

WILLY MARCUS GOMES FRANÇA

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA E IMUNOHISTOQUÍMICA
DA MATURIDADE DOS PLEXOS MIOENTÉRICOS NA
GASTROSQUISE EXPERIMENTAL DE RATOS
REALIZADA EM DUAS DIFERENTES IDADES
GESTACIONAIS**

CAMPINAS

2006

WILLY MARCUS GOMES FRANÇA

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA E IMUNOHISTOQUÍMICA
DA MATURIDADE DOS PLEXOS MIOENTÉRICOS NA
GASTROSQUISE EXPERIMENTAL DE RATOS
REALIZADA EM DUAS DIFERENTES IDADES
GESTACIONAIS**

*Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação da
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do título de
Doutor em Cirurgia, área de concentração em
Cirurgia.*

Orientador: Prof. Dr. Livre-docente Lourenço Sbragia Neto

CAMPINAS

2006

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

F844a França, Willy Marcus Gomes
Avaliação histológica e imunohistoquímica da maturidade dos
plexos mioentéricos na gastroquise experimental de ratos realizada em
duas diferentes idades gestacionais / Willy Marcus Gomes França.
Campinas, SP : [s.n.], 2006.

Orientador : Lourenço Sbragia Neto
Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade
de Ciências Médicas.

1. Gastroquise. 2. Plexo Mientérico . 3. Intestinos. I.
Sbragia Neto, Lourenço. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

**Título em inglês : Histologic and immunohistochemical evaluation of the
myenteric plexus maturity in the intestines of the experimental rat
gastrochisis in two different gestational days**

Keywords: • Gastroschisis
• Myenteric Plexus
• Intestines

Área de concentração : Cirurgia

Titulação: Doutorado em Cirurgia

Banca examinadora: Prof Dr Lourenço Sbragia Neto

Prof Dr José Luiz Martins

Prof Dr Uenis Tannuri

Prof Dr Joaquim Murray Bustorff Silva

Prof Dr Antônio Gomes de Oliveira Filho

Data da defesa: 24-11-2006

Banca Examinadora da Tese de Doutorado

Orientador: Prof. Dr. Livre-docente Lourenço Sbragia Neto

MEMBROS:

1- Prof. Dr. Livre-docente Lourenço Sbragia Neto

2- Prof. Dr. Livre-docente José Luiz Martins

3- Prof. Dr. Livre-docente Uenis Tannuri

4- Prof. Dr. Livre-docente Joaquim Murray Bustorff Silva

5- Prof. Dr. Antônio Gomes de Oliveira Filho

Curso de pós-graduação em Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 24/11/2006

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha esposa, Sueli, que ensinou a todos nós, mesmo contra as inesperadas adversidades da nossa vida, como dar a volta por cima com estilo e humildade inigualáveis, características da grande vencedora que ela é.

Ao Prof. Dr. Francesco Langone

Que cedeu, de maneira incondicional, as instalações de seu laboratório e todo o equipamento do Departamento de Neurobiologia, para que pudéssemos desenvolver os trabalhos de imunohistoquímica.

À Bióloga Cristiane Lucia de La Hoz

Pela inestimável orientação e ajuda explícita na realização das cansativas repetições das reações de imunofluorescência, que permitiram finalizar as conclusões deste estudo.

Ao Dr. Fábio Rogério

Que, mesmo durante a finalização de seus estudos para complementação de seu doutorado, nos iniciou no árduo caminho da imunohistoquímica e da manipulação de anticorpos.

Ao Prof. Dr. Luis Violin Pereira

Que, com suas prestimosas correções destes manuscritos, permitiu aprimorarmos ainda mais nossas idéias e expô-las de maneira clara e objetiva, como deve ser o texto científico.

Ao aluno Anderson Gonçalves, do sexto ano da Medicina

Que, com seu espírito científico aguçado e o interesse em aprender, características comuns nos profissionais de sucesso, vem acompanhando e estudando comigo desde a época do Mestrado.

À Sra. Vera, da secretaria de Pós-graduação do Depto. de Cirurgia

Que, com carinho, muita atenção e interesse, não mediu esforços para me ajudar no que fosse necessário para a confecção desta TESE, e ainda pela orientação inestimável na produção de toda a documentação necessária.

Ao Sr. Helymar Machado, do Serviço de Estatística da Comissão de Pesquisa – Unicamp

Pela paciência inesgotável e pelo inestimável trabalho de avaliação, correção e confecção dos relatórios de avaliação estatística desta TESE, mostrando-nos mais uma vez, de maneira simples e objetiva, a importância do linear e lúcido entendimento matemático.

À jornalista e amiga Nerli Peres

Pela minuciosa e tão detalhada revisão gramatical deste trabalho que apenas a amizade e o respeito de muitos anos poderiam explicar tão exaustivo empenho.

À minha família, Sueli (esposa), Gabriela (16 anos), Luiza (11 anos) e Pedro (7 anos)

Pela paciência, tolerância, amizade e, sobretudo, pelo carinho que sempre me dedicaram em todos os momentos. Em especial à minha esposa, Sueli, que me ensinou as estratégias necessárias para manter o otimismo e a perseverança que levam ao sucesso.

Aos meus pais, Wilson Gomes França e Áurea Francelosi França

Pela oportunidade e privilégio que me deram de poder crescer e aprender com eles a ser gente. Gente que se alegra, que chora, que agradece, que pensa, que se arrepende, que sente e que faz. Gente que crê em Deus. A Eles, o meu mais que especial muito obrigado.

Ao Prof. Dr. Joaquim Murray Bustorff Silva

Por me abrir as portas da Unicamp e de sua Disciplina, para que eu pudesse iniciar os primeiros passos no campo da pesquisa científica e poder retribuir, agradecido, o muito que esta Instituição me ofereceu.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Lourenço Sbragia Neto

Pela confiança e paciência que mais uma vez depositou em mim e pelo incansável esforço e disciplinada dedicação na tarefa de me manter no difícil caminho da pesquisa científica do mais alto nível.

	<i>Pág.</i>
RESUMO.....	<i>x</i>
ABSTRACT.....	<i>xiii</i>
1- INTRODUÇÃO.....	<i>15</i>
2- OBJETIVO.....	<i>22</i>
3- MATERIAL E MÉTODO.....	<i>24</i>
4- RESULTADOS.....	<i>34</i>
5- DISCUSSÃO.....	<i>58</i>
6- CONCLUSÃO.....	<i>63</i>
7- ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	<i>65</i>
8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	<i>67</i>
9- ANEXOS.....	<i>77</i>

LISTA DE ABREVIATURAS

Ach	Acetilcolina
BSA	Bovine serum albumin (albumina de soro bovino)
cm	Centímetros
C	Fetos Controle
CI	Comprimento intestinal
CMM	Complexo mioelétrico migratório
D-I e D-II	Medidas dos diâmetros I e II
DABCO	1,4-DIAZABICYCLO (2,2,2) OCTANE
DAPI	4',6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride
g	Gramas
G	Fetos com Gastrosquise
H&E	Coloração de Hematoxilina e Eosina
IF	Imunofluorescência
IR	Imunorreatividade
LA	Líquido amniótico

mm	Milímetros
PBS	Phosphate buffered-saline (tampão fosfato-salino)
PC	Peso corporal do feto
PI	Peso intestinal
PI/PC	Relação peso intestinal e peso corporal fetais
PI/CI	Relação peso e comprimento intestinais fetais
S	Fetos Sham (simulado)
TRICT	Tetramethyl rhodamine isothiocyanate
μm	micrômetros



RESUMO

Na gastrosquise (G), o grau de lesão das alças intestinais exteriorizadas está diretamente relacionado ao tempo de contato com o líquido amniótico (LA) e exposição ao mecônio, que causam alterações morfológicas e histológicas do intestino, além da formação de uma fina camada de fibrina (*fibrous peel*) sobre a serosa, formando aderências entre as alças intestinais. Estas lesões levam ao hipoperistaltismo intestinal e deficiência na absorção dos nutrientes, contribuindo para o aumento da morbidade e alto custo médico-hospitalar. O hipoperistaltismo na G é atribuído à desorganização e à imaturidade dos plexos mioentéricos. Estas características podem servir como marcadores do grau de lesão intestinal, e que podem ser identificados pela presença de neurofilamentos dos plexos nervosos intestinais e sugerir a antecipação do parto. Nesse estudo identificamos as alterações morfológicas e histológicas intestinais e dos plexos mioentéricos em dois diferentes tempos de contato com o LA.

A G experimental em fetos de ratas Spreague-Dowley foi realizada em duas idades gestacionais, 18,5^o dia (E18,5) e 19,5^o dia (E19,5), que foram divididos em 3 subgrupos: controle (C), sham (S) e gastrosquise (G). Medimos o peso corporal fetal (PC), peso (PI) e comprimento intestinais (CI). As camadas da parede intestinal e os plexos mioentéricos foram avaliados pela coloração de H&E e imunofluorescência (α -Internexina), respectivamente.

O PC não apresentou diferença significativa entre C/S/G, nos 2 grupos. O PI e CI foram respectivamente maior e menor nos fetos G ($p < 0,001$) nos 2 grupos. Os diâmetros intestinais e as camadas da parede apresentaram diferença significativa entre C/S/G, em ambos os grupos ($p < 0,001$), mas o tempo de contato com LA e exposição ao mecônio comprometeram a serosa e D-II (diâmetro II) ($p < 0,001$), e CI ($p = 0,001$). A α -internexina apresentou imunorreatividade mais intensa nos fetos G de E18,5.

Concluimos que no modelo de G em fetos de ratos, as alterações da parede intestinal, principalmente da camada serosa e do comprimento intestinal, bem como a imaturidade dos plexos mioentéricos, apresentaram-se mais intensas nos fetos cujo contato com o LA e exposição ao mecônio foram mais prolongados (G/E18,5). Estudos experimentais adicionais devem ser desenvolvidos e direcionados para compreensão da

motilidade intestinal na G com o objetivo de minimizar os danos neuromusculares nas alças intestinais expostas ao LA e permitir avaliar as supostas vantagens da antecipação do parto para fetos humanos com G.



ABSTRACT

BACKGROUND: The amniotic fluid (AF) and its components such as fetal urine and meconium may lead to intestinal alterations in gastroschisis (G), which cause immaturity of the myenteric plexus and consequent intestinal hypomotility and malabsorption. In this study we identified morphological and histological alterations of the intestine and of the myenteric plexus with two different times of exposure to the AF. **METHODS:** The experimental G was achieved at two different gestational ages, on day 18.5 (E18.5) and on day 19.5 (E19.5) of gestation in fetal rats which were divided into 3 subgroups: control (C), sham (S) e gastroschisis (G). We measured fetal body weight (BW), intestinal weight (IW) and intestinal length (IL). The layers of intestinal wall and myenteric plexus were evaluated by hematoxylin and eosin staining (H&E staining) and immunofluorescence (α -Internexin), respectively. **RESULTS:** BW did not show significant differences among C/S/G, in both groups. IW and IL were respectively larger and shorter in the G fetuses ($p < 0.001$) in both groups. Intestinal diameters and wall layers presented significant differences among C/S/G in both groups ($p < 0.001$), but time of exposure to AF compromised the serous membrane, D-II (diameter II) ($p < 0.001$) and IL ($p = 0.001$). The α -Internexin presented more intensive immunoreactivity in G/E18.5 fetuses. **CONCLUSION:** In gastroschisis, the longer the time of exposure to AF, the more severe will be bowel impairment, especially concerning IL and the serous layer; and the more immature will be the myenteric plexus.



1- INTRODUÇÃO

A gastrosquise (G) é um defeito congênito da parede abdominal, caracterizado por um pequeno orifício, geralmente localizado à direita da cicatriz umbilical, que permite a herniação e exposição permanente das alças intestinais ao líquido amniótico (LA) e seus componentes até o fim da gestação (AMBROSE, 1972; AOKI *et al.*, 1980).

A exposição permanente das alças ao LA e seus componentes causa alterações da morfologia e da histologia da parede intestinal que leva à hipomotilidade intestinal e deficiência na absorção dos nutrientes (SRINATHAN *et al.*, 1995; DILSIZ *et al.*, 1999; SANTOS *et al.*, 2003). A hipomotilidade e a deficiência absorptiva intestinal, por sua vez, obrigam a utilização de nutrição parenteral prolongada e eleva a possibilidade de ocorrer complicações pós-operatórias, o que aumenta a morbidade e o custo do tratamento médico-hospitalar (MORRISON *et al.*, 1998; SYDORAK *et al.*, 2002).

No embrião, o intestino médio sofre um alongamento rápido por volta da 5ª semana de gestação, principalmente da porção cefálica (duodeno), resultando na formação da alça intestinal primária, que penetra no celoma extra-embrionário durante a 6ª semana de gestação, comunicando-se com o saco vitelino através do duto vitelino. Ao mesmo tempo em que a alça se alonga, ela gira no sentido anti-horário em torno do eixo da artéria mesentérica superior, dando origem aos cólons com o ceco que irá se posicionar à direita no abdome (LANGMAN, 1995). Por fatores ainda desconhecidos, as alças intestinais herniadas começam a voltar para a cavidade abdominal por volta da 10ª semana, mas podem escapar por meio de uma fraqueza na parede localizada à direita do umbigo devido à falha da migração das células musculares provenientes de miótomos dorsais nesta região. Quando ocorre falha no retorno das alças intestinais para a cavidade abdominal, a rotação anti-horária é incompleta, as alças permanecem exteriorizadas em contato direto com o LA, o que define embriologicamente a G (GRAY and SKANDALAKIS, 1972).

Apesar do mecanismo de formação do defeito congênito abdominal para-umbilical na gastrosquise ainda ser de etiologia desconhecida (SAXENA *et al.*, 2002; SINGH *et al.*, 2003; DAVIS *et al.*, 2005), alguns autores como Hoyme *et al.*, em 1981, sugerem que este defeito ocorreria por uma regressão ou lesão precoce de uma das artérias onfalomesentéricas na fase embrionária, quando elas ligam o saco vitelínico com a aorta dorsal (HOYME *et al.*, 1981). Outras malformações vasculares, como: involução da veia

umbilical direita, interrupção do ramo terminal da artéria mesentérica superior e/ou ruptura do cordão umbilical intra-útero, também são apontadas como causas da gastrosquise. Alterações genéticas (grupos familiares com padrão de herança autossômica, de expressão variável), teratogênicas (radiação na fase de implantação), e drogas como o ácido acetilsalicílico, a pseudoefedrina, o acetaminofen e o tabagismo, estariam também envolvidas na sua etiologia (WILSON *et al.*, 2004; KUNZ *et al.*, 2005). Segundo estudos de Forrester *et al.*, em 2006, o uso de drogas ilícitas como matanfetamina, cocaína e maconha (*Cannabis sativa*), parece não ter risco significativo comprovado na fisiopatologia da gastrosquise (FORRESTER *et al.*, 2006).

A G ocorre em 1:5.000 a 1:10.000 nascidos vivos (KUNZ *et al.*, 2005; MORRISON *et al.*, 1998; HOW *et al.*, 2000), acomete mais meninos que meninas numa proporção aproximada de 2:1 (SAXENA *et al.*, 2002) e incide mais em fetos de mães com idade abaixo dos 20 anos, de baixa condição sócio-econômica, baixa escolaridade, com história obstétrica de abortos anteriores e com curto intervalo de tempo entre a menarca e primeira gravidez (TIBBOEL *et al.*, 1986; WILSON *et al.*, 2004).

As taxas de mortalidade da G variam de 4% a 22% (STRINGER *et al.*, 1991; DI LORENZO *et al.*, 1987; FITZSIMMONS *et al.*, 1988) e nos casos mais complexos a mortalidade chega a 28%, quando a G está associada à atresia intestinal e perfuração, e a quase 100% quando ocorre volvo (WILSON *et al.*, 2004). No Brasil a mortalidade da G pode chegar até a 52% pelas baixas condições de atendimento perinatal (VILELA *et al.*, 2001), mas em geral, com o aprimoramento das unidades de terapia intensiva pediátrica e neonatal, a mortalidade vem diminuindo no mundo para taxas de 5% a 10% (SINGH *et al.*, 2003; SCHLATTER *et al.*, 2003).

Embora G seja raramente associada a alterações cromossômicas, e sim a alterações anatômicas, especialmente a atresias intestinais, a incidência de malformações cardíacas está aumentando. KUNZ *et al.* (2005), avaliaram 621 neonatos diagnosticados com G e 69 (11%) apresentaram estas alterações cardíacas, sendo a mais freqüente neste estudo a persistência do ducto arterioso (5,6%), seguido de defeitos do septo ventricular (2%) (KUNZ *et al.*, 2005). Outros defeitos anatômicos menos freqüente associados são criptorquidia, hipospádia e deformidades dos membros inferiores (SAXENA *et al.*, 2002).

A G pode ser diagnosticada no período pré-natal por meio da ultra-sonografia (FITZSIMMONS *et al.*, 1988; LANGER *et al.*, 1990), sendo possível visualizar as alças intestinais na cavidade amniótica por volta da 18ª semana (VERGUNTA *et al.*, 2005). O diagnóstico diferencial no período gestacional feito pelo ultra-som inclui a onfalocele, extrofia vesical, extrofia de cloaca, lesão cística do cordão e cisto de úraco (WILSON *et al.*, 2004).

Embora a fisiopatologia dos mecanismos de lesão da parede intestinal na G fetal ainda não esteja completamente esclarecida, sabe-se que o tempo de exposição das alças intestinais ao LA é um dos fatores frequentemente considerados na origem do dano causado às alças intestinais fetais (SHERMAN *et al.*, 1973; TIBBOEL *et al.*, 1986; LANGER *et al.*, 1990).

Inicialmente, a lesão da parede intestinal na G era atribuída exclusivamente à presença de urina no LA, pois uma série dos seus componentes, como glicose, proteínas, eletrólitos (Na, Cl e K), uréia, creatinina, além de fosfatase alcalina e lactase poderiam ter uma ação tóxica direta sobre as alças (POTIER *et al.*, 1976; KLÜCK *et al.*, 1983; AKTUNG *et al.*, 1995; ALBERT *et al.*, 2003). No entanto, outros autores comprovaram que a lesão das alças intestinais é consequência do contato das alças com o mecônio no LA e não da urina (OLGUNER *et al.*, 2000; API *et al.*, 2001; KANMAZ *et al.*, 2001).

Os achados de que a lesão intestinal na G seja mais devida à presença de mecônio também foi descrita no modelo de G em ratos (CORREIA-PINTO *et al.*, 2002) e pode ter bases na fisiologia da defecção fetal humana, uma vez que o conceito de que mecônio no LA nem sempre está ligado ao sofrimento fetal. RAMÓN Y CAJAL *et al.* (2003), documentaram que o feto elimina mecônio no LA de maneira fisiológica e em ritmos alternados que são dependentes da maturidade do sistema nervoso durante toda gestação (RAMÓN & CAJAL *et al.*, 2003; CIFTCI *et al.*, 1996 e 1999); evidentemente, nos fetos humanos e nos modelos experimentais, a chance da presença de mecônio no LA aumenta por causa de sofrimento fetal *per si*.

Para estudar as alterações histológicas e fisiopatológicas do intestino de fetos com G que levam a estas disfunções no período pós-natal, vários modelos em animais de experimentação vêm sendo descritos: ovelhas (HALLER *et al.*, 1974; LANGER *et al.*, 1989 e 1990; SRINATHAN *et al.*, 1995), coelhas (BEALER *et al.*, 1996; SRINATHAN *et al.*, 1997), ratas (CORREA-PINTO *et al.*, 2001), e embriões de galinha (DILSIZ *et al.*, 1999; SENCAN *et al.*, 2002). O modelo de G experimental fetal em ratos tem várias vantagens, pois o rato apresenta curto período gestacional (termo=22 dias), oferece maior número de fetos por gestação, além de ser de baixo custo na aquisição e manutenção (CORREA-PINTO *et al.*, 2001).

O contato do intestino com o LA e seus componentes na G leva à formação de uma fina camada de fibrina (*fibrous peel ou fibrous coating*) sobre a camada serosa, que favorece o desenvolvimento de aderências entre as alças intestinais (NICHOL *et al.*, 2004; FACHING *et al.*, 2005). A formação de fibrina também acaba modificando a espessura das outras camadas intestinais, causando encurtamento e aumento de peso das alças (LANGER *et al.*, 1989; DILSIZ *et al.*, 1999; SANTOS *et al.*, 2003; ALBERT *et al.*, 2003), além de comprometer a organização, distribuição e o grau de maturidade dos gânglios e plexos mioentéricos (VANNUCCHI *et al.*, 2003, 2004), que constituem o sistema nervoso intrínseco do intestino, localizado entre as camadas musculares (circular e longitudinal) e da submucosa da parede intestinal, que é o maior responsável pela motilidade intestinal intrínseca (ZENILMAN *et al.*, 1993).

Pelo fato do intestino delgado ser o órgão mais longo do trato digestório e também o mais comprometido na G, a compreensão dos mecanismos normais da motilidade e da sua capacidade absorptiva é fundamental para o entendimento das alterações anatômicas, histológicas e funcionais no período neonatal dos portadores de G (OTTERSON *et al.*, 1993).

A nutrição fetal é um dos mais importantes estímulos tróficos do crescimento do trato gastrointestinal (RAUL *et al.*, 1996), não apenas por fornecer os nutrientes, mas também por estimular a liberação de fatores locais de crescimento (Fator de Crescimento Tecidual/Polipetídeo), de hormônios peptídicos (Colecistocinina, Peptídeo Glucagon-like 1 e 2, Peptídeo YY, Neurotensina e outros), que são produzidos por células endócrinas e

neurônios e que atuam na regulação, permeabilidade e absorção de nutrientes pela mucosa intestinal e na ativação de estímulos aos neurônios locais (BURRIN *et al.*, 2002; DRUCKER *et al.*, 2002).

Estes mecanismos neuroendócrinos promovem padrões de motilidade do intestino delgado no neonato e na criança, cujos estudos ainda são limitados à contratilidade do duodeno e jejuno (SIEBERT *et al.*, 1980; KAMATH, *et al.*, 1987). A contratilidade do intestino delgado está intimamente ligada à musculatura da parede intestinal onde a camada muscular circular (interna) e a muscular longitudinal (externa) promovem respectivamente o estreitamento da luz e o encurtamento do intestino (ZENILMAN *et al.*, 1993; OMARI *et al.*, 2004).

As células musculares lisas destas camadas são conectadas por aberturas ou fendas, formando o sincício intestinal e que são permeadas por células intersticiais especializadas de *Cajal*. As células de *Cajal* são os locais onde se origina a atividade elétrica que produz as ondas musculares intestinais lentas (*slow-wave activity* ou *pacesetter potencial*) e que são transmitidas para todo o intestino por meio do sincício (SARNA, 1975; THUNBERG, 1982). Estas ondas lentas propagam-se circunferencialmente pelo intestino, contudo, a despolarização por estas ondas não causa contração muscular. A contração muscular ocorre apenas ao se atingir o limiar do potencial (*threshold potencial*) da membrana da célula muscular lisa com a liberação de acetilcolina pelos nervos e conseqüente influxo de cálcio para dentro das células (SARNA, 1985; WEISBRODT, 1991).

Condições patológicas como obstrução intestinal, íleo adinâmico (infecção, peritonite, pancreatite, distúrbios eletrolíticos, etc.), íleo pós-operatório, anastomose intestinal, transplantes intestinais e outras, diminuem ou inibem a atividade contrátil do intestino. A ação do complexo mioelétrico (ou motor) migratório (CMM), ou seja, a atividade contrátil que se inicia quase simultaneamente no estômago e no intestino delgado, propaga-se distalmente limpando o intestino, eliminando aderências e secreções e ainda descamando células, está praticamente eliminada nestas condições (TELFORD *et al.*, 1993).

A maioria dos neurônios que controlam a atividade contrátil no intestino tem seus corpos celulares (gânglios neurais) localizadas no plexo mioentérico distribuídos e entremeados na parede intestinal (OTTERSON *et al.*, 1993). Assim, qualquer fator que leve às alterações das estruturas da parede intestinal, como pode ocorrer na G, também pode comprometer tanto a motilidade quanto a absorção dos nutrientes e, conseqüentemente, levar à desnutrição, infecção, restrição do desenvolvimento neuronal e pondo-estatural no período fetal e neonatal (WEISBRODT, 1991; TELFORD *et al.*, 1991).

Devido às alterações da maturidade neuronal e como conseqüência a hipomotilidade intestinal prolongada e a maior morbidade neonatal, tem sido proposta a antecipação do parto em detrimento dos riscos da prematuridade nos pacientes portadores de G, a fim de minimizar o dano causado às alças intestinais (DUNN *et al.*, 1999).

A hipomotilidade decorrente da alteração da maturidade dos plexos mioentéricos tem sido demonstrada pela utilização da identificação da imunorreatividade (IR), pela imunohistoquímica, de neurofilamentos como a α -Internexina, presente no citoesqueleto do sistema nervoso central e periférico e cuja IR é maior quanto mais precoce for o desenvolvimento embrionário neuronal, isto é, nos neurônios mais imaturos (VANNUCCHI *et al.*, 2003 e 2004).

Portanto, estudar a maturidade intestinal pode trazer importantes subsídios para a compreensão da fisiopatologia da doença, assim como acrescentar informações sobre as possíveis vantagens da antecipação do trabalho de parto e para isso foi utilizado o modelo experimental de fetos de ratos em diferentes tempos de exposição ao LA, procurando estudar as alterações histológicas e em especial a maturidade intestinal na G.



2- OBJETIVO

O objetivo do presente estudo é avaliar a influência do tempo de exposição das alças intestinais ao LA no modelo experimental de gastrosquise em fetos de ratas em duas idades gestacionais, 18,5^o e 19,5^o dias, estudando no intestino as alterações: morfológicas, histológicas e imunohistoquímicas do plexo mioentérico por meio da α -Internexina.



3- MATERIAL E MÉTODO

O presente estudo foi submetido à Comissão de Ética na Experimentação Animal da Universidade Estadual de Campinas (CEEA-UNICAMP) e foi aprovado como projeto de pesquisa nº 281-1.

Utilizaram-se ratas Spreague-Dowley grávidas, divididas em dois grupos para cada dia gestacional, o grupo E18,5, constituído dos fetos operados no 18,5º dia de gestação, e o grupo E19,5, constituído por fetos operados no 19,5º dia de gestação (Diagrama 1).

Após aclimatação no laboratório, as ratas grávidas foram submetidas à anestesia geral com injeção intramuscular de ketamina base - 50mg/ml (Ketamina® - Pfizer do Brasil) associada com xilazina 10mg/ml (Rompum® - Bayer do Brasil Ltda), na dose de 0,6 ml por animal via intramuscular aplicado na musculatura lateral da coxa com seringa de insulina e agulha de calibre 20G. Esta composição anestésica (180mg/kg de ketamina e 1,25 mg/kg de xilazina) mantém o animal sob anestesia profunda durante um período de três horas e o pós-operatório transcorre de maneira indolor durante o período compreendido entre 6 e 12 horas.

O abdome foi submetido à raspagem dos pêlos com tosquiadeira elétrica *Sunbeam*®, com cuidado para não ferir os mamilos. Os animais foram colocados sobre bancada aquecida por resistência elétrica marca *Harvard Apparatus*® e previamente regulada na temperatura de 37 graus Celsius. Após assepsia com clorohexidina (*Chlorohex*®) solução aquosa e colocação de campos estéreis, o animal foi submetido à laparotomia mediana em dois planos (pele e aponeurose/peritôneo).

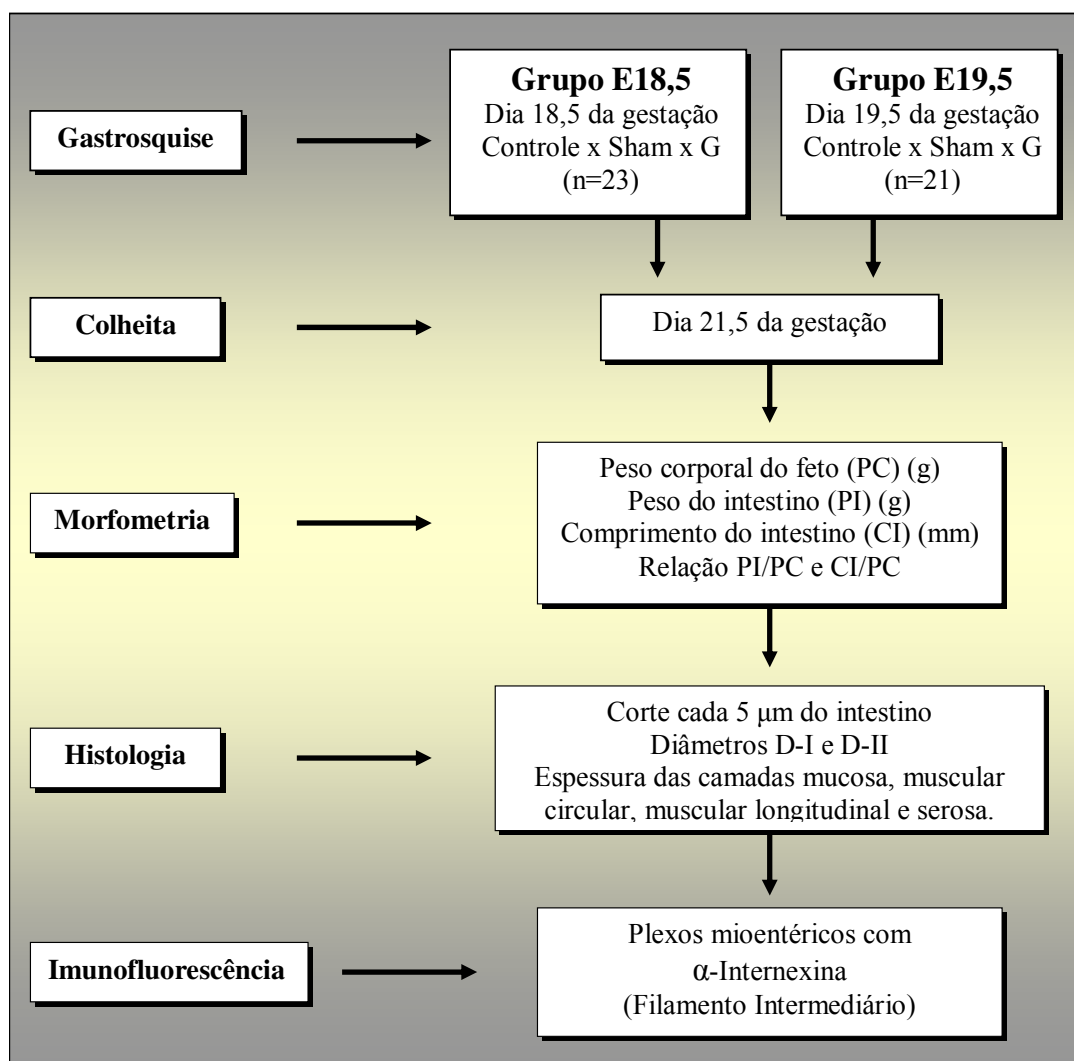


Diagrama 1- Esquema de estudo de gastrosquise fetal em ratas *Spreague-Dowley*

A seguir, o útero bicórneo foi delicadamente exposto e protegido com gaze estéril embebida em solução salina fisiológica, aquecida a 38° Celsius. Os fetos foram contados da região proximal para distal em relação ao colo uterino, iniciando-se a contagem pelo corno direito. O primeiro e o último feto de cada corno não foram utilizados no experimento pelo risco de abortamento relacionado à manipulação desses animais. O segundo feto, contado a partir do istmo uterino direito, foi considerado o primeiro feto da numeração, sendo submetido à gastrosquise; o feto seguinte foi denominado controle e o subsequente, sham. Esta seqüência foi sucessivamente repetida, do corno direito para o corno esquerdo (Figura 1).

Sob microscopia óptica estereoscópica (microscópio JF-Vasconcellos[®] - 4,5 X), uma sutura em bolsa com fio de Prolene[®] calibre 6-0 foi realizada na parede uterina (Figura 2A). Em seguida, o útero foi aberto em suas duas camadas, muscular e membrana amniótica (Figura 2B). O feto foi exposto pela incisão uterina até a altura da inserção do cordão umbilical e mantido com o abdome superior e o tórax no interior do útero materno. Foi realizada a retirada parcial do membro inferior direito e do membro inferior esquerdo, para facilitar a exposição da região abdominal a ser incisada. Esta manobra técnica diminui o risco de lesão dos vasos umbilicais durante o procedimento da gastrosquise (Figura 3).

Para a realização da gastrosquise foi utilizado o método de Correia-Pinto *et al.* (2001). Por meio de uma incisão de laparotomia para-umbilical direita, com extensão padronizada em 5mm, abriu a cavidade abdominal fetal, com o cuidado de não lesar os vasos umbilicais e o fígado. As alças intestinais foram expostas com facilidade pela compressão delicada do abdome fetal, com hastes flexíveis de algodão esterilizadas (cotonetes[®] Johnson & Johnson do Brasil). Após a realização da gastrosquise, o feto foi cuidadosamente recolocado na cavidade uterina e o útero foi fechado pela sutura em bolsa previamente realizada. Antes do fechamento da bolsa, 0,5 ml de solução fisiológica aquecida foi reposta no interior da cavidade uterina. Durante o procedimento, a porção exposta do feto foi mantida aquecida com solução salina (NaCl 0,9%) a 38 graus Celsius, gotejada com seringa de 5 ml. O feto seguinte, denominado feto controle, não foi submetido à cirurgia nem tampouco retirado do útero. O feto subsequente, denominado feto sham, foi exposto fora da cavidade uterina até a altura da inserção do cordão umbilical, foi submetido a uma gentil compressão do flanco direito, com hastes flexíveis de algodão, mas não foi submetido a nenhum procedimento cirúrgico. Em seguida, foi recolocado na cavidade uterina.

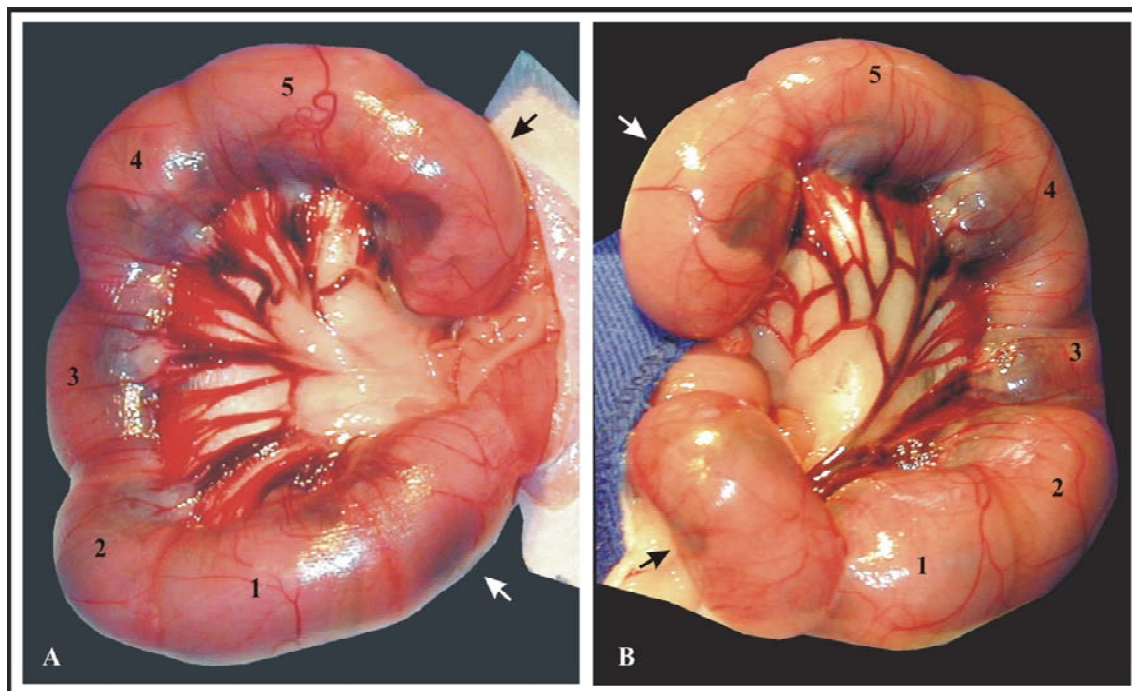


Figura 1- Fotografias dos cornos direito (A) e esquerdo (B) de rata *Spreague-Dowley*, mostrando os fetos numerados de 1, mais proximal a 5, mais distal que foram utilizados no estudo. Mostra também os fetos excluídos (setas) da série por serem os primeiros e os últimos.

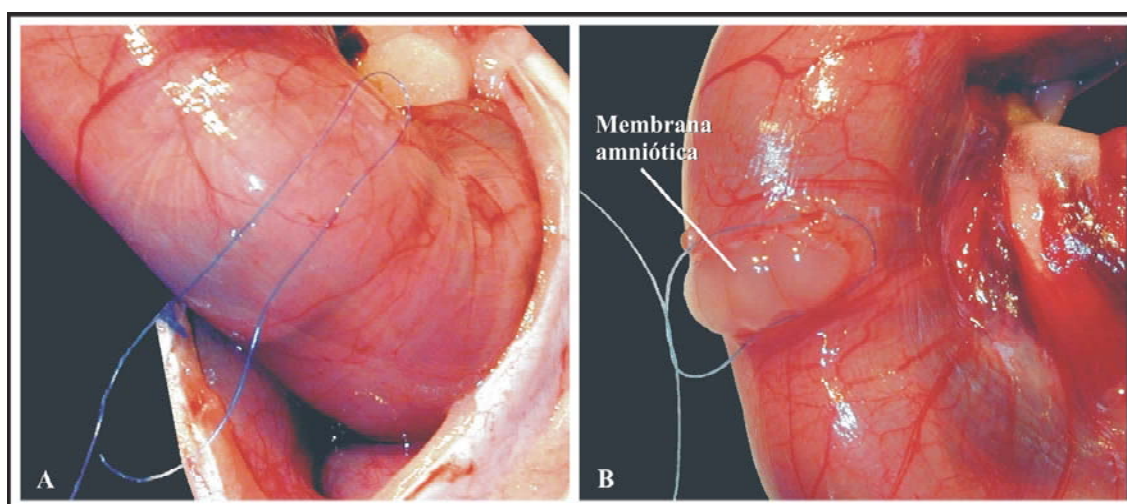


Figura 2- Fotografias da sutura em bolsa, com fio Prolene® 6-0 na parede uterina (A). Em seguida, o útero foi aberto em suas 2 camadas, muscular e membrana amniótica (B).

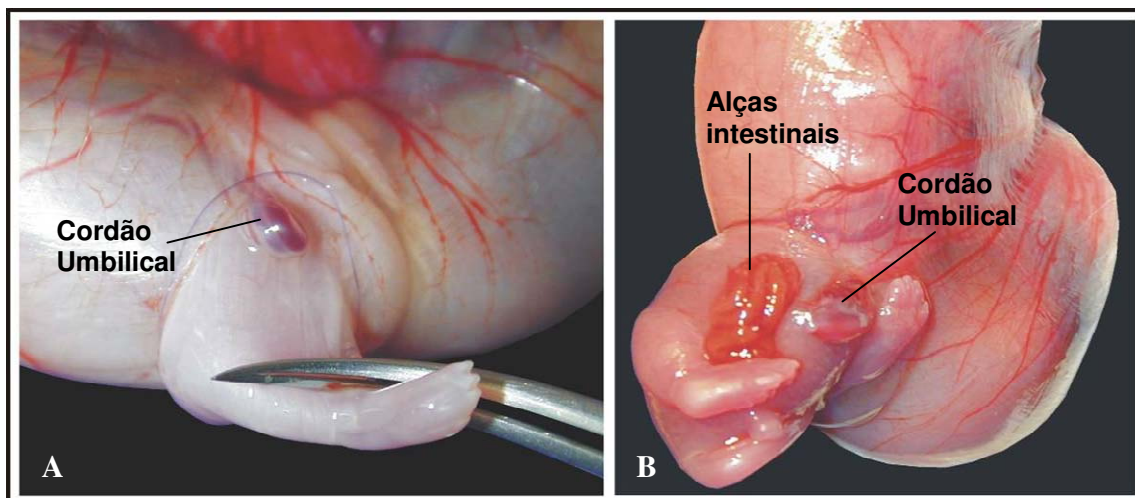


Figura 3- Fotografias mostram a retirada do feto de dentro do útero, pelo membro inferior direito, expondo a região para-umbilical direita para a realização do orifício e exteriorização das alças intestinais, como na gastrosquise (A). Feto com os 2 membros inferiores expostos através da incisão até a altura da inserção do cordão umbilical (B), já com as alças intestinais expostas à direita do umbigo.

Ao final da realização do procedimento nos fetos disponíveis, a parede abdominal da rata mãe foi fechada em dois planos, com utilização de fio mononylon 4-0, sutura contínua. As ratas foram recuperadas com oxigênio inalado em máscara apropriadamente adaptada, até que estivessem completamente acordadas e movimentando-se sem problemas. O período pós-operatório se deu nas gaiolas de acrílico, em baias individuais, com água e ração oferecidas *ad libitum*.

No dia 21,5 de gestação, as ratas foram novamente anestesiadas (mesma dose previamente descrita) e submetidas à operação cesariana, por laparotomia mediana. Os fetos previamente operados, denominados gastrosquise (G) e seus controles (C) e shams (S), foram removidos do útero, sacrificados através de injeção letal do mesmo anestésico já descrito e punção occipital, sendo então, pesados em balança de precisão, modelo OHAUS 360 (Denver Instruments, Denver, CO) e obtidos os pesos corporais em g (PC).

O abdome fetal foi aberto por incisão mediana e dissecado sob foco de luz e com auxílio de microscopia óptica, expondo as alças. As alças intestinais foram removidas desde o piloro até a região do reto superior, na reflexão peritonal. O intestino foi pesado (peso em miligramas) (PI) e o mesentério dissecado com pinças oftalmológicas (Figura 4). As alças puderam, então, ser retificadas sem tensão em prancha de cortiça para obtenção de seu comprimento (em milímetros) (CI), com a utilização de régua e paquímetro de precisão. Além disso, também foram analisadas as relações do peso intestinal e peso corporal (PI/PC) e peso intestinal e comprimento intestinal (PI/CI) para os dois grupos e subgrupos.

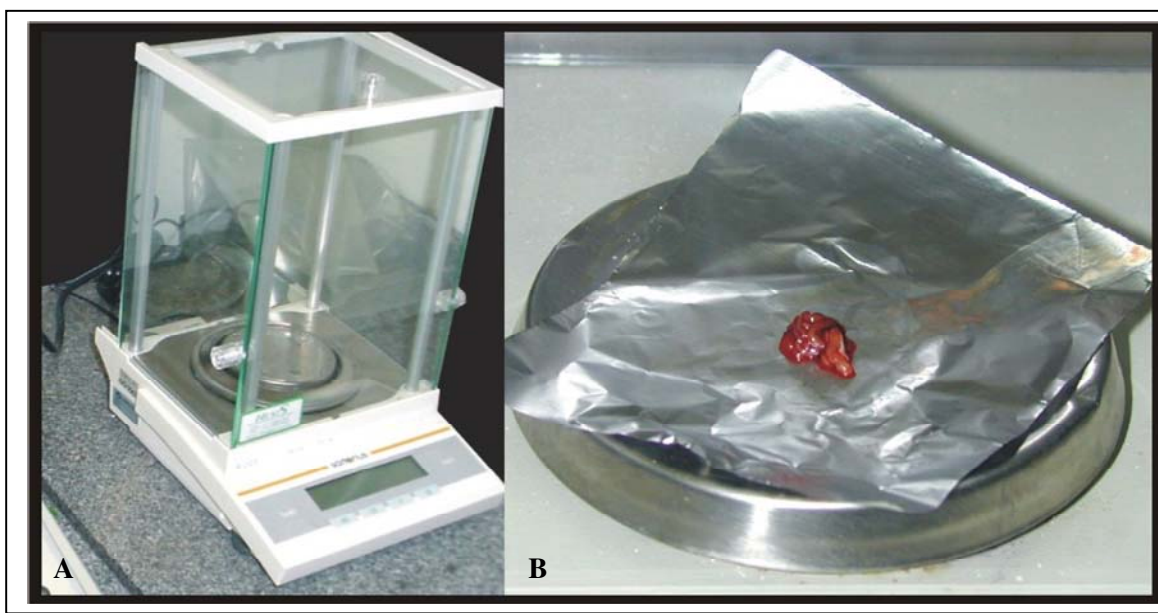


Figura 4- Fotografia mostra a balança de alta precisão, modelo OHAUS 360 (Denver Instruments, Denver, CO – foto A), onde foram medidos os pesos corporais em gramas (PC) de todos os fetos estudados. Na foto B, notar no detalhe a pesagem sobre papel alumínio do intestino fetal ainda enrolado.

Avaliação Morfométrica

A obtenção do peso corporal (PC), peso intestinal (PI) e comprimento intestinal (CI) permitiu o estudo estatístico dessas medidas nos diversos subgrupos. No entanto, observou-se a necessidade de criar relações entre esses parâmetros, que melhor demonstrassem as diferenças entre os subgrupos. Foram criadas as razões matemáticas: (1) PI/PC , com o objetivo de se excluir a variável do PC sobre a avaliação do PI, (2) PI/CI , possibilitando eliminar as variações do CI sobre o PI.

Avaliação Histológica

O intestino foi dividido em quatro segmentos a partir do ângulo de Treitz em direção ao íleo distal, cada segmento com aproximadamente 2-3 cm de comprimento. O primeiro segmento compreendia a porção de jejuno proximal. O segundo segmento compreendia porção de jejuno distal. O terceiro, de íleo, e o quarto, da região da válvula íleocecal e intestino grosso, até o reto extra-peritoneal. Todos os segmentos foram numerados, acomodados paralelamente em seqüência, da esquerda para a direita, da porção proximal para a distal, em molduras próprias de histologia. As molduras foram fixadas em solução de paraformaldeído 4% fresco e coradas com Hematoxilina/Eosina (H&E), para identificação histológica (Figura 5).

Os cortes histológicos foram realizados no sentido transversal, com espessura de 5 μ m. Foi convencionada a análise dos segmentos intestinais intermediários (jejuno-ileal), desta forma assegurando que, nos casos de fetos com gastrosquise, o segmento exposto ao LA seria sempre analisado e, além disso, que a comparação com os respectivos controles e shams fosse apropriada.

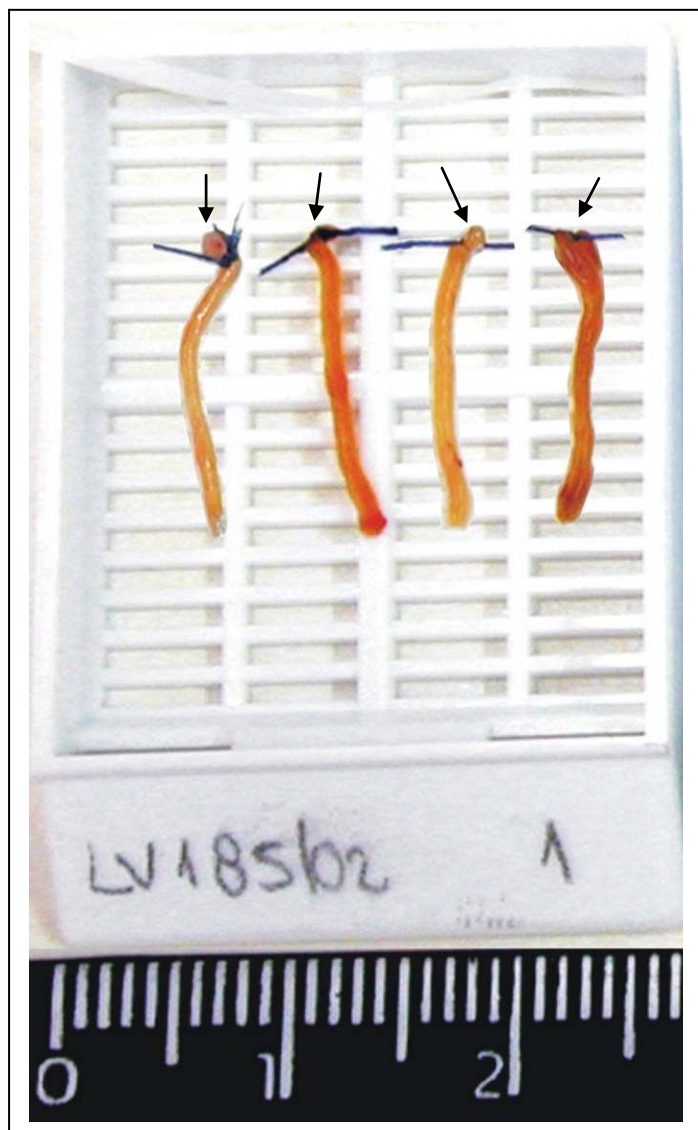


Figura 5- Fotografia mostra os segmentos intestinais sendo preparados para fixação em solução de paraformaldeído 4% fresco e, posteriormente, para coloração com a Hematoxilina/Eosina (H&E). As setas identificam as extremidades proximais.

Os cortes histológicos intestinais transversais foram fotografados utilizando o foto-microscópio Nikon Eclipse E800, com ampliação de 100 vezes para a avaliação do diâmetro intestinal (DI) e de 200 vezes para a medida das camadas da parede intestinal. As

imagens foram digitalizadas, possibilitando a medida do DI, camadas mucosa e submucosa, muscular circular, muscular longitudinal e serosa, através do programa Image Pro Plus®. As medidas, em micrômetros (μm), foram realizadas em orientação radial, nos quatro quadrantes de quatro cortes seqüenciais, de cada variável para cada feto. Foram analisadas das C, S e G de cada grupo, respectivamente 32 cortes C, 28 S e 32 G para o grupo E18,5 e 32 cortes para C, S e G para o grupo E19,5.

Análise Imunohistoquímica

O grau de maturidade dos plexos mioentéricos foi analisado pela sua imunorreatividade (IR) para α -Internexina, segundo Fausone-Pellegrini *et al.* (1999) (FAUSSONE-PELLEGRINI *et al.*, 1999). As lâminas foram deixadas em estufa a 56° Celsius por 30 minutos e depois foram imersas em xilol e xilol/etanol (1:1) por 10 e 3 minutos, respectivamente, para a retirada da parafina. A seguir, elas foram hidratadas em uma série de etanol (100, 95, 90, 70 e 50%, por 1 minuto em cada solução), e em água destilada (por 5 minutos). Os cortes foram então lavados em PBS 0,1M por 15 minutos (3 vezes de 5 minutos) e incubados por 1 hora em solução contendo BSA (3%) e Tween-20 (0,1%) em tampão PBS 0,1M para bloqueio de sítios inespecíficos. A seguir, os cortes foram incubados à temperatura de 4°, por 12 horas, com anticorpo primário policlonal de cabra anti-Internexina C-18 (sc-7570, Santa Cruz, CA, 1:100), diluído em PBS 0,1M contendo 1% de BSA e 0,3% de Triton X-100, e incubados por 12 horas.

No dia seguinte, as lâminas foram lavadas com PBS 0,1M (3 lavagens de 5 minutos cada), e incubados por 1 hora à temperatura ambiente, com anticorpo secundário anti-cabra produzido em burro e conjugado com TRITC (1:100, diluído em PBS 0,1M e 0,3% de Triton X-100). Os cortes foram então lavados com PBS por 3 vezes, durante 5 minutos e foram cobertos com uma solução de 4',6'-diamidino-2-phenilindol (DAPI 0,25 $\mu\text{g/ml}$; Sigma), por 5 minutos, para evidenciar os núcleos celulares. Após lavagem com PBS por 5 minutos, procedeu-se à montagem das lâminas em meio contendo DABCO (protetor de imunofluorescência) e glicerol. A observação da imunomarcagem foi feita em microscópio de fluorescência (Nikon 50i, USA), acoplado a uma câmera digital (Nikon DMX 1200F, USA), sendo as imagens adquiridas através do software ATC-1.



4- RESULTADOS

No presente estudo, das 12 ratas da raça Sprague-Dowley acasaladas, dez ratas conseguiram engravidar e forneceram 49 fetos. Destes, cinco morreram e foram excluídos (10%), com três fetos do subgrupo G, sendo dois fetos no grupo E18,5 e um feto no grupo E19,5 e dois fetos S, um feto em cada grupo, restando 44 fetos vivos (90%). Dos 44 fetos vivos, 23 foram estudados no E18,5, com 8 fetos C, 7 fetos S e 8 fetos G; e 21 foram estudados no E19,5, com 7 fetos C, 7 fetos S e 7 fetos G (Diagrama 2).

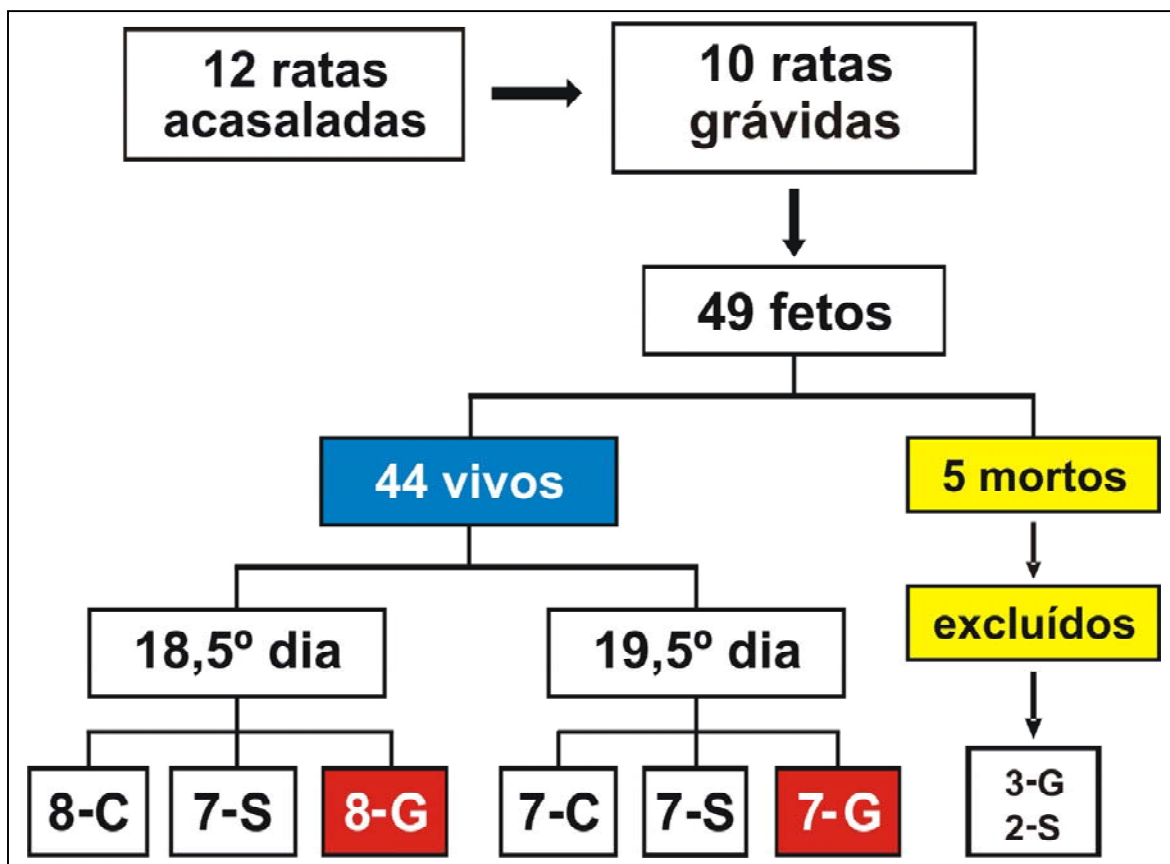
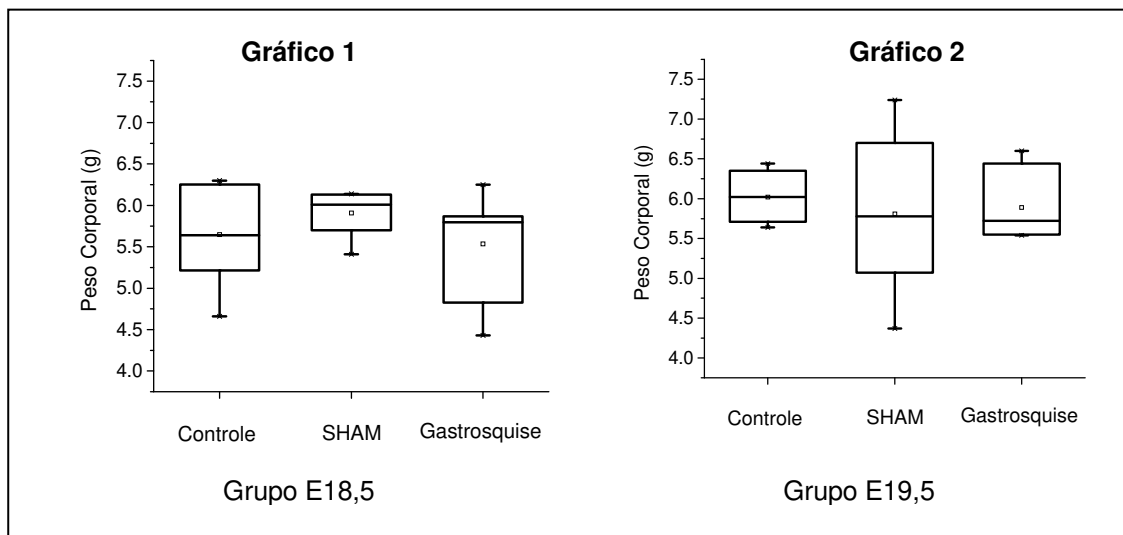


Diagrama 2- Representa o resultado do número de ratas e fetos que compuseram o estudo.

Resultados da Morfometria

Os fetos do grupo E18,5 apresentaram os seguintes pesos corpóreos em gramas (PC): C = 5,65 ($\pm 0,59$), S = 5,91 ($\pm 0,26$), e G = 5,54 ($\pm 0,68$), não apresentando diferença estatística significativa entre os três subgrupos ($p=0,793$). Os fetos do grupo E19,5, apresentaram os seguintes pesos corpóreos em gramas (PC): C = 6,02 ($\pm 0,30$), S = 5,81 ($\pm 0,96$), e G = 5,89 ($\pm 0,44$), e também não apresentaram diferença estatística significativa entre os três subgrupos ($p=0,793$) (Gráficos 1 e 2). Quando comparado o PC dos fetos dos três subgrupos (C, S e G) entre os grupos E18,5 e E19,5, não houve diferença estatística significativa ($p=0,271$). Também não houve efeito significativo da interação entre os subgrupos nos dois grupos estudados ($p=0,389$) (Figuras 6 e 7).



Gráficos 1 e 2- Apresentam os valores do PC (g) dos fetos C, S e G, onde não houve diferença estatística significativa entre os subgrupos nos dois grupos E18,5 e E19,5 ($p=0,793$).

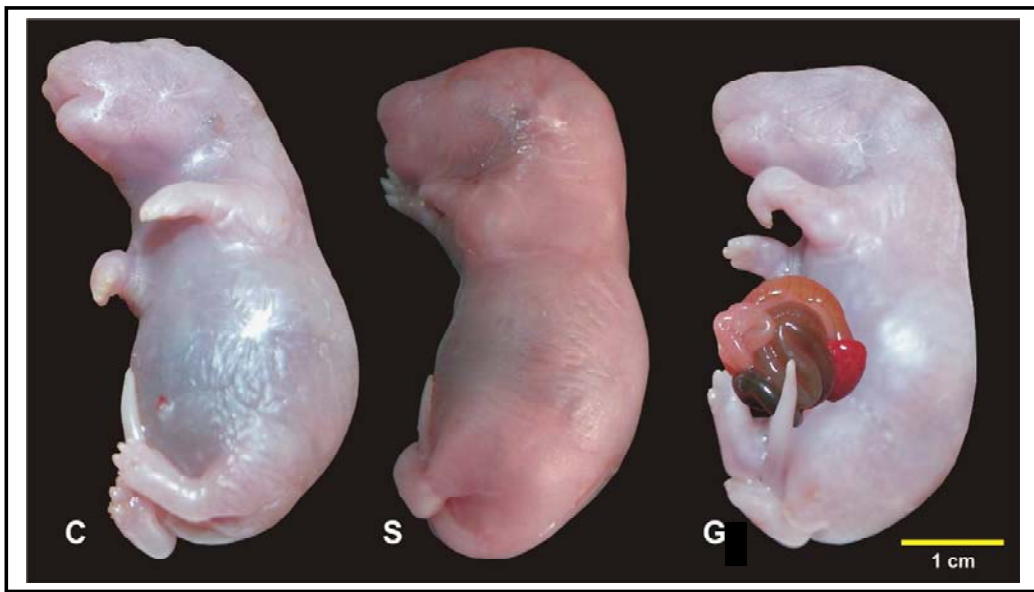


Figura 6- Fotografia mostra os fetos do grupo E18,5, sendo (C) controle, (S) sham e (G) gastrosquise. Notar a pequena diferença de tamanho entre C/S/G, apesar de não haver diferença estatística significativa entre os pesos corporais destes fetos ($p=0,793$).

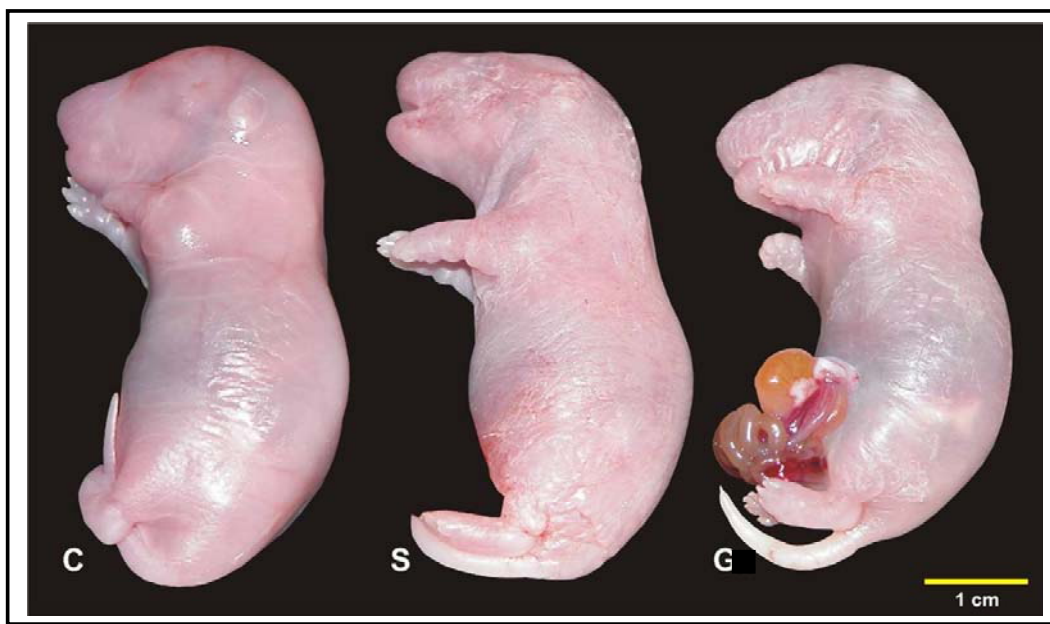
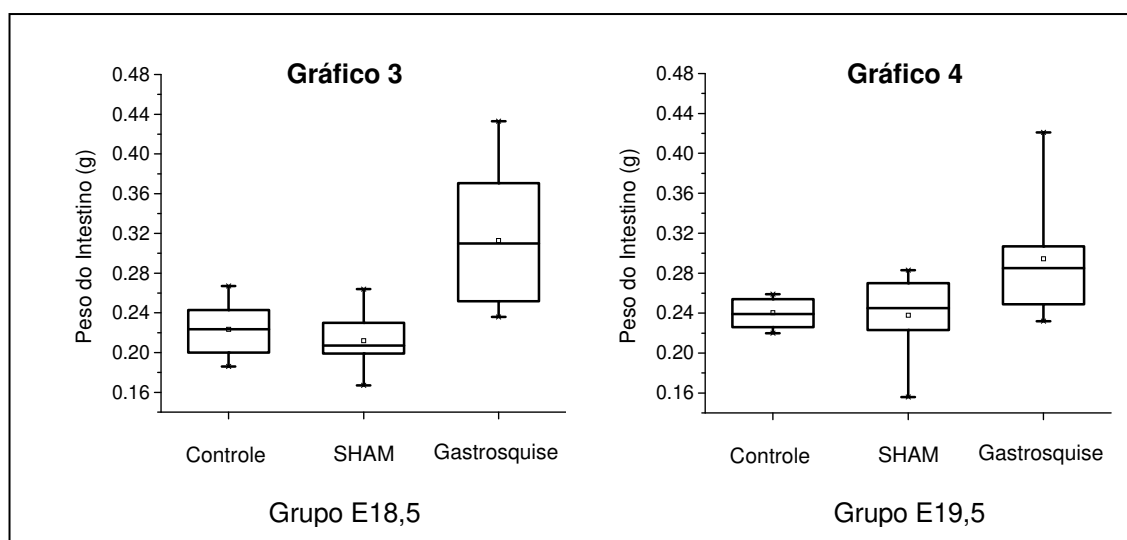


Figura 7- Fotografia mostra os fetos do grupo E19,5, sendo (C) controle, (S) sham e (G) gastrosquise. Notar a pequena diferença de tamanho entre C/S/G, apesar de não haver diferença estatística significativa entre os pesos corporais destes fetos ($p=0,793$).

Os fetos do grupo E18,5 apresentaram os seguintes pesos intestinais em gramas (PI): C = 0,22 ($\pm 0,03$), S = 0,21 ($\pm 0,03$), e G = 0,31 ($\pm 0,07$), apresentando diferença significativa entre os três subgrupos ($p < 0,001$, *teste de Tukey*) (Figura 8A). Os fetos do grupo E19,5, apresentaram os seguintes pesos intestinais em gramas (PI): C = 0,24 ($\pm 0,01$), S = 0,24 ($\pm 0,04$), e G = 0,29 ($\pm 0,06$); também houve diferença significativa entre os três subgrupos ($p < 0,001$, *teste de Tukey*) (Figura 8B) (Gráficos 3 e 4).

Quando comparado o PI dos fetos entre os três subgrupos (C, S e G) entre os dois grupos E18,5 e E19,5, não houve diferença significativa ($p = 0,386$). Também não houve interação entre os subgrupos nos dois grupos estudados ($p = 0,350$).



Gráficos 3 e 4- Apresentam os valores do PI (g) dos fetos C, S e G dos dois grupos E18,5 e E19,5. Notar que os fetos G apresentam PI maior que os fetos C e S ($p < 0,001$), em ambos os grupos.

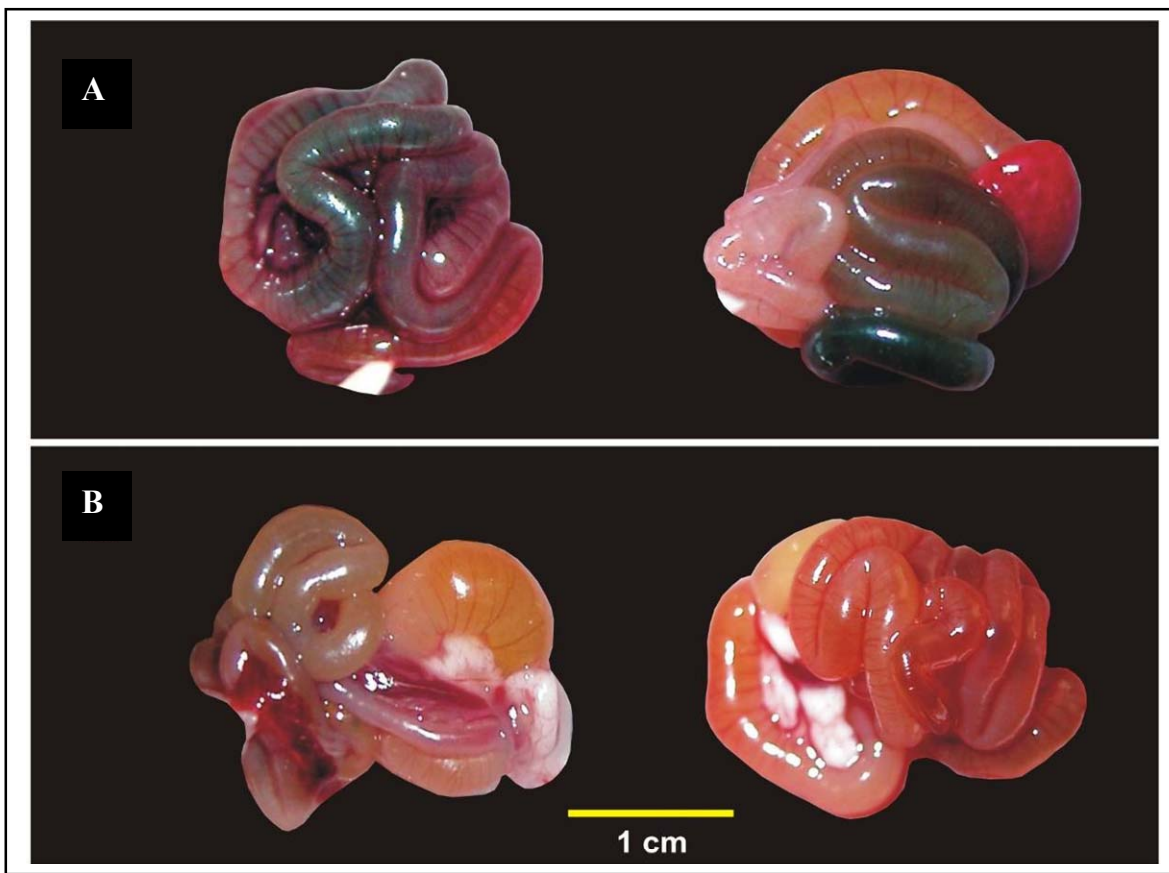
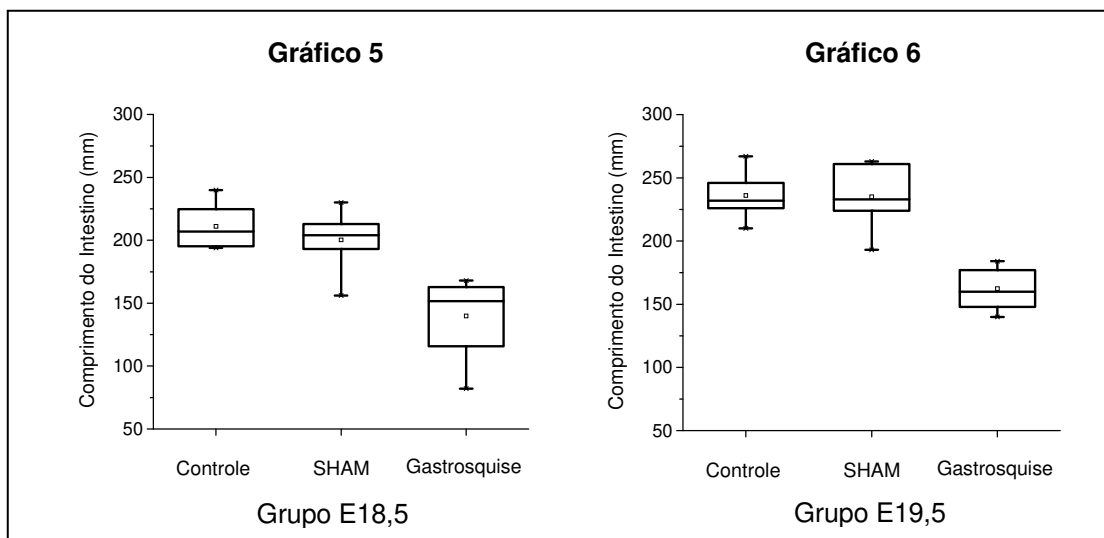


Figura 8- Fotografia mostra intestinos de fetos de ratas submetidos a G experimental. Notar o aspecto mais escurecido e “espessado” dos intestinos dos fetos do grupo E18,5 (foto A), e o aspecto mais claro e “normal” dos fetos do grupo E19,5 (foto B), cujo tempo de exposição ao LA foi menor.

Os fetos do grupo E18,5 apresentaram os seguintes comprimentos intestinais em milímetros (CI): C = 211,00 ($\pm 17,24$), S = 200,29 ($\pm 23,04$), e G = 139,88 ($\pm 30,17$), apresentando diferença estatística significativa entre os três subgrupos ($p < 0,001$, *teste de Tukey*) (Figura 7). Os fetos do grupo E19,5, apresentaram os seguintes comprimentos intestinais em milímetros (CI): C = 236,00 ($\pm 17,77$), S = 235,00 ($\pm 24,39$), e G = 162,43 ($\pm 16,54$); também houve diferença estatística significativa entre os três subgrupos ($p < 0,001$, *teste de Tukey*) (Gráficos 5 e 6).



Gráficos 5 e 6- Apresentam os valores do CI (mm) dos fetos C/S/G dos dois grupos E18,5 e E19,5. Notar que os fetos G do grupo E18,5 apresentam CI menor que os C e S ($p < 0,001$) para ambos os grupos.

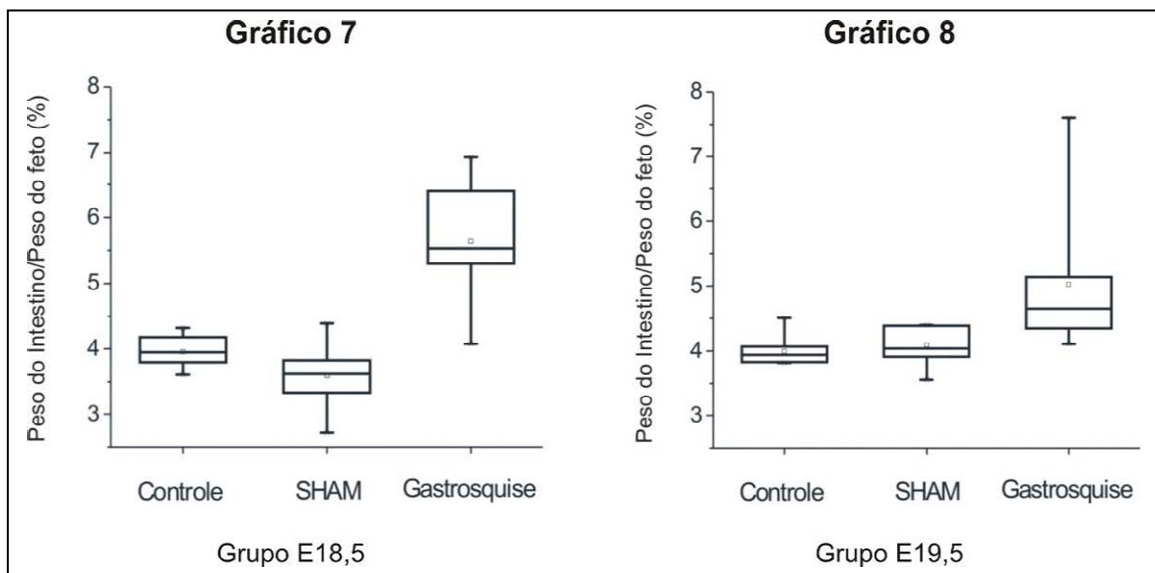
A comparação do CI dos fetos entre os três subgrupos (C, S e G) do grupo E18,5, apresentou diferença estatística significativa ($p = 0,001$) quando comparados com os fetos do grupo E19,5. Não houve interação entre os três subgrupos nos dois grupos estudados ($p = 0,833$) (Figura 9).



Figura 9- Fotografia dos intestinos dos fetos dos três subgrupos C/S/G do grupo E18,5, mostrando a diferença nos comprimentos dos intestinos dos fetos dos subgrupos C e S quando comparados com o comprimento do intestino dos fetos do subgrupo G ($p < 0,001$), para ambos os grupos.

Os fetos do grupo E18,5 apresentaram a seguinte relação PI/PC: C = 3,96 ($\pm 0,23$), S = 3,59 ($\pm 0,51$), e G = 5,64 ($\pm 0,87$), com diferença estatística significativa entre os três subgrupos ($p < 0,001$, *teste de Tukey*). Os fetos do grupo E19,5 apresentaram a seguinte relação PI/PC: C = 4,00 ($\pm 0,24$), S = 4,09 ($\pm 0,32$), e G = 5,02 ($\pm 1,18$); também houve diferença estatística significativa entre os três subgrupos ($p < 0,001$, *teste de Tukey*) (Gráficos 7 e 8).

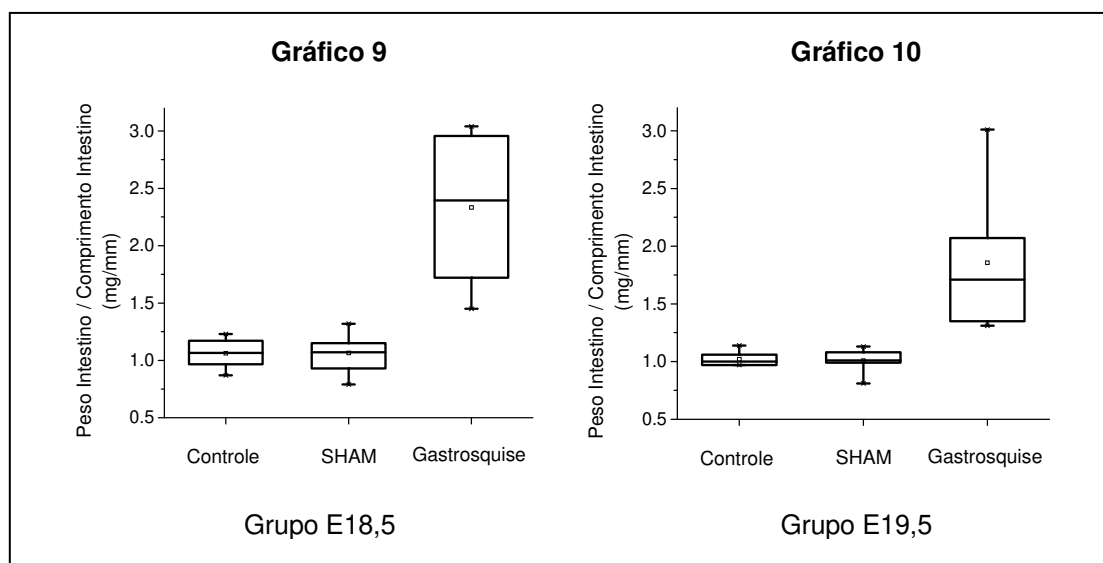
Quando comparada a relação PI/PC dos fetos entre os dois grupos E18,5 e E19,5, não houve diferença estatística significativa ($p = 0,850$), mas apresentou interação com diferença estatística significativa entre os três subgrupos em cada grupo ($p = 0,035$).



Gráficos 7 e 8- Apresentam os valores da relação de PI/PC (g/gx100) dos fetos C/S/G dos grupos E18,5 e E19,5. Notar que os fetos G do grupo A apresentam relação PI/PC maior que os C e S ($p < 0,001$). O mesmo ocorre no grupo E19,5. Há interação com diferença estatística significativa entre os fetos dos três subgrupos, para ambos os grupos ($p = 0,035$).

Os fetos do grupo E18,5 apresentaram a seguinte relação PI/CI: C = 1,06 ($\pm 0,12$), S = 1,07 ($\pm 0,17$), e G = 2,33 ($\pm 0,67$); houve diferença estatística significativa entre os três subgrupos ($p < 0,001$, *teste de Tukey*). Os fetos do grupo E19,5 apresentaram a seguinte relação PI/PC: C = 1,02 ($\pm 0,06$), S = 1,01 ($\pm 0,10$), e G = 1,86 ($\pm 0,58$), com diferença estatística significativa entre os três subgrupos ($p < 0,001$, *teste de Tukey*) (Gráficos 9 e 10).

A comparação da relação PI/CI entre os fetos dos dois grupos E18,5 e E19,5 não apresentou diferença estatística significativa ($p = 0,085$) e também não houve interação entre os três subgrupos nos dois grupos estudados ($p = 0,347$).



Gráficos 9 e 10- Apresentam os valores da relação PI/CI (mg/mm) dos fetos C/S/G dos grupos E18,5 e E19,5. Notar que os fetos G de E18,5 apresentaram PI/CI bem maior que os C e S ($p < 0,001$) do mesmo grupo. Não houve diferença estatística significativa na comparação PI/CI entre os dois grupos.

As tabelas 1 e 2 apresentam resumidamente todos os resultados morfométricos com as análises estatísticas comparativas.

Tabela 1- Apresenta os resultados das comparações das medidas dentre os três subgrupos (C, S e G) e dois grupos E18,5 e E19,5

Fetos	Controle		Sham		Gastrosquise	
Grupo	E18,5	E19,5	E18,5	E19,5	E18,5	E19,5
PC (g)	5,65 (±0,6)	6,02 (±0,3)	5,91 (±0,26)	5,81 (±0,96)	5,54 (±0,7)	5,89 (±0,44)
PI (g)	0,22 (±0,03)	0,24 (±0,01)	0,21 (±0,03)	0,24 (±0,04)	0,31 (±0,07)*	0,29 (±0,06)
CI (mm)	211 (±17)	236 (±18)	200 (±23)	235 (±24)	139 (±30)*	162 (±16)
PI/PC	3,96 (±0,23)	4,00 (±0,24)	3,59 (±0,51)	4,09 (±0,32)	5,64 (±0,87)*	5,02 (±1,18)
PI/CI	1,06 (±0,12)	1,02 (±0,06)	1,07 (±0,17)	1,01 (±0,10)	2,33* (±0,67)	1,86 (±0,58)

* valores dos fetos submetidos à G experimental com diferença estatística significativa ($p < 0,001$), onde PC = peso corpóreo do feto (g). PI = peso do intestino (g) e CI = comprimento do intestino (mm), PI/PC e PI/CI.

Tabela 2- Representa os resultados das comparações das medidas dentre os três subgrupos (C, S e G) e dois grupos E18,5 e E19,5 e suas interações.

	Subgrupos	Grupos	Interação entre
	C x S x G	E18,5 x E19,5	Subgrupo e Grupo
PC (g)	p=0,793	p=0,271	p=0,389
PI (g)	p<0,001*	p=0,386	p=0,350
CI (mm)	p<0,001*	p=0,001*	p=0,833
PI/PC	p<0,001*	p=0,850	p=0,035
PI/CI	p<0,001*	p=0,035	p=0,347

* Significância estatística $p < 0,05$.

Resultados da Histologia

As medidas em micrômetros (μm) obtidas para os diâmetros D-I e D-II nos fetos C, S e G do grupo E18,5 foram: D-I: C=865,25 ($\pm 158,69$), S=871,99 ($\pm 106,71$) e G=1233,65 ($\pm 332,10$). Para D-II as medidas foram: C=835,86 ($\pm 94,07$), S=832,96 ($\pm 66,00$) e G=1014,85 ($\pm 237,29$) (Figura 10). As medidas obtidas para a mucosa foram: C=26,76 ($\pm 5,10$), S=26,10 ($\pm 3,07$) e G=33,00 ($\pm 10,14$). As medidas obtidas para a camada muscular circular foram: C=10,81 ($\pm 1,50$), S=9,95 ($\pm 1,11$) e G=16,38 ($\pm 4,31$). As medidas obtidas para a camada muscular longitudinal foram: C=8,14 ($\pm 0,75$), S=7,55 ($\pm 0,87$) e G=10,69 ($\pm 2,69$). As medidas em micrômetros (μm) obtidas para a serosa foram: C=2,48 ($\pm 0,36$), S=2,53 ($\pm 0,26$) e G=3,38 ($\pm 0,62$). Os resultados de todas as medidas dos diâmetros (D-I e D-II) e das 4 camadas da parede intestinal do grupo E18,5, com valores de média e desvio padrão são apresentados na Tabela 3.



Figura 10- Fotomicrografia (10x) dos diâmetros dos intestinos dos fetos de ratas dos três subgrupos C/S/G do grupo E18,5.

Tabela 3- Representa a comparação da média dos valores em micrômetros (μm) e os desvios-padrão das camadas intestinais dos fetos do grupo E18,5.

Camadas	Controle	Sham	Gastrosquise
D-I	865,25 ($\pm 158,69$)	871,99 ($\pm 106,71$)	1233,65 ($\pm 332,10$)*
D-II	835,86 ($\pm 94,07$)	832,96 ($\pm 66,00$)	1014,85 ($\pm 237,29$)*
Mucosa	26,76 ($\pm 5,10$)	26,10 ($\pm 3,07$)	33,00 ($\pm 10,14$)*
M. Circular	10,81 ($\pm 1,50$)	9,95 ($\pm 1,11$)	16,38 ($\pm 4,31$)*
M. Longitudinal	8,14 ($\pm 0,75$)	7,55 ($\pm 0,87$)	10,69 ($\pm 2,69$)*
Serosa	2,48 ($\pm 0,36$)	2,53 ($\pm 0,26$)	3,38 ($\pm 0,62$)*

* Significância estatística $p < 0,005$.

As medidas em micrômetros (μm) obtidas para os diâmetros D-I e D-II nos fetos C, S e G do grupo E19,5 foram: D-I: C=874,83 ($\pm 82,45$), S=927,55 ($\pm 137,37$) e G=1146,13 ($\pm 192,01$). Para D-II as medidas foram: C=993,59 ($\pm 153,71$), S=1015,72 ($\pm 97,63$) e G=1163,07 ($\pm 202,30$) (Figura 11). As medidas em micrômetros (μm) obtidas para a mucosa foram: C=22,35 ($\pm 5,65$), S=23,38 ($\pm 4,54$) e G=39,07 ($\pm 10,33$). As medidas em micrômetros (μm) obtidas para a camada muscular circular foram: C=13,23 ($\pm 2,16$), S=9,94 ($\pm 1,58$) e G=17,58 ($\pm 4,25$). As medidas obtidas para a camada muscular longitudinal foram: C=7,09 ($\pm 1,21$), S=5,66 ($\pm 1,54$) e G=12,85 ($\pm 4,67$). As medidas obtidas para a serosa foram: C=1,19 ($\pm 0,21$), S=1,10 ($\pm 0,24$) e G=2,09 ($\pm 1,01$). O resultado de todas as medidas dos diâmetros (D-I e D-II) e das 4 camadas da parede intestinal do grupo E19,5, com valores de média e desvio padrão, são apresentados na Tabela 4.

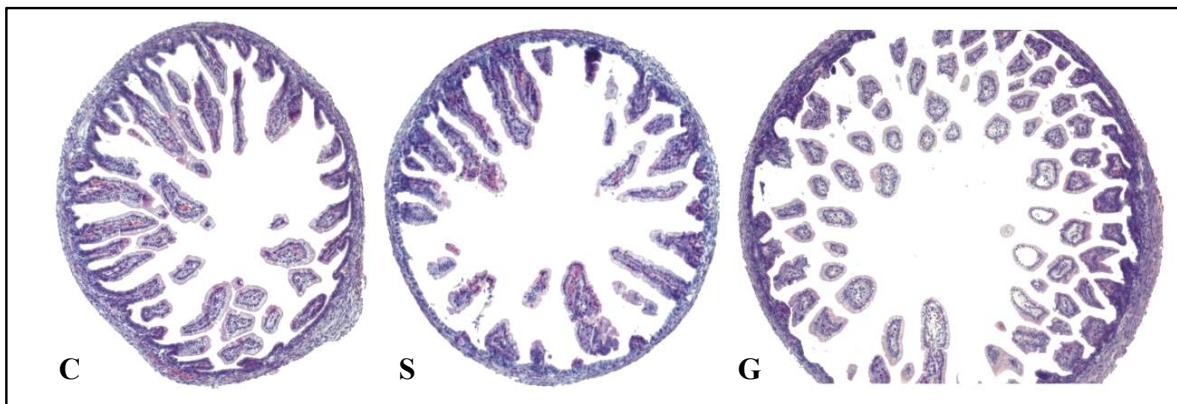


Figura 11- Fotomicrografia (10x) dos diâmetros dos intestinos dos fetos de ratas dos três subgrupos C/S/G, do grupo E19,5.

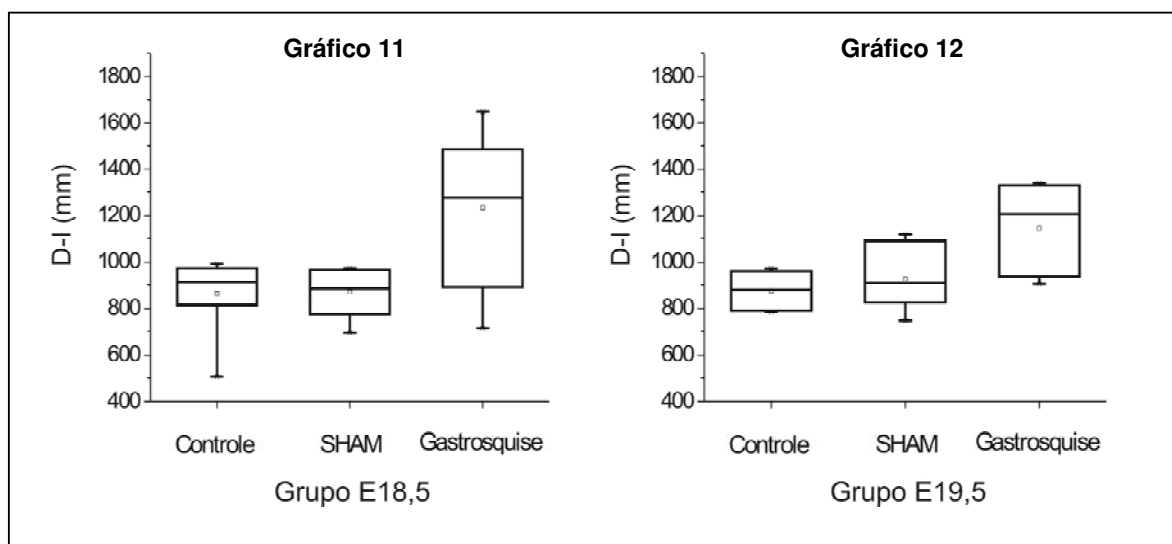
Tabela 4- Representa a comparação da média dos valores dos diâmetros D-I e D-II (mm) e os desvios-padrão e das camadas intestinais (μm) dos fetos do grupo E19,5.

Camada	Controle	Sham	Gastrosquise
D-I	874,83 ($\pm$ 82,45)	927,55 ($\pm$ 137,37)	1146,13 ($\pm$ 192,01)*
D-II	993,59 ($\pm$ 153,71)	1015,72 ($\pm$ 97,63)	1163,07 ($\pm$ 202,30)*
Mucosa	22,35 ($\pm$ 5,65)	23,38 ($\pm$ 4,54)	39,07 ($\pm$ 10,33)*
M. Circular	13,23 ($\pm$ 2,16)	9,94 ($\pm$ 1,58)	17,58 ($\pm$ 4,25)*
M. Longitudinal	7,09 ($\pm$ 1,21)	5,66 ($\pm$ 1,54)	12,85 ($\pm$ 4,67)*
Serosa	1,19 ($\pm$ 0,21)	1,10 ($\pm$ 0,24)	2,09 ($\pm$ 1,01)*

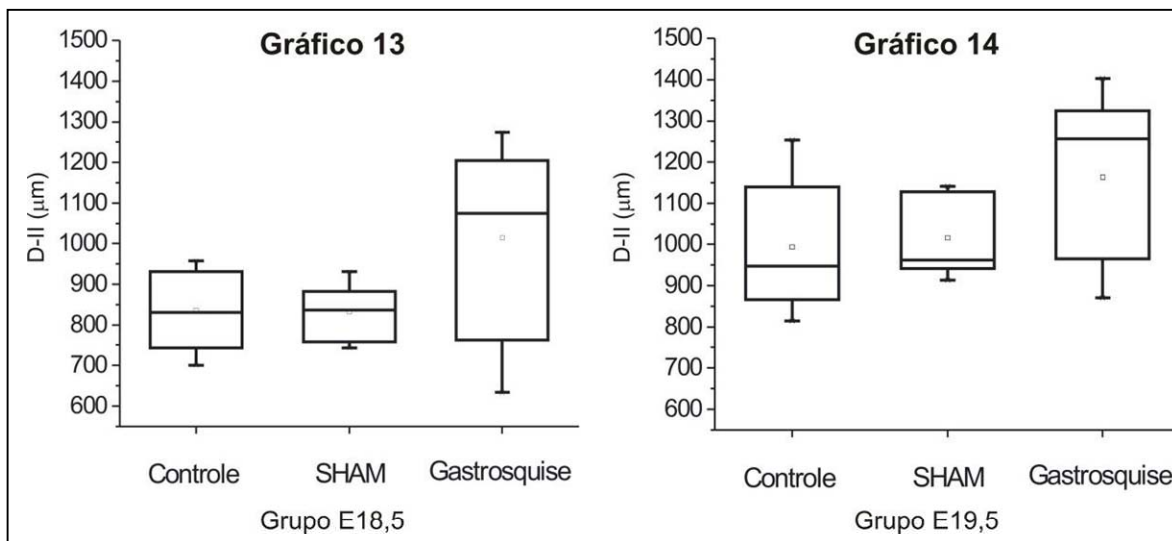
* Significância estatística $p < 0,005$.

A análise comparativa geral das medidas de D-I nos três subgrupos C, S e G, apresentou diferença significativa com $p < 0,001$ (*teste de Tukey*), em todos os cortes seccionais quando comparados. A análise comparativa geral das medidas de D-II nos três subgrupos C, S e G apresentou diferença significativa com $p = 0,015$ (*teste de Tukey*). Na

análise comparativa entre os grupos E18,5 e E19,5, apenas D-II apresentou diferença significativa ($p < 0,001$, *Tukey*), em todos os cortes seccionais. O efeito da interação entre os três subgrupos e os dois grupos não foi significativo para nenhum dos diâmetros ($p = 0,735$ para D-I e $p = 0,916$ para D-II, *Tukey*). Os gráficos 11 a 14 representam a comparação dos diâmetros D-I e D-II, entre os subgrupos C/S/G e grupos E18,5 e E19,5.

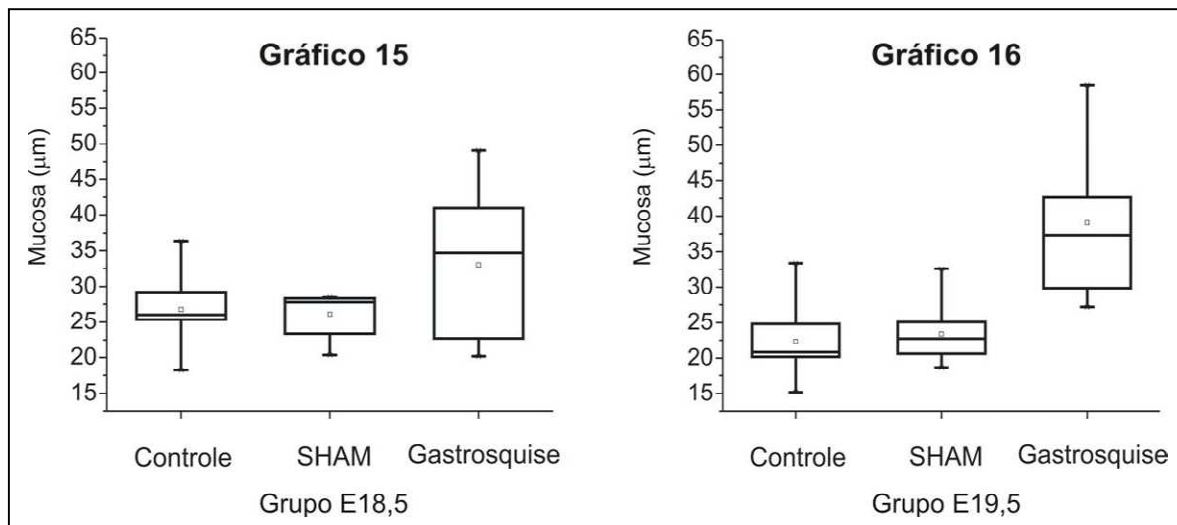


Gráficos 11 e 12- Representam o valor das medidas de D-I (mm) nos grupos E18,5 e E19,5, suas médias e desvios-padrão na comparação entre os três subgrupos.



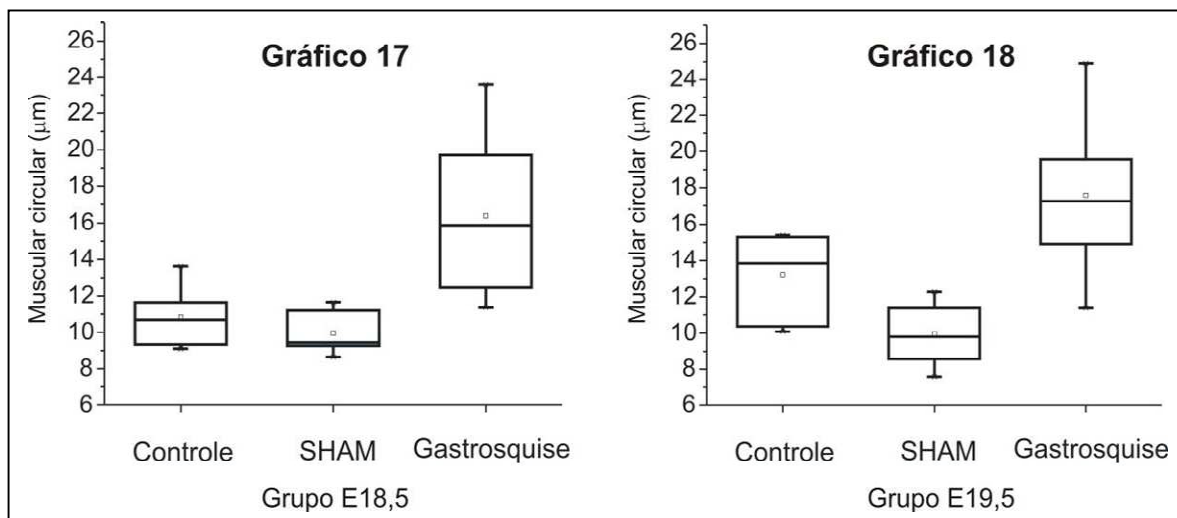
Gráficos 13 e 14- Mostram o valor das medidas de D-II (mm) nos grupos E18,5 e E19,5, suas médias e desvios-padrão na comparação entre os três subgrupos.

A análise comparativa geral das medidas da mucosa nos três subgrupos (C, S e G), apresentou diferença significativa com $p < 0,001$ (*teste de Tukey*). A análise comparativa das medidas da mucosa entre os grupos E18,5 e E19,5 não apresentou diferença estatística significativa ($p = 0,570$, *teste de Tukey*). O efeito da interação entre os três subgrupos e os dois grupos não foi significativo para nenhuma das medidas ($p = 0,089$, *teste de Tukey*) (Tabela 5 e Gráficos 15 e 16).



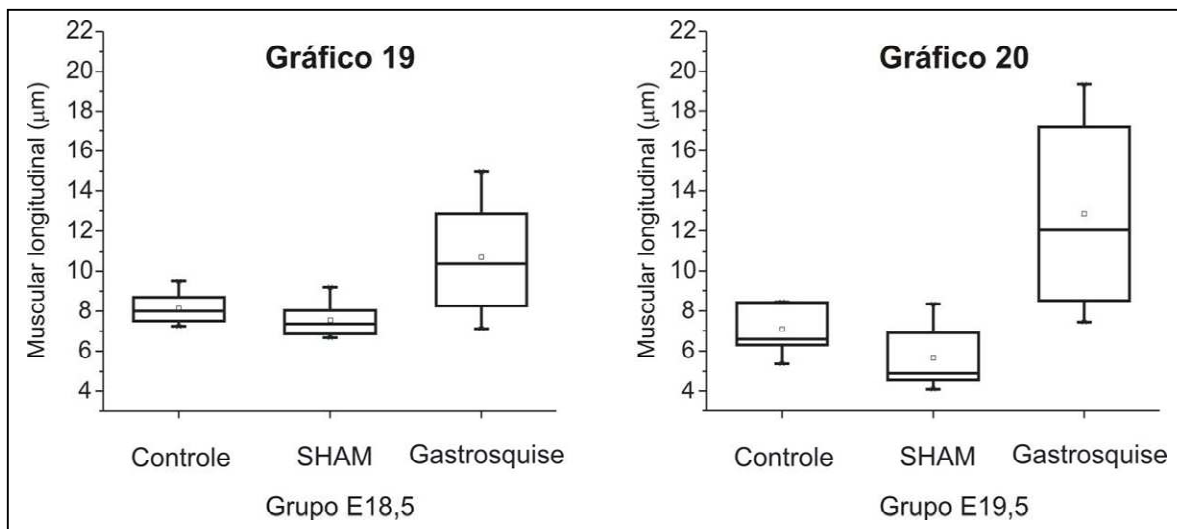
Gráficos 15 e 16- Mostram o valor das medidas da mucosa (μm) nos dois grupos E18,5 e E19,5, suas médias e desvios-padrão na comparação entre os três subgrupos.

A análise comparativa geral das medidas da camada muscular circular nos três subgrupos (C, S e G), apresentou diferença significativa com $p < 0,001$ (*teste de Tukey*). A análise comparativa das medidas da camada muscular circular entre os dois grupos E18,5 e E19,5 não apresentou diferença significativa ($p = 0,160$, *Tukey*). O efeito da interação entre os três subgrupos e os dois grupos não foi significativo para nenhuma das medidas ($p = 0,358$, *Tukey*) (Tabela 5 e Gráficos 17 e 18).



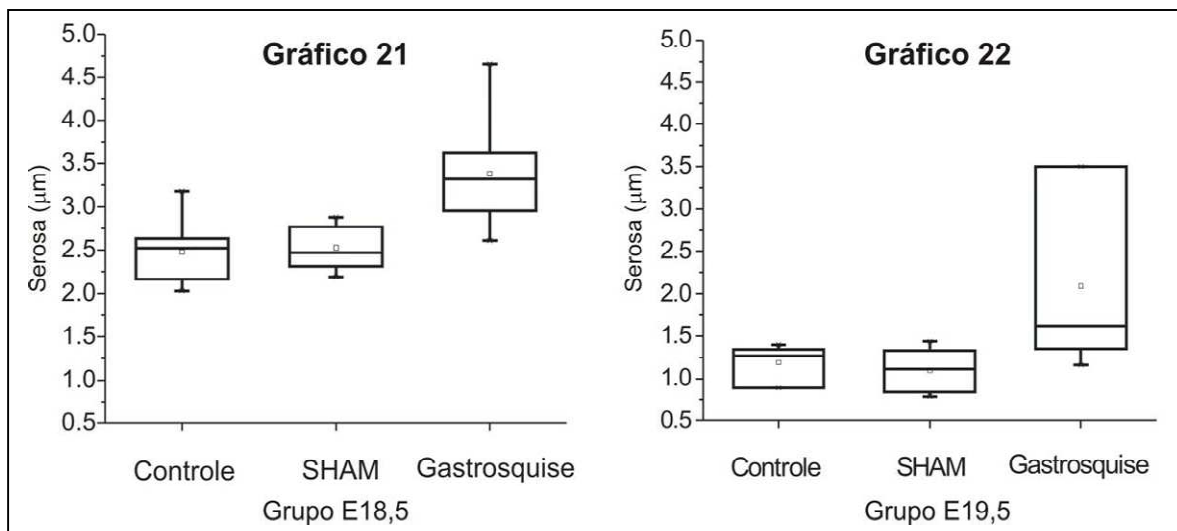
Gráficos 17 e 18- Mostram o valor das medidas da camada muscular circular (µm) nos dois grupos E18,5 e E19,5 e suas médias e desvios-padrão na comparação entre os três subgrupos.

A análise comparativa geral das medidas da camada muscular longitudinal nos três subgrupos (C, S e G), apresentou diferença significativa com $p < 0,001$ (*teste de Tukey*). A análise comparativa das medidas da camada muscular longitudinal entre os grupos E18,5 e E19,5 não apresentou diferença significativa ($p = 0,083$, *teste de Tukey*). O efeito da interação entre os três subgrupos e os dois grupos foi significativo para todas as medidas ($p = 0,021$, *teste de Tukey*) (Tabela 5 e Gráficos 19 e 20).



Gráficos 19 e 20- Mostram o valor das medidas da camada muscular longitudinal (μm) nos dois grupos E18,5 e E19,5 e suas médias e desvios-padrão na comparação entre os três subgrupos.

A análise comparativa geral das medidas da serosa nos três subgrupos (C, S e G), apresentou diferença significativa com $p < 0,001$ (*teste de Tukey*). A análise comparativa das medidas da serosa entre os grupos E18,5 e E19,5 apresentou diferença estatística significativa em todas secções ($p < 0,001$, *Tukey*). O efeito da interação entre os três subgrupos e os dois grupos não foi significativo para nenhuma das medidas ($p = 0,191$, *Tukey*) (Tabela 5 e Gráficos 21 e 22).



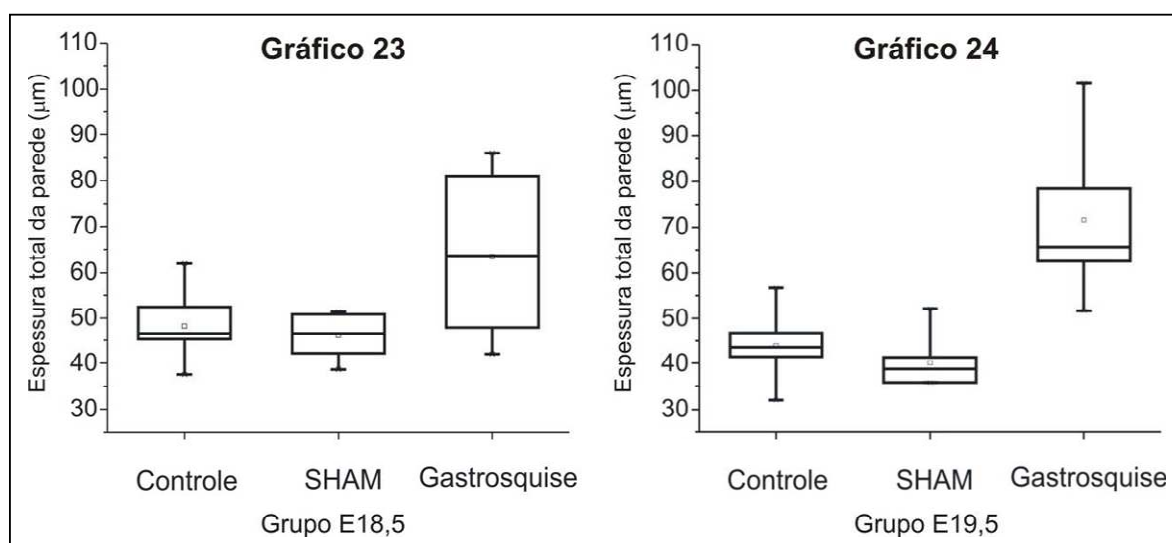
Gráficos 21 e 22- Mostram os valores das medidas da camada serosa (μm) nos dois grupos E18,5 e E19,5 e suas médias e desvios-padrão na comparação entre os três subgrupos.

Tabela 5- Comparações das medidas dos diâmetros e de todas as camadas entre os subgrupos C/S/G e grupos E18,5 x E19,5 e a interação entre subgrupo x gestação.

	Subgrupos	Grupos	Interação entre
	C x S x G	E18,5 x E19,5	Subgrupo e Grupo
D I	p<0,001*	p=0,800	p=0,735
D II	p<0,015*	p<0,001*	p=0,916
Mucosa	p<0,001*	p=0,570	p=0,089
Muscular Circular	p<0,001*	p=0,160	p=0,358
Muscular Longitudinal	p<0,001*	p=0,083	p=0,021*
Serosa	p<0,001*	p<0,001*	p=0,191

* Significância estatística $p<0,05$, para análise de Variância para medidas repetidas e teste post-hoc de Tukey.

Os fetos do grupo E18,5 apresentaram os seguintes valores para a espessura da parede intestinal (μm): C = 48,19 ($\pm 7,13$), S = 46,13 ($\pm 4,51$), e G = 63,46 ($\pm 16,54$), com diferença estatística significativa entre os três subgrupos ($p=0,013$). Os fetos do grupo E19,5 apresentaram os seguintes valores para a espessura da parede intestinal (μm): C = 43,85 ($\pm 7,36$), S = 40,08 ($\pm 5,75$), e G = 71,60 ($\pm 16,17$), também houve diferença estatística significativa entre os três subgrupos ($p<0,001$). Quando comparada a espessura total da parede intestinal de fetos dos três subgrupos (C, S e G) entre os grupos E18,5 e E19,5, não houve diferença significativa ($p=0,476$). Também não apresentou interação entre os subgrupos nos dois grupos estudados ($p=0,104$), conforme Gráficos 23 e 24 e Figuras 12 e 13.



Gráficos 23 e 24- Mostram os valores das medidas da espessura da parede intestinal (μm) nos dois grupos E18,5 e E19,5 e suas médias e desvios-padrão na comparação entre os três subgrupos.

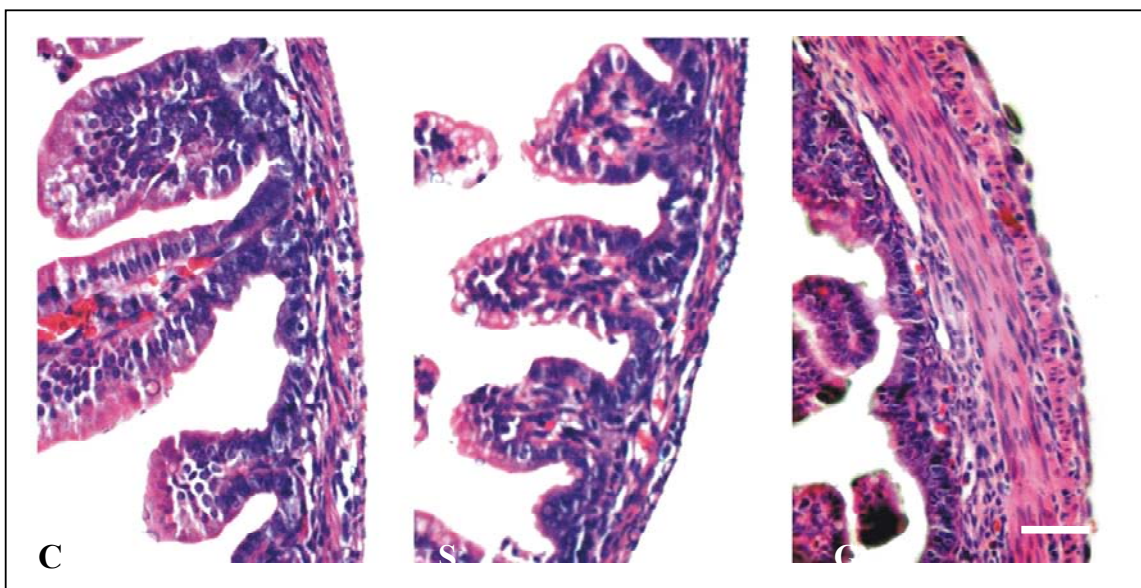


Figura 12- Fotomicrografia (40x) das espessuras das paredes dos intestinos dos fetos de ratas dos três subgrupos C/S/G do grupo E18,5, $p=0,013$ (barra: 30 μ m).

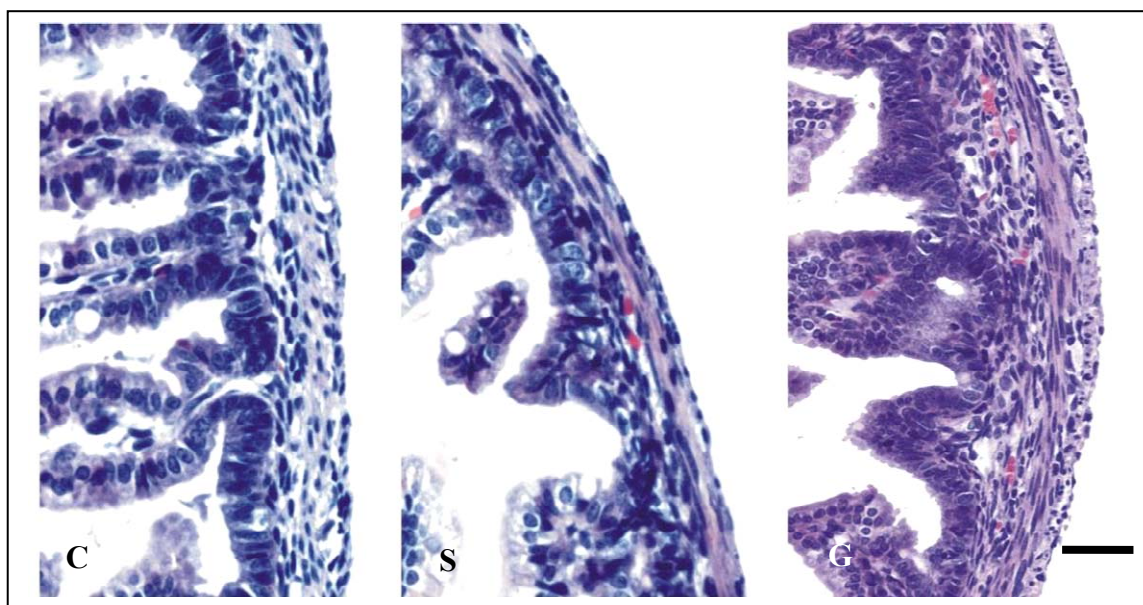


Figura 13- Fotomicrografia (40x) das espessuras das paredes dos intestinos dos fetos de ratas dos três subgrupos C/S/G do grupo E19,5, $p<0,001$ (barra: 30 μ m).

Resultado da Imunohistoquímica da α -Internexina

Os plexos mioentéricos dos fetos G apresentaram imunorreatividade mais intensa, sendo marcados pela α -Internexina tanto no grupo do dia E18,5 (Figura 14), quanto no do dia E19,5 (Figura 15).

Os plexos mioentéricos dos fetos G do grupo E18,5, expostos ao LA por mais tempo, apresentaram maior imunorreatividade à α -Internexina, evidenciando maior presença de células neuronais imaturas. A imunofluorescência pela α -Internexina apresentou baixa ou nenhuma imunorreatividade nas paredes intestinais dos fetos C e S dos dois grupos.

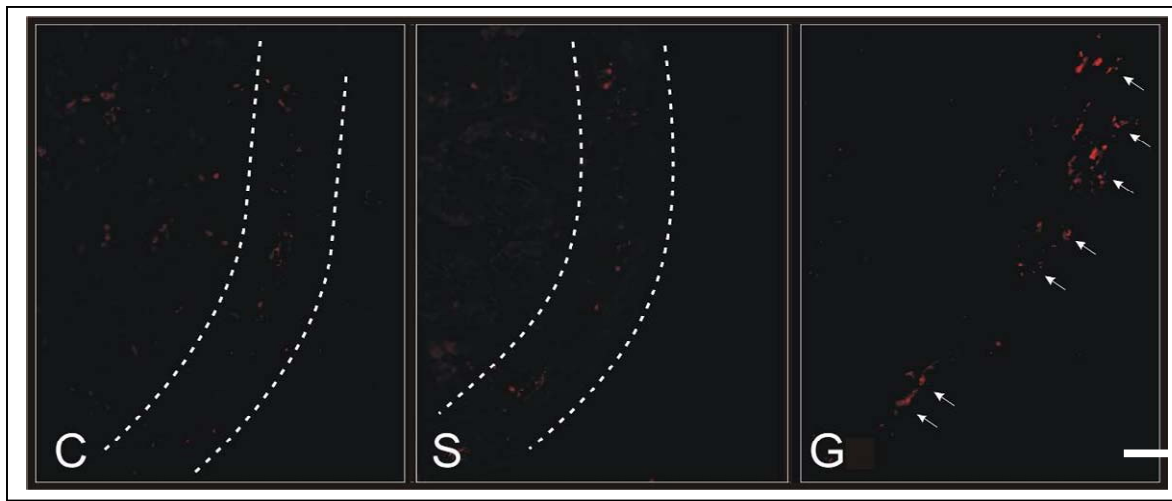


Figure 14- Imonufluorescência de parede intestinal de fetos C/S/G do grupo E18,5, evidenciando os plexos mioentéricos mais lesados pelo LA, mostrando as células neuronais imaturas que foram mais intensamente marcadas pela α -Internexina nos fetos G (setas). As linhas tracejadas em C e S mostram o trajeto das paredes intestinais sem marcação, (40x) (barra: 30 μ m).

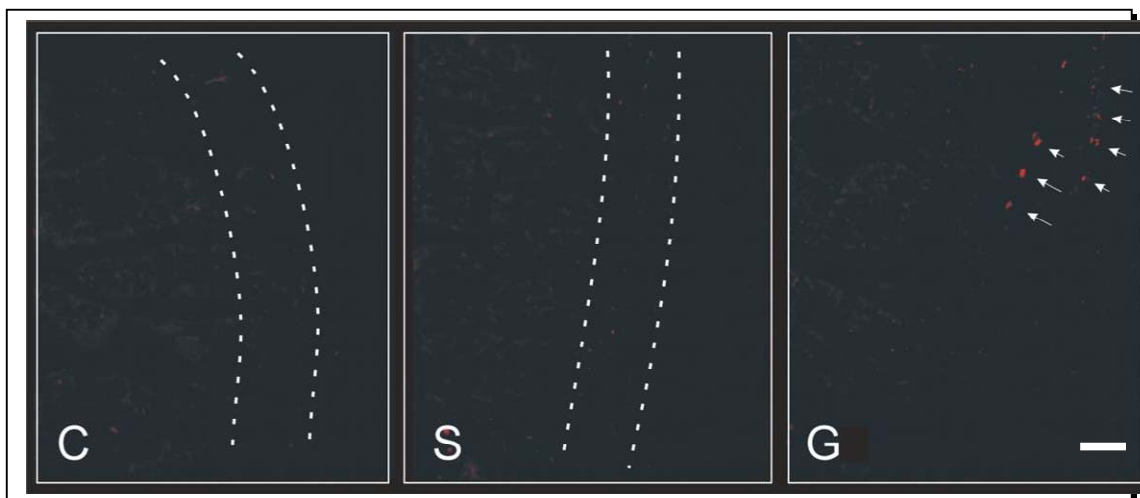


Figure 15- Imunofluorescência da parede intestinal de fetos C/S/G do grupo E19,5, evidenciando os plexos mioentéricos mais lesados pelo LA, mostrando células neuronais imaturas, em menor quantidade que no grupo E18,5, que foram mais intensamente marcadas pela α -Internexina nos fetos G (setas). As linhas tracejadas em C e S mostram o trajeto das paredes intestinais sem marcação, (40x) (barra: 30 μ m).



5- DISCUSSÃO

Gastrosquise é uma doença congênita rara e de etiologia desconhecida, na qual as alças intestinais expostas ao LA levam a alterações funcionais no período pós-natal, como hipomotilidade intestinal e a distúrbios na capacidade de absorção de nutrientes (SANTOS *et al.*, 2003; GUO *et al.*, 1995).

Os danos anatômico e funcional ao intestino ocorrem não apenas pelo contato direto com o LA, mas principalmente pela ação do mecônio liberado pelo feto durante a gestação (API *et al.*, 2001) e pelo tempo de exposição ao LA, que agravam a lesão da parede intestinal (LANGER *et al.*, 1989; SRINATHAN *et al.*, 1995).

O comprometimento das alças intestinais na G ocorre mais no final da gestação, em fetos humanos, e as lesões são mais acentuadas após a 30^a semana de gestação com a formação de uma fina camada fibrosa (*fibrous peel*), a qual promove alterações progressivas na serosa intestinal (LANGER *et al.*, 1990; TIBBOEL *et al.*, 1986).

Devido a isso, o modo e a antecipação do parto, embora não tenham um consenso na conduta no feto com G, seriam formas de se evitar o dano às alças intestinais (MOORE *et al.*, 1999; HUANG *et al.*, 2002).

Quanto ao modo de parto, há uma tendência ao parto vaginal deixando a cesariana apenas para indicações obstétricas ou quando existe sofrimento fetal (HOW *et al.*, 2000; PULIGANDLA *et al.*, 2004), enquanto outros acreditam que fetos com G poderiam se beneficiar com parto cesárea no termo da gestação (HUANG *et al.*, 2002).

Quanto à antecipação do parto, as vantagens seriam uma maior facilidade da correção primária, com menor mortalidade e menor período de hospitalização, pois estariam minimizadas as alterações estruturais morfológicas e histológicas do intestino exposto ao LA do final da gestação (FITZSIMMONS *et al.*, 1988; DUNN *et al.*, 1999).

As alterações estruturais mais freqüentemente encontradas no intestino da G são: espessamento de suas paredes, aumento do peso, encurtamento do comprimento e aparecimento da fina camada fibrosa que recobre a serosa (DEANS *et al.*, 1999; COREIA-PINTO *et al.*, 2002).

Na G de modelos experimentais em coelhos, avaliando um único período de exposição intestinal ao LA, o diâmetro intestinal estava aumentado enquanto que o peso corporal, o peso e o comprimento intestinal, estavam diminuídos (ALBERT *et al.*, 1992; ALBERT *et al.*, 1993). Resultados similares foram obtidos na G experimental em ovelhas (LANGER *et al.*, 1989).

Neste estudo de G em ratos nós encontramos o CI menor ($p<0,001$) e o PI maior ($p<0,001$) nos fetos G, quando comparados com fetos C e S em ambos os grupos E18,5 e E19,5, sendo estes resultados semelhantes aos encontrados por Correia-Pinto *et al.* (2001). No entanto, nós verificamos que o CI foi menor nos fetos com G do E18,5 que do E19,5 ($p=0,001$), ou seja, maior tempo de exposição ao LA causou maior encurtamento.

Os diâmetros dos intestinos dos fetos G (D-I e D-II) foram maiores que os de fetos C e S ($p<0,001$ e $p=0,015$, respectivamente) em ambos os grupos, resultados semelhantes aos de ALBERT *et al.*, (2003) (ALBERT *et al.*, 2003). De comportamento similar ao CI, D-II também apresentou diferença estatística significativa quando comparado às medidas entre os dois grupos, isto é, o D-II de fetos G/E18,5 foi menor que em G/E19,5 ($p<0,001$). O PC não apresentou diferença significativa nem nos subgrupos ($p=0,793$), nem nos dias E18,5 e E19,5 ($p=0,271$); estes resultados são diferentes de ALBERT *et al.* (2001) e FRANCHI-TEIXEIRA *et al.* (2005), que encontraram PC menores nos fetos G.

Nós verificamos na análise comparativa das medidas da camada serosa, que ela estava aumentada nos fetos G dos subgrupos ($p<0,001$), bem como entre os dias do E18,5 e E19,5 ($p=0,035$), o mesmo encontrado nos modelos de coelhos (ALBERT *et al.*, 2003) e embriões de galinhas (YU *et al.*, 2004). Estes resultados reforçam o efeito nocivo na evolução da gestação sobre as alças intestinais especialmente na camada serosa.

Na avaliação histométrica da parede intestinal da G experimental em ovelhas, as camadas muscular circular e longitudinal estavam aumentadas, mas a camada muscular longitudinal apresentou maior aumento e iniciou o espessamento mais precoce que a circular, sugerindo que a lesão desta camada da parede intestinal é mais comprometida quanto maior é o tempo de exposição ao LA (LANGER *et al.*, 1990; SRINATHAN *et al.*, 1995). Estes resultados demonstraram que o acometimento das camadas musculares também pode contribuir para explicar a hipomotilidade e a mal-absorção intestinal.

Nós encontramos em G de ratos, espessamento da camada circular e longitudinal nos três subgrupos ($p < 0,001$) em ambos os dias, e embora não tenhamos encontrado diferença significativa quando comparada à camada muscular longitudinal entre os dias E18,5 x E19,5 ($p = 0,083$), acreditamos que há uma tendência em espessar mais esta camada quanto maior é o tempo de exposição ao LA.

A camada mucosa estava aumentada na G de ambos os subgrupos ($p < 0,001$), mas não entre os dias gestacionais (E18,5xE19,5). O espessamento da mucosa também foi verificado na G de ovelha, com coadjuvante aumento da submucosa (SRINATHAN *et al.*, 1995), bem como na G em coelho (ALBERT *et al.*, 2003) e parece que este espessamento da mucosa relaciona-se com diminuição da atividade das dissacaridases e contribui para a má-absorção intestinal neonatal (GUO *et al.*, 1995).

A α -Internexina é uma proteína dos neurofilamentos que está presente no sistema nervoso central e periférico, e está envolvida na diferenciação embrionária de células da linhagem mioentérica neuronal (FAUSSONI-PELLEGRINI *et al.*, 1999). Ela é também uma das responsáveis pela formação do citoesqueleto e pode ser considerada como um marcador da maturidade neuronal, pois aparece mais precocemente na vida embrionária e diminui sua imunorreatividade com o passar da vida fetal para neonatal e, se presente na fase adulta, é indicativo de imaturidade neuronal (VANNUCCHI *et al.*, 2003).

SANTOS *et al.*, (2003), encontraram diminuição da atividade da acetilcolinesterase e maior imaturidade dos plexos mioentéricos por meio da desidrogenase láctica (DHL) em modelo de G de coelhos.

VANNUCCHI *et al.* (2004), verificaram, por meio da imunorreatividade da α -Internexina nas alças intestinais da G em fetos E18,5, que havia diminuição da reação e conseqüente atraso na maturação neuronal, além de desorganização dos plexos mioentéricos.

Ambos achados poderiam explicar as alterações da atividade sináptica dos neurônios mioentéricos que afetam o controle da motilidade intestinal na G.

No presente estudo encontramos uma maior imunorreatividade da α -Internexina nos fetos G do grupo E18,5 e E.19,5 que nos fetos C e S de seus respectivos grupos. No entanto, a imunoreatividade da α -Internexina no grupo E18,5 foi maior que no grupo E19,5, ou seja, os plexos mioentéricos permaneceram mais imaturos quanto mais prolongado foi o período de exposição ao LA (Figura 14). Estes resultados são adicionais aos de VANNUCCHI *et al.* (2003 e 2004), cujos resultados foram apresentados em apenas um dia gestacional, E18,5.

Finalmente, pudemos resumir nossos achados de G em fetos de ratos que, quanto maior foi a exposição das alças intestinais ao LA, maior foi o acometimento sobre o comprimento, resultando em intestinos mais curtos, com maior espessamento da camada serosa e maior imaturidade dos plexos mioentéricos. Estes resultados são dados experimentais que podem corroborar com as supostas vantagens da antecipação do parto para fetos humanos com G, a fim de minimizar os efeitos nocivos do LA sobre a maturidade dos plexos mioentéricos.



6- CONCLUSÃO

Pudemos concluir que no modelo de G experimental de fetos de rato avaliados em 2 diferentes tempos de exposição ao LA (E18,5 e E19,5) na morfologia, o peso e o comprimento intestinais foram os mais acometidos que nos fetos C e S, e que o comprimento intestinal é cada vez menor conforme a exposição ao LA aumenta.

Na histologia, todas as camadas da parede intestinal sofreram alteração, ou seja, mucosa, muscular circular, muscular longitudinal e serosa estavam aumentadas na G com relação aos fetos C e S, e somente a camada serosa intestinal apresentou piora conforme o tempo de exposição ao LA.

Na imunohistoquímica, por meio da marcação da α -Internexina, os fetos G apresentaram maior imaturidade dos plexos mioentéricos quanto maior foi o tempo de exposição ao LA (E18,5).



7- ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para descrever o perfil da amostra segundo as variáveis em estudo, foram feitas estatísticas descritivas das variáveis contínuas, com valores de média, desvio padrão, valores mínimo e máximo e a mediana dos diâmetros dos segmentos intestinais e da espessura das 4 camadas estabelecidas: mucosa, muscular circular, muscular longitudinal e serosa. Para comparar as variáveis entre os subgrupos e demais fatores, foi utilizada a Análise de Variância para medidas repetidas (*Repeated Measures ANOVA*), para 2 fatores principais: subgrupos C, S e G e dois dias gestacionais, E18,5 e E19,5.

A comparação entre subgrupos C, S e G e os dias E18,5 e E19,5, foi realizada com o teste post-hoc de *Tukey*. Devido à ausência de distribuição normal das medidas, as análises foram feitas após transformação logarítmica dos dados ($\log_{10}$). O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi de 5%, ou seja, $p < 0,05$.



8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKTUG, T.; ERDAG, G.; KARGI, A.; AKGUR, F.M.; TIBBOEL, D. Amnio-allantoic fluid exchange for the prevention of intestinal damage in gastroschisis: An experimental study on chick embryos. **J Pediatr Surg**, 30(3):384-7, 1995.

ALBERT, A.; JULIA, M.V.; MORALES, L.; PARRI, F.J. Gastroschisis in the partially extraamniotic fetus: experimental study. **J Pediatr Surg**, 28(5):656-9, 1993.

ALBERT, A.; JULIA, V.; MORALES, L.; ROVIRA, J.; SANCHO, A.; BOMBI, JA. Role of the amniotic fluid in gastroschisis. An experimental study. **Cir Pediatr**, 5(1):12-6, 1992

ALBERT, A.; MARGARIT, J.; JULIA, V.; SANCHO, M.A.; GALAN, X.; LOPEZ, D.; MORALES, L. Morphology and mucosal biochemistry of gastroschisis intestine in urine-free amniotic fluid. **J Pediatr Surg**, 38 (8):1217-20, 2003.

ALBERT, A.; SANCHO, M.A.; JULIA, V.; DIAZ, F.; BOMBI, J.A.; MORALES, L. Intestinal damage in gastroschisis is independent of the size of the abdominal defect. **Pediatr Surg Int**, 17(2-3):116-9, 2001.

ALTSCHULER, S.M.; BAO, X.; BEIGER, D.; HOPKINS, D.A.; MISELIS, R.R. Viscerotopic representation of the upper alimentary tract in the rat: sensory ganglia and nuclei of the solitary and spinal trigeminal tract. **J Comp Neurol**, 283: 248-68, 1989.

ALTSCHULER, S.M.; FERENCI, D.A.; LYBB, R.B.; MISELIS, R.R. Representation of the cecum in the lateral dorsal motor nucleus of the Vagus nerve and commissural subnucleus of the nucleus tractus solitarii in rat. **J Comp Neurol**, 304: 261-74, 1991.

AMBROSE, S.S. – The Anterior Body Wall In: SKANDALAKIS JE, GRAY SW, **Embryology for Surgeons. The Embryological Basis for the Treatment of Congenital Anomalies** ed. 2nd, Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1972, p. 414-5.

AOKI, Y.; OHSHIO, T.; KOMI, N. An experimental study on gastroschisis using fetal surgery. **J Pediatr Surg**, 15:252-6, 1980.

API, A.; OLGUNER, M.; HAKGÜDER, G.; ATES, O.; ÖZER, E.; AKGÜR, F.M. Intestinal damage in gastroschisis correlates with the concentration of amniotic meconium **J Pediatr Surg**, 36(12): 1811-1915, 2001.

BEALER, J.F.; GRAF, J.; BRUCH, S.W.; ADZICK, N.S.; HARRISON, M.R. Gastroschisis increases small bowel nitric oxide synthase activity. **J Pediatr Surg**, 31:1043-5; discussion 1045-6, 1996.

BERTHOULD, H.R. *et al.* Simultaneous labeling of vagal innervation of the gut and afferent projection from the visceral forebrain with Dil injected into the dorsal vagal complex in the rat. **J Comp Neurol**, 1: 301, 1990.

BURRIN, D.G.; STOLL, B. Key nutrients and growth factors for the neonatal gastrointestinal tract. **Clin Perinatol**, 29: 65, 2002.

CIFTCI, A.O.; TANYEL, F.C.; ERCAN, M.T.; KARNAK, I.; BUYUKPAMUKCU, N.; HICSONMEZ, A. In utero defecation by the normal fetus: a radionuclide study in the rabbit. **J Pediatr Surg**, 31(10): 1409-12, 1996.

CORREIA-PINTO, J.; TAVARES, M.L.; BAPTISTA, M.J.; ESTEVAO-COSTA, J.; FLAKE, A.W.; LEITE-MOREIRA, A.F. A new fetal rat model of gastroschisis: development and early characterization. **J Pediatr Surg**, 36(1):213-6, 2001.

CORREIA-PINTO, J.; TAVARES, M.L.; BAPTISTA, M.J.; HENRIQUE-COELHO, T.; ESTEVAO-COSTA, J.; FLAKE, A.W.; LEITE-MOREIRA, A.F. Meconium dependence of bowel damage in gastroschisis. **J Pediatr Surg**, 37(1):31-5, 2002.

DAVIS M.W.; KIMBLE, R.M.; CARTWRIGTH, D.W. Gastroschisis: ward reduction compared with traditional reduction under general anesthesia. **J Pediatr Surg**, 40: 523-7, 2005.

DEANS, K.J.; MOONEY, D.P.; MEYER, M.M.; SHORTER, N.A. Prolonged intestinal exposure to amniotic fluid does not result in peel formation in gastroschisis. **J Pediatr Surg**, 34:975-976, 1999.

DILORENZO, C.; HYMAN, P.E. Gastrointestinal motility in neonatal practice. **Gastroenterol Clin North Am**, 25(1): 203-224, 1996.

DILSIZ A.; GÜNDOĞAN, A.H.; AKTAN M.; DUMAN S.; AKTUNG, T. Nitric Oxide Synthase Inhibition Prevents Intestinal Damage in Gastroschisis: A Morphological Evaluation in Chick Embryos. **J Pediatr Surg**, 34(8): 1248-1252, 1999.

DRUCKER, D.J. Gut adaptation and the glucagons like peptides. **Gut**, 50: 428-35, 2002.

DUNN, J.C.Y.; FONKALSRUD, E.W.; ATKINSON, J.B. The influence of gestacional age and mode of delivery on infants with gastroschisis. **J Pediatr Surg**, 34(9): 1393-1395, 1999.

EPSTEIN, M.L.; POULSEN, K.T.; THIBOLDEAUX, R. Formation of ganglia in the gut of the chick embryo. **J Comp Neurol**, 307(2): 189-199, 1991.

FASCHING, G.; HAEUSLER, M.; MAYR, J.; SCHIMPL, G.; HAAS, J.; PUERSTNER, P. Can levels of interleukins and matrix petalloproteinases in the amniotic fluid predict postnatal bowel function in the fetuses with gastroschisis ? **J Pediatr Surg**, 40(12):1887-91, 2005.

FAUSSONE-PELLEGRINI, M.S.; MATINI, P.; DEFELICI, M. The cytoskeleton of the neurons during murine embryonic life. **Anat Embryol (Berl)**, 199(5): 459-69, 1999.

FITZSIMMONS, J.; NYBERG, D.A.; CYR, D.R.; HASTCH, E. Perinatal management of gastroschisis. **Obstet Gynecol**, 71(6 pt 1): 910-3, 1988.

FORRESTER, M.B.; MERZ, R.D. Comparison of trend in gastroschisis and prenatal illicit drug use rates. **J Toxicol Environ Health**. 69(13): 1253-9, 2006.

FRANCHI-TEIXEIRA, A.R.; BARRETO, M.W. G.; NOGUEIRA, B.; BITTENCOURT, D.; VIOLIN, L.; SBRAGIA, L. Aminioc fluid and intrauterine growth restriction in a gastroschisis fetal rat model. **Fetal Diagn Ther**, 20(6):494-7, 2005.

FURCHGOTT, R.; ZAWADSKI, J.V. The obligatory role of endothelium cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature Lond**, 288: 687-376, 1980.

GARTHWAITE, J. Glutamine, nitric oxide and cell-cell signaling in the nervous system. **Trends Neurosci**, 14: 60-67, 1991.

GERSHON, M.D.; CHALAZONITIS, A.; ROTHMAN, T.P. From neural crest to bowel: development of the enteric nervous system. **J Neurobiol**, 24(2): 199-214, 1993.

GUO, W.; SWANIKER, F.; FONKALSRUD, E.W.; VO, K.; KARAMANOUKIAN, R. Effect of Intraamniotic dexamethasone administration on intestinal absorption in a rabbit gastroschisis model. **J Pediatr Surg**, 30(7):983-6; discussion 986-7, 1995.

HALLER, J.A.; KEHRER, B.H.; SHAKER, I.J.; SHERMETA, D.W.; WYLLIE, R.G. Studies of the Pathophysiology of gastroschisis in fetal sheep. **J Pediatr Surg**, 9(5): 627-32, 1974

HOW, H.Y.; HARRIS, B.J.; PIETRANTONI, M.; EVANS, J.C.; DUTTON, S.; KOURY, J.; SIDDIQI, T.A. Is vaginal delivery preferable to elective cesarian delivery in fetuses with a know ventral wall defect ? **Am J Obstet Gynecol**, 182(6): 1527-34, 2000.

HOYME, E.W.; HIGGINBOTTOM, M.C.; JONES, K.L. The vascular pathogenesis of gastroschisis: Intrauterine interruption of the omphalomesenteric artery. **J Pediatrics**, 98(2): 228-231, 1981.

HUANG, J.; KURKCHUBASCHE, A.G.; CARR, S.R.; WESSJHOEFT, C.W.J.R.; TRACY, T.F.J.R.; LUKS, F.L. Benefits of term delivery in infants with antenatally diagnosed gastroschisis **Obstet Gynecol**, 100(4): 695-9, 2002.

JENKINS, A.P.; THOMPSON, R.P. Mechanisms of small intestine adaptation. **Dig Dis**, 12(1): 15-27, 1994.

KAMATH, P.S.; HOEPFENER, M.T.; PHILLIPS, S.F. Short chain fatty acids stimulate motility of the canine ileum. **Am J Physiol**, 253(4 Pt 1): G427-33, 1987.

KAMATH, P.S.; PHILLIPS, S.F.; ZINSMEISTER, A.R. Short-chain fatty acids stimulate ileal motility in humans. **Gastroenterology**, 95(6): 1496-1502, 1988.

KANMAZ, T.; YAGMURLU, A.; AKTUG, T.; GÖKÇORA, H. The effect of amnio-allantoic fluid pH on the intestines: An experimental study in the chick embryo gastroschisis model. **J Pediatr Surg**, 36(9): 1341-5, 2001.

KIRSHGESSNER, A.L.; GERSHON, M.D. Identification of vagal efferent fibers and putative target neurons in the enteric nervous system of the rat. **J Comp Neurol**, 285: 38, 1989.

KLUCK, P.; TIBBOEL, D.; van der KAMP, A.W.M.; *et al.* The effect of fetal urine on the development of the bowel in gastroschisis. **J Pediatr Surg**, 18(1): 47-50, 1983.

KUNZ, L.H.; GILBERT, W.M.; TOWNER, D.R. Increased incidence of cardiac anomalies in pregnancies complicated by gastroschisis. **Am J Obstet Gynecol**, 193: 1248-52, 2005.

LANGER, J.C.; BELL, J.G.; CASTILLO, R.O.; *et al.* Etiology of intestinal damage in gastroschisis, II. Timing and reversibility of histological changes, mucosal function, and contractility. **J Pediatr Surg**, 25:1122-6, 1990.

LANGER, J.C.; LONGAKER, M.T.; CROMBLEHOLME, T.M.; *et al.* Etiology of intestinal damage in gastroschisis. I. - Effects of amniotic fluid exposure and bowel constriction in a fetal lamb model. **J Pediatr Surg**, 24:992-7, 1989.

LEEK, B.F. Abdominal and pelvic visceral receptors. **Br Med Bull**, 33(2): 163-168, 1977.

MOORE, T.C.; COLLINS, D.L.; CATANZARITE, V.; HATCH, E.IJR. Pre-term and particularly pre-labor cesarean section to avoid complications of gastroschisis. **Pediatr Surg Int**, 15(2):97-104, 1999.

MORRISON, J.J.; KLEIN, N.; CHITTY, L.S.; KOCJAN, G.; WALSHE, D.; GOULDING, M.; GEARY, M.P., *et al.* Intra-amniotic inflammation in human gastroschisis: possible aetiology of postnatal bowel dysfunction, **Br J Obstet Gynecol**, 105: 1200-04, 1998.

NICHOL, P.F.; HAYMAN, A.; PRYDE, P.G.; GO, L.L.; LUND, D.P. Meconium staining of amniotic fluid correlates with intestinal peel formation in gastroschisis. **Pediatr Surg Int**, 20(3):211-4, 2004.

OLGUNER, M.; AKGÜR, F.M.; API, A.; ÖZER, E.; AKTUNG, T. The Effects of Intraamniotic Human Neonatal Urine and Meconium on the Intestines of the Chick Embryo With Gastroschisis **J Pediatr Surg**, 35(3): 458-461, 2000.

OMARI, T.I.; RUDOLPH, C.D. Physiology of the Gastrointestinal Tract in the Fetus and Neonate. In: POLIN/FOX/ABMAN, FETAL AND NEONATAL PHYSIOLOGY. Vol. 2, 3^o ed. Philadelphia, PNN: WB Saunders, 2004. p. 1125-1138.

OTTERSON, M.F.; SARR, M.G. Normal Physiology of Small Intestinal Motility. *Surg Clin North Am*, 73(6): 1173-92, 1993.

POMERANZ, H.D.; SHERMAN, D.L.; SMALHEISER, N.R.; TENNYSON, V.M.; GERSHON, M.D. Expression of a neurally related laminin binding protein by neural crest-derived cells that colonize the gut: relationship to the formation of enteric ganglia. **J Comp Neurol**, 313(4): 625-642, 1991.

POTIER, M.; MELANCON, S.B.; DALLAIRE, I. Fetal intestinal disaccharidases in human amniotic fluid. **Biomedicine**, 25: 167-9, 1976.

PULIGANDLA, P.S.; JANVIER, A.; FLAGEOLE, H.; BOUCHARD, S.; LABERGE, J.M. Routine cesarian delivery does not improve outcome of infants with gastroschisis. **J Pediatr Surg**, 39(5): 742-5, 2004.

RAMON Y CAJAL, C.L.; MARTINEZ, R.O. Defecation in utero: physiological fetal function. **Am J Obstet Gynecol**, 188(1): 153-6, 2003.

RAUL, F.; SCHLEIFFER, F. Intestinal adaptation to nutrition stress. **Proc Nutr Soc**, 55: 279, 1996.

REIQUAM, C.W.; ALLEN, R.P.; AKERS, D.R. Normal and abnormal small bowel lengths: an analysis of 389 autopsy cases in infants and children. **Am J Dis Child**, 109: 447-451, 1965.

SALEH, A.A.; ISADA, N.B.; JOHNSON, M.P.; SOKOL, R.J.; DOMBROWSKI, M.P.; EVANS, M.I. Amniotic fluid acetylcholinesterase is found in gastroschisis but not omphalocele. **Fetal Diagn Ther**, 1993; 8:168-70.

SANTOS, M.M.; TANNURI, U.; MAKSOUD, J.G. Alterations of Enteric Nerve Plexus in Experimental Gastroschisis: Is there a delay in the Maturation? **J Pediatr Surg**, 38(10): 1506-1511, 2003.

SARNA, S.K. Gastrointestinal electrical activity: Terminology. *Gastroenterology*, 68: 1631-5, 1975.

SARNA, S.K. Cyclic Motor Activity; Migrating Motor Complex: 1985. *Gastroenterology*, 89: 894-913, 1985.

SAXENA, A.K.; HÜLSKAMP, G.; SCHLEEF, J.; SCHAARSCHMIDT, K.; HARMS, E.; WILLITAL, G.H. Gastroschisis: a 15-year, single-center experience. **Pediatric Surg Int**, 18: 420-424, 2002.

SCHALATTER, M.; NORRIS, K.; UITVLUGT, N.; DECOU, J.; CONNORS, R. Improved outcomes in the treatment of gastroschisis using a preformed silo and delayed repair approach. **J Pediatr Surg**, 38(3): 459-64, 2003.

SENCAN, A.; GÜMÜSTEKIN, M.; GELAL, A.; ARSLAN, O.; ÖZER, E.; MANISA, E.M. Effects of amnio-allantoic fluid exchange on bowel contractility in chick embryos with gastroschisis. **J Pediatr Surg**, 37(11): 1589-93, 2002.

SHERMAN, N.J.; ASCH, M.J.; ISAACS, H.JR.; ROSENKRANTZ, J.G. Experimental gastroschisis in the fetal rabbit. **J Pediatr Surg**, 8(2):165-9, 1973.

SINGH, S.J.; FRASER, A.; LEDITSCHKE, J.F.; SPENCE, K.; KIMBLE, R.; DALBY-PAYNE, J., *et al.* Gastroschisis: determinants of neonatal outcome. **Pediatric Surg Int**, 19: 260-5, 2003.

SIPES, S.L.; WEINER, C.P.; SIPES, D.R. 2ND; GRANT, S.S.; WILLIAMSON, R.A. Gastroschisis and omphalocele: does either antenatal diagnosis or route of delivery make a difference in perinatal outcome ? **Obstet Gynecol**, 76(2):195-9, 1990.

SMOUT, A.J.P.M.; AKKERMANS, L.M.A. Intestino Delgado In Smout & Akkermans **Fisiologia y patologia de la motilidad gastrointestinal**. Petersfield, Hampshire GU32 3PN, Reino Unido. Wrightson Biomedical Publishing Ltd, 1992. p. 131-146.

SRINATHAN, S.K.; LANGER, J.C.; BLENNERHASSETT, M.G.; HARRISON, M.R.; PELLETIER, G.J.; LAGUNOFF, D. Etiology of intestinal damage in gastroschisis. III: Morphometric analysis of the smooth muscle and submucosa. **J Pediatr Surg**, 30(3): 379-83, 1995;

STRINGER, M.D.; BRERENTON, R.J.; WRIGHT, V.M. Controversies in the management of gastroschisis: a study of 40 patients. **Arch Dis Child**, 66(1): 34-6, 1991.

SYDORAK, R.M.; SBRAGIA, L.; NIJAGAL, A.; PHIBBS, R.H.; HARRISON, M.R.; ALBANESE, C.T. A Big Hole in the System: Gastroschisis. **J Pediatr Surg**, 37(12):1669-72, 2002.

TELFORD, G.L.; WALGENBACH-TELFORD, S.; SARAN, S.K. Pathophysiology of Small Intestinal Motility. **Surg Clin North Am**, 73(6): 1193-99, 1993.

TIBBOEL, D.; VERMEY-KEERS, C.; KLUCK, P.; GAILLARD, J.L.; KOPPENBERG, J.; MOLENAAR, J.C. The natural history of gastroschisis during fetal life: development of the fibrous coating on the bowel loops. **Teratology**, 33:267-72, 1986.

THUNBERG, L. Interstitial cells of Cajal: Intestinal pacemakers cells? In Beck F, Hild W, van Limbrorh J, *et al.* (eds): **Advances in Anatomy, Embryology, and Cell Biology**, vol 71. Berlin, Springer-Verlag, 1982, pp 1-130.

VANNUCCHI, M.G.; MIDRIO, P.; FLAKE, A.W.; FAUSSONE-PELLEGRINI, M.S. Neuronal differentiation a myoenteric plexus organization are delayed in gastroschisis: an immunohistochemical study in a rat model. **Neurosci Lett**, 339: 77-81, 2003.

VANNUCCHI, M.G.; MIDRIO, P.; ZARDO, C.; FAUSSONE-PELLEGRINI, M.S. Neurofilament formation and synaptic activity are delayed in the myenteric neurons of the rat fetus with gastroschisis. **Neurosci Lett**, 364(2): 81-5, 2004.

VERGUNTA, R.K.; WALLACE, L.J.; LEONARDI, M.R.; GROSS, T.L.; RENFROE, Y.; *et al.* Perinatal management of gastroschisis: analysis of a newly established clinical pathway. **J Pediatr Surg**, 40: 528-34, 2005.

VILELA, P.C.; RAMOS, D.E.; AMORIM, M.M.; FALBO, G.H.; SANTOS, L.C. Risk factors for adverse outcome of newborns with gastroschisis in a Brazilian hospital. **J Pediatr Surg**, 36:559-64, 2001.

WEISBRUDT, N. Motility of the small intestine. *In* Jonhson L (ed): Gastrointestinal Physiology. St. Louis, CV Mosby, 1991, pp 50-56.

WILSON, D.; JOHNSON, M.P. Congenital Abdominal Wall Defects: An Update. **Fetal Diag Ther**, 19(5): 385-398, 2004.

ZENILMAN, M.E. Origin and Control of Gastrointestinal Motility. **Surg Clin North Am**, 73(6): 1081-99, 1993.



9- ANEXOS

De: Câmara de Pesquisa – Serviço de Estatística – FCM – Unicamp

Para: Willy Marcus Gomes França / Dr Lourenço Sbragia – Cirurgia

Data: 12 de abril de 2005.

Avaliação macroscópica e histológica dos plexos mioentéricos de intestinos de fetos de ratas Sprague-Dawley submetidos à gastrosquise experimental intra-útero em diferentes idades gestacionais.

Objetivos:

1. Descrever e comparar 3 grupos (Controle (n=15); SHAM (n=14); e Gastrosquise (n=15), com relação aos dados de diâmetro (D1 e D2), mucosa, muscular circular, muscular longitudinal e serosa, medidos em 2 regiões (9h e 3h), em 5 cortes seccionais (I, II, III, IV e V) e em 2 períodos de gestação (18.5 e 19.5 dias).
2. Verificar se há diferença das medidas entre as 2 regiões (9h e 3h), entre os 5 cortes seccionais (I, II, III, IV e V) e entre os 2 períodos de gestação (18.5 e 19.5 dias).

Metodologia Estatística:

Para descrever o perfil da amostra segundo as variáveis em estudo, foram feitas estatísticas descritivas das variáveis contínuas (diâmetros e mucosas), com valores de média, desvio padrão, valores mínimo e máximo e mediana.

Para comparar as variáveis entre os grupos e demais fatores, foi utilizada a Análise de Variância para medidas repetidas (*Repeated Measures ANOVA*), para 2 fatores principais (Grupos C, S e G); e Dias de Gestação (18.5 e 19.5 dias), e 2 fatores de medidas repetidas (Regiões 9h e 3h); e Cortes Seccionais (I, II, III, IV e V). A comparação entre os grupos dos fatores principais foi realizada com o teste post-hoc de Tukey e para a comparação entre as regiões e cortes seccionais foi utilizado o teste de perfil por contrastes (*Profile Test*). Devido à ausência de distribuição Normal das medidas, as análises foram feitas após transformação logarítmica dos dados ($\log_{10}$).

O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi de 5%, ou seja, $p < 0.05$.

Resultados:

Análise Descritiva Geral

- as tabelas 1 e 2, a seguir, apresentam as estatísticas descritivas das variáveis para 18,5 dias e 19,5 dias de gestação para caracterização dos grupos.

Tabela 1- Análise descritiva das variáveis por grupo – **18,5 dias.**

GRUPO "CONTROLE"							GRUPO "SHAM"							GRUPO "GASTROSQUISE"						
VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX
D11	8	800.98	157.67	490.68	821.78	1004.94	D11	7	830.88	129.51	704.39	799.63	1024.09	D11	8	1252.98	364.60	709.54	1238.18	1657.25
D12	8	888.02	181.84	505.57	931.11	1083.01	D12	7	888.69	125.41	719.41	876.40	1102.18	D12	8	1206.34	310.65	728.96	1221.88	1637.72
D13	8	887.45	181.00	504.42	895.29	1092.23	D13	7	910.70	128.65	709.19	917.86	1102.18	D13	8	1252.40	369.34	709.92	1225.89	1809.30
D14	8	868.74	168.23	519.40	895.29	1063.44	D14	7	841.94	142.36	604.03	861.42	1018.69	D14	8	1215.72	345.79	681.55	1307.43	1614.59
D15	8	881.07	184.69	510.08	890.60	1110.76	D15	7	887.74	157.82	604.03	941.77	1064.03	D15	8	1240.79	335.81	709.67	1305.60	1754.12
D21	8	883.54	129.52	685.75	873.31	1076.45	D21	7	895.61	105.55	791.39	866.99	1106.66	D21	8	1018.20	249.04	666.82	1038.17	1275.52
D22	8	793.86	81.10	681.02	799.77	928.58	D22	7	831.13	111.46	691.28	819.30	1013.79	D22	8	978.94	246.46	623.97	976.59	1290.54
D23	8	830.48	137.04	678.15	800.36	1063.44	D23	7	803.05	86.23	713.49	803.18	960.17	D23	8	1015.47	258.29	633.33	1057.17	1372.39
D24	8	855.60	150.93	714.30	818.54	1086.76	D24	7	851.51	129.05	679.15	861.42	1085.27	D24	8	1033.11	217.41	619.34	1109.62	1275.71
D25	8	815.83	126.68	579.51	826.03	1004.49	D25	7	783.50	95.63	644.99	790.38	909.82	D25	8	1028.52	258.01	623.83	1128.70	1333.67
MUCO91	8	26.82	7.41	14.37	26.21	41.50	MUCO91	7	29.47	9.53	16.48	29.91	47.23	MUCO91	8	35.88	11.84	21.56	37.84	54.54
MUCO92	8	27.70	10.40	18.89	26.01	50.40	MUCO92	7	24.68	4.07	18.99	25.58	29.90	MUCO92	8	32.56	10.31	21.70	32.16	47.00
MUCO93	8	25.25	6.69	14.37	26.61	32.56	MUCO93	7	26.37	4.00	19.75	28.56	30.38	MUCO93	8	32.83	11.31	18.49	31.93	53.30
MUCO94	8	23.56	4.44	17.48	23.42	30.42	MUCO94	7	27.47	6.11	18.61	28.03	37.81	MUCO94	8	32.00	13.69	17.86	27.24	54.82
MUCO95	8	25.10	8.30	15.70	23.11	42.49	MUCO95	7	23.29	3.42	16.88	24.06	26.45	MUCO95	8	37.05	16.88	18.85	32.23	66.29
MUCO31	8	29.30	8.81	12.13	32.18	39.59	MUCO31	7	27.46	5.51	16.80	28.08	32.49	MUCO31	8	29.82	9.07	14.53	32.65	40.05
MUCO32	8	28.62	7.19	19.01	30.69	37.04	MUCO32	7	27.34	4.21	19.84	26.95	33.41	MUCO32	8	34.87	14.62	20.75	32.86	64.84
MUCO33	8	27.97	6.25	17.55	27.24	37.97	MUCO33	7	26.55	7.51	19.48	24.11	37.10	MUCO33	8	32.43	16.60	18.83	28.25	68.50
MUCO34	8	29.44	5.99	20.94	29.81	36.55	MUCO34	7	25.18	6.07	19.27	24.28	37.17	MUCO34	8	30.99	14.40	14.47	30.20	56.04
MUCO35	8	23.90	5.36	17.40	22.70	32.53	MUCO35	7	23.16	3.75	16.88	23.85	29.25	MUCO35	8	31.59	14.55	13.34	27.09	56.31
CIRC91	8	10.61	2.44	8.50	9.92	15.96	CIRC91	7	10.91	1.76	8.24	11.52	13.11	CIRC91	8	20.04	8.04	12.24	16.12	32.19
CIRC92	8	10.74	3.45	6.70	10.66	18.35	CIRC92	7	9.75	1.68	8.54	9.49	13.42	CIRC92	8	16.91	4.87	11.41	16.49	26.09
CIRC93	8	11.27	2.38	7.85	11.42	14.16	CIRC93	7	9.66	2.02	7.68	8.86	12.74	CIRC93	8	15.88	4.90	9.95	15.60	24.92
CIRC94	8	10.50	2.13	7.09	11.09	13.11	CIRC94	7	9.31	2.43	5.68	8.81	12.83	CIRC94	8	13.83	3.43	9.95	13.74	18.78
CIRC95	8	11.47	2.15	8.97	11.15	14.65	CIRC95	7	10.42	1.37	8.02	10.77	12.30	CIRC95	8	15.41	5.16	9.11	15.28	24.92
CIRC31	8	10.38	1.26	8.49	10.54	12.03	CIRC31	7	11.10	1.19	9.72	10.76	12.38	CIRC31	8	16.41	5.46	11.01	14.70	28.56
CIRC32	8	11.27	2.04	9.55	10.56	16.02	CIRC32	7	9.79	1.49	7.78	10.20	11.60	CIRC32	8	18.09	5.88	10.86	17.92	27.75
CIRC33	8	11.00	2.31	8.02	10.70	15.09	CIRC33	7	9.96	1.46	7.38	10.09	11.67	CIRC33	8	15.06	4.52	10.42	15.05	24.43
CIRC34	8	10.47	0.79	9.55	10.56	11.93	CIRC34	7	9.77	1.56	7.62	9.71	11.65	CIRC34	8	15.95	4.95	8.66	16.01	23.12
CIRC35	8	10.37	2.71	6.87	10.50	14.74	CIRC35	7	8.81	2.13	5.55	9.27	10.89	CIRC35	8	16.26	5.50	9.48	16.02	25.58
LONG91	8	8.64	1.66	6.55	8.46	10.47	LONG91	7	8.22	1.49	6.13	7.81	10.20	LONG91	8	10.86	3.94	4.29	10.62	17.32

GRUPO "CONTROLE"							GRUPO "CONTROLE"							GRUPO "CONTROLE"						
VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX
LONG92	8	7.84	1.69	5.83	7.39	11.41	LONG92	7	6.45	2.11	2.75	6.29	9.92	LONG92	8	9.63	3.07	5.74	9.42	15.28
LONG93	8	8.64	1.03	7.08	8.99	9.68	LONG93	7	7.95	1.31	5.97	7.62	10.03	LONG93	8	12.37	5.38	5.68	13.76	18.55
LONG94	8	8.24	1.71	6.70	7.65	11.91	LONG94	7	6.88	2.39	5.19	6.13	12.17	LONG94	8	11.70	5.16	5.27	11.66	20.32
LONG95	8	8.06	1.65	4.72	8.50	9.72	LONG95	7	7.34	1.64	5.68	7.46	9.68	LONG95	8	9.22	3.72	3.02	8.60	14.63
LONG31	8	7.89	1.19	5.50	7.97	9.55	LONG31	7	8.38	1.74	6.75	7.81	12.09	LONG31	8	9.35	2.76	5.27	9.45	13.17
LONG32	8	8.09	1.79	4.47	8.44	10.08	LONG32	7	7.44	1.81	5.74	6.87	10.35	LONG32	8	11.37	5.22	5.66	9.17	20.15
LONG33	8	7.99	1.31	5.27	8.07	9.48	LONG33	7	7.57	1.48	5.38	7.62	9.16	LONG33	8	11.72	3.73	6.60	12.04	17.48
LONG34	8	7.84	1.08	6.04	7.88	9.01	LONG34	7	7.59	1.52	4.92	8.50	8.90	LONG34	8	10.96	3.27	6.42	12.23	14.18
LONG35	8	8.19	1.80	6.13	7.47	11.25	LONG35	7	7.72	2.04	4.35	8.03	10.76	LONG35	8	9.77	4.98	4.27	7.97	20.42
SERO91	8	2.46	0.49	1.94	2.45	3.40	SERO91	7	2.65	0.76	1.49	2.41	3.43	SERO91	8	3.41	1.15	2.36	3.14	5.70
SERO92	8	2.39	1.19	1.49	2.00	5.27	SERO92	7	2.31	0.75	1.42	2.36	3.80	SERO92	8	3.14	1.79	1.42	2.58	6.87
SERO93	8	2.68	0.88	1.70	2.69	3.80	SERO93	7	2.54	0.87	1.70	2.41	4.06	SERO93	8	3.07	1.40	1.89	2.65	6.15
SERO94	8	2.53	1.12	1.49	2.24	5.08	SERO94	7	2.52	0.95	1.24	2.36	4.45	SERO94	8	3.10	1.02	2.11	2.79	4.81
SERO95	8	2.27	0.52	1.42	2.24	3.30	SERO95	7	2.48	0.68	1.42	2.75	3.30	SERO95	8	3.49	0.76	2.11	3.50	4.72
SERO31	8	2.57	0.48	1.89	2.54	3.34	SERO31	7	2.78	0.35	2.11	2.87	3.16	SERO31	8	3.84	0.60	2.98	3.92	4.65
SERO32	8	2.62	0.88	1.94	2.24	4.35	SERO32	7	2.79	1.11	1.49	2.54	4.47	SERO32	8	4.06	1.10	2.36	4.24	5.38
SERO33	8	2.42	0.74	1.49	2.39	3.89	SERO33	7	2.81	0.99	1.89	2.54	4.47	SERO33	8	3.17	0.77	1.49	3.32	3.80
SERO34	8	2.65	0.70	1.70	2.65	3.59	SERO34	7	2.25	0.51	1.49	2.11	3.02	SERO34	8	3.59	1.09	2.11	3.42	5.19
SERO35	8	2.20	0.52	1.49	2.20	3.02	SERO35	7	2.14	0.49	1.41	2.36	2.87	SERO35	8	2.93	0.64	1.94	3.30	3.59
D1	8	865.25	158.69	506.03	912.58	991.98	D1	7	871.99	106.71	694.68	885.04	972.05	D1	8	1233.65	332.10	714.53	1278.74	1647.83
D2	8	835.86	94.07	700.21	831.30	957.80	D2	7	832.96	66.00	743.74	836.71	931.14	D2	8	1014.85	237.29	633.46	1074.36	1273.46
D	8	850.56	116.48	603.12	881.40	967.97	D	7	852.48	73.77	765.70	851.32	946.81	D	8	1124.25	283.03	673.99	1163.66	1460.65
MUCO9	8	25.68	6.60	16.34	24.90	39.47	MUCO9	7	26.25	3.98	19.84	27.33	31.08	MUCO9	8	34.06	9.78	22.00	32.92	47.10
MUCO3	8	27.84	3.88	20.10	28.25	33.30	MUCO3	7	25.94	2.85	20.90	25.73	30.23	MUCO3	8	31.94	11.72	18.33	30.28	51.01
MUCO	8	26.76	5.10	18.22	26.02	36.39	MUCO	7	26.10	3.07	20.37	27.77	28.43	MUCO	8	33.00	10.14	20.17	34.69	49.06
CIRC9	8	10.92	2.11	8.15	10.74	14.91	CIRC9	7	10.01	1.31	8.34	9.73	12.24	CIRC9	8	16.41	4.51	11.97	15.16	24.35
CIRC3	8	10.70	1.05	9.34	10.45	12.33	CIRC3	7	9.88	1.05	8.70	9.51	11.19	CIRC3	8	16.35	4.40	10.72	16.61	22.86
CIRC	8	10.81	1.50	9.09	10.68	13.62	CIRC	7	9.95	1.11	8.64	9.44	11.66	CIRC	8	16.38	4.31	11.35	15.88	23.60
LONG9	8	8.28	0.85	7.45	8.06	9.76	LONG9	7	7.37	0.82	6.51	7.05	8.81	LONG9	8	10.75	2.85	6.89	10.39	14.35
LONG3	8	8.00	0.74	7.04	8.08	9.20	LONG3	7	7.74	1.04	6.68	7.52	9.57	LONG3	8	10.63	2.78	7.35	10.30	16.02
LONG	8	8.14	0.75	7.25	7.99	9.48	LONG	7	7.55	0.87	6.67	7.36	9.19	LONG	8	10.69	2.69	7.12	10.36	14.99
SERO9	8	2.47	0.51	1.82	2.42	3.48	SERO9	7	2.50	0.21	2.16	2.47	2.82	SERO9	8	3.24	0.79	2.58	2.94	5.06
SERO3	8	2.49	0.23	2.24	2.46	2.88	SERO3	7	2.55	0.35	2.21	2.54	3.11	SERO3	8	3.52	0.56	2.63	3.68	4.27
SERO	8	2.48	0.36	2.03	2.52	3.18	SERO	7	2.53	0.26	2.19	2.47	2.88	SERO	8	3.38	0.62	2.61	3.32	4.66

Tabela 2- Análise descritiva das variáveis por grupo – 19,5 dias.

GRUPO "CONTROLE"							GRUPO "SHAM"							GRUPO "GASTROSQUISE"						
VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX
D11	7	887.60	86.89	758.10	919.95	1001.78	D11	7	952.06	143.11	747.63	904.87	1133.58	D11	7	1138.39	183.15	900.62	1161.07	1371.84
D12	7	875.15	87.26	763.70	879.82	980.37	D12	7	939.42	146.83	771.80	885.83	1157.23	D12	7	1163.54	206.27	910.53	1230.06	1367.34
D13	7	848.34	101.78	713.79	881.27	959.79	D13	7	908.94	128.56	714.68	935.38	1071.43	D13	7	1148.80	216.60	886.99	1239.42	1376.72
D14	7	875.43	84.95	773.62	901.91	960.91	D14	7	921.47	148.77	752.40	905.96	1133.33	D14	7	1146.42	192.11	895.55	1198.73	1375.63
D15	7	887.65	91.68	765.82	923.53	998.92	D15	7	915.87	133.72	747.63	916.38	1100.09	D15	7	1133.48	175.66	890.79	1204.08	1343.54
D21	7	978.49	166.75	774.30	952.98	1249.66	D21	7	1020.37	106.45	886.03	972.37	1143.66	D21	7	1134.89	196.42	881.07	1134.14	1414.29
D22	7	972.72	173.76	695.82	979.67	1221.14	D22	7	1024.05	93.49	940.81	963.89	1153.41	D22	7	1167.02	198.63	891.10	1247.44	1400.00
D23	7	1013.08	141.36	868.87	978.92	1267.51	D23	7	1018.90	108.52	909.76	978.78	1181.77	D23	7	1152.92	200.66	868.55	1180.95	1419.08
D24	7	998.77	153.09	848.10	985.73	1252.75	D24	7	1002.99	95.30	904.96	953.54	1130.45	D24	7	1165.18	217.55	833.39	1308.48	1357.22
D25	7	1004.90	151.03	885.59	948.21	1275.24	D25	7	1012.27	92.61	914.29	957.62	1121.27	D25	7	1195.32	216.81	881.16	1262.80	1423.82
MUCO91	7	20.85	4.25	14.32	19.91	26.77	MUCO91	7	25.44	3.58	19.81	26.52	29.38	MUCO91	7	39.23	21.28	14.62	32.67	70.61
MUCO92	7	20.44	5.16	10.55	20.88	27.75	MUCO92	7	23.92	4.83	19.43	21.64	31.56	MUCO92	7	40.92	16.98	18.45	41.38	68.01
MUCO93	7	21.48	4.46	15.63	19.45	27.61	MUCO93	7	22.41	5.38	14.15	23.00	29.78	MUCO93	7	33.97	13.06	16.02	33.98	54.28
MUCO94	7	21.36	6.61	13.05	19.45	32.08	MUCO94	7	22.62	4.54	15.23	23.34	28.20	MUCO94	7	35.79	18.90	18.96	28.81	73.12
MUCO95	7	21.69	7.01	11.01	23.63	32.39	MUCO95	7	22.62	6.13	15.21	20.94	31.24	MUCO95	7	34.65	10.75	17.51	34.28	53.79
MUCO31	7	22.67	5.58	11.83	23.58	29.25	MUCO31	7	24.25	5.94	17.36	25.40	32.55	MUCO31	7	38.72	15.09	26.57	31.62	61.37
MUCO32	7	21.91	4.88	17.92	20.74	32.19	MUCO32	7	22.68	6.49	18.85	20.07	36.92	MUCO32	7	43.84	10.69	26.55	40.32	56.72
MUCO33	7	24.86	9.91	18.23	21.06	44.81	MUCO33	7	22.12	8.11	15.36	21.52	39.15	MUCO33	7	38.92	11.01	26.42	37.29	60.25
MUCO34	7	25.20	11.34	17.96	22.02	50.45	MUCO34	7	23.57	7.34	17.01	21.33	35.41	MUCO34	7	46.88	15.17	27.69	38.73	66.32
MUCO35	7	23.02	7.05	14.65	24.10	36.29	MUCO35	7	24.13	4.89	17.53	23.80	32.71	MUCO35	7	37.81	5.65	28.44	37.81	44.90
CIRC91	7	11.50	4.97	6.42	10.55	20.29	CIRC91	7	11.20	3.47	5.66	10.94	16.12	CIRC91	7	17.71	5.76	7.91	19.82	25.96
CIRC92	7	12.48	2.50	9.11	13.11	16.10	CIRC92	7	10.53	1.76	8.06	10.97	12.95	CIRC92	7	16.04	3.95	11.33	15.68	23.88
CIRC93	7	14.63	3.30	10.86	15.42	18.79	CIRC93	7	11.11	2.82	8.06	9.55	14.63	CIRC93	7	15.81	5.95	8.02	14.99	26.42
CIRC94	7	13.51	2.55	10.18	14.69	16.04	CIRC94	7	10.07	2.83	6.42	9.40	13.40	CIRC94	7	16.68	5.79	9.48	16.84	27.47
CIRC95	7	14.01	3.28	10.18	12.83	19.70	CIRC95	7	9.79	2.66	6.57	10.09	14.19	CIRC95	7	16.32	3.24	9.95	16.57	19.82
CIRC31	7	12.24	3.55	7.61	12.35	16.13	CIRC31	7	9.21	2.60	6.13	8.54	13.41	CIRC31	7	16.85	5.56	11.33	16.52	27.70
CIRC32	7	12.43	2.84	7.55	12.30	16.24	CIRC32	7	9.52	2.02	6.35	9.72	12.26	CIRC32	7	18.39	7.45	12.59	16.04	33.46
CIRC33	7	13.67	2.72	10.38	13.69	18.69	CIRC33	7	9.59	1.79	6.80	9.55	12.17	CIRC33	7	18.93	6.89	9.95	19.95	27.09
CIRC34	7	13.66	3.08	10.09	11.94	18.37	CIRC34	7	8.88	1.73	6.80	8.03	11.41	CIRC34	7	21.24	6.98	11.01	23.75	30.20
CIRC35	7	14.16	2.69	9.27	15.42	16.59	CIRC35	7	9.53	2.39	6.33	8.81	12.95	CIRC35	7	17.87	4.08	11.48	17.93	22.97
LONG91	7	6.38	1.99	4.03	6.57	10.00	LONG91	7	6.33	2.12	3.59	6.57	9.45	LONG91	7	12.79	7.02	5.74	11.34	24.57
LONG92	7	7.24	2.03	4.92	7.09	11.36	LONG92	7	6.61	2.08	3.80	7.01	9.27	LONG92	7	14.50	5.74	7.08	13.69	24.60
LONG93	7	6.81	1.56	4.47	6.20	8.70	LONG93	7	5.76	1.70	3.89	5.38	9.01	LONG93	7	10.11	3.53	6.20	9.62	15.96
LONG94	7	7.67	2.36	4.03	7.61	11.65	LONG94	7	5.38	1.98	4.03	4.35	9.29	LONG94	7	10.36	4.30	6.42	8.61	17.93
LONG95	7	8.48	4.44	5.08	6.42	17.53	LONG95	7	5.49	2.50	3.89	4.47	10.89	LONG95	7	12.40	6.37	6.75	10.35	23.70
LONG31	7	6.14	2.28	3.59	5.27	10.20	LONG31	7	6.73	4.74	3.59	4.65	16.73	LONG31	7	14.91	9.98	4.45	12.17	28.96
LONG32	7	7.72	3.91	3.30	6.62	15.68	LONG32	7	4.38	1.32	2.75	4.35	6.75	LONG32	7	14.06	7.66	5.21	13.81	28.34
LONG33	7	7.12	2.43	4.25	6.62	10.69	LONG33	7	4.84	1.56	3.02	4.27	7.38	LONG33	7	14.96	8.17	5.68	13.51	30.09
LONG34	7	6.48	2.62	3.80	5.68	11.18	LONG34	7	5.29	1.38	2.67	5.27	6.87	LONG34	7	12.15	5.03	6.62	10.69	22.21
LONG35	7	6.82	1.77	4.72	8.03	8.36	LONG35	7	5.78	2.59	2.54	5.50	10.16	LONG35	7	12.28	6.45	4.81	12.25	24.53
SERO91	7	1.35	0.77	0.67	1.05	2.98	SERO91	7	1.13	0.50	0.47	1.42	1.70	SERO91	7	2.21	1.10	0.94	2.36	3.77

GRUPO "CONTROLE"							GRUPO "CONTROLE"							GRUPO "CONTROLE"						
VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX
SERO92	7	1.27	0.37	0.94	1.33	1.94	SERO92	7	1.30	0.39	0.94	1.05	1.89	SERO92	7	1.64	0.45	0.94	1.49	2.36
SERO93	7	1.21	0.45	0.67	1.05	1.89	SERO93	7	1.01	0.32	0.67	1.05	1.63	SERO93	7	1.80	0.78	1.05	1.49	3.30
SERO94	7	1.24	0.56	0.47	1.42	2.11	SERO94	7	1.16	0.62	0.47	0.94	2.00	SERO94	7	1.92	1.13	1.05	1.42	4.25
SERO95	7	1.24	0.47	0.67	1.05	2.11	SERO95	7	1.29	0.54	0.47	1.05	1.89	SERO95	7	1.99	1.34	0.94	1.49	4.81
SERO31	7	1.25	0.36	0.94	1.24	1.94	SERO31	7	1.15	0.21	0.94	1.05	1.49	SERO31	7	2.41	1.97	0.94	1.49	5.97
SERO32	7	1.04	0.20	0.94	0.94	1.49	SERO32	7	0.89	0.32	0.47	0.94	1.33	SERO32	7	2.34	1.02	1.49	1.94	4.45
SERO33	7	1.07	0.18	0.94	0.94	1.33	SERO33	7	1.02	0.44	0.47	1.03	1.89	SERO33	7	2.06	0.90	0.94	1.89	3.80
SERO34	7	1.06	0.40	0.47	1.05	1.49	SERO34	7	0.88	0.49	0.47	0.67	1.70	SERO34	7	2.26	1.60	0.94	1.89	4.72
SERO35	7	1.16	0.31	0.94	1.05	1.70	SERO35	7	1.18	0.60	0.47	1.05	2.36	SERO35	7	2.29	1.18	1.05	1.94	4.27
D1	7	874.83	82.45	784.46	879.32	972.24	D1	7	927.55	137.37	746.83	908.56	1119.13	D1	7	1146.13	192.01	905.15	1206.67	1341.10
D2	7	993.59	153.71	814.54	947.11	1253.26	D2	7	1015.72	97.63	913.52	961.76	1141.30	D2	7	1163.07	202.30	871.05	1256.68	1402.88
D	7	934.21	84.03	808.39	956.60	1066.29	D	7	971.63	114.81	843.84	925.31	1123.37	D	7	1154.60	193.49	888.10	1265.37	1350.98
MUCO9	7	21.16	4.67	12.91	21.48	28.21	MUCO9	7	23.40	3.97	18.45	22.74	29.80	MUCO9	7	36.91	14.46	20.98	35.70	63.96
MUCO3	7	23.53	7.13	17.44	21.52	38.60	MUCO3	7	23.35	5.90	18.50	22.68	35.35	MUCO3	7	41.23	7.31	31.91	42.30	53.05
MUCO	7	22.35	5.65	15.18	20.81	33.40	MUCO	7	23.38	4.54	18.66	22.75	32.57	MUCO	7	39.07	10.33	27.18	37.31	58.51
CIRC9	7	13.22	2.82	9.35	11.89	16.95	CIRC9	7	10.54	2.26	7.19	10.19	13.40	CIRC9	7	16.51	3.94	9.99	16.55	23.52
CIRC3	7	13.23	2.52	9.13	13.82	15.80	CIRC3	7	9.35	1.55	7.41	9.36	11.95	CIRC3	7	18.66	5.19	12.77	19.10	26.29
CIRC	7	13.23	2.16	10.08	13.84	15.39	CIRC	7	9.94	1.58	7.60	9.79	12.28	CIRC	7	17.58	4.25	11.38	17.28	24.91
LONG9	7	7.32	1.85	5.40	6.49	10.59	LONG9	7	5.91	1.80	4.31	5.63	9.58	LONG9	7	12.03	3.67	8.50	10.57	18.89
LONG3	7	6.85	2.10	4.56	6.12	10.69	LONG3	7	5.40	1.73	3.29	5.13	8.22	LONG3	7	13.67	6.92	5.35	13.10	24.77
LONG	7	7.09	1.21	5.36	6.58	8.45	LONG	7	5.66	1.54	4.08	4.89	8.35	LONG	7	12.85	4.67	7.44	12.03	19.34
SERO9	7	1.26	0.40	0.78	1.24	1.83	SERO9	7	1.18	0.38	0.61	1.26	1.75	SERO9	7	1.91	0.79	1.23	1.45	2.98
SERO3	7	1.12	0.19	0.85	1.13	1.34	SERO3	7	1.02	0.18	0.78	1.03	1.32	SERO3	7	2.27	1.25	1.10	1.79	4.06
SERO	7	1.19	0.21	0.89	1.27	1.40	SERO	7	1.10	0.24	0.79	1.11	1.44	SERO	7	2.09	1.01	1.16	1.62	3.50

Análise Comparativa Geral

- as tabelas 3 a 5, a seguir, apresentam os resultados das análises comparativas para as medidas de interesse (diâmetros e mucosas) entre os 3 grupos, os 2 períodos de gestação, as 2 regiões de medida e os 5 cortes seccionais, considerando todos os resultados, e depois apenas os de 18,5 dias e de 19,5 dias, respectivamente.

Tabela 3- Resultados da ANOVA para medidas repetidas para comparações das medidas entre grupos, períodos de gestação, regiões de medida e cortes seccionais.

Comparações	D1*	D2*	Mucosa*	M Circular*	M Longitud.*	Serosa*
<u>Grupos</u>	F _(2,38) =10.53	F _(2,38) =4.71	F _(2,38) =10.82	F _(2,38) =26.73	F _(2,38) =21.84	F _(2,38) =15.97
(C, S, G)	p<0.001^a	p=0.015^b	p<0.001^c	p<0.001^f	p<0.001ⁱ	p<0.001^j
<u>Períodos de Gestação</u>	F _(1,38) =0.06	F _(1,38) =12.90	F _(1,38) =0.33	F _(1,38) =2.06	F _(1,38) =3.18	F _(1,38) =106.4
(18,5 dias e 19,5 dias)	p=0.800	p<0.001^c	p=0.570	p=0.160	p=0.083	p<0.001^k
Interação Grupo vs Gestação	F _(2,38) =0.31	F _(2,38) =0.09	F _(2,38) =2.58	F _(2,38) =1.06	F _(2,38) =4.26	F _(2,38) =1.73
	p=0.735	p=0.916	p=0.089	p=0.358	p=0.021ⁱ	p=0.191
<u>Regiões Medidas</u>	---	---	F _(1,38) =2.07	F _(1,38) =0.01	F _(1,38) =0.11	F _(1,38) =0.10
(9h e 3h)	---	---	p=0.158	p=0.956	p=0.738	p=0.758
Interação Região vs Grupo	---	---	F _(2,38) =1.16	F _(2,38) =1.60	F _(2,38) =0.59	F _(2,38) =2.33
	---	---	p=0.324	p=0.215	p=0.562	p=0.111
Interação Região vs Gestação	---	---	F _(1,38) =2.31	F _(1,38) =0.04	F _(1,38) =0.34	F _(1,38) =1.33
	---	---	p=0.137	p=0.839	p=0.560	p=0.256
<u>Cortes Seccionais</u>	F _(4,152) =0.78	F _(4,152) =1.33	F _(4,152) =1.22	F _(4,152) =0.31	F _(4,152) =0.48	F _(4,152) =1.49
(I, II, III, IV e V)	p=0.540	p=0.262	p=0.305	p=0.871	p=0.747	p=0.209
Interação Secção vs Grupo	F _(8,152) =0.46	F _(8,152) =1.14	F _(8,152) =0.68	F _(8,152) =2.49	F _(8,152) =1.39	F _(8,152) =0.26
	p=0.881	p=0.340	p=0.712	p=0.014^g	p=0.204	p=0.978
Interação Secção vs Gestação	F _(4,152) =2.42	F _(4,152) =3.00	F _(4,152) =0.59	F _(4,152) =3.72	F _(4,152) =1.49	F _(4,152) =1.00
	p=0.051	p=0.020^d	p=0.673	p=0.006^h	p=0.207	p=0.407
Interação Região vs Secção	---	---	F _(4,152) =1.01	F _(4,152) =1.21	F _(4,152) =0.10	F _(4,152) =0.65
	---	---	p=0.404	p=0.310	p=0.984	p=0.627

* variáveis transformadas em logaritmo (log₁₀) devido à ausência de distribuição Normal.

(a) comparações entre Grupos (teste de Tukey; p<0.05): Controle ≠ Gastrosq; SHAM ≠ Gastrosq. (em todos os cortes seccionais). (b) comparações entre Grupos (teste de Tukey; p<0.05): Controle ≠ Gastrosq (apenas nas secções II, IV e V); SHAM ≠ Gastrosq. (apenas na secção V). (c) comparações entre Dias (teste de Tukey; p<0.05): “18,5 dias” ≠ “19,5 dias” (em todos os cortes seccionais). (d) comparações entre Secções (teste de Perfil): Para 18,5 dias: Secção I ≠ Secção II (p=0.032); Para 19,5 dias: Nenhuma diferença significativa. (e) comparações entre Grupos (teste de Tukey; p<0.05): Controle ≠ Gastrosq (apenas nas secções I (9h), II (9h e 3h), III (9h), IV (9h) e V (9h e 3h)); SHAM ≠ Gastrosq. (apenas nas secções II (9h e 3h), III (9h e 3h), IV (3h) e V (9h e 3h)). (f) comparações entre Grupos (teste de Tukey; p<0.05): Controle ≠ Gastrosq (apenas nas secções I (9h e 3h), II (9h e 3h), III (3h), IV (3h) e V (3h)); SHAM ≠ Gastrosq. (em todas as secções (I a V) e regiões (9h e 3h)); Controle ≠ SHAM (apenas nas secções IV (3h) e V (9h e 3h)). (g) comparações entre Secções (teste de Perfil): Para Grupo “C”: Secção I ≠ Secção III (p=0.010); Secção I ≠ Secção V (p=0.028); Para Grupo “S”: Nenhuma diferença significativa; Grupo “G”: Nenhuma diferença significativa. (h) comparações entre Secções (teste de Perfil): Para 18,5 dias: Secção I ≠ Secção IV (p=0.011); Para 19,5 dias: Nenhuma diferença significativa. (i) comparações entre Grupos (teste de Tukey; p<0.05): Para 18,5 dias: Controle ≠ Gastrosq (apenas na secção III (3h)); SHAM ≠ Gastrosq. (apenas nas secções II (9h), III (3h) e IV (9h e 3h)). Para 19,5 dias: Controle ≠ Gastrosq (apenas nas secções I (9h), II (9h), III (3h) e IV (3h)); SHAM ≠ Gastrosq. (apenas nas secções I (9h), II (9h e 3h), III (9h e 3h), IV (9h e 3h) e V (9h e 3h)). (j) comparações entre Grupos (teste de Tukey; p<0.05): Controle ≠ Gastrosq (apenas nas secções I (9h e 3h), II (3h), III (3h), IV (3h) e V (9h e 3h)); SHAM ≠ Gastrosq. (apenas nas secções I (9h e 3h), II (3h), III (9h e 3h), IV (3h) e V (9h e 3h)). (k) comparações entre Dias (teste de Tukey; p<0.05): “18,5 dias” ≠ “19,5 dias” (em todas as secções (I a V) e regiões (9h e 3h)).

Tabela 4- Resultados da ANOVA para medidas repetidas para comparações das medidas entre grupos, regiões de medida e cortes seccionais (18,5 dias).

Comparações	D1*	D2*	Mucosa*	M Circular*	M Longitud.*	Serosa*
<u>Grupos</u>	$F_{(2,20)}=5.29$	$F_{(2,20)}=2.64$	$F_{(2,20)}=1.54$	$F_{(2,20)}=14.68$	$F_{(2,20)}=5.57$	$F_{(2,20)}=10.87$
(C, S, G)	p=0.014^a	$p=0.096$	$p=0.238$	p<0.001^b	p=0.012^d	p<0.001^c
<u>Regiões Medidas</u>			$F_{(1,20)}=0.01$	$F_{(1,20)}=0.07$	$F_{(1,20)}=0.18$	$F_{(1,20)}=3.68$
(9h e 3h)	---	---	$p=0.945$	$p=0.791$	$p=0.673$	$p=0.070$
Interação Região vs Grupo	---	---	$F_{(2,20)}=2.46$ $p=0.111$	$F_{(2,20)}=0.03$ $p=0.974$	$F_{(2,20)}=1.23$ $p=0.313$	$F_{(2,20)}=1.04$ $p=0.372$
<u>Cortes</u>						
<u>Seccionais</u>	$F_{(4,80)}=1.71$	$F_{(4,80)}=2.47$	$F_{(4,80)}=1.44$	$F_{(4,80)}=2.73$	$F_{(4,80)}=1.53$	$F_{(4,80)}=1.29$
(I, II, III, IV e V)	$p=0.156$	$p=0.052$	$p=0.227$	p=0.035^c	$p=0.208$	$p=0.282$
Interação Secção vs Grupo	$F_{(8,80)}=0.72$ $p=0.677$	$F_{(8,80)}=0.68$ $p=0.711$	$F_{(8,80)}=0.56$ $p=0.808$	$F_{(8,80)}=1.27$ $p=0.271$	$F_{(8,80)}=1.06$ $p=0.397$	$F_{(8,80)}=0.43$ $p=0.890$
Interação Região vs Secção	---	---	$F_{(4,80)}=0.75$ $p=0.558$	$F_{(4,80)}=1.95$ $p=0.111$	$F_{(4,80)}=0.78$ $p=0.535$	$F_{(4,80)}=1.89$ $p=0.128$

* variáveis transformadas em logaritmo ($\log_{10}$) devido à ausência de distribuição Normal.

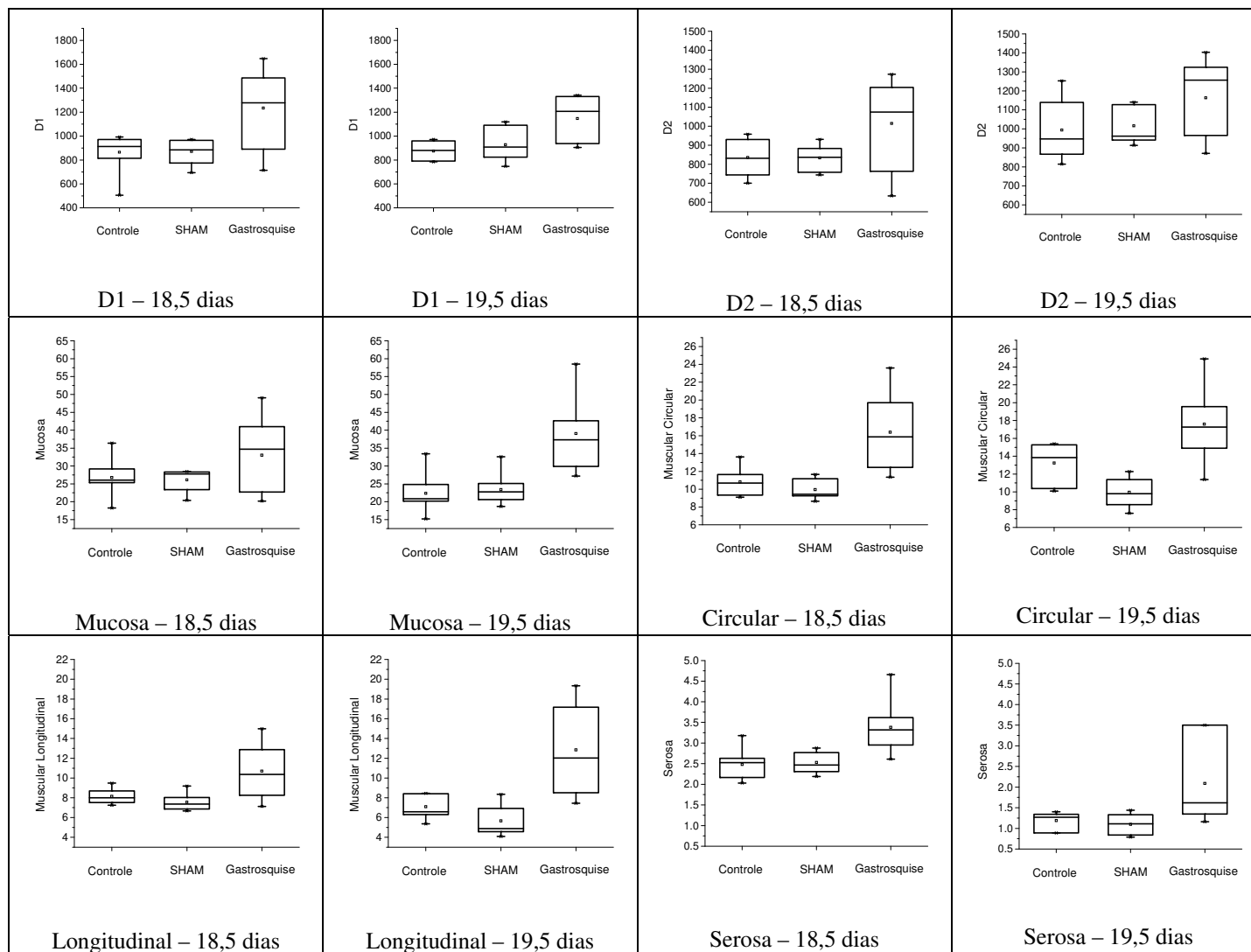
(a) comparações entre Grupos (teste de Tukey; $p<0.05$): Controle $\neq$ Gastrosq (apenas nas secções I, III e V); SHAM $\neq$ Gastrosq. (apenas nas secções I e IV). (b) comparações entre Grupos (teste de Tukey; $p<0.05$): Controle $\neq$ Gastrosq (apenas nas secções I (9h e 3h), II (9h e 3h), III (9h e 3h), IV (3h) e V (3h)); SHAM $\neq$ Gastrosq. (em todas as secções (I a V) e regiões (9h e 3h)). (c) comparações entre Secções (teste de Perfil): Secção I $\neq$ Secção IV ($p=0.011$). (d) comparações entre Grupos (teste de Tukey; $p<0.05$): Controle $\neq$ Gastrosq (apenas na secção III (3h)); SHAM $\neq$ Gastrosq. (apenas nas secções II (9h), III (3h) e IV (9h e 3h)). (e) comparações entre Grupos (teste de Tukey; $p<0.05$): Controle $\neq$ Gastrosq (apenas nas secções I (3h), II (3h) e V (9h)); SHAM $\neq$ Gastrosq. (apenas nas secções I (3h), IV (3h) e V (9h e 3h)).

Tabela 5- Resultados da ANOVA para medidas repetidas para comparações das medidas entre grupos, regiões de medida e cortes seccionais (**19,5 dias**).

Comparações	D1*	D2*	Mucosa*	M Circular*	M Longitud.*	Serosa*
<u>Grupos</u>	$F_{(2,18)}=6.66$	$F_{(2,18)}=2.18$	$F_{(2,18)}=11.23$	$F_{(2,18)}=13.30$	$F_{(2,18)}=15.55$	$F_{(2,18)}=7.80$
(C, S, G)	p=0.007^a	p=0.142	p<0.001^b	p<0.001^c	p<0.001^d	p=0.004^e
<u>Regiões Medidas</u>			$F_{(1,18)}=3.16$	$F_{(1,18)}=0.01$	$F_{(1,18)}=0.21$	$F_{(1,18)}=0.19$
(9h e 3h)	---	---	p=0.092	p=0.935	p=0.649	p=0.667
Interação Região vs Grupo	---	---	$F_{(2,20)}=1.22$ p=0.319	$F_{(2,20)}=1.78$ p=0.197	$F_{(2,20)}=0.61$ p=0.552	$F_{(2,20)}=1.42$ p=0.268
<u>Cortes Seccionais</u>	$F_{(4,72)}=1.69$	$F_{(4,72)}=1.40$	$F_{(4,72)}=0.36$	$F_{(4,72)}=1.36$	$F_{(4,72)}=0.56$	$F_{(4,72)}=1.18$
(I, II, III, IV e V)	p=0.173	p=0.248	p=0.823	p=0.256	p=0.694	p=0.326
Interação Secção vs Grupo	$F_{(8,72)}=0.84$ p=0.558	$F_{(8,72)}=1.47$ p=0.194	$F_{(8,72)}=0.91$ p=0.510	$F_{(8,72)}=1.85$ p=0.081	$F_{(8,72)}=0.98$ p=0.458	$F_{(8,72)}=0.14$ p=0.996
Interação Região vs Secção	---	---	$F_{(4,72)}=1.01$ p=0.409	$F_{(4,72)}=0.31$ p=0.824	$F_{(4,72)}=0.87$ p=0.485	$F_{(4,72)}=0.51$ p=0.732

* variáveis transformadas em logaritmo ($\log_{10}$) devido à ausência de distribuição Normal.

(a) comparações entre Grupos (teste de Tukey; $p<0.05$): Controle $\neq$ Gastrosq (em todas as secções); SHAM $\neq$ Gastrosq. (apenas nas secções II, III, IV e V). (b) comparações entre Grupos (teste de Tukey; $p<0.05$): Controle $\neq$ Gastrosq (apenas nas secções I (9h e 3h), II (9h e 3h), III (3h), IV (3h) e V (9h e 3h)); SHAM $\neq$ Gastrosq. (apenas nas secções I (3h), II (9h e 3h), III (3h), IV (3h) e V (3h)). (c) comparações entre Grupos (teste de Tukey; $p<0.05$): Controle $\neq$ Gastrosq (apenas na secção IV (3h)); SHAM $\neq$ Gastrosq. (apenas nas secções I (3h), II (9h e 3h), III (3h), IV (9h e 3h) e V (9h e 3h)); Controle $\neq$ SHAM (apenas nas secções IV (3h) e V (9h e 3h)). (d) comparações entre Grupos (teste de Tukey; $p<0.05$): Controle $\neq$ Gastrosq (apenas nas secções I (9h), II (9h), III (3h) e IV (3h)); SHAM $\neq$ Gastrosq. (apenas nas secções I (9h), II (9h e 3h), III (9h e 3h), IV (9h e 3h) e V (9h e 3h)). (e) comparações entre Grupos (teste de Tukey; $p<0.05$): Controle $\neq$ Gastrosq (apenas nas secções II (3h), III (3h) e V (3h)); SHAM $\neq$ Gastrosq. (apenas nas secções II (3h), III (9h e 3h), IV (3h) e V (3h)).



Bibliografia:

- Milliken, G.A. & Johnson, D.E. (1984), *Analysis of Messy Data. Volume I: Designed Experiments*. New York: Van Nostrand Reinhold Company.
- Montgomery, Douglas C. (1991), *Design and Analysis of Experiments*. 3rd ed. New York: John Wiley & Sons.

Programa Computacional:

Para análise estatística foi utilizado o seguinte programa computacional:

- The SAS System for Windows (Statistical Analysis System), versão 6.12.

SAS Institute Inc, 1989-1996, Cary, NC, USA.

Análise Descritiva Geral (Após Junção de 9h e 3h)

- as tabelas 6 e 7, a seguir, apresentam as estatísticas descritivas das variáveis para 18,5 dias e 19,5 dias de gestação, após a junção das medidas de 9h e 3h numa só.

Tabela 6- Análise descritiva das variáveis por grupo – 18,5 dias.

GRUPO "CONTROLE"							GRUPO "SHAM"							GRUPO "GASTROSQUISE"						
VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX
MUCOS1	8	28.06	6.94	13.25	29.46	36.67	MUCOS1	7	28.46	6.79	16.64	28.24	39.86	MUCOS1	8	32.85	9.03	19.44	33.66	43.00
MUCOS2	8	28.16	7.62	19.39	26.19	43.72	MUCOS2	7	26.01	3.72	20.95	25.84	31.17	MUCOS2	8	33.72	8.79	21.23	33.44	44.80
MUCOS3	8	26.61	5.65	15.96	27.96	35.27	MUCOS3	7	26.46	5.31	19.62	24.12	33.41	MUCOS3	8	32.63	13.47	19.16	31.44	60.90
MUCOS4	8	26.50	3.27	22.98	25.27	32.51	MUCOS4	7	26.33	2.71	21.68	26.66	29.76	MUCOS4	8	31.49	12.80	17.26	30.52	51.30
MUCOS5	8	24.50	5.03	16.55	24.28	33.78	MUCOS5	7	23.22	2.00	20.50	22.63	26.42	MUCOS5	8	34.32	14.78	19.94	31.08	56.70
CIRCS1	8	10.50	1.73	8.70	10.13	13.92	CIRCS1	7	11.01	1.40	8.98	11.14	12.71	CIRCS1	8	18.23	6.25	12.73	15.73	30.32
CIRCS2	8	11.01	2.70	8.13	10.44	17.19	CIRCS2	7	9.77	1.33	8.16	9.85	12.23	CIRCS2	8	17.50	4.98	12.08	16.54	24.46
CIRCS3	8	11.13	1.63	9.12	10.90	14.63	CIRCS3	7	9.81	1.30	8.48	9.42	12.21	CIRCS3	8	15.47	3.92	10.37	16.07	20.27
CIRCS4	8	10.49	1.20	8.59	10.94	11.73	CIRCS4	7	9.54	1.81	7.09	8.87	11.94	CIRCS4	8	14.89	3.90	9.37	13.41	20.95
CIRCS5	8	10.92	2.08	7.92	10.89	14.02	CIRCS5	7	9.61	1.65	7.18	10.06	11.20	CIRCS5	8	15.83	4.89	10.71	14.46	25.25
LONGS1	8	8.27	0.92	7.46	7.84	9.95	LONGS1	7	8.30	1.39	6.91	7.61	10.76	LONGS1	8	10.11	3.03	5.03	10.42	14.19
LONGS2	8	7.96	1.57	5.15	8.10	10.75	LONGS2	7	6.95	1.02	6.02	6.71	8.40	LONGS2	8	10.50	3.02	7.12	9.99	15.47
LONGS3	8	8.32	0.80	7.27	8.65	9.23	LONGS3	7	7.76	1.33	5.68	7.84	9.60	LONGS3	8	12.04	3.88	6.14	13.62	16.58
LONGS4	8	8.04	1.17	6.83	7.84	10.46	LONGS4	7	7.24	1.07	5.94	7.37	9.30	LONGS4	8	11.33	3.67	5.85	10.77	17.24
LONGS5	8	8.12	1.43	6.17	7.73	10.08	LONGS5	7	7.53	1.60	5.06	7.30	10.22	LONGS5	8	9.49	3.38	3.65	8.78	14.56
SEROS1	8	2.52	0.39	2.03	2.50	3.37	SEROS1	7	2.72	0.37	2.26	2.70	3.28	SEROS1	8	3.63	0.75	2.73	3.59	5.08
SEROS2	8	2.50	0.89	1.80	2.18	4.43	SEROS2	7	2.55	0.85	1.72	2.22	4.14	SEROS2	8	3.60	1.18	2.18	3.47	6.13
SEROS3	8	2.55	0.63	1.60	2.60	3.60	SEROS3	7	2.68	0.64	2.03	2.44	3.75	SEROS3	8	3.12	0.79	2.41	2.92	4.98
SEROS4	8	2.59	0.78	1.80	2.54	4.12	SEROS4	7	2.39	0.64	1.80	2.24	3.74	SEROS4	8	3.34	0.79	2.26	3.44	4.31
SEROS5	8	2.24	0.38	1.46	2.29	2.60	SEROS5	7	2.31	0.36	1.89	2.23	2.83	SEROS5	8	3.21	0.57	2.11	3.23	4.03

Tabela 7- Análise descritiva das variáveis por grupo – 19,5 dias.

GRUPO "CONTROLE"							GRUPO "SHAM"							GRUPO "GASTROSQUISE"						
VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX
MUCOS1	7	21.76	4.71	13.08	21.30	28.01	MUCOS1	7	24.84	4.13	18.91	25.34	30.96	MUCOS1	7	38.97	17.92	23.12	32.01	65.99
MUCOS2	7	21.17	4.26	14.24	20.83	27.20	MUCOS2	7	23.30	5.07	19.70	22.36	34.24	MUCOS2	7	42.38	10.93	28.17	41.19	62.37
MUCOS3	7	23.17	6.35	18.32	21.48	36.21	MUCOS3	7	22.26	5.83	16.35	21.35	34.47	MUCOS3	7	36.44	9.52	21.22	39.55	46.57
MUCOS4	7	23.28	8.40	16.99	20.73	41.27	MUCOS4	7	23.10	5.31	16.58	22.33	31.80	MUCOS4	7	41.33	14.94	28.25	35.11	69.72
MUCOS5	7	22.35	6.67	12.83	21.03	34.34	MUCOS5	7	23.37	4.92	16.37	23.86	31.40	MUCOS5	7	36.23	7.62	22.98	36.04	47.88
CIRCS1	7	11.87	3.50	7.01	12.84	16.32	CIRCS1	7	10.20	2.47	6.63	10.99	13.35	CIRCS1	7	17.28	4.73	9.62	18.33	23.86
CIRCS2	7	12.45	2.45	8.41	12.52	15.36	CIRCS2	7	10.03	0.87	8.89	9.67	11.20	CIRCS2	7	17.21	5.62	12.04	16.17	28.67
CIRCS3	7	14.15	2.00	10.62	14.68	16.43	CIRCS3	7	10.35	1.55	8.81	10.22	13.40	CIRCS3	7	17.37	4.60	8.98	17.65	23.19
CIRCS4	7	13.58	1.47	11.06	13.96	15.68	CIRCS4	7	9.48	2.07	7.02	8.84	11.97	CIRCS4	7	18.96	4.41	13.95	18.84	27.42
CIRCS5	7	14.08	2.52	10.46	14.33	16.92	CIRCS5	7	9.66	2.44	6.45	9.40	13.57	CIRCS5	7	17.10	3.27	12.30	17.77	21.40
LONGS1	7	6.26	1.69	4.48	5.76	8.77	LONGS1	7	6.53	3.01	3.59	5.31	11.93	LONGS1	7	13.85	7.12	6.44	10.53	24.45
LONGS2	7	7.48	1.69	5.31	6.77	10.30	LONGS2	7	5.49	1.47	3.53	5.45	8.01	LONGS2	7	14.28	6.44	7.55	13.75	26.47
LONGS3	7	6.97	1.44	5.11	6.44	9.70	LONGS3	7	5.30	1.29	4.03	4.72	7.65	LONGS3	7	12.54	4.27	8.03	13.01	18.15
LONGS4	7	7.07	1.74	5.05	6.13	9.62	LONGS4	7	5.33	1.42	3.97	4.65	8.08	LONGS4	7	11.25	3.13	6.61	11.19	16.06
LONGS5	7	7.65	2.17	5.00	7.22	11.13	LONGS5	7	5.63	1.93	3.39	5.32	8.99	LONGS5	7	12.34	5.49	6.65	10.70	21.49
SEROS1	7	1.30	0.36	0.81	1.18	1.96	SEROS1	7	1.14	0.31	0.76	1.23	1.49	SEROS1	7	2.31	1.37	1.00	1.71	4.25
SEROS2	7	1.15	0.16	0.94	1.14	1.44	SEROS2	7	1.09	0.31	0.71	1.04	1.52	SEROS2	7	1.99	0.63	1.44	1.72	3.17
SEROS3	7	1.14	0.25	0.81	1.14	1.52	SEROS3	7	1.01	0.23	0.81	1.00	1.47	SEROS3	7	1.93	0.74	1.18	1.69	3.10
SEROS4	7	1.15	0.40	0.67	1.27	1.72	SEROS4	7	1.02	0.47	0.57	0.90	1.85	SEROS4	7	2.09	1.30	1.00	1.76	4.25
SEROS5	7	1.20	0.33	0.81	1.18	1.80	SEROS5	7	1.23	0.53	0.66	1.05	2.12	SEROS5	7	2.14	1.24	1.00	1.72	4.54

De: Câmara de Pesquisa – Serviço de Estatística – FCM – Unicamp

Para: Willy Marcus Gomes França / Dr Lourenço Sbragia – Cirurgia

Data: 14 de setembro de 2005.

Avaliação macroscópica e histológica dos plexos mioentéricos de intestinos de fetos de ratas Sprague-Dawley submetidos à gastrosquise experimental intra-útero em diferentes idades gestacionais.

Resultados (continuação – parte II):

Análise Descritiva Geral – Morfologia

- as tabelas 8 e 9, a seguir, apresentam as estatísticas descritivas das variáveis para 18,5 dias e 19,5 dias de gestação para caracterização dos grupos.

Tabela 8- Análise descritiva das variáveis por grupo – 18,5 dias.

<u>GRUPO "CONTROLE"</u>							<u>GRUPO "SHAM"</u>							<u>GRUPO "GASTROSQUISE"</u>						
VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX
PESOCORP	8	5.65	0.59	4.66	5.64	6.30	PESOCORP	7	5.91	0.26	5.41	6.01	6.14	PESOCORP	8	5.54	0.68	4.43	5.79	6.25
PESOINT	8	0.22	0.03	0.19	0.22	0.27	PESOINT	7	0.21	0.03	0.17	0.21	0.26	PESOINT	8	0.31	0.07	0.24	0.31	0.43
COMPINT	8	211.00	17.24	194.00	207.00	240.00	COMPINT	7	200.29	23.04	156.00	204.00	230.00	COMPINT	8	139.88	30.17	82.00	151.50	168.00
PINTFETO	8	3.96	0.23	3.61	3.95	4.32	PINTFETO	7	3.59	0.51	2.71	3.62	4.39	PINTFETO	8	5.64	0.87	4.08	5.53	6.93
PESOCOMP	8	1.06	0.12	0.87	1.06	1.23	PESOCOMP	7	1.07	0.17	0.79	1.07	1.32	PESOCOMP	8	2.33	0.67	1.45	2.39	3.04

Tabela 9- Análise descritiva das variáveis por grupo – 19,5 dias.

<u>GRUPO "CONTROLE"</u>							<u>GRUPO "SHAM"</u>							<u>GRUPO "GASTROSQUISE"</u>						
VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX
PESOCORP	7	6.02	0.30	5.64	6.02	6.44	PESOCORP	7	5.81	0.96	4.37	5.78	7.24	PESOCORP	7	5.89	0.44	5.54	5.72	6.60
PESOINT	7	0.24	0.01	0.22	0.24	0.26	PESOINT	7	0.24	0.04	0.16	0.24	0.28	PESOINT	7	0.29	0.06	0.23	0.29	0.42
COMPINT	7	236.00	17.77	210.00	232.00	267.00	COMPINT	7	235.00	24.39	193.00	233.00	263.00	COMPINT	7	162.43	16.54	140.00	160.00	184.00
PINTFETO	7	4.00	0.24	3.82	3.94	4.51	PINTFETO	7	4.09	0.32	3.56	4.04	4.40	PINTFETO	7	5.02	1.18	4.11	4.65	7.60
PESOCOMP	7	1.02	0.06	0.97	1.00	1.14	PESOCOMP	7	1.01	0.10	0.81	1.01	1.13	PESOCOMP	7	1.86	0.58	1.31	1.71	3.01

Análise Comparativa Geral – Morfologia

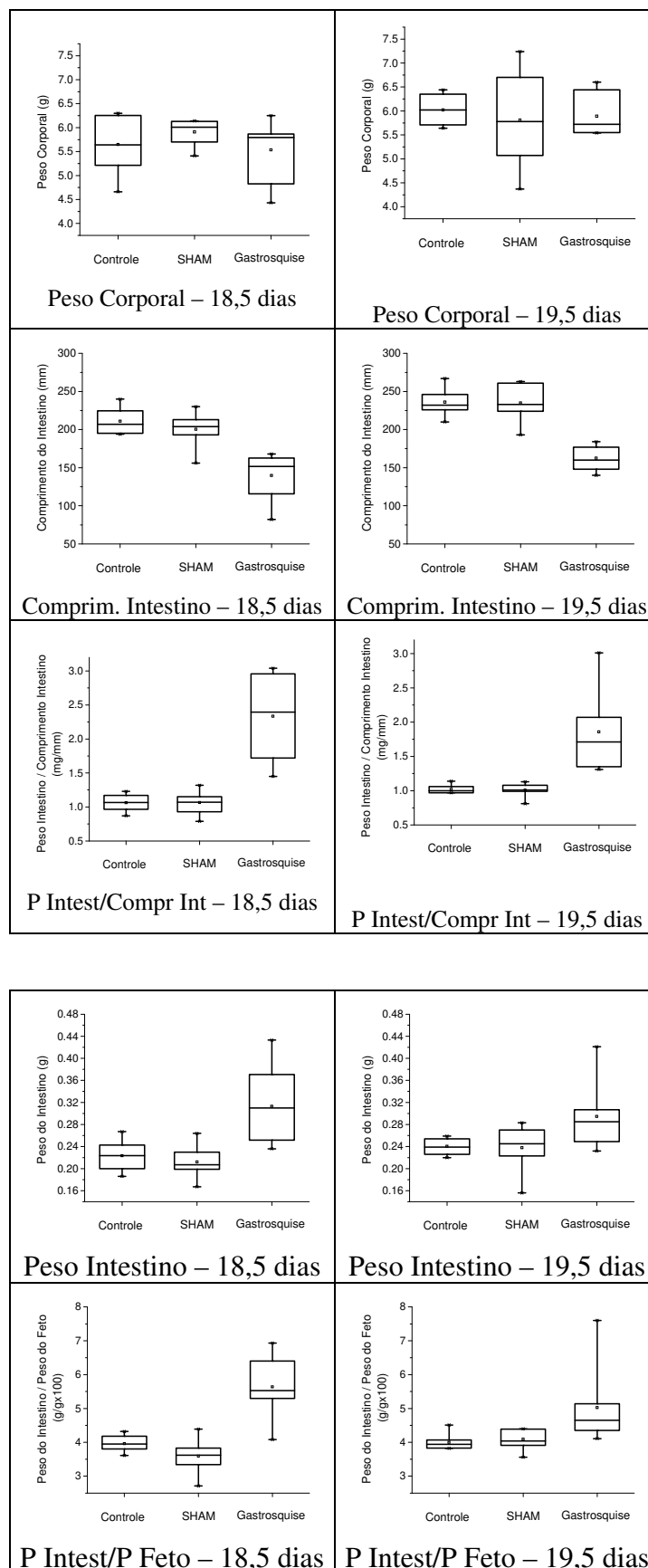
- a tabela 10, a seguir, apresenta os resultados das análises comparativas para as medidas da morfologia entre os 3 grupos e os 2 períodos de gestação, considerando todos os resultados, tanto os de 18,5 dias como os de 19,5 dias de gestação, através do uso da Análise de Variância para 2 fatores (ANOVA Two-Way).

Tabela 10- Resultados da ANOVA para 2 fatores para comparações das medidas entre 3 grupos e 2 períodos de gestação.

Comparações	Peso Corp*	Peso Intest*	Comp Intest*	Peso Int/ Peso Feto*	Peso Int/ Comp Int
<u>Grupos</u>	$F_{(2,38)}=0.23$	$F_{(2,38)}=14.18$	$F_{(2,38)}=38.98$	$F_{(2,38)}=26.18$	$F_{(2,38)}=56.59$
(C, S, G)	$p=0.793$	$p<0.001$^a	$p<0.001$^b	$p<0.001$^d	$p<0.001$^e
<u>Períodos de Gestação</u>	$F_{(1,38)}=1.25$	$F_{(1,38)}=0.77$	$F_{(1,38)}=12.43$	$F_{(1,38)}=0.04$	$F_{(1,38)}=3.12$
(18,5 dias e 19,5 dias)	$p=0.271$	$p=0.386$	$p=0.001$^c	$p=0.850$	$p=0.085$
Interação	$F_{(2,38)}=0.97$	$F_{(2,38)}=1.08$	$F_{(2,38)}=0.18$	$F_{(2,38)}=3.66$	$F_{(2,38)}=1.09$
Grupo vs Gestação	$p=0.389$	$p=0.350$	$p=0.833$	$p=0.035$^d	$p=0.347$

* variáveis transformadas em logaritmo ($\log_{10}$) devido à ausência de distribuição Normal.

(a) comparações entre Grupos (teste de Tukey; $p<0.05$): Controle $\neq$ Gastrosq; SHAM $\neq$ Gastrosq. (em ambos os dias). (b) comparações entre Grupos (teste de Tukey; $p<0.05$): Controle $\neq$ Gastrosq; SHAM $\neq$ Gastrosq. (em ambos os dias). (c) comparações entre Dias (teste de Tukey; $p<0.05$): “18,5 dias” $\neq$ “19,5 dias” (em todos os grupos). (d) comparações entre Grupos (teste de Tukey; $p<0.05$): Para 18,5 dias: Controle $\neq$ Gastrosq; SHAM $\neq$ Gastrosq. Para 19,5 dias: Controle $\neq$ Gastrosq; SHAM $\neq$ Gastrosq. Comparações entre Dias (teste de Tukey; $p<0.05$): Grupo C: Sem diferença significativa; Grupo S: “18,5 dias” $\neq$ “19,5 dias”; Grupo G: Sem diferença significativa. (e) comparações entre Grupos (teste de Tukey; $p<0.05$): Controle $\neq$ Gastrosq; SHAM $\neq$ Gastrosq. (em ambos os dias).



De: Câmara de Pesquisa – Serviço de Estatística – FCM – Unicamp

Para: Willy Marcus Gomes França / Dr Lourenço Sbragia – Cirurgia

Data: 20 de abril de 2006.

Avaliação macroscópica e histológica dos plexos mioentéricos de intestinos de fetos de ratas Sprague-Dawley submetidos à gastrosquise experimental intra-útero em diferentes idades gestacionais.

Resultados (continuação – parte III):

Análise Descritiva Geral (Espessura Total da Parede)

- as tabelas 11 e 12, a seguir, apresentam as estatísticas descritivas das variáveis para 18,5 dias e 19,5 dias de gestação para caracterização dos grupos.

Tabela 11- Análise descritiva das variáveis por grupo – **18,5 dias.**

<u>GRUPO "CONTROLE"</u>							<u>GRUPO "SHAM"</u>							<u>GRUPO "GASTROSQUISE"</u>						
VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX
TOT91	8	48.53	10.69	32.83	46.26	71.33	TOT91	7	51.25	12.15	34.38	52.23	70.90	TOT91	8	70.20	21.08	45.48	70.44	102.64
TOT92	8	48.67	15.71	35.92	44.04	85.43	TOT92	7	43.20	6.29	35.84	42.37	55.13	TOT92	8	62.24	16.93	44.31	62.10	83.26
TOT93	8	47.85	9.22	32.44	50.07	58.99	TOT93	7	46.52	5.41	39.61	46.07	53.65	TOT93	8	64.14	18.78	37.90	68.98	87.38
TOT94	8	44.82	6.45	34.14	43.94	54.96	TOT94	7	46.18	9.99	37.11	44.53	67.26	TOT94	8	60.63	17.92	39.74	54.14	87.33
TOT95	8	46.90	11.22	36.26	44.73	69.41	TOT95	7	43.52	3.55	37.83	43.05	48.42	TOT95	8	65.17	22.91	37.44	57.86	102.93
TOT31	8	50.14	9.83	31.46	53.78	62.12	TOT31	7	49.72	7.20	37.88	49.58	59.94	TOT31	8	59.43	14.98	33.79	58.93	80.49
TOT32	8	50.60	8.95	40.09	50.35	66.73	TOT32	7	47.35	4.19	38.40	48.88	50.59	TOT32	8	68.40	18.31	39.63	65.74	91.44
TOT33	8	49.38	8.32	37.96	47.35	66.43	TOT33	7	46.89	8.43	38.91	44.71	62.40	TOT33	8	62.37	24.12	38.71	57.27	112.18
TOT34	8	50.40	7.05	41.74	49.91	59.98	TOT34	7	44.79	8.01	33.75	43.12	59.13	TOT34	8	61.48	20.68	41.17	57.76	95.47
TOT35	8	44.66	7.01	37.40	43.71	58.95	TOT35	7	41.83	6.81	29.45	43.74	49.39	TOT35	8	60.55	22.58	32.67	52.72	96.40
TOT9	8	47.35	9.61	34.32	45.14	67.22	TOT9	7	46.13	5.36	38.12	47.24	53.66	TOT9	8	64.47	16.70	44.22	61.59	86.03
TOT3	8	49.03	5.00	40.84	48.78	56.68	TOT3	7	46.12	4.02	39.24	45.58	52.05	TOT3	8	62.44	17.76	39.83	62.35	89.35
TOT	8	48.19	7.13	37.58	46.54	61.95	TOT	7	46.13	4.51	38.68	46.54	51.40	TOT	8	63.46	16.54	42.03	63.67	86.00

Tabela 12- Análise descritiva das variáveis por grupo – **19,5 dias.**

<u>GRUPO "CONTROLE"</u>							<u>GRUPO "SHAM"</u>							<u>GRUPO "GASTROSQUISE"</u>						
VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX
TOT91	7	40.07	8.40	29.40	42.15	53.68	TOT91	7	44.11	6.54	33.02	46.09	52.00	TOT91	7	71.95	26.33	50.66	59.01	118.53
TOT92	7	41.42	6.44	28.93	42.28	49.79	TOT92	7	42.36	7.19	32.42	41.08	51.59	TOT92	7	73.10	21.22	45.83	69.92	112.87
TOT93	7	44.13	7.30	34.58	44.32	53.53	TOT93	7	40.30	7.45	29.86	38.02	49.78	TOT93	7	61.69	16.11	46.24	53.33	91.73
TOT94	7	43.78	9.03	30.94	44.07	55.88	TOT94	7	39.23	8.07	28.44	36.78	51.44	TOT94	7	64.74	26.93	42.59	54.31	120.41
TOT95	7	45.41	10.64	27.41	45.69	56.26	TOT95	7	39.18	9.23	30.17	34.68	52.56	TOT95	7	65.37	17.30	43.51	60.18	99.26
TOT31	7	42.30	9.68	24.73	40.68	56.50	TOT31	7	41.34	9.87	29.48	37.20	57.98	TOT31	7	72.89	23.74	50.67	60.51	106.73
TOT32	7	43.09	8.29	34.47	41.16	59.96	TOT32	7	37.47	8.20	28.54	34.45	53.88	TOT32	7	78.63	16.11	61.70	76.69	106.53
TOT33	7	46.73	12.18	37.10	43.14	72.90	TOT33	7	37.56	9.86	26.33	35.33	57.86	TOT33	7	74.87	23.38	48.25	70.09	121.23
TOT34	7	46.39	16.02	35.31	41.06	81.06	TOT34	7	38.62	8.15	31.95	37.12	54.15	TOT34	7	82.52	23.99	52.24	78.47	120.39
TOT35	7	45.16	9.07	32.12	44.88	61.48	TOT35	7	40.61	7.10	28.58	40.07	51.30	TOT35	7	70.25	12.32	45.79	73.18	83.19
TOT9	7	42.96	6.82	30.25	46.73	48.06	TOT9	7	41.03	6.25	34.73	39.29	50.84	TOT9	7	67.37	19.55	48.75	62.95	108.56
TOT3	7	44.73	10.40	33.65	41.66	66.38	TOT3	7	39.12	7.31	31.09	37.00	53.66	TOT3	7	75.83	16.43	54.73	68.79	97.51
TOT	7	43.85	7.36	31.95	43.53	56.71	TOT	7	40.08	5.75	35.86	38.76	52.25	TOT	7	71.60	16.17	51.74	65.65	101.54

Análise Comparativa Geral (Espessura Total da Parede)

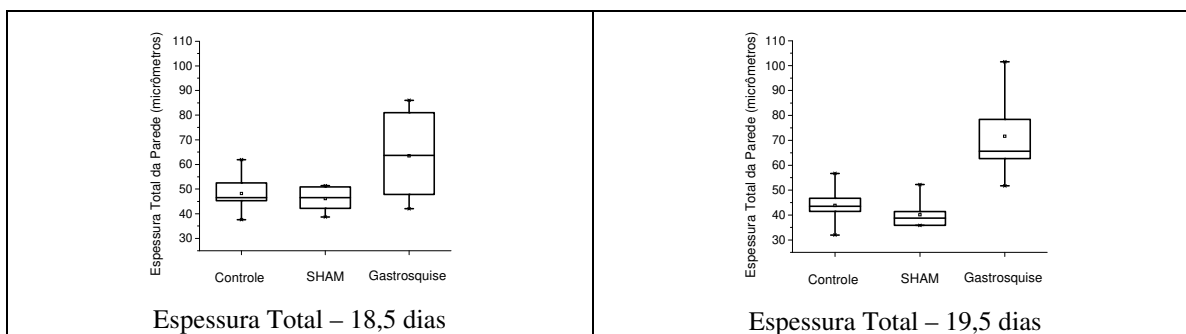
- a tabela 13, a seguir, apresenta os resultados das análises comparativas para a espessura total da parede entre os 3 grupos, os 2 períodos de gestação, as 2 regiões de medida e os 5 cortes seccionais, considerando todos os resultados, e depois apenas os de 18,5 dias e de 19,5 dias, respectivamente.

Tabela 13- Resultados da ANOVA para medidas repetidas para comparações das medidas entre grupos, períodos de gestação, regiões de medida e cortes seccionais, e apenas para 18,5 dias e 19,5 dias.

Comparações	Espessura Total*	Espessura Total* (somente 18,5 dias)	Espessura Total* (somente 19,5 dias)
<u>Grupos</u>			
(C, S, G)	$F_{(2,38)}=23.53$; $p<0.001$ ^a	$F_{(2,20)}=5.43$; $p=0.013$ ^b	$F_{(2,18)}=20.85$; $p<0.001$ ^c
<u>Períodos de Gestação</u>			
(18,5 dias e 19,5 dias)	$F_{(1,38)}=0.52$; $p=0.476$	---	---
Interação Grupo vs Gestação	$F_{(2,38)}=2.40$; $p=0.104$	---	---
<u>Regiões Medidas</u>			
(9h e 3h)	$F_{(1,38)}=0.70$; $p=0.409$	$F_{(1,20)}=0.01$; $p=0.918$	$F_{(1,18)}=0.77$; $p=0.391$
Interação Região vs Grupo	$F_{(2,38)}=0.89$; $p=0.418$	$F_{(2,20)}=0.96$; $p=0.400$	$F_{(2,18)}=1.54$; $p=0.242$
Interação Região vs Gestação	$F_{(1,38)}=0.53$; $p=0.470$	---	---
<u>Cortes Seccionais</u>			
(I, II, III, IV e V)	$F_{(4,152)}=1.42$; $p=0.230$	$F_{(4,80)}=2.45$; $p=0.053$	$F_{(4,72)}=0.16$; $p=0.941$
Interação Secção vs Grupo	$F_{(8,152)}=1.48$; $p=0.167$	$F_{(8,80)}=0.49$; $p=0.858$	$F_{(8,72)}=1.61$; $p=0.152$
Interação Secção vs Gestação	$F_{(4,152)}=1.09$; $p=0.365$	---	---
Interação Região vs Secção	$F_{(4,152)}=1.43$; $p=0.226$	$F_{(4,80)}=1.71$; $p=0.156$	$F_{(4,72)}=1.07$; $p=0.377$

* variável transformada em logaritmo ($\log_{10}$) devido à ausência de distribuição Normal.

(a) comparações entre Grupos (teste de Tukey; $p<0.05$): Controle $\neq$ Gastrosq; SHAM $\neq$ Gastrosq. (em todos os cortes seccionais). (b) comparações entre Grupos (teste de Tukey; $p<0.05$): Controle $\neq$ Gastrosq (apenas nas secções I (9h) e II (3h)); SHAM $\neq$ Gastrosq. (apenas nas secções II (9h e 3h) e V (9h)). (c) comparações entre Grupos (teste de Tukey; $p<0.05$): Controle $\neq$ Gastrosq (apenas nas secções I (9h e 3h), II (9h e 3h), III (9h e 3h), IV (3h) e V (9h e 3h)); SHAM $\neq$ Gastrosq. (em todos os cortes seccionais).



Análise Descritiva Geral (Após Junção de 9h e 3h)

- as tabelas 14 e 15, a seguir, apresentam as estatísticas descritivas das variáveis para 18,5 dias e 19,5 dias de gestação, após a junção das medidas de 9h e 3h numa só.

Tabela 14- Análise descritiva das variáveis por grupo – 18,5 dias.

GRUPO "CONTROLE"							GRUPO "SHAM"							GRUPO "GASTROSQUISE"						
VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX
TOT1	8	49.34	9.11	32.15	50.79	63.21	TOT1	7	50.49	9.05	36.13	49.35	65.42	TOT1	8	64.81	16.40	42.72	65.51	84.59
TOT2	8	49.63	11.63	38.01	46.79	76.08	TOT2	7	45.27	4.21	39.92	44.52	52.86	TOT2	8	65.32	14.42	44.35	68.99	82.34
TOT3	8	48.61	7.69	35.20	48.49	62.71	TOT3	7	46.70	6.66	39.38	46.62	58.03	TOT3	8	63.25	20.20	39.03	66.19	99.78
TOT4	8	47.61	4.59	43.26	45.35	55.58	TOT4	7	45.49	5.61	37.97	44.64	54.73	TOT4	8	61.05	17.91	40.46	56.92	91.40
TOT5	8	45.78	7.04	37.16	45.13	55.21	TOT5	7	42.68	4.70	35.84	43.40	48.36	TOT5	8	62.86	21.38	41.65	54.86	99.67

Tabela 15- Análise descritiva das variáveis por grupo – 19,5 dias.

GRUPO "CONTROLE"							GRUPO "SHAM"							GRUPO "GASTROSQUISE"						
VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX	VARIÁV	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX
TOT1	7	41.19	7.63	27.07	41.91	50.76	TOT1	7	42.72	6.06	37.18	40.74	52.04	TOT1	7	72.42	24.59	52.26	58.87	110.89
TOT2	7	42.26	5.69	31.70	43.75	50.31	TOT2	7	39.92	6.30	33.43	38.16	52.73	TOT2	7	75.86	17.17	60.89	70.09	109.70
TOT3	7	45.43	7.46	36.88	46.61	58.76	TOT3	7	38.93	6.76	32.95	38.06	53.39	TOT3	7	68.28	14.79	47.25	67.28	86.01
TOT4	7	45.09	10.63	34.36	42.00	66.73	TOT4	7	38.93	6.94	30.74	38.06	52.79	TOT4	7	73.63	20.33	53.27	63.55	112.71
TOT5	7	45.28	8.74	29.76	45.28	56.97	TOT5	7	39.89	7.46	29.38	37.37	51.93	TOT5	7	67.81	13.96	44.65	66.98	89.88