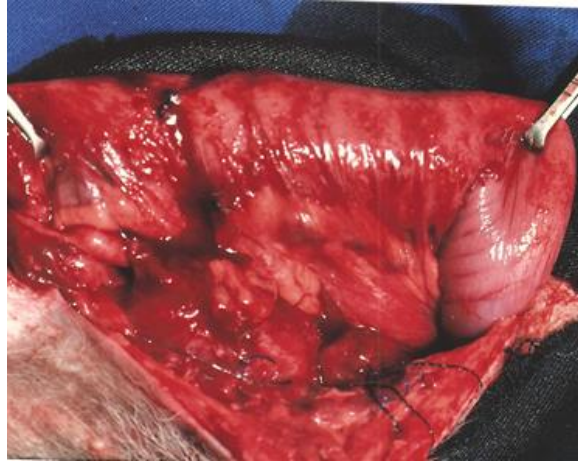


Figura 17 - Aderências Grau IV
Animal 11 do grupo controle

4.4. Edema das anastomoses

Ao se analisar a Intensidade de edema nos animais do Grupo Controle e Estudo, no 7° e 21° DPO, utilizando-se o *Mann-Whitney test*, não houve diferenças significantes entre eles, que apresentaram $p = 0,3006$ e $p = 0,7990$, respectivamente (Figuras 18 e 19). Houve uma diferença estatisticamente significativa quando se comparou o edema entre o 7° e 21° DPO, entre os animais do mesmo grupo, observando-se maior edema nas anastomoses dos animais do 7° DPO, com $p = 0,0468$ (Figura 20), assim como no grupo Estudo $p=0,010$ (Figura 21).

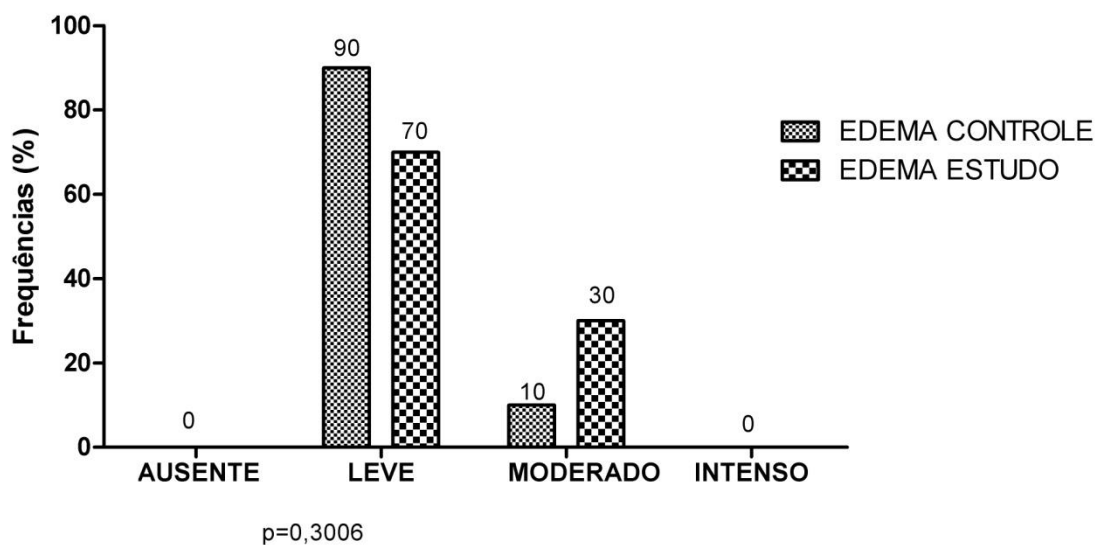


Figura 18 - Intensidade do edema nas anastomoses colo-cólicas entre os animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 7° DPO.

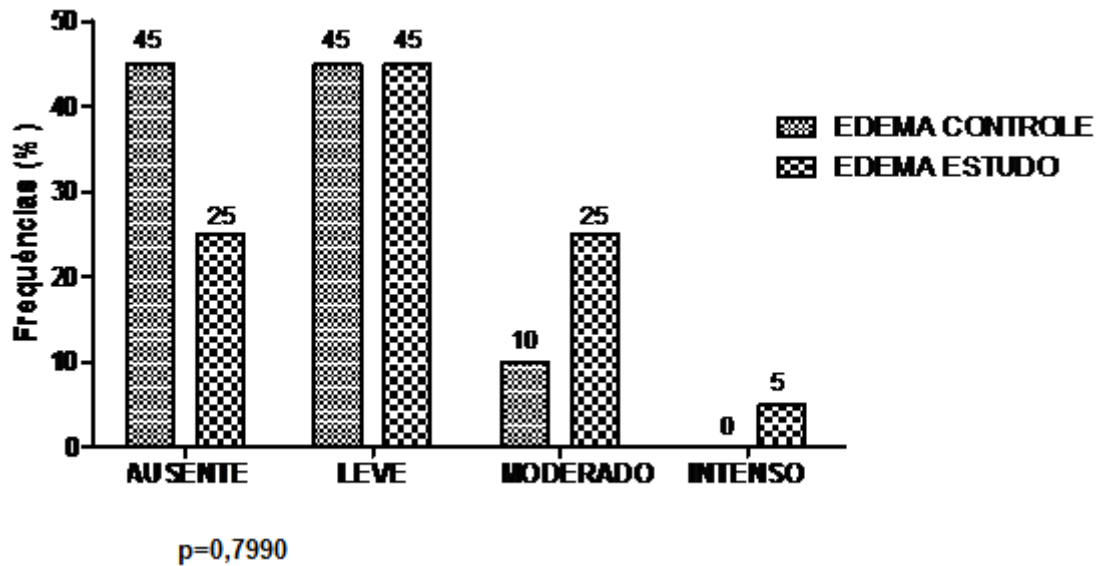


Figura 19 - Intensidade do edema nas anastomoses colo-cólicas entre os animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 21º DPO.

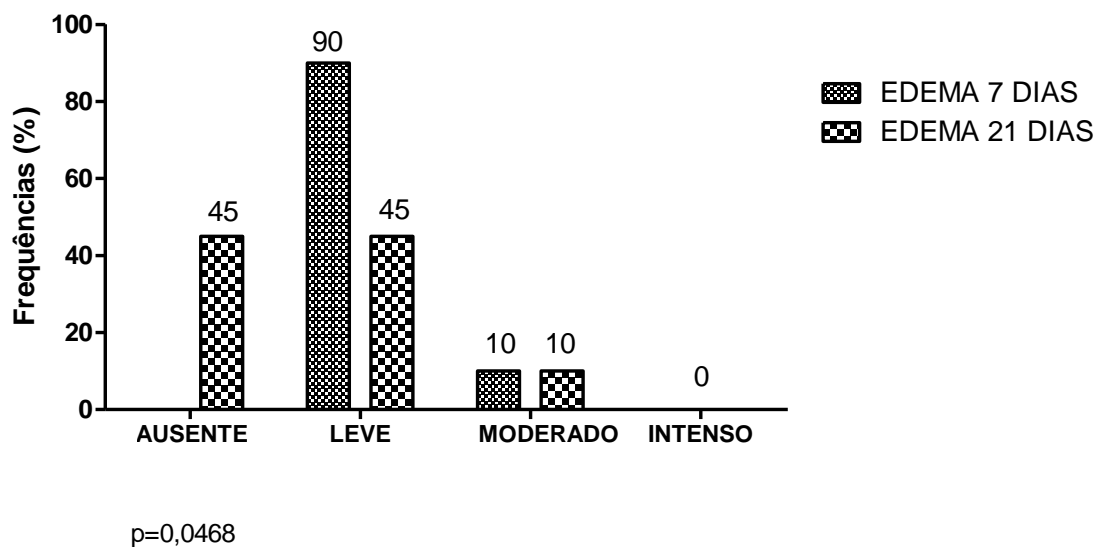


Figura 20 – Intensidade do edema nas anastomoses colo-cólicas entre os animais do grupo Controle – eutanásias realizadas no 7º e 21º DPO.

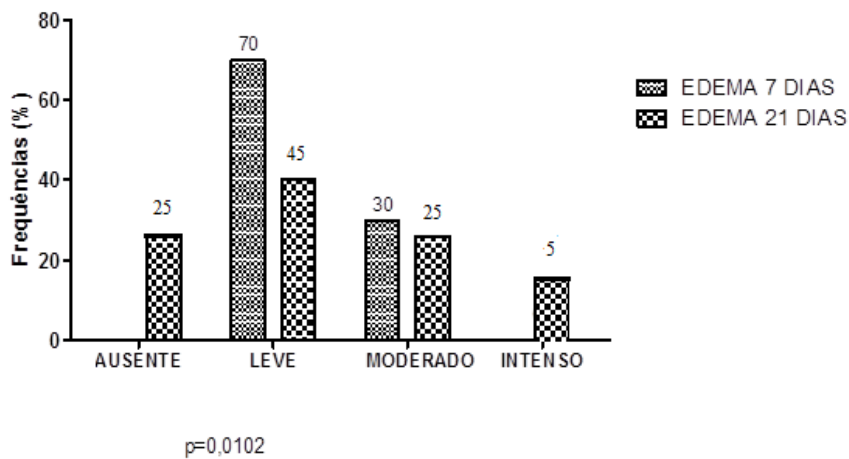


Figura 21 - Intensidade do edema nas anastomoses colo-cólicas entre os animais do Grupo Estudo – eutanásias realizadas no 7º e 21º DPO.

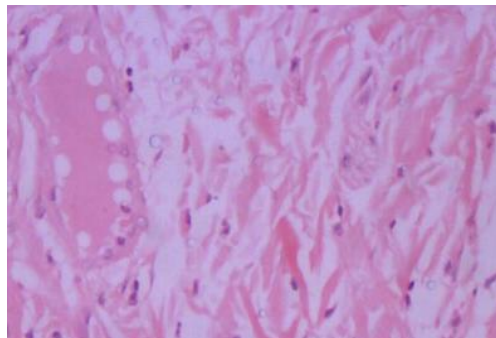
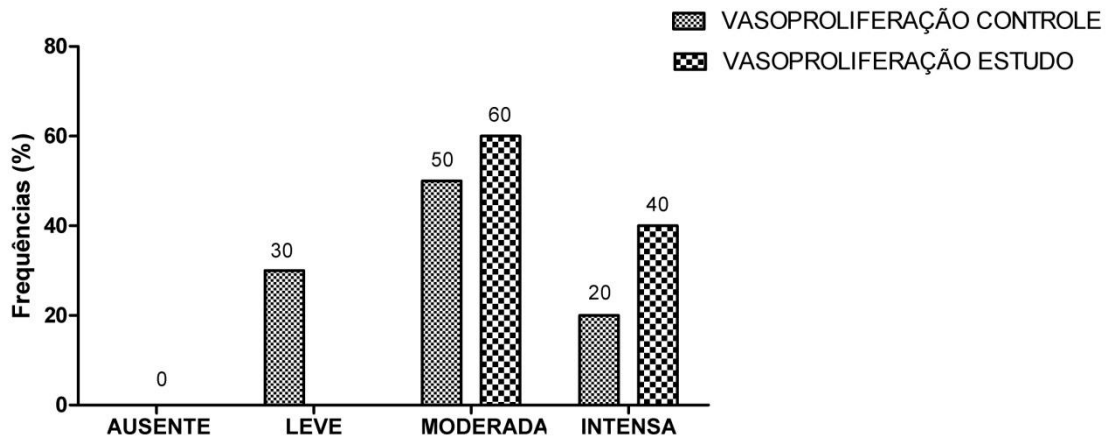


Figura 22 - Edema moderado no animal nº 5 do Grupo Estudo

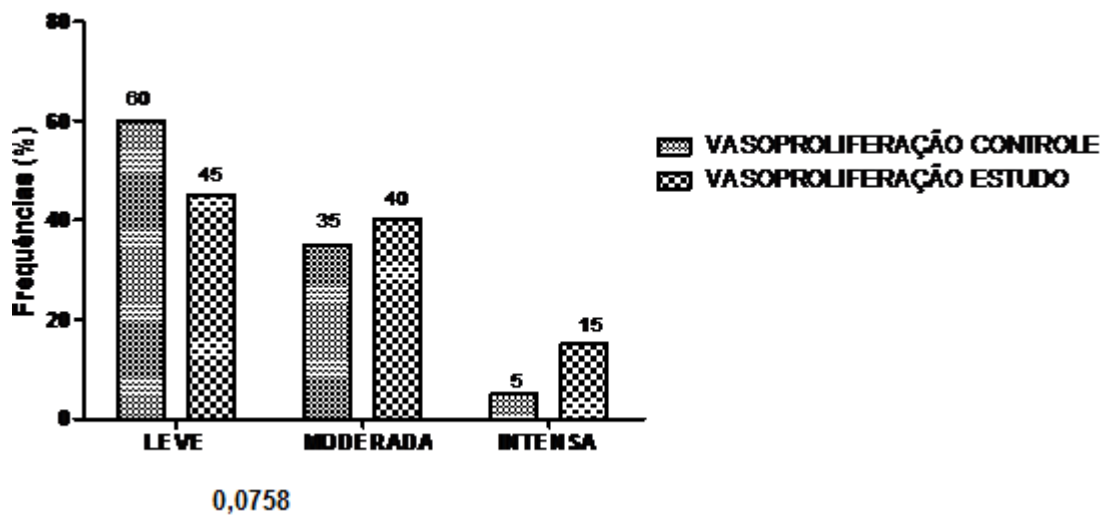
4.5. Vasoproliferação

Nos animais dos Grupos Controle e Estudo, utilizando-se o *Mann-Whitney test*, não houve diferenças significantes entre a vasoproliferação quando a eutanásia foi realizada no 7º e 21º dia, com $p = 0,119$ e $p = 0,075$, respectivamente (Figuras 23 e 24), não havendo diferença significante ao se comparar os grupos controle nas datas de eutanásia no 7º e 21º, com $p=0,234$ (Figura 25). Houve diferença estatística no grupo Estudo $p=0,016$ (Figura 26).



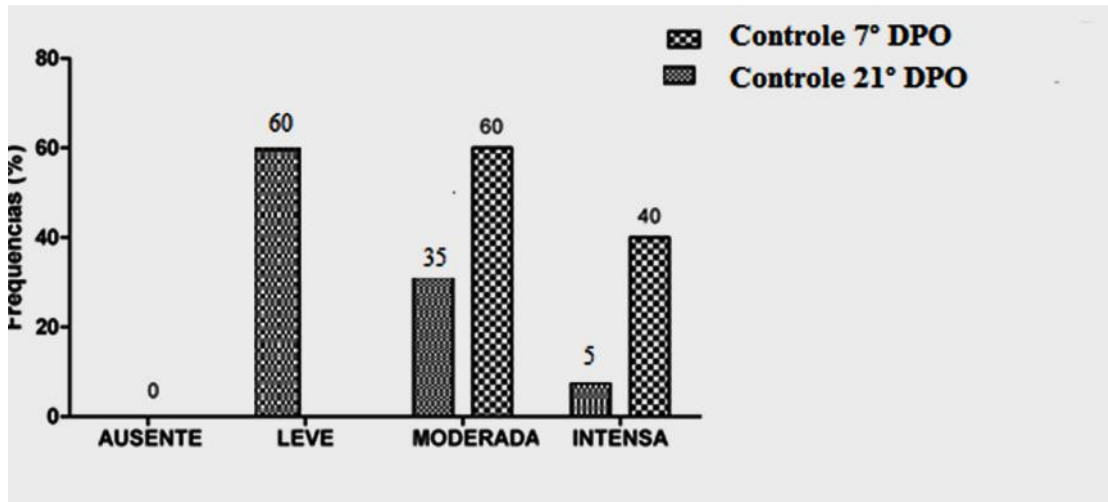
$p=0,1191$

Figura 23 - Frequência da vasoproliferação nas anastomoses colo-cólicas entre os animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 7º DPO.



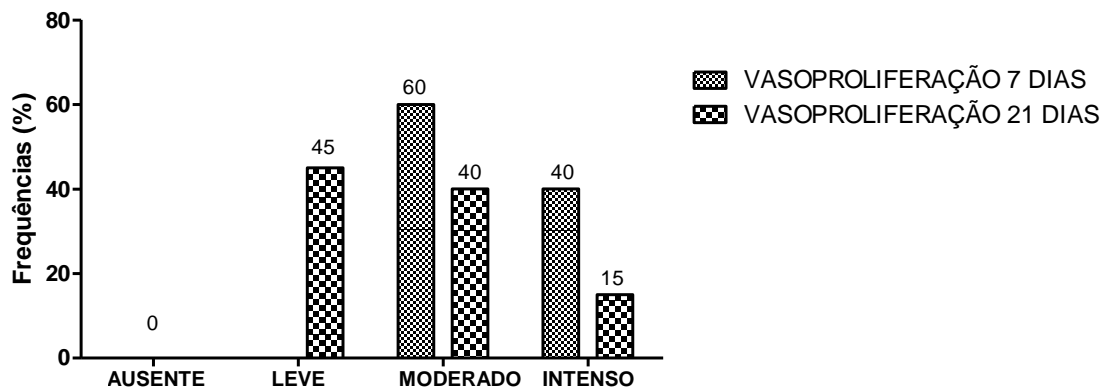
$0,0758$

Figura 24 - Frequência da vasoproliferação nas anastomoses entre os animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 21º DPO.



P=0,234

Figura 25 - Frequência da vasoproliferação nas anastomoses entre os animais do Grupo Controle – eutanásias realizadas no 7° e 21° DPO.



p=0,0161

Figura 26 - Frequência da vasoproliferação nas anastomoses entre os animais do Grupo Estudo – eutanásias realizadas no 7° e 21° DPO.

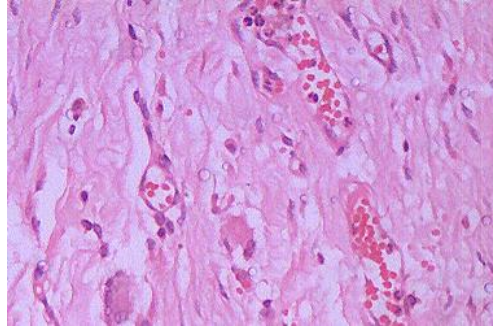


Figura 27 - .Vasoproliferação Intensa.
Animal 4 do grupo estudo.

4.6. Colágeno tipo I

Em relação aos animais do Grupo Controle e Estudo avaliados em relação ao colágeno I, no 7° e 21° DPO, não se observou diferença estatística, utilizando-se o *test t Student*, apresentando $p = 0,4591$ e $p = 0,3357$ (Figuras 28 e 29), respectivamente. Contudo quando se comparou os animais do grupo controle e estudo em datas diferentes de Eutanásia não houve diferença estatística significativa com um $p= 0,335$ e $p=0,198$, respectivamente (Figuras 30 e 31).

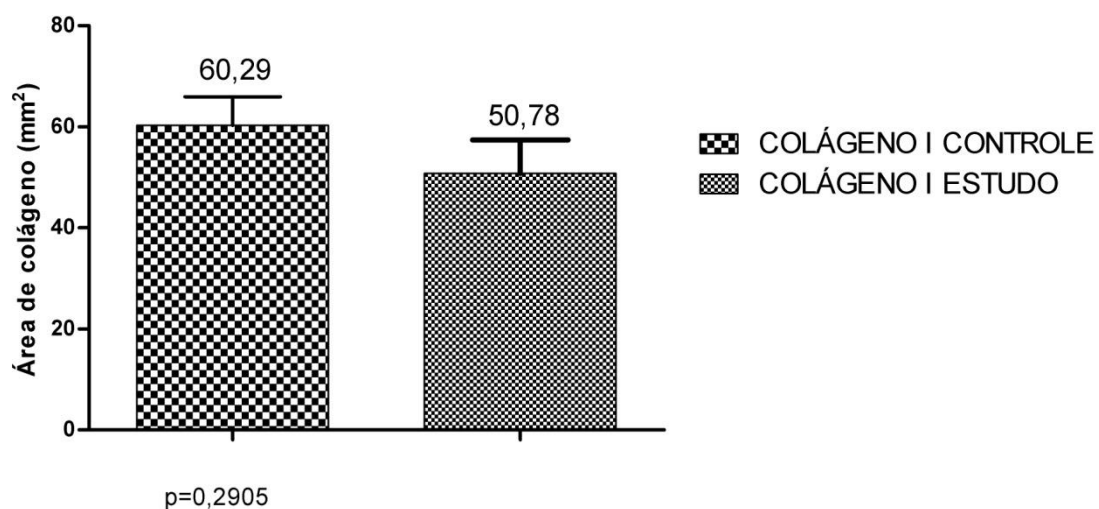


Figura 28 - Níveis de colágeno tipo I encontrados na área anastomótica dos animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 7° DPO.

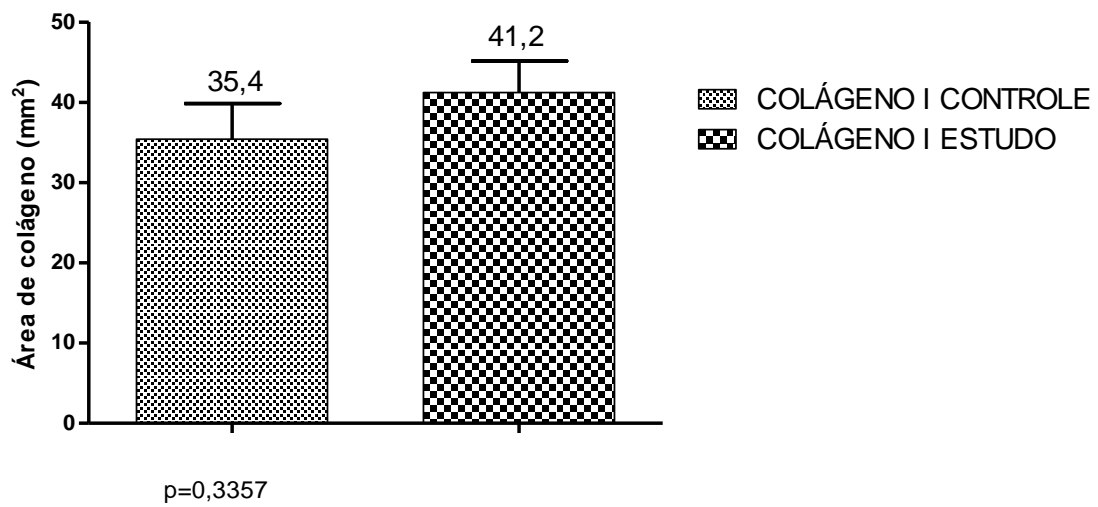


Figura 29 - Níveis de colágeno tipo I encontrados na área anastomótica dos animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 21º DPO.

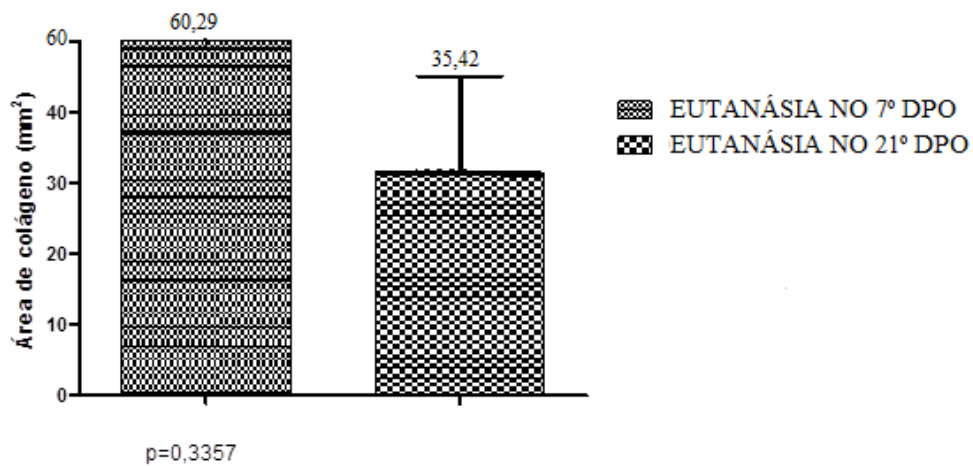


Figura 30 - Níveis de colágeno tipo I encontrados na área anastomótica nos animais do Grupo Controle – eutanásias realizadas no 7º e 21º DPO.

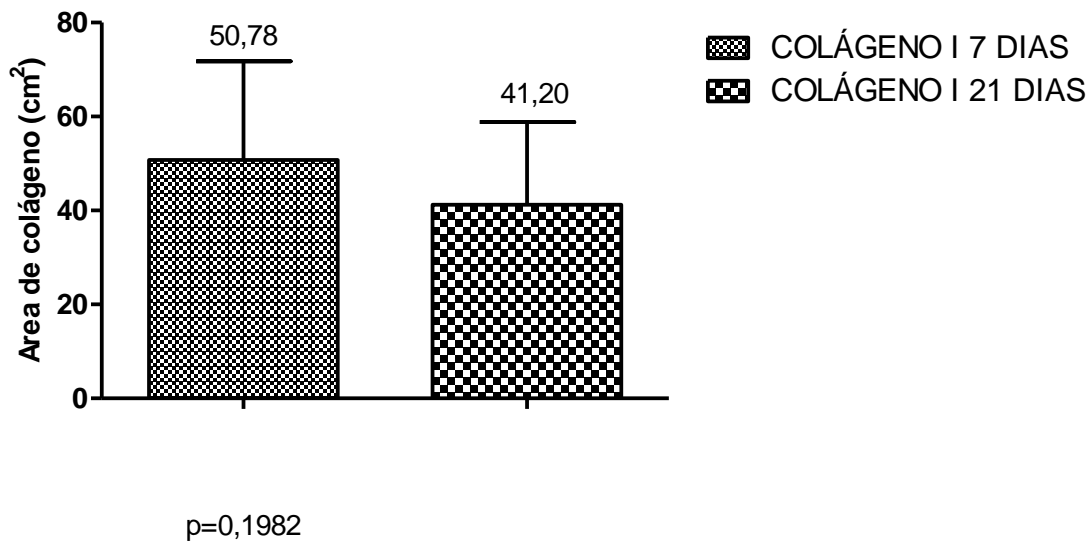


Figura 31 - Níveis de colágeno tipo I encontrados na área anastomótica nos animais do Grupo Estudo – eutanásias realizadas no 7º e 21º DPO.

4.7. Colágeno tipo III

Comparando-se os animais dos Grupos Controle e Estudo, utilizando-se o *test t Student*, em relação ao Colágeno tipo III, nos dias 7º e 21º de pós-operatório, não se evidenciou diferença estatística significativa, com $p = 0,2166$ e $p = 0,2712$, respectivamente (Figuras 32 e 33). Avaliando-se o colágeno do grupo controle no 7º e 21º DPO, não se evidenciou diferença estatística significativa com $p=0,216$, porém no grupo estudo ocorre diferença estatística significativa com predomínio do colágeno III no 7º DPO com um $p=0,003$, (Figuras 34 e 35).

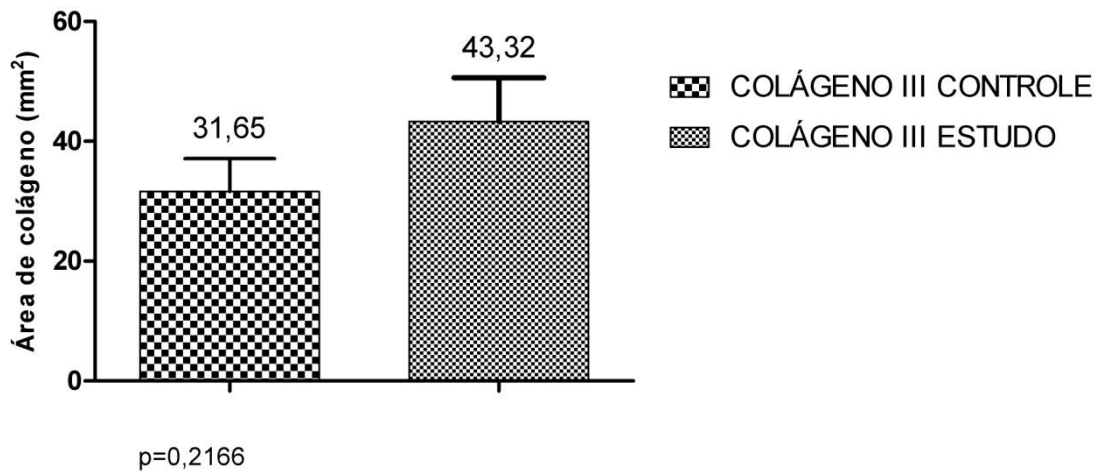


Figura 32 - Níveis de colágeno tipo III encontrados na área de anastomose nos animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 7º DPO.

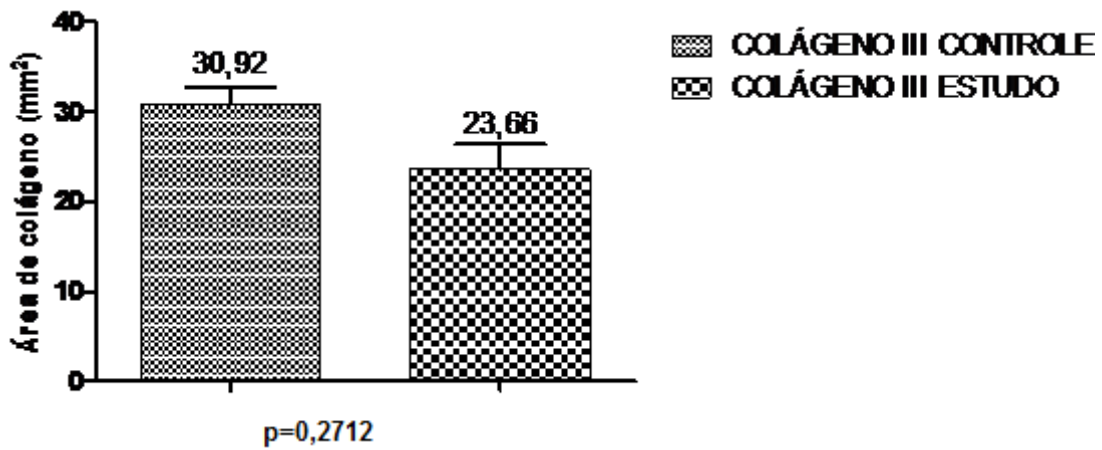


Figura 33 - Níveis de colágeno tipo III encontrados na área de anastomose nos animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 21º DPO.

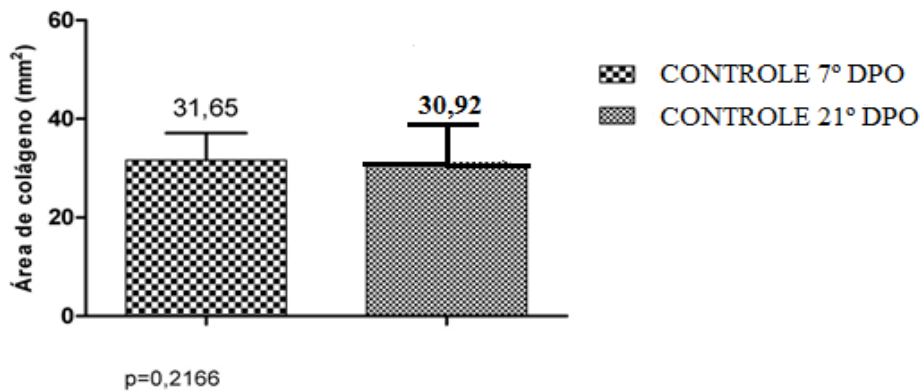


Figura 34 - Níveis de colágeno tipo III encontrados na área de anastomose nos animais do Grupo Controle – eutanásias realizadas no 7° e 21° DPO.

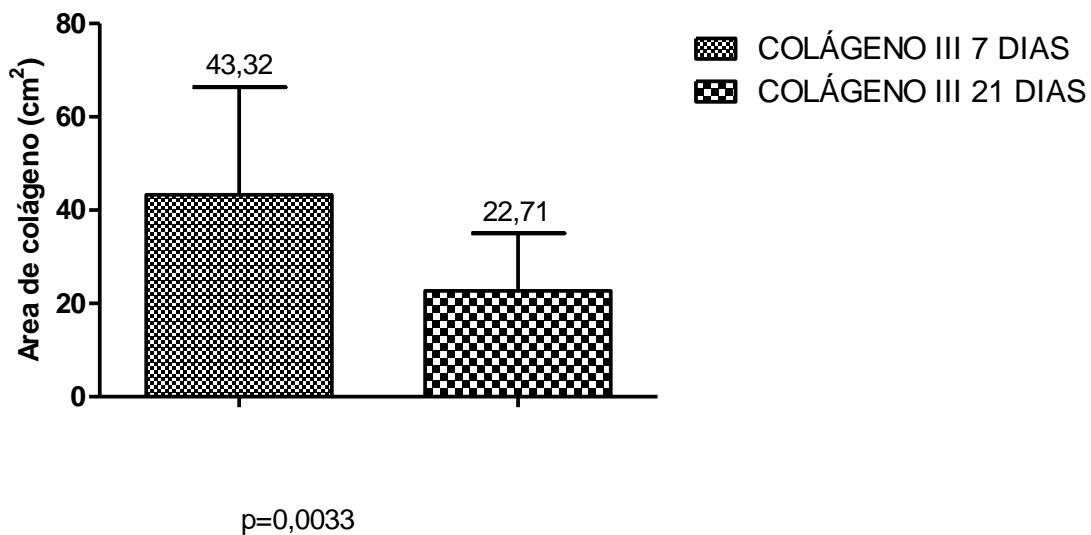


Figura 35 - Níveis de colágeno tipo III encontrados na área de anastomose nos animais do Grupo Estudo – eutanásias realizadas no 7° e 21° DPO.

4.8. Óxido nítrico

Observou-se a presença de Óxido Nítrico nas anastomoses de ambos os Grupos, no 7° e 21° DPO, sendo qualificados em ausente, leve, moderado e intenso. Não houve diferença significativa entre o iNOS, utilizando o *Mann-Whitney test* nos Grupos Controle e Estudo, no 7° e 21° DPO, com $p = 0,3980$ e $p = 0,4796$, respectivamente (Figuras 36 e 37). Comparando-se o óxido nítrico no grupo controle nos dia 7 e 21° de eutanásia, não houve diferença estatística

significante $p=0,479$ (Figura 38). Porém ocorre diferença significativa no grupo estudo entre o 7° e 21° DPO, $P=0,008$ (Figura 39).

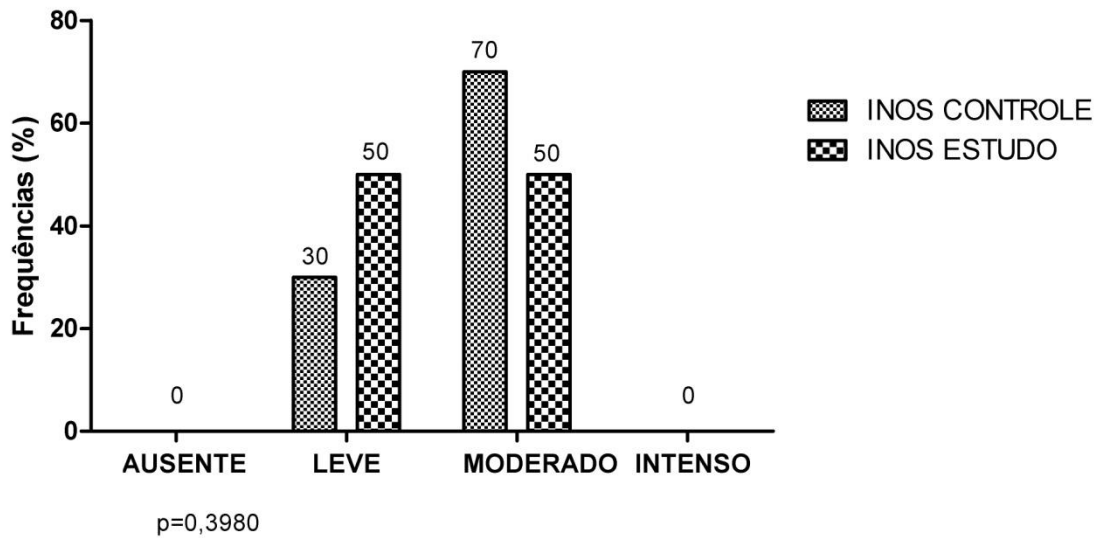


Figura 36 - Distribuição da Frequência dos animais nos Grupos Controle e Estudo, na área anastomótica colo-cólica em relação ao iNOS – eutanásia realizada no 7° DPO.

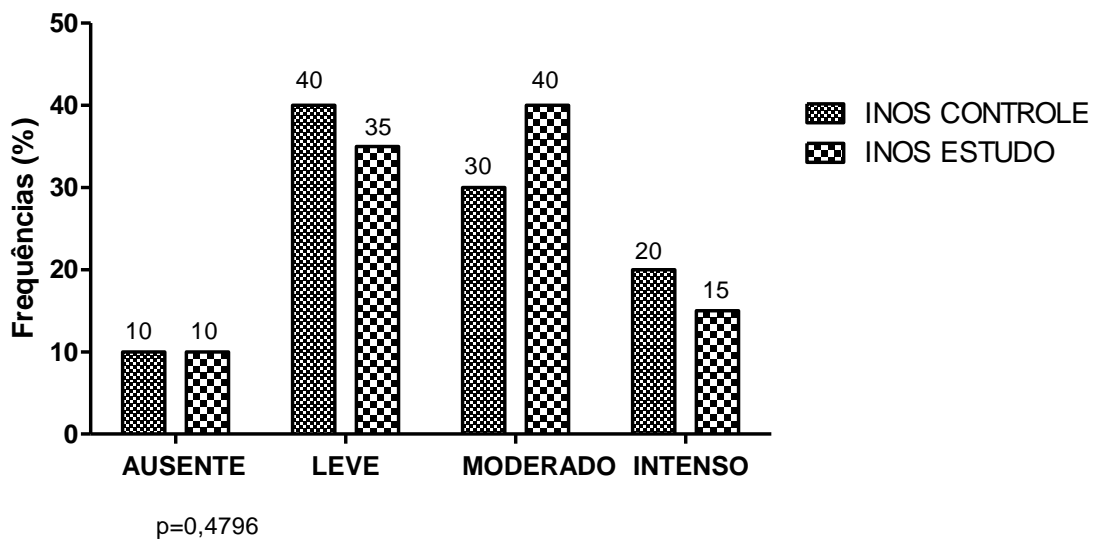


Figura 37 - Distribuição da Frequência nos animais dos Grupos Controle e Estudo, na área da anastomose colo-cólica em relação ao iNOS – eutanásia realizada no 21° DPO.

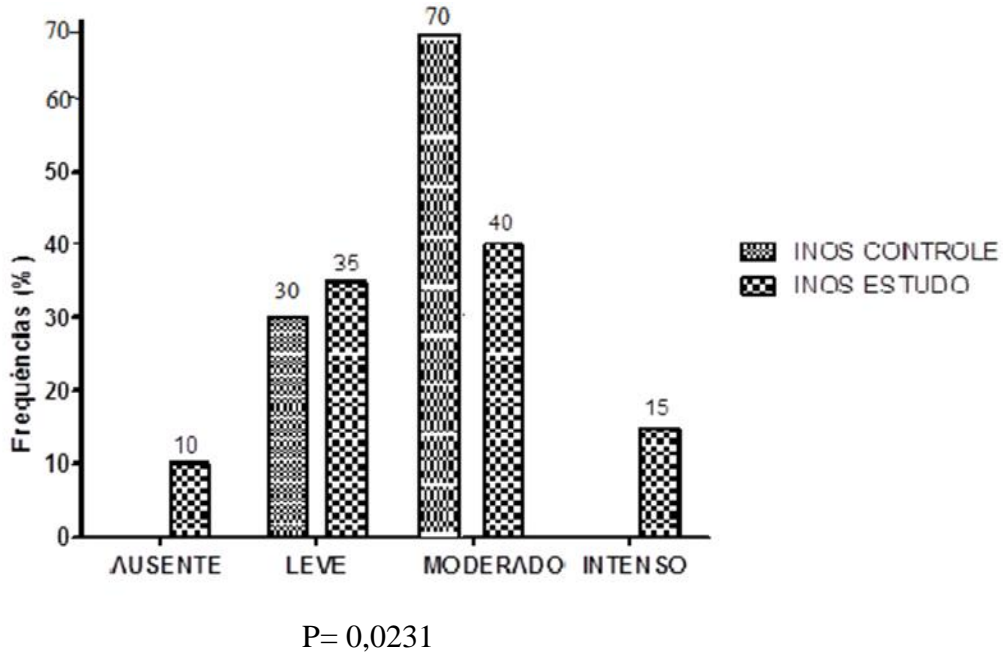


Figura 38 - Distribuição da Frequência nos animais do Grupo Controle, na área da anastomose colóica em relação ao iNOS – eutanásias realizadas no 7° e 21° DPO.

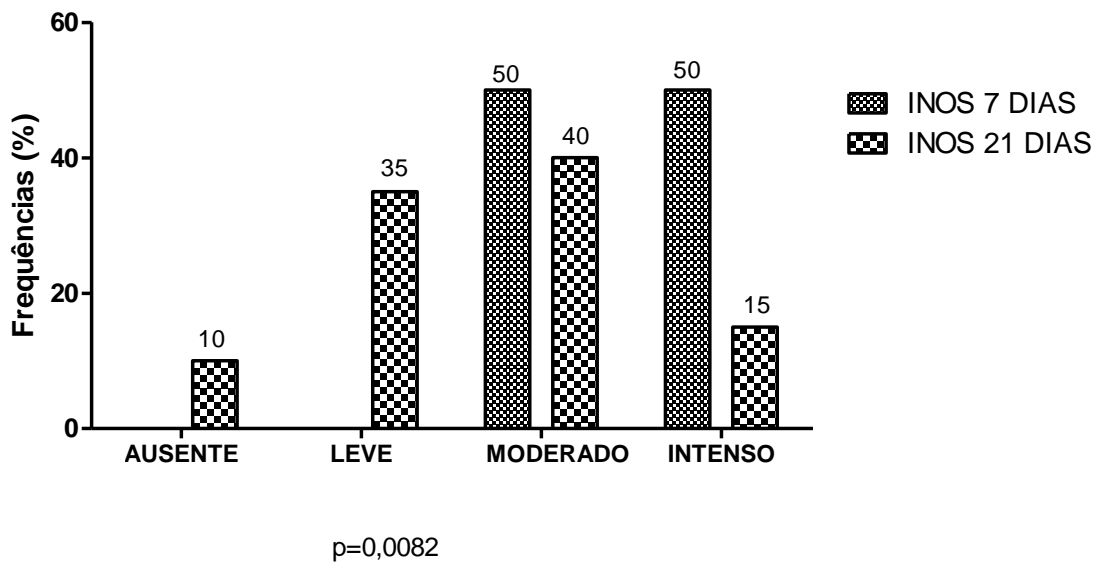


Figura 39 - Distribuição da Frequência nos animais do Grupo Estudo, na área da anastomose colóica em relação ao iNOS – eutanásias realizadas no 7° e 21° DPO.

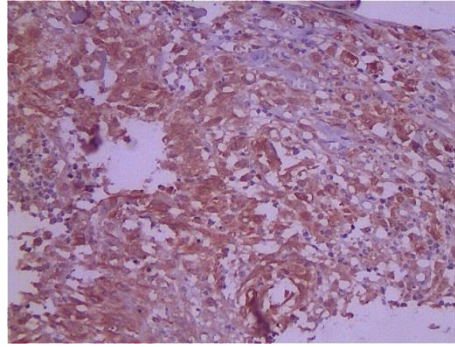


Figura 40 - iNOS, Intensa atividade, animal 20 do Grupo Estudo.

4.9. Mieloperoxidase

Nos animais dos Grupos Controle e Estudo, nos 7° e 21° DPO, não se evidenciou diferença significativa da mieloperoxidase existente na anastomose cólica, utilizando-se o *test t Student*, com $p = 0,580$ e $p = 0,755$, respectivamente (Figuras 41 e 42). Porém comparando a mieloperoxidase nos animais eutanasiados, de ambos os grupos, houve diferença estatística significativa com um $p < 0,001$ em ambos (Figuras 43 e 44)

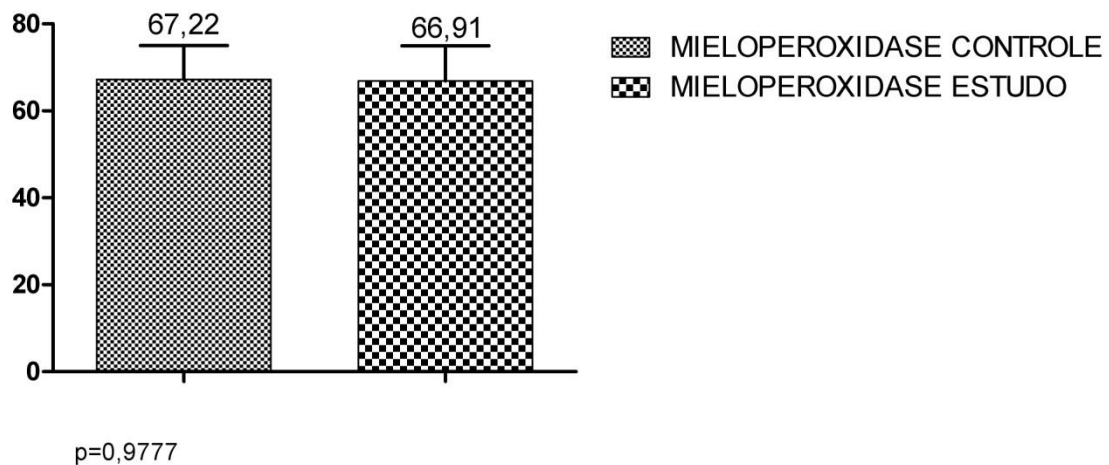


Figura 41 - Níveis de atividade de mieloperoxidase nas anastomoses dos animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 7° DPO.

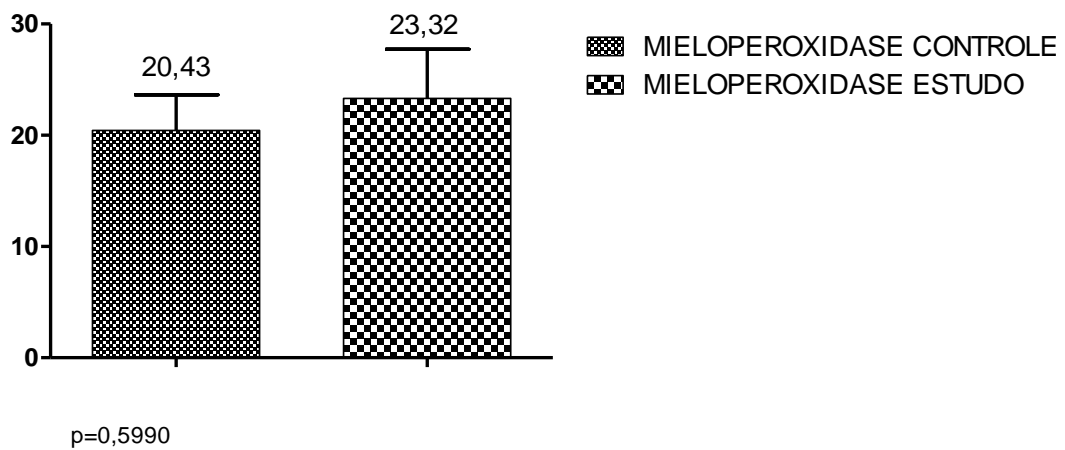


Figura 42 - Níveis de atividade de mieloperoxidase na anastomose dos animais dos Grupos Controle e Estudo – eutanásia realizada no 21º DPO.

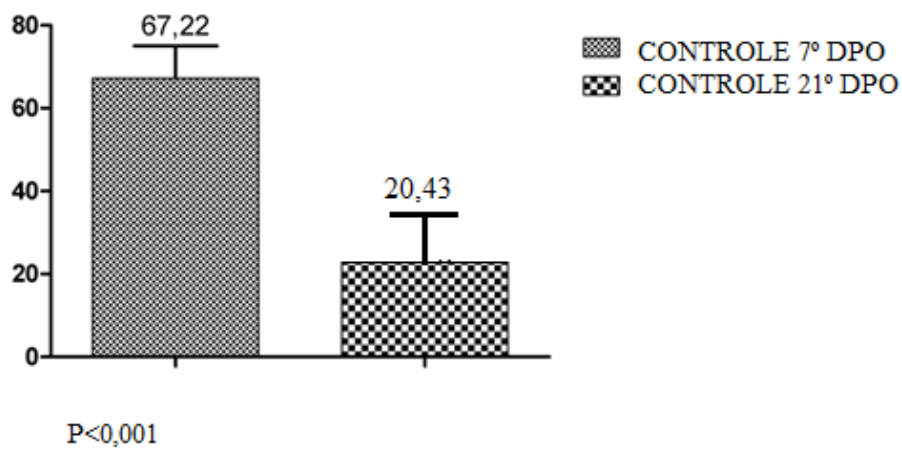
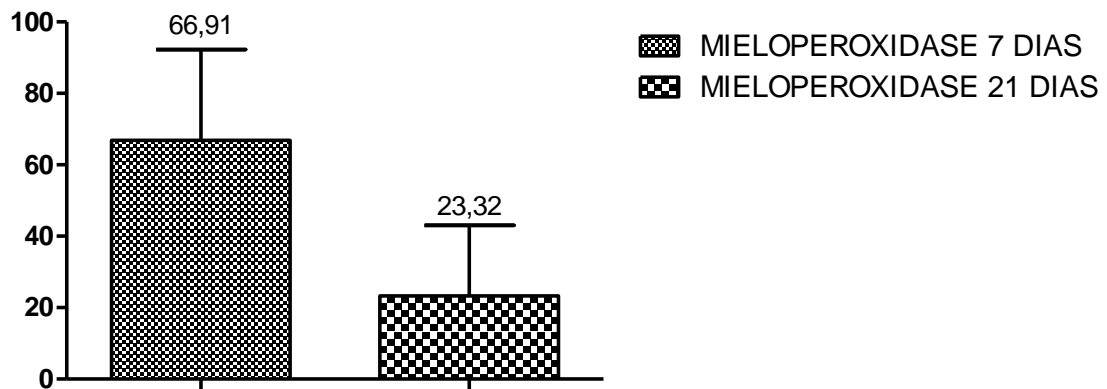


Figura 43 – Níveis de atividade de mieloperoxidase na anastomose dos animais do Grupo Controle – eutanásia realizada no 7º e 21º DPO.



$p < 0.0001$

Figura 44 - Níveis de atividade de mieloperoxidase na anastomose dos animais do Grupo Estudo – eutanásia realizada no 7º e 21º DPO.

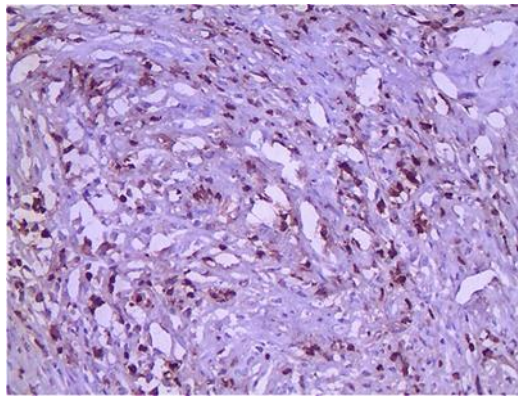


Figura 45 - Mieloperoxidase intensa animal nº 10 do Grupo Controle.
Fonte: Elaborado pelo autor (2015).

5. DISCUSSÃO

Tendo em vista a semelhança do cólon dos cães com o dos humanos. Utilizaram-se esses animais para realizar o procedimento experimental da cicatrização da anastomose por invaginação colo-cólica. Desenvolvendo-se nova técnica cirúrgica. Nesse sentido, as similaridades se referem à anatomia pélvica (REGADAS et al., 2005), que apresenta, proporcionalmente o mesmo tamanho, permitindo facilidade de manuseio; às alças intestinais (dimensões da parede das alças e do epíplon); à microflora intestinal; ao suprimento sanguíneo, e às relações anatômicas do cólon descendente, que igualmente são semelhantes em cães e humanos (O'DWEYR et al., 1989).

Os animais apresentaram pequena variação com relação ao peso entre os Grupos Controle e Estudo, porém, sem diferença estatística significativa ($p>0,05$).

Há muita discussão sobre como realizar uma anastomose colo-cólica, existindo várias maneiras: em plano único ou em dois planos, por sutura contínua ou com pontos separados, e ainda, qual o melhor fio a ser utilizado. Neste trabalho, fez-se uso da técnica de intursepção, que consiste na anastomose por invaginação colo-cólica submucosa-mucosa do segmento proximal em sero-muscular distal de cães, desenvolvida por LUCHESI, 1987.

Neste estudo, optou-se por uma sutura tipo contínua, em plano único e extra-mucoso para a confecção da anastomose cólica, em todos os animais do Grupo I (Controle). Este método é simples, rápido e econômico, por promover impermeabilidade e pouca reação inflamatória tecidual, sendo tão seguro quanto a sutura com pontos separados (REGADAS et al., 1990; FIGUEIREDO, 2007).

Nos animais do Grupo II (Estudo), foi confeccionada a anastomose com invaginação de aproximadamente 3 cm de segmento proximal sem o respectivo mesocólon, porém preservando os vasos marginais, no lúmen do coto distal e fixados com 4 pontos cardinais com fio de polipropileno 3.0, com agulha gastro-intestinal, que abrangia todas as camadas das paredes de ambas as alças. Optou-se por esse sentido da invaginação para obedecer à direção do peristaltismo cólico e diminuir a possibilidade de extravasamento, já que o segmento invaginado pode servir como uma proteção.

Os fios monofilamentares são preferíveis aos multifilamentares, pois esses últimos podem favorecer o surgimento de infecções pelo crescimento de bactérias entre seus filamentos, acentuando a reação inflamatória (TORRES NETO et al., 2007). O fio escolhido

foi o polipropileno, pela menor reação inflamatória local desencadeada por esse composto (REGADAS et al.1990; BEZERRA et al. 2014), pois além de ser um fio monofilamentar, diminui a possibilidade de adesão bacteriana, reduzindo, assim, o índice de infecção na zona anastomótica.

O período de estudo da cicatrização das anastomoses no 7º e 21º dia do pós-operatório justificou-se devido à diferença dos níveis de colágeno, início do processo inflamatório e final do período cicatricial, respectivamente (MUNIREDDY, KAVALUKAS & BARBUL, 2010). Para avaliação do processo de cicatrização e demais processos inflamatórios que ocorrem na cicatrização dos tipos de anastomoses (Grupos Controle e Estudo), utilizaram-se os seguintes parâmetros para a execução do estudo: edema no local da anastomose, vasoproliferação, aderências abdominais, colágeno tipo I e tipo III, mieloperoxidase, óxido nítrico sintase induzida, todos envolvidos nos processos inflamatórios, cicatriciais iniciais e finais da anastomose cólica (HESP et al., 1984; JONSSON, JIBORN & ZEDERFELDT, 1985; RAVO et al., 1988).

O primeiro parâmetro inflamatório analisado foi o edema anastomótico. Ao se avaliar a distribuição da frequência do edema nas anastomoses dos dois grupos (Controle e Estudo), verificou-se não haver diferença estatística significativa entre os animais dos dois grupos, nos quais se realizou eutanásia no 7º e 21º DPO. Dessa forma, observou-se que o grau do edema determinado nos animais do grupo Estudo é equivalente àqueles dos animais do grupo Controle, e que a inflamação medida por este parâmetro foi igual quando se compararam as duas técnicas de anastomose. A maior parte dos animais de ambos os Grupos apresentou-se com edema ausente ou leve no 7º DPO, porém, no 21º DPO ficou menos evidente, conforme De Goes et al. (2005), que demonstraram a presença mais efetiva do edema até o 14º DPO (PRIOLLI et al., 2003).

O segundo parâmetro inflamatório avaliado foi a vasoproliferação. Quando se compararam os dois grupos, Controle e Estudo, tanto no 7º e 21º DPO, não houve diferenças significantes em ambas as datas, porém ocorre diferença estatística significativa entre os animais em datas diferentes de eutanásia. Segundo Medeiros et al. (2004), quanto maior a vascularização, maior a viabilidade das anastomoses. Logo, pode-se deduzir que o processo de vascularização na cicatrização da técnica de invaginação não foi comprometido quando comparado com a sutura contínua em conformidade com BEZERRA et al. 2014.

A intensidade das aderências é medida indireta da presença de complicações anastomóticas e, por consequência, também medida indireta na cicatrização das anastomoses.

O grau de aderências é diretamente proporcional aos processos inflamatórios no local das anastomoses, pois, quanto maior a inflamação na serosa intestinal, maior será a “migração” e adesão de epíplon e de estruturas vizinhas da zona anastomótica, na tentativa de promover uma barreira física a este processo inflamatório que se instalou. No presente estudo, foi utilizado o parâmetro índice de aderências de Knighthly (KNIGHTLY et al., 1962). Os valores, nesse caso. Não foi observada diferença estatisticamente significativa no que se refere à formação de aderências quando se compararam as duas técnicas de anastomose entre os grupos nas diferentes datas de eutanásia. Este achado define que o grau de aderência dos animais do Grupo Estudo é equivalente àquele dos animais do Grupo Controle e que este parâmetro não sofreu intensificação em função das diferentes técnicas. Esse dado corrobora o que já era afirmado por Moore et al. (1953), onde se acreditava que a anastomose com invaginação do coto proximal no lúmen do coto distal não alteraria a contaminação do peritônio e dos tecidos perianastomóticos. Adicionalmente, se observou redução gradativa nas aderências comparando-se os animais no 7º e 14º DPO.

Foi avaliada como parâmetro direto a intensidade dada cicatrização a quantificação do colágeno tipo I e tipo III. Quando se comparou a quantidade de colágeno tipo I e tipo III no sítio da anastomose, em ambos os grupos, não foi observada diferença estatística entre as duas técnicas estudadas tanto no 7º quanto no 21º DPO. Através desse dado, pode-se inferir que a deposição de colágeno na técnica por invaginação mostrou-se tão igual quanto a técnica de sutura contínua (BEZERRA et al., 2014),

Na análise imuno-histoquímica foram utilizados dois marcadores, o Óxido nítrico e a mieloperoxidase. O Óxido Nítrico Sintase Induzida (iNOS), identificado através de imuno-histoquímica, pode ser encontrado elevado no interior dos macrófagos até por 1 mês após o procedimento cirúrgico inicial, como demonstrado por Puttini (2006). O óxido nítrico pode ser observado nas células endoteliais, em anastomoses, mesmo sem a presença de macrófagos (EINSERICH et al., 2002). Ao quantificar o marcador inflamatório Óxido Nítrico nos animais dos Grupos Controle e Estudo, não foi observada diferença estatística significativa entre os grupos no período avaliado, demonstrando assim que a técnica de invaginação intestinal não provocou reação inflamatória em maior grau quando comparada à técnica de sutura contínua, demonstrado pelos resultados dos grupos no 7º e 21º DPO (BEZERRA et al., 2014).

A mieloperoxidase é também um marcador detectado por técnicas de imuno-histoquímica. Essa enzima apresenta níveis mais elevados nos períodos iniciais das reações inflamatórias e cicatriciais, especialmente quando em contato com agentes que causem

processo inflamatório, tais como bactérias, contaminação fecal nos cólons sem preparo e excesso de fios na anastomose (KRAWISZ, SHARON & STENSON, 1984; HÖGSTRÖM, HAGLUND & ZEDERFELDT, 1990; EINSERICH et al., 2002). Quando se compararam os dois grupos, Controle e Estudo, não foi constatada diferença estatisticamente significativa na quantificação desse marcador inflamatório, demonstrando mais uma vez um processo inflamatório similar entre as duas técnicas de anastomose intestinal, havendo diferença estatística significativa no grupo estudo, porém havendo no grupo controle.

A realização de uma anastomose por invaginação intestinal com apenas alguns pontos separados pode parecer algo desafiador para os coloproctologistas e cirurgiões. Mesmo com estudos experimentais em modelos animais demonstrando claramente que é seguro realizar esse tipo de sutura, e que essa técnica apresenta resposta cicatricial e inflamatória semelhante à sutura contínua, ainda serão necessários mais estudos comprovando tal eficácia e resultado semelhante em humanos.

Demonstra que se pode utilizar em situações em anastomoses de coto reto baixo, em pelve anatomicamente difícil, que não é possível realizar a anastomose termino-terminal manual ou não se disponibiliza de material de grampeamento.

Neste estudo, há a opção da invaginação sem necessidade do sepultamento tardio.

6. CONCLUSÃO

Concluiu-se que não há diferença na resposta cicatricial e inflamatória da anastomose por invaginação do cólon quando comparada à anastomose por sutura contínua simples em cães.

REFERÊNCIAS

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. Brasília, 2006. (Dissertação de Mestrado) – Universidade de Brasília.

AQUINO, J.L.B. Tratamento do megaesôfago pela mucosectomia com conservação da túnica muscular esofágica por via cervicoabdominal. 1996, 131p. Dissertação (Doutorado em cirurgia), Faculdade de ciências médicas da universidade estadual de campinas, Campinas, 1996

BABCOCK, W.W. A method of partial gastrectomy with telescopic anastomosis. Surg Gynecol & Obst. v.42. p.403-10, 1926.

BEGNAMI M.D.F.S; CUNHA I.W.; MONTAGNINI A.; NONOGAKI S.; SOARES F. Análise Imuno-histoquímica das Sintases do Óxido Nítrico em Adenocarcinomas Gástricos, Bras Patol Med Lab., v. 40 (5), p. 351-357, 2004

BERNHARDT J.A. Influência da Desnutrição na Cicatrização da Anastomose Colônica em Ratos Toxêmicos. Curitiba (Dissertação de Mestrado) Universidade Federal do Paraná, 2008, 98p

BEZERRA C.R.S. Fechamento do Coto Distal do Cólon Sigmóide Comparando Sutura Contínua com Lacre Plástico. Estudo Experimental em Cães. Fortaleza (Dissertação de Mestrado) Universidade Federal do Ceará, 2010, 53p.

BEZERRA C.R.S, REGADAS F.S.P., FIGUEIREDO W.R., NOGUEIRA M.A.A., SOUSA P.C., LEITE C.M.G.S, SILVA K.F., MARTINS FILHO E.P, LEITE J.A.D. Role of preoperative retrograde enema on inflammatory and healing parameters in colonic anastomosis: experimental study in dogs. **J. Coloproctol.** v. 34(4); p.193-7, 2014.

CRONIN, K.; JACKSON, D. S.; DUNPHY, J. E. Changing bursting strength and collagen content of the healing colon. Surg.Gynecol.Obstet., v. 126, n. 4, p. 747-753, 1968.

DA COSTA M.A.; CAMPOS A.C.; COELHO J.C.; DE BARROS A.M.; MATSUMOTO H.M. Oral glutamine and the healing of colonic anastomoses in rats. JPEN J Parenter Enteral Nutr, v.27 (3), p.182-5, 2003.

DÉCIO, I.J.; NIGRO, A.J.T.; SEMENTILLI, A.; JULIANO, I.; NOVO, N.F. Comparação das anastomoses esôfago-gástricas término-terminais em plano único e por invaginação de submucosa e mucosa, em ratos. Acta Cir Bras., v.15, 14-22, 2000.

EISERICH, J.P.; BALDUS S., BRENNAN M.L; MA W.; ZHANG C., TOUSSON A., CASTRO L.; LUSIS A.J.; NAUSEEF W.M.; WHITE C.R.; FREEMAN B.A. Myeloperoxidase, a leukocyte-derived vascular no oxidase, Science, v.296(5577), p.2391-2394, 2002.

FIGUEIREDO A.F.; Efeitos da Suplementação nutricional com Glicina e com Glutamina na Cicatrização Colônica em Coelhos. 2007. 65 p. Dissertação (Mestrado em Cirurgia). Minas Gerais. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

GOES A.C.A.M.; RODRIGUES L.V.; MENESES D.B.; GRANJEIRO M.P.F.; CAVALCANTE A.R.M.S. Análise histológica da cicatrização da anastomose colônica, em ratos, sob ação de enema de Aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* fr. all.) a 10%. Acta Cirúrgica Brasileira., v 20(2), p. 144-53, 2005.

GONÇALVES, C.G.; Cicatrização de anastomose colônica e nutrição pré-operatória em ratos desnutridos: estudo tensiométrico e de deposição de colágeno. Dissertação (Mestrado em Cirurgia). Paraná. Universidade Federal do Paraná, 2005, 102p.

GRAHAM M.F.; DRUCKER D.E.; DIEGELMANN R.F.; ELSON, C.O. Collagen synthesis by human intestinal smooth muscle cells in culture. Gastroenterology, v.92(2), p.400-5, 1987

GÜENAGA K.F.; MATOS D.; WILLE-JØRGENSEN P. Preoperative mechanical bowel preparation in elective colorectal surgery. An update of systematic review of the literature and meta-analysis. J Coloproctol., v.32: p. 7-17, 2012.

HABR-GAMA A.; KISS D.R.; ARAÚJO S.E.A. Preparo Intestinal para Cirurgia Colorretal Eletiva: Polietilenoglicol (PEG) x Fosfato de Sódio (FS): Resultados de Estudo Prospectivo e Randomizado. *Rev Bras Coloproct.*,v.18: p. 85-89, 1998.

HESP, F. L.; HENDRIKS, T.; LUBBERS, E. J.;DEBOER, H. H. Wound healing in the intestinal wall. A comparison between experimental ileal and colonic anastomoses. *Dis.Colon Rectum*, v. 27, n. 2, p. 99-104, 1984.

HÖGSTRÖM H.; HAGLUND U.; ZEDERFELDT B. Tension Leads to Increased Neutrophil Accumulation and Decreased Laparotomy Wound Strength. *Surgery.*, v. 170 (2), p. 215-219, 1990.

INOMATA T.; NINOMIYA H.; MIZUTANI T.; MORI Y.; KASHIWAZAKI N.; KIUCHI A.; NAGAI T. A Simple Method of intestinal Anastomosis (Ileocolostomy) in Rats. *Exp Anim.*, v. 54, n.2, p. 117-122, 2005.

JONSSON, K.; JIBORN, H.; ZEDERFELDT, B. Comparison of healing in the left colon and ileum. Changes in collagen content and collagen synthesis in the intestinal wall after ileal and colonic anastomoses in the rat. *Acta Chir Scand.*, v. 151 (6), p. 537-541, 1985.

KANTO, R., FAGUNDES, D.J. Estudo morfológico comparativo de anastomoses colônicas por invaginação versus em plano único extra-mucoso em cães. *Rev Bras Coloproct.*, v.25, n.1, p.51-9, 2005.

KNIGHTLY, J.J.; AGOSTINO, D.; CLIFFTON, E.E. The effect of fibrinolysin and heparin on the formation of peritoneal adhesions. *Surgery*, v.52, p.250-8, 1962.

KRAWISZ J.E.; SHARON P.; STENSON W.F. Quantitative Assay for Acute Intestinal Inflammation Based on Myeloperoxidase Activity. Assessment Of Inflammation In Rat And Hamster Models. *Gastroenterology*. v.87(6), p.1344-50, 1984

LEMOS I. C. C.; CAMPOS A. C.; DE ALMEIDA M.; SCHULER S. L.; GURMINI J.; MALAFAIA, O.; ANDRADE, D. F. In utero malnutrition influences wound healing of

newborn rats as measured by tensile strength and collagen deposition. *J Parenter Enteral Nutr*, v.28 (4), p.241-4, 2004.

LINS-NETO M.A.F.; LEÃO M.J.R.; ALVES E.C.; FONTAN A.J. Preparo Mecânico dos Cólons é uma Rotina Necessária? *Arq Bras Cir Dig.*, v 25 (1), p. 25-28, 2012.

LUCHESE, S.M.A.D. Anastomose colo-cólica por invaginação da submucosa-mucosa cranial na seromuscular caudal: Estudo não experimental cao. *Acta Cir Bras*. Vol. 2(1). P. 14-8. 1987.

MEDEIROS, A.C.; CHACON, D.A.; AIRES NETO, T.; LIMA, F.P.; TRINDADE, M.C. Efeitos das vitaminas A e C em anastomoses intestinais de ratos tratados com corticosteróide. *Acta Cir Bras (on line)*. v.18(1), www.scielo.br/acb. 2003.

MOORE, W.I. and FORREST-HAMILTON, J. The Maylard-Sonnenburg method of intestinal anastomosis. *Brit M J.*, 2. 1407. 1953.

MUNIREDDY S.; KAVALUKAS S.L.; BARBUL A. Intra-abdominal Healing: Gastrointestinal Tract and Adhesions. *Surg Clin N Am.*, v.90, p.1227–1236, 2010.

NÓBREGA N.L.; BIONDO-SIMÕES M.L.P.; BARCZAK D.; IOSHII S.O. Effect of Hyperglycemia and Aging in Angiogenesis and Reepithelization of Colonic Anastomoses in Rats. *Acta Cirúrgica Brasileira.*, v. 22 (1), p. 2-7, 2007.

O'DWYER P. J.; CONWAY, M.C.; McDERMOTT E. W.; O'HIGGINS N. J. Effect of Mechanical Bowel Preparation on Anastomotic Integrity Following Low Anterior Resection. *Dog. Br J Surg.*, v.76, p.756-758, 1989.

PAKSOY M., HAMZAOGLU I., ÇUBUKÇU A., UZUN H., AGCA B., POLAT E., AYDIN S., GIIMIISTAS K. The Influence of Omentectomy on the Inflammatory Phase of Anastomotic Healing. *Hepato-Gastroenterology*, v. 48, p. 1359-63, 2001.

PAIGE T.; THERESE K.W. The Physiology of Wound Healing: Injury Through Maturation, *Surg Clin N Am.*, v. 89, p. 599-610, 2009.

PRIOLLI D.G.; STEPHANI S.M.; ROTTA C.M.; MARGARIDO N.F. ANDRETONN F.; ZANOTTO A.; FAHROUND S.; Novo Preparo Anatômico na Cirurgia Experimental Colo-Retal. Rev. Bras. Coloproctol., v. 17 (suppl. 1), p. 92, 1997.

PUTTINI S.M.B. Avaliação da Resposta Inflamatória Desencadeada pelas Telas de Polipropileno e Politetrafluoretileno Expandido Implantado no Espaço Intraperitoneal. Estudo Esperimental em Camundongos. Brasília, 79p, (Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Brasília). 2006

RAVO B. Colorectal Anastomotic Healing and Intracolonic Bypass Procedure. Surg Clin North Am, v.68, n.6, p.1267-94, 1988.

REGADAS, F.S.P.; CASTRO FILHO, H.F.; NICODEMO, A.M.; MORANO, J.C.O.D.; SAMPAIO, Z.S. Estudo comparativo entre sutura contínua e separada em anastomose cólica. Estudo experimental em ratos. Acta Cir. Bras., v.5, n.4, p. 141-145, 1990.

REGADAS S.M.M.; REGADAS F.S.P.; RODRIGUES L.V.; CARVALHO M.C.G.S.; REGADAS FILHO F.S.P. Modelo Experimental de Sutura Manual em Cólon de Cão por Vídeo-Laparoscopia. Acta Cir Bras., v.20, n.4, p.323-8, 2005.

SANTOS JR J.C.M. Tópicos Controversos – Mitos em Coloproctologia. Rev Bras Coloproct., v. 24 (1), p. 78-90, 2004

SCHREINEMACHER M.H.; BLOEMEN J.G.; VAN DER HEIJDEN S.J.; GIJBELS M.J.; DEJONG C.H.; BOUVY N.D. Collagen Fleeces do not Improve Colonic Anastomotic Strength but Increase Bowel Obstructions in an Experimental Rat Model. Int J Colorectal Dis. v.26(6), p.729-35, 2011

SERVIN S.C.N., TORRES O.J.M., MATIAS J.E.F., AGULHAM M.A., CARVALHO F.A., LEMOS R., SOARES E.W. S., SOLTOSKI P.R., FREITAS A.C.T. Ação do Extrato de *Jatropha gossypifolia* L. (Pião Roxo) na Cicatrização de Anastomose Colônica: Estudo Experimental em Ratos. Acta Cirúrgica Brasileira., v. 21 (3), p. 89-96, 2006.

SILVA V.R.G. Marcadores Pró-Inflamatórios e de Estresse Oxidativo em Pacientes Submetidos à Gastroplastia com Bypass em Y de Roux, Florianópolis, 2009, (Dissertação de Mestrado) Universidade de Santa Catarina.

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

SZUCS, G. TOTH, I.BARNA, T. BRATH, E. GYANI, K. MIKO E.U. Operação técnica e processo de cicatrização de ileocolostomy telescópica em cães. Dis Esophagus. v. 51(4), p. 539-50, 2003.

TORRES NETO J.R.; FAKHOURI R.; MENEZES M.V.A.; RRUDENTE A.C.L.; MONTEIRO J.T.S.; FEITOSA V.L.C. Estudo Histomorfométrico de Anastomoses Primárias de Cólon em Coelhos, com e sem Preparo Intestinal., Rev bras Coloproct., v. 27(4), p 384-90, 2007

APÊNDICES

APÊNDICE A - Peso dos Animais do Grupo Estudo. Eutanásia no 7º DPO.

Animal	Peso
1	13,3
2	10,5
3	8
4	7
5	12,8
6	8,7
7	10,8
8	7,2
9	14,3
10	7,2

APÊNDICE B – Peso dos Animais do Grupo Controle. Eutanásia no 7ºDPO.

Animal	Peso
1	11,7
2	13,3
3	10,8
4	9,3
5	12,7
6	10,45
7	9,4
8	7,4
9	10,9
10	12,6

APÊNDICE C – Peso dos Animais do Grupo Estudo. Eutanásia no 21º DPO.

Animais	Peso
1	16,9
2	12,4
3	13,4
4	9,1
5	9,3
6	11,15
7	17
8	12,15
9	8,15
10	10,13
11	13,2
12	15,4
13	9,25
14	10,4
15	9,2
16	12,35
17	9
18	13,1
19	9
20	10,4

APÊNDICE D – Peso dos Animais do Grupo Controle. Eutanásia no 21º DPO.

Animal	Peso
1	13,9
2	10,4
3	9,9
4	14,45
5	16,65
6	8,65
7	8,5
8	9,4
9	7,9
10	10,3
11	12,85
12	13,4
13	16,1
14	11,95
15	11,95
16	13
17	8,75
18	14,15
19	14,93
20	10

APÊNDICE G – Classificação das Aderências dos animais dos Grupos Controle e Estudo, segundo Knightly et. al (1962). Eutanásia no 7º DPO.

Animais	Controle	Estudo
1	3	4
2	3	3
3	4	4
4	2	3
5	4	3
6	4	2
7	3	4
8	4	4
9	3	4
10	3	3

APÊNDICE H – Classificação das Aderências dos animais dos Grupos
Controle e Estudo. Eutanásia no 21º DPO.

Animal	Controle	Estudo
1	1	2
2	0	2
3	3	4
4	3	3
5	2	4
6	2	2
7	4	2
8	4	2
9	4	4
10	3	4
11	1	4
12	1	4
13	2	4
14	2	4
15	3	3
16	2	4
17	3	2
18	1	3
19	1	2
20	4	2

APÊNDICE I – Classificação do Edema Anastomótico nos animais dos Grupos Controle e Estudo. Eutanásia no 7º DPO.

Animal	Controle	Estudo
1	1	1
2	1	1
3	1	2
4	1	1
5	1	2
6	2	1
7	1	2
8	1	1
9	1	1
10	1	1

APÊNDICE J – Classificação do Edema Anastomótico nos animais dos Grupos Controle e Estudo. Eutanásia no 21º DPO.

Animais	Controle	Estudo
1	0	0
2	1	1
3	1	1
4	0	1
5	0	0
6	0	1
7	0	2
8	2	1
9	2	1
10	1	2
11	1	1
12	0	0
13	0	3
14	1	1
15	0	2
16	1	2
17	1	2
18	1	1
19	0	0
20	1	0

APÊNDICE K – Classificação da Vasoproliferação nas Anastomoses
nos animais do Grupo Controle e Estudo. Eutanásia no 7º DPO.

Animal	Controle	Estudo
1	3	2
2	2	3
3	1	2
4	2	3
5	1	3
6	3	2
7	2	3
8	2	2
9	2	2
10	1	2

APÊNDICE L – Classificação da Vasoproliferação nas anastomoses
nos animais do Grupo Controle e Estudo. Eutanásia no 21ºDPO.

Animais	Controle	Estudo
1	1	1
2	1	2
3	2	1
4	1	3
5	1	2
6	1	1
7	1	1
8	2	1
9	2	2
10	2	1
11	2	2
12	1	1
13	1	2
14	3	1
15	1	3
16	2	2
17	1	2
18	1	3
19	1	1
20	2	2

Apêndice M – Porcentagem de Colágeno I e III nas Anastomoses nos animais dos Grupos Controle e Estudo. Eutanásia no 7º DPO.

Estudo		Controle	
Colágeno 1	Colágeno 3	Colágeno 1	Colágeno 3
2,25	91,04	58,05	24,76
47,3	53,16	32,54	56,13
57,99	45,83	68,81	35,31
50,96	44,38	68,04	28,99
51,75	28,32	70,15	15,19
42,85	52,52	32,83	54,58
47,65	48,74	81,32	10,75
51,22	46,56	43,23	50,98
78,97	9,99	69,93	28,3
76,84	12,65	78,01	11,49

APÊNDICE N – Porcentagem de Colágeno I e III nas anastomoses nos animais dos Grupos
Controle e Estudo. Eutanásia no 21º DPO.

Estudo		Controle	
Colágeno 1	Colágeno 3	Colágeno 1	Colágeno 3
69,192	5,02	36,132	13,948
34,12	40,754	28,4	30,3
19,452	37,618	8,25	42,49
34,098	16,578	30,728	21,17
32,65	24,418	11,742	31,546
30,092	27,318	19,452	37,618
17,45	38,392	22,628	32,42
49,228	33,96	29,432	28,926
39,242	23,5	34,814	27,31
73,958	9,062	14,814	46,318
12,278	46,978	67,264	29,642
37,77	18,724	57,48	29,502
43,296	24,398	51,744	27,472
37,054	27,116	31,818	26,6
29,66	17,45	46,498	24,844
62,902	13,166	37,8	22,01
49,306	8,692	30,268	36,788
27,826	25,13	36,404	32,356
58,256	11,316	91,656	6,14
66,174	4,598	20,606	46,318

APÊNDICE O – Frequência de INOS nas anastomoses nos animais dos Grupo Controle e Estudo. Eutanásia no 7º DPO.

Estudo		Controle	
Animal	INOS	Animal	INOS
1	2	1	2
2	3	2	3
3	3	3	2
4	2	4	2
5	3	5	3
6	2	6	2
7	3	7	2
8	2	8	2
9	3	9	2
10	2	10	3

APÊNDICE P – Frequência de INOS nas anastomoses nos animais dos Grupo Controle e Estudo. Eutanásia 21° DPO.

Estudo		Controle	
Animal	INOS	Animal	INOS
1	2	1	1
2	3	2	2
3	2	3	0
4	1	4	2
5	2	5	2
6	1	6	0
7	2	7	2
8	1	8	2
9	0	9	1
10	1	10	1
11	2	11	2
12	1	12	0
13	3	13	3
14	2	14	3
15	2	15	1
16	2	16	3
17	0	17	3
18	1	18	1
19	1	19	1
20	3	20	3

APÊNDICE Q – Frequência de Mieloperoxidase nas anastomoses dos animais do Grupo Estudo. Eutanásia no 7º DPO.

Identificação	Leucócios																			
1	25	35	55	45	55	65	45													
2	25	100	49	121	88	23	60	40	31	27										
3	50	40	80	35	40	20	25	20	40	30	20	43	87	63	37	60	100			
4	220	80	85	95	250	80	110	45	40	85	55	45	65	40	120	50	153	65	80	
5	185	135	75	39	67	77	137	37	20	125	115	112	97	80	135	69	22			
6	80	15	65	95	110	105														
7	50	50	110	50	80	90	30	40	20	20	60	60	100	50	50					
8	10	30	80	60	40	10	40	100	60	50	100	105	80	50	60					
9	210	193	97	79	201	89	95	75	130	35	150	135	60	75	55	75				
10	15	45	25	15	50	30														

Frequência de Mieloperoxidase nas anastomoses nos animais do Grupo Controle. Eutanásia no 7º DPO.

Identificação	Leucócios por campo																				
1	25	35	45	55	60	65	60	40	60	70	55	65	55	95							
2	80	80	40	80	50	100	80	50	70	40	15	15	30	20	50	40					
3	40	15	100	40	30	25	59	15	25	20	30										
4	125	60	40	92	20	65	15	68	65	45	65	65	30	85	35	45	47	80	85	40	80
5	20	30	30	40	25																
6	70	45	75	80	85	110	120														
7	100	110	100	200	60	80	150	90	100	80	90	150									
8	50	150	120	40	40	80	70	40	30	80	50	40	150	160	50	80	180	120	30		
9	45	65	75	80	115	115															
10	89	56	15	85	110	35	120	55	30	55	50	110	55	150	45	150	150	30	150		

APÊNDICE R – Frequência de Mieloperoxidase nas anastomoses nos animais do Grupo Estudo. Eutanásia no 21° DPO.

Identificac	LEUCOCITOS																			
1	0	1	0	3	0	4	0	0	2	1	0	3								
2	2	0	0	7	3	2	4	7	0	27	5	1	0	2	22	1				
3	9	11	19	2	17	2	67	11	0	12										
4	7	12	0	37	57	71	2	12	5	7	4	1	2							
5	14	34	11	14	6	5	0	4	23	22	13									
6	3	11	0	32	12	19	11	7	18	3										
7	45	32	25	17	49	62	76	67	43	36	22	61	37	13						
8	0	0	0	0	0	4	28	4	0	9	12	1	0	5						
9	6	6	17	22	21	11	15	10	10	11	12	4	14	4	4					
10	40	68	20	45	135	39														
11	5	10	31	9	3	8	8	6	6	10	44	50	3							
12	11	7	8	9	7	0	5	4	2	1	0									
13	22	34	41	21	25	35	48	21	29	18	16	19								
14	11	10	14	9	9	26	24	32	31	47	19									
15	13	3	45	7	6	67	76	4	30	45	67	33	31	24						
16	25	35	33	28	17	15	23	28	39	14	17									
17	29	36	41	46	28	47	29	18	9											
18	36	21	23	25	20	35	55	33	12	22	12	3	16	13	6	26	17	21	60	2
19	12	23	26	18	21	34	43	27	18	15	28	39								
20	41	51	251	160	1001	301	1681	201	1231	1131	1261	771	1801	1101	81					


Frequência de Mieloperoxidase nas anastomoses nos animais do Grupo Controle. Eutanásia no 21° DPO.

Identificac	LEUCOCITOS POR CAMPO																			
1	114	15	10	9	6	40	7	6	2	3	4	3	18							
2	9	1	0	1	3	47	2	6	17	9	17	75	40	3	1	2				
3	21	32	29	57	35	77	54	32	41	25	28	43	39	22	35	6	1			
4	12	5	3	10	7	2	3	7	0	1	8	4	5	7						
5	5	7	9	11	6	2	12	57	24	56	10									
6	45	76	89	47	32	78	82	31	88	23	79	32	28	7	0	56				
7	4	11	7	8	0	0	7	3	0	0	0	1								
8	61	15	22	2	18	19	7	8	3	43										
9	7	28	18	2	15	52	31	20	4	2	1									
10	23	45	24	36	43	32	57	16	44	39	17	25	9	3						
11	23	45	32	21	12	17	8	17	41	28	24									
12	1	4	3	0	0															
13	27	15	18	5	4	20	17	18	21	15	16	5	15	2						
14	18	43	58	53	48	89	63	33	34	32	43	48	33	79	38	45	57	60	72	
15	5	35	48	35	68	10														
16	3	12	2	0	1	4	7	20	8	19	45	11	7	9	16	20	20	3	12	
17	1	5	3	2	2	2	3	2	2	2										
18	2	4	9	16	4	5	6	0												
19	3	45	32	46	67	34	45	9	23	24	17	19	28							
20	25	37	15	15	27	12	9	35	42	55	45	40	85	10	5	5	12	6		

Anexos



DECLARO para os devidos fins que se fizeram necessários, que a Pesquisador (a) Miguel Augusto Arcoverde Nogueira, tendo como orientador (a) Miguel Augusto Arcoverde Nogueira, deu entrada na Comissão de Ética de Uso em Animais CEUA/FACID com o projeto intitulado Avaliação da Cicatrização da Anastomose por Invaginação no Cólon em Comparação à Anastomose por Sutura Simples. Estudo Experimental em Cães, protocolo nº 018/12, que foi APROVADO no dia 04/12/2012. O Relatório Parcial deverá ser entregue no dia 01/06/13 e o Relatório Final no dia 30/11/2013.


Antonio Luiz Martins Maia Filho

Presidente do CEUA/FACID


Teresina, 30 de janeiro de 2013