

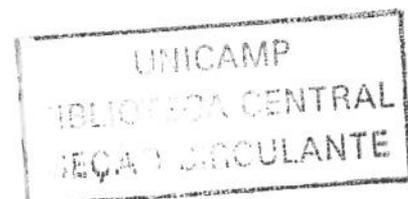
**WU FENG CHUNG**

**Estudo dos Efeitos de Diferentes Concentrações  
de Oxigênio e da Hiperoxigenação Hiperbárica  
sobre Anastomoses Cólicas Comprometidas  
ou Não Pela Isquemia: Trabalho  
Experimental em Ratos**

200404977

**Campinas**

**2003**



**WU FENG CHUNG**

**Estudo dos Efeitos de Diferentes Concentrações  
de Oxigênio e da Hiperoxigenação Hiperbárica  
sobre Anastomoses Cólicas Comprometidas  
ou Não Pela Isquemia: Trabalho  
Experimental em Ratos**

*Tese de Doutorado apresentada ao  
Curso de Pós-Graduação em Cirurgia da  
Faculdade de Ciências Médicas da  
Universidade Estadual de Campinas para a  
Obtenção do Título de Doutor em Cirurgia*

**Orientador: Prof. Dr. João José Fagundes**

**Campinas  
2003**

UNIDADE BC  
Nº CHAMADA TI UNICAMP  
W95e  
V \_\_\_\_\_ EX \_\_\_\_\_  
TOMBO BC/ 57401  
PROC 16 - 117 - 04  
C \_\_\_\_\_ D X  
PREÇO 11,00  
DATA \_\_\_\_\_  
Nº CPD \_\_\_\_\_

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS  
UNICAMP

CM00196150-9

BIBID. 314850

W95e Wu, Feng Chung  
Estudo dos efeitos de diferentes concentrações de oxigênio e da hiperoxigenação hiperbárica sobre anastomoses cólicas comprometidas ou não pela isquemia: trabalho experimental em ratos / Wu Feng Chung. Campinas, SP : [s.n.], 2003.

Orientador : João José Fagundes  
Tese ( Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Biomecânica. 2. Cicatrização de feridas. 3. Cólon. 4. Cirurgia experimental. I. João José Fagundes. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

# BANCA EXAMINADORA DA TESE DE DOUTORADO

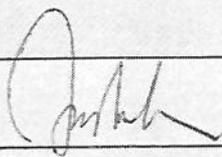
---

**ORIENTADOR: PROF. DR. JOÃO JOSÉ FAGUNDES**

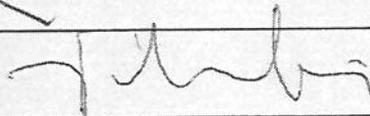
---

## Membros:

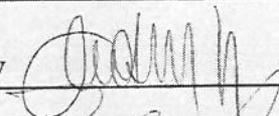
1. Prof. Dr. João José Fagundes



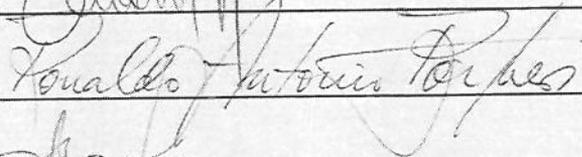
2. Prof. Dr. Juvenal Ricardo Navarro Góes



3. Prof. Dr. Cláudio Saddy Rodrigues Coy



4. Prof. Dr. Ronaldo Antonio Borghesi



5. Prof. Dr. Luiz Henrique Cury Saad



**Curso de Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas  
da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP**

DATA: Campinas, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2003.

*- Nunca deixe a chama da motivação se apagar -*

# DEDICATÓRIA

---

*Aos meus pais, Wu Fu Tai, Wu Wang Man Li, Lee Tseng Sheng e Polly Lee, por tudo.  
Aos meus irmãos, Shang Yi, Linda e John pela amizade.*

*À minha querida esposa Huei, especialmente dedico a minha gratidão pelo equilíbrio,  
complemento e dedicação, auxiliando-me em todos os momentos da minha vida.*

# HOMENAGEM

## Tributo

Homenagem ao prof. João José Fagundes

19/12/2023

Andante

Handwritten musical score for the first system. It consists of two staves for piano and two staves for brass (trumpets and trombones). The piano part begins with a *piano* dynamic marking. The brass part includes a *rit. rallent.* marking. The system concludes with a *rit. molto rallentando* marking and a *1. a 2. a 3. a parte* instruction.

Handwritten musical score for the second system. It continues the piano and brass parts. The piano part features a *Piano* dynamic marking. The brass part includes a *rit. molto rallentando* marking. The system concludes with a *rit. molto rallentando* marking and a *1. a 2. a 3. a parte* instruction.

## AGRADECIMENTO ESPECIAL

---

Ao Professor Doutor João José Fagundes, que por meio de simples gestos, pensamentos e palavras manteve sempre a luz da minha motivação acesa. Compreensivo, companheiro, justo, e que brindou-me com conhecimentos e ensinamentos não somente técnicos mas também universais.

Mostrou-me um caminho mágico, pelo qual, descobri o prazer de estar nele e com isso, encontrando-me novamente, os já então esquecidos “amigos”: Maxwell, Vivaldi, Wolfgang, Shaw, Joyce, William, Tartini, Newton, Durante, Fourier, Stradivarius, entre tantos outros.

Professor Fagundes, essa jornada, mais de 300.000 km, de tão agradável, pareceu-me a execução da obra Cannon de Pachelbel, e esse fato foi proporcionado graças ao senhor.

Jamais deixarei de prestar as homenagens e a minha eterna gratidão ao Professor Fagundes. Sinto um inestimável orgulho de ser seu aluno e tenho a certeza absoluta de estar diante de um verdadeiro Educador.

## AGRADECIMENTOS

---

Ao Prof. Dr. Juvenal Ricardo Navarro Góes, amigo, companheiro, educador, ético e exemplo a ser seguido. Agradeço pela imensa contribuição na minha formação.

Ao Prof. Dr. Cláudio Saddy Rodrigues Coy, pelo sempre valioso apoio, companheirismo, equilíbrio e ética.

Ao Prof. Dr. Raul Raposo de Medeiros (lembrado sempre com carinho e respeito), pela confiança depositada e apoio em momento importante da minha vida, tornando possível essa jornada.

Ao Prof. Dr. Mário Mantovani, pioneiro, criador e inestimável lutador. Pessoa fundamental na minha formação.

Ao Prof. Dr. Renato Giuseppe Giovanni Terzi, pelo exemplo de pesquisador dedicado e apoio na realização desse trabalho de tese.

Ao Prof. Dr. Luis Sérgio Leonardi, Titular da Disciplina de Moléstias do Aparelho Digestivo, pilar mestre e pessoa fundamental dessa instituição de ensino.

Ao Prof. Dr. Luis Alberto Magna, pela amizade e valioso suporte estatístico deste trabalho.

Ao Prof. Renato Bobsin Machado, amigo no mais completo significado dessa palavra.

Aos biólogos Ana Cristina de Moraes, Willian Adalberto Silva e Rosana Celestina Morandin. Vocês são pessoas fundamentais na minha formação. Exemplos de dedicação à pesquisa, de dedicação aos pesquisadores, da compreensão dos fatos, justos e educadores. Mais uma vez, eu realmente agradeço por vocês serem meus amigos.

## AGRADECIMENTOS

---

Ao Prof. Sérgio Dalmás, pela amizade e apoio conceitual deste trabalho.

À Dra Maria de Lourdes Setsuko Ayrizono, pela amizade.

Aos Professores Juan Carlos Sotuyo e Jorge Habib Hanna El Khoury, pioneiros e modelos de lutadores incansáveis. Corações gigantes e amizades inestimáveis.

Ao estagiário do Laboratório de Bioinformática-LABI/Unioeste Richardson Floriani Voltolini, pela dedicação, lealdade, ética, amizade e auxílio neste trabalho. Valiosos adjetivos em valiosa pessoa.

Aos estagiários do Laboratório de Bioinformática-LABI/Unioeste, Jean Metz, Maikon Adiles Fernandez Bueno, Daniel de Faveri Honorato, Rafael Mendes Pereira e Maksoel Augustín Krauspenhar Niz pela motivação, amizade e colaboração técnica deste trabalho.

À Capes, instituição governamental séria, apoiando sempre o desenvolvimento de pesquisa no país.

E a todos que de alguma forma colaboraram para a concretização deste trabalho.

# SUMÁRIO

---

<b>RESUMO</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iv</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1.1. Considerações Gerais.....	2
1.2. Bases Teóricas e Dados da Literatura.....	6
1.2.1. Efeitos do Oxigênio e da Hiperoxigenação Hiperbárica na Cicatrização Intestinal .....	6
1.2.1.1. Efeitos do Oxigênio e da Hiperoxigenação Hiperbárica Sobre o Processo de Síntese do Colágeno.....	7
1.2.1.2. Efeitos do Oxigênio e da Hiperoxigenação Hiperbárica Sobre o Processo de Angiogênese.....	11
1.2.1.3. Efeitos do Oxigênio e da Hiperoxigenação Hiperbárica Sobre a Produção de Radicais Livres.....	13
1.2.1.4. Efeito Antibiótico do Oxigênio.....	14
1.2.1.5. Efeitos da Isquemia Sobre a Cicatrização Intestinal.....	18
1.2.2. Bases Biofísicas da Hiperóxia Hiperbárica.....	20
1.3. Parâmetros Biomecânicos para a Avaliação da Cicatrização de Anastomoses Intestinais.....	23
1.3.1. Teste Pressão de Ruptura à Distensão por Líquido ou por Ar.....	24
1.3.2. Força de Ruptura à Tração.....	25
1.3.3. Tensão de Ruptura e Tensão Resultante Final de Ruptura à Tração.....	27
1.3.4. Energia Interna de Deformação e Energia Total de Ruptura.....	28
<b>2. OBJETIVO</b> .....	<b>32</b>
<b>3. HIPÓTESE</b> .....	<b>34</b>
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>36</b>
4.1. Local de Experimentação.....	37
4.2. Animais Utilizados.....	37
4.3. Procedimento Experimental.....	37
4.3.1. Divisão em Grupos e Subgrupos.....	37

4.3.2. Etapas Experimentais .....	40
4.3.2.1. Preparo da Película de Polivinilcloro (PVC) Para Envolvimento da Linha Anastomótica .....	41
4.3.2.2. Anestesia .....	42
4.3.2.3. Procedimento Cirúrgico .....	43
4.3.2.4. Câmara Hiperbárica Experimental.....	53
4.3.2.5. Procedimento de Exposição dos Animais Pertencentes aos Subgrupos 1.1 e 2.1 ao Ar Ambiente.....	56
4.3.2.6. Procedimento de Exposição dos Animais dos Subgrupos 1.2 e 2.2 ao Oxigênio a 100 % por Meio de Sessão Diária de Hiperóxia Normobárica a uma Atmosfera Absoluta .....	56
4.3.2.7. Procedimento de Exposição dos Animais dos Subgrupos 1.3 e 2.3 ao Oxigênio a 100% por Meio de Sessão Diária de Hiperóxia Hiperbárica a Duas Atmosferas Absolutas .....	57
4.3.2.8. Observação dos Aspectos Clínicos dos Animais Durante o Pós-Operatório	59
4.3.2.9. Eutanásia e Avaliação da Cavidade Abdominal .....	59
4.3.2.10. Retirada, Limpeza e Processamento da Alça Cólica Contendo a Anastomose .....	59
4.3.2.11. Desenvolvimento do Sistema de Aquisição e Análise de Dados Biomecânicos - SABI .....	61
4.3.3. Estudo dos Parâmetros Mecânicos.....	69
4.3.3.1. Teste de Resistência Biomecânica Energia Total de Ruptura (ETR) .....	69
4.3.4. Análise Estatística .....	77
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>78</b>
5.1. Evolução Clínica, Avaliação da Cavidade Abdominal e da Anastomose .....	79
5.2 Estudo Comparativo da Mortalidade Entre os Subgrupos.....	87
5.3. Teste de Resistência Biomecânica Energia Total de Ruptura (ETR) .....	88
5.4. Análise Estatística.....	90
5.4.1. Teste Estatístico Não Paramétrico de Mann-Whitney Entre os Subgrupos Pertencentes ao Grupo 1.....	91
5.4.2. Teste Estatístico Não Paramétrico de Mann-Whitney Entre os Subgrupos Pertencentes ao Grupo 2.....	91
5.4.3. Teste Estatístico Não Paramétrico de Mann-Whitney Entre os Subgrupos Pertencentes ao Grupo 1 e Grupo 2.....	92

<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>95</b>
6.1. Considerações Iniciais .....	96
6.2. Animal de Experimentação.....	97
6.3. Avaliação do Material Polivinilcloro (PVC) .....	98
6.4. Avaliação da Integridade e da Resistência da Anastomose Cólica .....	101
6.5. Sistema de Aquisição e Análise de Dados Biomecânicos – SABI.....	107
6.6. Modelo Experimental de Isquemia Induzida em Cólon Descendente .....	108
6.7. O Efeito da Concentração de Oxigênio na Cicatrização da Anastomose Cólica.....	110
<b>7. CONCLUSÕES .....</b>	<b>116</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>118</b>
<b>9. ANEXOS.....</b>	<b>140</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

---

<b>ATA</b>	Atmosfera Absoluta
<b>CEMIB</b>	Centro de Bioterismo – Unicamp
<b>CGS</b>	Centímetro, Grama, Segundo
<b>EID</b>	Energia Interna de Deformação
<b>ETR</b>	Energia Total de Ruptura
<b>FT</b>	Força Máxima de Ruptura à Tração
<b>Gf</b>	Gramas Força
<b>L</b>	Elongação Final
<b><math>l_0</math></b>	Comprimento Inicial
<b>mmHg</b>	Milímetros de Mercúrio
<b>PC</b>	Computador Pessoal
<b>PVC</b>	Polivinilcloro
<b>SABI</b>	Sistema de Aquisição e Análise de Dados Biomecânicos
<b>SI</b>	Sistema Internacional
<b>TRFRT</b>	Tensão Resultante Final de Ruptura à Tração

# LISTA DE TABELAS

---

<b>Tabela 1.</b> Configurações implementadas para o canal serial .....	65
<b>Tabela 2.</b> Pacote de controle .....	66
<b>Tabela 3.</b> Pacote de dados .....	67
<b>Tabela 4.</b> Resultados de mortalidade nos subgrupos .....	87
<b>Tabela 5.</b> Valores da Energia Total de Ruptura (gf.cm) dos animais pertencentes aos subgrupos 1.1, 1.2, 1.3, 2.1, 2.2, e 2.3 .....	90
<b>Tabela 6.</b> Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.1 e 1.2 - p-valor = 0,7914.....	91
<b>Tabela 7.</b> Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.1 e 1.3 - p-valor = 0,0018.....	91
<b>Tabela 8.</b> Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.2 e 1.3 - p-valor = 0,0142.....	91
<b>Tabela 9.</b> Comparação dois a dois entre os subgrupos 2.1 e 2.2 - p-valor = 1,05.....	91
<b>Tabela 10.</b> Comparação dois a dois entre os subgrupos 2.1 e 2.3 - p-valor = 0,0057.....	92
<b>Tabela 11.</b> Comparação dois a dois entre os subgrupos 2.2 e 2.3 - p-valor = 0,0044.....	92
<b>Tabela 12.</b> Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.1 e 2.1 - p-valor = 0,0014.....	92
<b>Tabela 13.</b> Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.1 e 2.2 - p-valor = 0,0008.....	92
<b>Tabela 14.</b> Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.1 e 2.1 - p-valor = 0,1533.....	93
<b>Tabela 15.</b> Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.2 e 2.1 - p-valor = 0,0014.....	93
<b>Tabela 16.</b> Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.2 e 2.2 - p-valor = 0,0008.....	93
<b>Tabela 17.</b> Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.2 e 2.3 - p-valor = 0,9025.....	93
<b>Tabela 18.</b> Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.3 e 2.1 - p-valor = 0,0014.....	93
<b>Tabela 19.</b> Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.3 e 2.2 - p-valor = 0,0008.....	94
<b>Tabela 20.</b> Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.3 e 2.3 - p-valor = 0,0162.....	94

# LISTA DE FIGURAS

---

<b>Figura 1.</b> Distribuição e características dos Grupos e Subgrupos.....	40
<b>Figura 2.</b> Película de PVC pronta para o posicionamento e fixação sobre a anastomose...	42
<b>Figura 3.</b> Posicionamento do "scalp" conectado à seringa contendo a substância anestésica na veia da cauda do animal .....	43
<b>Figura 4.</b> Mesa cirúrgica com os materiais utilizados durante os procedimentos.....	44
<b>Figura 5.</b> Posicionamento do animal em prancheta cirúrgica.....	45
<b>Figura 6.</b> Cavidade abdominal exposta após abertura por planos.....	46
<b>Figura 7.</b> Local demarcado para confecção da anastomose .....	46
<b>Figura 8.</b> Final de confecção da anastomose cólica.....	47
<b>Figura 9.</b> Fixação de um dos lados da película de PVC.....	48
<b>Figura 10.</b> Final de fixação da película de PVC sobre o cólon descendente contendo a linha de sutura .....	49
<b>Figura 11.</b> Fechamento da cavidade abdominal. Primeiro plano de sutura composto pelo peritônio, camada muscular e aponeurose .....	50
<b>Figura 12.</b> Fechamento da parede. Sutura da pele e subcutâneo.....	51
<b>Figura 13.</b> Modelo experimental de isquemia em cólon.....	52
<b>Figura 14.</b> Cólon descendente. Cinco minutos após a instalação da isquemia .....	52
<b>Figura 15 A e B.</b> Câmara hiperbárica. Vista lateral, vigias circulares e escotilha removível .....	53
<b>Figura 15 C.</b> Válvula principal para promover a exaustão de gases da câmara .....	54
<b>Figura 17.</b> Gaiola especial de contenção dos animais na câmara hiperbárica .....	55
<b>Figura 18.</b> Segmento de cólon contendo a anastomose após a limpeza.....	60
<b>Figura 19.</b> Janela de apresentação do aplicativo SABI.....	62
<b>Figura 20.</b> Área calculada pelo aplicativo SABI e configurada em tela do computador ....	64
<b>Figura 21.</b> Diagrama de seqüência do subsistema de aquisição de dados .....	66

<b>Figura 22.</b> Formulário de cadastro do aplicativo SABI .....	68
<b>Figura 23.</b> Formulário de cadastro de sistema de unidades do aplicativo SABI .....	70
<b>Figura 24.</b> Representação esquemática do segmento de cólon com a anastomose.....	70
<b>Figura 25.</b> Representação esquemática do Teste Biomecânico Energia Total de Ruptura.	72
<b>Figura 26.</b> Componentes pertencentes ao Teste de Resistência Biomecânica Energia Total de Ruptura.....	74
<b>Figura 27.</b> Formulário de Aquisição de dados do aplicativo SABI .....	76
<b>Figura 28.</b> Registro gráfico da pressão transmural captada pelo polígrafo durante o teste ETR.....	76
<b>Figura 29.</b> Abertura longitudinal da película de PVC.....	80
<b>Figura 32.</b> Segmento de cólon descendente removido do animal pertencente ao S1.3 .....	82
<b>Figura 33.</b> Necropsia. Anastomose cólica comprometida pertencente ao animal do subgrupo 2.1 após a retirada da película de proteção de PVC.....	83
<b>Figura 35.</b> Segmento de cólon descendente pertencente ao S2.1.....	84
<b>Figura 36.</b> O mesmo segmento de cólon acima após a remoção da camada de fibrina.....	85
<b>Figura 37.</b> Característica da anastomose cólica em animal pertencente ao S1.3 .....	86
<b>Figura 38.</b> Distribuição gráfica dos valores da mortalidade dos subgrupos 1.1, 1.2, 1.3, 2.1, 2.2 e 2.3.....	88
<b>Figura 39.</b> Característica da mucosa em segmento de alça cólica com a sua respectiva área de anastomose dos subgrupos 1.1, 2.3 e 2.1 .....	89
<b>Figura 40.</b> Distribuição gráfica dos valores da energia total de ruptura em gf.cm pertencentes aos subgrupos 1.1, 1.2, 1.3, 2.1, 2.2 e 2.3 .....	89
<b>Figura 41.</b> Disposição decrescente da Energia Total de Ruptura em gf.cm adquirida pelos subgrupos 1.1, 1.2, 1.3, 2.1, 2.2 e 2.3 .....	94



# RESUMO



Deiscências de anastomoses cólicas proporcionam o surgimento de complicações graves, levando a expressivos índices de morbidade e mortalidade. Sendo assim, torna-se fundamental a compreensão dos mecanismos envolvidos na cicatrização intestinal. Diversos fatores alteram a fisiologia de reparação intestinal e a diminuição da perfusão sangüínea representa uma das causas mais importantes.

Neste trabalho analisaram-se os efeitos de diferentes concentrações de oxigênio na fase inicial da cicatrização em anastomose de cólon descendente de ratos, comprometida ou não pela isquemia. Para aferição da qualidade das anastomoses, propôs-se o Teste Biomecânico Energia Total de Ruptura (ETR), método esse, fundamentado no Princípio Universal da Conservação de Energia. Foram utilizados 60 ratos, distribuídos em dois grupos de 30. O Grupo 1 (G1) foi caracterizado pela ausência de isquemia, enquanto no Grupo 2 (G2) provocou-se esse fenômeno. Cada grupo subdividiu-se em três subgrupos contendo 10 ratos e em todas as anastomoses utilizaram-se películas de polivinilcloro para evitar a fixação de aderências sobre elas. No G1, os ratos dos subgrupos 1.1 (S1.1), 1.2 (S1.2) e 1.3 (S1.3), depois de operados, permaneciam no pós-operatório respirando ar ambiente. Os animais do S1.2 e S1.3 foram submetidos à sessão diária por 90 minutos, de hiperoxigenação normobárica (uma atmosfera absoluta) e hiperbárica (duas atmosferas absolutas), respectivamente. No G2, após feitura das anastomoses, instalou-se a isquemia arterial e venosa no cólon descendente dos ratos pertencentes aos subgrupos 2.1 (S2.1), 2.2 (S2.2) e 2.3 (S2.3) ligando-se o tronco mesentérico caudal, a arcada marginal na reflexão peritoneal e a quatro centímetros proximalmente. Após, os ratos evoluíram respirando ar ambiente. O mesmo protocolo terapêutico utilizado nos S1.2 e S1.3 foram aplicados nos ratos dos S2.2 e S2.3, respectivamente. A eutanásia ocorreu no quarto dia pós-operatório. A

mortalidade foi de oito animais, sendo todos do G2 ( $p=0,0045$ ). Nenhuma anastomose apresentou fixação de aderências em razão da presença da película de polivinilcloro. Durante os ensaios biomecânicos, todas as rupturas ocorreram nas anastomoses. O S1.3 necessitou maior média de ETR para romper as linhas de sutura em relação às obtidas nos subgrupos 2.3 ( $p=0,016$ ), 1.2 ( $p=0,014$ ) e 1.1 ( $p=0,0018$ ). As anastomoses do S2.3, apesar da isquemia, alcançaram valores de ETR similares aos encontrados nos S1.1 ( $p=0,153$ ) e S1.2 ( $p=0,9$ ). Por final, as linhas de sutura do S2.2 e S2.1 necessitaram menores valores de ETR para promoverem as rupturas ( $p=0,87$ ).

As análises dos resultados desse trabalho permitiram concluir que:

- A isquemia interferiu negativamente na cicatrização cólica, reduzindo a resistência intrínseca da anastomose e aumentando a taxa de mortalidade;
- A hiperóxia hiperbárica apresentou efeitos benéficos na fase inicial da cicatrização cólica de ratos, comprometida ou não pela isquemia, elevando a resistência mecânica da anastomose e
- A hiperóxia normobárica não apresentou efeitos benéficos na fase inicial da cicatrização cólica de ratos, comprometida ou não pela isquemia.



# **ABSTRACT**



Anastomotic dehiscence of the large bowel surgery can result in severe complications and increase morbidity and mortality rate. Hence, studies are necessary to underly this tecidual regeneration process mechanisms. Several factors interfere in the physiological intestinal wound repair and inadequated blood flow is a well-known cause of this event.

The objective of this work was to investigate the effects of different oxygen concentrations on the early phase of ischemic and normal rat's distal colon anastomosis healing process. The biomechanical test applied in this study was performed by the Total Energy of Rupture test (TER) based on the Universal Energy Conservation Law.

The experimental procedure included the utilization of sixty Wistar male rats, divided equality into two groups. Group 1 (G1) was characterized by the absence of ischemia during the colonic cicatrization process, and Group 2 (G2) was characterized by the presence of this phenomenon. Each group was subdivided into three subgroups with ten rats and a polivinilclorate sheet was attached to every anastomosis to protect the operatory lesion area from adhesion fixation. In the G1, after anastomosis performance, the subgroups animals from 1.1(S1.1), 1.2 (S1.2) and 1.3 (S1.3) remained breathing ambiantal air. Nevertheless, S1.2 rats received sessions, breathing 100% oxygen, at one absolut atmosphere. S1.3 rats were submitted to hyperbaric oxygen therapy at two absolut atmosphere. In the G2, in order to establish ischemic colon anastomosis, the tail mesenteric artery and venous, the mesocolon at peritoneal reflection level and four centimeters proximal from this topography were ligated. After these procedures, rats remained breathing ambiantal air. The same therapeutic protocol peformed in S1.2 and S1.3 was applied, respectively, to S2.2 and S2.3. Euthanasia was performed at fouth day after

operation. All rats survived during the study except eight animals from G2 ( $p=0,0045$ ). None anastomosis presented adhesions due to polivinilclorate sheet protection. During the biomechanics test, every rupture took place within the anastomosis and S1.3 animals anastomosis achieved higher TER compared to S2.3 ( $p=0,016$ ), S1.2 ( $p=0,014$ ) and S1.1 ( $p=0,0018$ ) rats anastomtic lines.

Despite of the ischemia presence during the healing process, the obtained S2.3 TER measurement was similar to TER measurements obtained from S1.1 ( $p=0,153$ ) and S1.2 ( $p=0,9$ ). In this work, S2.2 and S2.1 anastomotic lines achieved the lowest TER necessary to promote anastomosis rupture ( $p=0,87$ ).

The analysis of the results permitted the following conclusions:

- Ischemia impaired colonic anastomotic healing. This event decreased the intrinsic anastomosis resistance and increased the mortality rate;
- Hyperbaric oxygen therapy improved anastomotic wound healing of both presence and absence ischemic rat's colonic anastomosis e
- Normobaric hyperoxia caused no beneficial effects in anastomotic wound healing of both presence and absence ischemic rat's colonic anastomosis.



# 1. INTRODUÇÃO



## **1.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS**

A cicatrização inadequada de uma anastomose intestinal ocasiona o surgimento de graves complicações, tais como deiscências com peritonite, fístulas e estenoses. Esses reveses promovem invalidez temporária ou permanente, repercutindo de maneira importante nos índices de morbidade e mortalidade.

Sob essa premissa, é essencial a compreensão das propriedades referentes a esse processo regenerativo. Com isso, as etiologias dessas complicações cirúrgicas poderão ser determinadas e prevenidas.

Por muito tempo, os pesquisadores estudaram as interferências das técnicas operatórias sobre as propriedades de reparação do intestino.

CONNEL (1899) demonstrou que havia mais de uma centena de técnicas desenvolvidas com a finalidade de executar sutura intestinal, enquanto KERR (1923), após 24 anos, estimou esse número em mais de 250.

Atualmente, a anastomose intestinal ainda apresenta-se como um dos temas mais pesquisados em trabalhos clínicos e experimentais. Esses estudos têm sido direcionados principalmente para o desenvolvimento de novos materiais e formas de execução da linha de sutura, tais como: grampo metálico, adesivo à base de fibrina, adesivo não biológico, cola de colágeno, anéis, próteses endoluminais entre outros (APRILLI, 1998). Isto demonstra claramente que, apesar das inovações tecnológicas e da crescente base de conhecimentos adquiridos, não se conseguiu ainda alcançar a anastomose ideal.

Além dos materiais e da técnica cirúrgica, outros fatores podem também interferir no restabelecimento dessa ferida operatória como os efeitos dos antibióticos (COHEN et al., 1985; HERSHEY et al., 1987), dos anti-inflamatórios não hormonais e hormonais

(MANTOVANI et al., 1978; SOUZA et al., 1991; MARTINS et al., 1992; FURST et al., 1994; MINOSSI, 1995), dos anti-oxidantes (SHANDALL et al., 1996; GARCIA et al., 1998), dos antineoplásicos (YASDY et al., 1998) e das drogas imunossupressoras (MANTOVANI et al., 1979) sobre as fases de cicatrização das anastomoses.

Tão importante quanto a análise dessas substâncias farmacológicas, pesquisas continuam sendo amplamente realizadas na detecção de repercussões proporcionadas pelo diabete melito (GOODSON e HUNT, 1978), trauma (IRVIN e HUNT, 1974), choque (BRITO et al., 2001), sepsis (NARESSE, 1990) e ação das aderências (SCOTT-COOMBES et al., 1993; DeCHERNEY e DiZEREGA, 1997; WU, 2000) no processo regenerativo da anastomose intestinal.

Embora esses fatores, locais ou sistêmicos, sejam capazes de gerar complicações cirúrgicas gastrointestinais, acredita-se que uma das causas mais importantes constitui-se na diminuição da perfusão sangüínea do tecido em regeneração, originando regiões com baixas pressões de oxigênio (HUNT e PAI, 1972; SCHROK, et al., 1973; FIELDING et al., 1980; TAGART, 1981; KHOURY e WAXMAN, 1983; FOSTER et al., 1984; VAN der HAM et al., 1992; HAMZAOGLU et al., 1998).

Mesmo com o aumento substancial de informações relacionadas aos efeitos da baixa concentração de oxigênio em feridas operatórias, ainda existe quantidade limitada de trabalhos referentes à ação de diferentes concentrações dessa molécula sobre o processo de reparo intestinal, principalmente em situação de risco tal qual a isquemia (KIRK e IRVIN, 1977; HAMZAOGLU et al., 1998).

Uma das modalidades terapêuticas que proporciona a elevação da fração fisicamente dissolvida de oxigênio no plasma sangüíneo e em tecidos hipóxicos consiste na

hiperoxigenação hiperbárica. As propriedades funcionais desse tratamento foram provenientes, de início, por meio de pesquisas em áreas da fisiologia dos mergulhadores e da reparação em tecidos como a pele.

O desenvolvimento da terapia hiperbárica em ambiente hospitalar iniciou-se a partir da década de trinta e freqüentemente era vinculada aos serviços especializados pertencentes às instituições militares como a Marinha. Desde então, por meio de estudos e pesquisas, o espectro de ação clínica da oxigenioterapia hiperbárica ampliou-se de maneira bastante significativa.

Atualmente, esse tratamento é indicado em enxertos e retalhos com ou sem comprometimento pela isquemia com a finalidade de melhorar a sobrevida desses tecidos (HART et al., 1974; DAVIS et al., 1988; WHITE e HECKLER, 1990; ZAMBONI et al., 1992), em infecções necrotizantes de tecidos moles diminuindo a morbidade e a mortalidade dessas afecções (SKILES et al., 1978; BAKER, 1988; HIRN, 1993), em feridas cirúrgicas com dificuldade de regeneração, acelerando o processo de cicatrização (HAMMARLUND e SUNDBERG, 1994), além de tratar moléstias como osteomilite (MADER, et al., 1980; ESTERHAI JUNIOR, 1987), intoxicação por monóxido de carbono (WEAVER, 1995), necrose por irradiação (MARX et al., 1990), embolia gasosa (BASKIN e VOZNIAK, 1975; FYKE, et al., 1985; MURPHY, et al., 1985), doença descompressiva (MOON e GORMAN, 1993) e anemia pós-hemorrágica (HART, 1994).

Em estudos experimentais e clínicos, os efeitos terapêuticos da hiperóxia hiperbárica já apresentam evidências positivas em entidades clínicas, tais como: abscesso cerebral (IAZZETTI, 1992), queimaduras (KORN et al., 1977), peritonite fecal

(IAZZETTI, 1996), doença de CROHN (NELSON et al., 1990), retocolite ulcerativa (RACHMILEWITZ et al., 1998), fissura anal (CUNDALL et al., 2003) entre outros.

Diversos parâmetros e modelos experimentais foram desenvolvidos com a finalidade de analisar os mecanismos e as propriedades próprias da cicatrização intestinal. Esses métodos podem ser representados por meio da observação clínica (LIMJOCO, 1974), dos testes de resistência mecânica (NELSEN e ANDERS, 1966; FUNG, Y.C., 1967; CARRIL, 1970; FORRESTER, J.C. 1973; JIBORN et al., 1978a; JIBORN et al., 1978b; PEACOCK JUNIOR, 1984; HENDRICKS e MASTBOOM, 1990; NARESSE, 1990; SOUZA et al., 1991; MARTINS et al., 1992; CHRISTENSEN et al., 1993; GARCIA-OLMO, et al., 1996; AMARAL, 1997; GARCIA et al., 1998; NIERI, 1999; WU, 2000), das análises angiográficas e micro-angiográficas (ABRAMOWITZ e ALISTER, 1969; HOUDART et al., 1985), de inspeções radiológicas (GOLIGHER et al., 1970b; WHELESS e SMITH, 1983), de avaliações histológicas (MILLIGAN e RAFTERY, 1974; MANTOVANI, 1978; MANTOVANI, 1979; MEDEIROS, 1982; FAGUNDES, 1990) e de análises bioquímicas (JIBORN et al., 1980b; NARESSE, 1990; BIONDO-SIMÕES, 1992; HAMZAOGLU et al, 1998).

Nos dias atuais, os testes biomecânicos constituem-se como uma das modalidades mais empregadas para a avaliação do processo de cicatrização intestinal. Esses métodos de medição têm por finalidade determinar a resistência intrínseca de uma anastomose nas diferentes fases de regeneração tecidual e classificam-se de acordo com o princípio físico-mecânico que os regem.

O atributo resistência mecânica de uma linha de sutura pode ser obtido por meio de testes como Pressão de Ruptura à Distensão por Líquido ou por Ar, Força de Ruptura à

Tração, Tensão de Ruptura, Tensão Resultante Final de Ruptura à Tração e Energia Interna de Deformação.

No Laboratório de Medicina e Cirurgia Experimental da Unicamp são utilizados quatro dos parâmetros biomecânicos acima descritos, a Pressão de Ruptura à Distensão por Líquido (WU, 2000), Força de Ruptura à Tração (WU, 2000), Tensão Resultante Final de Ruptura à Tração (WU, 2000) e Energia Interna de Deformação (NIERI, 1999).

Neste trabalho, foi proposto o teste biomecânico Energia Total de Ruptura para avaliar os efeitos de diferentes concentrações de oxigênio e da hiperóxia hiperbárica sobre o processo de cicatrização cólica em rato, comprometida ou não pela presença de isquemia induzida. Esse teste foi desenvolvido pelo Serviço de Colo-Proctologia e Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Universidade Estadual de Campinas em parceria com o LABI - Laboratório de Bioinformática da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, campus de Foz do Iguaçu.

## **1.2. BASES TEÓRICAS E DADOS DA LITERATURA**

### **1.2.1. EFEITOS DO OXIGÊNIO E DA HIPEROXIGENAÇÃO HIPERBÁRICA NA CICATRIZAÇÃO INTESTINAL**

Há cerca de dois bilhões de anos, com o surgimento e desenvolvimento de organismos fotossintéticos, iniciou-se a formação de oxigênio livre e da camada de ozônio na atmosfera terrestre. Com esses fenômenos, diversos organismos passaram a utilizar essa molécula no metabolismo celular com o objetivo de extrair nutrientes e energia para a manutenção da estabilidade fisiológica (IAZZETTI e TERZI, 1996). Desde então, os seres

vivos pertencentes aos reinos animal e vegetal necessitam incondicionalmente da molécula de oxigênio para sobreviverem, excetuando-se os microorganismos anaeróbios estritos.

Essa capacidade de regeneração tecidual somente será realizada de maneira efetiva se os mecanismos pertencentes à cicatrização, tais como síntese de colágeno (JIBORN et al., 1978c), ativação de células de defesas (KNIGHTON et al., 1986), angiogênese (MARX et al., 1990; ZAMBONI et al., 1993), reepitelização (MARX e EHLER et al., 1990), controle da flora bacteriana (COHEN, 1985) e formação de radicais livres (CAPRIA, 2002) estiverem funcionando adequadamente. Entretanto, para que esses fenômenos possam ocorrer em condições apropriadas, é indispensável a presença do oxigênio.

No processo de respiração aeróbia, essa molécula constitui-se como componente essencial para que os mecanismos mantenedores da homeostase celular possam atuar de modo efetivo. Em virtude disso, a cicatrização tecidual se procederá adequadamente.

#### **1.2.1.1. EFEITOS DO OXIGÊNIO E DA HIPEROXIGENAÇÃO HIPERBÁRICA SOBRE O PROCESSO DE SÍNTESE DO COLÁGENO**

No tubo digestivo, a camada submucosa assume posição fundamental nos processos de reparação, pois, é composta por extensa rede de vasos sangüíneos, grande quantidade de células promotoras da cicatrização como o fibroblasto e a célula muscular lisa e rico tecido conectivo. Esse último componente é constituído, predominantemente, por colágenos dos tipos I, III e V, nas seguintes proporções: 68%, 20% e 12%, respectivamente (THORNTON et al., 1997; WITTE e BARBUL, 1997).

A cito-arquitetura do colágeno encontrado na submucosa apresenta-se com aspecto ondulada em virtude da disposição biaxial e da orientação longitudinal de +30° e -30°.

Além disso, essas proteínas fibrosas estão entrelaçadas e inter-relacionadas por meio de ampla rede de microfibrilas (FACKLER et al., 1981; OSBERG et al., 1982).

Com esse arranjo estrutural, a resistência mecânica e a elasticidade da submucosa mostram-se bastante elevadas, constituindo desse modo, local ideal para a ancoragem dos pontos de sutura (RAVITCH et al., 1981; PEACOCK JUNIOR, 1984). Com isso, LORD et al. (1977) intitularam o colágeno encontrado nessa camada como “esqueleto” do cólon.

Essa resistência mecânica adquirida pela anastomose durante as fases da cicatrização intestinal está diretamente relacionada com o equilíbrio da lise do colágeno pré-existente e a síntese do novo colágeno. Qualquer alteração nesse balanço bioquímico acarretará em reparo tecidual deficiente (CRONIN, et al., 1968; JIBORN et al., 1980a; OLSEN e NIMNI, 1988; RAVO, 1988; HENDRICKS e MASTBOOM, 1990).

No cólon, a célula muscular lisa e o fibroblasto são os responsáveis pela produção do colágeno e os seus mecanismos de migração, divisão, proliferação e síntese somente transcorrerão harmoniosamente se a tensão de oxigênio tecidual estiver acima de 30 mmHg (HIRN, 1993; QUIRINIA e VIIDIK, 1995; TIBBLES e EDELSBERG, 1996).

Essas funcionalidades também são influenciadas e reguladas por meio de citocinas e de fatores de crescimento liberados pelos macrófagos, monócitos, neutrófilos, linfócitos e plaquetas encontrados nas feridas cirúrgicas. Essas células também necessitam da molécula de oxigênio para manterem as suas funções atuando de maneira efetiva (HERNDON et al., 1993; WITTE e BARBUL, 1997).

Para que o colágeno possa ser sintetizado, são necessárias oito etapas bioquímicas até o procolágeno ser secretado no ambiente extracelular. Dentre essas etapas, as reações de

hidroxilação dos aminoácidos prolina e lisina assumem importância fundamental (UDENFRIEND, 1966; THORTON e BARBUL, 1997).

Quando a concentração do oxigênio é reduzida nas áreas em reparação tecidual, o processo de hidroxilação da prolina e da lisina faz-se de modo ineficiente. Em virtude disso, as interações intermoleculares das cadeias tripeptídicas e as ligações cruzadas entre as fibrilas serão inadequadamente realizadas, repercutindo assim, na qualidade e na conformação da matriz colagênica produzida (PROCKOP e KIVIRIKKO, 1967; PEACOCK JUNIOR, 1984).

Essas alterações estruturais reduzem a resistência mecânica intrínseca do tecido em cicatrização e proporcionam o surgimento de deiscências anastomóticas (HANDRICKS e MASTBOOM, 1990; KORUDA e ROLANDELLI, 1990).

KIRK e IRVIN (1977) estudaram a resistência intrínseca durante a regeneração da derme e de anastomose cólica em ratos que inalavam oxigênio a 50%. Os resultados demonstraram que esse evento não contribuiu para a elevação da força de ruptura, da tensão de ruptura e da produção de colágeno nas feridas operatórias desses animais em relação àqueles que respiraram ar ambiente.

Em contrapartida, NIINIKOSKI (1970), por meio do uso da hiperóxia hiperbárica, demonstrou que a síntese do colágeno e a resistência à tensão da ferida incisional em pele de ratos aumentaram proporcionalmente em relação a concentração de oxigênio ofertada.

STEPHENS e HUNT (1971) por meio de estudo em pele de rato, evidenciaram que aumentando a concentração do oxigênio inalado por esses animais, proporcionalmente, elevava-se a resistência à tensão nas feridas operatórias.

NIINIKOSKI et al. (1972), em outro estudo, mostrou que o acúmulo de colágeno e ácido ribonucléico em cilindros de esponja inseridas em região dorsal do rato eram reduzidas com a presença de hipóxia e elevados com a hiperóxia, atingindo um pico máximo quando a concentração de oxigênio alcançou 70% a uma atmosfera absoluta.

HUNT e PAI (1972) demonstraram, em coelhos, que o consumo do oxigênio pela ferida da pele em cicatrização sofria um acréscimo quando a concentração inalada passava de 12% a 45%. Essa elevação aumentou a tensão de oxigênio tecidual repercutindo positivamente na produção de colágeno e na resistência mecânica dessa lesão operatória.

KIVISAARI et al. (1975) estudaram em pele de ratos, a quantidade de energia consumida pelo processo de cicatrização em feridas cirúrgicas de animais que inalavam diferentes concentrações de oxigênio. Esses pesquisadores evidenciaram que quando os ratos respiravam oxigênio a 11%, a quantidade de monofosfato, difosfato e trifosfato de adenosina apresentavam-se em menores quantidades em relação aos animais que inalavam ar ambiente e concentrações de oxigênio a 55%. Nas lesões cirúrgicas dos ratos desse último grupo, encontraram um aumento expressivo tanto nos níveis de ADP e ATP quanto na produção de colágeno e com isso demonstraram que, quanto maior a disponibilidade do oxigênio em áreas lesadas, mais efetivo era o processo regenerativo.

SHANDALL et al. (1985) evidenciaram que a tensão de oxigênio peri-anastomótica encontrada no intestino delgado e no cólon de coelhos estava diretamente relacionada com a energia de ruptura, força de ruptura à tração e conteúdo de hidroxiprolina nessa área. Além disso, as taxas de deiscência da linha de sutura foram de 10% e 100% quando essas eram realizadas com tensões tissulares perianastomóticas superiores a 55 mmHg e inferiores a 25 mmHg, respectivamente.

SHERIDAM et al. (1987), por meio do eletrodo de Clark, mediram a tensão de oxigênio em áreas peri-anastomóticas de 50 pacientes submetidos à ressecção do cólon e concluíram que quanto menor o valor encontrado, maior era a taxa de deiscências. Com isso, esse parâmetro foi capaz de predizer esse revés cirúrgico.

#### **1.2.1.2. EFEITOS DO OXIGÊNIO E DA HIPEROXIGENAÇÃO HIPERBÁRICA SOBRE O PROCESSO DE ANGIOGÊNESE**

A incisão cirúrgica no intestino promove lesões celular e vascular. Imediatamente, no local, ocorre formação de edema, migração de células e ativação dos mecanismos da hemostasia, configurando assim, a fase inflamatória da cicatrização (WITTE e BARBUL, 1997). Após esse período, inicia-se um dos eventos fundamentais pertencentes ao processo de reparação tecidual, a neovascularização.

Esse fenômeno biológico promove o retorno do fluxo sanguíneo para o tecido em regeneração. Com isso, as ofertas de nutrientes, de oxigênio e de outras substâncias necessárias para promoverem uma boa cicatrização serão restabelecidas.

A matriz colagênica assume papel fundamental no processo de angiogênese, pois, essa estrutura protéica auxilia na reconstituição dos vasos lesados servindo como arcabouço de sustentação para os novos vasos formados (KNIGHTON et al., 1981).

Acredita-se que a neovascularização é estimulada pelo ambiente hipóxico encontrado nas feridas operatórias (MYERS, 1986). Todavia, para que esse fenômeno ocorra de maneira eficiente, uma quantidade mínima de oxigênio necessita estar presente no local. Sem essa molécula, os mecanismos que auxiliam o processo de regeneração

vascular pertencentes aos macrófagos, plaquetas, células endoteliais e fibroblastos encontram-se reduzidas (IAZZETTI, 1996; TIBBLES e EDELSBERG, 1996).

Segundo IAZZETTI (1996), a exposição diária de tecido isquêmico a hiperoxigenação hiperbárica, por tempo limitado, promove condições ideais para o desenvolvimento do processo de neovascularização, pois, durante essas sessões, os processos de fibroplasia e da síntese de colágeno são mantidos. Além disso, o fator estimulante básico da angiogênese, a hipóxia tecidual, atuou no tecido em regeneração nos períodos em que não estava sendo submetido a esse método terapêutico.

MARX et al. (1990), por meio de estudo em mandíbula irradiada de coelho, demonstraram que o processo de angiogênese transcorreu efetivamente quando a oferta de oxigênio mostrava-se adequada. A revascularização desse tecido hipovascular, hipocelular e hipóxico aumentou em até nove vezes nos animais submetidos à hiperóxia hiperbárica em relação aos coelhos que inalaram oxigênio a 100% ou ar ambiente.

TOMPACH et al. (1997) evidenciaram que, durante o processo de cicatrização tecidual, o metabolismo celular está diretamente relacionado com a quantidade de oxigênio disponível no tecido. Esses pesquisadores mostraram que a hiperóxia hiperbárica elevou a pressão parcial e a saturação de oxigênio em cultura de células endoteliais e fibroblastos, resultando em proliferação efetiva dessas células.

SHEIKH et al. (2000) demonstraram, em ferida de pele de ratos, que a hiperóxia hiperbárica interferiu efetivamente no processo de angiogênese encontrado nessas lesões. Este evento ocorreu em virtude do aumento, nesse local, da quantidade do fator de crescimento endotelial vascular. Com isso, concluíram que a elevação desse fator explicaria, em parte, a ação angiogênica da hiperoxigenação hiperbárica.

### **1.2.1.3. EFEITOS DO OXIGÊNIO E DA HIPEROXIGENAÇÃO HIPERBÁRICA SOBRE A PRODUÇÃO DE RADICAIS LIVRES**

O uso do oxigênio a 100% e da hiperoxigenação hiperbárica elevam a tensão tissular dessa molécula nos tecidos, ocasionando o aumento na formação de radicais ativados. No entanto, o organismo é capaz de desenvolver mecanismos de tolerância e adaptação por meio de reações enzimáticas pró-oxidantes e anti-oxidantes com a finalidade de equilibrar os processos de oxidação (CRAPO e TIERNEY, 1974; KIMBALL et al., 1976; TURRENS et al., 1984; IAZZETTI, 1996).

A formação de espécies reativas do oxigênio encontra-se exacerbada não somente em condições de hiperóxia mas também em áreas onde a baixa tensão de oxigênio tissular está vigente (IAZZETTI e TERZI, 1996; SENEL et al., 1997).

Nessas regiões, a citocromo  $a_3$  oxidase, enzima catalizadora presente nas mitocôndrias e que atua na reação de redução direta do oxigênio em água durante o processo de respiração celular, apresenta-se com as suas funções reduzidas. Essas propriedades redutoras sofrerão uma diminuição ainda maior quando a tensão de oxigênio encontrada nessas organelas atingir valores abaixo de três milímetros de mercúrio (IAZZETTI, 1992; IAZZETTI, 1996).

Desse modo, em virtude da sua conformação eletrônica, o oxigênio tende a receber um elétron por vez durante as sucessivas reações bioquímicas de oxidação da glicose. Por meio desse evento, espécies intermediárias altamente reativas e instáveis, tais como o ânion radical superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxila, são originadas (IAZZETTI e TERZI, 1996; CAPRIA, 2002).

Esses radicais ativados provenientes do oxigênio causam danos em vários substratos biológicos, incluindo proteínas, lipoproteínas, ácido desoxi-ribonucléico, carboidratos e ácidos graxos poli-insaturados. Em decorrência disso, desequilibram os mecanismos mantenedores da homeostase celular, podendo originar lesões irreversíveis (PINCEMAIL, 1995).

A hiperóxia hiperbárica reduz a capacidade destrutiva desse processo, pois, eleva a quantidade do oxigênio nos tecidos isquêmicos, minimizando assim, os reveses proporcionados pelo ambiente hipóxico (CAPRIA, 2002). Além disso, esse método terapêutico restringe a capacidade de aderência dos neutrófilos nas paredes das vênulas, reduzindo a ativação dessas células e conseqüentemente, a liberação de radicais livres nesses locais. Com isso, eventos como vasoconstricção arteriolar, lesões venulares e teciduais serão reduzidos nas síndromes de reperfusão pós-isquemia (ZAMBONI et al., 1993; HAAPANIEMI et al., 1996).

#### **1.2.1.4. EFEITO ANTIBIÓTICO DO OXIGÊNIO**

Durante a feitura da anastomose, o contato da flora bacteriana com a cavidade abdominal torna-se inevitável, principalmente em cirurgias onde não se realizou preparação intestinal prévia.

Mesmo após a sutura, os microorganismos são capazes de infiltrar as camadas da parede intestinal através da mucosa, enquanto essa túnica ainda não estiver totalmente restabelecida.

Essas bactérias competem com as células de defesa e de reparo, pelo oxigênio local, diminuindo a disponibilidade e a quantidade dessa molécula no tecido em cicatrização (COHEN et al., 1985).

HUNT et al. (1975) estudaram a quantificação de bactérias em feridas infectadas de pele de ratos que inalavam oxigênio a 12% e encontraram duas vezes mais microorganismos em relação àqueles que inalavam ar ambiente. No entanto, quando os ratos passaram a respirar oxigênio a 45%, a quantidade de bactérias nas lesões foi reduzida de duas a três vezes quando comparadas ao grupo controle.

HOHN et al. (1976), por meio de estudo “in vitro”, evidenciaram a diminuição da capacidade de destruição do *Staphylococcus aureus* pelos neutrófilos em ambientes com pressão parcial de oxigênio de 15 milímetros de mercúrio. Essa função de defesa celular reduziu-se ainda mais quando a tensão de oxigênio foi inferior a cinco milímetros de mercúrio.

KLEBANOFF (1980), em trabalho experimental, demonstrou que os neutrófilos necessitavam maior quantidade de oxigênio durante o processo de fagocitose bacteriana. Esse valor aumentou de 15 a 20 vezes o consumo fisiológico dessa molécula por essas células de defesa. Isto ocorreu em virtude do desencadeamento de uma série de eventos metabólicos intracelulares oxigênio-dependentes.

COHEN et al. (1985) estudaram a cicatrização de anastomose cólica em rato com e sem preparo intestinal prévio e em condição isquêmica. Esses pesquisadores demonstraram que o processo de regeneração do cólon, com isquemia e sem preparo intestinal, pôde ser melhorado pelo uso de antibiótico por via oral. Esses autores acreditavam que as bactérias

da flora intestinal alcançavam a parede cólica através da mucosa e concorriam com os fibroblastos pelo oxigênio disponível, retardando assim, o processo de cicatrização.

A hiperóxia hiperbárica proporciona importante elevação na quantidade de oxigênio fisicamente dissolvido no plasma e no tecido. Essa terapêutica possui efeito antibiótico por meio de ações microbicidas e microbiostáticas atuando de modo letal sobre os microorganismos anaeróbios estritos, alguns microaerófilos e aeróbios facultativos que proliferam em condições anaeróbias (KAYE, 1967; GOTTLIEB, 1970; HILL e OSTERHOUT, 1972; HIRN, 1993; IAZZETTI, 1996).

O mecanismo de ação da hiperoxigenação hiperbárica nos microorganismos aeróbios consiste em auxiliar as propriedades de defesa oxigênio-dependente promovidas pelos macrófagos. Esse modelo terapêutico favorece a formação de espécies reativas do oxigênio pelos polimorfonucleares, aumentando a sua função oxidativa e antibiótica sobre as bactérias (FISHER e JAIN, 1988; INAMOTO et al., 1991).

A formação dos radicais livres é essencial no processo de defesa do organismo, visto que indivíduos acometidos pela doença granulomatosa crônica, em virtude da deficiência enzimática hereditária responsável pelo fenômeno de oxidação encontrado nos polimorfonucleares, tornam-se extremamente susceptíveis às infecções (FISHER e JAIN, 1988).

As propriedades funcionais das bactérias anaeróbias são bloqueadas pelo aumento da concentração e da oferta do oxigênio. Além disso, a quantidade adequada dessa molécula inibe a produção e a atividade de certas toxinas elaboradas por microorganismos do gênero Clostridia, tal qual a alfatoxina (DEMELLO et al., 1973; IAZZETTI, 1996).

DEMELLO et al. (1973) inocularam esporos de *Clostridium perfringens* em cães e verificaram que o uso de antibiótico somado ao debridamento cirúrgico promoveram uma taxa de sobrevivência de 70%. Os resultados alcançaram valores ainda mais expressivos quando esses pesquisadores conjugaram esses dois tipos de tratamentos à hiperoxigenação hiperbárica. Com isso, a taxa de sobrevivência aumentou para 95%.

HIRN (1993), em estudo, inoculou *Clostridium perfringens* no músculo da pata do rato levando à mortalidade de 100% nos animais que respiravam ar ambiente. Por meio de desbridamento cirúrgico, a mortalidade reduziu-se para 38%; conjugando esse procedimento operatório com a oxigenioterapia hiperbárica, o restabelecimento completo dos ratos alcançou 94%.

HIRN et al. (1993), em outro estudo baseado em miosite de rato, inocularam através de injeção intramuscular microorganismos como *Clostridium perfringens*, *Bacteroides fragilis*, *Escherichia coli* e *Streptococcus faecalis*. O grupo controle apresentou uma mortalidade de 60% enquanto os grupos submetidos aos tratamentos de debridamento cirúrgico e debridamento associado à oxigenioterapia hiperbárica alcançaram 35% e 20%, respectivamente. Além disso, os ratos sobreviventes do grupo caracterizado pela associação dos tratamentos obtiveram regeneração completa da ferida em 84,4%. No entanto, a realização de desbridamento como única terapêutica propiciou a reparação da lesão em 15,4% dos animais.

AKIN et al. (2001) por meio de estudo realizado em ratos, demonstraram que a hiperóxia hiperbárica foi capaz de conter o crescimento e o processo de translocação bacteriana desencadeados pela obstrução de vias biliares. Esses pesquisadores, em culturas de bactérias nos diversos tecidos, tais quais linfonodos mesentéricos, fígado, baço e sangue,

evidenciaram que essa terapêutica reduziu em até cinco vezes a quantidade de microorganismos encontrados nesses tecidos em relação ao grupo que inalava ar ambiente.

AKIN et al. (2002), em outro estudo, demonstraram que a terapêutica hiperóxia hiperbárica reduziu de modo significativo o fenômeno de translocação bacteriana originado após a instalação de obstrução intestinal em ratos. Para isso, aplicou-se sessão diária de 90 minutos a 2,5 atmosferas absolutas. Após 48 horas, essas evidências foram confirmadas pela diminuição do número de bactérias encontrados nas amostras de tecidos tais como linfonodos mesentéricos, intestino delgado, fígado, baço e sangue coletado da veia porta em relação ao grupo controle.

#### **1.2.1.5. EFEITOS DA ISQUEMIA SOBRE A CICATRIZAÇÃO INTESTINAL**

A diminuição da perfusão sanguínea promove o surgimento de regiões com baixa tensão tissular de oxigênio. Esse ambiente hipóxico, quando não corrigido, representa uma das causas mais importantes de revés operatório em cirurgias gastrointestinais.

FORRESTER et al. (1981) analisaram em 40 pacientes a correlação entre a formação de fístulas cólicas com a inadequação do fluxo sanguíneo das camadas mucosa e submucosa na reconstrução do trânsito intestinal pós colostomia. Para a determinação do fluxo sanguíneo, utilizou-se o eletrodo de Clark no momento anterior ao procedimento de feitura da anastomose. No total, de oito fístulas fecais verificadas, em cinco delas havia fluxo sanguíneo inferior a 15 mililitros por minuto. Nas reconstruções de trânsito intestinal realizadas com sucesso, todas as medições prévias do fluxo eram superiores a 15 mililitros por minuto. Com isso, os autores evidenciaram que o fluxo sanguíneo local é um dos

fatores que interferem na gênese da fístula fecal durante o procedimento de fechamento de colostomias.

SHIKATA et al. (1982) demonstraram os efeitos do fluxo sangüíneo no processo de cicatrização em anastomose intestinal de cães. Esse fluxo foi medido no lado mesentérico pelo Doppler-fluxometria ultra-sonográfico. Quando as anastomoses ileais e cólicas foram realizadas com fluxo sangüíneo de 60% e 70% abaixo àqueles encontrados no controle, respectivamente, as feridas cirúrgicas, na totalidade, regeneraram-se de modo eficaz. No entanto, quando a reconstrução do trânsito foi realizada com fluxo inferior a 15% no íleo e 25% no cólon, a cicatrização ocorreu inadequadamente originando deiscências de sutura.

WILKER et al. (1988) estudaram as repercussões da peritonite e da isquemia em cicatrização cólica de rato 24 horas após a feitura da linha de sutura. Esses pesquisadores evidenciaram a diminuição na resistência mecânica da anastomose dos animais acometidos pela peritonite e 100% de deiscências na linha de sutura nos ratos pertencentes ao grupo caracterizado pela isquemia induzida.

DOCKENDORF et al. (1993) estudaram os efeitos da hiperóxia hiperbárica sobre isquemia em intestino delgado, sem realização de anastomoses, em ratos. Para isso, aplicaram-se duas sessões diárias de 2,4 atmosferas absolutas, oxigênio a 100% por 90 minutos. Os resultados demonstraram que essa terapêutica não foi capaz de modificar as complicações originárias da isquemia intestinal aguda.

TURKYLMAZ et al. (1997) avaliaram o processo de reparação em anastomose intestinal de cães comprometidos por isquemia leve (80% a 90% em relação ao grupo controle), moderada (70% a 80% em relação ao grupo controle) e grave (60% a 70% em relação ao grupo controle). A isquemia foi feita por meio de ligaduras da artéria marginal

proximal e distal à área de execução da linha de sutura e o nível dessa isquemia foi determinado utilizando-se o método de medição pulso-oximetria. Os resultados demonstraram que nos grupos controle, isquemia leve, isquemia moderada e isquemia grave apresentaram deiscências anastomóticas na ordem de 0%, 8%, 75% e 100% dos casos, respectivamente. Com isso, os autores concluíram que a isquemia piora a cicatrização de anastomose intestinal e que a pulso-oximetria auxilia na predição de deiscência da linha de sutura.

No entanto, HAMZAOGLU et al. (1998), demonstraram que a oxigenioterapia hiperbárica contribuiu de maneira efetiva durante a cicatrização de anastomose cólica em rato, com e sem presença de isquemia induzida. Essa modalidade terapêutica elevou a resistência intrínseca Pressão de Ruptura à Distensão por Líquido e a produção de hidroxiprolina na anastomose durante a fase inicial de regeneração tecidual cólica.

### **1.2.2. BASES BIOFÍSICAS DA HIPERÓXIA HIPERBÁRICA**

A hiperóxia hiperbárica é um tratamento caracterizado pela inalação de oxigênio a 100%, por um organismo, em pressão superior à atmosférica ao nível do mar.

BOEREMA et al. (1960), em estudo clássico, abordaram como tema a hemodiluição e hipotermia associadas à hiperóxia hiperbárica. Os resultados demonstraram que durante a aplicação dessa modalidade terapêutica ocorria elevação expressiva na quantidade de oxigênio fisicamente dissolvida no plasma e que essa fração era suficiente para a manutenção do suporte da vida.

No ano seguinte, BRUMMELKAMP et al. (1961) mostraram a primeira casuística do tratamento da gangrena gasosa utilizando a hiperoxigenação hiperbárica a três atmosferas absolutas.

Esses dois trabalhos iniciaram a história moderna da Medicina Hiperbárica. Logo após, sucedeu-se um aumento no número de pesquisas direcionadas nessa área e serviços especializados começaram a surgir, inicialmente na Rússia e posteriormente em outros países Europeus, nos Estados Unidos da América, no Japão e na China.

A atmosfera terrestre é constituída por uma mistura de gases nas seguintes proporções: 20,94% de oxigênio, 78,08% de nitrogênio, 0,04% de gás carbônico e pequenas quantidades de argônio, criptônio e hélio (FISHER et al., 1988).

De acordo com a lei de Dalton, em uma mistura de gases, a pressão parcial de cada componente é proporcional a sua fração nessa mistura. Sendo o valor da pressão atmosférica ao nível do mar de 760 mmHg e equivalente a uma atmosfera absoluta ou 1 ATA, a pressão parcial do oxigênio alcançaria aproximadamente 160 mmHg, ou seja, 20,94% do total da pressão exercida pelo ar atmosférico nesse local.

Ao nível do mar, a 37 graus centígrados e inalando oxigênio a 100%, um organismo hígido é capaz de alcançar pressão parcial alveolar de oxigênio próxima de 673 mmHg. Esse fato se deve às pressões parciais exercidas pelo dióxido de carbono (40 mmHg) e pelo vapor d'água (47 mmHg) existente nos alvéolos (MARX et al., 1990 e HIRN, 1993).

No sangue, o oxigênio é praticamente transportado, na sua totalidade, por meio da hemoglobina presente nas hemácias. Somente uma mínima quantidade dessa molécula encontra-se fisicamente dissolvida no plasma. Cada grama de hemoglobina, em condições fisiológicas e ao nível do mar, possui a capacidade de carrear 1,34 mililitros de oxigênio.

Em outras palavras, um indivíduo saudável tendo 15 gramas de hemoglobina em 100 mililitros de sangue e saturação de oxigênio próxima de 100%, apresenta cerca de 200 mililitros de oxigênio transportado por essa proteína em um litro de sangue, ou seja, 20 vol%. No entanto, a fração de oxigênio dissolvida no plasma, nas mesmas condições, atinge o valor de 0,3 vol% (IAZZETTI, 1996).

Sendo assim, elevando-se a pressão do ambiente para valores superiores a uma atmosfera absoluta, a quantidade de oxigênio ligada à hemoglobina será mantida, pois essa proteína encontra-se praticamente 100% saturada. No entanto, a fração diluída dessa molécula no plasma sofrerá alteração de maneira significativa, pois, a elevação de um milímetro de mercúrio na pressão parcial do oxigênio nos alvéolos pulmonares acarretará em aumento de cerca de 0,0031 vol% dessa molécula dissolvida no plasma (TIBBLES e EDELSBERG, 1996).

Desse modo, um indivíduo saudável respirando oxigênio a 100% em condições de 1 ATA, contém 2,09 vol% de oxigênio fisicamente dissolvido no plasma. Se esse mesmo organismo estiver em ambientes de 2 ATA e 3 ATA, a quantidade de oxigênio dissolvido no sangue ou no líquido intersticial será elevada para 4,44 ml% e 6,80 ml%, respectivamente (DAVIS et al., 1988; MARX et al., 1990).

Esse aumento é bastante expressivo, pois, o regime de extração do oxigênio sanguíneo pelo tecido em repouso é da ordem de 5 a 6 vol% (GRIM et al., 1990; IAZZETTI, 1992). Em virtude disso, a quantidade de oxigênio dissolvido no plasma proporcionada pela hiperoxigenação hiperbárica, é mais que suficiente para suprir as necessidades fisiológicas normais dos tecidos (TIBBLES e EDELSBERG, 1996).

A tensão tissular de oxigênio difere de região para região. Quando sua pressão parcial for da ordem de 100 mmHg nos alvéolos pulmonares, os capilares arteriais atingirão aproximadamente 60% desse valor enquanto que nos capilares venosos, 40%. Tecidos tais como hepático, ósseo e muscular apresentarão valores de 15, 45 e 29 mmHg, respectivamente. Aplicando hiperoxigenação hiperbárica a 2 ATA, as pressões parciais do oxigênio nas diversas topografias aumentam de modo significativo. O capilar arterial passa a apresentar 1150 mmHg enquanto que o venoso, 100 mmHg, os ossos, 321 mmHg e os músculos, 221 mmHg (BASSET e BENNETT, 1977; PARK et al., 1992; IAZZETTI, 1996).

Todavia, o conteúdo total do oxigênio em um organismo não depende somente da pressão de oxigênio inspirada, mas também do nível de hemoglobina e do volume de sangue presente (TÖNJUM, et al., 1980).

### **1.3. PARÂMETROS BIOMECÂNICOS PARA A AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES INTESTINAIS**

Um dos parâmetros mais utilizados para se avaliar o processo de cicatrização intestinal consiste na aplicação de testes fundamentados em conceitos físico-mecânicos. Esses testes determinam a resistência intrínseca de um segmento de alça contendo a anastomose durante a regeneração tecidual e são representados pelos seguintes métodos biomecânicos:

- Pressão de Ruptura à Distensão por Líquido ou por Ar;
- Força de Ruptura à Tração;
- Tensão de Ruptura;

- Tensão Resultante Final de Ruptura à Tração e
- Energia Interna de Deformação.

Apesar da diversidade, todos esses métodos apresentam deficiências e são passíveis de críticas. O ponto crucial está no fato da dificuldade em se trabalhar com materiais biológicos em virtude da constituição estrutural complexa e das propriedades viscoelásticas inerentes a esses tecidos, tal qual alças intestinais.

Uma das características fundamentais na construção de um modelo experimental é tentar minimizar as variáveis que possam interferir na obtenção de resultados precisos e completos (KORUDA e ROLANDELLI, 1990). Seguindo esse raciocínio e utilizando os conhecimentos adquiridos dos métodos acima descritos, neste trabalho, fundamentado no Princípio Universal da Conservação de Energia, desenvolveu-se o teste biomecânico Energia Total de Ruptura.

### **1.3.1. TESTE PRESSÃO DE RUPTURA À DISTENSÃO POR LÍQUIDO OU POR AR**

A Pressão de Ruptura à Distensão por Líquido ou por Ar é um teste de resistência biomecânico que possibilita avaliar a pressão necessária para promover ruptura da linha anastomótica (HENDRICKS e MASTBOOM, 1990; APRILLI, 1998).

Esse princípio físico-mecânico foi empregado pela primeira vez, há pouco mais de um século, por CHLUMSKY I(1899) e atualmente ainda é bastante utilizado por vários pesquisadores (CRONIN et al., 1968; CARRIL, 1970; JIBORN, 1978a; BRENNAM et al., 1984; ROCHA, 1989; BIONDO-SIMÕES et al., 1996; AMARAL, 1997; WU, 2000).

---

**CHLUMSKY, V.** *apud* HENDRICKS, T.; MASTBOOM, W.J.B. Healing of experimental intestinal anastomosis. Parameters for repairs. **Dis Colon Rectum**, 33: 891-901, 1990.

---

Diversos são os fatores que influenciam no teste Pressão de Ruptura à Distensão, tais como: velocidade de insuflação (NELSEN e ANDERS, 1966), tempo decorrido do momento da eutanásia até o início dos ensaios (HENDRICKS e MASTBOOM, 1990), comprimento dos segmentos intestinais testados, espasmos das alças decorrentes da manipulação (GOTTRUP, 1980; NARESSE, 1990) e submissão dos espécimes aos ensaios biomecânicos “in situ” ou após a retirada do animal (BRENNAN et al., 1984; FOSTER et al., 1986; HAUKIPURO et al., 1988).

Esse teste biomecânico somente é válido se a ruptura ocorrer na linha de sutura. Após o período de uma semana, segundo a lei de Laplace, sabe-se que esse evento se dá predominantemente fora da anastomose em virtude da redução do raio interno proporcionada pela constrição cicatricial (NELSEN e ANDERS, 1966; JIBORN et al., 1978a; HESP et al., 1984; HJORTRUP et al., 1986; MARTINS et al., 1992).

No entanto, quando os resultados são obtidos dentro de um mesmo estudo, com animais apresentando características homogêneas e onde o mesmo protocolo experimental foi aplicado, as comparações desses dados são válidas (HENDRICKS e MASTBOOM, 1990; APRILLI, 1998).

### **1.3.2. FORÇA DE RUPTURA À TRAÇÃO**

A Força de Ruptura à Tração é um parâmetro biomecânico que analisa a resistência intrínseca da anastomose por meio da aplicação de forças opostas e em sentido longitudinal à alça intestinal.

HERMANN et al. (1964) utilizou pela primeira vez esse conceito físico-mecânico, sendo posteriormente seguido por vários pesquisadores (JIBORN et al., 1978b;

BLOMQUIST et al., 1984; UDÉN et al., 1988; NARESSE, 1990; LEITE et al., 1994; WU et al., 2003).

A força axial externa aplicada sobre o segmento de intestino contendo a linha de sutura pode ser exercida de maneira contínua e constante (JIBORN et al., 1978b), contínua e variável (WU et al., 2003) ou mesmo por aumentos em intervalos de tempo (HILLAN et al., 1988).

Nesse tipo de ensaio, a anastomose é representada, freqüentemente, por fragmentos ou tiras contendo parte da linha de sutura (MUNDAY e MCGINN, 1976; HERMANN et al., 1964). No entanto, alguns estudos realizaram os ensaios mecânicos submetendo-se integralmente a anastomose à tração (LEITE et al., 1994; NARESSE et al., 1993; WU, 2000).

Em virtude das alças intestinais apresentarem propriedades viscoelásticas e morfologia tubular, torna-se difícil a padronização desses fragmentos. Além disso, essas tiras não poderiam representar a linha de sutura de modo integral (HENDRICKS e MASTBOOM, 1990; APRILLI, 1998).

No entanto, nesse método, as rupturas ocorrem na linha de sutura até no vigésimo oitavo dia e não somente na fase inicial do processo de cicatrização como no teste Pressão de Ruptura à Distensão. Com isso, o estudo do período regenerativo de uma ferida operatória pode ser ampliado (JIBORN et al., 1978b; NARESSE et al., 1987; APRILLI, 1998).

### **1.3.3. TENSÃO DE RUPTURA E TENSÃO RESULTANTE FINAL DE RUPTURA À TRAÇÃO**

O teste biomecânico Tensão de Ruptura está fundamentado na lei de Laplace e caracteriza-se pela medida da tensão máxima gerada pela insuflação de líquido ou de ar no instante de ruptura da anastomose intestinal.

Nesse teste, a maior dificuldade consiste em determinar o valor do raio interno e da espessura da parede na região anastomótica no exato momento de ruptura. Esses atributos são fundamentais para o cálculo da área de secção transversal do espécime e consequentemente, na determinação da tensão de ruptura (HENDRICKS e MASTBOOM, 1990; APRILLI, 1998).

Diversos métodos foram aplicados com a finalidade de obter esses atributos como fixação do espécime em formol após a ruptura e medição da espessura da parede da alça no local da anastomose com uso de paquímetro (GARCIA-ÖLMO et al., 1996) e cálculo da Tensão de Ruptura por meio de equações simplificadas (DOBRIN, 1983). Apesar dos esforços e da criatividade, essas técnicas expressam a dificuldade na aquisição e na precisão dos dados alcançados.

A Tensão Resultante Final de Ruptura à Tração (TRFRT) é um parâmetro biomecânico que evoluiu a partir dos conceitos extraídos dos testes Tensão de Ruptura e Força de Ruptura à Tração.

Esse teste biaxial determina a resistência da anastomose no ponto de ruptura por meio da tensão resultante originada pelos componentes circunferencial, longitudinal e longitudinal adicional, após a aplicação de uma força axial externa (WU, 2000).

As diferenças entre os testes Tensão Resultante Final de Ruptura à Tração e Tensão de Ruptura consistem nos modos de obtenção do raio interno, da espessura da parede e da área de secção transversal na região da anastomose no momento da ruptura. Com a intenção de alcançar maior precisão nos resultados utilizou-se, no teste TRFRT, ferramentas computacionais como Estação de Trabalho O2 da Silicon-Graphics e Processos de Digitalização de Imagens (WU et al., 2003).

Sendo assim, por meio do auxílio computacional, o processo de medição apresentou avanço considerável. Todavia, os valores obtidos da espessura da parede e do raio interno no momento de ruptura da anastomose ainda precisariam ser melhorados quanto ao quesito precisão.

Além disso, mesmo com característica biaxial e a capacidade de analisar maior quantidade de dados referentes à ruptura da anastomose, esse teste biomecânico demonstrou parcialmente as propriedades pertencentes à alça intestinal após a imposição de uma força axial externa de tração (WU et al, 2003).

#### **1.3.4. ENERGIA INTERNA DE DEFORMAÇÃO E ENERGIA TOTAL DE RUPTURA**

Os testes fundamentados em conceitos físico-mecânicos aplicam, freqüentemente, ensaios uniaxiais (CARRIL, 1970; JIBORN et al., 1978a; NARESSE, 1990; SOUZA et al., 1991; MARTINS et al., 1992; CHRISTENSEN et al., 1993; AMARAL, 1997; GARCIA et al., 1998; WU, 2000) e biaxiais (WU et al., 2003) para verificar a resistência intrínseca de uma anastomose intestinal. Em virtude disso, o comportamento da alça contendo a linha de sutura é parcialmente analisado e atributos essenciais como o tempo de ruptura, a

deformação e o módulo de elasticidade não são freqüentemente avaliados (FORRESTER, 1973).

Decorrente desses fatores, pesquisadores têm utilizado fundamentos da Física para determinar de maneira mais detalhada, o comportamento e as propriedades dos materiais biológicos durante os ensaios biomecânicos. Para isso era necessário avaliar a inter-relação dos componentes constituintes desses tecidos, e com isso, obter as suas Equações Constitutivas (ABERG e AXELSSON, 1965; FUNG, 1967; GOU, 1970; HAUT e LITTLE, 1972; FORRESTER, 1973; SOONG e HUANG, 1973; LANIR, 1983; FUNG, 1993; NIERI, 1999).

Segundo FUNG (1993), a Biomecânica tenta compreender a mecânica dos seres vivos estudando a morfologia e a estrutura do organismo. Após esse primeiro passo, as propriedades mecânicas desses materiais devem ser determinadas e fundamentadas nas leis da Física, para no final, serem expressas analiticamente por meio de Equações Constitutivas.

Com o intuito de por em prática esses conceitos, pesquisadores basearam-se em conhecimentos adquiridos na área da Mecânica dos Materiais da Engenharia e da Física, mais especificamente, no campo da Mecânica dos Meios Contínuos (MASE, 1970; LANIR, 1983).

No entanto, o uso desses conceitos preencheu parcialmente os requisitos necessários para a obtenção das Expressões Analíticas Constitutivas dos tecidos biológicos. Isto se deve às diferenças encontradas nas propriedades e nas composições dos materiais estudados pela Engenharia em relação àqueles pesquisados na área biológica (DAL FABRO, 1979).

Uma dessas diferenças, de característica fundamental, consiste na dependência da relação Tensão-Deformação ou Força-Deformação em função do atributo tempo. Os materiais utilizados na Engenharia geralmente não são influenciados por esse atributo. Em contra-partida, os tecidos biológicos, tais quais as alças intestinais, possuem estreita correlação com o fator tempo, pois, esse órgão, a rigor, pertence à classe dos materiais com propriedades viscoelásticas não lineares (MOHSENIN, 1970; DAL FABRO, 1979).

Um material de comportamento viscoelástico apresenta a conjunção de conceitos de elasticidade assim como fundamentos de viscosidade. Com frequência, pesquisadores têm utilizado, na tentativa de descrever essas propriedades, modelos mecânicos como Modelos Analógicos de Maxwell e de Kelvin (FUNG, 1993).

Sob essas premissas, estudos com testes biomecânicos são realizados e aperfeiçoados com a finalidade de obter a real capacidade da resistência de ruptura do espécime contendo a anastomose e essa medida crítica poderia ser representada pela Energia Intrínseca de Deformação (FUNG, 1967; TIMOSHENKO e GOODIER, 1970; FORRESTER, 1973). Essa grandeza física expressa o trabalho realizado por meio de uma força aplicada externamente sobre um corpo elástico, deformando-o e é equivalente ao valor da área delimitada pela função Tensão x Deformação ou Força x Deformação (FORRESTER, 1973; GOTTRUP, 1980; FUNG, 1993).

No entanto, o uso do suporte da Física e da Engenharia em abordagens biomecânicas nos tecidos biológicos ainda encontra-se em fase inicial de estudo, pois, a variabilidade de componentes macroscópicos e microscópicos encontrados nesses materiais, além da variabilidade na quantidade e na qualidade de tecidos presentes em cada

espécime, faz com que as Equações Constitutivas sejam de difícil determinação e aplicabilidade (BEER e JOHNSTON JUNIOR, 1980).

Em virtude disso, baseado no Princípio Universal da Conservação de Energia, desenvolveu-se neste trabalho o teste biomecânico Energia Total de Ruptura. Esse método tem por função obter a resultante das energias aplicadas no segmento de cólon contendo a anastomose durante o ensaio mecânico.



## **2. OBJETIVO**



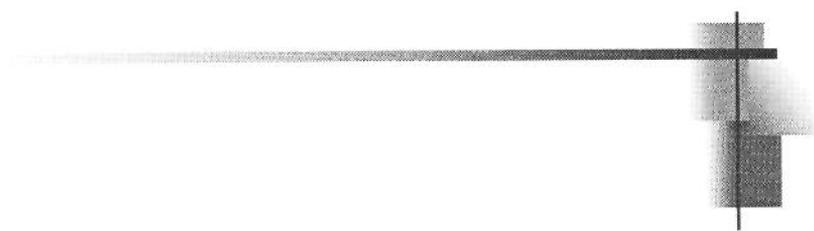
Analisar e avaliar os efeitos de diferentes concentrações de oxigênio durante a fase inicial do processo de cicatrização em anastomose de cólon descendente de ratos, comprometida ou não pela isquemia induzida.

### **3. HIPÓTESE**

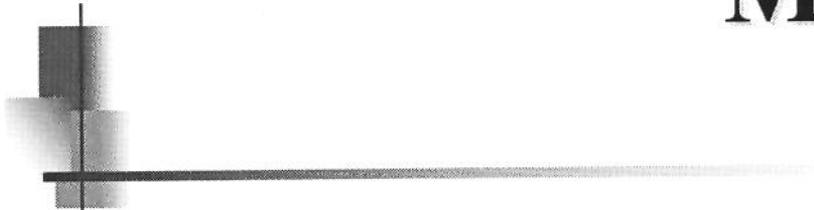
**Assertiva 1:** A isquemia interfere negativamente durante a fase inicial da cicatrização cólica.

**Assertiva 2:** A terapêutica hiperoxigenação hiperbárica eleva a fração de oxigênio fisicamente diluído no plasma e, conseqüentemente, a tensão tissular de oxigênio.

**Hipótese:** A aplicação da terapêutica hiperoxigenação hiperbárica durante a fase inicial da cicatrização de cólon descendente de rato, comprometida ou não pela isquemia interfere positivamente nesse processo de reparação tecidual.



**4. MATERIAIS**  
**E**  
**MÉTODOS**



#### **4.1. LOCAL DE EXPERIMENTAÇÃO**

Os experimentos foram realizados no laboratório de Técnica Cirúrgica do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Universidade Estadual de Campinas.

Os animais operados permaneciam no Biotério do Núcleo de Cirurgia e eram alojados em gaiolas específicas. Cada gaiola continha cinco ratos.

O ciclo claro/escuro foi caracterizado pela ação de luz artificial por período de 12 horas ao dia, sendo a temperatura e a umidade semelhantes às do ambiente geral. Além disso, manteve-se livre o suprimento de água e ração (NUVILAB-CR1® - NUVITAL NUTRIENTES Ltda) durante todo o experimento.

Os resultados foram obtidos e analisados no Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Universidade Estadual de Campinas e no LABI, Laboratório de Bioinformática da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, campus de Foz do Iguaçu.

#### **4.2. ANIMAIS UTILIZADOS**

Neste trabalho foram utilizados 60 ratos machos (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*), da linhagem Wistar, com massa corporal variando de 300 a 350 gramas e idade aproximada de 120 dias. Os animais foram fornecidos pelo Centro de Bioterismo – CEMIB / UNICAMP e criados sob condições ambientais e alimentares similares.

#### **4.3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL**

##### **4.3.1. DIVISÃO EM GRUPOS E SUBGRUPOS**

Os 60 animais foram divididos em dois grupos de 30 e apresentavam as

características a seguir:

**Grupo 1** – Sem isquemia induzida. Animais onde se praticou secção e anastomose no cólon descendente e

**Grupo 2** – Com isquemia induzida. Animais onde se praticou secção e anastomose no cólon descendente. A seguir, instalou-se a isquemia arterial e venosa nesse segmento intestinal.

Cada grupo, por sua vez, foi dividido em três subgrupos com 10 animais cada e sendo caracterizados pelos seguintes aspectos (Figura 1):

- **Subgrupo 1.1** – Ausência de isquemia + ar ambiente. Controle do Grupo 1. Composto por 10 ratos submetidos à feitura de anastomose em cólon sem isquemia e deixados evoluir respirando ar ambiente;
- **Subgrupo 1.2** – Ausência de isquemia + terapêutica por oxigênio a 100% normobárica. Composto por 10 ratos submetidos à feitura de anastomose em cólon sem isquemia e deixados evoluir respirando ar ambiente, além de uma sessão diária de 90 minutos, inalando oxigênio a 100%, no interior de uma câmara hiperbárica experimental a uma atmosfera absoluta;
- **Subgrupo 1.3** – Ausência de isquemia + terapêutica por oxigênio a 100% hiperbárica. Composto por 10 ratos submetidos à feitura de anastomose em cólon sem isquemia e deixados evoluir respirando ar ambiente, além de uma sessão diária de 90 minutos, inalando oxigênio a 100%, no interior de uma câmara hiperbárica experimental, em condições hiperbáricas de duas atmosferas absolutas;

- **Subgrupo 2.1** - Isquemia + ar ambiente. Controle do Grupo 2. Composto por 10 ratos onde se praticou secção e anastomose no cólon descendente. A seguir, instalou-se a isquemia arterial e venosa nesse segmento intestinal. Após, os animais foram deixados evoluir respirando ar ambiente;
- **Subgrupo 2.2** – Isquemia + terapêutica por oxigênio a 100% normobárica. Composto por 10 ratos onde se praticou secção e anastomose no cólon descendente. A seguir, instalou-se a isquemia arterial e venosa neste segmento intestinal. Após, os animais foram deixados evoluir respirando ar ambiente, além de uma sessão diária de 90 minutos, inalando oxigênio a 100%, no interior de uma câmara hiperbárica experimental a uma atmosfera absoluta e
- **Subgrupo 2.3** – Isquemia + terapêutica por oxigênio a 100% hiperbárica. Composto por 10 ratos onde se praticou secção e anastomose no cólon descendente. A seguir, instalou-se a isquemia arterial e venosa neste segmento intestinal. Após, os animais foram deixados evoluir respirando ar ambiente, além de uma sessão diária de 90 minutos, inalando oxigênio a 100%, no interior de uma câmara hiperbárica experimental, em condições hiperbáricas de duas atmosferas absolutas.

<b>Grupo 1</b> (Sem isquemia) - 30 animais -	<b>Subgrupo 1.1</b> (10 animais)	Sem Isquemia + Ar Ambiente
	<b>Subgrupo 1.2</b> (10 animais)	Sem Isquemia + Sessões de O <sub>2</sub> a 100%, 1 ATA
	<b>Subgrupo 1.3</b> (10 animais)	Sem Isquemia + Sessões de O <sub>2</sub> a 100%, 2 ATA (Hiperbárica)
<b>Grupo 2</b> (Isquemia) - 30 animais -	<b>Subgrupo 2.1</b> (10 animais)	Isquemia + Ar Ambiente
	<b>Subgrupo 2.2</b> (10 animais)	Isquemia + Sessões de O <sub>2</sub> a 100%, 1 ATA
	<b>Subgrupo 2.3</b> (10 animais)	Isquemia + Sessões de O <sub>2</sub> a 100%, 2 ATA (Hiperbárica)

**Figura 1. Distribuição e características dos Grupos e Subgrupos**

#### 4.3.2. ETAPAS EXPERIMENTAIS

O delineamento experimental foi estabelecido de acordo com as seguintes etapas:

- Preparo da película de polivinilcloreto (PVC) para o envolvimento da linha anastomótica;
- Anestesia;
- Procedimento cirúrgico;
- Câmara hiperbárica experimental;
- Procedimento de exposição dos animais pertencentes aos subgrupos 1.1 e 2.1 em ambiente com ar atmosférico;
- Procedimento de exposição dos animais dos subgrupos 1.2 e 2.2 ao oxigênio a 100% por meio de sessão diária de hiperóxia normobárica a uma ATA;

- Procedimento de exposição dos animais dos subgrupos 1.3 e 2.3 ao oxigênio a 100% por meio de sessão diária de hiperóxia hiperbárica a duas ATA;
- Aspectos clínicos apresentados pelos animais durante pós-operatório;
- Eutanásia dos animais e avaliação macroscópica da cavidade peritoneal;
- Retirada, processamento e limpeza do segmento de alça cólica contendo a anastomose;
- Desenvolvimento do Sistema de Aquisição e Análise de Dados Biomecânicos – SABI;
- Teste biomecânico Energia Total de Ruptura e
- Análise estatística.

#### **4.3.2.1. PREPARO DA PELÍCULA DE POLIVINILCLORETO (PVC) PARA ENVOLVIMENTO DA LINHA ANASTOMÓTICA**

Uma película de polivinilcloreto, obtida de recipientes de solução fisiológica produzida pela empresa Baxter Healthcare Cooperation, era posicionada sobre a linha de anastomose. Desse recipiente, recortaram-se fragmentos em forma de quadrado com dois centímetros de lado e que eram mergulhados em uma cuba rim contendo solução fisiológica em temperatura ambiente.

Após esses procedimentos, essas películas foram posicionadas em torno da anastomose (Figura 2).



**Figura 2. Película de PVC pronta para o posicionamento e fixação sobre a anastomose**

#### **4.3.2.2. ANESTESIA**

A anestesia foi realizada pela via venosa, por meio de punção da veia da cauda do rato com "scalp" número 13. A substância utilizada foi o pentobarbital sódico a três por cento (Hypnol-Fontoveter®). Esse anestésico era diluído em solução fisiológica resultando uma concentração de cinco miligramas por mililitro. A dose empregada foi 30 miligramas por quilo, aplicada através de seringa de plástico de cinco mililitros, marca Nipro®.

O plano anestésico foi determinado de acordo com o reflexo respiratório e com a tonicidade muscular apresentados pelos animais durante a anestesia e o procedimento cirúrgico. O plano ideal era atingido quando o rato mantinha respiração regular e apresentava flacidez da tonicidade muscular esquelética.

Para eventual manutenção desse plano e na necessidade de administrar doses

suplementares de anestésico no período intra-operatório, manteve-se o "scalp" fixado na veia da cauda do animal, acoplado à seringa com a substância pentobarbital (Figura 3).



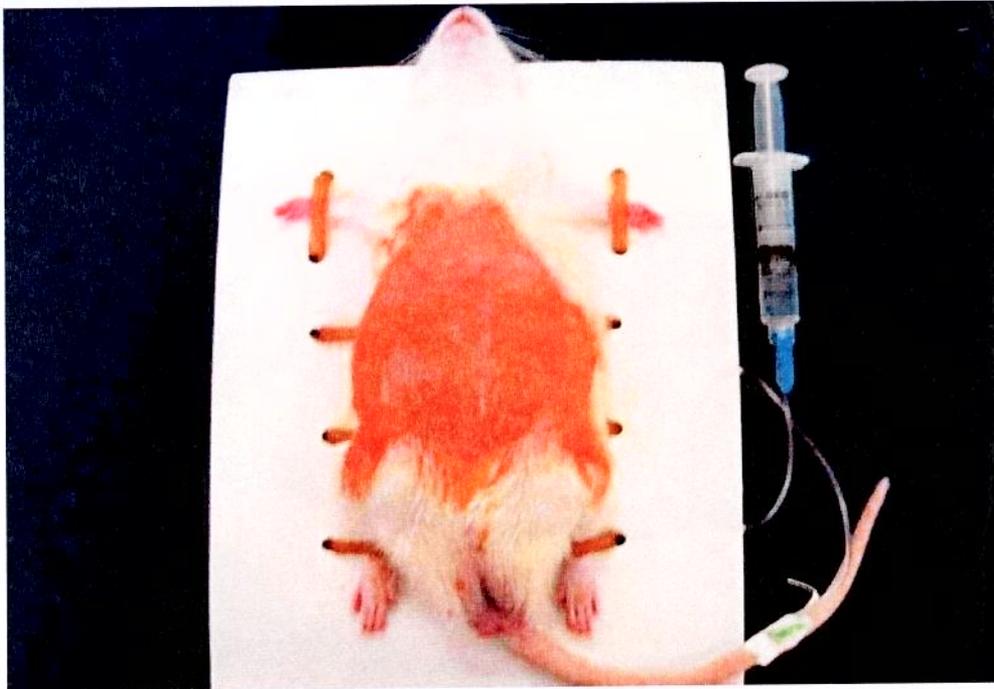
**Figura 3. Posicionamento do "scalp" conectado à seringa contendo a substância anestésica na veia da cauda do animal**

#### **4.3.2.3. PROCEDIMENTO CIRÚRGICO**

Todos os animais foram operados pelo autor, sendo utilizada a mesma técnica e instrumental (Figura 4). O dia cirúrgico para cada um dos seis subgrupos foi determinado por meio de sorteio. No quarto dia pós-operatório, depois de realizada a eutanásia, os animais foram submetidos ao teste biomecânico Energia Total de Ruptura.

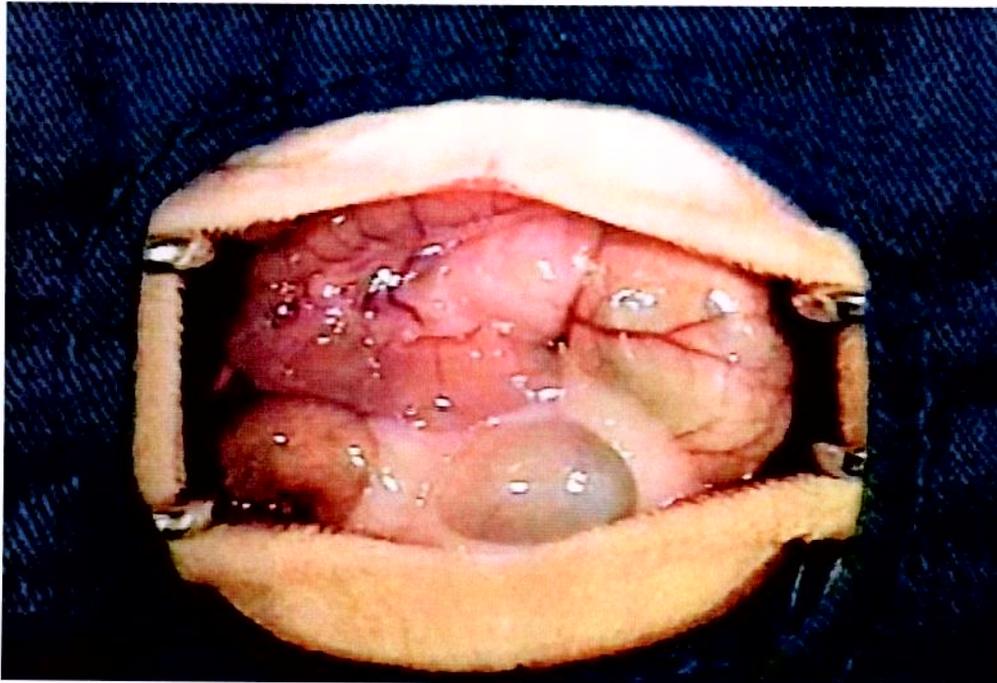
O ato operatório foi dividido em procedimentos cirúrgicos gerais e específicos. O primeiro consistiu na execução de etapas operatórias similares para os Grupos 1 e 2, enquanto que o segundo era caracterizado pela instalação do modelo de isquemia com



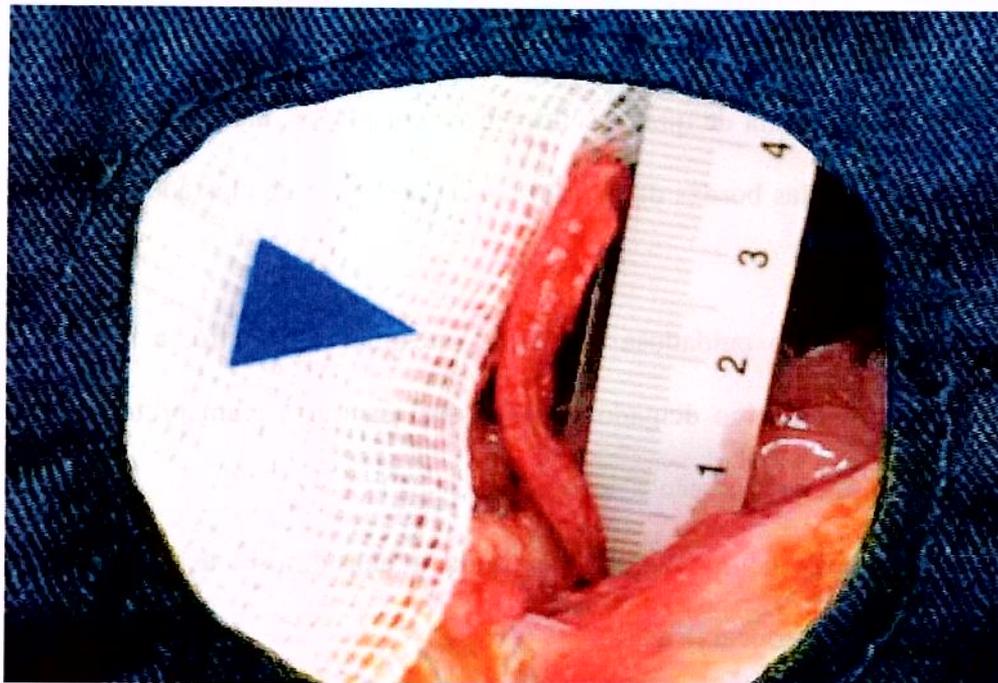


**Figura 5. Posicionamento do animal em prancheta cirúrgica**

- Colocação de campo fenestrado;
- Incisão mediana de quatro centímetros, por planos, até a cavidade peritoneal e contenção das bordas da incisão por meio do uso de afastador tipo Finochietto (Figura 6);
- Exteriorização cuidadosa das alças intestinais. Primeiro, a região cecal e a seguir, o intestino delgado. Após, essas estruturas eram protegidas em gazes embebidas por solução fisiológica;
- Delimitação do local a ser realizada a anastomose, a dois centímetros da reflexão peritoneal (Figura 7);

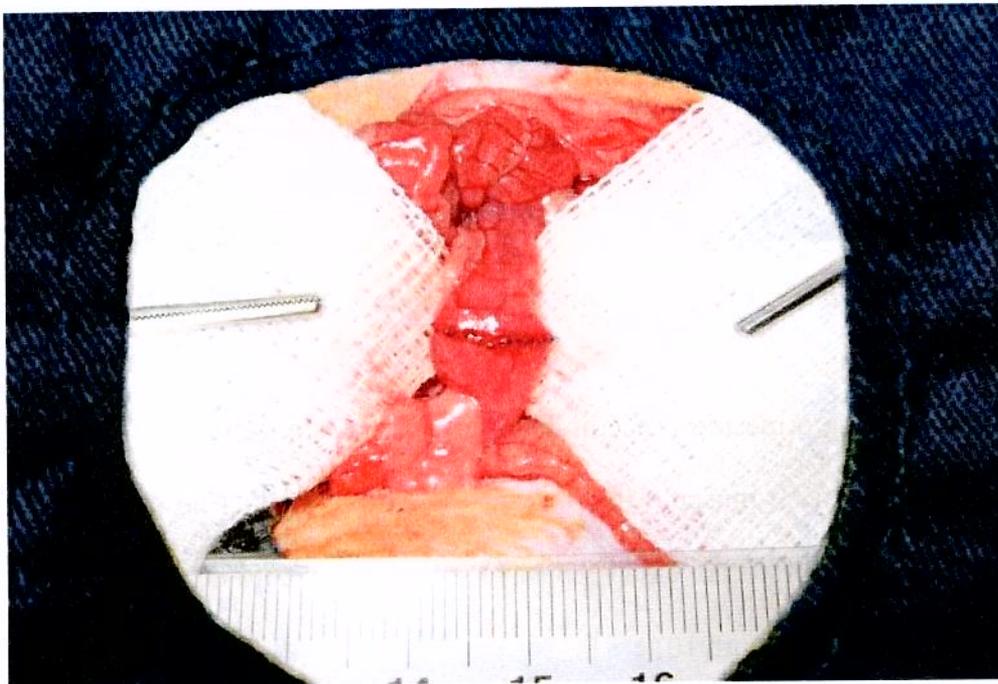


**Figura 6.** Cavidade abdominal exposta após abertura por planos



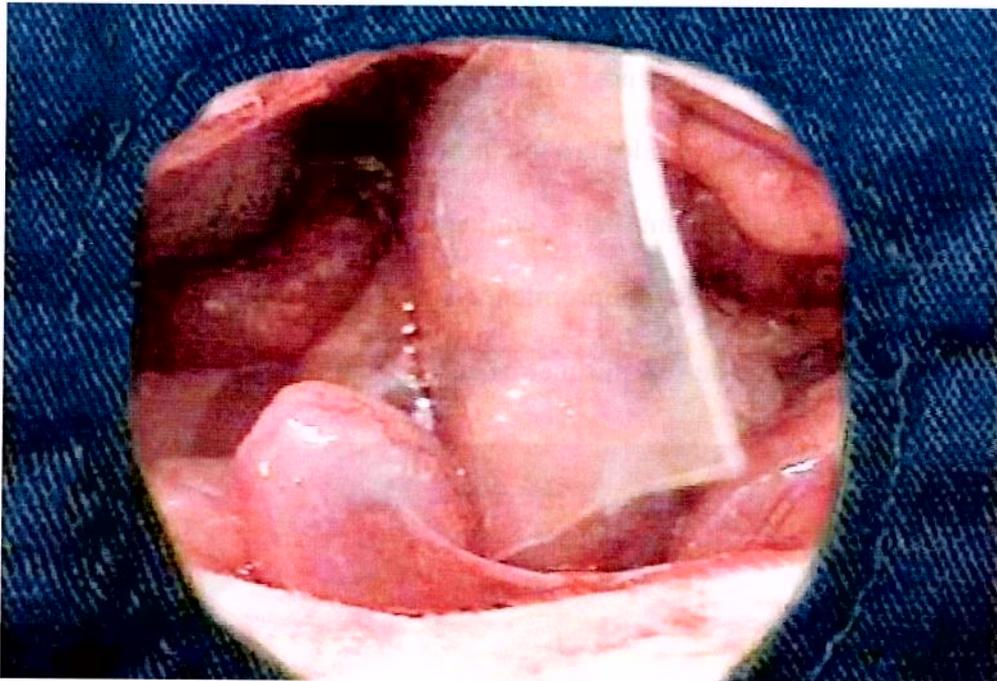
**Figura 7.** Local demarcado para confecção da anastomose

- Malaxação das fezes que por ventura eram encontradas na região delimitada para a confecção da anastomose, deslocando-as para porção distal;
- Proteção da cavidade abdominal por meio de gazes esterilizadas e posterior secção do cólon em sentido transversal, com tesoura de íris, no local demarcado;
- Confecção da anastomose em plano único, com pontos seromusculares, extramucosos com justaposição das bordas. Passavam-se, primeiramente, dois pontos de reparo, sendo um na borda mesocólica e outro na borda anti-mesocólica. Após, eram dados, em média, 20 pontos para completar a linha de sutura. O fio foi de polipropileno, sete zeros, monofilamentar, munido de agulha cilíndrica de seis milímetros e três décimos (Prolene®) (Figura 8);



**Figura 8. Final de confecção da anastomose cólica**

- Finalizando a confecção da anastomose, a película de polivinilcloreto, previamente preparada, era fixada em torno da anastomose, revestindo-a. Um dos lados dessa película era suturado ao mesocólon por meio de quatro pontos de fio de polipropileno sete zeros, monofilamentar, agulha cardiovascular de um centímetro (Prolene®) (Figura 9);



**Figura 9. Fixação de um dos lados da película de PVC**

- Repetiu-se o mesmo procedimento no lado oposto, sendo que a fixação, desta vez, se deu no músculo íleo-lombar esquerdo. No final do posicionamento da película de proteção, essa repousava sobre o segmento de colón sem promover compressão (Figura 10) e
- O grande omento era então suturada na parede gástrica anterior com o mesmo

fio de polipropileno sete zeros e o tecido adiposo do cordão espermático ressecado bilateralmente após a ligadura em sua base por meio de fio de algodão, três zeros, não agulhado.

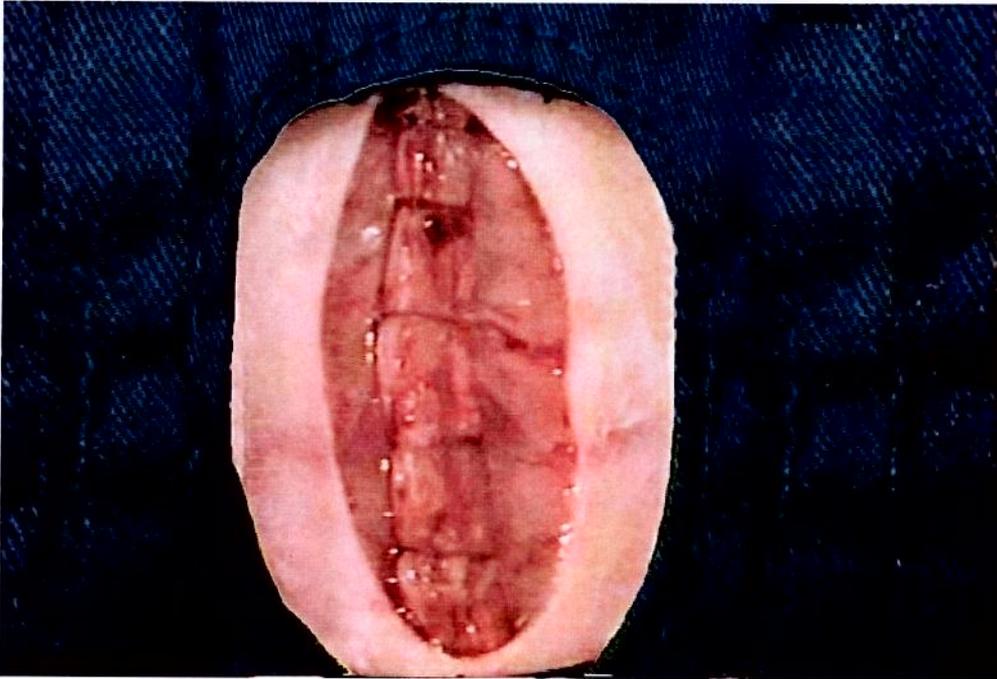


**Figura 10. Final de fixação da película de PVC sobre o cólon descendente contendo a linha de sutura**

Depois de realizadas essas manobras cirúrgicas, as alças intestinais eram recolocadas e adequadamente posicionadas dentro do abdômen. Em seguida, infudia-se cinco mililitros de solução fisiológica na cavidade abdominal para auxiliar na reidratação do animal. O fechamento da parede abdominal foi realizado em dois planos:

- Primeiro plano: síntese do peritônio, da camada muscular e da aponeurose com sutura contínua, ancorada, com o fio de poliglactina três zeros montado em agulha gastrointestinal de dois centímetros e meio (Polivycril®) (Figura 11);

- Segundo plano: sutura da pele e da tela subcutânea por meio de pontos simples, separados, fio de poliglactina dois zeros munido com agulha gastrointestinal de três centímetros e meio (Polivycril ®) (Figura 12);



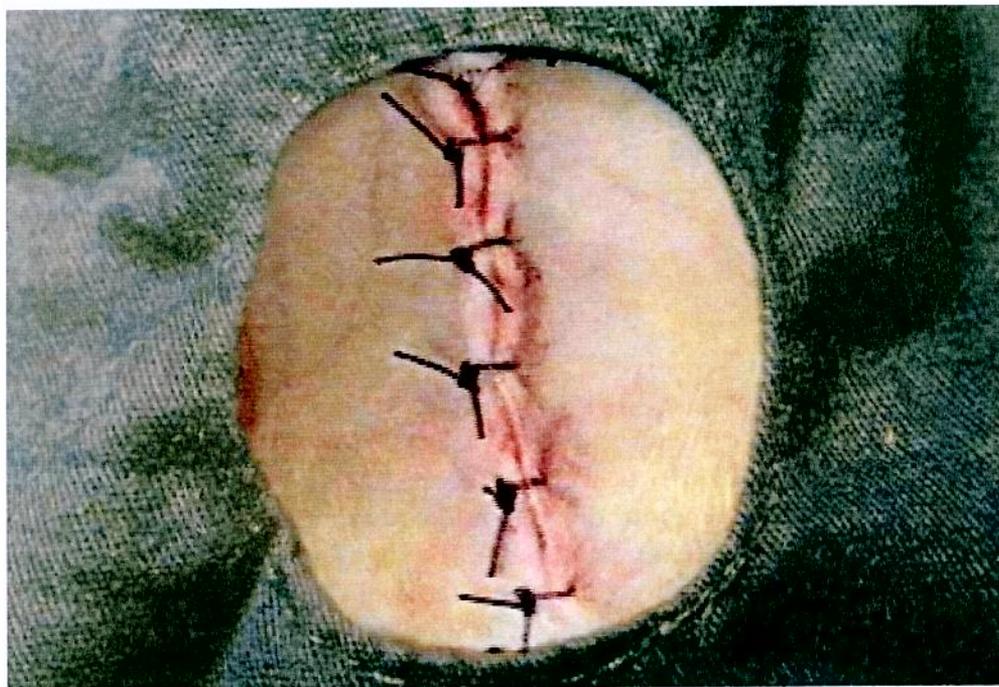
**Figura 11. Fechamento da cavidade abdominal. Primeiro plano de sutura composto pelo peritônio, camada muscular e aponeurose**

Os procedimentos cirúrgicos específicos eram realizados somente nos animais pertencentes ao Grupo 2.

Foram delineadas as seguintes etapas:

- Ligadura da arcada marginal a quatro centímetros proximalmente à reflexão peritoneal, compreendendo a artéria e a veia marginal (Figura 13-a);
- Ligadura do tronco da artéria mesentérica caudal logo acima da emergência na aorta (Figura 13-b) e

- Ligadura da arcada marginal ao nível da reflexão peritoneal compreendendo a artéria e a veia marginal (Figura 13-c).

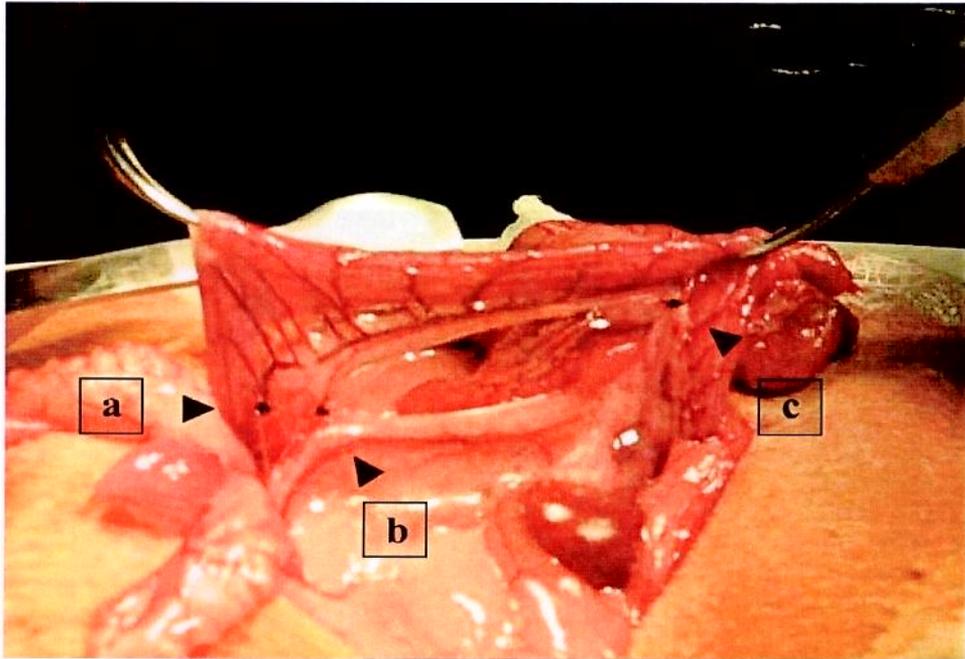


**Figura 12. Fechamento da parede. Sutura da pele e subcutâneo**

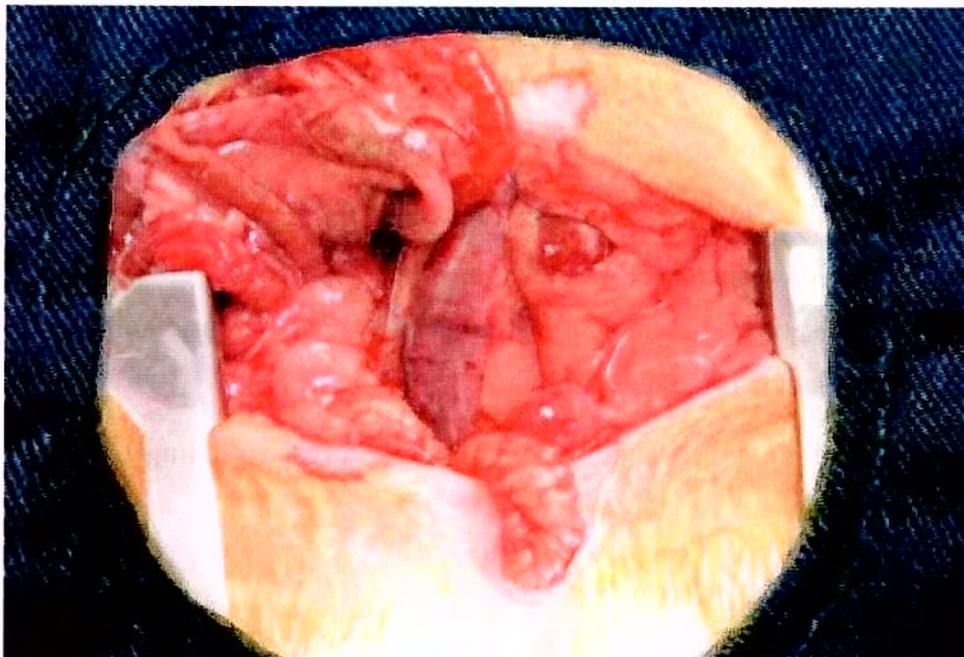
Utilizou-se em todas as ligaduras vasculares fios de algodão quatro zeros, multifilamentar e não agulhado.

A instalação da isquemia ocorreu sempre após a confecção da anastomose (Figura 14). Com o final dos procedimentos, o instrumental era lavado e mergulhado em solução de álcool a 70% por um período de 30 minutos.

Após o término de cada ato operatório, o processo de limpeza dos materiais cirúrgicos era repetido.



**Figura 13. Modelo experimental de isquemia em cólon. (a) Ligadura da arcada marginal ao nível da reflexão peritoneal, (b) Ligadura do tronco da artéria mesentérica caudal logo acima da emergência na aorta e (c) Ligadura da arcada marginal a quatro centímetros da reflexão peritoneal. Cabeça à direita.**



**Figura 14. Cólon descendente. Cinco minutos após a instalação da isquemia**

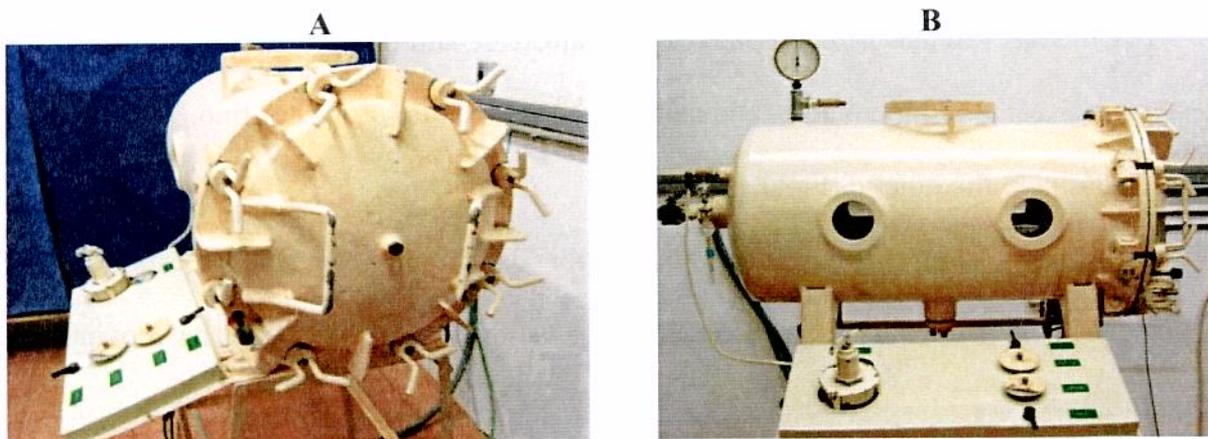
#### 4.3.2.4. CÂMARA HIPERBÁRICA EXPERIMENTAL

A câmara hiperbárica experimental encontra-se instalada no Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP.

Consiste de um vaso de pressão com volume de 110 litros. Possui uma escotilha removível em uma das extremidades com função de abertura e fechamento da câmara (Figura 15-A).

Na parede lateral, encontram-se duas vigias circulares de vidro temperado, medindo 17 centímetros de diâmetro. Essas vigias permitem a visibilidade dos animais dentro da câmara, possibilitando assim, observar os mesmos durante sessões de hiperóxia hiperbárica (Figura 15-B).

Na outra extremidade do vaso de pressão há uma válvula de exaustão com a finalidade de permitir a liberação de gases durante a fase final da sessão de hiperóxia hiperbárica (Figura 15-C).



**Figura 15 A e B. Câmara hiperbárica. Vista lateral, vigias circulares e escotilha removível**



**Figura 15 C. Válvula principal para promover a exaustão de gases da câmara**

Além dessa válvula, existem no painel de controle outras quatro válvulas e um fluxômetro. Dois desses dispositivos são responsáveis pelo controle de admissão de gases, enquanto que os outros dois, pela exaustão (Figura 16).

Uma das válvulas de admissão realiza o ajuste de alto fluxo de entrada dos gases no sistema da câmara hiperbárica enquanto a outra, efetua o ajuste fino. Ambas são controladas pelo fluxômetro (Figura 16).

Os ratos eram posicionados no interior da câmara em gaiolas especiais de contenção, permitindo a permanência de até 5 animais, com liberdade de movimento (Figura 17).

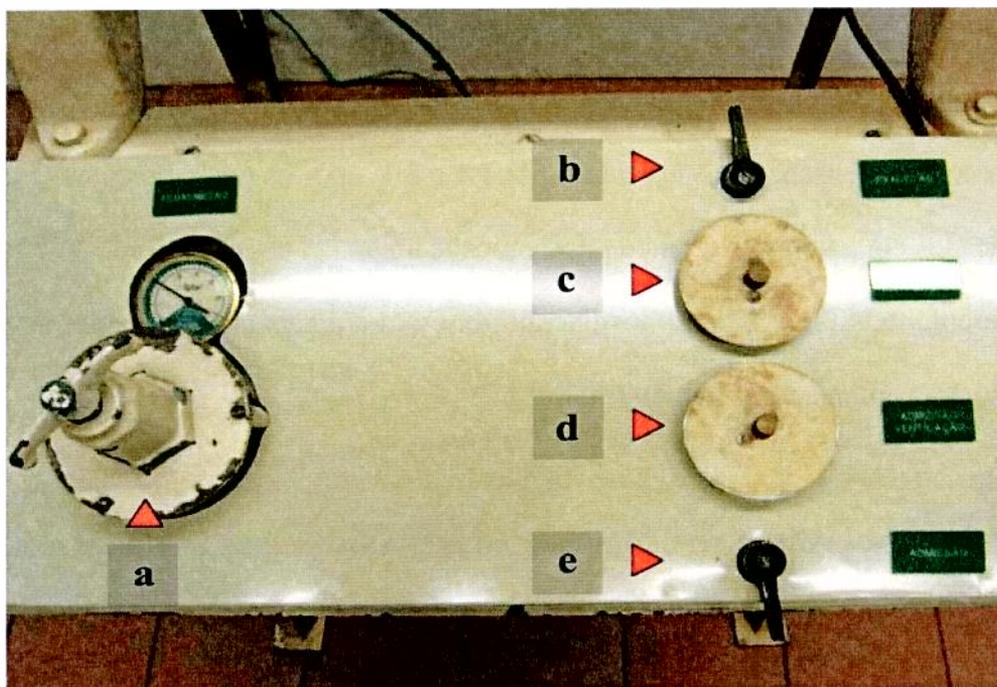


Figura 16. (a) Fluxômetro, (b) válvula de exaustão, (c) válvula de exaustão - ajuste fino, (d) válvula de admissão - ajuste fino e (e) válvula de admissão



Figura 17. Gaiola especial de contenção dos animais na câmara hiperbárica

#### **4.3.2.5. PROCEDIMENTO DE EXPOSIÇÃO DOS ANIMAIS PERTENCENTES AOS SUBGRUPOS 1.1 E 2.1 AO AR AMBIENTE**

Os animais pertencentes aos subgrupos 1.1 e 2.1, após os procedimentos cirúrgicos, eram colocados em gaiolas com cinco ratos em cada uma.

Durante todo o período de pós-operatório, esses animais permaneceram respirando ar ambiente até o momento da eutanásia.

#### **4.3.2.6. PROCEDIMENTO DE EXPOSIÇÃO DOS ANIMAIS DOS SUBGRUPOS 1.2 E 2.2 AO OXIGÊNIO A 100 % POR MEIO DE SESSÃO DIÁRIA DE HIPERÓXIA NORMOBÁRICA A UMA ATMOSFERA ABSOLUTA**

Inicialmente, cinco ratos pertencentes aos subgrupos 1.2 ou 2.2 eram operados. No final desses procedimentos, esses cinco animais eram imediatamente submetidos à exposição ao oxigênio em concentração de 100% durante 90 minutos.

Enquanto essa sessão era realizada, operavam-se os cinco ratos restantes. Após, era aplicado o mesmo protocolo de exposição ao oxigênio.

A partir do primeiro dia de pós-operatório, os 10 ratos do mesmo subgrupo eram submetidos conjuntamente à sessão diária de exposição ao oxigênio, sempre no mesmo horário.

Esses procedimentos, orientados aos subgrupos 1.2 e 2.2, apresentavam o protocolo experimental a seguir:

- Lavagem da área interior do vaso de pressão da câmara hiperbárica com água;
- Posicionamento dos animais na câmara;
- Fechamento da escotilha;

- Ventilação da câmara com oxigênio a 100% durante cinco minutos com a válvula de exaustão aberta;
- Início do fluxo de admissão constante de oxigênio a 100% em volume de 10 litros por minuto durante período de 90 minutos e fechamento da válvula de exaustão até a câmara atingir a pressão de uma atmosfera absoluta e
- No final da sessão, os ratos eram retirados da câmara hiperbárica e novamente colocados em gaiolas de contenção.

Esses procedimentos eram repetidos diariamente, sempre no mesmo horário, até o terceiro dia. Na totalidade, realizaram-se quatro sessões de hiperóxia até a eutanásia, no quarto dia.

#### **4.3.2.7. PROCEDIMENTO DE EXPOSIÇÃO DOS ANIMAIS DOS SUBGRUPOS 1.3 E 2.3 AO OXIGÊNIO A 100% POR MEIO DE SESSÃO DIÁRIA DE HIPERÓXIA HIPERBÁRICA A DUAS ATMOSFERAS ABSOLUTAS**

Os animais pertencentes aos subgrupos 1.3 e 2.3 apresentaram o mesmo protocolo cirúrgico dos subgrupos 1.2 e 2.2.

Iniciou-se com o ato operatório dos cinco primeiros animais, após o que, os ratos eram imediatamente colocados na câmara hiperbárica. Enquanto a sessão de hiperóxia hiperbárica era realizada, dava-se início aos atos operatórios dos cinco ratos restantes. No final, esses animais eram também submetidos à sessão de hiperoxigenação em condições hiperbáricas de duas atmosferas absolutas.

A partir do primeiro dia de pós-operatório, as sessões ocorreram diariamente sempre no mesmo horário, sendo que os animais pertencentes ao mesmo subgrupo eram todos

colocados, ao mesmo tempo, na câmara hiperbárica.

Os procedimentos de exposição ao oxigênio a 100% em condições hiperbáricas, específicos para os subgrupos 1.3 e 2.3, foram delineadas conforme as etapas abaixo:

- Lavagem da área interior do vaso de pressão da câmara hiperbárica com água;
- Posicionamento dos animais na câmara;
- Fechamento da escotilha;
- Ventilação do interior do vaso de pressão da câmara hiperbárica experimental durante cinco minutos pelo oxigênio a 100% e com fluxo constante de 10 litros por minuto, mantendo a válvula de exaustão aberta;
- Fechamento da válvula de exaustão;
- Início da pressurização da câmara com duração de 15 minutos até alcançar a pressão de duas atmosferas absolutas;
- Manutenção da ventilação por um período de 90 minutos em fluxo constante de 10 litros por minuto com oxigênio a 100%, a duas atmosferas absolutas;
- Despressurização durante 15 minutos e
- Recolocação dos animais na gaiola de contenção com a liberação imediata de água e ração.

Durante as sessões de hiperóxia hiperbárica, as características clínicas apresentadas pelos animais no interior da câmara eram observadas e monitoradas através das vigias laterais.

#### **4.3.2.8. OBSERVAÇÃO DOS ASPECTOS CLÍNICOS DOS ANIMAIS DURANTE O PÓS-OPERATÓRIO**

Os aspectos clínicos, observados durante o pós-operatório, estão relacionados abaixo:

- Peso;
- Aspecto geral ;
- Ingestão de alimentos;
- Aspectos da ferida operatória;
- Distensão abdominal e
- Características das fezes.

#### **4.3.2.9. EUTANÁSIA E AVALIAÇÃO DA CAVIDADE ABDOMINAL**

A eutanásia foi realizada no quarto dia de pós-operatório com o uso de dose letal de tiopental sódico a três por cento através da veia caudal do rato. A seguir, a cavidade abdominal era aberta por incisão mediana de quatro centímetros.

Por meio dessa exposição, a cavidade peritoneal e a anastomose eram inspecionadas com a finalidade de detectar presença de secreções, deiscências e aderências.

#### **4.3.2.10. RETIRADA, LIMPEZA E PROCESSAMENTO DA ALÇA CÓLICA CONTENDO A ANASTOMOSE**

O segmento de cólon contendo a anastomose, medindo cerca de cinco centímetros de comprimento, era retirado e submetido à limpeza.

Quando as fezes estavam presentes nas extremidades do espécime, movimentos

suaves de malaxação digital eram realizados para retirá-las.

As fezes que porventura estavam localizadas em área de anastomose, primeiramente eram amolecidas e posteriormente retiradas. Após, o lúmen da alça era lavado com fluxo lento e contínuo de solução fisiológica para remover os resíduos fecais que aderiram na mucosa.

Essa manobra visava não permitir que partículas obstruíssem alguma via do sistema de medição (Figura 18).

Os espécimes limpos, eram mergulhados individualmente, por 30 minutos, em um recipiente tipo Becker contendo solução fisiológica e cloridrato de papaverina. A concentração dessa solução era de 250 miligramas por litro a 37 graus Celsius.



**Figura 18. Segmento de cólon contendo a anastomose após a limpeza**

A seguir, o segmento de alça era reduzido a uma extensão de quatro centímetros,

valor esse conferido por paquímetro. A anastomose localizava-se equidistante das extremidades e os excessos proximais e distais dos segmentos foram seccionados com tesoura de íris e desprezados.

Por meio desse procedimento, os espécimes apresentavam-se com as suas paredes relaxadas, minimizando assim, as variações de contrações espasmódicas decorrentes da manipulação.

#### **4.3.2.11. DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA DE AQUISIÇÃO E ANÁLISE DE DADOS BIOMECÂNICOS - SABI**

O desenvolvimento do SABI foi realizado em parceria entre o Serviço de Colo-Proctologia da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP e o Laboratório de Bioinformática - LABI, laboratório esse pertencente à Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE / Campus de Foz do Iguaçu (Figura 19).

Esse sistema de aquisição e análise de dados biomecânicos possui como função automatizar e reproduzir matematicamente o comportamento biomecânico de alça cólica de ratos e está inserido no teste biomecânico Energia Total de Ruptura.

O SABI é composto por dois subsistemas :

- **Subsistema 1** - Responsável pela aquisição de dados por meio de comunicação serial via RS232 e
- **Subsistema 2** - Responsável pela interpretação e análise de dados adquiridos. Para isso, utiliza-se do método de integralização numérica Regra dos Trapézios com a finalidade de calcular a área delimitada pela função Força x Elongação.

Essa área representa a energia interna acumulada pelo segmento de cólon contendo a anastomose até o momento de seu rompimento e é obtida por meio da aplicação do teste biomecânico Energia Total de Ruptura

Para o desenvolvimento do sistema SABI, era necessário determinar, primeiramente, os requisitos de implantação, os quais estão relacionados a seguir:

- Adaptação do sistema SABI às restrições impostas pela célula de carga da balança de precisão, funcionando de acordo com as características de comunicação disponibilizadas pela interface serial RS232, incluindo as configurações de velocidade, tamanho da palavra, paridade e delimitadores de informação, além do protocolo de comunicação;



**Figura 19. Janela de apresentação do aplicativo SABI**

- Aquisição de informações por meio de eventos, permitindo assim, a captação de

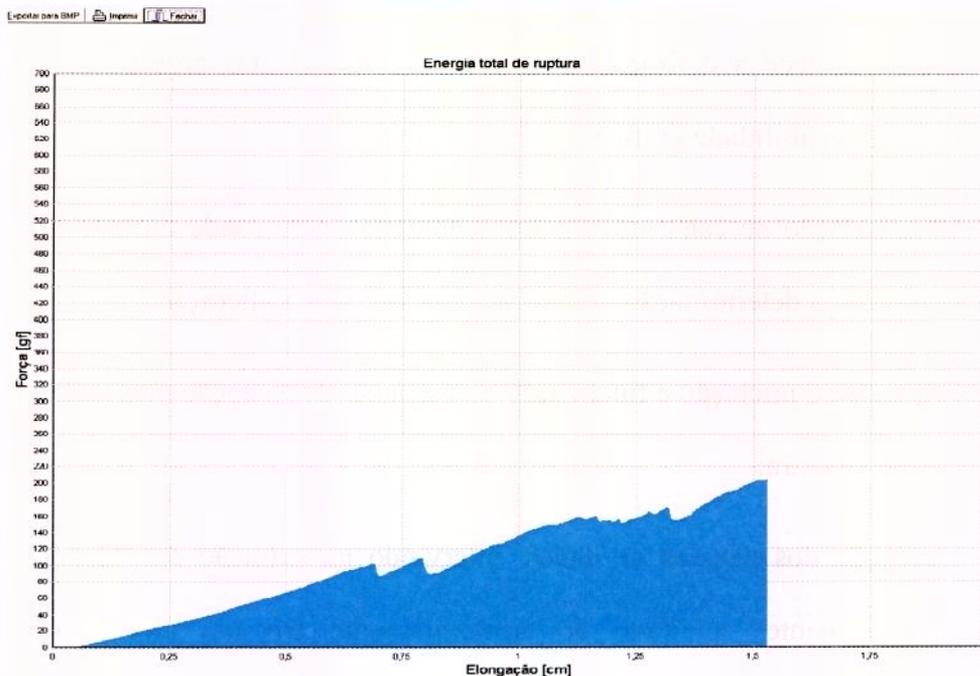
um maior número possível de amostras por unidade de tempo e conseqüentemente, permitir o processamento dessas informações sem prejudicar a próxima aquisição e

- Garantir por meio de mecanismos de segurança a integridade das informações, tendo em vista que o ensaio mecânico de cada espécime somente poderá ser realizado uma vez.

Além dos requisitos citados anteriormente, o sistema SABI exigiu também a definição dos seguintes itens funcionais:

- Interface amigável, facilitando a utilização do aplicativo pelo pesquisador, incluindo a possibilidade de definição dos atributos da comunicação, iniciação e finalização do processo de captura dos dados. Pode-se promover ainda por meio desta interface a definição dos nomes, caminhos dos arquivos de saída do sistema, visibilidade gráfica e a respectiva área;
- Configuração do canal de comunicação serial, permitindo durante o tempo de execução, a determinação de seus atributos ou a sua alteração;
- Processo de iniciação e finalização do processo de recepção de pacotes relativos a cada amostra;
- Recepção dos pacotes de dados, intervindo na extração do valor da força e posteriormente, sujeitá-lo ao armazenamento em um arquivo de dados, conjuntamente com a unidade de tempo e
- Interpretação dos dados originais escritos no arquivo de dados, transformando-

os em unidades de força e tempo, sendo representadas pela grama-força e segundo, respectivamente. O último atributo é diretamente proporcional em relação à elongação do segmento de alça, pois, a velocidade de tração do sistema apresenta-se constante durante todo o período experimental. As amostras de dados adquiridos antes do início do teste biomecânico ETR e após a ruptura do espécime, são descartadas do sistema, pois não fazem parte da curva que determina a energia necessária para promover a ruptura da anastomose do segmento de alça cólica. Após esses processos, os valores captados são delineados na função Força x Elongação em forma de uma curva, cuja integralização numérica permite o cálculo dessa área, sendo o seu valor correspondente a Energia Total de Ruptura (Figura 20).



**Figura 20.** Área calculada pelo aplicativo SABI e configurada em tela do computador

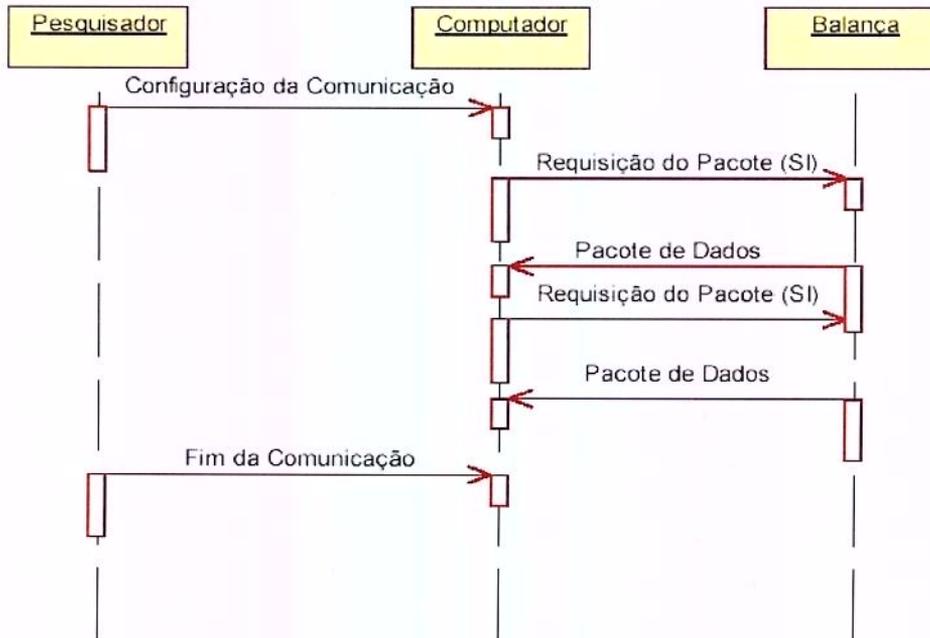
O subsistema 2 assume uma posição estratégica dentro dos subsistemas e módulos implantados, pois atua de forma paralela com o experimento, possuindo a função de adquirir, tratar, gerar saídas em tempos extremamente pequenos e promover a manutenção da consistência e da segurança das informações após a configuração do canal de comunicação serial (Tabela 1).

**Tabela 1. Configurações implementadas para o canal serial**

ITEM DE CONFIGURAÇÃO	VALORES POSSÍVEIS
Velocidade em bps (bits por segundo)	1200, 2400, 4800, 9600, 19200
Tamanho da palavra (em bits)	5, 6, 7, 8
Bits de controle (Stop Bit)	1, 2
Paridade	Ausente, Ímpar ou Par

Uma vez definidos os critérios de comunicação, o sistema está preparado para iniciar a captação de informações. O protocolo implementado posiciona-se de acordo com a orientação de eventos, isto é, sempre que houver a presença de uma informação, a prioridade de tratamento será dada a ela. Além disso, a caracterização do fluxo de informação é tido como *Half-Duplex*, pois o sistema apresenta tanto a função de transmissor como a de receptor para o mesmo pacote de dados e este ciclo se repete até o final do experimento.

A seqüência de execução do subsistema de aquisição de informações está demonstrada na Figura 21. Como mencionado anteriormente, o protocolo implementado utiliza dois pacotes, um de controle que solicita um pacote de dados, e o próprio pacote de dados. O pacote de controle é especificado na Tabela 2 e o pacote de dados na Tabela 3.



**Figura 21. Diagrama de seqüência do subsistema de aquisição de dados**

Depois de definidas as regras de comunicação serial, o sistema parte para o tratamento do pacote de dados adquiridos, que em média, são em frequência de 3 por segundo.

O tratamento é feito pela interpretação de cada byte recebido e utiliza duas abordagens:

- Abordagem destinada à segurança física do dado adquirido e
- Abordagem voltada para a geração de uma saída que permita um tratamento estratégico pelo subsistema de análise de informações.

**Tabela 2. Pacote de controle**

<b>S (1 BYTE)</b>	<b>I (1 BYTE)</b>	<b>ASCII 13 (1 BYTE)</b>	<b>ASCII 10 (1 BYTE)</b>
-------------------	-------------------	--------------------------	--------------------------

**Tabela 3. Pacote de dados**

ID (1 BYTE)	(1 BYTE)	STATUS (1 BYTE)	VALOR DO PESO (10 BYTES)	_ (1 BYTE)	UNIDADE (3 BYTES)	ASCII 13 (1 BYTE)	ASCII 10 (1 BYTE)
-------------	----------	--------------------	-----------------------------	------------	----------------------	----------------------	----------------------

A primeira abordagem, vinculada ao requisito de segurança, possui a preocupação em manter uma cópia de todas as informações geradas pela célula de carga da balança sob a forma de um arquivo. Esta cópia física de cada byte é realizada por meio da extensão “.bak” e possui a capacidade de identificar o grupo do experimento.

A segunda abordagem tem por finalidade extrair de cada pacote as informações relevantes para o subsistema 2. Para isso, cada byte é interpretado até o final do pacote. Após esses procedimentos, as informações de controle do pacote são descartadas e decorrente desse processo, a informação relativa à unidade de força é separada e gravada no arquivo de dados, sendo que o nome deste arquivo representa o grupo de amostragem do experimento.

Definidas as abordagens utilizadas no processo de recepção, a finalização e a iniciação do sistema SABI será realizada pelo usuário do sistema.

Os produtos finais dos subsistemas são armazenados em arquivos de informações, sendo esses caracterizados pelo carregamento inicial para uma área de memória na forma de uma matriz bidimensional, os quais contém os dados relativos à força e ao tempo adquirido de cada espécime desde o instante inicial do experimento até o momento de ruptura final.

No início do experimento há a presença de registros com características instáveis, e após a montagem integral do teste biomecânico ETR, um balanço era realizado para que

todos os testes iniciem com valores iguais (zero grama-força). Após o início do teste, serão considerados todos os valores captados pelo SABI até o instante anterior à ruptura da anastomose cólica, sendo que os dados adquiridos pós-rompimento não serão considerados para o cálculo da área. Com a delimitação do intervalo da curva da função Força x Tempo, este último atributo é então convertido para Elongação, pois a velocidade de tração do sistema é constante durante todo o experimento, e sendo assim, o tempo de ruptura apresenta uma proporcionalidade direta em relação à elongação da alça.

Portanto, a função Força x Tempo será transformada em função Força x Elongação e a área calculada por meio da integralização numérica Regra do Trapézio, determinará a Energia Total de Ruptura acumulada no espécime para promover a sua ruptura (Figura 22).

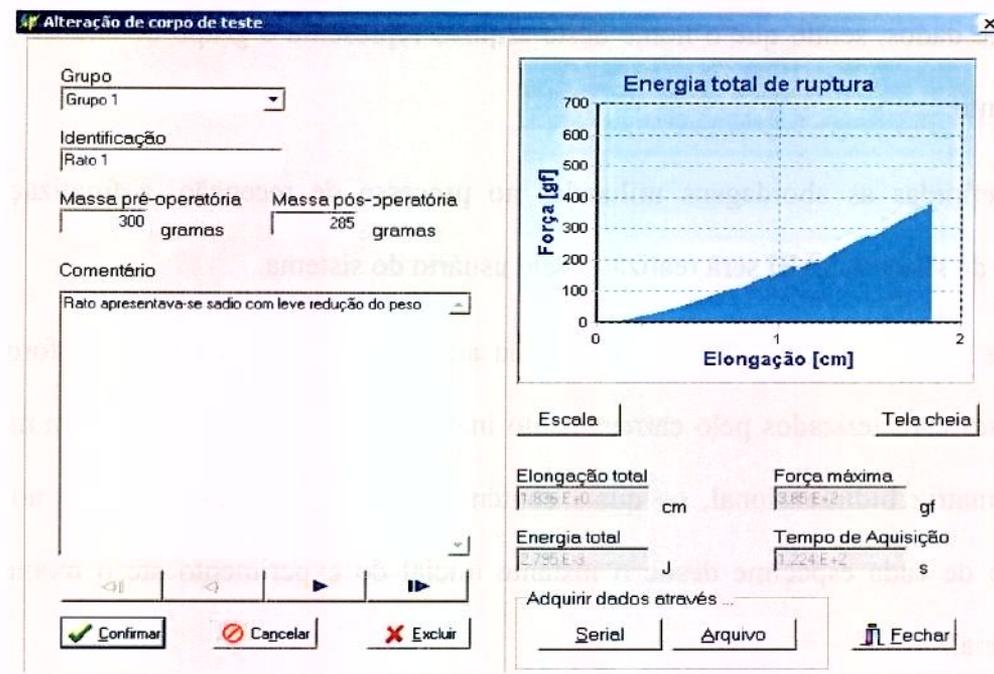


Figura 22. Formulário de cadastro do aplicativo SABI

### **4.3.3. ESTUDO DOS PARÂMETROS MECÂNICOS**

#### **4.3.3.1. TESTE DE RESISTÊNCIA BIOMECÂNICA ENERGIA TOTAL DE RUPTURA (ETR)**

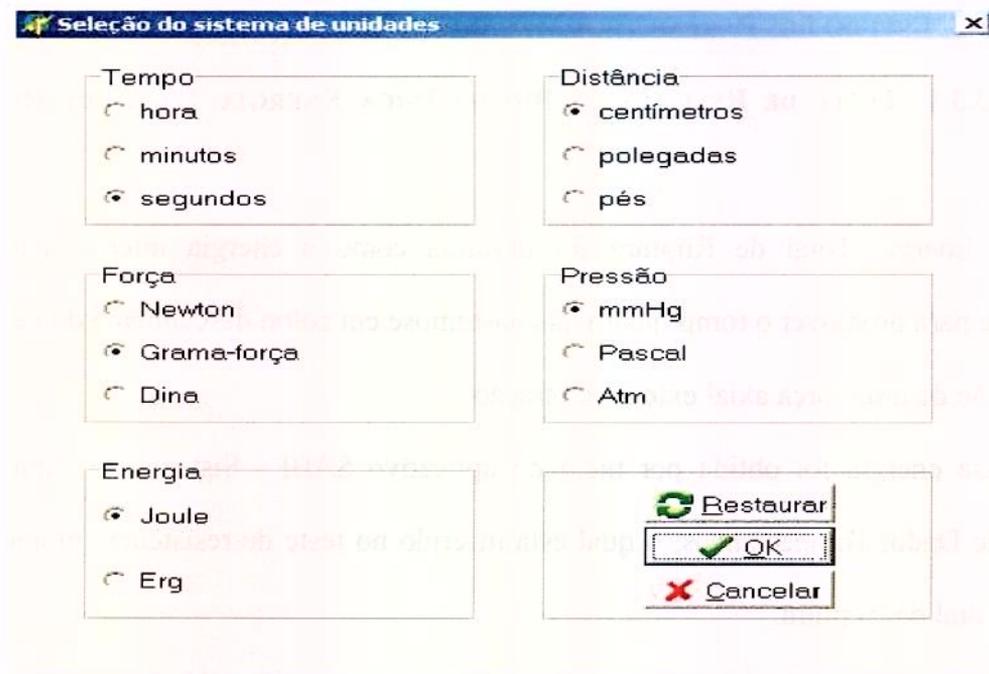
A Energia Total de Ruptura foi definida como a energia interna acumulada necessária para promover o rompimento da anastomose em cólon descendente do rato, após a imposição de uma força axial externa de tração.

Essa energia foi obtida por meio do aplicativo SABI - Sistema de Aquisição e Análise de Dados Biomecânicos, o qual está inserido no teste de resistência biomecânico Energia Total de Ruptura.

A Energia Total de Ruptura pode ser expressa por meio de unidades pertencentes ao sistema internacional (SI) e ao sistema CGS. A presença dessa funcionalidade foi decorrente da aplicação do sistema de conversão de unidades estabelecido pelo aplicativo SABI (Figura 23).

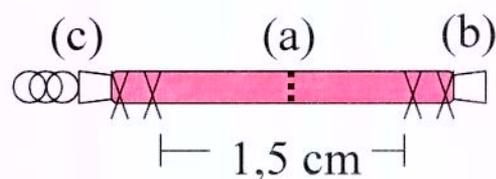
Depois de retirado da solução de papaverina, o espécime previamente preparado foi submetido ao seguinte procedimento:

- Introdução de um canhão de cateter número 18 com a luz pérvia na extremidade proximal da alça, e fixada com fio de seda um zero e
- Introdução de um canhão de cateter número 18, com a luz obliterada e anexada a um sistema de corrente, na extremidade distal da alça e fixada com fio de seda um zero.



**Figura 23. Formulário de cadastro de sistema de unidades do aplicativo SABI**

A região da alça em que foi submetida à tração apresentava um centímetro e meio de extensão, valor esse confirmado com o uso de paquímetro em todos os espécimes antes de serem submetidos ao teste ETR (Figura 24).



**Figura 24. Representação esquemática: (a) segmento de cólon com a anastomose (linha pontilhada), (b) canhão número 18 com a luz aberta e (c) canhão número 18 com a luz vedada e fixada em sistema de corrente**

O sistema proposto para promover a medição da Energia Total de Ruptura por meio do teste de resistência biomecânico ETR foi constituído pelos seguintes componentes:

- Sistema de tração de uma bomba de infusão da marca B.BRAUN / Modelo 871.012 (Figura 25-a);
- Gancho de aço inoxidável especialmente confeccionado (Figura 25-b);
- Canhão de cateter endovenoso de "teflon" número 18 com a luz vedada e fixada em um sistema de corrente (Figura 25-c);
- Canhão de cateter endovenoso de "teflon" número 18 com a luz aberta (Figura 25-e);
- Torneira de tripla-via com a extremidade fixada em um sistema de corrente (Figura 25-f);
- Balança de precisão da marca Mettler-Toledo / Modelo SB8000 (Figura 25-g)
- Célula de carga da balança de precisão da marca Mettler-Toledo / Modelo SB8000 (Figura 25-h);
- Alavanca confeccionada para promover a conexão da célula de carga da balança de precisão com o sistema de tração (Figura 25-i);
- Saída serial da balança de precisão (Figura 25-j);
- Cabo de comunicação serial (Figura 25-l);
- Microcomputador PC padrão com canal de comunicação serial (Figura 25-m);
- Cateter de polietileno (P.E. 80) - 50 centímetros de comprimento (Figura 25-n);
- Seringa de plástico com volume de 10 mililitros, de marca Nipro, posicionada no transdutor de pressão do polígrafo (Figura 25-o);
- Polígrafo marca Siemens-Elema - Modelo 804 Mingograft (Figura 25-p) e
- Aplicativo SABI - Sistema de Aquisição e Análise de Dados Biomecânicos.

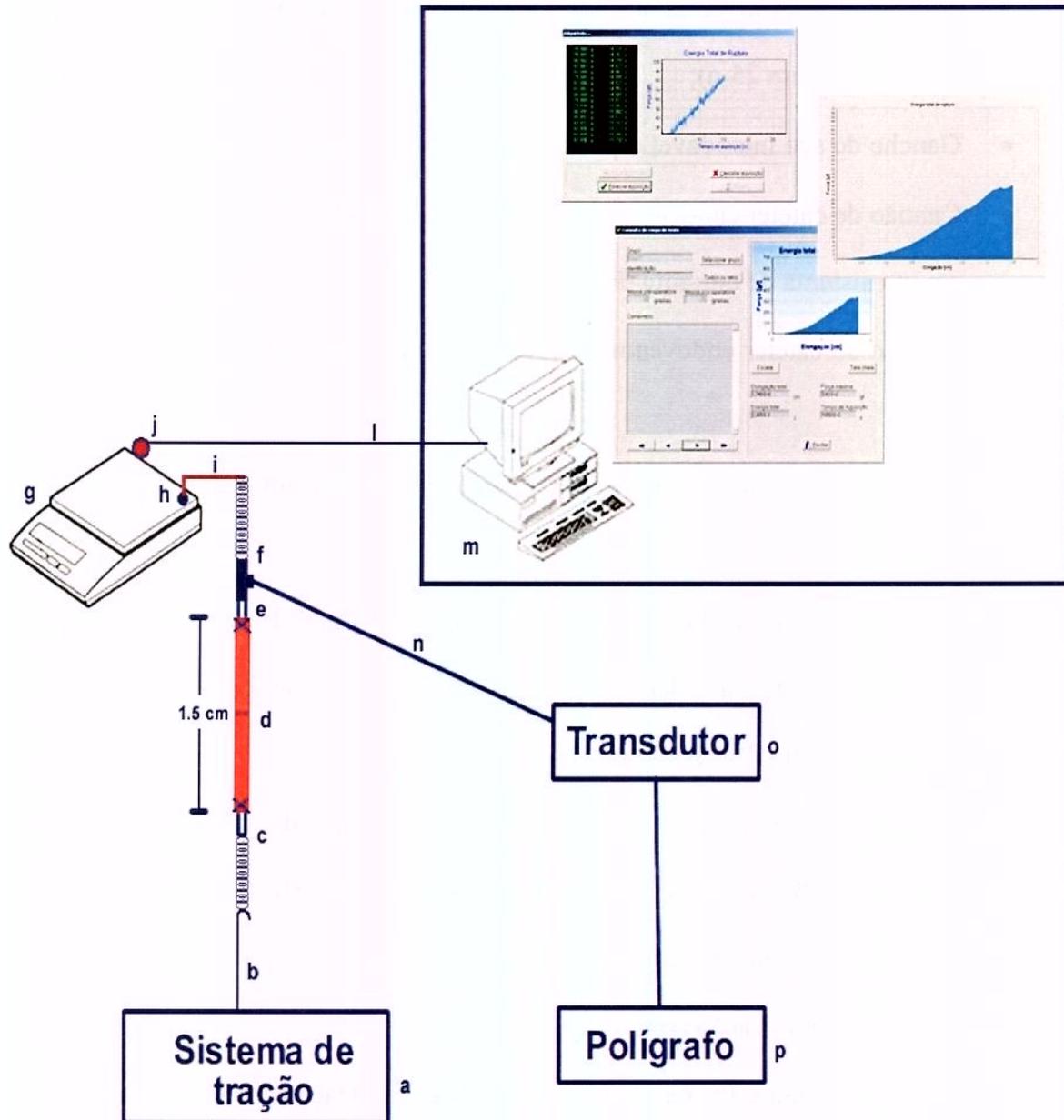
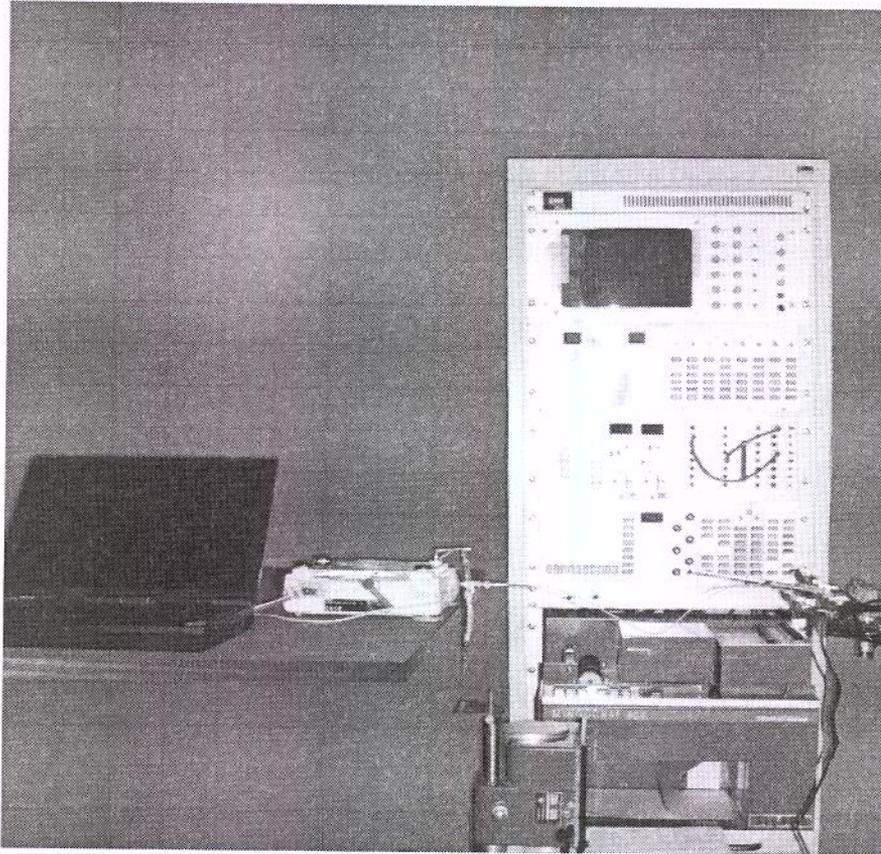


Figura 25. Representação esquemática do Teste Biomecânico Energia Total de Ruptura: (a) sistema de tração, (b) gancho de aço inoxidável, (c) canhão de cateter número 18 com a luz vedada e fixada em sistema de corrente, (d) segmento de alça cólica contendo a anastomose na área central, (e) canhão de cateter número 18 com a luz aberta, (f) torneira de tripla-via fixada em sistema de corrente, (g) balança de precisão, (h) célula de carga, (i) alavanca de conexão entre a célula de carga da balança com os componentes do sistema, (j) saída serial da balança, (l) cabo de comunicação serial, (m) microcomputador PC padrão, (n) cateter de polietileno P.E. 80, (o) transdutor do polígrafo e (p) polígrafo

Para tornar mais didática e proporcionar uma melhor compreensão do teste de resistência biomecânica Energia Total de Ruptura, esse método será integralmente descrito com os seus componentes nas suas respectivas posições pronto para o início da realização do teste (Figura 26):

- Balança de precisão com a célula de carga posicionada superiormente aos componentes do sistema;
- Saída serial RS232 da balança de precisão conectada por meio do cabo de comunicação serial à entrada do microcomputador PC;
- Posicionamento da alavanca de conexão entre a célula de carga da balança de precisão com o restante dos componentes pertencentes ao sistema;
- Fixação da corrente previamente anexada em região superior da torneira de tripla-via na alavanca de conexão, e esta, na célula de carga da balança. A via inferior da mesma torneira de tripla-via foi acoplada ao canhão de cateter endovenoso número 18 com a luz aberta, sendo esse previamente atado na alça intestinal;
- A extremidade distal do segmento de alça, atada ao canhão de cateter endovenoso número 18 com a luz vedada e com o sistema de corrente previamente fixada era então anexada ao gancho de aço inoxidável;
- A outra extremidade do gancho de aço inoxidável encontrava-se fixada no sistema de tração da bomba de infusão, exatamente alinhada em relação à célula de carga da balança e

- A via lateral da torneira de tripla via foi conectada a uma das extremidades do cateter de polietileno enquanto que a outra extremidade desse cateter ao transdutor de pressão do polígrafo, onde uma seringa de plástico contendo 10 mililitros de solução fisiológica no seu interior já se encontrava posicionada.



**Figura 26. Componentes pertencentes ao Teste de Resistência Biomecânica Energia Total de Ruptura**

Os componentes pertencentes ao sistema de tração mantiveram as mesmas proporções de localização e medida na totalidade dos testes.

Com o sistema de medição montado, infundiu-se lentamente a solução fisiológica contida no interior da seringa de plástico pré-posicionada no transdutor do polígrafo,

preenchendo assim, o cateter de polietileno, a via lateral da torneira de tripla-via e o segmento de alça cólica, pois o fluxo da torneira de tripla-via estava aberto nas três direções.

Com esse procedimento, as bolhas de ar contidos dentro do sistema eram eliminadas e com o posicionamento do fluxo da torneira de tripla-via na direção das vias lateral e inferior, o segmento de alça e suas conexões eram transformados em um sistema de vasos comunicantes em relação ao polígrafo. Após essas etapas, realizou-se um balanço no polígrafo, tomando essa situação como linha de base zero no registro.

Em seguida, tarou-se a balança e o movimento de tração era iniciado em velocidade de um centímetro por minuto. A partir do momento em que se iniciou o movimento de arrasto, todos os componentes do sistema sofreram tração em direção vertical.

Conseqüentemente, as forças axiais crescentes aplicadas sobre o segmento de alça cólica transferiram-se para a célula de carga da balança de precisão e esses valores eram integralmente captados, registrados e analisados pelo microcomputador PC por meio do aplicativo SABI.

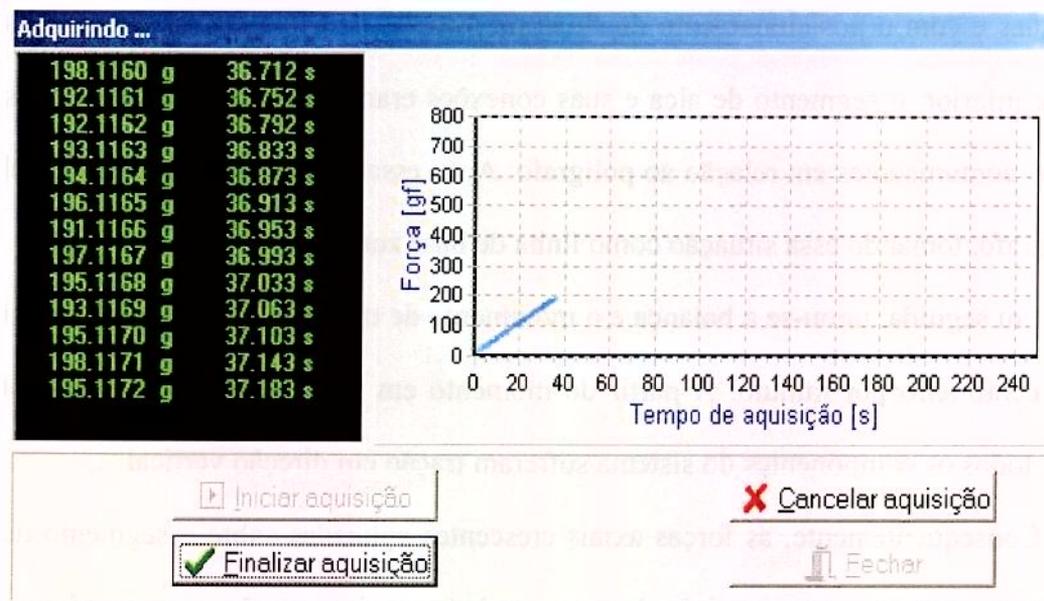
A velocidade de captação da força axial externa imposta sobre o sistema apresentava a média de três dados por segundo em tempo real; esses valores geravam uma curva na tela do computador expressando a função Força x Tempo de aquisição (Figura 27).

Com a finalização do processo de aquisição, essa função Força x Tempo era automaticamente convertida para a função Força x Elongação por meio do aplicativo SABI.

Além disso, com o movimento de tração, originou-se uma pressão na região intraluminal do sistema de vasos comunicantes e essa pressão era imediatamente registrada

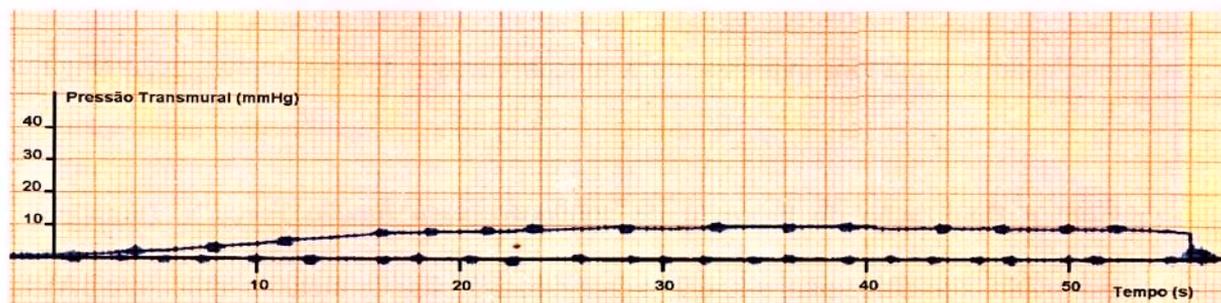
pelo polígrafo.

Com o afastamento do gráfico da linha de base, as variações da curva dessa pressão eram adquiridas integralmente e no momento de ruptura da anastomose, essa curva retorna a sua linha de base inicial zero, decorrente da perda do líquido pela anastomose (Figura 28).



**Figura 27. Formulário de Aquisição de dados do aplicativo SABI**

O registro do polígrafo se deu a uma velocidade de dois e meio milímetro por segundo.



**Figura 28. Registro gráfico da pressão transmural captada pelo polígrafo durante o teste ETR. Curva com ascensão suave, formação de platô e retorno à linha de base no momento da ruptura**

#### 4.3.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

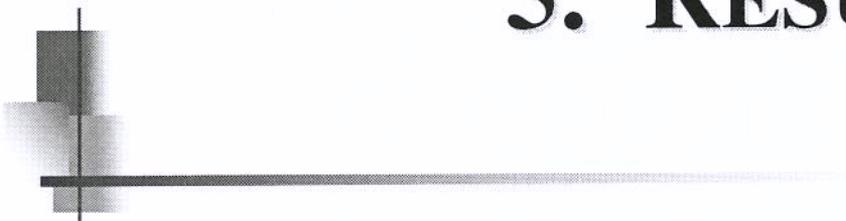
Conforme o protocolo experimental, todos os animais, representados pelos seus segmentos intestinais com as anastomoses, foram submetidos ao teste biomecânico Energia Total de Ruptura e os seus resultados submetidos às análises estatísticas. Além disso, também foi efetuado o estudo estatístico da mortalidade decorrente do período de pós-operatório dos subgrupos pertencentes aos Grupos 1 e 2.

O teste estatístico utilizado para a avaliação e análise dos resultados obtidos da Energia Total de Ruptura foi o Mann-Whitney. Esse teste foi aplicado confrontando-se os subgrupos dois a dois, sendo que os resultados eram considerados diferentes quando o p-valor foi  $\leq 0,05$ .

Para promover o estudo da taxa de mortalidade nos Grupos 1 e 2, era utilizado o teste exato de Fisher, e os resultados foram considerados diferentes quando o p-valor foi  $\leq 0,05$ .



## **5. RESULTADOS**



## 5.1. EVOLUÇÃO CLÍNICA, AVALIAÇÃO DA CAVIDADE ABDOMINAL E DA ANASTOMOSE

Para melhor compreensão, as características de cada subgrupo serão descritas individualmente.

**Subgrupo 1.1** – Ausência de isquemia + ar ambiente. Subgrupo controle do Grupo 1 composto por 10 animais respirando apenas ar ambiente no pós-operatório.

Todos os animais tiveram boa evolução durante os quatro dias de pós-operatório, com boa aceitação de alimento e água.

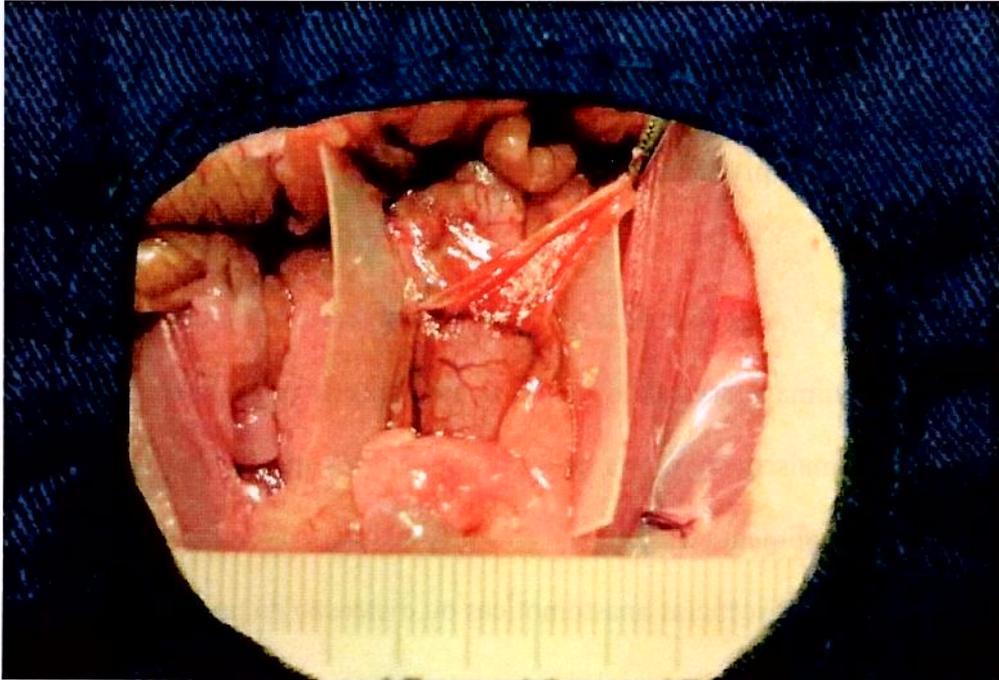
Não ocorreram deiscências anastomóticas ou distensão da parede abdominal.

As fezes encontradas nas gaiolas apresentavam-se aspecto normal durante os dias analisados.

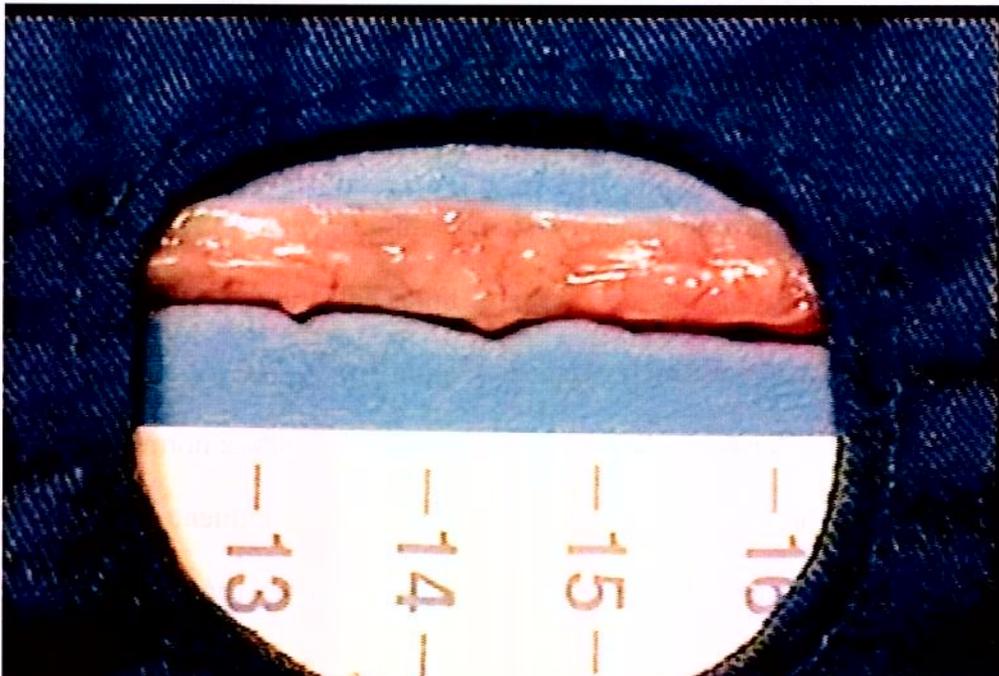
As cavidades abdominais, abertas após a eutanásia, não apresentavam coleções de líquidos e as películas de polivinilcloro estavam corretamente posicionadas, não permitindo a fixação de aderências sobre a anastomose. Com a sua remoção, encontrou-se uma fina camada de fibrina, recobrando a linha de sutura (Figura 29).

Após a retirada da camada de fibrina, a linha de sutura apresentava-se com bom aspecto, sem a presença de deiscências visíveis (Figura 30).

**Subgrupo 1.2** – Ausência de isquemia + oxigênio a 100% e normobárico (1 ATA). Subgrupo pertencente ao Grupo 1 com os animais inalando ar ambiente e intercalado com sessão diária de hiperóxia a 100% no interior de uma câmara hiperbárica experimental, por 90 minutos a uma atmosfera absoluta. Todos os animais deste subgrupo apresentaram boa evolução clínica com características semelhantes às encontradas nos animais do subgrupo 1.1.



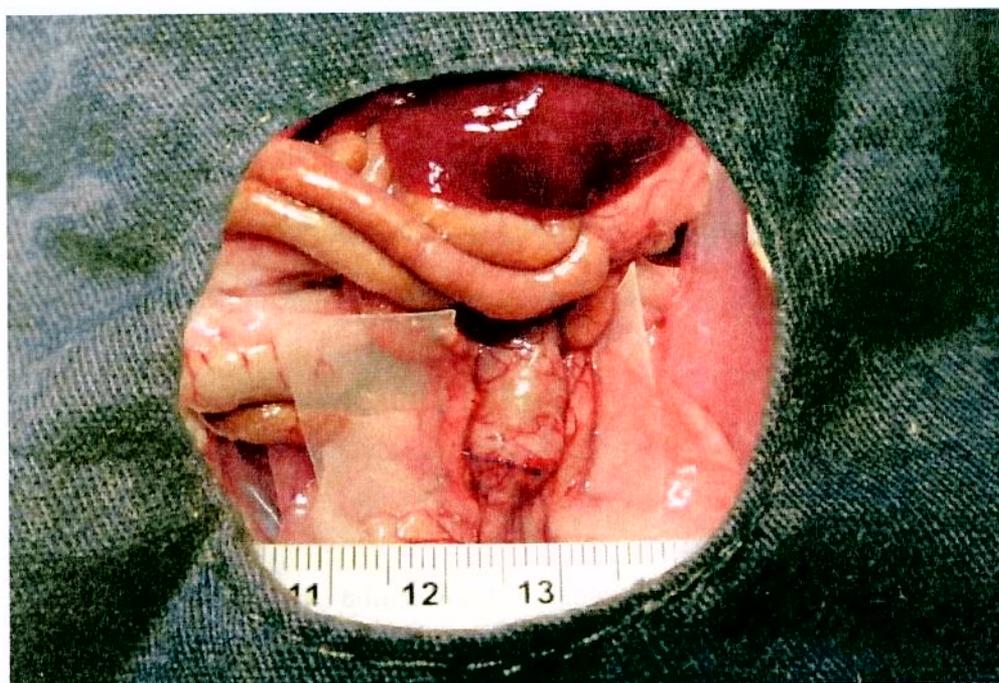
**Figura 29. Abertura longitudinal da película de PVC. Fina camada de fibrina, quase transparente, recobrendo a linha de sutura**



**Figura 30. Segmento de cólon descendente retirado do animal pertencente ao subgrupo 1.1**

**Subgrupo 1.3** – Sem isquemia + oxigênio a 100% e hiperbárico. Subgrupo do Grupo 1 com os animais respirando ar ambiente e intercalado com sessão diária de hiperóxia a 100% no interior de uma câmara hiperbárica experimental, por 90 minutos a duas ATA. Os animais evoluíram bem clinicamente, apresentando características semelhantes à dos animais do subgrupo 1.1 (Figuras 31 e 32).

**Subgrupo 2.1** – Isquemia + ar ambiente. Subgrupo controle do Grupo 2, composto por 10 animais e caracterizado pelo desenvolvimento do processo de cicatrização da anastomose cólica comprometida pela isquemia em ar ambiente. Neste subgrupo ocorreu o óbito de quatro animais, sendo os ratos 5, 7, 9 e 10. Os dois primeiros animais morreram no segundo dia, enquanto os outros, no terceiro. A mortalidade desse subgrupo, de 40%, foi a mais elevada em relação aos outros subgrupos.



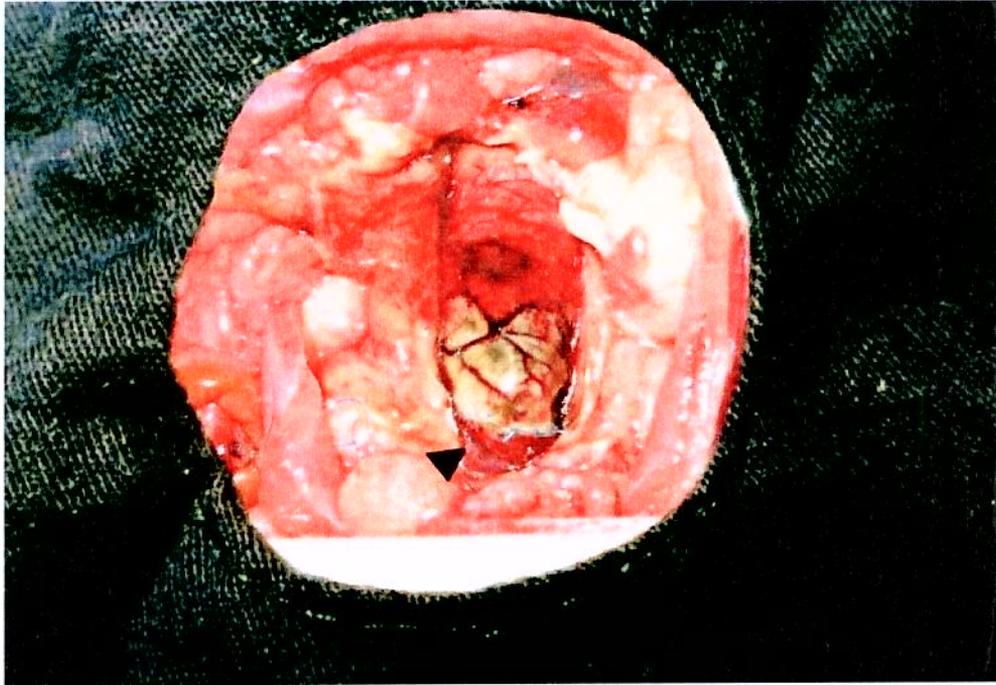
**Figura 31. Abertura longitudinal da película de PVC (S1.3). Retirada da camada de fibrina demonstrando bom aspecto da linha de sutura**



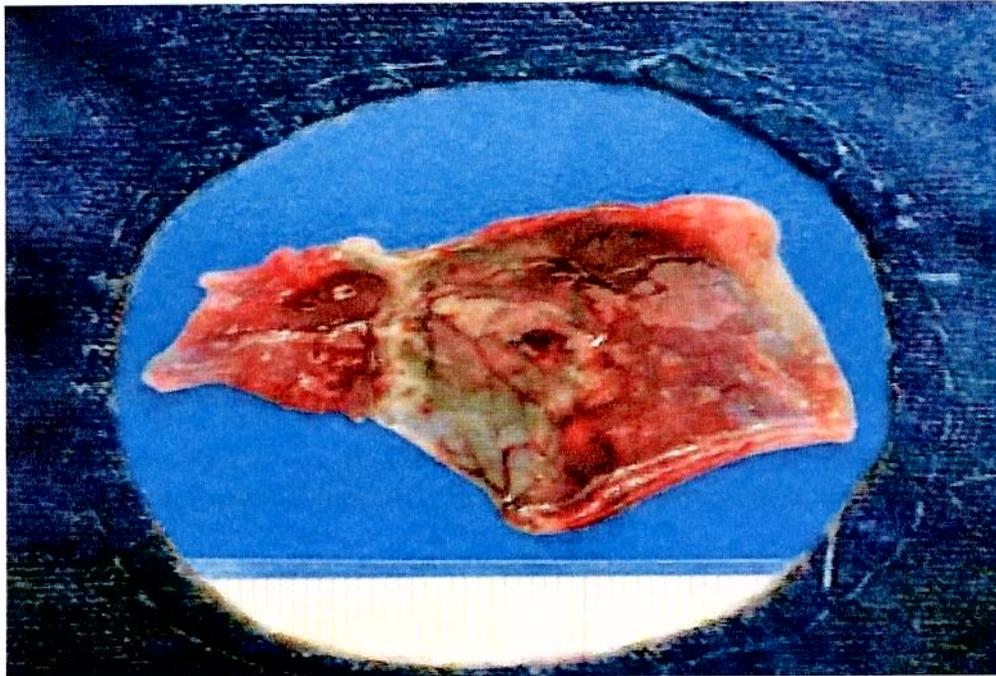
**Figura 32. Segmento de cólon descendente removido do animal pertencente ao S1.3**

Com a necropsia, constatou-se, em todos esses animais, a presença de intenso processo inflamatório na cavidade peritoneal e aderências múltiplas sobre a película de polivinilcloreto. Desfeitas essas aderências e removidas as películas de PVC, os segmentos de cólon descendente apresentavam uma espessa camada de fibrina sob a região recoberta.

Abaixo dessa camada de fibrina, encontrava-se a anastomose comprometida, com deiscências de pontos de sutura e sugerindo necrose segmentar transmural distribuída ao redor da anastomose (Figura 33). Após a retirada da alça, ela era aberta em sentido longitudinal observando-se extensa área com aspecto de gangrena transmural, além de quadro inflamatório intenso da mucosa circunvizinha a esse tecido, alterando as características da estrutura da luz do espécime (Figura 34).



**Figura 33. Necropsia. Anastomose cólica comprometida pertencente ao animal do subgrupo 2.1 após a retirada da película de proteção de PVC**

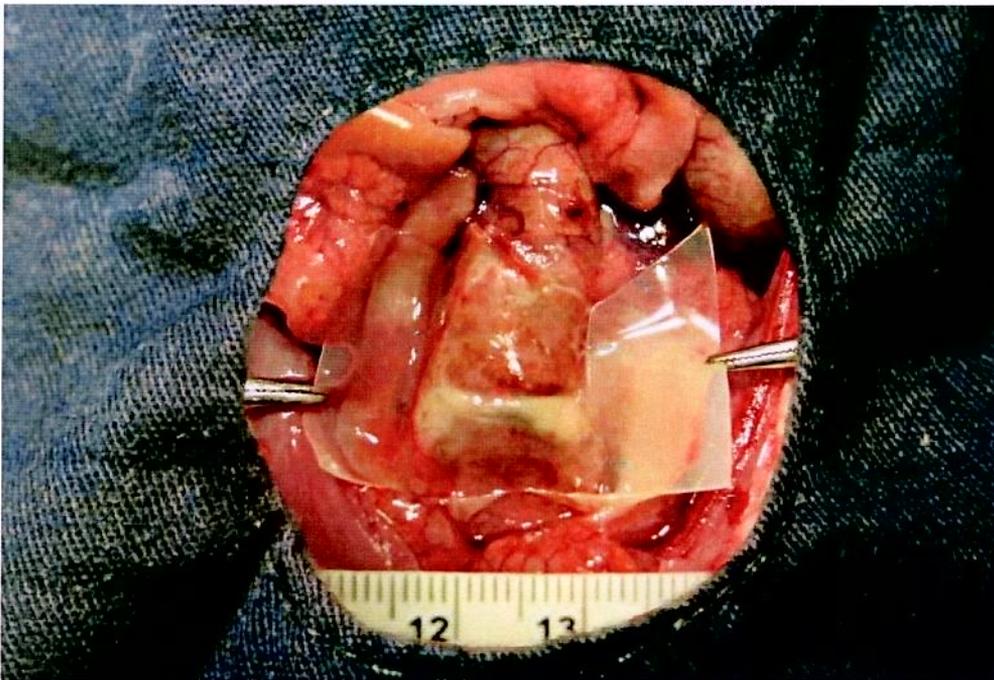


**Figura 34. Necropsia: característica da mucosa anastomótica de rato do subgrupo 2.1**

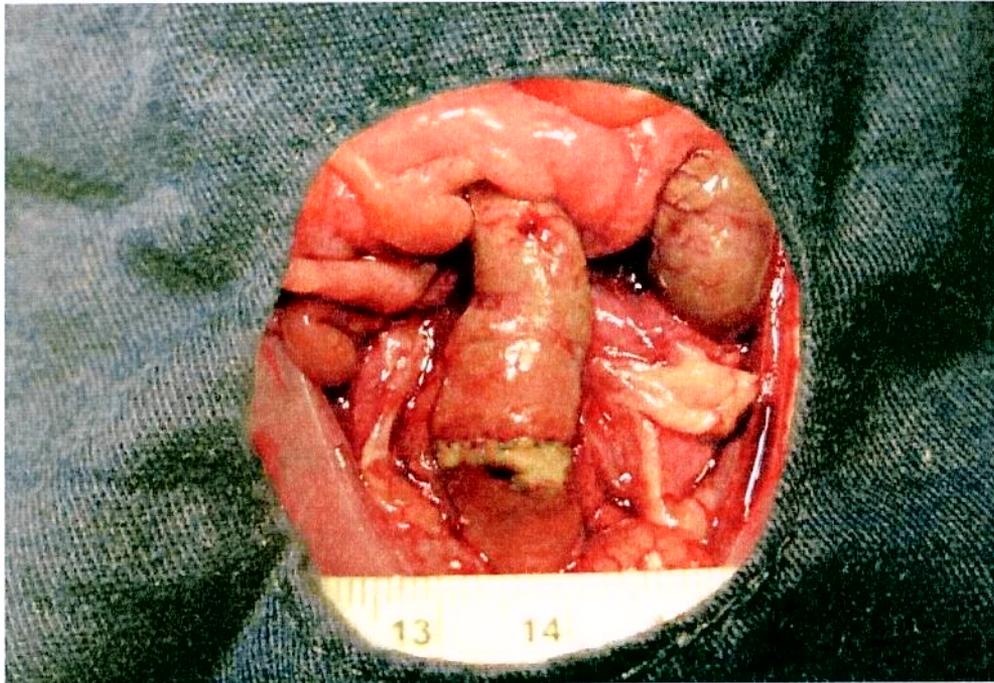
Nos animais sobreviventes até o quarto dia de pós-operatório, após a eutanásia, as cavidades abdominais expostas apresentavam líquido com aparência turva e odor fétido.

Após a retirada da película de proteção de polivinilcloro, havia uma camada espessa com aspecto amarelado recobrendo a área sob a película de PVC (Figura 35).

Sob essa camada, as áreas peri-anastomóticas exibiam aparência de necrose transmural segmentar margeando a linha de sutura e em menor intensidade quando relacionada às anastomoses dos animais submetidos à necropsia (Figura 36).



**Figura 35. Segmento de cólon descendente pertencente ao S2.1. Presença de espessa camada sob a película de proteção com aspecto fibrino-purulento**



**Figura 36. O mesmo segmento de cólon acima após a remoção da camada de fibrina. Tecido com aspecto necrótico margeando a linha de sutura**

**Subgrupo 2.2** – Isquemia + oxigênio a 100% e normobárica (1 ATA). Subgrupo pertencente ao Grupo 2 com os animais inalando ar ambiente e intercalado com sessão diária de hiperóxia a 100% no interior de uma câmara hiperbárica experimental, por 90 minutos a uma atmosfera absoluta.

Os animais pertencentes a esse subgrupo evoluíram com três óbitos, sendo o rato 3 no segundo dia de pós-operatório e os ratos 5 e 10, no terceiro dia.

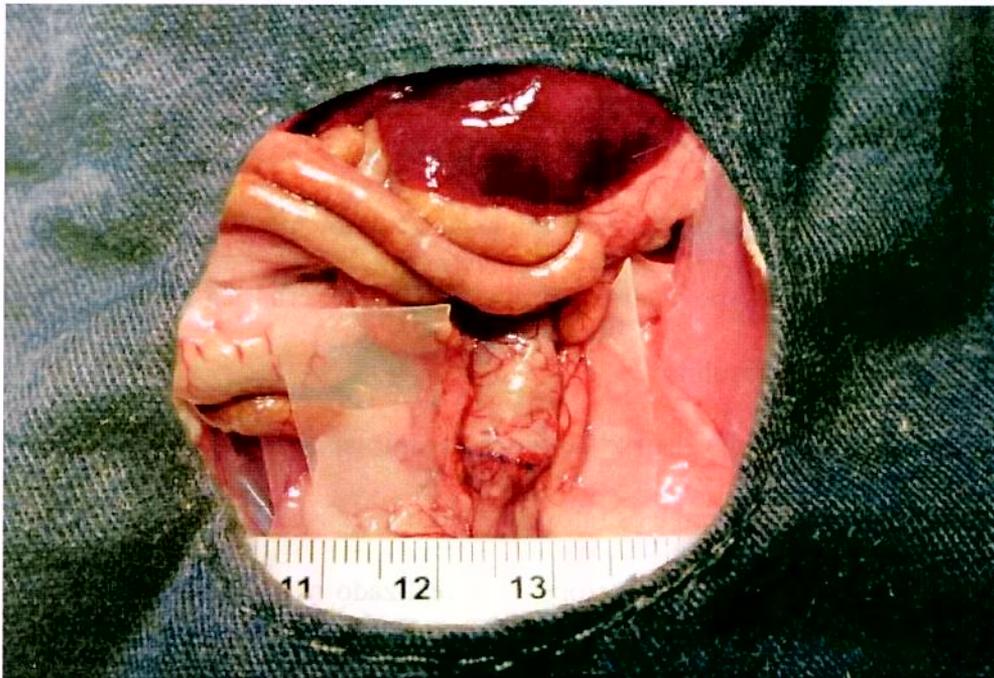
O mesmo procedimento de necropsia era realizado nesses animais, constatando-se características similares aos achados do subgrupo 2.1 em relação aos aspectos apresentados da cavidade abdominal, do segmento de cólon e da linha de sutura.

**Subgrupo 2.3** – Isquemia + oxigênio a 100% e hiperbárica (2 ATA). Subgrupo pertencente ao Grupo 2 com os animais inalando ar ambiente e intercalado com sessão

diária de hiperóxia a 100% no interior de uma câmara hiperbárica experimental, por 90 minutos a duas atmosferas absolutas.

Os animais desse subgrupo apresentaram boa evolução clínica. As características das cavidades abdominais, assim como das anastomoses apresentaram aspectos semelhantes às encontradas nos subgrupos 1.1 e 1.3 (Figura 37).

Nesse subgrupo, ocorreu um óbito no terceiro dia de pós-operatório, o rato 5, e durante a necropsia, constatou-se a presença de obstrução do cólon descendente por um fecaloma. Esse fato comprometeu a anastomose e promoveu deiscências em dois pontos na linha de sutura.



**Figura 37. Característica da anastomose cólica em animal pertencente ao S1.3**

## 5.2 ESTUDO COMPARATIVO DA MORTALIDADE ENTRE OS SUBGRUPOS

Durante todo o período experimental, que compreendia quatro dias de pós-operatório, ocorreram oito óbitos e na totalidade, pertenciam ao Grupo 2.

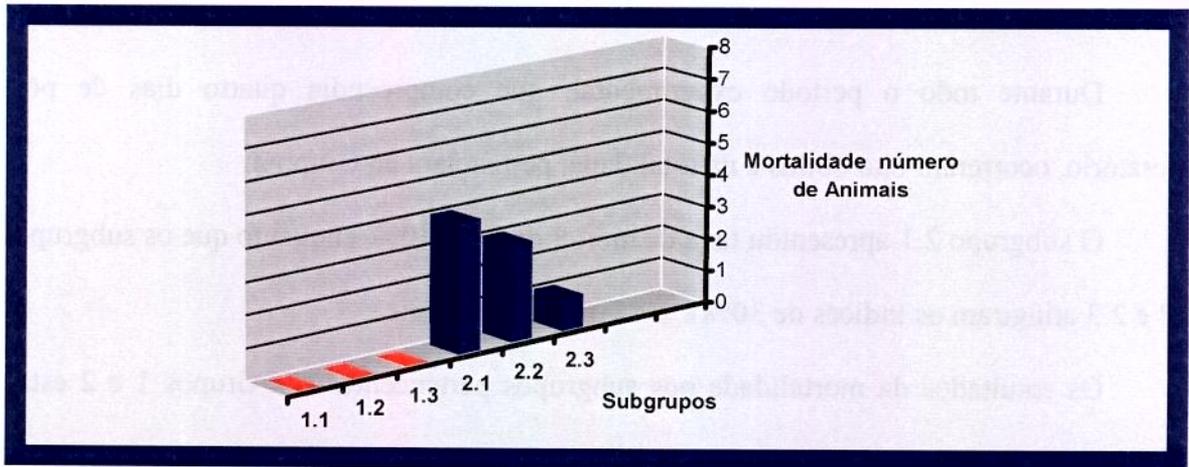
O subgrupo 2.1 apresentou taxa de mortalidade de 40%, enquanto que os subgrupos 2.2 e 2.3 atingiram os índices de 30% e 10%, respectivamente.

Os resultados da mortalidade nos subgrupos pertencentes aos Grupos 1 e 2 estão representados pela Tabela 4 e pela Figura 38.

O estudo comparativo e as análises estatísticas de mortalidade ocorrida nos subgrupos pertencentes ao Grupo 1 e Grupo 2 foram realizados por meio do teste estatístico de Fisher. Confrontando as taxas de mortalidade desses dois Grupos, encontrou-se uma diferença estatística significativa para  $p\text{-valor} = 0,0045$ .

**Tabela 4. Resultados da mortalidade nos subgrupos**

GRUPOS	SUBGRUPOS	DIA CIRÚRGICO	1 P.O.	2 P.O.	3 P.O.	4 P.O.	TOTAL DE ÓBITOS
1	1.1	0	0	0	0	0	0
	1.2	0	0	0	0	0	0
	1.3	0	0	0	0	0	0
2	2.1	0	0	0	4	0	4
	2.2	0	0	1	2	0	3
	2.3	0	0	0	1	0	1



**Figura 38.** Distribuição gráfica dos valores da mortalidade dos subgrupos 1.1, 1.2, 1.3, 2.1, 2.2 e 2.3

### **5.3. TESTE DE RESISTÊNCIA BIOMECÂNICA ENERGIA TOTAL DE RUPTURA (ETR)**

Neste trabalho utilizou-se o teste de resistência biomecânica Energia Total de Ruptura para avaliação e análise da resistência intrínseca da anastomose em cólon descendente de rato. As rupturas sempre ocorreram na linha de sutura. Após o teste biomecânico Energia Total de Ruptura, as alças eram abertas no sentido longitudinal em região oposta ao local de rompimento.

Esse procedimento teve como finalidade analisar o padrão macroscópico da região intraluminal da anastomose demonstrando a homogeneidade das suturas, a constatação da localização do ponto de ruptura, além de promover a análise do comprometimento da parede da alça e da anastomose decorrente do fator isquemia (Figura 39).

Os resultados da Energia Total de Ruptura das anastomoses cólicas obtidos por meio do teste de resistência biomecânica ETR estão representados na Tabela 5 e Figura 40.

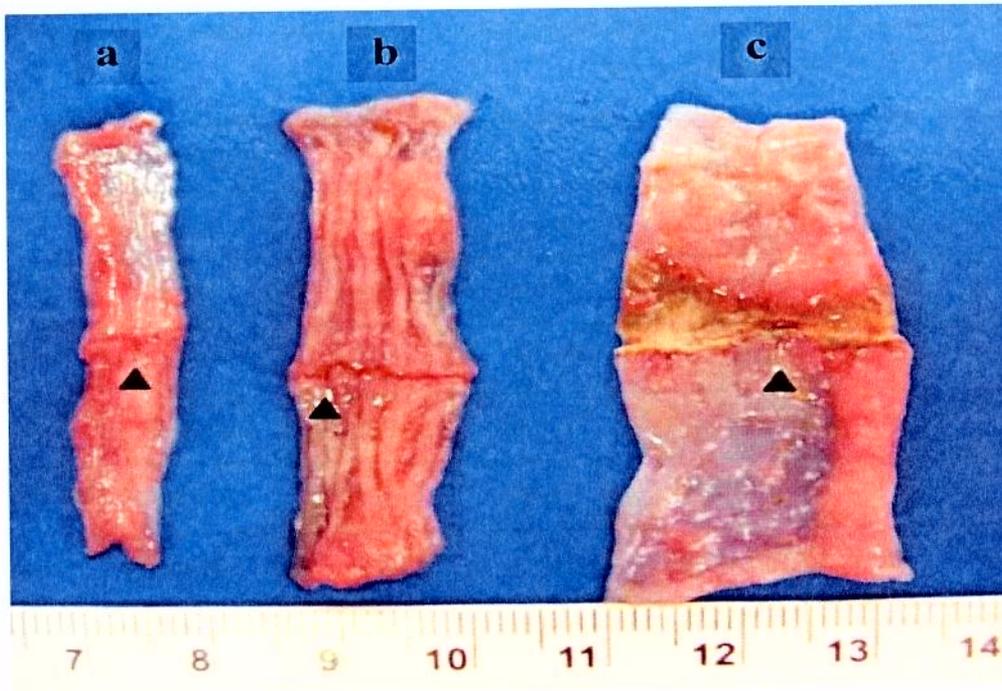


Figura 39. Característica da mucosa em segmento de alça cólica com a sua respectiva área de anastomose. (a) subgrupo 1.1 (controle), (b) subgrupo 2.3 (isquemia e hiperóxia hiperbárica) e (c) subgrupo 2.1 (isquemia sem tratamento). A seta indica o local de ruptura da linha de sutura durante o teste ETR

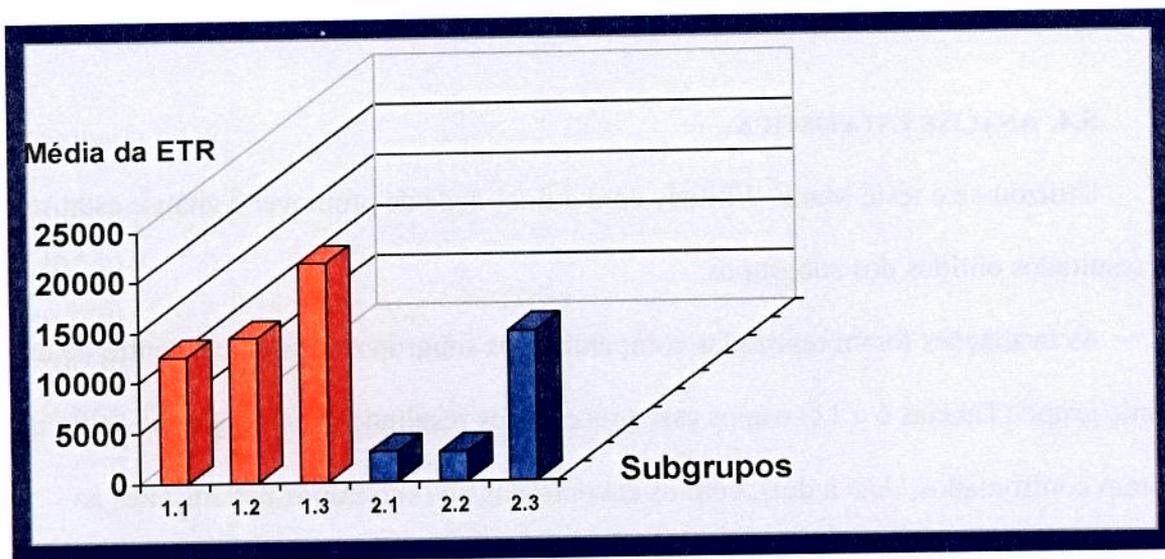


Figura 40. Distribuição gráfica dos valores da energia total de ruptura em gf.cm pertencentes aos subgrupos 1.1, 1.2, 1.3, 2.1, 2.2 e 2.3

**Tabela 5. Valores da Energia Total de Ruptura (gf.cm) dos animais pertencentes aos subgrupos 1.1, 1.2, 1.3, 2.1, 2.2, e 2.3**

	GRUPO 1			GRUPO 2		
Ratos	S 1.1	S 1.2	S 1.3	S 2.1	S 2.2	S 2.3
<b>R1</b>	15970	9341	22090	3155	1839	20690
<b>R2</b>	14130	6171	25720	4187	1333	7170
<b>R3</b>	5712	10780	17430	3820	-óbito-	19600
<b>R4</b>	16780	9888	18830	3356	3186	3200
<b>R5</b>	12706	20240	21180	-óbito-	-óbito-	-óbito-
<b>R6</b>	4822	16390	24180	2144	3481	19300
<b>R7</b>	12310	25120	28660	-óbito-	3869	18240
<b>R8</b>	15090	22860	25260	933,9	2063	16510
<b>R9</b>	13190	13560	11720	-óbito-	4597	9871
<b>R10</b>	14820	9177	23020	-óbito-	-óbito-	19400

#### **5.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Utilizou-se o teste Mann-Whitney com a finalidade de promover a análise estatística dos resultados obtidos dos subgrupos.

As avaliações foram realizadas comparando os subgrupos dois a dois dentro de um mesmo grupo (Tabelas 6 a 11) e após esse processo, os resultados dos subgrupos do Grupo 1 foram confrontados, dois a dois, com os encontrados nos subgrupos pertencentes ao Grupo 2 (Tabelas 12 a 20).

#### 5.4.1. TESTE ESTATÍSTICO NÃO PARAMÉTRICO DE MANN-WHITNEY ENTRE OS

#### SUBGRUPOS PERTENCENTES AO GRUPO 1

Tabela 6. Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.1 e 1.2 - p-valor = 0,7914

SUBGRUPOS	N	MÉDIA	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	DP
1.1 (controle)	10	12553	13660	4822	16780	4091,48
1.2	10	14352,7	12170	6171	25120	6491,8

Tabela 7. Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.1 e 1.3 - p-valor = 0,0018

SUBGRUPOS	N	MÉDIA	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	DP
1.1 (controle)	10	12553	13660	4822	16780	4091,48
1.3	10	21809	22555	11720	28660	4848,17

Tabela 8. Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.2 e 1.3 - p-valor = 0,0142

SUBGRUPOS	N	MÉDIA	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	DP
1.2	10	14352,7	12170	6171	25120	6491,8
1.3	10	21809	22555	11720	28660	4848,17

#### 5.4.2. TESTE ESTATÍSTICO NÃO PARAMÉTRICO DE MANN-WHITNEY ENTRE OS

#### SUBGRUPOS PERTENCENTES AO GRUPO 2

Tabela 9. Comparação dois a dois entre os subgrupos 2.1 e 2.2 - p-valor = 0,87

SUBGRUPOS	N	MÉDIA	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	DP
2.1 (controle)	6	2932,65	3255,5	933,9	4187	1200,53
2.2	7	2909,71	3186	1333	4597	1191,58

**Tabela 10. Comparação dois a dois entre os subgrupos 2.1 e 2.3 - p-valor = 0,0057**

SUBGRUPOS	N	MÉDIA	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	DP
2.1 (controle)	6	2932,65	3255,5	933,9	4187	1200,53
2.3	9	14886,78	18240	3200	20690	6431,4

**Tabela 11. Comparação dois a dois entre os subgrupos 2.2 e 2.3 - p-valor = 0,0044**

SUBGRUPOS	N	MÉDIA	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	DP
2.2	7	2909,71	3186	1333	4597	1191,58
2.3	9	14886,78	18240	3200	20690	6431,4

#### 5.4.3. TESTE ESTATÍSTICO NÃO PARAMÉTRICO DE MANN-WHITNEY ENTRE OS SUBGRUPOS PERTENCENTES AO GRUPO 1 E GRUPO 2

**Tabela 12. Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.1 e 2.1 - p-valor = 0,0014**

SUBGRUPOS	N	MÉDIA	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	DP
1.1	10	12553	13660	4822	16780	4091,48
2.1	6	2932,65	3255,5	933,9	4187	1200,53

**Tabela 13. Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.1 e 2.2 - p-valor = 0,0008**

Subgrupos	N	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	DP
1.1	10	12553	13660	4822	16780	4091,48
2.2	7	2909,71	3186	1333	4597	1191,58

**Tabela 14. Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.1 e 2.3 - p-valor = 0,1533**

SUBGRUPOS	N	MÉDIA	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	DP
1.1	10	12553	13660	4822	16780	4091,48
2.3	9	14886,78	18240	3200	20690	6431,4

**Tabela 15. Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.2 e 2.1 - p-valor = 0,0014**

SUBGRUPOS	N	MÉDIA	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	DP
1.2	10	14352,7	12170	6171	25120	6491,8
2.1	6	2932,65	3255,5	933,9	4187	1200,53

**Tabela 16. Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.2 e 2.2 - p-valor = 0,0008**

SUBGRUPOS	N	MÉDIA	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	DP
1.2	10	14352,7	12170	6171	25120	6491,8
2.2	7	2909,71	3186	1333	4597	1191,58

**Tabela 17. Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.2 e 2.3 - p-valor = 0,9025**

SUBGRUPOS	N	MÉDIA	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	DP
1.2	10	14352,7	12170	6171	25120	6491,8
2.3	9	14886,78	18240	3200	20690	6431,41

**Tabela 18. Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.3 e 2.1 - p-valor = 0,0014**

SUBGRUPOS	N	MÉDIA	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	DP
1.3	10	21809	22555	11720	28660	4848,16
2.1	6	2932,65	3255,55	933,9	4187	1200,53

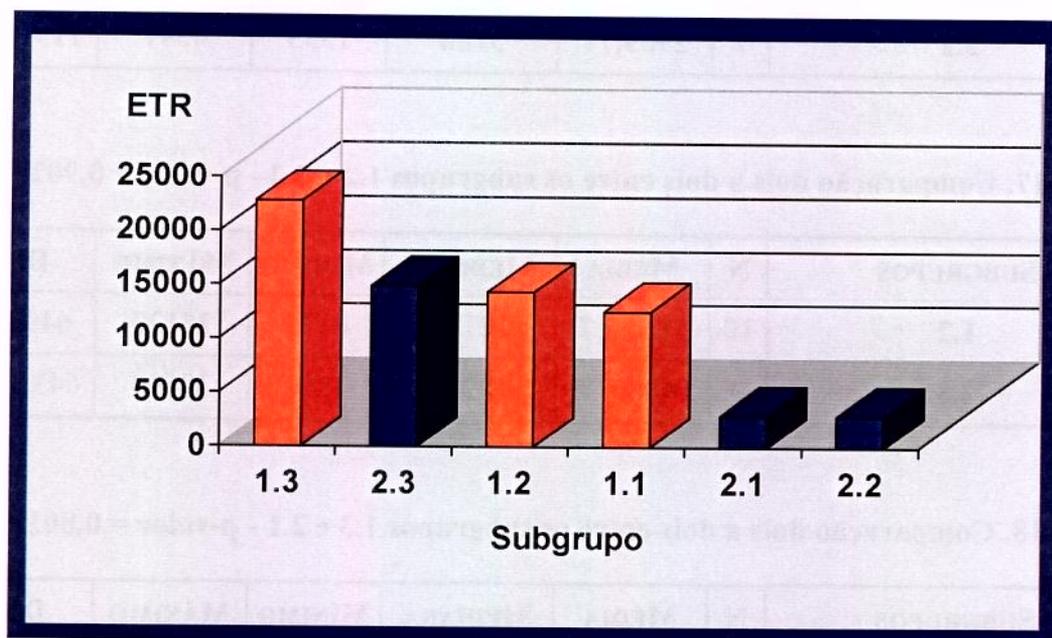
**Tabela 19. Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.3 e 2.2 - p-valor = 0,0008**

SUBGRUPOS	N	MÉDIA	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	DP
1.3	10	21890	22555	11720	28660	4848,17
2.2	7	2909,71	3186	1333	4597	1191,58

**Tabela 20. Comparação dois a dois entre os subgrupos 1.3 e 2.3 - p-valor = 0,0162**

SUBGRUPOS	N	MÉDIA	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	DP
1.3	10	21809	22555	11720	28660	4848,17
2.3	9	14886,78	18240	3200	20690	6431,41

Por meio dos testes estatísticos, a energia total de ruptura (ETR), representante da resistência mecânica intrínseca apresentada pelas anastomoses cólicas foi distribuída conforme a Figura 41.



**Figura 41. Disposição decrescente da Energia Total de Ruptura (ETR) em gf.cm adquirida pelos subgrupos 1.1, 1.2, 1.3, 2.1, 2.2 e 2.3**



## **6. DISCUSSÃO**



## 6.1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Deiscências de anastomoses cólicas proporcionam o surgimento de complicações graves, levando a expressivos índices de morbidade e mortalidade. Em virtude disso, torna-se fundamental a compreensão dos mecanismos envolvidos no seu processo de cicatrização, pois, conseqüências negativas poderão ser minimizadas (PERRY et al., 1955; HENDRICKS e MASTBOOM, 1990; ZILLING et al., 1999).

Diversos fatores influenciam e modificam o curso de reparo tecidual intestinal, tais como: deficiência nutricional (APRILLI, 1998), processo inflamatório e infeccioso (NARESSE, 1990), distúrbios metabólicos (GOODSON e HUNT, 1978), agentes farmacológicos (MANTOVANI et al., 1979; MINOSSI, 1995), anti-neoplásicos (YASDI et al., 1998), formação de aderências em anastomoses (WU, 2000), técnica cirúrgica empregada e a experiência do cirurgião (LIMJOCO, 1974; KOBAYASI e MENDES, 1982).

Além desses fatores, acredita-se que a diminuição da perfusão sangüínea na ferida cirúrgica represente uma das causas mais importantes na geração de complicações operatórias. Esse evento, quando não revertido, compromete a oferta de oxigênio para o tecido em cicatrização, alterando assim, a sua fisiologia de reparação (MINION et al., 1982; IAZZETTI, 1992).

O estudo sobre anastomoses gastrointestinais e o seu processo de reparação cicatricial, apresenta-se como linha de pesquisa tradicional do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP (LEONARDI, 1973; MEDEIROS, 1973; MANTOVANI et al., 1976, MANTOVANI, 1978; MEDEIROS, 1982; FAGUNDES, 1986; QUILICI, 1988; FAGUNDES, 1990; AMARAL, 1997; NIERI, 1999; WU, 2000).

Este trabalho está inserido nessa linha de pesquisa e foi direcionado para as análises e repercussões da ação de diferentes concentrações de oxigênio durante a fase inicial do processo de cicatrização em anastomose de cólon descendente do rato, comprometida ou não pela isquemia induzida.

Para a realização dessas avaliações, propôs-se um método baseado no Princípio Universal da Conservação de Energia, o teste biomecânico Energia Total de Ruptura, cuja finalidade é determinar a resistência mecânica intrínseca do espécime contendo a linha de sutura.

## **6.2. ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO**

Investigações realizadas em área biológica são constituídas por um conjunto de fatores que freqüentemente são analisados com a variável específica estudada, repercutindo assim, na precisão dos resultados.

Para contornar essa situação, certas características dos animais devem ser observadas e apreciadas, tais como: homogeneidade do grupo, conhecimento da sua fisiologia e anatomia, idade cronológica, peso, sexo, linhagem e disponibilidade no centro de pesquisa.

Neste trabalho, o animal experimental escolhido foi o rato, da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*), provenientes do Centro de Bioterismo - CEMIB da Universidade Estadual de Campinas credenciado pelo ICLAS - *International Council for Laboratory Animal Science*.

Os procedimentos anestésicos e cirúrgicos realizados nos ratos foram efetuados com pouca dificuldade. A manutenção do plano de anestesia durante o ato operatório foi

bastante satisfatória pela preservação da seringa contendo a substância anestésica em via venosa caudal.

Os ratos foram submetidos aos procedimentos cirúrgicos sem período prévio de jejum e sem realização de preparo de cólon. As fezes encontradas na área da feitura da anastomose, foram deslocadas cuidadosamente para a região distal. Com essa manobra, não se permitiu o contato do material fecal com estruturas da cavidade abdominal, após a secção transversal do cólon.

Todos os espécimes antes de serem submetidos aos testes biomecânicos eram imergidos, por um tempo constante, na solução contendo cloridrato de papaverina. A finalidade desse procedimento era diminuir o espasmo intestinal originado após o manuseio, minimizando assim, as interferências desse atributo nos resultados obtidos (GOTTRUP, 1980; NARESSE, 1990; WU, 2000).

### **6.3. AVALIAÇÃO DO MATERIAL POLIVINILCLORETO (PVC)**

Verifica-se na prática cirúrgica a presença de um fenômeno que se origina conjuntamente com a evolução do processo de cicatrização das anastomoses intestinais, a formação de aderências. Essas estruturas podem modificar o curso fisiológico de reparação tecidual da linha de sutura (JOHNSON e WHITTING, 1962; BUCKMAN et al., 1976; ELLIS, 1982; WU, 2000).

Portanto, quando o foco de estudo não for a ação das aderências sobre anastomoses, os resultados obtidos são mais precisos se não ocorresse a formação dessas estruturas na ferida cirúrgica (WU et al., 2003).

Diversos métodos foram aplicados com a finalidade de impedir o desenvolvimento de aderências abdominais e podem ser representados pela utilização de substâncias anticoagulantes em cavidade peritoneal, tal qual a heparina (MAGYAR et al., 1985), pela eliminação mecânica da fibrina por meio de lavagem e uso de enzimas proteolíticas na cavidade abdominal (JACQMAIN e SHUMACKER, 1962), pela aplicação da boa técnica operatória (LIMJOCO, 1974) e pela separação de superfícies por meio do uso de materiais naturais ou sintéticos (RUSCA et al., 1969; ELLIS, 1971; ELLIS, 1982; CHRISTEN e BUCKMAN, 1991; BECKER et al., 1996; GARCIA-ÖLMO et al., 1996).

Neste trabalho, utilizou-se o método separação de superfícies e a barreira imposta para proteger a anastomose das estruturas intra-abdominais foi uma película de polivinilcloro. Esse material é amplamente usado na produção de recipientes de solução fisiológica e de irrigação urológica.

Desde 1996, esse recipiente é bastante utilizado em cirurgias de emergência para contenção do quadro de síndrome compartimental do abdômen pós-trauma e, durante o pós-operatório, possui propriedade de não aderir em alças intestinais e nem em outros órgãos intra-cavitários. Com essa finalidade, a tela de PVC foi utilizada pela primeira vez por Londoni, na Colômbia, e recebe o nome de “Bolsa de Bogotá” (BURCH et al., 1996).

Em virtude dessas propriedades, esse material foi testado em estudo piloto no Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da UNICAMP. No quinto dia de pós-operatório, os resultados histológicos obtidos do grupo SHAM foram confrontados com os do grupo que utilizou a película de polivinilcloro, que encontrava-se repousada sobre o cólon descendente.

As análises histológicas constataram que as características das paredes dos cólons descendentes dos ratos foram similares nos dois grupos. Após esses resultados, a película de PVC foi considerada apta para desempenhar a função de separação de superfície entre a anastomose cólica com o resto das estruturas da cavidade peritoneal.

WU (2000) verificou, por meio de estudos biomecânicos, o efeito das aderências sobre a anastomose em cólon descendente de ratos. Um dos grupos foi analisado com aderências formadas sobre as anastomoses (Grupo 1), enquanto que no outro, as aderências foram removidas da linha de sutura antes de serem submetidas aos testes biomecânicos (Grupo 2), e por final, no terceiro grupo, os segmentos de cólon não apresentavam aderências sobre a anastomose decorrente da proteção proporcionada pela película de PVC (Grupo 3). Submetendo esses grupos aos testes pressão de ruptura à distensão por líquido, força de ruptura à tração e tensão resultante final de ruptura à tração, verificaram-se os seguintes resultados: o Grupo 1 apresentou resistência mecânica superior ao Grupo 2 e esse ao Grupo 3. Esse fato demonstrou que a formação de aderências nas linhas de sutura interferiu nos resultados do estudo. Além disso, a retirada das aderências já formadas nas anastomoses, antes do espécime ser submetido aos testes biomecânicos, tem de ser realizada com cautela. Esse procedimento interfere na resistência mecânica da linha de sutura, pois, por mais cuidadosa que seja a técnica empregada de remoção, micro-traumas poderão ocorrer nesse local.

Neste trabalho, utilizou-se em todos os animais, proteção da linha de sutura por meio da película de polivinilcloro. Desse modo, retirou-se um dos fatores que mais interfere no processo de cicatrização intestinal, a presença de aderências sobre anastomose.

Com isso, o reparo tecidual das linhas de sutura tornou-se mais homogêneo, repercutindo assim, positivamente na precisão dos resultados alcançados.

#### **6.4. AVALIAÇÃO DA INTEGRIDADE E DA RESISTÊNCIA DA ANASTOMOSE CÓLICA**

Um dos aspectos mais temidos em cirurgia Colo-Proctológica consiste em interferências negativas durante a cicatrização da anastomose, pois, essas alterações podem reduzir a resistência mecânica da linha de sutura, originando complicações graves como as deiscências (GOLIGHER et al., 1970; HENDRICKS e MASTBOOM, 1990; SANTOS JUNIOR, 1998).

Em virtude desses eventos, diversos parâmetros e modelos experimentais foram desenvolvidos com a finalidade de avaliar e analisar os mecanismos e propriedades pertencentes à cicatrização cólica, contribuindo desse modo, para a aquisição de maior quantidade de conhecimentos referentes a esse processo.

Independentemente do método aplicado, todos os testes são passíveis de críticas. Sendo assim, uma das características fundamentais durante o desenvolvimento de modelo experimental é tentar minimizar as variáveis que possam interferir na obtenção de resultados mais precisos e completos.

Neste trabalho, baseado no Princípio Universal da Conservação de Energia, propôs-se o teste biomecânico Energia Total de Ruptura (ETR) com o intuito de medir a resistência intrínseca da anastomose em cólon descendente de rato. Esse teste possibilitou a reprodução integral do comportamento do espécime contendo a linha de sutura após a imposição de uma força axial externa de tração e variável com o tempo.

O método foi desenvolvido em parceria pelos Serviços de Colo-Proctologia do Departamento de Cirurgia da Universidade Estadual de Campinas e Laboratório de Bioinformática - LABI da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Foz do Iguaçu.

Durante o desenvolvimento do teste biomecânico Energia Total de Ruptura, alguns conceitos e dispositivos foram modificados com o objetivo de minimizar variáveis que poderiam interferir na precisão dos resultados.

Um dos aspectos analisados foi a maneira de fixação das extremidades da alça intestinal no sistema de tração.

Freqüentemente, os espécimes são presos em sistema de tração por meio de garras ou prensas universais. Esses dispositivos, além de poderem danificar a estrutura da parede do intestino, promovem distribuição desigual da força aplicada na anastomose. Esse fato ocorre quando as prensas não são posicionadas paralelamente em relação à linha de sutura (HENDRICKS e MASTBOOM, 1990; APRILLI, 1998).

Para contornar esses efeitos indesejáveis, no teste biomecânico ETR, as extremidades dos segmentos de cólon foram amarradas em canhões de cateter nº 18, respeitando a sua morfologia cilíndrica.

Antes de iniciarem os testes, preencheu-se os componentes pertencentes ao sistema com solução fisiológica. Por meio desse procedimento, a morfologia tubular da alça foi preservada durante a tração e a pressão gerada no interior desse sistema de vasos comunicantes distribuiu-se de forma homogênea, como rege o Princípio de Pascal (WU, 2000). Além disso, a presença desse líquido dentro do sistema proporciona, com exatidão, o momento de ruptura da anastomose, pois, o gráfico da pressão originado pós-tração e monitorada pelo polígrafo, sofre queda abrupta no instante do rompimento da anastomose.

Os testes biomecânicos utilizam, freqüentemente, ensaios uniaxiais (CARRIL, 1970; JIBORN et al., 1978a; NARESSE, 1990; SOUZA et al., 1991; MARTINS JUNIOR et al., 1992; CHRISTENSEN et al., 1993; AMARAL, 1997; GARCIA et al., 1998) e biaxiais (GARCIA-ÖLMO et al, 1996; WU, 2000) para a verificação da resistência mecânica da anastomose. Desse modo, o comportamento físico-mecânico da alça é parcialmente analisado e atributos essenciais pertencentes aos materiais viscoelásticos, tais como deformação, tempo de ruptura e módulo de elasticidade não são colocados sob prova.

A parede do cólon é uma estrutura biológica complexa, constituída principalmente por água, matriz extracelular e tecidos de sustentação, vascular e muscular liso (THORNTON e BARBUL, 1997; WITTE e BARBUL, 1997). As unidades estruturais desses componentes interagem entre si por meio de ligações atômicas, moleculares, intermoleculares, intercelulares, para no final, originar a cito-arquitetura intestinal.

Sendo assim, quando o segmento de alça é submetido à tração por meio de uma força axial externa variável com o tempo, em cada instante, essa força é distribuída para as unidades estruturais constituintes, incidindo nas respectivas interações bioquímicas. Com isso, a resistência intrínseca do espécime não poderia ser representada por uma ou outra força, mas sim, pela resultante das forças aplicadas por unidade de tempo ou alongação. Essa grandeza equivale à energia total acumulada no corpo de prova durante o ensaio mecânico até o momento de ruptura.

Testes biomecânicos baseados na Energia Interna de Deformação (EID) foram utilizados anteriormente por diversos pesquisadores e estão fundamentados no conceito da mecânica do meio contínuo (FUNG, 1967; SOONG e HUANG, 1973; LANIR, 1983; NIERI, 1999).

Nesses trabalhos, a energia era calculada dentro do intervalo elástico da função Força x Deformação ou Tensão x Deformação (FUNG, 1967; FORRESTER, 1973; NIERI, 1999). Esse intervalo corresponde à distância entre o ponto inicial da curva da função até o limite de proporcionalidade (POPOV, 1978). Com isso, a avaliação do material biológico era feita parcialmente, pois, o comportamento adquirido pelo espécime após o limite de proporcionalidade até o momento de ruptura não era analisado.

Na prática cirúrgica em Colo-Proctologia, as maiores complicações operatórias são decorrentes da quebra de integridade da parede ou da linha de sutura, proporcionando assim, o extravasamento do conteúdo fecal.

Sob essa premissa, acredita-se que a Energia Total de Ruptura obtida por meio do teste biomecânico ETR, representaria melhor o comportamento real e integral da resistência mecânica do segmento de cólon contendo a anastomose, já que a análise da função Força x Elongação foi realizada até o momento exato de ruptura.

A Energia Interna de Deformação é obtida por meio da área delimitada pela curva da função Tensão x Deformação. No entanto, para determinar o atributo tensão, é necessário o cálculo da área de secção transversal do cólon no instante de seu rompimento (NASH, 1982; HENDRICKS e MASTBOOM, 1990; APRILLI, 1998).

A obtenção exata desse valor é extremamente difícil, pois as alças cólicas apresentam morfologia tubular e, a rigor, pertencem a classe de materiais com propriedade viscoelástica não linear (DAL FABRO, 1979). Com isso, quando o segmento de intestino é submetido à imposição de uma força axial externa de tração, origina-se um fenômeno denominado "fenômeno de constrição" nesse material biológico, ou seja, a espessura da parede na região de secção transversal sofre estreitamento, alterando assim, o valor da área

a cada instante de aplicação da força (POPOV, 1978). Além disso, acredita-se que a constante de elasticidade do espécime também se modifica com a ação dessa força axial, pois, a cada momento de tração, microrupturas e modificações da disposição celular e fibrilar ocorrem na estrutura da parede intestinal.

Outra análise realizada nesse trabalho foi a avaliação da deformação sofrida pelo espécime após aplicação da força axial externa. Esse atributo é definido como alongamento do corpo de prova por unidade de comprimento (POPOV, 1978; NASH, 1982).

A deformação é amplamente utilizada para compor o eixo das abscissas em ensaios de energia e apresenta-se com unidade adimensional e frequentemente referida em cm/cm, mm/mm ou por meio de porcentagem (TIMOSHENKO e GOODIER, 1970; POPOV, 1978; NASH, 1982).

No método Energia Total de Ruptura, para compor a abscissa da função, utilizou-se o atributo alongação ( $l$ ) do segmento de cólon, substituindo assim, a deformação do material, pois, os comprimentos iniciais ( $l_0$ ) dos espécimes eram semelhantes e apresentavam extensão de um centímetro e meio.

Desse modo, por meio do aplicativo SABI, os valores da alongação eram captados, com média de aquisição de três dados por segundo, do início do ensaio biomecânico até o momento de ruptura da anastomose (MACHADO et al., 2002). Com isso, definiu-se o atributo alongação final.

O comportamento da alça intestinal está diretamente relacionado ao fator tempo pois, esse material biológico, apresenta-se com propriedade viscoelástica. Sendo assim, se a velocidade de tração para um mesmo espécime for modificada, energias resultantes obtidas

serão diferentes (POPOV, 1978; NIERI, 1999). Sendo assim, os segmentos de cólon desse trabalho foram submetidos aos ensaios ETR com velocidade de tração axial constante.

Fundamentado no Princípio Universal da Conservação de Energia e respeitando os conceitos e propriedades inerentes à estrutura intestinal, concebeu-se o teste biomecânico Energia Total de Ruptura.

Baseado nesse princípio, quando uma força axial externa é aplicada sobre o corpo de prova, a energia empregada realiza um trabalho que se iguala à energia interna acumulada, adicionada às perdas energéticas oriundas do atrito, da temperatura, do som e da luz. No entanto, essas perdas energéticas já estavam inseridas no cálculo da Energia Total de Ruptura, pois, a força externa variável imposta pelo sistema de tração apresentava-se como força resultante.

Em razão disso, o trabalho realizado por meio da aplicação de uma força axial externa sobre o segmento de cólon descendente de rato, foi equivalente à Energia Total de Ruptura acumulada para promover o rompimento da anastomose, e pôde ser representada pela equação abaixo:

$$ETR = \int_{l_0}^l (FT) \cdot dl$$

Sendo que:

$l$  = alongação máxima

$l_0$  = comprimento inicial

FT = força máxima de ruptura à tração

Com essas análises, o teste biomecânico Energia Total de Ruptura avaliou integralmente o comportamento do segmento de alça cólica, alcançando assim, resultados mais completos e precisos.

### **6.5. SISTEMA DE AQUISIÇÃO E ANÁLISE DE DADOS BIOMECÂNICOS – SABI**

Para que o teste de resistência Energia Total de Ruptura pudesse avaliar maior quantidade de atributos e propriedades da alça cólica, foi implementado um sistema de aquisição e análise de dados biomecânicos denominado SABI (MACHADO et al., 2002 e VOLTOLINI et al., 2003).

Esse aplicativo foi desenvolvido baseado nos conceitos da Engenharia de Software utilizando o paradigma orientado ao objeto (PRESSMAN, 2002). Com isso, requisitos fundamentais, tais como: leiaute, interface homem-computador, armazenamento, recuperação, segurança e integridade dos dados foram levados em consideração durante a implementação.

A utilização desses conceitos teve por finalidade produzir um sistema de qualidade e de fácil utilização, alcançando assim, a credibilidade dos pesquisadores da área médica. Além disso, o SABI, por meio de seus subsistemas, foi capaz de captar, interpretar e analisar os dados extraídos dos espécimes durante os ensaios biomecânicos.

Esses dados gerados pela célula de carga eram, em tempo real, delineados na tela do computador por uma curva pertencente à função Força x Elongação e, aplicando-se o método de integração numérica Regra do Trapézio, o SABI determinou a área sob essa curva (SWOKOWSKI, 1994). O valor obtido dessa área representou a energia total

acumulada no espécime para promover o rompimento do segmento de cólon contendo a anastomose (TIMOSHENKO e GOODIER, 1970; POPOV, 1978).

A capacidade de aquisição de dados do SABI é variável, pois depende exclusivamente das características da balança de precisão na qual a célula de carga está inserida.

Neste trabalho, o dispositivo de carga era capaz de enviar uma média de três dados por segundo. Com essa velocidade de emissão e captação, a precisão do experimento apresentou-se eficiente e satisfatória, alcançando os objetivos determinados.

#### **6.6. MODELO EXPERIMENTAL DE ISQUEMIA INDUZIDA EM CÓLON DESCENDENTE**

Os modelos de isquemia induzida apresentados na literatura realizavam, com frequência, alterações do fluxo sanguíneo por meio de bloqueios das artérias retas do segmento de intestino estudado e em extensão equidistante de dois centímetros da linha de sutura (KIRK e IRVIN, 1977; COHEN et al., 1985; FOSTER et al., 1985; VAN der HAM et al., 1992; ADAMS et al., 1992; HAMZAOGLU et al., 1998).

Neste trabalho, durante a padronização da isquemia, repetiu-se num estudo piloto o modelo experimental anteriormente descrito. No quarto dia de pós-operatório, os resultados demonstraram que os segmentos de alça descendente de ratos apresentavam boa vitalidade e sem alterações macroscópicas visíveis.

Acredita-se que esse fato era decorrente da circulação colateral exuberante encontrada na parede do cólon desses animais, promovendo assim, a suficiência para o restabelecimento do fluxo sanguíneo desse segmento de alça.

Em virtude disso, tentou-se estabelecer um modelo com maior intensidade de isquemia, cuja finalidade era alcançar resultados mais evidentes em relação aos efeitos da ação de diferentes concentrações de oxigênio no processo de reparo tecidual da anastomose cólica.

O cólon descendente do rato é irrigado por três sistemas arteriais, sendo representados pelas artérias cólica média, cólica direita e retal.

Neste trabalho, a isquemia foi induzida no cólon descendente, interrompendo-se o fluxo sanguíneo arterial e venoso da arcada marginal ao nível da reflexão peritoneal e a quatro centímetros acima dessa localização, com a anastomose situada na região média. Além disso, realizou-se também ligadura do tronco da artéria mesentérica caudal, interrompendo os principais vasos sanguíneos responsáveis pela irrigação do cólon descendente. Após o fechamento desse "circuito vascular", o fluxo sanguíneo se fazia pelos vasos intramurais da alça cólica.

Com esses procedimentos, o modelo de isquemia induzida alcançou mortalidade de 30% em 15 ratos, sendo que, todos os óbitos ocorreram no terceiro dia de pós-operatório.

Na necropsia, constatou-se deiscências nas linhas de anastomose, dilatação a montante com áreas sugestivas de necrose tecidual em região anastomótica e peri-anastomótica.

Nos animais sobreviventes, a eutanásia foi realizada no quarto dia de pós-operatório. Com a abertura do abdômen, observou-se presença de líquido em cavidade e áreas com características macroscópicas de gangrena em região anastomótica.

A elevada taxa de mortalidade adicionada às alterações sugestivas de necrose encontradas nas paredes das alças, confirmaram a gravidade da isquemia instalada pelo modelo experimental e com isso, os objetivos propostos foram alcançados.

#### **6.7. O EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE OXIGÊNIO NA CICATRIZAÇÃO DA ANASTOMOSE CÓLICA**

Uma das causas que mais interfere negativamente no processo de cicatrização é a oferta inadequada de oxigênio à ferida cirúrgica (HUNT e PAI, 1972; FIELDING, et al., 1980; KHOURY e WAXMAN, 1983; FOSTER, et al., 1985; VAN der HAM et al., 1992; HIRN, 1993; TOMPACH et al., 1997; HAMZAOGLU et al., 1998).

Esse elemento químico participa das etapas pertencentes ao processo de respiração aeróbica e é componente essencial na produção de energia para manter a homeostase celular (LENNINGER, 1977 e WRIGHT, 2002). Desse modo, fenômenos fundamentais de reparo tecidual intestinal, tais como síntese de colágeno, ativação de células de defesa, controle da flora bacteriana, angiogênese e redução de formação dos radicais livres, serão mantidos (KNIGHTON et al., 1986; MARX et al., 1990; ZAMBONI et al., 1993; CAPRIA, 2002).

Neste trabalho, analisaram-se os efeitos de diferentes concentrações de oxigênio em anastomoses de cólon de rato, comprometidas ou não por isquemia arterial e venosa induzida. Essas avaliações foram realizadas no quarto dia de pós-operatório, período esse, considerado crítico no curso do restabelecimento da linha de sutura.

Os animais do subgrupo controle 1.1 (ar ambiente e ausência de isquemia induzida) apresentaram boa cicatrização e uniformidade nas anastomoses, alcançando média da

Energia Total de Ruptura de 12553 gf . cm. Quando confrontou-se esse resultado com o obtido do subgrupo 1.2 (oxigênio a 100% e ausência de isquemia induzida) (ETR =14352,7 gf . cm), não foi encontrada diferença estatística entre esses dois subgrupos para p-valor = 0,7914.

Tomando-se a média dos resultados do subgrupo 2.1 (ar ambiente e presença de isquemia induzida) (ETR = 2932,65 gf . cm) e comparado com a média da Energia Total de Ruptura obtida no subgrupo 2.2 (oxigênio a 100% e presença de isquemia induzida) (ETR = 2909,71 gf . cm), também não se obteve diferença estatística (p-valor = 0,87).

Sabe-se que quando organismos hígidos inalam ar ambiente, a saturação de oxigênio na hemoglobina encontra-se em torno de 97% e a fração dissolvida dessa molécula no plasma é de cerca de 0,32 ml em 100 ml de sangue arterial (MARX et al, 1990; IAZZETTI, 1996).

Durante sessões com inalação de oxigênio a 100% e condições pressóricas de uma atmosfera absoluta, ocorre elevação de 0,32 ml para 2,09 ml de oxigênio em 100 ml de sangue arterial. Isto representa praticamente um aumento de 6,6 vezes na fração de oxigênio dissolvida fisicamente no plasma (GRIM et al., 1990; HIRN, 1993; TIBBLES e EDELSBERG, 1996).

Sendo assim, apesar dos ratos dos subgrupos 1.2 e 2.2 terem inalado maiores quantidades de oxigênio em relação aos animais pertencentes aos subgrupos 1.1 e 2.1, acredita-se que a elevação da fração dissolvida dessa molécula no plasma, e conseqüentemente, na área cicatrizante, não foi suficiente para favorecer a cicatrização em anastomose comprometida ou não pela isquemia, já que, em ambas situações, não ocorreram aumentos significativos das resistências mecânicas nas linhas de sutura.

KIRK e IRVIN (1977), em estudo, alcançaram resultados semelhantes, apesar das diferenças metodológicas empregadas. Esses pesquisadores analisaram a resistência intrínseca da derme e da anastomose cólica em ratos expostos ao oxigênio a 50%, comprometidas ou não pela isquemia. Para avaliar o processo de cicatrização, utilizou-se dos testes força de ruptura à tração, tensão de explosão e quantificação de colágeno. Os resultados obtidos nessa pesquisa demonstraram que essa concentração de oxigênio não contribuiu para a elevação da resistibilidade mecânica na linha de sutura.

No entanto, quando os animais do subgrupo 1.3 foram submetidos à sessão diária de hiperóxia hiperbárica a duas atmosferas absolutas e com duração de 90 minutos, exigiu-se maior energia para promover o rompimento das anastomoses, alcançando a média mais alta da ETR no Grupo 1 (21809 gf . cm). A diferença entre os resultados desse subgrupo em relação aos obtidos nos subgrupos 1.1 e 1.2, foi estatisticamente significativa para p-valor = 0,0018 e p-valor = 0,0142, respectivamente.

No subgrupo 2.3 utilizou-se o mesmo protocolo terapêutico de hiperóxia hiperbárica em relação ao subgrupo 1.3 (Grupo 1) e obteve-se o valor mais elevado da Energia Total de Ruptura no Grupo 2 (presença de isquemia induzida) (14886,78 gf . cm). A diferença entre sua média em relação às médias dos subgrupos 2.1 e 2.2, foi estatisticamente significativa para p-valor = 0,0057 e p-valor = 0,0044, respectivamente. Além disso, eram notórias as diferenças das características macroscópicas das anastomoses encontradas no subgrupo 2.3 em relação as dos subgrupos 2.1 e 2.2. Nesse subgrupo, o 2.3, não foram observadas áreas sugestivas de necrose tecidual e nem deiscências, características essas, presentes nos subgrupos 2.1 e 2.2.

Uma outra característica interessante nos resultados foi proporcionada quando comparou-se a média da ETR do subgrupo 2.3 (hiperóxia hiperbárica e presença de isquemia induzida) com a média do subgrupo controle 1.1 (ar ambiente e ausência isquemia induzida). Esses dois subgrupos não apresentaram diferença estatística para  $p$ -valor = 0,1533.

Esse resultado demonstrou que a hiperóxia hiperbárica auxiliou efetivamente no processo de reparo de tecido cólico, pois, foi capaz de elevar a resistência intrínseca da anastomose comprometida pela isquemia aos valores similares encontrados no subgrupo controle 1.1.

Durante sessões de hiperoxigenação hiperbárica a duas atmosferas absolutas, a hemoglobina encontra-se praticamente 100% saturada. Essa saturação é igual ou próxima das encontradas nos organismos que inalam oxigênio à 100% ou ar ambiente. No entanto, a fração desse elemento químico dissolvido no plasma alcança valores de 4,56 mililitros em 100 mililitros de sangue arterial (IAZZETTI, 1992; HIRN, 1993; TIBBLES e EDELSBERG, 1996). Essa quantidade de oxigênio representa aproximadamente 15 vezes o valor da fração dissolvida dessa molécula encontrado em organismos que inalam ar ambiente e, acima de duas vezes, em organismos que inalam oxigênio a 100%, a uma atmosfera absoluta.

HAMZAOGLU et al. (1998) demonstraram em estudo, os efeitos da hiperóxia hiperbárica em anastomose cólica com e sem isquemia induzida. Para a realização das análises, utilizaram parâmetros biomecânicos e bioquímicos, representados pela pressão de explosão e dosagem de hidroxiprolina, respectivamente. Os resultados obtidos pelo teste pressão de explosão evidenciaram que a terapêutica por meio da hiperóxia hiperbárica

promoveu aumento da resistência mecânica da anastomose cólica de ratos com e sem presença de isquemia. Além disso, os animais submetidos ao tratamento com hiperóxia hiperbárica e isquemia, alcançaram valores similares àqueles encontrados no grupo controle (ausência de isquemia e ausência de hiperóxia hiperbárica). Esses resultados foram semelhantes aos alcançados neste trabalho, apesar das diferenças existentes entre as metodologias empregadas na indução de isquemia, no protocolo terapêutico e nos tipos de parâmetros utilizados para a análise da cicatrização.

Em se tratando do parâmetro bioquímico, HAMZAOGLU et al. (1998) demonstraram que a terapêutica por hiperóxia hiperbárica não foi capaz de elevar a quantidade de hidroxiprolina em anastomoses comprometidas pela isquemia, apesar da elevação da resistência mecânica intrínseca dessa estrutura.

Esse resultado foi fundamental, pois infere que a produção e a deposição do colágeno não podem ser consideradas sinônimo de reparo tecidual, mas sim, parte desse processo biológico (HUNT e PAI, 1972). Além disso, o colágeno depositado nas anastomoses não depende somente da sua quantidade, mas também, da qualidade desse material protéico (HENDRICKS e MASTBOOM, 1990; WITTE e BARBUL, 1997; MAST, 1997; APRILLI, 1998).

Vale ressaltar que, para ocorrer boa cicatrização em linha de sutura, um conjunto de eventos tais como síntese de colágeno, ativação de células de defesa, controle da flora bacteriana, angiogênese, redução de formação dos radicais livres, liberação de citocinas e fatores de crescimento, precisam estar funcionando harmoniosamente, e em todos esses fenômenos, é necessária quantidade apropriada de oxigênio (KNIGHTON et al., 1986; MARX et al., 1990; ZAMBONI et al., 1993; CAPRIA, 2002).

Diversos estudos demonstraram os efeitos negativos proporcionados pela diminuição da oferta de oxigênio nas fases de restabelecimento do tecido intestinal (FOSTER et al., 1985; SHERIDAN, et al., 1987; THORNTON et al., 1997; WITTE e BARBUL, 1997; SAVASSI-ROCHA et al., 2002). Em contrapartida, existe quantidade bastante limitada de trabalhos com temas direcionados especificamente para a análise dos efeitos da concentração do oxigênio acima das encontradas no ar ambiente, durante o processo de cicatrização desse órgão (KIRK e IRVIN, 1977 e HAMZAOGLU et al., 1998).

Sendo assim, as diferenças metodológicas fazem com que os resultados deste trabalho sejam de difícil confrontação com os alcançados por outros estudos. No entanto, por meio dos resultados obtidos, constatou-se que oxigênio é requisito vital na reparação tecidual cólica e que a hiperóxia hiperbárica torna adequada a oferta dessa molécula na área cicatrizante, mantendo a homeostase local. Desse modo, essa terapêutica interveio efetivamente no processo de cicatrização primária em cólon descendente de rato, comprometida ou não pela presença da isquemia, aumentando assim, a sua resistibilidade mecânica.



## **7. CONCLUSÕES**



As avaliações e análises obtidas dos resultados deste trabalho permitiram as seguintes conclusões:

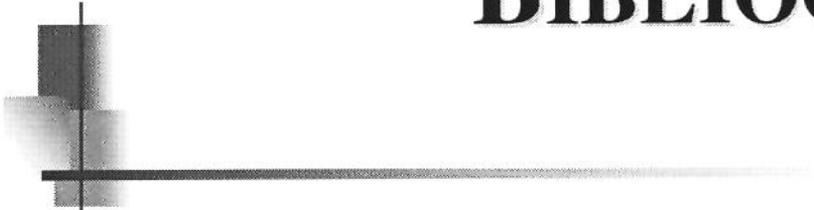
1. A isquemia arterial e venosa influenciou negativamente na cicatrização cólica, reduzindo a resistência intrínseca da anastomose aumentando a taxa de mortalidade;

2. O protocolo terapêutico aplicado de hiperóxia hiperbárica apresentou efeitos benéficos durante a fase inicial da cicatrização em cólon descendente de ratos, comprometido ou não pela isquemia elevando a resistência intrínseca da anastomose e

3. O protocolo terapêutico aplicado de hiperóxia normobárica não apresentou efeitos benéficos durante a fase inicial da cicatrização em cólon descendente de ratos, comprometido ou não pela isquemia.



## **8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**



- ABERG, A.K.G.; AXELSSON, J. Some mechanical aspects of a intestinal smooth muscle. **Acta Physiol Scand**, 64: 15-27, 1965.
- ABRAMOWITZ, H.B.; McALISTER, W.H. A comparative study of small-bowell anastomoses by angiography and microangiography. **Surgery**, 66: 564-569, 1969.
- ADAMS, W.; CTERCTEKO, G.; BILOUS, M. Effect of an omental wrap on the healing and vascularity of compromised intestinal anastomoses. **Dis Colon Rectum**, 35: 731-738, 1992.
- AKIN, M.L.; ERENOGLU, C.; DAL, A.; ERDEMOGLU, A.; ELBUKEN, E.; BATKIN, A. Hyperbaric oxygen prevent bacterial translocation in rats with obstructive jaundice. **Dig Dis Sci**, 46(8): 1657-62, 2001.
- AKIN, M.L.; ULUUTKU, H.; ERENOGLU, C.; ILICAK, E.N.; ELBUKEN, E.; ERDEMOGLU, A. et al. Oxygen ameliorates bacterial translocation in rats with mechanical intestinal obstruction. **Dis Colon Rectum**, 45(7): 967-972, 2002.
- AMARAL, C.A.R. **Estudo comparativo entre anastomoses realizadas com sutura manual e com a técnica de compressão sem sutura com anel biofragmentável: trabalho experimental em cães**. Campinas, 1997. (Dissertação - Mestrado – Universidade Estadual de Campinas).
- APRILLI, F.; GUIMARÃES, A.S.; ROCHA, J.J.R. Anastomoses intestinais. In: SILVA JÚNIOR., O.C. **Modelos experimentais de pesquisa em cirurgia**. 1ª edição. São Paulo: Robe editorial, 1998.
- BAKER, C.C.; CHAUDRY, I.H.; GAINES, H.O.; BAUE, A.E. Evaluation of factors affecting mortality rate after sepsis in murine cecal ligation and puncture model. **Surgery**, 94: 331-335, 1983.
- BASKIN, F.E.; VOZNIAK, R.L. Hyperbaric oxygen in the treatment of hemodialysis associated air embolism. **N Engl J Med**, 293: 184-185, 1975.

- BASSETT, B.E.; BENNETT, P.B. Introduction to the physical and physiological bases of hyperbaric therapy. In: DAVIS, J.C. **Hyperbaric oxygen therapy**. Maryland: Undersea medical society, 1977. p. 11-24.
- BECKER, J.M.; DAYTON, M.T.; FAZIO, V.W. Prevention of postoperative abdominal adhesions by a sodium hyaluronate-based bioresorbable membrane: a prospective, randomized, double-blind multicenter study. **J Am Coll Surg**, 183: 287-306, 1996.
- BEER, F. P.; JOHNSTON JUNIOR, E.R. **Mecânica vetorial para engenheiros**. 3ª edição, São Paulo: McGrall-Hill, 1980.
- BIONDO-SIMÕES, M.L.P.; KOPPE, G.L.; HANSELL, H.; RASÁRIO, M.A.K.; MALAFAIA, O. Uso de adesivo biológico em anastomoses intestinais. Estudo experimental em cães. **Acta Cir Bras**, 7: 151-153, 1992.
- BLOMQUIST, P.; JIBORN, H.; ZEDERFELT, B. The effect of relative bowel rest on healing of colonic anastomoses: breaking strength and collagen in the colonic wall following left colon resection and anastomosis in the rat. **Acta Chir Scand**, 150: 671-675, 1984.
- BOEREMA, I.; MEYNE, N.G.; BRUMMELKAMP, W.H.; BROWMA, S.; MENSCH, M.H.; KAMERMANS, F. et al. Life without blood: a study of the influence of high atmospheric pressure and hypothermia on dilution of blood. **J Cardovasc Surg**, 1: 133-146, 1960.
- BRENNAM, S.S.; FOSTER, M.E.; MORGAN, A.; LEAPER, D.J. Prostaglandins in colonic anastomotic healing. **Dis Colon Rectum**, 27: 723-725, 1984.
- BRITO, M.V.H.; KOH, I.H.J.; LAMARÃO, L.G.; DAMOUS, S.H.B. Efeito do choque hipovolêmico na anastomose do intestino delgado de ratos. **Arq Gastroenterol**, 38(2): 116-124, 2001.
- BRUMMELKAMP, W.H.; HOOGENDUK, J.L.; BOEREMA, I. Treatment of anaerobic infections by drenching the tissues with oxygen under high atmospheric pressure. **Surgery**, 149: 299-302, 1961.

- BUCKMAN, R.F.; WOODS, M.; SARGENT, L.; GERVIN, A.S. Unifying pathogenetic mechanism in the etiology of intraperitoneal adhesions. **J Surg Res**, 20: 1-5, 1976.
- BURCH, J.M.; MOORE, E.E.; MOORE, F.A.; FRANCIOSE, R. The abdominal compartment syndrome. **Surg Clin N Am**, 76: 833-842, 1996.
- CAPRIA, M. Hyperbaric physiology. Disponível em: <<http://www.oxytank.com/quanda.htm>> Acesso em: 7 de agosto, 2002.
- CARRIL, C.F. **Anastomoses intestinais: métodos invaginantes e métodos por aposição em mesmo alinhamento. Estudo experimental comparativo com apresentação de um processo original.** Ribeirão Preto, 1970. (Tese – Livre-Docência – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP).
- CHRISTEN, D.; BUCKMANN, R.F. Peritoneal Adhesions after Laparotomy: Prophylactic Mesures. **Hepato-Gastroenterol**, 38: 283-286, 1991.
- CHRISTENSEN, H.; LANGFELT, S.; LAURBERG, S. Bursting strength of experimental colonic anastomoses. A methodological study. **Eur Surg Res**, 25: 38-45, 1993.
- COHEN, S.R.; CORNELL, C.N.; COLLINS, M.H.; SELL, J.E.; BLANC, W.A.; ALTMAN, R.P. Healing of ischemic colonic anastomoses in the rat: Role of antibiotic preparation. **Surgery**, 97: 443-447, 1985.
- CONNEL, F.G. Intestinal suture. Some old, some not so old, and a new one. **Philadelph Month M J**, 1: 37, 1899.
- CRAPO, J.D.; TIERNEY, D.F. Superoxide dismutase and pulmonary oxygen toxicity. **Am J Physiol**, 226: 1401-1407, 1974.
- CRONIN, K.; JACKSON, D.S.; DUNPHY, J.E. Changing bursting strength and collagen content of the healing colon. **Surg Gynecol Obstet**, 126: 747-753, 1968.

- CUNDALL, J.D.; GARDINER, A.; LADEN, G.; GROUT, P.; DUTHIE, G.S. Use of hyperbaric oxygen to treat chronic anal fissure. **Br J Surg**, 90(4): 452-453, 2003.
- DAL FABRO, I.M. **Strain failure of apple material**. Michigan, 1979. (Dissertation - Ph.D. – Michigam State University).
- DAVIS, J.C.; DUNN, J.M.; HEIMBACH, R.D. Hyperbaric medicine: patient selection, treatment procedures, and side effects. In: DAVIS, J.C.; HUNT, T.K. **Problem wounds: the role of oxygen**. New York: Elsevier science publishing Co Inc, 1988. p. 225-235.
- DeCHERNEY, A.H.; DiZEREGA, G.S. Clinical problem of intraperitoneal postsurgical adhesion formation following general surgery and the use of adhesion prevention barriers. **Surg Clin N Am**, 77: 671-689, 1997.
- DEMELLO, F.J.; HAGLIN, J.J.; HITCHCOCK, C.R. Comparative study of experimental *Clostridium perfringens* infection in dog treated with antibiotics, surgery and hyperbaric oxygen. **Surgery**, 73: 936-941, 1973.
- DOBRIN, P.B. – Vascular mechanics. In: DOBRIN, P.B. - **The cardiovascular system. Handbook of physiology**. Maryland: American Physiology Society, 1983. vol. 3. p. 65-102.
- DOCKENDORF, B.L.; FRAZEE, R.C.; PETERSON, W.G.; MYERS, D. Treatment of acute intestinal ischemia with hyperbaric oxygen. **South Med J**, 86: 518-522, 1993.
- ELLIS, H. The cause and prevention of post-operative intraperitoneal adhesions. **Surg Gynecol Obstet**, 133: 497-511, 1971.
- ELLIS, H. The causes and prevention of intestinal adhesions. **Bri J Surg**, 69: 241-243, 1982.
- ESTERHAI JUNIOR, J.L.; PISARELLO, J.; BRIGHTON, C.T.; HEPPENSTALL, R.B.; GELLMAN, H.; GOLDSTEIN, G. Adjunctive hyperbaric oxygen therapy in the treatment of chronic refractory osteomyelitis. **J Trauma**, 27: 763-768, 1987.

- FACKLER, K.; KLEIN, L.; HILTNER, A. Polarizing light microscopy of intestine and its relationship to mechanical behaviour. **J Microscopy**, 124: 305-311, 1981.
- FAGUNDES, J.J. **Resultado do tratamento do câncer do terço médio do reto pela retocolectomia abdominoperineal com anastomose retardada**. Campinas, 1986. (Dissertação – Mestrado – Universidade Estadual de Campinas).
- FAGUNDES, J.J. **Estudo comparativo da cicatrização de anastomoses cólicas realizadas com auxílio do bisturi laser de dióxido de carbono: trabalho experimental em cães**. Campinas, 1990. (Tese – Doutorado – Universidade Estadual de Campinas).
- FISHER, B.; JAIN, K.K. Physical and physiological basis of hyperbaric oxygenation. In: **Handbook of hyperbaric oxygen therapy**. Berlin: Springer-Verlag, 1988.
- FIELDING, L.P.; STEWART-BROWN, S.; BLESOVSKY, L.; KEARNEY, G. Anastomotic integrity after operations for large bowel cancer: a multicenter study. **BMJ**, 281: 411-414, 1980.
- FORRESTER, J.C. Mechanical, biochemical, and architectural features of surgical repair. **Adv Biol Med Phys**, 14: 1-34, 1973.
- FORRESTER, D.W.; SPENCE, V.A.; WALKER, V.F. Colonic mucosal-submucosal blood flow and the incidence of faecal fistula formation following colostomy. **Br J Surg**, 68(8): 541-544, 1981.
- FOSTER, M.E.; LAYCOCK, J.R.; SILVER, I.A. Hypovolaemia and healing in colonic anastomosis. **Br J Surg**, 72: 831, 1985.
- FOSTER, M.E.; JOHSON, C.D.; BILLINGS, B.J.; DAVIES, P.W.; LEAPER, D.J. Intraoperative antegrade lavage and anastomotic healing in acute colonic obstruction. **Dis Colon Rectum**, 29: 255-259, 1986.
- FUNG, Y.C. Elasticity of soft tissues in simple elongation. **Am J Phys**, 213: 1532-1544, 1967.

- FUNG, Y.C. **Biomechanics – Mechanical properties of living tissues**. 2<sup>nd</sup> edition, New York: Springer-Verlag Inc, 1993.
- FURST, M.B.; STROMBERG, B.V.; BLATCHFORD, G.J.; CHRISTENSEN, M.A.; THORSON, A.G. Colonic anastomoses: bursting strength after corticosteroid treatment. **Dis Colon Rectum**, 37: 12-15, 1994.
- FYKE, F.E. III; KAZMIER, F.J.; HARMS, R.W. Venous air embolism: life threatening complication of orogenital sex during pregnancy. **Am J Med**, 78: 333-336, 1985.
- GARCIA, G.G.; CRIADO, F.J.G.; PERSONA, M.A.B.; ALONSO, A.G. Healing of colonic ischemic anastomoses in the rat: role of superoxide radicals. **Dis Colon Rectum**, 41: 892-895, 1998.
- GARCIA-ÖLMO, D.; LUCAS, F.J.; PAYA, J. Relationship between peritoneal adhesions phenomena and the experimental resistance of colonic anastomoses: Influence of Omentoplasty. **Eur Surg Res**, 28: 315-322, 1996.
- GOLIGHER, J.C.; GRAHAN, N.G.; DE DOMBAL, F.T.; JOHNSTON, D. A controlled trial of inverting versus everting intestinal suture in clinical large-bowel surgery. **Br J Surg**, 57: 817-822, 1970b.
- GOODSON, W.H.; HUNT, T.K. Wound healing in experimental diabetes mellitus: importance of early insulin therapy. **Surg Forum**, 29: 95-98, 1978.
- GOTTLIEB, S.F. Oxygen under pressure and microorganisms. In: DAVIS, J.C.; HUNT, T.K. **Hyperbaric oxygen therapy**. Maryland: Undersea medical society, 1970.
- GOTTRUP, F. Healing of incisional wounds in stomach and duodenum. A biomechanical study. **Am J Surg**, 140: 296-301, 1980.
- GOU, P.F. Strain energy function for biological tissue. **J Biomechanics**, 3: 547-550, 1970.

- GRIM, P.S.; GOTTLIEB, L.J.; BODDIE, A.; BATSON, E. Hyperbaric Oxygen therapy. **JAMA**, 263: 2216-2220, 1990.
- HAAPANIEMI, T.; NYLANDER, G.; SIRJÖ, A.; LARSSON, J. Hyperbaric oxygen reduces ischemia-induced skeletal muscle injury. **Plast Reconstr Surg**, 97: 602-607, 1996.
- HAMMARLUND, C.; SUNDBERG, T. Hyperbaric oxygen reduced size of chronic leg ulcers: a randomised double-blind study. **Plast Reconstr surg**, 47: 829-834, 1994.
- HAMZAOGLU, I.; KARAHASANOGLU, T.; AYDIN, S.; SAHIN, D.A.; ÇARKMAN, S.; SARIYAR, M. et al. The effects of hyperbaric oxygen on normal and ischemic colon anastomoses. **Am J Surg**, 176: 458-461, 1998.
- HART, G.B.; BROUSSARD, N.D.; GOODMAN, D.B.; YANDA, R.L. Treatment of burns with hyperbaric oxygen. **Surg Gynecol Obstet**, 139: 693-696, 1974.
- HART, G.B. HBO and exceptional blood loss anemia. In: KINDWALL, E.P. **Hyperbaric medicine practice**. Flagstaff, Ariz.: Best, 1994. p. 517-524.
- HAUKIPURO, K.A.; HULKKO, O.A.; ALAVAIKO, M.J.; LAITINEN, S.T.; Sutureless colon anastomosis with fibrin glue in the rat. **Dis Colon Rectum**, 31: 601-604, 1988.
- HAUT, R.C.; LITTLE, R.W. A constitutive equation for collagen fibers. **J Biomechanics**, 5: 423-430, 1972.
- HENDRICKS, T.; MASTBOOM, W.J.B. Healing of experimental intestinal anastomosis. Parameters for repairs. **Dis Colon Rectum**, 33: 891-901, 1990.
- HERNDON, D.N.; NGUYEN, T.T; GILPIN, D.A. Growth factors. Local and systemic. **Arch Surg**, 128: 1227, 1993.
- HERMANN, J.B.; WOODWARD, S.C.; PULASKI, E.J. Healing of colonic anastomoses in the rat. **Surg Gynecol Obstet**, 119: 169-175, 1964.

- HERSHEY, S.D.; LUCAS, C.E.; LEDGERWOOD, A.M.; CUSHING, R. Effects of antimicrobials on wound healing. **Surg Forum**, 33: 30-31, 1987.
- HESP, F.L.; HENDRICKS, T.; LUBBERS, E.J.; de BOER, H.H.M. Wound healing in the intestinal wall: a comparison between experimental ileal and colonic anastomoses. **Dis Colon Rectum**, 27: 99-104, 1984.
- HILL G.B.; OSTERHOUT, S. Experimental effects of hyperbaric oxygen on selected clostridial species, II: in vivo studies in mice. **J Infect Dis**, 125: 26-35, 1972.
- HILLAN, K.; NORDLINGER, B.; BALLEET, F.; PUTS, J.P.; INFANTE, R. The healing of colonic anastomoses after early intraperitoneal chemotherapy: na experimental in rats. **J Surg Res**, 44: 166-171, 1988.
- HIRN, M. Hyperbaric oxygen in the treatment of gas gangrene and perineal necrotizing faciitis. A clinical and experimental study. **Eur J Surg**, 570(Suppl.): 1-36, 1993.
- HIRN, M.; NIINIKOSKI, J.; LEHTONEN, O.P. Effect of hyperbaric oxygen and surgery on experimental multimicrobial gas gangrene. **Eur Surg Res**, 25(5): 265-269, 1993.
- HJORTRUP, A.; NORDKILD, P.; KJAERGAARD, J.; STONTOFT, E.; OLESEN, H.P. Fibrin adesive versus sutured anastomosis: a comparative intraindividual study in the small intestine of the pigs. **Br J Surg**, 73: 760-761, 1986.
- HOHN, D.C.; MACKAY, K; HALLIDAY, B.; HUNT, T.K. Effect of O<sub>2</sub> tension on microbicidal function of leucocytes in wounds and in vitro. **Surg Forum**, 27(62): 18-20, 1976.
- HOUDART, R.; LAVERGNE, A.; VALLEUR, P.; VILLET, R.; HAUTEFEVILLE, P. Vascular evolution of single-layer end on colonic anastomosis. A microangiographic study of 180 anastomoses in the rat from two to 180 days. **Dis Colon Rectum**, 28: 475-480, 1985.

- HUNT, T.K.; PAI, M.P. The effect of varying ambient oxygen tensions on wound metabolism and collagen synthesis. **Surg Gynecol Obstet**, 135: 561-567, 1972.
- HUNT, T.K.; LINSEY, M.; GRISLIS, H.; SONNE, M.; DUNPHY, J.E. The effect of differing ambient oxygen tensions on wound infections. **Ann Surg**, 181(1): 35-39, 1975.
- IAZZETTI, P.E. Hiperoxigenação hiperbárica. In : TERZI , R.G.G. – **Equilíbrio ácido-básico e transporte de oxigênio**. São Paulo: Manole, 1992. p. 180-204.
- IAZZETTI, P.E.; TERZI, R.G.G. Hipóxia e radicais ativados do oxigênio na sepsi. In: ROCHA e SILVA, M. **Choque – Clínicas Brasileiras de Medicina Intensiva**. São Paulo: Ateneu, 1996. p. 27-57.
- IAZZETTI, P.E. **Efeitos da hiperoxigenação hiperbárica na sepse por ligadura e punção cecal em ratos: aspectos microbiológicos, hematológicos e imunológicos**. Campinas, 1996. (Tese – Doutorado – Universidade Estadual de Campinas).
- INAMOTO, Y.; OKUNO, F.; SAITO, K.; TANAKA, Y.; WATANABE, K.; MORIMOTO, Y. et al. Effect of hyperbaric oxygenation on macrophage function in mice. **Biochem Biophys Res Comm**, 179: 886-891, 1991.
- IRVIN, T.T.; HUNT, T.K. - The effect of trauma on colonic healing. **Br J Surg**, 61: 430-436, 1974.
- JACQMAIN, R.L.; SHUMACKER, H.B. Effect of histadyl upon the prevention of peritoneal adhesions. **Am J Surg**, 104: 20-23, 1962.
- JIBORN, H.; AHONEN, J.; ZEDERFELDT, B. Healing of experimental colonic anastomoses. I. Bursting strength of the colon after left colon resection and anastomosis. **Am J Surg**, 136: 587-594, 1978a.

- JIBORN, H.; AHONEN, J.; ZEDERFELDT, B. Healing of experimental colonic anastomoses. II. Breaking strength of the colon after left colon resection and anastomosis. **Am J Surg**, 136: 595-599, 1978b.
- JIBORN, H.; AHONEN, J.; ZEDERFELDT, B. Healing of experimental colonic anastomosis- The effect of suture technic on collagen concentration in the colonic wall. **Am J Surg**, 135: 333-340, 1978c.
- JIBORN, H.; AHONEN, J.; ZEDERFELDT, B. Healing of experimental colonic anastomoses. III. Collagen metabolism in the colon after left colon resection. **Am J Surg**, 139: 398-405, 1980a.
- JOHNSON, F.R.; WHITTING, H.W. Repair of parietal peritoneum. **Br J Surg**, 49: 653-660, 1962.
- KAYE, D. Effect of hyperbaric oxygen on Clostridia *in vitro* and *in vivo*. **Proc Soc Exp Biol Med**, 124: 360-366, 1967.
- KERR, H.H. The development of intestinal surgery. **JAMA**, 81: 64, 1923.
- KHOURY, G.A.; WAXMANN, B.P. Large bowell anastomoses. I. The healing process and suture anastomoses. A review. **Br J Surg**, 70: 61-63, 1983.
- KIMBALL, R.E.; REDDY, K.; PIERCE, T.H.; SCHWARTZ, L.H.; MUSTAFA, G. Oxygen toxicity: aumengtation of antioxidant defense mechanism in rat lung. **Am J Physiol**, 230: 1425-1431, 1976.
- KIRK, D.; IRVIN, T.T. The role of the oxygen therapy in the healing of experimental skin wounds and colonic anastomosis. **Br J Surg** 64: 100-103, 1977.
- KIVISAARI, J.; NIINIKOSKI, J. Effects of hyperbaric oxygenation and prolonged hypoxia on the healing of open wounds. **Acta Chir Scand**, 141: 14-19, 1975.

- KLEBANOFF, D.R. Oxygen metabolism and the toxic properties of phagocytes. **Ann Intern Med**, 93: 480-489, 1980.
- KNIGHTON, D.R.; HALLIDAY, B.; HUNT, T.K. Oxygen as an antibiotic. **Arch Surg**, 121: 191-195, 1986.
- KOBAYASI, S.; MENDES, E.F. Estudo clínico prospectivo entre suturas contínuas, em plano único e em dois planos, em gastrojejunoanastomoses. **Rev Paul Med**, 100: 11-14, 1982.
- KORN, H.N.; WHEELER, E.S.; MILLER, T.A. Effect of hyperbaric oxygen on second-degree burn wound healing. **Arch Surg**, 112: 732-737, 1977.
- KORUDA, M.J.; ROLANDELLI, R.H. Experimental studies on the healing of colonic anastomosis. **J Surg Res**, 48: 504-515, 1990.
- LANIR, Y. Constitutive equations for fibrous connective tissues. **J Biomechanics**, 16(1): 1-12, 1983.
- LEITE, C.V.S.; NARESSE, L.E.; SAAD, L.H.C.; THOMAZINI, I.; BARRAVIEIRA, B.; KOBAYASI, S. Cicatrização intestinal – Efeito da cola derivada de veneno de cobra, na anastomose de cólon em ratos. **Rev Bras Colo-Proct**, 14(supl.): 24, 1994.
- LENNINGER, A.L. O ciclo de ácidos tricarbóxicos. In: LENNINGER, A.L. – **Fundamentos de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1977. p. 215-235.
- LEONARDI, L.S. **Resultado do emprego da sutura em plano único extramucoso na cirurgia gástrica**. Campinas, 1973. (Tese - Livre Docência – Universidade Estadual de Campinas).
- LIMJOCO, V.R. Split single-layer bowel anastomosis: a clinical evaluation. **Wis Med J**, 73: 101, 1974.
- LORD, M.G.; BROUGHTON, A.C.; WILLIAMS, H.T.G. A morphologic study on the effect of suturing the submucosa of the large intestine. **Surg Gynecol Obstet**, 146: 211-216, 1978.

- MACHADO, R.B.; LEE, H.D.; WU, F.C.; FAGUNDES, J.J.; GÓES, J.R.N.; COY, C.R.S.; VOLTOLINI, R.F.; METZ, J. A computational system to evaluate biomechanical colonic test: SABI – Biomechanical data acquisition and analysis system. In: International Conference on Computer Science, Software Engineering, Information Technology, e-Business and Applications, **Proceedings...** Foz do Iguaçu, 2002. p. 352-356. vol 1.
- MADER, J.T.; BROWN, G.L.; GUCKIAN, J.C.; WELLS, C.H.; REINARZ, J.A. A mechanism for the amelioration by hyperbaric oxygen of experimental staphylococcal osteomyelitis in rabbits. **J Infect Dis**, 142: 915-922, 1980.
- MAGYAR, D.M.; HAYES, M.F.; SPIRTOS, N.J.; HULL, K.S.; MOGHISSIS, K.S. Is intraperitoneal dextran 70 safe for routine gynecologic use?. **Am J Obstet Gynecol**, 152: 198-204, 1985.
- MANTOVANI, M.; LEONARDI, L.S.; ALCANTARA, F.G.; MEDEIROS, R.R.; FAGUNDES, J.J.; HADLER, W.A. Estudo comparativo entre diferentes variedades de suturas em um e dois planos no intestino delgado. Trabalho experimental no cão. **Rev Ass Med Bras**, 22: 79-86, 1976.
- MANTOVANI, M. **Evolução da cicatrização em anastomoses do intestino grosso de cães em condições de normalidade e sob a ação de drogas imunossupressoras**. Campinas, 1978. (Tese – Livre Docência – Universidade Estadual de Campinas).
- MANTOVANI, M.; LEONARDI, L.S.; ALCÂNTARA, F.G. Evolução da cicatrização em intestino grosso em condições de normalidade e sob ação de drogas imunossupressoras. Estudo comparativo em cães. **Rev Paul Med**, 94: 118-126, 1979.
- MARTIN JÚNIOR, A.; GUIMARÃES, A. S.; FERREIRA, A.L. Efeito ds corticosteróides na cicatrização de anastomoses intestinais. **Acta Cir Bras**, 7: 28-30, 1992.
- MARX, R.E.; EHLER, W.J.; TAYAPONGSAK, P.; PIERCE, L.W. Relationship of oxygen dose to angiogenesis induction in irradiated tissue. **Am J Surg**, 160: 519-524, 1990.

- MARX, R.E. Radiation injury to tissue. In: KINDWALL, E.P. **Hyperbaric medicine practice**. Flagstaff, Ariz.: Best, 1994. p. 447-503.
- MASE, G.E. Theory and problems of continuum mechanics. In: **Schaum's outline series in engineering**. New York: McGraw-Hill Book Company. 1970.
- MAST, B.A. Healing in other tissues. **Surg Clin North Am**, 77(3): 529-564, 1997.
- MEDEIROS, R.R. **Estudo comparativo da cicatrização nas anastomoses do esôfago cervical com técnicas de sutura em um e dois planos: trabalho experimental em cães**. Campinas, 1973. (Tese - Doutorado – Universidade Estadual de Campinas).
- MEDEIROS, R.R. **Emprego experimental do bisturi elétrico nas anastomoses do intestino grosso. Estudo da cicatrização à microscopia óptica e de polarização**. Campinas, 1982. (Tese – Livre Docência – Universidade Estadual de Campinas).
- MILLIGAN, D.W.; RAFTERY, A.T. Observation on the pathogenesis of peritoneal adhesions: a light and electron microscopical study. **Br J Surg**, 61: 274-280, 1974.
- MINION, D.M.; MacPHERSON, B.R.; KILAM, S.K. Temporary ischemia and healing of colonic anastomoses. **IRCS Med Sci**, 10: 498-499, 1982.
- MINOSSI, J.G. **Ação do diclofenaco de sódio na cicatrização de anastomoses realizadas no íleo terminal e no cólon distal de ratos. Estudo da força de ruptura, hidroxiprolina tecidual e exame histopatológico**. Botucatu, 1995. (Tese – Doutorado – Universidade Estadual Paulista).
- MOON, R.E.; GORMAN, D.F. Treatment of the decompression disorders. In: BENETT, P.B.; ELLIOTT, D.H. **The physiology and medicine of diving**. 4<sup>th</sup> edition, Philadelphia: W.B. Saunders, 1993. p. 506-541.
- MUNDAY, C.; McGINN, F.P.A comparison of polyglycolic acid and catgut sutures in rat colonic anastomoses. **Br J Surg**, 63: 870-872, 1976

- MURPHY, B.P.; HARTFORD, R.J.; CRAMER, F.S. Cerebral air embolism resulting from invasive medical procedures: treatment with hyperbaric oxygen. **Ann Surg**, 201: 242-245, 1985.
- MYERS, R.M. **Hyperbaric oxygen therapy, a committee report**. Maryland: Undersea Medical Society Edition, 1986.
- NARESSE, L.E.; MENDES, E.F.; CURI, P.R.; LUCHIARI, P.H.; KOBAYASI, S. Aparelho para medida da força de ruptura das anastomoses intestinais. **Rev Hosp Clin Fac Med USP**, 42: 204-208, 1987.
- NARESSE, L.E. **Efeito da peritonite fecal na cicatrização do cólon distal no rato. Avaliação anátomo-patológica, estudo da força de ruptura e da hidroxiprolina tecidual**. Botucatu, 1990. (Tese – Doutorado – Universidade Estadual Paulista).
- NASH, W.A. Flexão e torção composta; teoria das falhas. In: NASH, W.A. - **Resistência dos Materiais**. 2ª edição. São Paulo: McGraw-Hill, 1982. p. 451-464.
- NELSEN, T.S.; ANDERS, C.J. Dynamic aspects of small intestine rupture with special consideration of anastomotic strength. **Arch Surg**, 93: 309-314, 1966.
- NELSON, E.W.; COOLEY, B.J.; BRADY, C.E.; DAVIS, J.C. Closure of refractory perineal Crohn's lesion: integration of hyperbaric oxygenation into case management. **Dig Dis Sci**, 35: 1561-1565, 1990.
- NIERI, T. M. **Estudo sobre o comportamento mecânico do cólon íntegro e com anastomose. Trabalho experimental em ratos**. Campinas, 1999. (Dissertação - Mestrado – Universidade Estadual de Campinas).
- NIINIKOSKI, J. Viability of ischemic skin in hyperbaric oxygen: an experimental study with rats. **Acta Chir Scand**, 136: 567-568, 1970.

- NIINIKOSKI, J.; GRISLIS, G.; HUNT, T.K. Respiratory gas tensions and collagen in infected wounds. **Ann Surg**, 175: 588-593, 1972.
- OLSEN, B.R.; NIMNI, M.E. **Collagen**. Boca Raton, FL: CRC Press Inc, 1988.
- OSBERG, J.W.; KLEIN, L.; HILTNER, A. Scanning electron microscopy of collagen fibers in intestine. **Conn Tiss Res**, 9: 187-193, 1982.
- OURY, T.D.; HO, Y.S.; PIANTADOSI, C.A.; CRAPO, J.D. Extracellular superoxide dismutase, nitric oxide, and central nervous system O<sub>2</sub> toxicity. **Proc Natl Acad Sci**, 89: 9715-9719, 1992.
- PARK, M.K.; MYERS, R.A.; MARZELLA, L. Oxygen tensions and infections: modulation of microbial growth, activity of antimicrobial agents, and immunologic responses. **Clin Infect Dis**, 14: 720-740, 1992.
- PEACOCK JUNIOR, E.E. **Wound repair**. 3<sup>rd</sup> edition. USA: W.B. Saunders Company, 1984.
- PERRY, J.F.; SMITH, G.A.; YONEHIRO, E.G. Intestinal obstruction caused by adhesion: A review of 388 cases. **Ann Surg**, 142: 810-816, 1955.
- PINCEMAIL, J. Free radical in human diseases. In: FAVIER, AE. **Analysis of free radicals on biological systems**. New York: Birkhauser Verlag, 1995. p. 83-98.
- POPOV, E.P. **Introductuion to mechanics of solids**. 2<sup>nd</sup> edition. New Jersey: Prentice-Hall, 1978.
- PRESSMAN, R.S. **Software engineering: a practitioner's approach**. 4<sup>th</sup> edition. New York: Mc Graw-Hill Book Company, 1997.
- PROCKOP, D.J.; KIVIRIKKO, K.I. Relationship of hydroxiprolin excretion in urine to collagen metabolism: biochemistry and clinical application. **Ann Intern Med**, 66: 1243-1266, 1967.

- QUILICI, F.A. **Anastomose mecânica e manual em reto extraperitoneal. Estudo comparativo em cães.** Campinas, 1988. (Tese – Doutorado – Universidade Estadual de Campinas).
- QUIRINIA, A.; VIIDIK, A. The effect of hyperbaric oxygen on different phases of healing of ischaemic flap wounds and incisional wounds in skin. **Bri J Plast Surg**, 48: 583-589, 1995.
- RACHMILEWITZ, D.; KARMELI, F.; OKON, E.; RUBENSTEIN, I.; BETTER, O.S. Hyperbaric oxygen: a novel modality to ameliorate experimental colitis. **Gut**, 43(4); 512-518, 1998.
- RAVITCH, M.M.; BROLIN, R.; KOLTER, J.; YAP, S. Studies in the healing of intestinal anastomosis. **World J Surg.**, 5: 627-637, 1981.
- RAVO, B.; METWALLY, N.; CASTERA, P.; POLANSKI, P.J.; GER, R. The importance of intraluminal anastomotic fecal contact and peritonitis in colonic anastomotic leakages. An experimental study. **Dis Colon Rectum**, 31: 868-871, 1988.
- ROCHA, J.J.R. **Estudo comparativo entre sutura contínua e sutura com pontos separados em anastomoses colo-cólicas em plano único. Trabalho experimental em cães.** Ribeirão Preto, 1989. (Tese – Doutorado - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP).
- RUSCA, J.A.; BORNSIDE, G.H.; COHN JUNIOR, I. Everting versus inverting gastrointestinal anastomoses: Bacterial leakage and anastomotic disruption. **Ann Surg**, 169: 727-735, 1969.
- SANTOS JÚNIOR, J.C.M. Profilaxia das complicações pós-operatórias no tratamento cirúrgico das doenças do intestino grosso: II- Deiscência da anastomose. **Rev Bras Colo-Proct**, 18: 44-51, 1998.

- SAVASSI-ROCHA, P.R.; VERASTEGUI, T.C.V.; BARBOSA, A.J.F. Effects of intraluminal injection of oxygen, 10% hypertonic glucose, perfluorocarbon and 0,9% sodium chloride on intestinal ischemia. **Arq Bras Cir Dig**, 15(1): 10-13, 2002.
- SCHROK, T.R.; DEVENEY, C.H.; DUNPHY, J.E. Factors contributing to leakage of colonic anastomoses. **Ann Surg**, 127: 513-518, 1973.
- SCOTT-COOMBES, D.M.; VIPOND, M.N.; THOMPSON, J.N. General surgeons attitudes to the treatment and prevention of abdominal adhesions. **Ann R Coll Surg Eng**, 75: 123-128, 1993.
- SENEL, O.; CETINKALE, O.; OZBAY, G.; AHCIOGLU, F.; BULAN, R. Oxygen free radicals impair wound healing in ischemic rat skin. **Ann Plast Surg**, 39(5): 516-523, 1997.
- SHANDALL, A. A.; WILLIAMS, G.T.; HALLETT, M.B.; YOUNG, H.L. Colonic healing: a role for polymorphonuclear leucocytes and oxygen radical production. **Br J Surg**, 73: 225-228, 1996.
- SHEIKH, A.Y.; GIBSON, J.J.; ROLLINS, M.D.; HOPF, H.W.; HUSSAIN, Z.; HUNT, T.K. Effect of hyperoxia on vascular endothelial growth factor levels in a wound model. **Arch Surg**, 135(11): 1293-1297, 2000.
- SHERIDAN, W.G.; LOWNDES, R.H.; YOUNG, H.L. Tissue oxygen tension as a predictor of colonic anastomotic healing. **Dis Colon Rectum**, 30: 867-871, 1987.
- SHIKATA, J.; SHIDA, T.; SATOH, S.; FURUYA, K.; KAMIYAMA, A. The effect of local blood flow on the healing of experimental intestinal anastomoses. **Surg Gynecol Obstet**, 154(5): 657-661, 1982.
- SKILE, M.S.; COVERT, G.K.; FLETCHER, H.S. Gas-producing clostridial and nonclostridial infections. **Surg Gynecol Obstet**, 147: 65-67, 1978.

- SOONG, T.T.; HUANG, W.N. A stochastic model for biological tissue elasticity in simple elongation. **J Biomechanics**, 6: 451-458, 1973.
- SOUZA, J.B.; SOARES, E.G.; APRILLI, F. Effect of diclofenac sodium on intestinal anastomotic healing: experimental study on the small intestine of rabbits. **Dis Colon Rectum**, 34: 13-17, 1991.
- STEPHENS, F.O.; HUNT, T.K. Effect of changes in inspired oxygen and carbonyl dioxide tensions on wound tensile strength: an experimental study. **Ann Surg**, 173: 515-519, 1971.
- SWOKOWSKI, E. W. **Cálculo com Geometria Analítica**, 3ª edição, São Paulo: Makron Books, 1999. vol 1.
- TAGART, R.E. Colorectal anastomosis: factors influencing success. **J R Soc Med**, 74: 111-118, 1981.
- THORNTON F.J.; BARBUL A. Healing in the gastrointestinal tract. **Surg Clin North Am**, 77(3): 549-573, 1997.
- TIBBLES, P.M.; EDELSBERG, J.S. Hyperbaric-oxygen therapy. **N Engl J Med**, 334: 1642-1648, 1996.
- TIMOSHENKO, S.P.; GOODIER, J.N. **Theory of elasticity**. 3<sup>rd</sup> edition, New York: Mc Graw-Hill Book Company, 1970.
- TOMPACH, P.C.; LEW, D.; STOLL, J.L. Cell response to hyperbaric oxygen treatment. **Int J Maxillofac Surg**, 26: 82-86, 1997.
- TÖNJUM, S.; DIGRANES, A.; ALHO, A.; GJENGSTÖ, H.; EIDSVIK, S. Hyperbaric oxygen treatment in gas-producing infections. **Acta Chir Scand**, 146: 235-241, 1980.

- TURKYLMAZ, Z.; SONMEZ, K.; BASAKLAR, A.C.; DEMIROGULLARI, B.; NUMANOGLU, V.; EKINGEN, G. et al. Assesment of anastomtic reliability with pulse oximetry in graded intestinal ischemia: an experimental study in dogs. **J Pediatr Surg**, 32 (12): 1728-31, 1997.
- TURRENS, J.F.; CRAPO, J.D.; FREEMAN, B.A. Protection against oxygen toxicity by intravenous injection of liposome entrapped catalase and superoxide dismutase. **J Clin Invest**, 73: 87-95, 1984.
- UDÉN, P.; BLOMQUIST, P.; JIBORN, H.; ZEDERFELT, B. Influence of proximal colostomy on the healing of a left colon anastomosis: an experimental study in the rat. **Br J Surg**, 75: 325-329, 1988.
- UDENFRIEND, S. Formation in hydroxyproline in collagen. **Science**, 152: 1335-1340, 1966.
- VAN der HAM, A.C.; KORT, W.J.; WEIJMA, I.M. healing of ischemic colonic anastomosis: fibrin sealant does not improve wound healing. **Dis Colon Rectum** 35: 884-890, 1992.
- VOLTOLINI, R.F.; METZ, J.; MACHADO, R.B.; LEE, H.D.; WU, F.C.; FAGUNDES, J.J.; GÓES, J.R.N. – SABI 2.0: Um sistema para a realização de testes biomecânicos em material viscoelástico não linear. In: The 4<sup>th</sup> Congress of Logic Applied to Technology – Laptec 2003. **Proceedings...** Marília, 2003.
- WANG, W.J.; HO, X.P.; YAN, Y.L.; YAN, T.H.; LI, C.L. Intrasynaptosomal free calcium and nitric oxide metabolism in central nervous system oxygen toxicity. **Aviat Space Environ Med**, 69(6): 551-555, 1998.
- WEAVER, L.K.; HOPKINS, R.O.; LARSON-LOHR, V.; HOWE, S.; HABERSTOCK, D. Double-blind, controlled, prospective, randomized clinical trial (RCT) in patients with acute carbon monoxide (CO) poisoning: outcomoe of patients treated with normobaric oxygen or hyperbaric oxygen (HBO<sub>2</sub>). **Undersea Hyperb Med**, 22(Suppl): 14, 1995.

- WHELESS, J.R.; SMITH, J.J. A comparison of the flow of iodine 125 through three different intestinal anastomoses: standard, Gambee and stapler. **Surg Gynecol Obstet**, 62: 513-518, 1983.
- WHITE, M.J.; HECKLER, F.R. Oxygen free radicals and wound healing. **Clin Plast Surg**, 17: 473-484, 1990.
- WILKER, D.; SKLAREK, J. WALDNER, H.; IZBICKI, J.R.; SIEBECK, M. Early phase of healing of anastomoses with special reference to peritonitis and ischemia. **Langenbecks Arch Chir**, 373(4): 217-221, 1988.
- WILLIAMS, D.C. The peritoneum; a plea for a change in attitude towards this membrane. **Br J Surg**, 42: 401-405, 1955.
- WITTE, M.B.; BARBUL, A. General principles of wound healing. **Surg Clin North Am**, 77(3): 509-528, 1997.
- WRIGHT, J. Hyperbaric oxygen therapy for wound healing. Disponível em: <http://www.worldwildwounds.com/2001/april/Wright/HyperbaricOxygen.html>: Acesso em: 14 ago, 2002.
- WU, F.C. **Estudo da ação de aderências sobre anastomose cólica: trabalho experimental em ratos**. Campinas, 2000. (Dissertação - Mestrado – Universidade Estadual de Campinas).
- WU, F.C.; AYRIZONO, M.L.S.; FAGUNDES, J.J.; COY, C.S.R.; GÓES, J.R.N.; LEONARDI, L.S. Estudos biomecânicos da ação de aderências sobre anastomose cólica. Trabalho experimental em ratos. **Acta Cir Bras**, 18(3): 216-223, 2003.
- YAZDI, P.G.; MIEDEMA, B.W.; HUMPHREY, L. Immediate postoperative 5-FU does not decrease colonic anastomotic strength. **J Surg Oncol**, 69: 125-127, 1998.

ZAMBONI, W.A.; ROTH, A.C.; RUSSELL, R.C.; SMOOT, E.C. The effect of hyperbaric oxygen on reperfusion of ischemic axial skin flaps: a laser doppler analysis. **Ann Plast Surg**, 28: 339, 1992.

ZAMBONI, W.A.; ROTH, A.C.; RUSSELL, R.C.; GRAHAM, B.; SUCHY, H.; KUCAN, J.O. Morphologic analysis of the microcirculation during reperfusion of ischemic skeletal muscle and the effect of hyperbaric oxygen. **Plast Reconstr Surg**, 91: 1110- 1123, 1993.

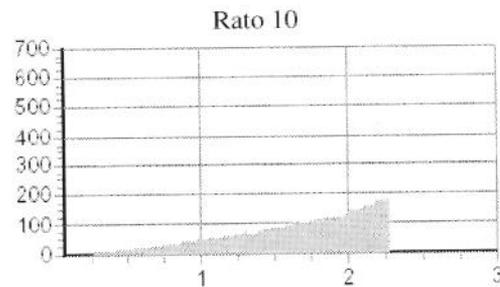
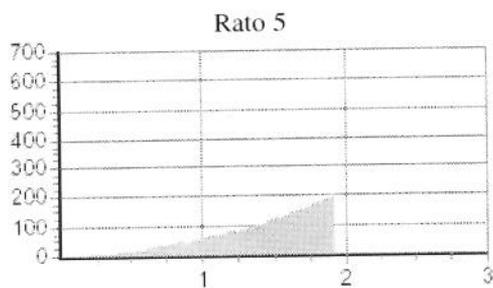
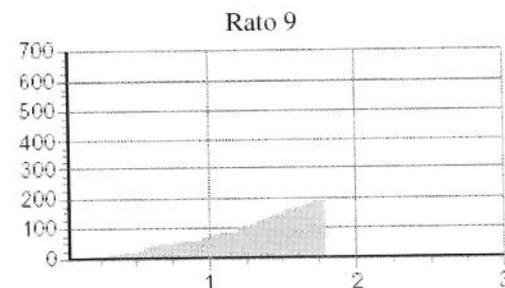
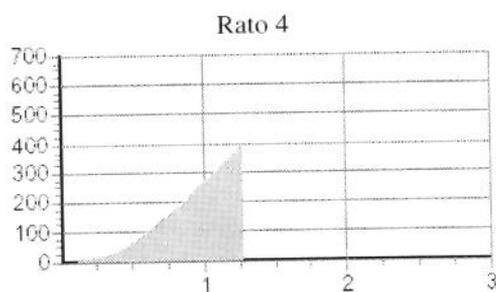
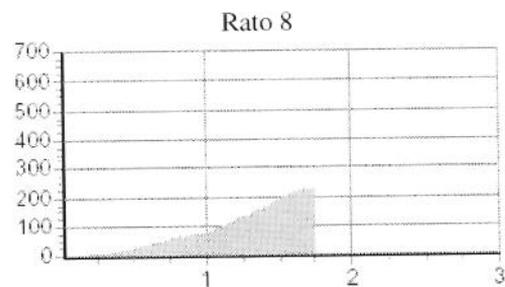
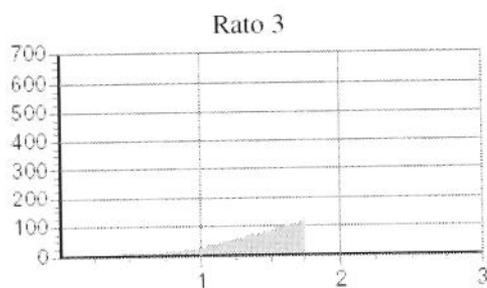
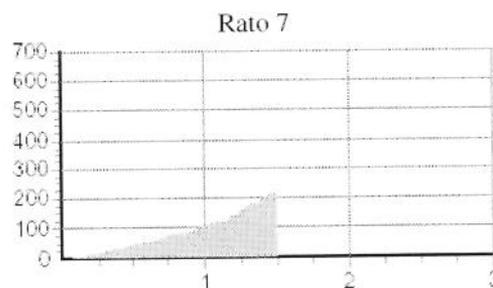
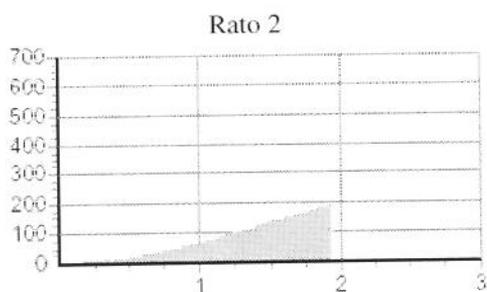
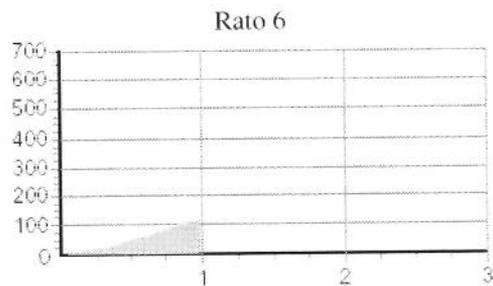
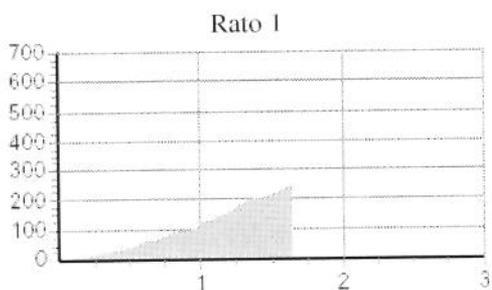
ZILLING, T.L.; JANSSON, O.; WALTHER, B.S.; OTTOSSON, A. Sutureless small bowel anastomoses: Experimental study in pigs. **Eur J Surg**, 165: 61-68, 1999.



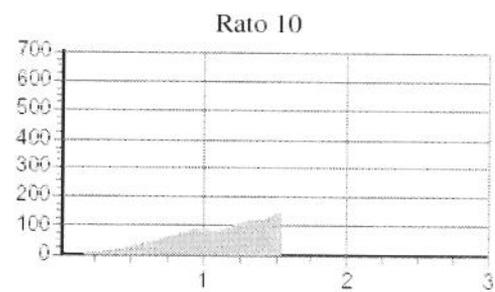
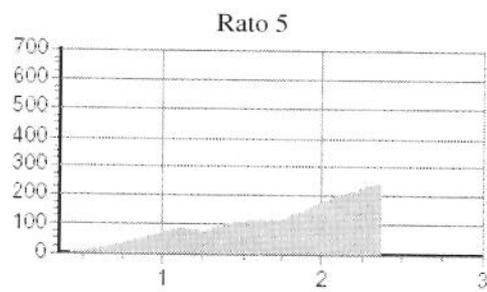
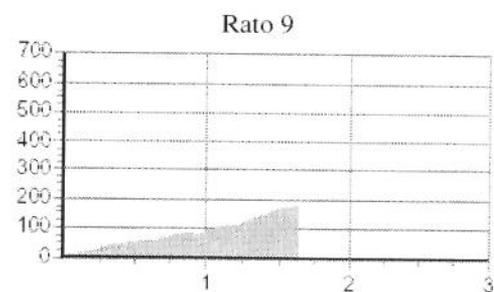
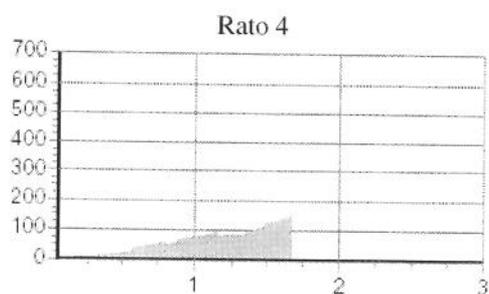
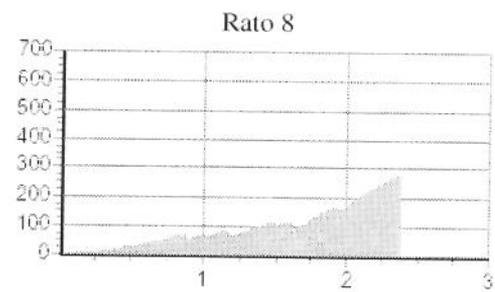
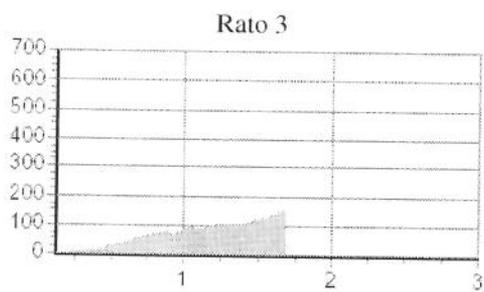
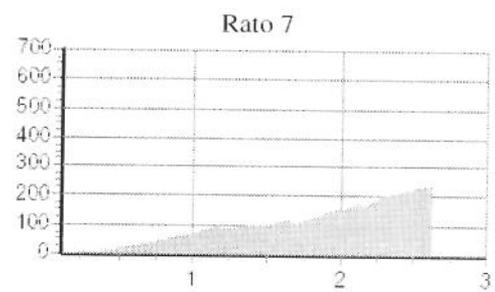
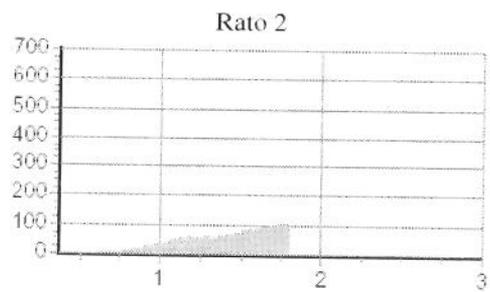
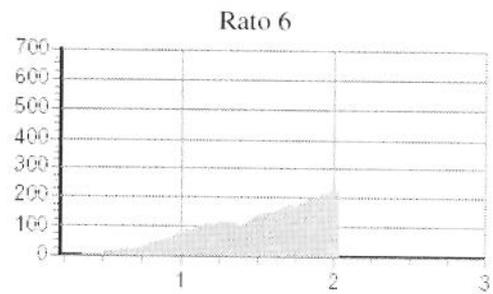
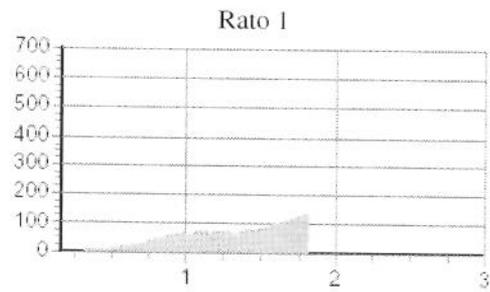
## ***9. ANEXOS***



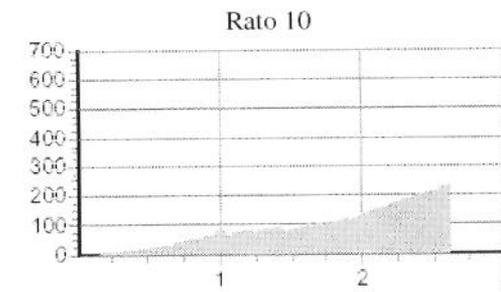
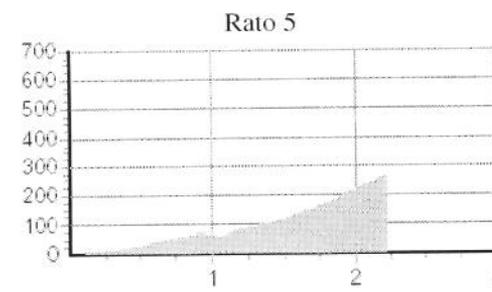
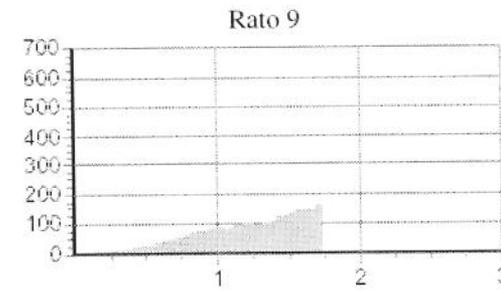
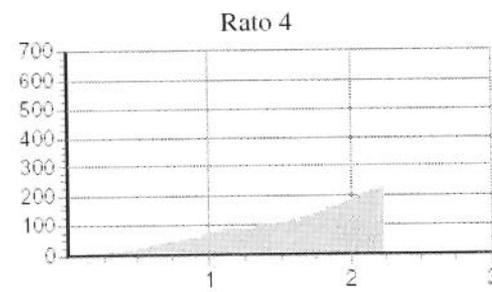
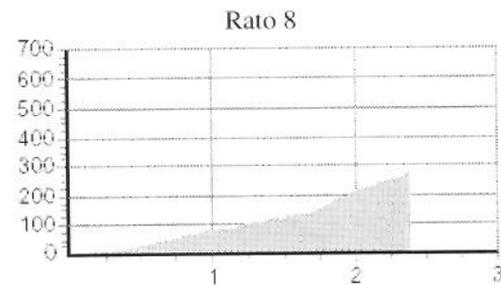
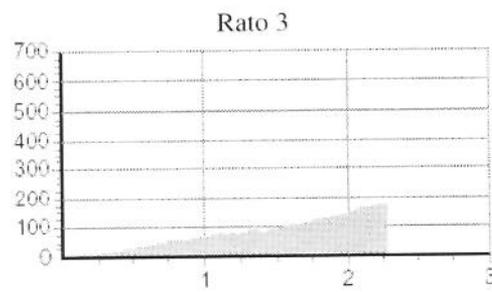
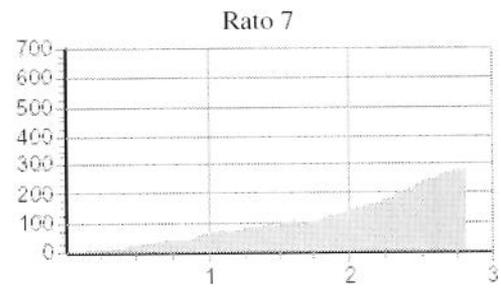
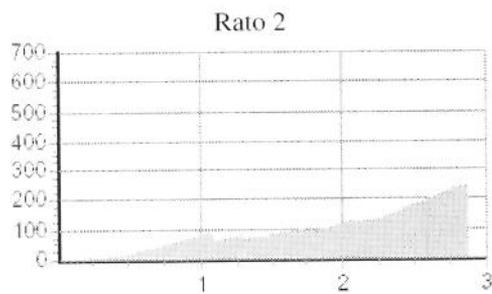
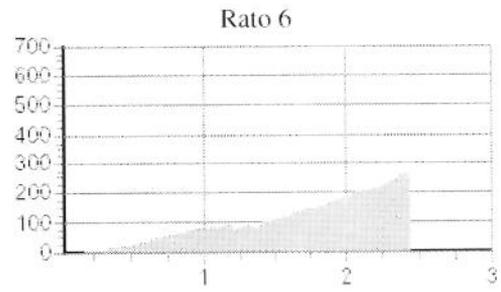
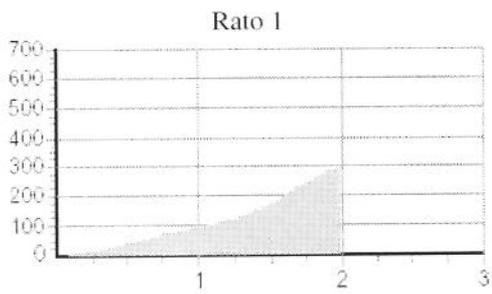
**Grupo 1: Subgrupo 1.1 - Diagrama Força (gf) x Elongação (cm)**



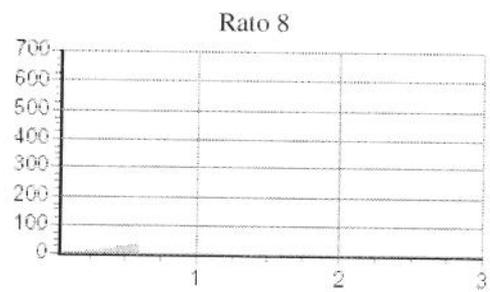
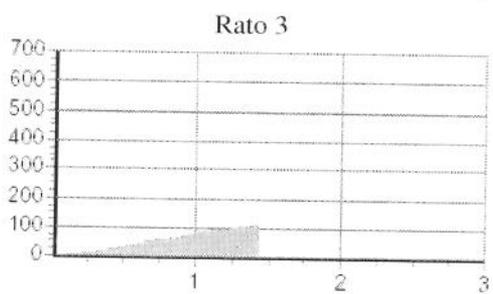
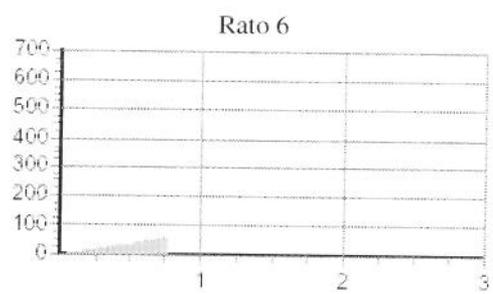
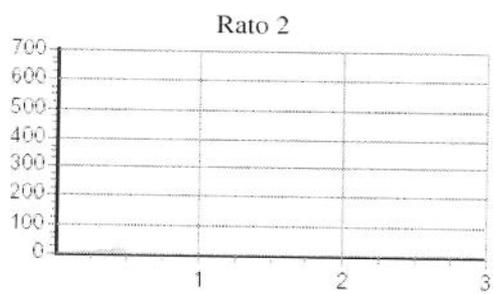
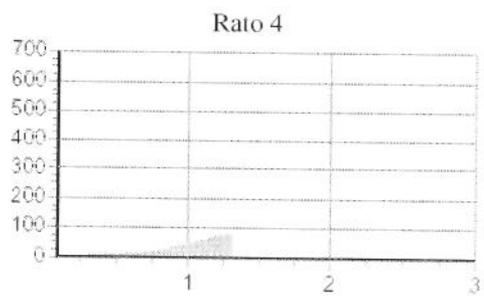
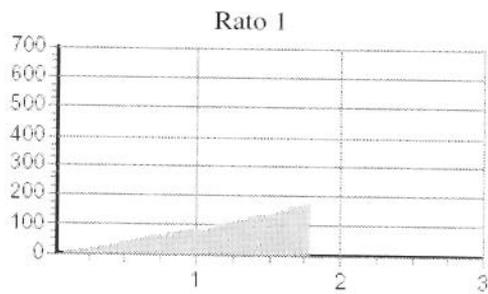
### Grupo 1: Subgrupo 1.2 - Diagrama Força (gf) x Elongação (cm)



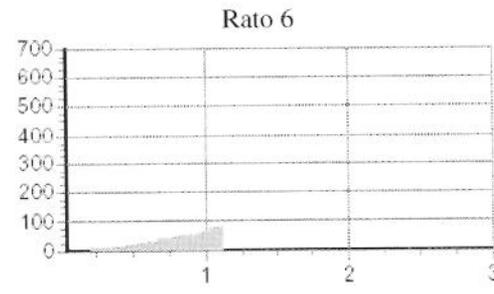
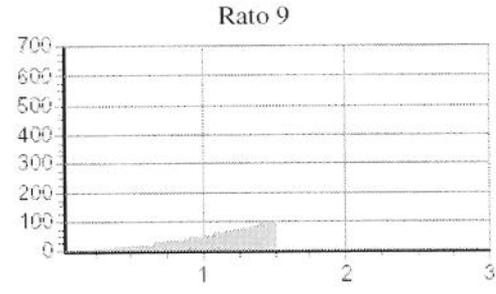
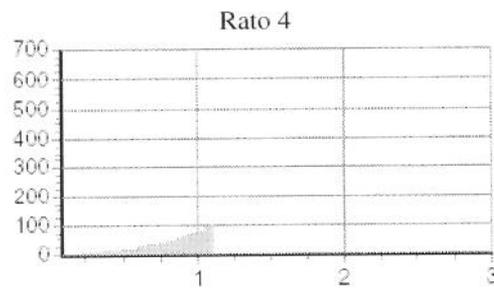
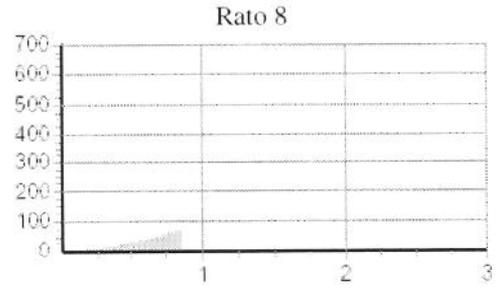
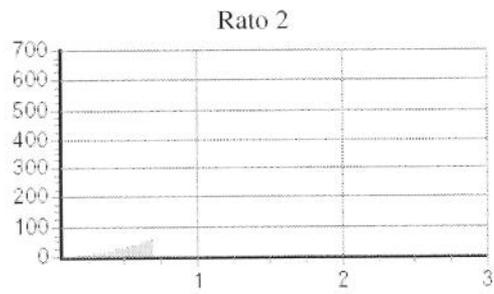
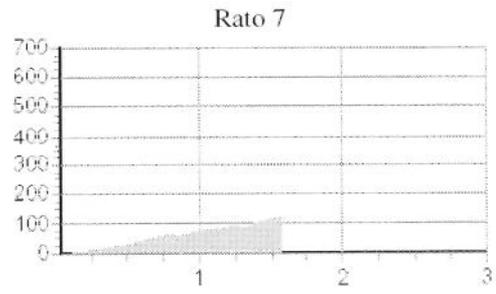
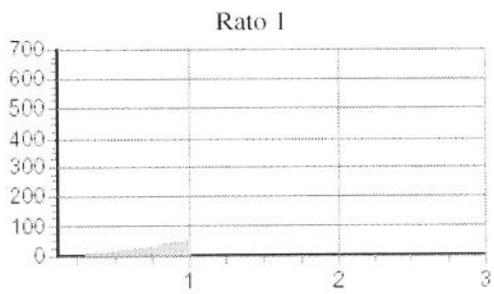
**Grupo 1: Subgrupo 1.3 - Diagrama Força (gf) x Elongação (cm)**



## Grupo 2: Subgrupo 2.1 - Diagrama Força (gf) x Elongação (cm)



**Grupo 2: Subgrupo 2.2 - Diagrama Força (gf) x Elongação (cm)**



**Grupo 2: Subgrupo 2.3 - Diagrama Força (gf) x Elongação (cm)**

