

TIAGO CAVALCANTI IWANAGA



**COMPORTAMENTO DO GEL E DA FITA DE
POLISSACARÍDEO DE MELAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR
NAS ANASTOMOSES DE CÓLON ESQUERDO EM RATOS**

**RECIFE/PE
2015**

Tiago Cavalcanti Iwanaga



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Cirurgia

Comportamento do gel e da fita de polissacarídeo de melaço de cana-de-açúcar nas anastomoses de cólon esquerdo em ratos.

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Cirurgia.

Orientador-Interno

Dr. José Lamartine de Andrade Aguiar

Prof. Titular do Depto. de Cirurgia, CCS-UFPE

Co-orientador

Dr. Euclides Dias Martins Filho

Prof. Adjunto do Depto. de Cirurgia, CCS-UFPE

Catálogo na Publicação (CIP)
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4 N°1010

A459c Iwanaga, Tiago Cavalcanti
Comportamento do gel e da fita de polissacarídeo de melão de cana-de-açúcar nas anastomoses de cólon esquerdo em ratos. – Recife: O autor, 2015.
59. f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientador: José Lamartine de Anadrade Aguiar
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Programa de Pós-Graduação em Cirurgia. Recife, 2015.
Inclui referências e anexo.

1. Anastomose colônica. 2. Deiscência de anastomose. 3. Aderência peritoneal. 4. Cana-de-açúcar. Aguiar, José Lamartine de Andrade. (Orientador).
II. Título.

617.92 CDD (23.ed)

UFPE (CCS2015-078)

“EFEITO DO GEL E DA FITA DE POLISSACARÍDEO DE MELAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR NAS ANASTOMOSES DE CÓLON DESCENDENTE EM RATOS”.

TIAGO CAVALCANTI IWANAGA

APROVADA EM: 26/02/2015

ORIENTADOR INTERNO: Dr. JOSÉ LAMARTINE DE ANDRADE AGUIAR

COMISSÃO EXAMINADORA:

PROF. Dr. SALVADOR VILAR CORREIA LIMA (PRESIDENTE) - CCS/UFPE

PROF. Dr. SÍLVIO DA SILVA CALDAS NETO - CCS/UFPE

PROF. Dr. FLÁVIO KREIMER – CCS/UFPE

Universidade Federal de Pernambuco

REITOR

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Sílvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Francisco de Souza Ramos

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

Prof. Nicodemos Teles de Pontes filho

HOSPITAL DAS CLÍNICAS

DIRETOR SUPERINTENDENTE

Prof. Frederico Jorge Ribeiro

DEPARTAMENTO DE CIRURGIA

CHEFE

Prof. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA NÍVEL MESTRADO E DOUTORADO

COORDENADOR

Prof. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz

VICE-COORDENADOR

Prof. Josemberg Marins Campos

CORPO DOCENTE

Prof. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz

Prof. Josemberg Marins Campos

Prof. José Lamartine de Andrade Aguiar

Prof. Carlos Teixeira Brandt

Prof. Edmundo Machado Ferraz

Prof. Fernando Ribeiro de Moraes Neto

Prof. Lúcio Vilar Rabelo Filho

Profa. Magdala de Araújo Novaes

Prof. Rodrigo Pessoa Cavalcanti Lira

Prof. Salvador Vilar Correia Lima

Prof. Sílvio Caldas Neto

*“A mente que se abre a uma nova idéia,
jamais retornará ao seu estado original”.*

Albert Einstein

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. José Lamartine de Aguiar, pela valiosa contribuição a realização desta pesquisa, pela inestimável dedicação a este projeto e pela análise crítica do texto final.

Ao meu Co-orientador, Prof. Euclides Dias Martins Filho, por sua dedicação, compromisso, carinho, ética e sabedoria.

Ao coordenador do curso de pós-graduação em cirurgia Prof. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz e aos demais professores pelo excelente nível das aulas ministradas.

À Amanda Vasconcelos, Doutora em biologia celular, por sua grande ajuda, observações pertinentes e fundamentais na conclusão dessa dissertação.

À Profa. Adriana Cruz (Veterinária) e ao Prof. José Joaquim (veterinário) pela importante contribuição na anestesia e seleção dos animais, fundamentais na execução do projeto.

Aos Estudantes Fernando Filho e Paulo Silva que me auxiliaram nos procedimentos cirúrgicos.

Aos Técnicos do Núcleo de Cirurgia experimental, Rodrigo Lima e Veridiana Souza, pela contribuição organizacional dos procedimentos cirúrgicos e pela troca de experiência no manejo das cirurgias experimentais.

Ao Doutorando em biologia aplicada à saúde, Olavio Campos, pela grande ajuda no preparo e leitura das lâminas.

À Profa Mariana Lira, patologista do HC-UFPE, pelo ensinamento e colaboração na leitura das lâminas.

Ao Doutorando de Engenharia química, Magno Alexandre, pela ajuda na realização dos testes Biomecânicos.

Ao Sr. Paulo Antônio Barbosa, Auxiliar operacional, imprescindível na manutenção dos animais.

À Sra Maria Auxiliadora, funcionária do núcleo de cirurgia experimental, pela organização dos materiais cirúrgicos para realização dos procedimentos experimentais.

A todos os outros funcionários do núcleo de cirurgia experimental e aos funcionários do Programa de pós-graduação em Cirurgia, pela ajuda e pelo carinho.

Resumo

Introdução: O surgimento de aderências peritoneais e deiscências de suturas intestinais após procedimentos cirúrgicos determinam um aumento importante da morbimortalidade pós-operatória. A aplicação de produtos nas anastomoses que possam prevenir esses eventos são de grande interesse médico. O emprego do polissacarídeo de melão de cana-de-açúcar, que possui adequada tolerabilidade e compatibilidade *in vivo* ainda não foi testado para este fim. **Objetivo:** Avaliar o efeito da fita e do gel de polissacarídeo de melão de cana-de-açúcar nas anastomoses de cólon esquerdo em ratos. **Métodos:** Quarenta e cinco ratos da raça Wistar foram submetidos à laparotomia para realização de uma colectomia de cólon esquerdo de 2 cm e posterior anastomose. Os animais foram divididos em três grupos com 15 animais cada e tiveram a área da anastomose cobertas por: grupo A, controle - NaCl 0,9%; grupo B -fita de polissacarídeo de melão da cana-de-açúcar e grupo C- gel a 1% do polissacarídeo. Após 30, 90 e 180 dias os ratos foram eutanasiados e as peças cirúrgicas foram submetidas à avaliações biomecânicas, de aderências e histológicas. **Resultados:** Em relação aos testes biomecânicos, a força máxima de ruptura da anastomose, a deformidade específica da força máxima e o módulo de elasticidade não apresentaram diferenças estatísticas. No grupo gel, a deformidade específica da força máxima foi maior em média aos 180 dias quando comparado aos 30 e 90 dias (p-valor de 0,009). Quanto às aderências foi constatado que sua gravidade, percentual, tipo e tenacidade entre os grupos tratados não obtiveram significância estatística. Histologicamente, observou-se que a presença da fita ou do gel não acarretou em aumento de reação inflamatória, no entanto, houve uma maior quantidade de fibrose e uma maior proliferação vascular nos grupos tratados com fita (p-valor de 0,041 e 0,007) **Conclusão:** Os dados do trabalho sugerem que o uso do polissacarídeo de melão de cana-de-açúcar na forma de fita promove uma maior reação cicatricial, através da presença de uma maior quantidade de fibrose e proliferação vascular, sem alterar as propriedades biomecânicas colônicas ou incidência de aderências peritoneais. **Palavras-chave:** Anastomose colônica. Deiscência de anastomose. Aderência peritoneal. Cana-de-açúcar.

Abstract

Introduction: The formation of peritoneal adhesions and dehiscence of intestinal sutures after surgical procedures result in a significant increase in post-operative morbidity and mortality. The application of products in the anastomosis that can prevent these events are of great medical interest. The use of sugarcane molasses polysaccharide that has adequate tolerability and compatibility *in vivo* has not been tested for this purpose. **Objective:** To evaluate the effect of film and hydrogel of sugarcane molasses polysaccharide in left colonic anastomoses in rats. **Methods:** Forty-five Wistar rats underwent midline laparotomy followed by a 2 cm long left colectomy and subsequent anastomosis. The animals were divided into 3 groups of 15 animals each and had their anastomoses treated with: group A, control - NaCl Saline 0.9%; group B- film of sugarcane molasses polysaccharide; and group C- hydrogel 1% of sugarcane molasses polysaccharide. After 30, 90 and 180 days, the rats were euthanized and specimens were submitted to adhesion formation, biomechanical and histological analysis. **Results:** Regarding biomechanical tests, the maximum rupture force of the anastomosis, the specific deformity of the maximum force and the elasticity module were statistically similar in all groups. In the gel group, the specific deformity of the maximum force was higher on average at 180 days when compared to 30 and 90 days (p-value 0.009). For adhesions, it was found that severity, percentage, type and tenacity differences between the treated groups did not achieve statistical significance. Histologically, it was observed that the presence of the film or gel did not result in increased inflammatory reaction, however, there was an increased amount of fibrosis and increased vascular proliferation in the groups treated with film (p values of 0.041 and 0.007). **Conclusion:** The study data suggests that the use of Sugarcane Molasses polysaccharide in the form of film leads to improved scar formation, caused by an increase in fibrosis and vascular proliferation without changing the biomechanical properties or colonic incidence of peritoneal adhesions.

Keywords: Colonic anastomosis. Anastomosis leakage. Peritoneal adhesion. Sugarcane.

Lista de Ilustrações

Figura 1	Fluxograma de coleta de dados.	28
Quadro 1	Grau das aderências	30
Quadro 2	Classificação das aderências sítio-específica	30
Quadro 3	Parâmetros histológicos	31
Quadro 4	Variáveis potencialmente de confusão	31
Figura 2	Amostra representativa da membrana de polissacarídeo de cana-de-açúcar (A) e do gel de polissacarídeo de cana-de-açúcar (B).	32
Figura 3	Intervenção cirúrgica. A, mesa de procedimento cirúrgico e B, animal em decúbito dorsal na mesa cirúrgica e tricotomizado na região ventral.	33
Figura 4	A, anastomose tratado com fita; B, aspecto e medição da fita de polissacarídeo com o auxílio de um paquímetro.	34
Figura 5	A, máquina universal de testes EMIC® DL500 utilizada para realização dos testes biomecânicos e B, detalhe das presilhas da máquina (EMIC® DL500) para apreensão do corpo de prova.	35

Lista de Tabelas

Tabela 1	Peso corporal médio ao longo do experimento.	37
Tabela 2	Taxa de mortalidade ao longo do experimento.	37
Tabela 3	Características biomecânicas do corpo de prova.	38
Tabela 4	Distribuição da aderência de acordo com o grau, percentual de adesão, tipo e tenacidade.	39
Tabela 5	Distribuição da reação inflamatória, fibrose e vasos sanguíneos segundo o tipo de substância utilizada.	40

Lista de Siglas e Abreviaturas

PCA	Polissacarídeo do melão de cana-de-açúcar
EUA	Estados Unidos da América
SUS	Sistema único de Saúde
PMN	Polimorfonucleares
ACTH	Hormônio Estimulador da Córtex adrenal
PAI	Inibidores do ativador da plasmina
ROS	Espécies reativas do Oxigênio
OH	Radicais Hidroxila
O2-	Ânion Superóxido
H2O2	Peróxido de Hidrogênio
NO	Óxido Nítrico
COX-1	Ciclooxigenase 1
COX-2	Ciclooxigenase 2
ORC	Celulose Oxidada Regenerada
PEG	Polietilenoglicol
CMC	Carboximetilcelulose
PEO	Óxido de polietileno
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
NCE	Núcleo de Cirurgia Experimental
FMÁX	Força Máxima de Ruptura
MOD ELAST	Módulo de elasticidade
DEF ESP F MÁX	Deformidade específica da força máxima
N	Newtons
MPA	Megapascals
EECAC	Estação experimental de cana-de-açúcar do Carpina
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco
CEUA	Comitê de ética no uso de animais

Sumário

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 Definição dos objetivos	17
1.1.1 Objetivo geral	17
1.1.2 Objetivos específicos	17
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 Aderências peritoneais	18
2.1.1 Conceito, clínica e fatores predisponentes	18
2.1.2 Fisiopatologia das aderências	19
2.1.3 Condutas para reduzir a formação das aderências	22
2.2 Vazamento de anastomose	23
2.3 Polissacarídeo de melão de cana-de-açúcar	24
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 População de estudo	27
3.2 Desenho de estudo	27
3.3 Elenco de Variáveis	29
3.3.1 Variável independente	29
3.3.2 Variáveis dependentes	29
3.3.3 Definição das variáveis dependentes	29
3.3.3.1 Biomecânicas	29
3.3.3.2 Aderências	30
3.3.3.3 Histologia	31
3.3.4 Potenciais variáveis de confusão	31

3.4 Procedimentos técnicos	32
3.4.1 Confeção do polissacarídeo de melão de cana-de-açúcar	32
3.4.2 Pesagem/ Anestesia/ Preparo pré-operatório	32
3.4.3 Procedimento cirúrgico	33
3.4.3.1 Intervenção cirúrgica	33
3.4.3.2 Avaliação clínica	34
3.4.4 Retirada das peças	34
3.4.5 Avaliação tensiométrica	35
3.4.6 Avaliação histológica	35
3.5 Testes estatísticos usados	36
3.6 Procedimentos éticos	36
4. RESULTADOS	37
4.1 Dados biométricos	37
4.2 Taxa de mortalidade	37
4.3 Variáveis biomecânicas	38
4.4 Análise das aderências	39
4.5 Análise histológica	39
5. DISCUSSÃO	41
6. CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS	48
ANEXO	57



1 INTRODUÇÃO

O surgimento de aderências peritoneais e deiscências de suturas intestinais após procedimento cirúrgico digestivo determinam um aumento importante da morbimortalidade pós-operatória¹.

Bridas e aderências intrabdominais são lesões já referenciadas nos papiros do antigo Egito. Com o advento da cirurgia abdominal, na segunda metade do século XIX, as aderências peritoneais tornaram-se um evento comum pelo desenvolvimento de obstrução intestinal pós-operatório. Atualmente, representa um problema ainda não totalmente resolvido na medicina.²

As aderências peritoneais elevam o risco de enterotomias involuntárias durante reoperação laparatômica em 19% e em torno de 10-25% quando o procedimento é realizado por laparoscopia^{3,4}. As duas maiores estratégias na prevenção ou redução da formação de aderências são representadas por ajustes na técnica cirúrgica e pelo uso de adjuvantes, como cola de fibrina.

Em 1886, Müller sugeriu o uso de solução salina para prevenir a ocorrência de aderências⁵. Desde então, inúmeros agentes foram investigados para a prevenção de aderências intra-abdominais. Esses agentes promovem a ativação da fibrinólise, alteração da coagulação, diminuição da resposta inflamatória, inibição da síntese de colágeno ou criação de uma barreira entre superfícies de feridas adjacentes⁵.

Coelho Júnior em sua tese de doutorado (2012) avaliou e comparou a efetividade do gel do polissacarídeo do melação da cana-de-açúcar (PCA) e do Interceed® na redução da formação de aderências sítio - específicas, na intensidade da reação inflamatória e na fibrose na linha de sutura de úteros de ratas. Concluiu que o gel do polissacarídeo do melação da cana-de-açúcar é eficaz como agente reabsorvível antiaderente e pode prevenir aderências intraperitoneais pós-cirúrgica⁶.

A deiscência de suturas entéricas pode levar a importantes complicações clínicas devido à perda de líquidos, desequilíbrio eletrolítico, infecção, sepse e desnutrição que pode variar de 10% a 60% dos casos⁷. O quadro pode ser ainda grave, quando há formação de fístulas, resultando, geralmente no aumento do tempo de hospitalização e custos relacionados. A mortalidade decorrente de complicações relacionadas com fístulas intestinais é ainda muito alta, variando de 6,5% a 48%⁸. Estudos recentes mostram taxas de até 37%⁹, enquanto a média de mortalidade para a maioria dos procedimentos cirúrgicos eletivos é de 2%⁸. Por isso a prevenção de vazamentos digestivos e fístulas entéricas, após ressecções intestinais, com o emprego de anastomoses bem vascularizadas, livres de tensão e com ausência de infecção são de suma importância no manejo dos pacientes cirúrgicos¹⁰⁻¹³.

No início do século XX, começaram as pesquisas com adesivos derivados de coágulos solidificados de fibrina, inclusive com aplicação sobre suturas intestinais¹⁴. Atualmente, vários materiais sintéticos vêm sendo utilizados no auxílio do tratamento das deiscências e fístulas digestivas, como por exemplo, as matrizes acelulares, próteses, adesivos e cliques endoscópicos. Além disso, esses materiais também podem ser utilizados como selantes em rafias ou anastomoses intestinais para evitar o aparecimento de vazamento ou fístulas digestivas¹⁵⁻¹⁷. Uma importante característica desses compostos é manter os tecidos em posição para permitir a cicatrização de áreas cruentas contíguas e servirem de barreira aos extravasamentos¹⁸. O sucesso dessa terapia depende da substância em questão e da superfície em que é aplicada¹⁹.

Além dos materiais sintéticos, produtos naturais também demonstraram o seu valor no auxílio do processo de cicatrização, como por exemplo o fitoterápico conhecido popularmente como aroeira (*Schinus terebinthifolius*). O tratamento com aroeira promoveu a aceleração do processo de cicatrização de gastrorrafias em ratos, em comparação ao grupo controle²⁰. Nesta linha de raciocínio o emprego do polissacarídeo do melação de cana-de-açúcar (PCA), como protetor, poderia reduzir a incidência de vazamento, de aparecimento de fístulas digestivas e de aderências após ressecções ou rafias intestinais, tendo-se como base estudos experimentais prévios utilizando este produto⁶.

1.1 Definição dos objetivos

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar o comportamento do gel e da fita de polissacarídeo de melaço de cana-de-açúcar nas anastomoses de cólon esquerdo de ratos.

1.1.2 Objetivos Específicos

Nos 3 grupos experimentais: (1) Soro Fisiológico 0,9%; (2) fita de PCA e (3) gel de PCA:

1. Analisar os parâmetros biomecânicos do segmento colônico;
2. Quantificar, graduar e comparar as aderências na linha de sutura da anastomose do cólon dos ratos;
3. Avaliar a intensidade da reação histológica quanto à resposta inflamatória, neoformação vascular e intensidade de fibrose.



2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Aderências peritoneais

2.1.1 Conceito, Clínica e Fatores predisponentes

Aderências são definidas como conexões fibrosas anormais entre partes ou estruturas adjacentes do corpo²¹, podendo variar desde um fino filme de tecido conectivo a uma espessa ponte de fibrose, contendo vasos sanguíneos e tecidos nervosos²². É estimado que as aderências peritoneais se desenvolvam em 93 a 100% dos casos após laparotomias do abdômem superior e 67 a 93%, após laparotomias do abdômem inferior. No entanto, apenas 15 a 18% dos casos requerem re-intervenções cirúrgicas²³. As aderências peritoneais podem ser classificadas quanto a sua origem em congênitas ou adquiridas. As congênitas são consequências de anormalidades embriológicas que se desenvolvem na cavidade peritoneal, enquanto as adquiridas resultam predominantemente de um trauma cirúrgico²⁴.

O diagnóstico das aderências é essencialmente intra-operatório²⁴, no entanto, necropsias de pacientes que não foram submetidos à cirurgia, identificaram aderências em 28% dos casos. Estas poderiam ser decorrentes de uma resposta inflamatória do peritônio consequente a infecções intra-abdominais, radioterapia, endometrioses, longos processos de diálises intraperitoneais entre outros²³. As aderências pós-operatórias podem aumentar de acordo com a idade do paciente, com o número de laparotomias prévias e com a complexidade dos procedimentos cirúrgicos ao qual o paciente foi submetido²². Durante o procedimento cirúrgico são fatores predisponentes à sua formação: as suturas, provavelmente secundária à isquemia²⁵⁻²⁸ e a eletrocoagulação, em especial quando utilizada extensivamente para adquirir hemostase²⁹⁻³¹.

Geralmente algumas pessoas são mais predisponentes a desenvolverem aderências do que outras, mas infelizmente não existem marcadores séricos nem radiológicos que são capazes de prever a incidência, severidade ou extensão das mesmas³². Clinicamente, elas podem ser assintomáticas ou sintomáticas. Seus sintomas podem variar desde a infertilidade feminina (15 a 20%), dores pélvicas/abdominais e obstrução intestinal. A mortalidade das aderências pode alcançar taxas em torno de 10%³³. Um terço dos pacientes submetidos a cirurgias abdominais abertas ou pélvicas foram admitidos pelo menos 2 vezes nos últimos 10 anos³⁴. Os pacientes que são submetidos às adesiólises cirúrgicas possuem uma alta incidência de formação de novas aderências (85%)³⁵⁻³⁷. A dor pélvica crônica pode ser severa e impactar negativamente na qualidade de vida dos pacientes. Elas são responsáveis por 30 a 50% das laparoscopias para diagnóstico e tratamento e por 5% das histerectomias²². As dores abdominais podem ser causadas indiretamente pela redução dos movimentos intestinais, assim como pelo alongamento do músculo liso das vísceras adjacentes ou da parede abdominal. Fibras nervosas são identificadas histológica e imunohistoquimicamente em todas as adesões peritoneais já examinadas³⁴.

Nos Estados Unidos (EUA), as obstruções baixas por aderências levaram a 2.200 mortes em 2001 e mais de 67.000 admissões hospitalares, com uma taxa de permanência hospitalar de 9,8 dias. Os gastos, segundo o sistema de saúde norte-americano é estimado em 5 bilhões de dólares anualmente³⁴. No Brasil, estima-se que os gastos do Sistema Único de Saúde (SUS) e os impactos socioeconômicos oriundos da formação de aderências e suas respectivas complicações também sejam expressivos, embora não haja dados na literatura que contabilizem esses gastos³⁸.

2.1.2 Fisiopatologia das aderências

As aderências são formadas por meio de um intrincado processo, que envolve o peritônio. Esta membrana serosa, exerce uma função protetora para o conteúdo da cavidade abdominal. A homeostase é mantida pela capacidade de troca de moléculas e produção de fluido peritoneal. Essa troca cria um ambiente adequado para a função dos órgãos intra-abdominais. Traumas do peritônio podem causar a formação de aderências peritoneais³⁹. O reparo do tecido peritoneal envolve vários tipos celulares,

fatores extra-celulares como as citocinas, fatores da coagulação e proteases, todos agindo juntos para restaurar a integridade tecidual⁴⁰.

Didaticamente, o processo cicatricial do peritônio parietal e visceral, ocorre basicamente em três etapas: **a latente**, subdividida nas fases inflamatória e catabólica com duração de três a quatro dias, **logarítmica ou proliferativa**, quando ocorre o anabolismo tecidual e fase de **maturação**, que se acentua a partir do 14^o dia do pós-operatório⁴¹.

O peritônio e a membrana serosa visceral são constituídos histologicamente de uma única camada de células mesoteliais, seguida por membrana basal e tecido conjuntivo frouxo adjacente. Quando ocorre uma descontinuidade desse conjunto de tecidos, ou seja, uma lesão, há inicialmente a coagulação da microcirculação regional e conseqüente ativação do sistema fibrinolítico⁴².

Posteriormente ocorre a fase inflamatória, que começa desde o surgimento da lesão até as 48 horas seguintes⁴². Nesta fase, há migração e quimiotaxia de polimorfonucleares (PMN) nas primeiras 12 horas e macrófagos, entre 24 e 36 horas após a lesão. Os macrófagos se distribuem sobre as redes de fibrina e promovem a remoção dos debris celulares. Na fase seguinte, denominada catabólica, são encontradas ilhotas de células mesoteliais e células mesenquimais primitivas unidas por desmossomos e zonas de oclusão, cerca de dois dias após o início do processo⁴⁴. Ao término da remoção tissular, em torno do quarto dia, detecta-se a presença em grandes proporções de fibroblastos secretores de matriz extracelular no local. Ao quinto dia após a lesão, existem diferenças entre os peritônios parietal e visceral. As células parietais são uniformes e contêm numerosas microvilosidades, lembrando fibroblastos em proliferação e unidos por junções de oclusão, enquanto no peritônio visceral encontram-se camadas contínuas de células mesoteliais, unidas por desmossomos e zonas de oclusão⁴⁴.

A recomposição do mesotélio parietal e a regeneração de sua membrana basal adjacente se completam entre cinco e seis dias⁴⁴. A re-mesotelização visceral e o ressurgimento de sua membrana basal ocorre entre cinco e oito dias. Densas fibras de colágeno formadas por fibroblastos estão presentes nas membranas basais após sua reorganização. Em um processo de cicatrização peritoneal normal a fibrinólise se

completa e o peritônio readquire aspecto semelhante ao normal entre oito e dez dias, os macrófagos não são encontrados entre 10 e 14 dias e a revascularização termina entre o 6º e o 7º dia após a lesão. A fase de maturação, que se inicia em torno do 10º dia e se estende por semanas, envolve a participação das metaloproteinases de degradação da matriz extracelular e dos inibidores teciduais das metaloproteinases⁴⁴.

Quaisquer formas de trauma no peritônio, sejam elas mecânica, térmica, química, infecciosa, cirúrgica ou isquêmica pode levar ao desenvolvimento de aderências. Essa quebra da homeostase promove a estimulação do eixo hipofisário-hipotalâmico para produção e liberação do hormônio estimulador do córtex da adrenal (ACTH), estimulando por sua vez a secreção de cortisol na circulação sistêmica⁴⁵. Este hormônio, em concentrações elevadas, imprime diversos efeitos deletérios sobre o organismo, especialmente sobre o sistema imune, causando leucopenia com linfocitopenia por indução de apoptose, e sobre a cicatrização tecidual, promovendo o retardo da regeneração das camadas mesoteliais viscerais, com a exposição das fibras colágenas tipo III e IV submesoteliais carregadas negativamente. Há também ampliação e ativação do fator XII (fator de Hageman) da cascata de coagulação. Ocorre, portanto, a redução do contingente celular destinado à ocupação do foco da lesão e a síntese e restabelecimento da membrana basal adjacente⁴⁶. Na tentativa de impedir a exposição da camada submesotelial, novas deposições de fibrina são formadas, aumentando a extensão e magnitude das aderências fibrinosas.

O processo inflamatório incrementa a cascata de coagulação através do aumento da expressão dos fatores pró-coagulantes teciduais, inibindo os mecanismos anticoagulantes pela diminuição da trombomodulina e da heparina e aumento da α 1-antitripsina, suprimindo assim a fibrinólise, devido ao aumento da expressão dos inibidores do ativador da plasmina tipos 1, 2 e 3 (PAI-1, PAI-2 e PAI-3). Além disso o prolongamento da fase inflamatória torna-se favorável à formação de aderências fibrosas na cavidade peritoneal. A persistência de infecção bacteriana concomitante prolonga a fase inflamatória da cicatrização local e, com isso, aumenta o tempo de cicatrização peritoneal e a formação de aderências, sobretudo entre as alças intestinais⁴⁷.

As lesões isquêmicas, como as provocadas por ligaduras de pedículos vasculares, promovem intensa produção de espécies reativas do oxigênio (ROS), tais como radicais hidroxila (OH), ânion superóxido (O₂⁻), peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e óxido nítrico (NO), ampliando a reação inflamatória peritoneal e reduzindo a atividade fibrinolítica peritoneal. As ROS promovem instabilidade da membrana celular e liberação do ácido aracdônico para metabolismo pela via das cicloxigenases 1 e 2 (COX-1 e COX-2) e lipoxigenase, resultando na liberação de prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos, leucotrienos e moléculas quimiotáticas, incrementando ainda mais a inflamação peritoneal⁴⁸.

2.1.3 Conduas para reduzir a formação de aderências

Uma síntese cirúrgica segura é essencial para uma efetiva redução de aderências peritoneais, como hemóstase adequada, mínimo manuseio dos tecidos, ampliação do campo visual, microcirurgia, redução do risco de infecção, redução da desidratação dos tecidos, limitação do uso de bisturi e suturas, e redução do uso de corpos estranhos⁴⁹.

Na literatura, há inúmeros trabalhos avaliando as técnicas e materiais destinados a prevenir e reduzir as aderências pós-operatórias⁵⁰. No entanto, os resultados não são conclusivos e, por vezes, parecem contraditórios. Uma larga variedade de adjuvantes farmacológicos, por exemplo, foram testados experimentalmente em modelos animais para prevenção de formação de aderências pós-operatórias de cirurgia abdominal aberta, como: dextrano 70 a 32%⁵¹ carboximetilcelulose, corticóides, anti-histamínicos e antibióticos de amplo espectro sem qualquer vantagem claramente demonstrada⁵². Uma revisão sistemática da Cochrane Library, de 2009, evidenciou que o uso de agentes fluidos e farmacológicos, na prevenção de aderências, é limitado.

Pesquisadores têm avaliado o uso de membranas naturais, membranas artificiais⁵³ e cola de fibrina⁵⁴ para recobrir a lesão peritoneal e prevenir a formação de aderências. O Surgicel® (Johnson & Johnson Medical Inc, Norwalk, Connecticut, USA) é um material composto de celulose oxidada regenerada (ORC), usado, inicialmente, para a prevenção de aderências cirúrgicas em modelos animais, com resultados não

conclusivos, que, no entanto, sugeriram benefícios. Outro material utilizado para a prevenção de aderências é o Interceed® (TC7R – Ethicon, Inc, Somerville, New Jersey, USA), também um composto de celulose oxidada regenerada (ORC), semelhante ao Surgicel®, porém com um custo bastante elevado. Presentemente, não há estudos com métodos de barreira que evidenciem a real eficácia na prevenção de aderências⁵⁵.

Uma limitação fundamental das barreiras mecânicas sítio específica é a necessidade do cirurgião prever onde as aderências clinicamente significativas podem se desenvolver. Como resultado destas limitações desenvolveu-se barreiras em gel e soluções tentando minimizar tal situação. Soluções, como Hyalobarrier® Gel é um gel viscoso de ácido hialurônico reticulado; o Intergel®, ácido hialurônico reticulado com cloreto férrico, Spraygel™, composto de soluções de polietilenoglicol (PEG) e Oxiplex®, um gel viscoelástico composto por carboximetilcelulose (CMC) e óxido de polietileno (PEO) apresentaram uma experiência inicial favorável, mas tiveram seu uso limitado ou pela complexidade de manuseio ou por trabalhos subsequentes não reproduziram os resultados promissores iniciais^{56,57}.

Subsequentes não reproduzem os resultados promissores iniciais⁷⁴⁻⁸⁰.

2.2 Vazamento de anastomose

Uma grande parte da morbimortalidade associada com a cirurgia colorretal, é conseqüência da deiscência anastomótica, que eleva bastante o risco de estoma permanente, sepse pélvica e morte. A preocupação com as anastomoses tem mais de 100 anos e está exposta no número de dispositivos mecânicos e de técnicas cirúrgicas descritas para confeccioná-los, todos com o objetivo de garantir a sua segurança. Há mais de 250 técnicas publicadas até 1923⁵⁸. A sua frequência pode chegar a 5% em cirurgias eletivas e 10-15% em cirurgias de emergência^{59,60}, mesmo com os avanços dos materiais e técnicas cirúrgicas. Entre os pacientes que desenvolvem vazamento de anastomose a taxa de mortalidade pode alcançar 30%⁶¹.

As deiscências anastomóticas podem ser decorrentes de uma série de fatores, como o fornecimento inadequado de oxigênio, tensão mecânica elevada, grande contaminação bacteriana e problemas técnicos como o tipo de sutura utilizada⁶².

Devido às grandes variedades nas taxas de incidência de vazamento de anastomose, encontradas na literatura, um grupo de estudos de câncer retal publicou sua definição e foi caracterizado como um defeito da parede intestinal no local da anastomose que leve a comunicação entre os compartimentos intra e extra-luminais. Além disso, baseado no manejo clínico, esse grupo de estudos descreveu um sistema de graduação uma vez que a deiscência fosse diagnosticada. O Grau A seria aquelas deiscências sem mudanças no manejo do paciente; o Grau B: aquelas deiscências que precisam de intervenção, mas não laparotomias e Grau C: quando requerem re-laparotomias. Entretanto, o consenso comum é que para o sucesso da sua terapia devam participar do seu manejo um cirurgião experiente, além de um suporte avançado em unidade de terapia intensiva⁶².

Os cirurgiões estão constantemente em busca do aperfeiçoamento nas técnicas de confecção das anastomoses, utilizando, por exemplo, materiais de sutura que provocam menos reações, tais como os grampeadores, anéis biofragmentáveis e colas adesivas⁶³. Trabalhos experimentais sobre a utilização de adesivos tissulares nas anastomoses colônicas são controversos, assim como estudos clínicos prospectivos randomizados são ausentes^{64,65}.

Mesmo após um século de investigação sobre fatores de risco e técnicas cirúrgicas, a fisiopatologia das deiscências de anastomose e sua profilaxia ainda não estão totalmente esclarecidos⁵⁹.

2.3 Polissacarídeo de melaço de cana-de-açúcar

Os polissacarídeos são macromoléculas formadas pela união de muitos monossacarídeos. Estes compostos apresentam uma massa molecular muito elevada que depende do número de unidades de monossacarídeos que se unem. A celulose é um polímero de cadeia longa, composto de um só monômero – a glicose e por isso é classificada como um polissacarídeo. Ela é uma das macromoléculas orgânicas mais abundantes da Terra, presente em todas as plantas superiores, algumas algas, fungos e bactérias. Diferem dos oligossacarídeos não apenas pelo tamanho da molécula e pelas propriedades físicas que lhes conferem características de polímeros, mas também pela maior facilidade de combinações possíveis durante a biossíntese, permitindo a

formação de ramificações em diferentes espécies de monossacarídeos com diferentes configurações⁶⁶.

Atualmente, tem-se verificado o interesse pelo uso da celulose de origem bacteriana. Algumas bactérias Gram-negativas, tais como *Acetobacter xylinum*, têm a capacidade de produzir celulose. Essa produção ocorre na forma de nano e microfibrilas que se agregam formando películas⁶⁷. Muitas outras bactérias produzem polissacarídeos extracelulares e atualmente estão sendo amplamente estudadas em virtude de sua aplicação industrial como gomas microbianas⁶⁸.

Algumas das características dos polisacarídeos são a sua potencial biocompatibilidade, o que viabiliza a sua aplicação farmacológica e biomédica, como a utilização em sistema de liberação de drogas, utilização em curativos e dispositivos para implantes cirúrgicos.⁶⁹⁻⁷⁰

Os polissacarídeos bacterianos de maior interesse são os extracelulares, devido à maior facilidade de extração e purificação. Em geral, esses exopolissacarídeos não contêm combinações orgânicas voláteis ou substâncias químicas tóxicas e podem ser sintetizados por fermentação de recursos renováveis, como subprodutos derivados da cana-de-açúcar, existindo atualmente a tecnologia eficiente para ampla produção destes exopolissacarídeos⁷¹⁻⁷².

Na década de 80, foi identificada e isolada na estação experimental de cana-de-açúcar do Carpina (EECA)- Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)- uma bactéria competitiva com o processo de fermentação da produção do álcool, classificada como *Zooglea sp.* Essa bactéria é capaz de produzir um exopolissacarídeo em meio constituído por melaço de cana-de-açúcar, passando a ser denominado "Polissacarídeo de melaço da cana-de-açúcar" (PCA). O PCA, em estado de pureza apresenta elasticidade, resistência à tração, flexibilidade e ainda pode ser modelado em diferentes formas, características físicoquímicas fundamentais para a confecção de implantes biológicos⁷³. Deve-se ressaltar ainda que diferentemente de outros polímeros biológicos, não encerra em sua estrutura, componentes aminados.

A citotoxicidade *in vitro* foi avaliada por meio do índice de adesão, produção de óxido nítrico e viabilidade celular de macrófagos alveolares de ratos. O composto

apresentou alta biocompatibilidade frente aos três ensaios de citotoxicidade utilizados⁷⁷.

No Núcleo de Cirurgia Experimental (NCE) da UFPE foram feitos estudos de aplicação de produtos do PCA produzidos pelo laboratório de biopolímeros, Polisa® na EECA-UFRPE. O polissacarídeo *in natura*, ainda com açúcares residuais, foi inicialmente empregado no tratamento de feridas acidentais em animais domésticos, resultando em aumento do tecido de granulação, controle da infecção e redução do tempo de cicatrização⁷⁸. A apresentação do PCA em forma de membranas vem sendo utilizada em diferentes projetos de pesquisa tais como em slings, para o tratamento da incontinência urinária⁷⁹.

Em diferentes aplicações *in vivo*, o polissacarídeo apresentou características adequadas de tolerabilidade e compatibilidade, como por exemplo, para o tratamento de perfurações crônicas da membrana timpânica, miringoplastia, em *Chinchilla laniger*⁸⁰, assim como remendo em arterioplastias femorais em cães⁸¹. Demonstrou-se também, através de estudos realizados em ratos, nos quais foram aplicadas membrana do PCA e tela de polipropileno, para efeito de comparação, no peritônio parietal, que não havia diferenças significativas quanto à formação de aderências com o epíplon e alças intestinais e a resposta inflamatória entre os dois tipos de materiais⁸².

Observou-se, no entanto, que não há na literatura qualquer relato do emprego do PCA como possível protetor de vazamento de anastomose colônica e redução das aderências peritoneais.



3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 População de estudo

A população de estudo foi composta de 45 ratos adultos (*Rattus norvegicus albinus*), da linhagem Wistar, com idade média de 207 dias (Min: 150 e Máx: 245), procedentes do biotério do Departamento de Nutrição da UFPE. Os animais foram mantidos no biotério do Núcleo de Cirurgia Experimental da UFPE, em gaiolas apropriadas, contendo no máximo cinco animais, em temperatura ambiente, livre de ruídos e estresse, respeitando os ciclos diurno e noturno e alimentados com ração apropriada e água potável *ad libitum* até o momento do experimento.

3.2 Desenho de estudo

O desenho de estudo enquadrou-se na categoria de ensaio biológico ou dos estudos de intervenção ou experimentais. Realizado no núcleo de cirurgia experimental da UFPE, entre 11/03/14 a 10/11/14. Um total de 45 ratos foram randomizados em três grupos de 15. Os animais dos três grupos foram submetidos a uma colectomia de 2 cm do cólon esquerdo e os cotos anastomosados com oito pontos separados e em seguida as anastomoses eram tratadas segundo os grupos:

- ❖ Grupo A - Controle: Irrigada com 5 ml de soro fisiológico a 0,9%;
- ❖ Grupo B - Fita: Fita de polissacarídeo perfurada com 0,5 cm de largura e 3 cm de comprimento, circundando o cólon;
- ❖ Grupo C - Gel: 5 ml de gel a 1% de polissacarídeo.

Cinco ratos de cada grupo, foram avaliados em diferentes tempos após o procedimento, sendo eles: 30º, 90º e 120º dias de pós-operatório, conforme o fluxograma apresentado na Figura 1.

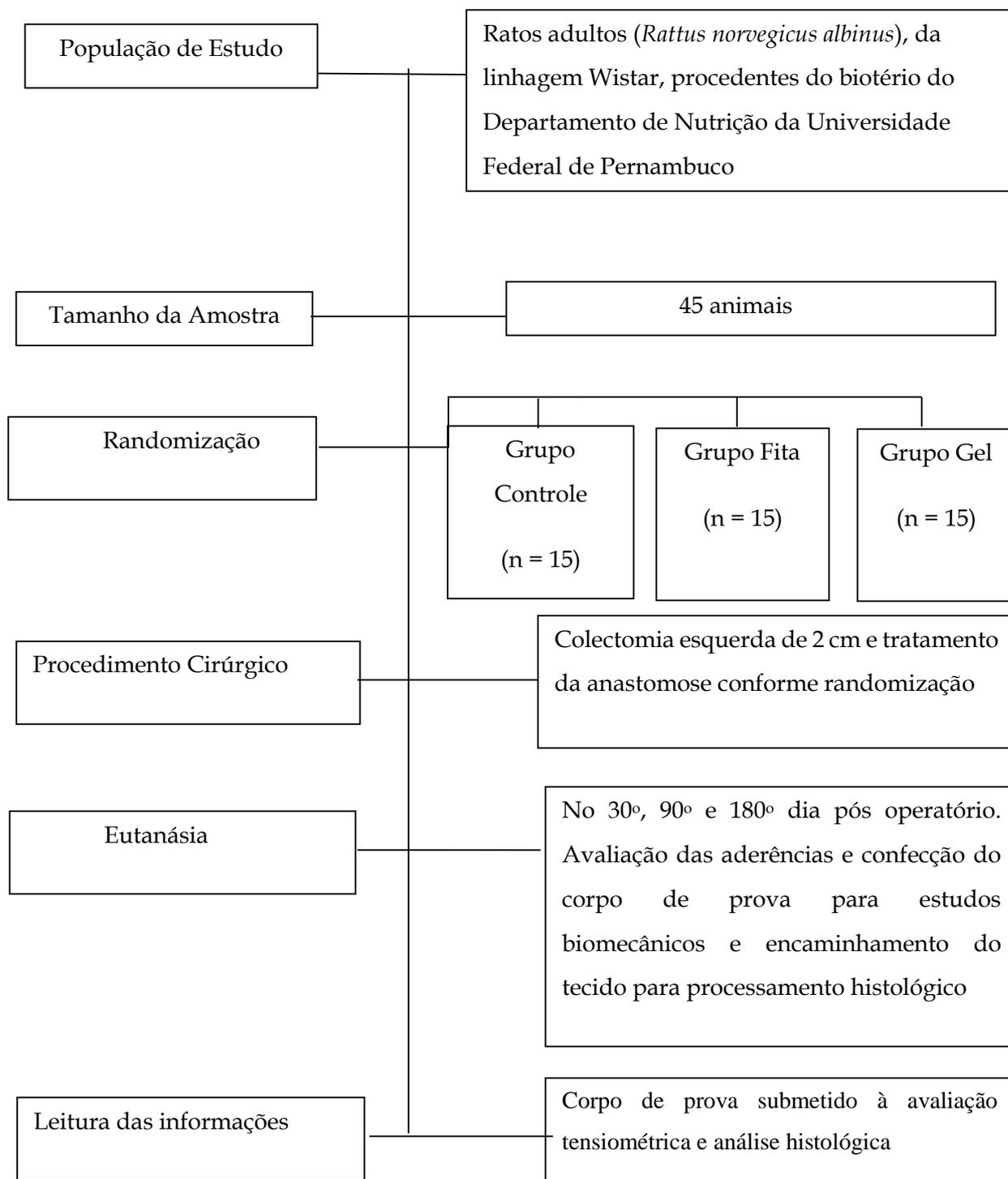


Figura 1. Fluxograma de coleta de dados

3.3 Elenco de variáveis

3.3.1 Variável independente

1. Soro Fisiológico 0,9%
2. Fita de polissacarídeo de melado de cana-de-açúcar;
3. Gel a 1% de polissacarídeo de melado de cana-de-açúcar.

3.3.2 Variáveis dependentes

1. Biomecânicas

- Força máxima de ruptura (F máx);
- Módulo de elasticidade (Mod Elast);
- Deformação específica da força máxima (Def Esp F máx).

2. Aderências:

- Graduação;
- Extensão;
- Tipo;
- Tenacidade.

3. Histológicas:

- Fibrose;
- Reação inflamatória;
- Proliferação vascular.

3.3.3 Definição das variáveis dependentes

3.3.3.1 Biomecânicas

- F máx: Força máxima aplicada imediatamente antes da ruptura do corpo de prova expressa em Newtons (N);
- Mod Elast: É medido pela razão entre a tensão aplicada e a deformação resultante, dentro do limite elástico, em que a deformação é totalmente reversível e proporcional à tensão (Megapascals - MPa);
- Def esp f Max: É a relação entre a diferença da altura que sofre o corpo de prova pela aplicação da força máxima antes da ruptura e a sua altura inicial. (%)

3.3.3.2 Aderências

As aderências foram classificadas de maneira semi-quantitativa utilizando:

- Um escore numérico para a graduação das aderências Quadro 1⁸⁸;
- O sistema multidimensional de escore das aderências⁸⁹ de acordo com a porcentagem da extensão de alcance das aderências, o tipo e a tenacidade, Quadro 2

Quadro 1 - Grau das aderências⁸³

Grau	Definição para modelo animal	Definição para estudo clínico
0	Nenhuma aderência	Nenhuma aderência
1	Insignificante, aderência peritoneal isolada não afetando o intestino, nem reduzindo a mobilidade colônica e sem vascularização discernível	Insignificante, aderências delgadas isoladas, fácil de separar, afetando <50% da área peritoneal de risco.
2	Grave, aderência ligamentosa ou vascularizada em "corda" entre o peritônio parietal e visceral	Moderada, aderências delgadas numerosas, fácil de separar, afetando >50% da área de risco.
3	Muito grave, aderência extensa ligamentosa/vascularizada reduzindo a mobilidade colônica .	Grave, densas, aderências extensas que não podem ser separadas e cobrindo >50% da área de risco.

Quadro 2 - Classificação das aderências sítio-específica⁸⁴:

Características da aderência	Escore
Extensão do sítio envolvido	
Nenhum	0
<25%	1
<50%	2
<75%	3
<100%	4
Tipo	
Nenhuma	0
Película, transparente, avascular	1
Opaca, translúcida, avascular	2
Opaca com capilares presentes	3
Opaca com vasos grandes presentes	4
Tenacidade	
Nenhuma	0
Aderências separadas facilmente	1
Aderências lisadas com tração	2
Aderências de dissecação complicada	3

3.3.3.3 Histologia

Os parâmetros histológicos avaliados foram: fibrose, reação inflamatória e proliferação vascular, avaliado por uma escala semiquantitativa modificada de 0-3⁸⁵, apresentados no Quadro 3.

Quadro 3 - Parâmetros histológicos

Características histológicas	Score
Fibrose	
Nenhum	0
Mínima, frouxa	1
Moderada	2
Densa	3
Reação inflamatória	
Nenhuma	0
Presença de células gigantes, linfócitos ocasionais e células plasmáticas	1
Presença de células. gigantes, células plasmáticas, eosinófilos e neutrófilos.	2
Presença de muitas células inflamatórias e microabscessos	3
Proliferação vascular	
Nenhuma	0
Proliferação vascular leve	1
Proliferação vascular moderada	2
Intensa proliferação vascular	3

3.3.4 Potenciais variáveis de confusão

Quadro 4 - Variáveis potencialmente de confusão

Nome da variável	Definição/categorização
Dia do pós-operatório (DPO)	Período compreendido entre a data da cirurgia e o dia da eutanásia, expresso em dias.
Peso na data da cirurgia	Peso do animal no dia da cirurgia, expresso em gramas (g)
Peso na data da eutanásia	Peso do animal no dia da eutanásia, expresso em gramas (g)

3.4 Procedimentos técnicos

O procedimento cirúrgico foi executado pelo autor com o auxílio de dois estudantes de medicina, treinados pelo mesmo, além da assistência de veterinários.

3.4.1 Confeção do polissacarídeo do melaço da cana-de-açúcar

Os produtos de polissacarídeos foram produzidos e fornecidos pela POLISA®, que está localizada no laboratório de biopolímeros da estação experimental de cana-de-açúcar na cidade de Carpina, Pernambuco (EECAC/UFRPE). Para se obter uma uniformização das próteses sob a forma de fita e gel de biopolímeros, foram utilizadas amostras de um mesmo lote (Fig. 2).

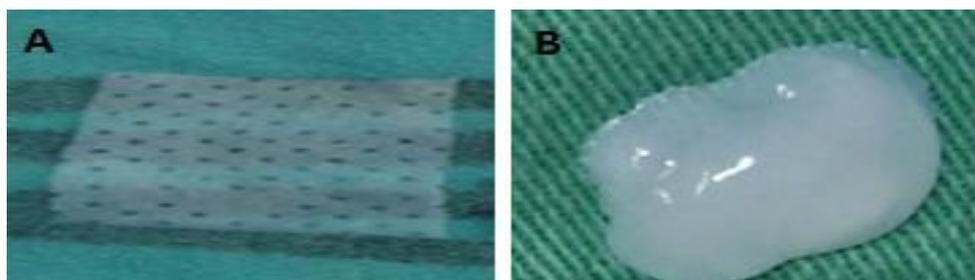


Figura 2. Amostra representativa da membrana de polissacarídeo de cana-de-açúcar (A) e do gel de polissacarídeo de cana-de-açúcar (B).

3.4.2 Pesagem / Anestesia / Preparo pré-operatório

Os animais foram pesados antes do procedimento cirúrgico e adequadamente identificados. O procedimento anestésico foi realizado conforme protocolo do Núcleo de Cirurgia Experimental (NCE) da UFPE. Inicialmente os animais receberam via intramuscular sulfato de atropina na dose de 0,44mg/Kg de peso corporal. Cerca de 10 minutos após a aplicação de atropina, os animais receberam cloridrato de cetamina (75 mg/kg) e xilazina (20 mg/kg), ambos também administrados via intramuscular. O plano anestésico para os procedimentos foi avaliado pela frequência respiratória regular e ausência de reflexos a estímulos. Durante os procedimentos cirúrgicos era administrada 0,5 ml/min de Oxigênio por meio de máscara nasal. A tricotomia da região abdominal foi realizada logo após a anestesia.

3.4.3 Procedimento cirúrgico

3.4.3.1 Intervenção cirúrgica

Os animais foram posicionados na mesa operatória, com fixação dos membros com fita cardíaca. A antisepsia foi realizada com digluconato de clorexidina e a assepsia com aposição de campo cirúrgico estéril fenestrado (Fig. 3).



Figura 3. Intervenção cirúrgica. A, mesa de procedimento cirúrgico e B, animal em decúbito dorsal na mesa cirúrgica e tricotomizado na região ventral.

O acesso cirúrgico foi obtido através de uma incisão mediana longitudinal de aproximadamente 4 cm de extensão, para abertura da pele, tecido subcutâneo, aponeurose e peritônio. Pinças foram utilizados como afastadores para facilitar a visualização do campo e o procedimento cirúrgico.

Após identificação do cólon esquerdo, local do procedimento, uma colectomia de 2 cm de extensão foi realizada com tesoura após isolamento do cólon sem lesão de sua arcada vascular. A anastomose foi realizada com pontos separados (oito) de fio de polipropileno número 4-0.

Nos animais do grupo A (Controle) a linha de sutura foi irrigada com 5 ml de soro fisiológico (0,9%). Nos animais do grupo B (Fita) a linha de sutura da anastomose foi revestida com uma fita de 0,5 cm de largura e 3 cm de comprimento de um filme de polissacarídeo, medido com a ajuda de um paquímetro, circundando e fixando no local da anastomose também com fio de polipropileno 4-0 (Fig. 4A,B). Nos animais do grupo C (Gel) a linha de sutura da anastomose foi revestida com 5 ml de gel de polissacarídeo a 1% em uma camada circundando toda a anastomose.

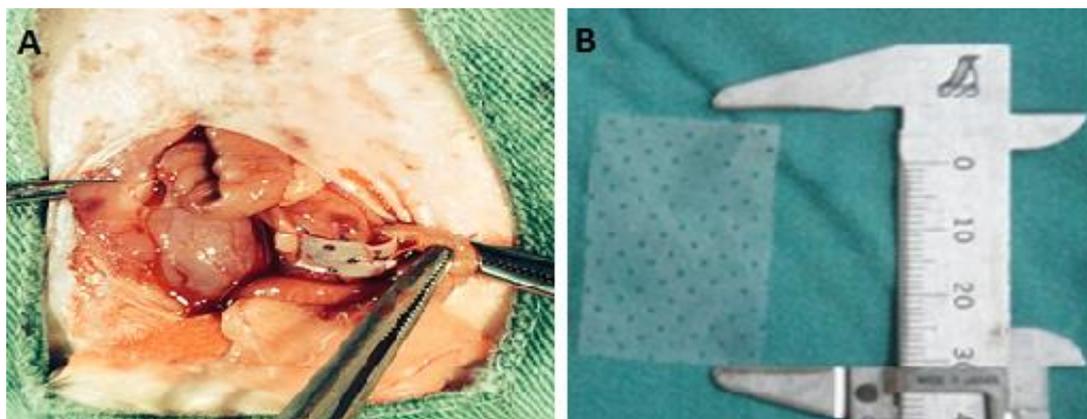


Figura 4. A, anastomose tratada com fita; B, aspecto e medição da fita de polissacarídeo com o auxílio de um paquímetro.

3.4.3.2 Avaliação clínica

Após o procedimento, os animais foram encaminhados para recuperação com acesso a oxigênio puro em pressão ambiente por aproximadamente 20 minutos, em gaiolas individuais, aquecidas a 37°Celsius.

A evolução dos animais curva ponderal, grau de atividade e eriçamento de pêlos) foi realizada diariamente pelo autor até o 7º dia pós-operatório, posteriormente a cada 7 dias até o 21º dia e de 30 em 30 dias até o 120º dia e após no 180º dia de pós operatório.

Em caso de óbito foi realizada necrópsia para avaliar possíveis pontos de vazamento da anastomose e aderências.

3.4.4 Retirada das peças

Os animais operados foram sacrificados de acordo com o período pós-operatório em que se encontravam, ou seja, no 30º, 90º e 180º dia. Os animais foram novamente pesados e anestesiados, conforme descrito anteriormente. Procedeu-se então a abertura da cavidade abdominal para avaliação das aderências intraperitoneais e retirada de um segmento de cólon esquerdo de 3 cm para estudo biomecânico e anatomopatológico. Após esse procedimento os animais foram sacrificados com uma dose letal de tiopental sódico intra cardíaco (Thiopentax®, Laboratório Cristália-BR) (75mg/Kg de peso coporal).

3.4.5 Avaliação Tensiométrica

Os testes biomecânicos foram realizados no Laboratório de Polímeros, no Departamento de Química da Universidade Federal de Pernambuco, em máquina universal de testes EMIC® DL500 (Fig. 5A,B) com sistema eletrônico para aquisição de dados, *software Mtest*, versão 3.

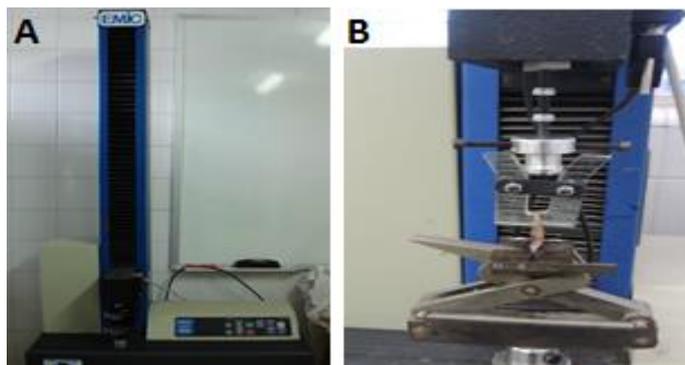


Figura 5. A, máquina universal de testes EMIC® DL500 utilizada para realização dos testes biomecânicos e B, detalhe das presilhas da máquina (EMIC® DL500) para apreensão do corpo de prova.

Utilizando-se um paquímetro, seguiu-se o preparo do segmento intestinal para o estudo biomecânico e histológico, inicialmente fazendo-se a retirada manual das fezes. O corpo de prova foi constituído pelo fragmento que englobasse todas as camadas do cólon entre a anastomose. O corpo de prova foi então colocado na máquina, devidamente fixado em presilhas, e aplicada uma força tênsil progressiva de até 100N a uma velocidade constante de 30mm/min, até a ruptura do corpo de prova.

3.4.6 Avaliação histológica

O segmento do cólon com anastomose foi fixado por imersão em formaldeído a 10%, tamponado e encaminhado para o Laboratório de Pesquisa Histopatológica do centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco.

Os espécimes foram analisados por um único patologista, que não possuía conhecimento prévio de quais grupos os espécimes pertenciam. O material foi desidratado em séries crescentes de álcool etílico e incluído em parafina. Os cortes histológicos foram feitos em um micrótomo de rotação LÉICA 1512, produzindo cortes teciduais com quatro micrômetros de espessura. O material foi reidratado e corado

com hematoxilina e eosina e com tricrômico de Masson, para as análises histológicas semiquantitativas sob microscopia no Laboratório de Patologia da Universidade Federal de Pernambuco.

3.5 Testes estatísticos usados

Para as análises estatísticas foi construído um banco de dados utilizando-se uma planilha eletrônica Microsoft Excel e exportado para o software *Statistical Package For Social Sciences (SPSS)*, versão 18.

Os dados biométricos e as variáveis biomecânicas entre os tempos de coleta da pesquisa e os grupos de tratamento foram calculados utilizando-se o teste ANOVA, sendo o teste de Kolmogorov-Smirnov realizado inicialmente para se confirmar a normalidade dos dados. Como os dados para a taxa de mortalidade não apresentaram distribuição normal, o teste de Tukey foi utilizado.

Tanto para a avaliação das aderências (gravidade, percentual, tipo e tenacidade) quanto da histologia (reação inflamatória, fibrose e vasos) foram calculadas as frequências percentuais e construídas as respectivas distribuições de frequência para cada grupo de tratamento avaliado. A distribuição dessas características dentro dos grupos de tratamento foi avaliada por meio do teste do Qui-Quadrado para homogeneidade. Nos casos em que as suposições dos testes não foram satisfeitas aplicou-se o teste exato de Fisher. Todas as conclusões foram elaboradas considerando o nível de significância de 5%.

3.6 Procedimentos Éticos

Esta pesquisa teve aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Pernambuco, processo n° 23076.056559/2012-58, que se encontra de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos. (ANEXO A).



4 RESULTADOS

4.1 Dados biométricos

O acompanhamento do peso corporal médio dos animais nos três grupos experimentais foi realizado em três momentos diferentes: no período de pré-tratamento, ao longo do tratamento e no momento do sacrifício dos animais (Tabela 1). Não foram observados quaisquer alterações no peso dos animais em decorrência do tratamento recebido.

Tabela 1. Peso corporal médio ao longo do experimento

Fator avaliado	Tipo de tratamento			p-valor
	Soro	Fita	Gel	
Peso 1	267,07 ± 32,10	280,78 ± 25,72	260,13 ± 24,60	0,227
Peso 2	253,29 ± 34,73	267,56 ± 26,03	247,80 ± 24,71	0,281
Peso 3	289,64 ± 42,68	288,78 ± 51,14	277,47 ± 34,36	0,697

Peso corporal médio dos animais nos três grupos experimentais foi realizado em 3 momentos diferentes: no período de pré-tratamento (Peso 1), ao longo do tratamento (Peso 2) e no momento do sacrifício dos animais (Peso 3). Valores = média ± desvio padrão, p-valor de acordo com o teste ANOVA.

4.2 Taxa de mortalidade

O procedimento cirúrgico e as aplicações do soro, fita e gel de polissacarídeo de melação de cana-de-açúcar foram bem tolerados pelos animais. A taxa de mortalidade total foi de 15,55%, (Tabela 2).

Tabela 2. Taxa de mortalidade ao longo do experimento.

Causa morte	Tipo de tratamento			Total
	Soro ^a	Fita ^b	Gel ^a	
Anestesia	0(0,00%)	1(2,22%)	0(0,00%)	1(2,22%)
Evisceração	0(0,00%)	1(2,22%)	0(0,00%)	1(2,22%)
Obstrução	0(0,00%)	3(6,66,%)	0(0,00%)	3(6,66,%)
Peritonite	1(2,22%)	1(2,22%)	0(0,00%)	2(4,44%)
Total	1(2,22%)	6(13,32%)	0(0,00%)	7(15,55%)

Taxa de mortalidade absoluta e relativa dentre os grupos tratados com soro, a fita e o gel de polissacarídeo de cana-de-açúcar. Letras diferentes significam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

Quando comparada a taxa de mortalidade dentre os grupos, observou-se que houve uma incidência maior na mortalidade do grupo tratado com a fita ($p < 0,05$) em relação ao grupo tratado com o gel e controle.

4.3 Variáveis biomecânicas

A avaliação das características biomecânicas do corpo de prova podem ser observadas na Tabela 3.

Observou-se que embora houvesse uma pequena variação entre os grupos tratados, as características biomecânicas de $F_{máx}$ e o Mod elast do corpo de prova permaneceram idênticas, independente do tratamento com soro, fita ou gel de polissacarídeo, e independente do tempo de tratamento: 30, 90 e 180 dias.

No entanto, ficou claramente evidenciado que a característica biomecânica de Def esp $F_{máx}$ foi alterada no grupo tratado com o gel, ao longo dos diferentes tempos de tratamento ($p = 0,009$).

Tabela 3. Características biomecânicas do corpo de prova.

Fator avaliado	Tipo de tratamento			<i>p</i> -valor
	Soro	Fita	Gel	
FMÁX				
30 dias	3,73 ± 0,88	3,88 ± 0,97	4,65 ± 1,30	0,386
90 dias	4,00 ± 0,41	4,02 ± 1,57	4,98 ± 1,05	0,241
180 dias	3,90 ± 0,96	3,94 ± 0,47	4,13 ± 0,71	0,898
<i>p</i> -valor	0,854	0,987	0,449	-
DEF ESP F MÁX				
30 dias	43,31 ± 13,02	64,49 ± 22,43	60,49 ± 25,53	0,295
90 dias	63,99 ± 15,91	60,28 ± 25,19	48,68 ± 9,27	0,299
180 dias	69,54 ± 30,64	62,73 ± 2,37	99,81 ± 27,87	0,137
<i>p</i> -valor	0,159	0,967	0,009	-
MOD ELAST				
30 dias	0,43 ± 0,27	0,14 ± 0,08	0,27 ± 0,18	0,139
90 dias	0,34 ± 0,26	0,20 ± 0,18	0,33 ± 0,12	0,698
180 dias	0,33 ± 0,17	0,25 ± 0,27	0,28 ± 0,05	0,822
<i>p</i> -valor	0,771	0,712	0,729	-

F MÁX: força máxima de ruptura, DEF ESP F MÁX: deformação específica da força máxima, MOD ELAST: módulo de elasticidade. Valores = média ± desvio padrão, *p*-valor de acordo com o teste ANOVA.

4.4 Análise das aderências

Na tabela 4 estão apresentadas a gravidade, o percentual o tipo e a tenacidade das aderências entre os grupos tratados. Observa-se que não houve diferença estatística significativa com relação ao tratamento.

Tabela 4. Distribuição da aderência de acordo com o grau, percentual de adesão, tipo e tenacidade.

Fator avaliado	Tipo de tratamento			<i>p-valor</i>
	Soro (n=14)	Fita (n=9)	Gel (n=15)	
Grau				
Insignificante	3(21,4%)	3(33,3%)	8(53,3%)	0,509
Grave	6(42,9%)	4(44,5%)	4(26,7%)	
Muito grave	5(35,7%)	2(22,2%)	3(20,0%)	
% adesão				
<25%	2(14,3%)	4(44,4%)	7(46,7%)	0,215
25% a 50%	4(28,5%)	3(33,3%)	6(39,9%)	
51% a 75%	6(42,9%)	1(11,1%)	1(6,7%)	
>75%	2(14,3%)	1(11,1%)	1(6,7%)	
Tipo				
1	2(14,3%)	5(55,6%)	7(46,7%)	0,266
2	2(14,3%)	1(11,1%)	3(20,0%)	
3	6(42,9%)	3(33,3%)	4(26,7%)	
4	4(28,5%)	0(0,0%)	1(6,6%)	
Tenacidade				
1	3(21,4%)	2(22,2%)	5(33,3%)	0,848
2	3(21,4%)	4(44,5%)	4(26,7%)	
3	7(50,1%)	3(33,3%)	6(40,0%)	
4	1(7,1%)	0(0,0%)	0(0,0%)	

Valores apresentados como frequência absoluta e frequência relativa, *p-valor* de acordo com o teste Exato de Fisher.

4.5 Análise histológica

Dentre as três variáveis inicialmente propostas para análise, apenas a reação inflamatória não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Foi observado ainda que a presença do PCA na forma de fita nas anastomoses intestinais leva a uma alteração histológica peculiar com um aumento de fibrose densa ($p < 0,05$) e de uma proliferação vascular intensa ($p < 0,05$) (Tabela 5).

Tabela 5. Distribuição da reação inflamatória, fibrose e vasos sanguíneos segundo o tipo de substância utilizada.

Fator avaliado	Tipo de tratamento			<i>p-valor</i>
	Soro ^a	Fita ^b	Gel ^a	
Reação inflamatória				
1	5(35,7%)	2(22,2%)	8(53,3%)	0,388
2	8(57,2%)	7(77,8%)	7(46,7%)	
3	1(7,1%)	0(0,0%)	0(0,0%)	
Fibrose				
1	2(14,3%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0,041
2	5(35,7%)	0(0,0%)	2(13,3%)	
3	7(50,0%)	9(100,0%)	13(86,7%)	
Vasos				
1	5(35,7%)	0(0,0%)	1(6,7%)	0,007
2	5(35,7%)	0(0,0%)	4(26,7%)	
3	4(28,6%)	9(100,0%)	10(66,7%)	

Valores apresentados como frequência absoluta e frequência relativa. Letras diferentes significam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) de acordo com o teste Exato de Fisher



5 DISCUSSÃO

Para a escolha do rato como o animal de experimentação foi considerada a facilidade de aquisição, a possibilidade de empregar um número adequado de espécimes, a grande resistência às infecções, o baixo custo de obtenção, a homogeneidade genética e a similaridade de exposição aos agravos. O ciclo de vida dos ratos Wistar é de aproximadamente 36 meses, o que permite estudos em menor período de tempo¹⁹.

Os roedores são animais isogênicos ou isogâmicos. Conseguem suportar cruzamentos totalmente consangüíneos, permitindo acasalamentos entre irmãos por várias gerações. As linhagens são obtidas a partir de cruzamento de animais consangüíneos por 20 gerações consecutivas. Esse fator permite a criação de populações estáveis e geneticamente homogêneas. A ausência de variáveis genéticas inter-animais torna menor o número amostral mínimo para um experimento, coexistindo apenas as variáveis ambientais ou experimentais⁸⁶.

O gel e a fita são constituídos de PCA. O gel é uma apresentação hidratada e homogeneizada do polissacarídeo e a fita é constituído de polissacarídeo desidratado⁷⁵. O polissacarídeo da cana-de-açúcar tem sido utilizado em diversas áreas da cirurgia experimental como na cicatrização de feridas cutâneas⁷⁸, reconstrução ureteral⁸⁷, tratamento da incontinência urinária através de *slings*⁷⁹, tratamento do refluxo vésico-ureteral⁸⁸, curativo após cirurgia de hipospádia⁸⁹, curativos para o tratamento de perfuração da membrana timpânica⁸⁰, enxerto vascular⁸¹, correção cirúrgica de falha músculo-aponeurótica⁸², correção dos defeitos osteocondrais⁹⁰.

Os procedimentos cirúrgicos de aplicação do soro, fita e gel de polissacarídeo

de melão de cana-de-açúcar, foram bem tolerados pelos animais, corroborando com os trabalhos anteriores que utilizavam esses produtos. No entanto, foi observada uma taxa de mortalidade mais elevada no grupo que recebeu a fita.

A técnica cirúrgica de aplicação da fita aparentemente de maior porte, demandava um tempo cirúrgico maior por ser necessário uma maior dissecação do mesocólon esquerdo, aposição do PCA ao redor de toda a área da anastomose além de um ponto de fixação da fita no cólon para que não houvesse migração da mesma com o peristaltismo colônico. A aposição da fita ao nível da linha de sutura pode levar a uma compressão das arcadas terminais que irrigam o colon, podendo ser o responsável pelo vazamento (peritonite) existente em um animal deste grupo. A maior taxa de obstrução intestinal no pós operatório deveu-se a presença de um ponto de estenose ao longo da anastomose na topografia da fita. Os três casos aconteceram nos primeiros cinco dias após o procedimento, o que corrobora mais para um problema técnico do que intolerabilidade. A mudança de técnica cirúrgica com aposição da fita, evitando o estrangulamento da alça é uma suposição para melhores resultados.

Este é o primeiro estudo investigando o efeito do gel e da fita do PCA sobre as características biomecânicas do cólon. Trabalhos experimentais já mostram alterações do comportamento mecânico do cólon após realização de uma anastomose⁹², no entanto, sua relação com o uso PCA, ainda não era conhecido.

Em 1853, Paget, introduziu a medida de força tênsil de tecidos ao seccionar e reparar cirurgicamente tendões de coelhos. Mediante tecnologia rudimentar observou que o segmento reparado ganhava força ao longo do período pós-operatório. Posteriormente, em 1929, Howes et al sistematizaram a técnica de medida da força tênsil através de dispositivo mecânico (tensiômetro) que apresentava resultados reprodutíveis.⁹³ Mais recentemente foi desenvolvido um método mecânico computadorizado de alta precisão para a determinação das análises biomecânicas. A correlação entre este método e o de pressão de ruptura, já consagrado na literatura, demonstrou que as medidas de ruptura seriam as mais adequadas nas pesquisas de integridade e da avaliação biológica das anastomoses⁹².

A importância em se avaliar o comportamento mecânico de alças intestinais, está relacionada aos problemas gerados pelo extravasamento do material fecal contido em seu interior para a cavidade abdominal⁵⁹.

O estudo da cicatrização das anastomoses intestinais com o objetivo de reduzir a morbi-mortalidade de eventuais vazamentos necessita de maneiras de quantificação. Os testes biomecânicos analisam a resistência mecânica das anastomoses, sua evolução desde o momento da lesão e ao longo do processo de cicatrização. Esses aspectos são fundamentais para uma correta compreensão de muitos problemas da fisiologia desses tecidos. A $F_{máx}$ de ruptura de uma anastomose, a Def Esp F_{max} e o Mod elast analisam parcialmente as propriedades da parede intestinal, pelo fato da complexidade dessas estruturas serem consideradas viscoelásticas não lineares⁹².

A F_{max} de ruptura de uma anastomose corresponde melhor à avaliação biológica da cicatrização das anastomoses⁹². Verificou-se que apesar da média da F_{max} de ruptura ser maior no tratamento com Gel, o teste de comparação das médias não foi significativo, comprovando que não houve influência do uso do polissacarídeo do melão de cana-de-açúcar, nos estados de gel e fita em aumento da força para que houvesse ruptura da anastomose.

O Mod Elast é um parâmetro mecânico que proporciona uma medida da rigidez de um material sólido. É um parâmetro fundamental pois está associado com a descrição de várias outras propriedades mecânicas, como por exemplo a tensão de ruptura. Vários pesquisadores optam por esse método porque demonstrou ser o mais preciso em relação aos demais para medição da resistência tecidual, ao refletir exatamente a integridade da anastomose⁹⁴⁻⁹⁶. Tal método não apresenta utilidade no período inicial da cicatrização, porque até o quarto dia pós-operatório não se registram mudanças na resistência da anastomose. Apenas após 14 dias, a resistência é atribuída à cicatrização, e não à sutura⁹⁷.

Com relação ao Mod Elast, ficou observado que o teste de comparação de médias não foi significativo em nenhum grupo de tratamento. Podendo-se inferir que a aposição de PCA nas anastomose colônicas em ratos não difere em relação a resistência tecidual.

Um maior valor da Def Esp Fmax significa que a alça colônica sofrerá uma maior distensão antes de se romper, ou seja, se tornará mais elástico. Essa característica pode ser importante em algumas patologias em que há grande distensões intestinais com um risco iminente de sua ruptura, principalmente após procedimentos cirúrgicos com anastomose. A maior Def esp Fmáx também contribui para uma diminuição da pressão intracolônica, podendo inclusive ser um fator protetor ao surgimento de algumas patologias colônicas, como os divertículos. Os divertículos acontecem devido a uma diminuição progressiva da elasticidade da parede intestinal que, sob pressão, dá origem a pontos fragilizados⁹⁸.

Na comparação da Def esp fmax em cada grupo de tratamento, observou-se que o teste de comparação de média foi significativo no grupo de tratamento com gel, ao longo do tempo (p-valor=0,009), indicando que o Def esp traz um aumento significativo aos 180 dias. No entanto, esse aumento de elasticidade não foi observado quando comparamos o uso do gel com o Soro fisiológico ou fita.

Ao analisar as características biomecânicas observamos que apesar da reação de cicatrização ser diferente nos diferentes grupos, pelo efeito indutor da produção de colágeno (I e III) pelo PCA, não existe uma relação com as variáveis estudadas nesse experimento. Um estudo realizado com ensaio biológico em ratos, submetidos a laparotomias medianas consecutivas com intervalos de 30 dias, quando se compararam as concentrações de colágeno tipo I e III e a resistência da parede abdominal, observou-se diferença significativa de colágeno maduro (tipo I) entre os grupos submetidos a três ou dois procedimentos cirúrgicos e o controle submetido a apenas uma laparotomia mediana⁵⁶. Entretanto, isso não interferiu na força tênsil da ferida da parede abdominal que foi similar nos três grupos estudados. Um outro estudo experimental em ratos foi realizado na Mayo Clinic comparando-se quatro tipos de próteses com a sutura simples para avaliar o tipo de resposta histológica do hospedeiro e correlacioná-la com propriedades biomecânicas. O estudo demonstrou que após 90 dias de pós-operatório não houve diferença significativa das médias das forças de ruptura entre os grupos.

A exposição da serosa peritoneal nos tecidos danificados durante a cirurgia representa um passo crucial na formação de aderências. A aplicação de barreiras

mecânicas profiláticas compostas por materiais sólidos e líquidos tem contribuído na redução de aderências⁹⁹, embora nenhum produto seja substituto da boa técnica cirúrgica. De acordo com os resultados aqui apresentados, a indução das aderências foi eficaz resultando na formação de aderências extensas e densas em todos os grupos.

No presente estudo foi utilizado um sistema de escore multidimensional com associação do percentual de extensão da aderência, tipo e tenacidade⁸⁴ determinando a gravidade das aderências de acordo com o escore obtido. A metodologia comprovou que o percentual, o tipo e a tenacidade das aderências nos diferentes grupos não foram estatisticamente diferentes.

Um sistema quantitativo de avaliação sítio-específica da extensão da aderência na área traumatizada não foi utilizado, o que limita as análises a um caráter subjetivo de escores, no entanto, vale salientar que em análises prévias para avaliação de aderências em tubas uterinas de ratas mostraram que os escores do sistema multidimensional se relacionavam com as medidas da avaliação quantitativa⁶.

A relação do PCA em formato de gel sobre as aderências peritoneais já havia sido estudada anteriormente, no qual foi observado que o PCA é significativamente capaz de reduzir as aderências peritoneais quando lesões uterinas em ratas eram confeccionadas⁶. No entanto, este trabalho não reproduziu os mesmos achados talvez porque a manipulação intestinal com sangramento e contaminação de fezes, mesmo que de forma controlada promova uma reação inflamatória mais duradoura, que irá interromper a cascata da cicatrização e não alterar a intensidade e extensão da aderência com o uso do PCA¹⁰⁰.

Em relação à avaliação histológica observa-se que o PCA em seu estado de gel e fita não induziram alterações significativas quanto as reações inflamatórias. Esse dado é semelhante ao encontrado nas avaliações de lesões uterinas tratados com gel de PCA⁶ e nas avaliações do tratamento de defeitos da parede abdominal em ratos tratados com fita de PCA⁸². No entanto, a proliferação vascular e a intensidade de fibrose foram significativamente maiores no grupo tratado com fita quando comparado com o grupo controle e gel. A fita do PCA é envolvida por uma reação tipo corpo estranho nas suas superfícies, que atrai uma maior quantidade de neutrófilos e monócitos nos primeiros sete dias após o implante. Posteriormente, essas células se

transformam em macrófagos, que iniciam estímulos para produção de tecido de granulação com angiogênese e fibroplasia. Após alguns dias do implante não se observa reação inflamatória aguda corroborando a boa incorporação do PCA ao tecido hospedeiro. Apesar da reação de corpo estranho também estar presente no grupo tratado com gel, a deposição de fibras de colágeno no grupo tratado com fita é bastante peculiar. Nela há uma distribuição de células inflamatórias e produção de colágeno em torno da prótese multiperfurada, que foi utilizada no experimento. A neovascularização e deposição de fibrose ocorre ao longo de toda a extensão da prótese⁸².



6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados encontrados, por meio da metodologia empregada para avaliar os parâmetros biomecânicos, ocorrência e intensidade das aderências, reação inflamatória, neoformação vascular e fibrose na linha de sutura da anastomose de cólon esquerdo de ratos, pode-se afirmar que:

1. Houve maior elasticidade da parede intestinal, traduzida por maior deformação específica da força máxima aos 180 dias nos ratos tratados com gel de polissacarídeo de cana-de-açúcar.
2. A ocorrência de aderências foi semelhante nos ratos dos três grupos tratados com soro fisiológico, fita e gel de polissacarídeo de cana-de-açúcar.
3. A fibrose e a proliferação vascular foi mais intensa nos ratos tratados com a fita do polissacarídeo de cana-de-açúcar, enquanto a reação inflamatória foi semelhante em todos os grupos nos tempos estudados.



REFERÊNCIAS

1. Brill AI, Nezhat F, Nezhat CH, Nezhat C. The incidence of adhesions after prior laparotomy: a laparoscopic appraisal. *Obstet Gynecol* 1995; 85(2):269-72.
2. Al-jaroudi D, Tulandi T. Adhesion prevention in gynecologic surgery. *Obstet Gynecol Surv* 2004; 59:360-7.
3. Cheong YC, Laird SM, Li TC, Shelton JB, Ledger WL, Cooke LD. Peritoneal healing and adhesion formation/reformation. *Hum Reprod Update* 2001;7:556-66.
4. Rajad TK, Wallwiener M, Talukdar S, Kraemer B. Adhesion-related complications are common, but rarely discussed in preoperative consent: a multicenter study. *World J Surg* 2009; 33(4):748-50.
5. Richardson EH. Studies on peritoneal adhesions. With a contribution to the treatment of denuded bowel surfaces. *Ann Surg* 1911; 54: 758-97
6. Coelho Júnior ER. Prevenção de aderências peritoneais uterinas com gel de biopolímeros de cana-de-açúcar em ratos. [Tese Doutorado]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2012. Orientador: José Lamartine Aguiar
7. Mawdsley JE, Hollington P, Bassett P, Windsor AJ, Forbes A, Gabe SM. An analysis of predictive factors for healing and mortality in patients with enterocutaneous fistulas. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28:1111-21.
8. Berry SM, Fischer JE. Enterocutaneous fistulas. *Curr Prob Surg* 31: 1994, 471-566 .
9. Schein M, Decker GA. Postoperative external alimentary tract fistulas. *Am J Surg* 161: 435-438, 1991
10. Campos ACL. Factors influencing outcome in patients with gastrointestinal fistula. *Surg Clin North Am* 76: 1191-1198, 1996.
11. Rose D, Yarborough MF, Canizaro PC. One hundred and fourteen fistulas of the gastrointestinal tract treated with total parenteral nutrition. *Surg Gynecol Obstet*, 1986, 163: 345-50.

12. Irrang S, Bryant R. Management of the enterocutaneous fistulas. *J Enter Ther*, 1984, 11: 211- 25.
13. Sitges-Serra A, Jaurrieta E, Sitges-Creus A. Management of postoperative enterocutaneous fistulas: the role of parenteral nutrition and surgery. *Br J Surg*, 1982, 69: 147-50.
14. Fontes CER, Taha MO, Fagundes DJ, Ferreira MV, Prado Filho OR, Mardegan MJ. Estudo comparativo do uso de cola de fibrina e cianoacrilato em ferimento de fígado de rato. *Acta Cir Bras* 2004; 19(1): 37-42
15. Hoyos A, Villegas O, Sanchez JM. Endoloops as a therapeutic option in colcutaneous fistula closure. *Endoscopy* 2005; 37:1258-60,
16. Kim HS, Lee DK, Baik SK. Endoscopic management of colcutaneous fistula after percutaneous endoscopic gastrostomy. *Endoscopy* 2002; 34:430-3.
17. Maluf-Filho F, Moura E, Sakai P. Endoscopic treatment of esophagogastric fistulae with an acellular matrix. *Gastr Endosc* 2004; 59:151-3
18. Cheragwandi A, Nieuwenhuis DH, Gagner M, Consten EC. An update of available innovative staple line reinforcement materials in colorectal surgery. *Surg Technol Int*. 2008; 17:131-7.
19. Soares junior C, Souza C. Uso de 2-octil cianoacrilato em anastomose colonicas: estudo experimental em ratos wistar. *Rev Col Bras Cir*. [Periódico na Internet] 2010; 37(2). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/rcbc>
20. Dos Santos OJ, Barros-Fillho AKD, Malafaia O, Ribas-Fillho JM, Santos RHP, Santos RAP. *Schinus terebinthifolius* raddi (*anacardiaceae*) no processo de cicatrização de gastrorrafias em ratos. *ABCD, arquivo brasileiro de cirurgia digestiva* 2012; 25: 140-6.
21. Dunn R, Lyman MD, Edelman PG, Campbell PK. Evaluation of the Spraytel™. Adhesion Barrier in the Rat Cecum Abrasion and Rabbit Uterine Horn Adhesion Models. *Fertil Steril*. 2001; 75:411-6.
22. Buăureanu TAS. Pathophysiology of Adhesions. *Chirurgia* 2014; 109: 293-298.
23. Ouaiissi M, Gaujoux S, Veyrie N, Denève E, Brigand C, Castel B. Post-operative adhesions after digestive surgery: their incidence and prevention: review of the literature. *J Visc Surg*. 2012; 149(2):104-14

24. Brüggmann D, Tchartchian G, Wallwiener M, Münstedt K, Tinneberg HR, Hackethal A. Intra-abdominal adhesions: definition, origin, significance in surgical practice, and treatment options. *Dtsch Arztebl Int.* 2010; 107(44):769-75. 5.
25. Bakkum EA, Van Blitterswijk CA, Dalmeijer RA, Trimbos JB. A semiquantitative rat model for intraperitoneal postoperative adhesion formation. *Gynecol Obstet Invest.* 1994; 37:99.
26. Van Westreenen M, Van den Tol PM, Pronk A, Marquet RL, Jeekel J, Leguit P. Perioperative lavage promotes intraperitoneal adhesion in the rat. *Eur Surg Res* 1999; 31:196-201.
27. Matsuda S, Se N, Iwata H, Ikada Y. Evaluation of the antiadhesion potential of UV cross-linked gelatin films in a rat abdominal model. *Biomaterials.* 2002; 23:2901-8.
28. Thaler K, Mack AJ, Zhao RH, Berho M, Grotendorst GR, Duncan MR, Williams S, Miranda JR, Wexner SD, Abramson SR. Expression of connective tissue growth factor in intra-abdominal adhesions. *Dis Colon Rectum.* 2002; 45:1510-9.
29. DiZerega GS, Campeau JD. Peritoneal repair and post-surgical adhesion formation. *Hum Reprod Update.* 2001; 7:547-55.
30. Bellina JH, Hemmings R, Voros JJ, Ross LF. Carbon dioxide laser and electrosurgical wound study with an animal model: A comparison of tissue damage and healing patterns in peritoneal tissue. *Am J Obstet Gynecol.* 1984; 148:327-34
31. Roman H, Canis M, Kamble M, Botchorishvili R, Pouly JL, Mage G. Efficacy of three adhesion-preventing agents in reducing severe peritoneal trauma induced by bipolar coagulation in a laparoscopic rat model. *Fertil Steril.* 2005; 83:1113-8.
32. Alpay Z, Saed GM, PhD, Diamond MP. Postoperative Adhesions: From Formation to Prevention. *Semin Reprod Med.* 2008; 26(4):313-321
33. Müller SA, Treutner KH, Tietze L, Anurov M, Titkova S, Polivoda M, et al. Influence of intraperitoneal phospholipid dosage on adhesion formation and wound healing at different intervals after surgery. *Langenbecks Arch Surg.* 2001; 386(4):278-84.
34. Arung W, Meurisse M, Detry O. Pathophysiology and prevention 298 of postoperative peritoneal adhesions. *World J Gastroenterol.* 2011; 17(41):4545-53

35. Pados G, Venetis CA, Almaloglou K, Tarlatzis BC. Prevention of intra-peritoneal adhesions in gynaecological surgery: theory and evidence. *Reprod Biomed Online*. 2010; 21(3):290-303.
36. Sammour T, Kahokehr A, Zargar-Shoshtari K, Hill AG. A prospective case-control study of the local and systemic cytokine response after laparoscopic versus open colonic surgery. *J Surg Res*. 2012;173(2):278-85
37. Ten Broek RPG, Kok-Krant N, Verhoeve HR. Efficacy of polyethylene glycol adhesion barrier after gynecological laparoscopic surgery. *Gynecol Surg*. 2012; 9(1):29-35. 13
38. Moreira JR H. et al. Obstrução Intestinal _ Análise Retrospectiva da Etiologia e Morbimortalidade no Hospital de Urgências de Goiânia (HUGO). *Rev bras Coloproct*, 2005; 25(2):137-145
39. Pacheco, JF; Dias, R; Silva, MG; Triatão, AR; De Luca, LA. Prevenção de aderências pélvicas: Estudo Experimental em ratas com diferentes modalidades terapêuticas. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*. 2003; 25(5): 359-364
40. Holmdahl L, Ivarsson ML. The role of cytokines, coagulation, and fibrinolysis in peritoneal tissue repair. *Eur J Surg*. 1999;165:1012-9
41. Holmdahl L. Making and covering of surgical footprints. Boston: The Lancet; 1999.
41. Esmon CT, Fukudome N, Mather T, Bode, W, Regan, LM, Stearns-kurosawa DJ, Kurosawa S. Inflammation, sepsis, and coagulation. Pavia: *Haematologica*. 1999; 84: 254-259.
42. Hubbard TB.; Khan MZ.; Carag, VR. Pathology of peritoneal repair: its relation to the formation of adhesions. Paris: *Annales de Chirurgie*, v. 165, p. 908- 916, 1967. INCE,
43. Cheong YC, Laird SM, Shelton, JB, Ledger WL, Cooke ID. Peritoneal healing and adhesion formation/reformation. Oxford: *Human Reproduction Update*. 2001; 7(6): 556-566.
44. Hellebrekers, LJ. Dor em animais.. São Paulo: Manole; 2002.
45. Crowe JR, Bjorling, DE. Manual de cirurgia de pequenos animais, 2ed, São Paulo: Manole, 1998.
46. Muir P, Goldsmid SE, Bellenger CR. Megacolon in a cat following ovariohysterectomy. *The Veterinary Record*. 1991; 129(23): 512-513.

47. Binda MM, Molinas CR, Koninckx PR. Reactive oxygen species and adhesion formation: clinical implications in adhesion prevention. Oxford: Human Reproduction.2003(18) 2503-2507.
48. Trew G. Postoperative adhesions and their prevention. Rev Gynaecol Perinat Pract. 2006;6:47-56.
49. Sutton C. Adhesions and their prevention. Roy Coll Obstet Gynaecol. 2005;7:168-76. 2.
50. Graebe RA, Oelsner G, Cornelison TL, Pan SB, Haseltine FP, De Cherney AH. An animal study of different treatments to prevent postoperative pelvic adhesions. Microsurgery 1989; 10:53-5. 11.
51. Guvenal T, Cetin A, Ozdemir H, Yanar O, Kaya T. Prevention of postoperative adhesion formation in rat uterine horn model by nimesulide: a selective COX-2 inhibitor. Hum Reprod 2001; 16:1732-5
52. Farquhar C, Vandekerckhove P, Watson A, Vail A, Wiseman D. Barrier agents for preventing adhesions after surgery for subfertility. Cochrane Database Syst Rev 2000; (2):CD000475.
53. Meijer DW. Hemostats, adhesives, and sealants in endoscopic surgery. J Laparoendosc Adv Surg Tech A 2002; 12:393-4
54. Ates U, Ata B, Ortakuz S, Seyhan A, Urman B. Prevention of adhesion formation following ovarian surgery in a standardized animal model: comparative study of Interceed and double layer Surgicell. J Obstet Gynaecol Res. 2008;34(1):12-7.
55. Ahmad G, Duffy JM, Farquhar C, Vail A, Vandekerckhove P, Watson A, Wiseman D. Barrier agents for adhesion prevention after gynaecological surgery. The Cochrane Library. 2009(1).Cochrane Database Syst Rev. 2008 Apr 16;(2):CD00047
56. Al-jaroudi D, Tulandi T. Adhesion prevention in gynecologic surgery. Obstet Gynecol Surv 2004;59:360-7
57. Lunderff P, Donnez J, Korell M, Audebert AJ, Block K, diZerega GS. Clinical evaluation of a viscoelastic gel for reduction of adhesions following gynaecological surgery by laparoscopy in Europe. Hum Reprod. 2005;20:514-20
58. Kerr HH. Development of intestinal surgery.JAMA 1923;81:

59. Golub R, Golub RW, Cantu R Jr, Stein HD. A multivariate analysis of factors contributing to leakage of intestinal anastomoses. *J Am Coll Surg* 1997; 184: 364-72.
60. Goligher JC, Graham NG, De Dombal FT. Anastomotic dehiscence after anterior resection of rectum and sigmoid. *Br J Surg* 1970; 57: 109-18.
61. Efron EF, Vernava AM III. Reoperative surgery for acute colorectal anastomotic dehiscence and persistent abdominal sepsis. London.1996.
62. Fielding LP, Steward-Brown S, Blesovsky L, Kearny G. Anastomotic integrity after operations for large-bowel cancer: a multicentre study. *BMJ* 1980; 281: 411-4.
63. Jansson OK, Zilling TL, Walther BS. Healing of colonic anastomosis: comparative experimental study of glued manually sutured and stapled anastomoses. *Dis Colon Rectum* 1991; (34): 557-62.
64. Weiss M, Haj M. Gastrointestinal anastomosis with histoacryl glue in rats. *J Invest Surg* 2001; 14: 13-9. Houston KA, Rotstein OD. Fibrin sealant in high-risk colonic anastomoses. *Arch Surg* 1988; (123) 230-4
65. Houston KA, Rotstein OD. Fibrin sealant in high-risk colonic anastomoses. *Arch Surg* 1988; (123): 230
66. Glazer N, Nikaido H. Microbial biotechnology fundamentals of applied microbiology. 2^a ed. New York. H. Freeman and Company, 1995.
67. Paterson-Beedle, M. Kennedy, J.F. Melo, F.A. D. Lloyd, L.L. Medeiros,V. A Cellulosic Exopolysaccharide Produced from Sugarcane Molasses by a *Zoogloea sp* *Carbohydrate Polymers*, 2000; (42): 375-383.
68. Sanford PA, Baird J. Industrial utilization of polysaccharides. G.O. Aspinall, ed. *The polysaccharides*, vol. 2, Academic Press, New York, 1983
69. Carneiro MJ, Fernandes A, Figueiredo CM, Fortes AG, Freitas AM. Synthesis of carbohydrate based polymers. *Carbohydr Polym.* 2001; (45): 135-8. [LIL] [SESP]
70. Czaja W, Krystynowicz A, Bielecki S, Brown RM Jr. Microbial cellulose--the natural power to heal wounds. *Biomaterials.* 2006 (2):145-51. [LIL] [SESP]
71. Nérís AM. Desenvolvimento e caracterização de gel de biopolímero produzido pela fermentação de melaço de cana-de-açúcar pelo microorganismo *Zoogloea sp*.

- contendo ácido único. [Dissertação Mestrado]. Recife-Pe: Universidade Federal de Pernambuco; 2007
72. Haag AP, Mairec RM, Combied J, Geeseya GG. Bacterially derived biopolymers as wood adhesives. In *J Adh & Adh*. 2004; 24: 495-502. [1]
 73. Francisco de Assis Dutra Melo, Contribuição ao estudo cinético da produção de polissacarídeos extracelulares por *Zoogloea sp* em melão de cana de açúcar. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003. Orientador: Mohamed Benacou
 74. Castro CMMB, Aguiar JLA, Melo FAD, Vilar FO. Citotoxicidade de biopolímero de cana-de-açúcar. 30º Congresso Brasileiro de Urologia, 2005, Brasília. *International Brazil J Urol*, 2005. v. 30. p. 127-127.
 75. Goncalves R, Rangel AEO, Duarte JA, Andrade R, Vilar FO, Aguiar JL, Araujo L A, Lima SV. Bio-sling no tratamento da incontinência urinária de esforço: estudo experimental e primeiros ensaios clínicos. *An Inter Braz J Urol*. 2006; 32: 41
 76. Coelho MCOC, Carrazoni PG, Monteiro VLC, Melo FAD, Mota R, Tenório Filho F. Biopolímero produzido a partir de cana de açúcar para cicatrização cutânea. *Acta Cirur Bras*. 2002; 17: 1-7
 77. Vilar FO, Lima SVC, Lucena RG, Aguiar JLA. Um novo material para tratamento da incontinência urinária: estudo em ratas. *Acta Cir Bras*. 2005; (20): 319.
 78. Silva DB, Aguiar JLA, Marques A, Coelho ARB, Rolim Filho EL. Meringoplastia com enxerto livre de membrana de biopolímero de cana-de-açúcar e fásia autóloga em *Chinchilla laniger*. *An Fac Med Univ Fed Pernamb*. 2006; 51:45-51.
 79. Lins EM. Membrana de biopolímero de cana-de-açúcar como remendo em arterioplastias femorais em cães [Tese de Doutorado]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco. Departamento de Cirurgia, 2007. Orientador: Jose Lamartine de Andrade Aguiar
 80. Silveira RK. Eficácia da membrana de celulose produzida pela *Zoogloea sp* na forma multiperfurada comparada à forma compacta e à membrana sintética de politetrafluoretileno expandido na correção cirúrgica de falha músculo-aponeurótica aguda induzida em ratos. [Tese Doutorado]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2009. Orientador: Jose Lamartine de Andrade Aguiar.

81. Wallwiener D, Meyer A, Basten G. Adhesion formation of the parietal and visceral peritoneum: an explanation for the controversy on the use of the autologous and alloplastic barriers? *Fertil Steril*. 1998;68:132-7.
82. Metwally M, Watson A, Lilford R, Vandekerckhove P. Fluid and pharmacological agents for adhesion prevention after gynaecological surgery. *JOGC*. 2010;243:598-602.
83. Holmdahl L, al-Jabreen M, Risberg B. Experimental models for quantitative studies on adhesion formation in rats and rabbits. *Eur Surg Res*. 1994;26:248-56
84. Treutner KH, Bertram P, Lerch MM, Klimaszewski M, Petrovic-kallholm S, Sobesky J, Winkeltau G, Schumpelick V. Prevention of postoperative adhesions by single intraperitoneal medication. *J Surg Res*. 1995;59:764-71.
85. Vilar FO, Aguiar JLA, Lima SVC, Lucena RG. Doença de Peyronie: Estudo de um material com perspectivas de aplicação clínica. In: XXVIII Congresso de La Confederacion Americana de Urologia-CAU 2006, 2006, Recife-PE. *Inter Braz J Urol*. Recife-PE: Editorial and Graphic Composition; 2006.
86. Rangel AEO, Aguiar JLA, Lima SVC, Araujo FC, Vilar FO, Pires JAC, Machado MR, Campos EG. A new biomaterial for the treatment of vesicouretral: experimental study. *An Inter Braz J Urol*. 2006;32:184.
87. Lima SVC, Aguiar J LA, Araujo LAP Machado M, Andrade RT, Lima RS, Villar F. A new dressing for hypospadias surgery. *Inter Braz J Urol*. 2006;32:189.
88. Albuquerque PCVC, Santos SM, Aguiar JLA, Pontes Filho N, Mello RJV, Costa MLCR, Olbertz CMCA, Almeida TMS, Santos AHS, Silva JC. Estudo comparativo macroscópico dos defeitos osteocondrais produzidos em fêmures de coelhos preenchidos com gel de biopolímero da cana-de-açúcar. *Rev Bras Ortop*. 2011; 46:577-84.
89. Soares Júnior C, Souza C, Gomes CA, Soares FFTP. Fatores intervenientes e métodos de avaliação das anastomoses gastrointestinais *Intervening Rev Med Minas Gerais* 2010; 20(3): 354-358
90. Fung Y.C. *Biomechanics-Mechanical properties of living tissues*. 2nd ed. NY. Springer-Verlag Inc, 1993.

91. Ballantyne GH. Intestinal Suturing: Review of the Experimental foundations for traditional doctrines. 1983, *Dis Colon Rectum*; 26:836-43.
92. Howes EL, Sooy JW, Harvey SC. The healing of wounds as determined by their tensile strength. *JAMA*. 1929; 92(1):42-45
93. Blomquist P, Jiborn H, Zederfeldt B. The effect of relative bowel rest on collagen metabolism and suture holding capacity in the colonic wall. *Res. Exp. Med. Berl.* 1984; 184:221-6
94. Farhat SM, Amer NS, Weeks DS, Musselman MM. Effect of mechlorethamine (nitrogen mustard) on healing of abdominal wounds. *Arch Surg.* 1958; 76:749- 53. 22.
95. Painter NS, Burkitt DP. Diverticular disease of the colon: a 20th century problem. *Clin Gastroenterol* 1975;4:3-21.
96. Souza filho, ZA, Greca, FH, Noronha, L.; Maranhão ASA, Calil AP, Hubie DP, Barbosa FM. Abdominal wall healing in reoperated rats. *Acta Cirúrgica Brasileira.* 2007(22): 147-151.
97. Kumar S, Wong PF, Leaper DJ. Intra-peritoneal prophylactic agents for preventing adhesions and adhesive intestinal obstruction after non-gynaecological abdominal surgery. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009; 21;CD005080.
98. Filmar S, Jetha N, McComb P, Gomel V. A comparative histologic study on the healing process after tissue transection. I. Carbon dioxide laser and electromicrosurgery. *Am J Obstet Gynecol.* 1989 (160): 1062-7.



ANEXO

Anexo A - Comitê de ética do Centro de Ciências Biológicas da UFPE

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 / 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br



Recife, 03 de abril de 2013.

Ofício nº 553/13

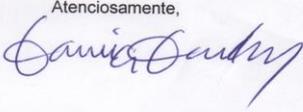
Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Prof. Tiago Cavalcanti Iwanaga**
Universidade Federal de Pernambuco
Departamento de Cirurgia-CCS
Processo nº 23076.056559/2012-58

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, "**Utilização da Membrana e Gel de Biopolímero de Cana-de-açúcar na Prevenção de Deiscência e Aderências Peritoneais Após Colorrafia em Ratos: Modelo Experimental**".

Concluimos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados.

Atenciosamente,


CCB: Integrar para desenvolver