

WILLY MARCUS GOMES FRANÇA

***ATRESIA DE ESÔFAGO E ANOMALIAS VISCERAIS
INDUZIDAS PELA DOXORRUBICINA EM FETOS DE RATAS
SPRAGUE-DAWLEY E SUAS RELAÇÕES COM O LÍQUIDO
AMNIÓTICO.***

CAMPINAS

2002

WILLY MARCUS GOMES FRANÇA

***ATRESIA DE ESÔFAGO E ANOMALIAS VISCERAIS
INDUZIDAS PELA DOXORRUBICINA EM FETOS DE RATAS
SPRAGUE-DAWLEY E SUAS RELAÇÕES COM O LÍQUIDO
AMNIÓTICO.***

*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação da
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual
de Campinas para obtenção do título de Mestre em
Cirurgia, área de Cirurgia.*

Orientador: Prof. Dr. Lourenço Sbragia Neto

CAMPINAS

2002

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

F844a

França, Willy Marcus Gomes

Atresia de esôfago e anomalias viscerais induzidas pela doxorrubicina em fetos de ratas sprague-dawley e suas relações com o hidrânio / Willy Marcus Gomes França. Campinas, SP : [s.n.], 2002.

Orientador : Lorenço Sbragia Neto

Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1. *Atresia esofágica. 2. *Doxorrubicina. 3. Líquido amniótico.
4. *Hidronefrose. I. Lourenço Sbragia Neto. II. Universidade
Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

UNIDADE	Be
Nº CHAMADA	
T/UNICAMP	
F844a	
V	EX
TOMBO BCI	54839
PROC.	16.124103
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	24/07/03
Nº CPD	

CM00186349-3

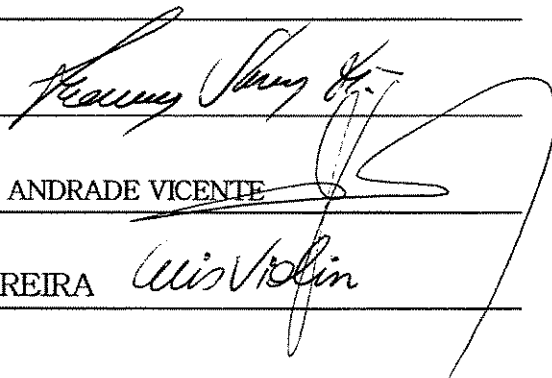
B1 B1D . 297435

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador: Prof. Dr. LOURENÇO SBRAGIA NETO

Membros:

1. Prof. Dr. LOURENÇO SBRAGIA NETO



2. Profa. Dra. YVONE AVALLONI MORAIS VILLELA DE ANDRADE VICENTE

3. Prof. Dr. LUIS ANTONIO VIOLIN DIAS PEREIRA



Curso de Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas.

Data: 06/12/2002

Dedico este trabalho à minha esposa, Sueli, que soube sempre me compreender e ajudar e que sobretudo, acreditou que juntos poderíamos construir com a nossa família uma vida de amor e sucesso para todos.

Ao Prof. Dr. José Antônio Rocha Gontijo

Que nos cedeu, de maneira incondicional, seu laboratório na técnica cirúrgica experimental para que pudéssemos trabalhar mais adequadamente.

Ao Prof. Dr. Luis Violin Pereira

Que permitiu a nossa presença em seu laboratório da Disciplina de Biologia e, além de permitir que utilizássemos todo o seu material de ótica para as dissecções, fez as primeiras correções nos manuscritos desta tese.

À Bióloga e amiga Suzana Moraes

Mestre em Biologia que, com muita paciência, acompanhou nossos trabalhos fotografando com muita competência todas as peças cirúrgicas utilizadas neste estudo.

Ao aluno Anderson Gonçalves, do segundo ano da Medicina

Que mesmo no princípio de sua vida acadêmica já tem o espírito científico aguçado e o interesse em aprender, características comuns nos profissionais de sucesso.

À Bárbara Nogueira, aluna do curso de Biologia

Que igualmente no princípio de sua vida acadêmica demonstrou espírito científico solidário, cuja ajuda na montagem de nossas planilhas de dados foi fundamental para o término desta obra.

A Sra. Vera e Srta. Carla, da secretaria de Pós-graduação do Depto. de Cirurgia

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

Aos amigos do Serviço de Estatística da Comissão de Pesquisa – Unicamp: Helymar Machado, Natália Pinto e Andréa Semolini

Pelo inestimável trabalho de avaliação, correção e confecção do relatório de avaliação estatística desta TESE, fazendo-nos entender, de maneira simples e objetiva, a importância significativa dos nossos resultados.

A minha família, Sueli (esposa), Gabriela (12 anos), Luiza (8 anos) e Pedro (3 anos)

Pela paciência, tolerância, amizade e, sobretudo, pelo carinho que sempre me dedicaram em todos os momentos.

Aos meus pais, Wilson Gomes França e Áurea Francesoli França

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

Ao meu orientador, Prof. Dr. Lourenço Sbragia Neto

Pela confiança que depositou em mim e pelo incansável esforço e disciplinada dedicação na tarefa de me ensinar os primeiros passos da pesquisa científica. A este grande pesquisador, meu respeito, minha amizade e, sobretudo, minha admiração.

	PÁG.
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	15
1. Histórico.....	16
2. Embriologia da AE e FTE.....	17
3. Epidemiologia da AE.....	22
4. Aspectos Clínicos da AE.....	22
5. Líquido amniótico.....	24
6. Modelo experimental de AE.....	26
2. OBJETIVO.....	29
3. MATERIAL E MÉTODO.....	31
4. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	40
5. RESULTADO.....	42
6. DISCUSSÃO.....	73
7. CONCLUSÃO.....	80
8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	82
9. ANEXOS.....	88

LISTA DE ABREVIATURAS

AD	Atresia de Duodeno
AE	Atresia de Esôfago
AgB	Agenesia de Bexiga
AP	Atresia Pilórica
Dox	Doxorrubicina
FTE	Fístula Traqueo-Esofágica
FTT-1	Fator de Transcrição Tireoidiana – 1
IP	Intraperitoneal
LA	Líquido Amniótico
SET	Septo Esôfago-Traquel
UHN	Uretero-Hidronefrose
VATER	Malformação Vertebral, Ano-Retal, Fístula Tráqueo-Esofágica e Renal.
VACTERL	Malformação Vertebral, Cardíaca, Ano-Retal, Fístula Tráqueo-Esofágica, Renal e de Membros.



RESUMO

Atresia de Esôfago (AE) é um defeito que incide em 1:2500-4500 nascidos vivos sendo que de 50 a 80% das vezes está associada a outras malformações neonatais. No período pré-natal, suspeita-se de AE pela ausência ou diminuição da bolha gástrica e presença de polidrâmnio. Os mecanismos embriológicos que tentam explicar a divisão do intestino anterior em esôfago e traquéia ainda não estão esclarecidos. A aplicação intraperitoneal de Doxorubicina (Dox) em ratas é o modelo experimental mais utilizado para produzir defeitos fetais e explicar os mecanismos de formação da AE. O objetivo deste estudo foi testar, neste modelo experimental, a dose de 2,2 mg/kg de Dox, administrada num total de dois dias, do 8º ao 9º dia de gestação e identificar nos fetos a frequência de AE, de malformações viscerais e externas correlacionando-as com o líquido amniótico (LA). Foram utilizadas ratas Sprague-Dawley grávidas (gestação=22 dias) que foram divididas em dois grupos: grupo Dox, onde foi administrada a dose de 2,2 mg/kg de Dox, intraperitoneal do 8º ao 9º dia de gestação e grupo Controle, onde foi administrado o mesmo volume de soro fisiológico 0,9%. Com 21 dias de gestação, as ratas foram anestesiadas e submetidas a laparotomia mediana com retirada dos fetos, em seguida foram medidos os pesos do saco gestacional (feto, placenta, membranas e líquido amniótico), do feto, das membranas e placenta e do LA. Para a obtenção do peso do líquido amniótico foi realizado cálculo pela diferença dos pesos entre o saco gestacional e a soma dos pesos do feto, membranas e placenta. Cada feto foi dissecado para identificação de AE e anomalias associadas. Para avaliar as variações do peso do LA em todos os fetos com AE associadas a uretero-hidronefrose (UHN) bilateral, os fetos foram divididos em três grupos: grupo de AE com FTE (grupo I), grupo AE sem FTE (grupo II) e grupo Controle (grupo III). Para análise estatística dos pesos do LA entre o grupo Dox e o grupo Controle foram utilizados o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Para comparação dos pesos do LA entre os grupos A, B e C foi utilizada a análise de variância simples (ANOVA One-Way), com transformação de postos das variáveis e, ainda, utilizado teste de comparação múltipla de Duncan. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$). Os resultados revelaram 81 fetos do grupo Dox, sendo 74 vivos (91%), todos malformados e sete mortos (9%). No grupo Controle, 21 fetos foram obtidos, todos vivos e sem malformações. As malformações encontradas foram: 70 fetos com UHN (95%); 68 fetos com atresia de esôfago (92%); 68 fetos com atresia de duodeno (92%); 62 fetos com agenesia de bexiga (84%); 37 fetos com

malformações da cauda (50%); 27 fetos com atresia jejuno-ileal (36%); 17 fetos com anomalia ano-retal (23%); 16 fetos com timo ausente (22%); 14 fetos com associação de VATER (19%); sete fetos com malformações dos membros (9%); cinco fetos com agastria (7%); cinco fetos com atresia de bexiga (7%); quatro fetos com estenose de traquéia (5%), dois fetos com associação de VACTERL (3%) e feto apresentou cisto de pâncreas (1%). O grupo Dox apresentou os pesos do saco gestacional, o peso corporal fetal, o peso do LA e o peso da placenta e membranas amniocoriônicas menor que os pesos do grupo Controle ($p=0,0001$) quando utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Para comparação dos pesos do LA entre os três grupos (I, II e III), utilizando o teste de ANOVA nos postos, verificou-se que houve diferença significativa entre os três grupos ($p=0,0001$). Utilizando-se o teste de Duncan nestes três grupos nota-se que houve diferença significativa apenas quando comparados o grupo I com III e II com III ($p<0,05$), sendo que não houve diferença significativa entre I e II. Conclui-se que o modelo experimental utilizando Dox foi adequado para produção de AE e das malformações viscerais associadas. A utilização da Dox numa dose maior e em menor tempo de aplicação (dois dias) permitiu a identificação de 92% de AE nos fetos do grupo Dox, que foi um resultado mais expressivo que os publicados na literatura. Houve aumento do peso do LA nos fetos do grupo Dox, estando o LA maior nos fetos do grupo II, ou seja, aqueles com UHN bila-bilateral associadas à AE sem FTE.. A associação entre UHN bilateral e AE sugere que a origem da UHN seja de causa obstrutiva (anatômica), e sugere-se que esta dilatação do sistema urinário esteja na formação embriológica da implantação dos ureteres próximos à uretra, mesmo nos fetos com agenesia ou atresia da bexiga, permitindo assim que a urina passe para a cavidade amniótica, passando a fazer parte do LA, aumentando seu peso nos fetos do grupo Dox.



ABSTRACT

Esophageal atresia (EA) is a congenital pathology that occurs in 1:2500 to 4500 newborns. The associated malformations are presented in 50-80% of the cases and the diagnosis can be suspected in the prenatal period due to maternal polyhydramnios or by diminish or absence of gastric bubble. The embryological mechanisms of the foregut division of the esophagus and trachea are not well explained yet and its etiology remains uncertain. Experimental rat model using Doxorubicin (Adriamycin®) has been used to produce visceral malformations in fetuses and to explain EA formation and the mechanisms of the foregut division. That model varies in doses of Doxorubicin (1.5 to 2.5mg/kg), and in number of applications (from 6th to 9th gestational days).

Were used an experimental model with 2,2 mg/kg of pregnant rat for 2 days (8th and 9th gestational days) IP. The aim was to demonstrate the efficacy of that new combination, identify EA, TEF and visceral malformations and correlate them with amniotic fluid.

In the 21st day of gestation all the dams underwent to cesarian laparotomy, under general anesthesia. Were studied the weigh of the complete gestacional sac, fetus body, placenta (and membrane) and finally amniotic fluid. External and internal malformations were searched and identified as well.

As a result, 81 fetuses were obtained: 74 (91%) alive and 7 (9%) dead (4 resorptions and 3 hydropics, all were excluded from study). UHN was presented in 70 fetuses (95%), 63 (90%) bilateral and 7 (10%) unilateral. EA in 68 fetuses (92%) of 74, 46 (68%) with tracheo-esophageal fistula (TEF) and 22 (32%) without TEF, Duodenal Atresia (DA) in 68 (92%), Bladder Agenesis (BA) in 62 (84%), tail malformation 37 (50%), VATER association in 14 (19%) and VACTERL association in 6 (8%). Were obtained 2 rare and curious malformations: 4 (5%) stenosis of the trachea and 1 (1%) pancreas cyst.

Fetuses in Dox group presented weigh of gestational sac, fetus body, membrane and placenta and amniotic fluid lower than those in the Control group ($p=0,0001$, Mann-Whitney test).

Amniotic fluid weigh evaluation in the fetuses with EA with TEF (group I) and EA without TEF (group II) associated to bilateral ureterohidronefrosis comparing with Control group (group III) shows higher amount of amniotic fluid ($p=0,0001$, ANOVA One-Way, ranks), and there was not difference between group I and II ($p<0,05$, DUNCAN test).

In conclusion, Dox experimental model was adequate to produce esophageal atresia and visceral associated malformations. Using Dox in a higher dose and in a shorter period of time, 2 days, produced 92% of EA, and presented meaningful results than those described in the literature.

Concerning to amniotic fluid, the association of bilateral UHN and EA suggests that anatomic causes are involved, possibly in the implantation of ureters next to urethra, but this kind of obstruction permits passage of urine of the fetus to amniotic fluid.



INTRODUÇÃO

1. HISTÓRICO

A primeira publicação de atresia de esôfago (AE), com fístula tráqueo-esofágica (FTE) da história, foi creditada a William Durston em 1670 em seu relato “*A narrativa de um monstro nascido em Plymouth...*”, no qual o esôfago proximal terminava em fundo cego em um dos gemelares tóraco-onfalópagos. Outra descrição mais detalhada da AE com FTE foi publicada no livro *The Anatomy of Human Bodies Epitomized* de Thomas Gibson em 1697 (HAIGHT, 1957).

O primeiro relato de sucesso do tratamento cirúrgico da AE com FTE em um só tempo foi creditado a Cameron Haight, da Universidade de Michigan nos Estados Unidos. Durante cinco anos, de 1935 a 1939, Haight tentou cinco vezes a correção da AE com FTE sem êxito, mas em março de 1941, um bebê do sexo feminino, com 12 dias de vida foi operado e permaneceu vivo (HAIGHT & TOWSLEY, 1943).

LEVIN (1940) seguido de LADD (1944) publicaram relatos de dois pacientes portadores de AE que sobreviveram à correção, mas foram submetidos a vários tempos cirúrgicos. LONGMIRE (1947) publicou a primeira série de quatro neonatos portadores de AE com FTE distal foram operados em um único tempo cirúrgico permanecendo vivos.

Para classificar as formas de apresentação da AE e FTE, várias terminologias foram propostas (SWENSON, 1948 e KOOP, 1954 apud PINUS, 1998), mas, a mais utilizada é a proposta por GROSS (GROSS, 1953).

Embora as classificações da AE e FTE sejam anatômicas, nenhuma relaciona o tipo de apresentação da AE com o prognóstico e sobrevida destas crianças.

Para avaliar o risco cirúrgico e correlacioná-lo com o prognóstico dos portadores de AE, WATERSTON & BONHAM-CARTER (1962) descreveram uma classificação utilizando os critérios neonatais de peso ao nascimento e da gravidade da malformação cardíaca e/ou outras anomalias congênitas associadas. Os autores caracterizaram três grupos de neonatos: grupo A, neonatos com peso ao nascimento maior que 2500g e sem malformação cardíaca; grupo B, neonatos com peso entre 2000 e 2500g, com malformação cardíaca moderada ou outras anomalias; e grupo C, neonatos com peso abaixo de 2000g, com grave malformação cardíaca.

Mais recentemente foram utilizados critérios semelhantes aos de WATERSTON & BONHAM-CARTER (1962) para avaliar o prognóstico de AE e também caracterizaram três grupos de neonatos: grupo I, neonatos com peso maior ou igual a 1500g e sem doenças cardíacas associadas; grupo II, neonatos com peso menor que 1500g ou presença de doença cardíaca grave; grupo III, neonatos com peso menor que 1500g com doença cardíaca grave. Para estes grupos a sobrevivência neonatal foi respectivamente 97, 59 e 22%, estando o prognóstico relacionado mais com a gravidade da malformação cardíaca que com o peso ao nascimento (SPITZ, L.; KIELY, E.M.; MORECROFT, J.A.; DRAKE, D.P., 1994).

2. EMBRIOLOGIA DO ESÔFAGO, TRAQUÉIA E DA AE

Durante a 3ª e 4ª semanas de gestação parte do saco vitelino, revestido pelo endoderma, é incorporado ao embrião durante a sua fase de dobramento céfalo-caudal, constituindo o intestino primitivo, o ducto vitelino e o remanescente do saco vitelino (MOORE *et al.*, 2000).

O intestino primitivo desenvolve-se na forma de um tubo com extremidades cegas, sendo que na extremidade cefálica forma-se o intestino anterior; na porção intermediária, o intestino médio e na extremidade caudal, o intestino posterior (SADLER, 1995), (Figura 1).

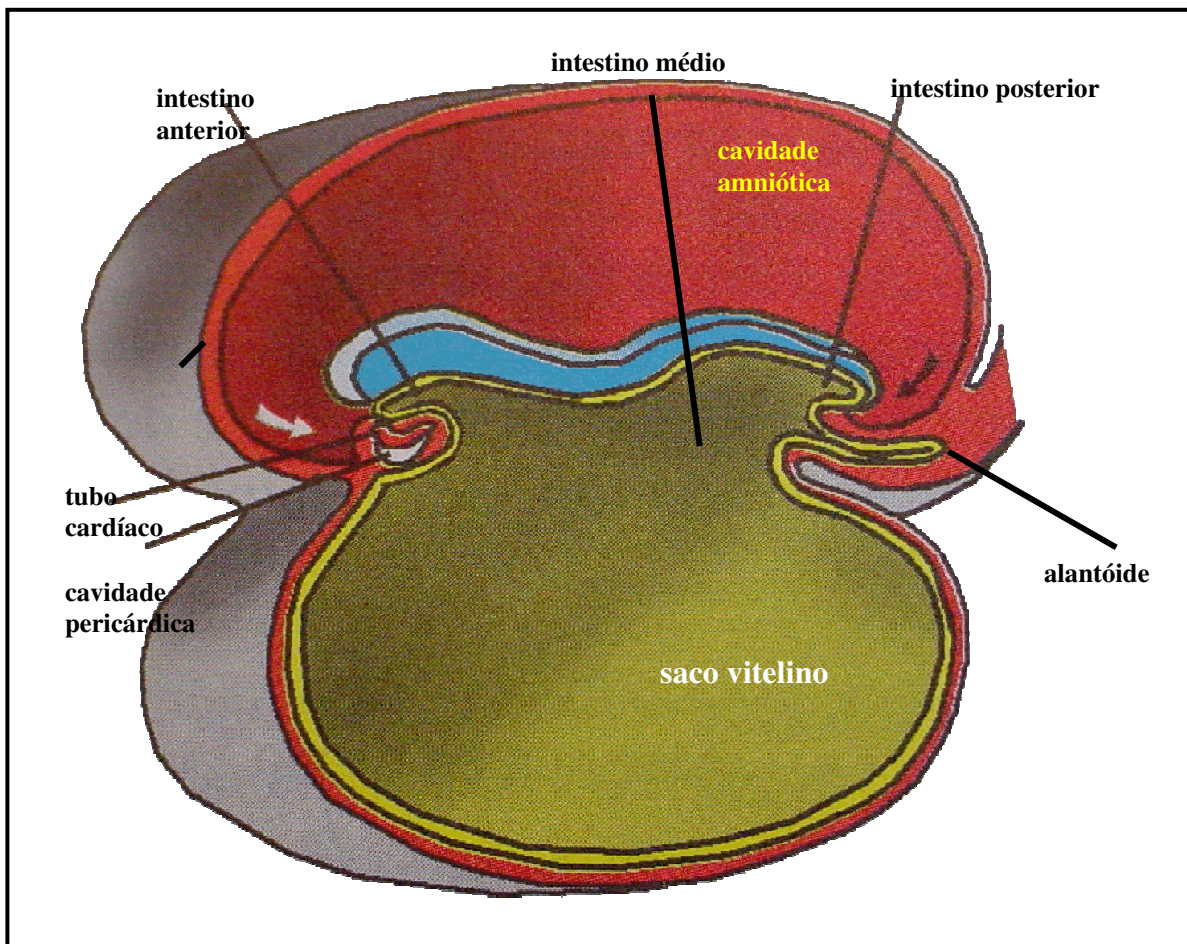


Figura 1. Representação esquemática de secção sagital de embrião (3 semanas) mostrando a formação do Intestino anterior, médio e posterior no início do dobramento céfalo-caudal do embrião (*extraído de Langmam, 7º ed.*).

Ao redor da 4ª semana, inicia-se a formação do broto pulmonar localizado na região ventral do intestino anterior, e do alantóide, no intestino posterior (Figura 2).

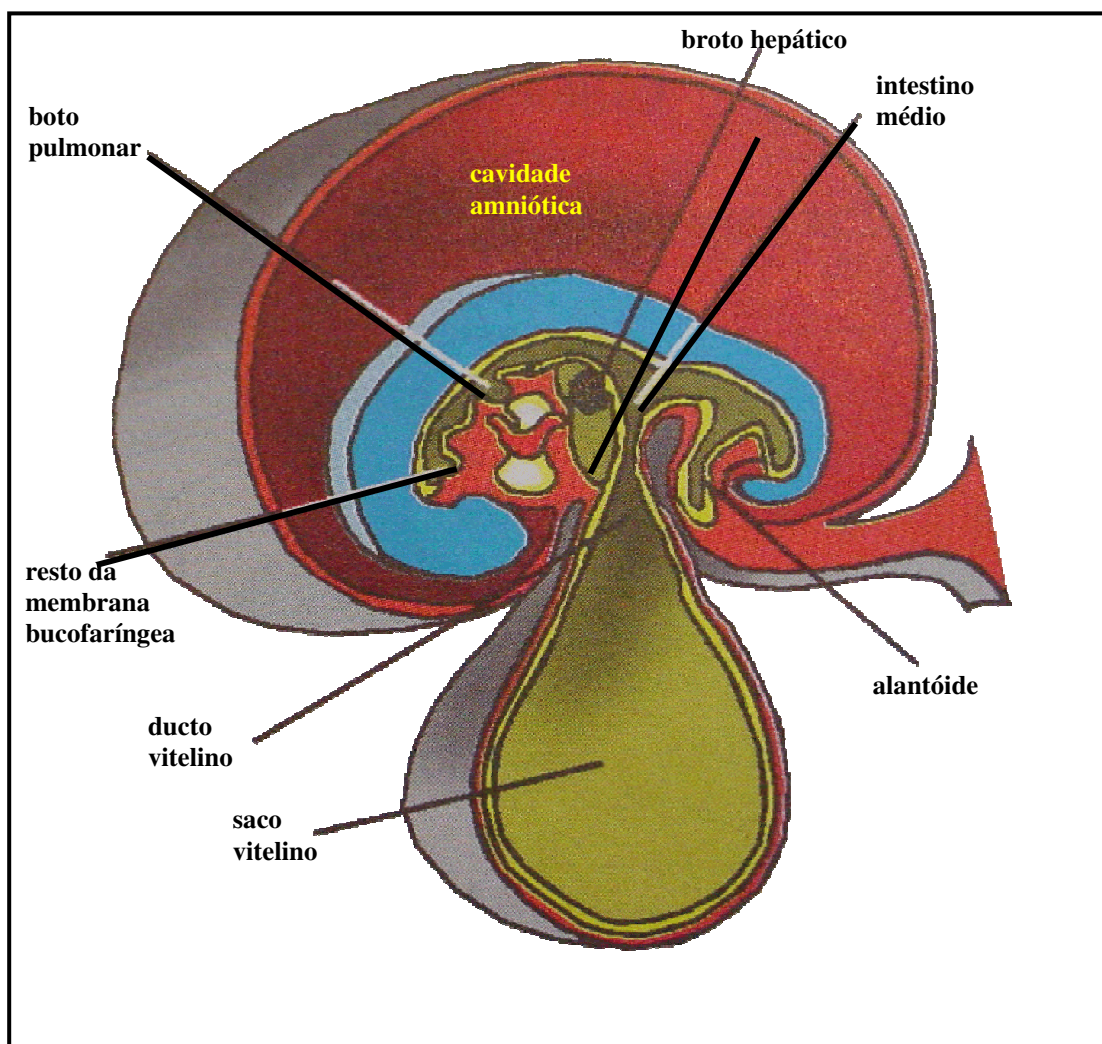


Figura 2. Representação esquemática de secção sagital de embrião (fase 4 semanas), mostrando a evolução do embrião que se curva sobre a porção ventral do saco vitelínico (dobramento céfalo-caudal). Notar a formação do broto pulmonar na região do intestino anterior e do Alantóide no intestino posterior.

O primeiro sinal de desenvolvimento do sistema respiratório aparece no 22º dia de gestação, com a formação de um “entalhe” faríngeo, incluindo o sulco laringo-traqueal, dividindo o intestino anterior em ventral e dorsal. Nesta fase, inicia-se o crescimento de um broto ventral que se desenvolve em direção ventral e caudal formando uma bifurcação com intestino anterior, chamando-se a este espaço que se forma entre estas duas estruturas de Septo Esôfago-Traqueal (SET) (O’RAHILLY & MULLER, 1984 e de LORIMIER & HARRISON, 1985).

O broto pulmonar separa-se gradualmente do intestino anterior pela formação do SET, delimitando ventralmente a traquéia e sua divisão em brônquios e, dorsalmente o esôfago (SADLER, 1995) (Figura 3).

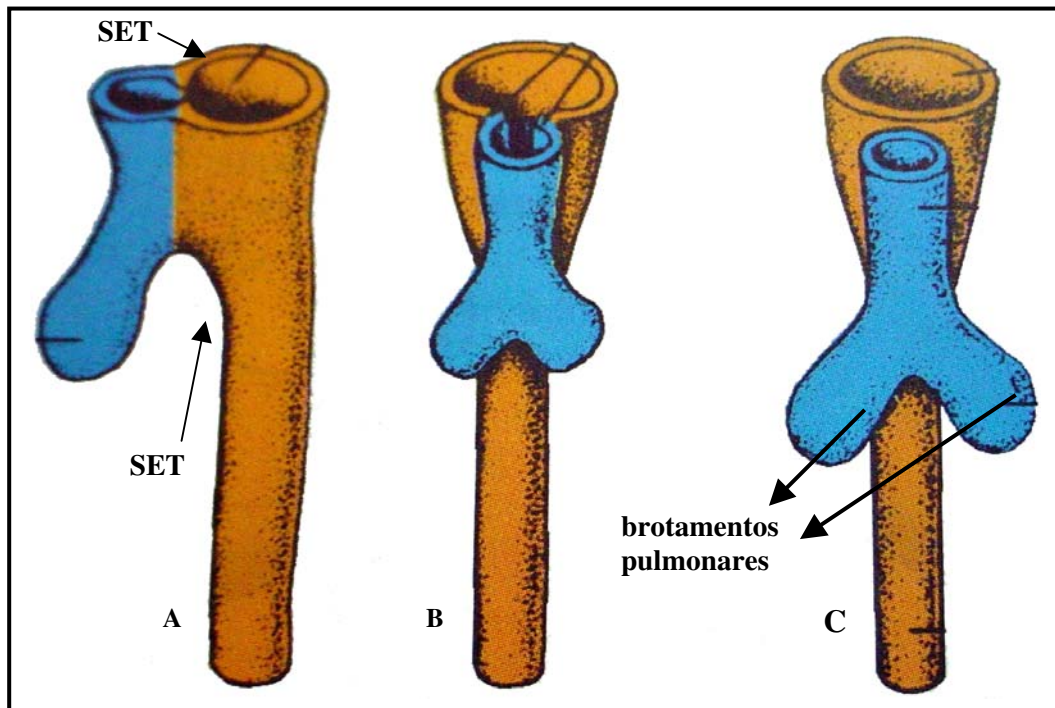


Figura 3. (A) Representação de modelo esquemático de intestino anterior e sua divisão pelo SET; (B) o brotamento respiratório se desenvolve, se divide e o SET aumenta lateral e crânio-caudalmente; (C) maior desenvolvimento dos brotamentos pulmonares e sua divisão mais acentuada em brônquio direito e esquerdo.

A embriogênese da divisão do intestino anterior como descrita ainda não é unanimemente aceita, pois alguns autores estudando sua embriologia, não evidenciaram a existência do SET (ZAW-TUNG, 1982 e KLUTH, STEDING & SEIDL, 1987).

POSSÖGEL, DIEZ-PARDO, MORALES *et al.* (1998), por meio da análise histológica, mostraram que a formação da AE e da FTE se dá por meio de uma falha no processo de divisão do intestino anterior. Este processo é comparado como o movimento de um zíper que é interrompido antes de completar seu fechamento, provocando um desequilíbrio no material celular do intestino anterior nesta região formando a AE.

CRISERA, CONNELLY, MARMUREANU *et al.* (1999), acreditam que a malformação inicial seja a atresia do intestino anterior, pois ocorre no 11,5º dia de gestação, interrompendo o crescimento do tubo digestivo. Desta maneira, o brotamento pulmonar seria dividido não em dois brotos secundários, mas em três brotos ou ramos ocorrendo assim, uma trifurcação. Os ramos laterais desta trifurcação continuariam seu desenvolvimento formando as estruturas respiratórias e os pulmões. Já, o ramo mediano continuaria crescendo em direção caudal através do mesênquima em direção ao estômago, sugerindo que a porção distal do esôfago (FTE) seria de origem respiratória (CRISERA, CONNELLY, MARMUREANU *et al.*, 1999).

Estudos complementares dos mesmos autores revelaram que a região da FTE, reforçando a teoria da sua origem respiratória, expressa o Fator de Transcrição Tireoidiano-1 (FTT-1), que é um marcador imuno-histoquímico específico para tecidos respiratórios, pois o epitélio da região da FTE (ramo mediano) é idêntico ao epitélio dos outros dois ramos da trifurcação. Interações entre o mesênquima e o epitélio ditariam o padrão de diferenciação e do crescimento locais que resultariam no desenvolvimento da AE e FTE (CRISERA, GRAU, MALDONADO *et al.*, 2000).

A apoptose é outro fator que está envolvido na embriogênese do intestino anterior. Este termo foi inicialmente utilizado para descrever a morte programada da célula que ocorreria em local e hora previamente determinados. A apoptose está envolvida na manutenção da homeostasia dos tecidos e estaria também presente no mesênquima do intestino anterior. Sabe-se que esta morte celular pode sofrer interrupção, isto é, não

ocorrer, devido à liberação de substâncias de outros tecidos. Distúrbios na sua ativação resultariam na formação da AE (JACOBSON, WEIL & RAFF, 1997 e WYLLIE, 1997).

3. EPIDEMIOLOGIA DA AE

A incidência de AE varia de 1:2500 a 4500 nascidos vivos. Estudos populacionais mostram uma discreta predominância de AE no sexo masculino com uma taxa de 1,2 sobre o sexo feminino (MYERS, 1974 e PINUS, 1998).

A chance de ocorrência de AE é maior em fetos na primeira gravidez, nas gestantes com idade avançada, com diabetes melito e naquelas sofreram exposição prolongada à droga tais como contraceptivos orais e talidomida (HARMON *et al.*, 1998).

Anomalias cromossômicas ocorrem em 6,6% dos portadores de AE, sendo as mais conhecidas as síndromes de Patau, Edward e Down, respectivamente trissomias dos cromossomos 13, 18 e 21 (ORFORD & CASS, 1999).

A AE é acompanhada de 40 a 57% dos casos de outras malformações (HOLDER *et al.*, 1986; HICKS, 1981). CHITTMITRAPAP & SPTIZ (1989) investigando 253 neonatos encontraram 122 deles (48%) com malformações, encontrando ao todo 213 malformações sendo 29% cardiovasculares, 14% anomalias anorretais, 14% geniturinárias, 13% gastrintestinais e 10% de associação de VATER ou VACTERL.

A incidência das malformações cardíacas, maior responsável pela mortalidade das AE, varia de 11 a 44% (HARMON *et al.*, 1998). Os defeitos do septo ventricular, a tetralogia de Fallot e a coarctação da aorta são as malformações cardíacas mais frequentes (GREENWOOD *et al.*, 1976).

4. ASPECTOS CLÍNICOS DA AE

No período pré-natal o feto portador de AE pode ser identificado à ultrasonografia por apresentar diminuição ou ausência da bolha gástrica, associado à presença de polidrâmnio (McKENNA, GOLDSTEIN & STRINGER, 1995).

Ao nascimento, o diagnóstico de AE é feito na sala de parto pela impossibilidade de progressão da sonda oro-gástrica sendo a manifestação clínica mais comum do diagnóstico a excessiva salivação, presente nas primeiras horas de vida. Quando não é diagnosticada na sala de parto, a AE pode provocar tosse, cianose, dispnéia e sufocação e/ou aspiração de leite no início da alimentação (PINUS, 1998).

O diagnóstico radiológico de AE pode ser feito pela colocação de sonda oro-gástrica injetando-se 2 ml de ar com o intuito de promover pequena dilatação na porção atrésica proximal do esôfago, que é demonstrado à radiografia simples de tórax na incidência antero-posterior. Se ainda houver dúvidas tanto no diagnóstico de AE quanto à localização do coto proximal do esôfago, preconiza-se a injeção de 0,5 a 1 ml de contraste iodado hidrossolúvel não iônico pela sonda, com objetivo de se evidenciar a porção proximal atrésica. A radiografia simples de tórax e abdome na incidência antero-posterior ainda auxilia na verificação da existência de ar no abdome indicando que existe comunicação da árvore respiratória com o trato digestivo (Figura 4A, B e C) (HOLDER *et al.*, 1989; HARMON *et al.*, 1998).

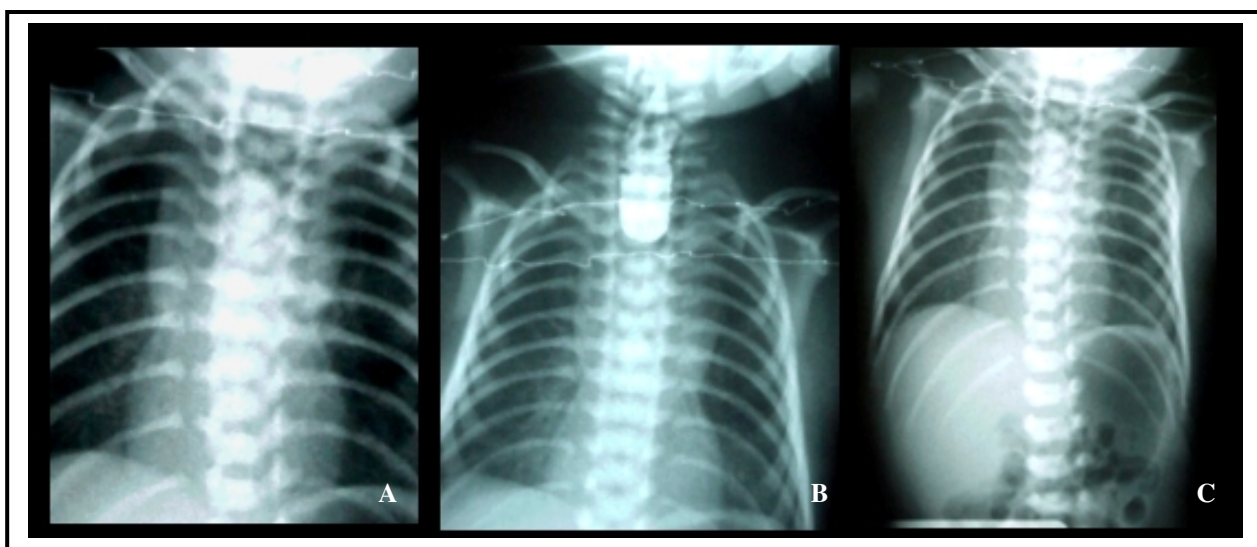


Figura 4. Radiografias simples de tórax antero-posterior (A), mostrando imagem de ar ao nível das Clavículas, sugestiva de diagnóstico de AE proximal. Em B, com a utilização de meio de contraste iodado hidrossolúvel não iônico confirma-se o diagnóstico de AE proximal. Em (C) evidencia-se presença de ar no abdome (estômago), determinando o

5. LÍQUIDO AMNIÓTICO E ALTERAÇÕES INTESTINAIS E URINÁRIAS FETAIS.

Nas primeiras semanas de gestação, o LA ou hidrânio é formado por elementos que estão em suspensão no próprio LA, de células esfoliadas do âmnio, principalmente de descamação da epiderme, das membranas, da placenta das vias respiratórias e também por lanugem e gotículas de gordura. Mas, a partir da segunda metade da gestação, existem duas fontes principais de formação do LA que são a urina fetal e o líquido pulmonar. Existem também, duas formas principais de remoção do LA: a deglutição do feto e a superfície fetal da placenta (BRACE, 1997).

A urina fetal inicia sua formação por volta da 10^a semana de vida intrauterina. Por volta da 12^a à 14^a semana os rins iniciam tanto a remoção de sódio como a concentração de uréia do feto, de modo que redor da 18^a semana quase todo o LA é formado pela urina fetal (REDDY & MANDEL, 1998). Na 20^a semana, diminui a contribuição materna para a formação do LA e aumenta a contribuição fetal, sendo este fenômeno conhecido como gradual predominância fetal (BARCELLOS, J.M.; NAHOUN, J.C.; 1998).

O volume de LA normalmente varia sua quantidade conforme a progressão da idade gestacional. Alterações para mais ou para menos no volume de LA podem decorrer de doenças maternas ou patologias fetais. Devido à importância da participação da urina fetal no volume de LA que atinge sua máxima capacidade por volta de 18 a 20 semanas de gestação, qualquer alteração na produção de urina pode influenciar o desenvolvimento fetal e complicar a evolução da gestação (HOTTA, ISHIMATSU, MANABE, *et al.*, 1993).

A regulação do volume do LA ainda não é bem conhecida. Por outro lado, o fluxo de urina fetal, a secreção de líquido pulmonar e a deglutição do LA pelo feto são reconhecidamente regulados e a interação destes fluxos, provavelmente, regula o volume final do LA.

Por meio de índices qualitativos e semiquantitativos de ultrassonografia o volume do LA tem sido rotineiramente determinado. Ao final da gestação, quando o LA tem volume médio de 700-800 ml, aproximadamente 1 litro de líquido entra e sai do compartimento amniótico diariamente (Diagrama 1). O fluxo urinário neste compartimento

corresponde a um volume de 800-1200 ml/dia comprovando a contribuição urinária fetal para o LA (BRACE, 1997).

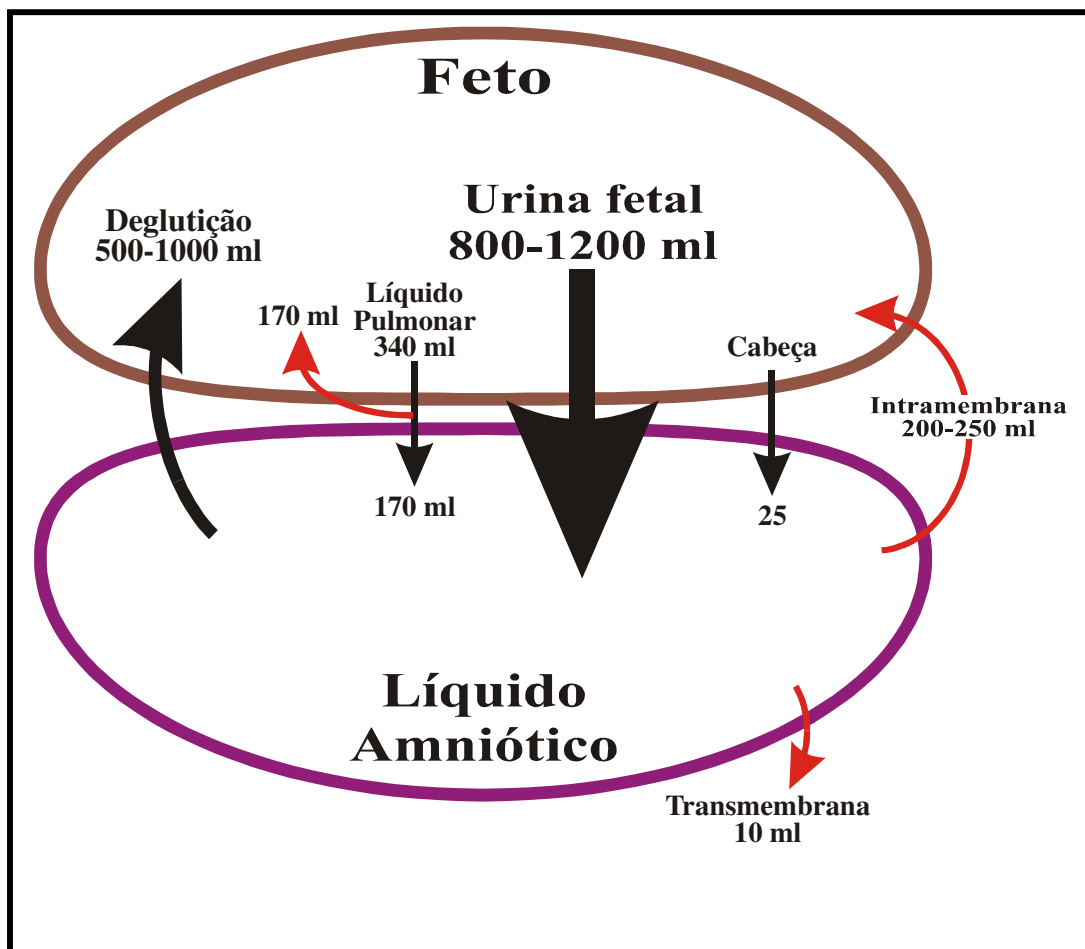


Diagrama 1. Esquema do fluxo dos líquidos para dentro e para fora do espaço amniótico e sua relação com o feto. Notar o volume urinário e quantidade deglutida pelo feto (extraído de BRACE, 1997).

O aumento do volume do LA é chamado de polidrâmnio relacionando-se às doenças maternas ou a defeitos estruturais fetais, especialmente as atresias do trato gastrointestinal, defeitos cardiovasculares e do sistema nervoso central (HOTTA, ISHIMATSU, MANABE *et al.*, 1994). O polidrâmnio ocorre com maior frequência em fetos com atresias intestinais proximais do que naqueles com atresias distais, provavelmente porque nas atresias intestinais distais haja uma extensão maior de intestino que preserve o mecanismo absorção do LA. O contrário ocorre nas atresias intestinais proximais como a AE e AD, onde a extensão do intestino não é suficiente para manter o

mecanismo normal de absorção de todo o LA deglutido, levando ao polidrâmnio (KIMBLE, HARDING & KOLBE, 1998).

O oligodrâmnio, diminuição do LA, pouco comum, pode ser diagnosticado no segundo e terceiro trimestres da gestação sendo reconhecida condição clínica na qual ocorre um iminente e grave comprometimento fetal, com aumento da mortalidade perinatal. Portanto, é necessária uma avaliação rigorosa do feto para pesquisa de malformações que possam promover a obstrução do sistema urinário, a diurese fetal e, conseqüentemente, a diminuição do LA (BARSS, BENACERRAF & FRIGORETTO, 1984 e BASTIDE, MANNING, HARMAN *et al.*, 1986).

6. MODELO EXPERIMENTAL DE AE

O modelo experimental para estudar a embriogênese da formação do esôfago e da traquéia utiliza Doxorrubicina (Dox). THOMPSON (1978), utilizando ratas *Sprague-Dawley* grávidas expostas a Dox obteve fetos com AE e múltiplas outras malformações associadas. Durante 18 anos não houve mais publicações referentes ao estudo da AE com este modelo até que DIEZ-PARDO *et al.* (1996) retomaram o mesmo modelo pesquisando a dose mais adequada de Dox para se obter AE.

A Dox é um antibiótico glicosídico da Antraciclina, extraído do *Streptomyces peucetius caesius*, que atua na fase S do ciclo celular, fase na qual ocorre a síntese do DNA. Na prática clínica é utilizada em doenças como sarcomas de tecidos moles, doença de Hodgkin, linfomas não-Hodgkin, leucemias agudas, câncer de mama e outros (CALABRESI & CHABNER, 1996; QI, 1996) (Diagrama 2).

O modelo de Dox em ratos, utilizado nas doses entre 1,5 a 2,5 mg/kg de peso, administrado entre o 6º e 9º dias de gestação induz malformações digestivas, respiratórias, cardiovasculares, urinárias e ósseas. A semelhança das malformações obtidas como as encontrados em humanos, permite utilizar este modelo para estudar os mecanismos da embriogênese, especialmente a AE (THOMPSON, 1978).

Os trabalhos iniciais buscavam estabelecer a dosagem mais adequada, o número de aplicações e a fase do desenvolvimento embrionário mais apropriado para produzir os defeitos necessários, sem, contudo, causar o óbito dos fetos (DIEZ-PARDO *et al.*, 1996; XIA *et al.*, 1999; ORFORD & CASS, 1999).

A administração de doses altas e muito precoces durante a gestação leva a morte ou a reabsorção da grande maioria da prole. Em contrapartida, doses muito baixas e administradas tardiamente não produzem as malformações esperadas (BEASLEY, DIEZ-PARDO, QI, *et al.*, 2000). A Dox administrada acima da dose de 2,5 mg/kg de peso pode levar à involução ou reabsorção dos fetos e ao insucesso do experimento (ORFORD & CASS, 1999).

A maioria dos experimentos utiliza dose única diária de Dox variando de 1,5-2,2 mg/kg de peso, administrada diariamente via IP, num total de quatro dias, do 6º ao 9º dia de gestação (gestação da rata: 22 dias), para se obter tanto um número suficiente de AE bem como de malformações viscerais associadas (QI *et al.*, 1996; XIA *et al.*, 1999; CRISERA *et al.*, 2000).

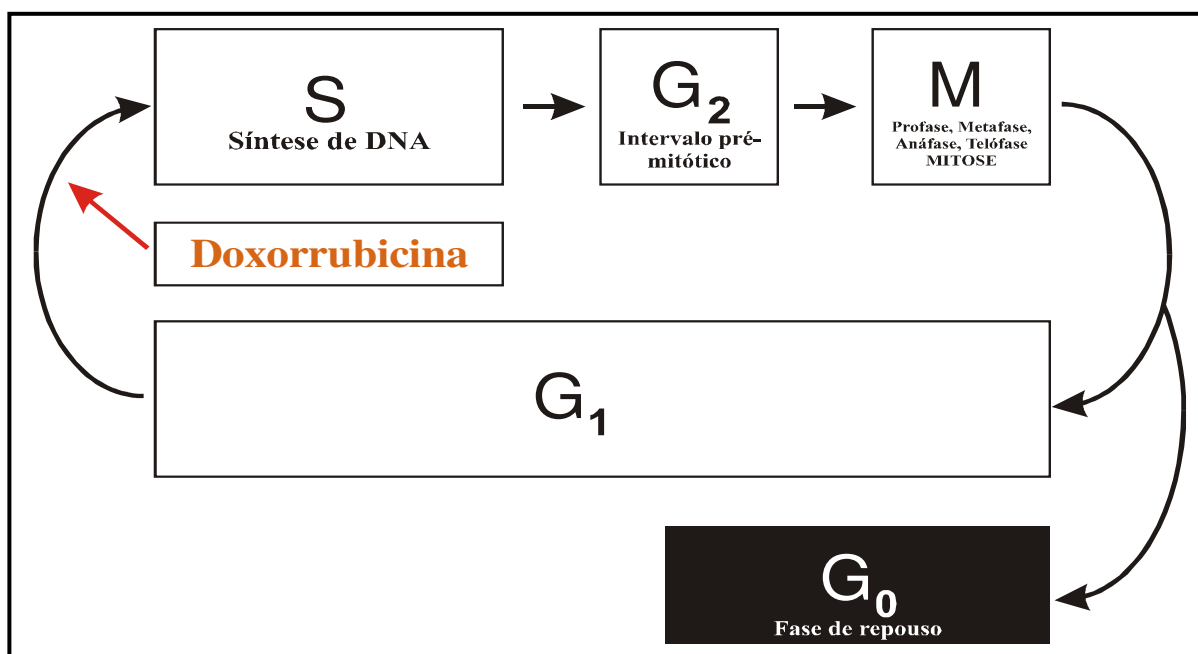


Diagrama 2: Representação esquemática do ciclo celular mostrando a fase S da síntese de DNA onde atuam drogas como os quimioterápicos bem como a Dox; G₀, fase de repouso; G₁, fase pré-sintética; G₂, fase pós-sintética; M, Mitose.

Os primeiros autores a diminuir o tempo de administração da droga foram XIA, OTTEN, MIGLIAZZA *et al.* (1999). Eles utilizaram Dox na concentração de 2,0 mg/kg de peso de rata, ministrada diariamente via IP, num total de 2 dias, no 8º e 9º dias de gestação.

Com relação ao estudo do LA, DIEZ-PARDO *et al.* (1996) encontraram aumento do peso do LA nos fetos com AE com FTE ($p<0,01$), todavia os autores não correlacionaram este dado com nenhuma outra malformação, nem traqueo-esofágica, nem urinária.

Assim, até o momento, nenhum autor testou o modelo de AE utilizando Dox em maior concentração e em menor tempo. A utilização de Dox aplicada em menor período de tempo e em maior concentração, na obtenção do número de AE e malformações, seria vantajoso e prático para este modelo experimental.



OBJETIVOS

Os objetivos do presente estudo foram: 1) testar o modelo experimental utilizando a Doxorubicina numa dose maior (2,2 mg/kg) e num menor tempo (dois dias), administrada em ratas Sprague-Dawley grávidas; 2) identificar nos fetos de 21 dias de gestação, de ambos os grupos, a frequência de AE e de outras malformações viscerais, e 3) correlacionar estas malformações com o LA.



***MATERIAS E
MÉTODOS***

O presente projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética e Experimentação Animal da Universidade Estadual de Campinas (CEEA – UNICAMP), com o N° 353-1.

Cinquenta ratas *Sprague-Dawley*, com peso médio de 250 a 300g, foram acasaladas com ratos da mesma espécie durante uma noite. Na manhã seguinte ao coito, a genitália da fêmea foi examinada para verificar a presença de mancha de esperma na vagina das ratas. A presença da mancha de esperma confirmou o acasalamento em 10 ratas, sendo este dia considerado dia zero da gestação (QI *et al.*, 1996; CRISERA *et al.*, 1999; BEASLEY *et al.*, 2000).

Deste grupo de 10 ratas grávidas, oito fizeram parte do grupo tratado com Doxorrubicina (grupo Dox), fornecendo 81 fetos: 74 vivos e 7 mortos, que foram excluídos do estudo. As outras duas ratas grávidas fizeram parte do grupo Controle que tomou igual quantidade de solução salina, fornecendo 21 fetos, sendo todos vivos.

Doxorrubicina na forma de Cloridrato de Doxorrubicina 10 mg (Eurofarma®), foi ministrada na concentração de 2,2 mg/kg de peso de rata em dose única diária, por dois dias consecutivos, no 8º e 9º dias de gestação, via intra-peritoneal (IP), diluída em mesmo volume de soro fisiológico 0,9% (SF 0,9%) (tempo preconizado por XIA, OTTEN, MIGLIAZZA *et al.*, 1999 e BEASLEY *et al.*, 2000 e dose preconizada por CRISERA *et al.*, 2000). Ratas grávidas, com a mesma idade gestacional, serviram como controle e receberam similar dosagem de SF 0,9%, IP, no mesmo volume e igualmente em dois dias seguidos. Com 21 dias de idade gestacional, a rata foi submetida à anestesia geral com injeção intramuscular de Ketamina (Ketalar® - Cristália), na dose de 85 mg/kg de peso de rato, associada a Xilazina (Ruipum® - Rhodia), na dose de 1,25 mg/kg por animal via intramuscular aplicado na musculatura lateral da coxa por meio de uma seringa de insulina com agulha 20-G. Esta composição anestésica (85 mg/kg de Ketamina e 1,25 mg/kg de Xilazina), mantém o animal sob anestesia profunda durante um período de três horas.

Depois de anestesiada, foi realizada tricotomia toraco-abdomino-pélvica com cuidado para não lesar os mamilos. Após anti-sepsia com solução iodada aquosa (Povidona®), o animal foi submetido à cesariana por incisão mediana. O útero bicórneo foi delicadamente exposto, os fetos foram numerados da região proximal para distal em relação

ao colo uterino e divididos conforme o lado: direito e esquerdo. A seguir, foi realizada uma pequena incisão da parede uterina com tesoura de micro-cirurgia, descolando delicadamente o saco gestacional com hastes flexíveis tipo swab, tomando cuidado para não rompê-lo. O saco gestacional contendo o feto, a placenta, as membranas e o LA foram removidos intactos do útero para pesagem em balança de precisão modelo OHAUS 360 (Denver Instruments, Denver, CO) (Figura 5). Após pesagem, o saco gestacional foi rompido, o feto foi retirado e novamente pesado. A placenta, o cordão umbilical e as membranas amniocoriônicas foram conjuntamente pesados (Figura 6). O peso do LA (*PLA*) foi calculado como sendo a diferença entre o peso do saco gestacional (*PSG*) e a soma do peso corporal do feto (*PCF*) e da placenta com as membranas (*PPM*), ou seja:

$$PLA = PSG - (PCF + PPM) (g)$$

Após a pesagem, o feto foi imediatamente sacrificado através de punção occipital com agulha de insulina e colocado em uma pequena mesa de cortiça. As anomalias externas dos membros, da cauda, do ânus foram identificadas. Uma incisão mediana do pescoço ao abdome (cérvico-tóraco-laparotomia) foi realizada expondo as vísceras com o intuito de favorecer a fixação das amostras (Figura 7). Em seguida, todos os fetos foram colocados numa mesa de cortiça dentro de uma cuba para fixação em solução de Formalina 10% por um período de 3-4 horas (Figura 8). Após este período, os fetos foram reexaminados para confirmar as anomalias externas e dissecados a identificar as anomalias viscerais por meio de microscópio estereoscópico com aumento entre 2,5 a 4,5X (Modelo Nikon SMZ-660).

Abaixo estão as variáveis a serem estudadas entre os dois grupos, Dox e Controle:

PSG = PESO DO SACO GESTACIONAL

PF = PESO DO FETO

PPM = PESO DA PLACENTA E MEMBRANAS

PLA = PESO DO LÍQUIDO AMNIÓTICO



Figura 5. Fotografia do saco gestacional contendo feto, placenta, membranas e LA.



Figura 6. Fotografia da placenta e membranas amnióticas de feto de rata *Sprague-Dowley*.



Figura 7: Fotografia de um feto do grupo Dox mostrando a grande incisão cérvico-toraco-laparotomia para exposição das vísceras a formalina 10%, antes do início da dissecação para análise das malformações viscerais.



Figura 8. Fotografia dos fetos colocados e presos com alfinetes em placa de cortiça e imersos em solução de formalina a 10% para posterior dissecação.

Foi feita a análise das malformações externas identificando membros, cauda e ânus. Em seguida, com o abdome e tórax aberto, o coração e suas estruturas vasculares foram cuidadosamente retirados e desprezados, permitindo a visualização dos pulmões, traquéia, brônquios e posteriormente o esôfago. A seguir, o pulmão esquerdo foi isolado de suas aderências com o diafragma e com a parede torácica, sendo levado, sem separá-lo do brônquio, para o lado direito permitindo a visualização do esôfago ou de uma possível AE, que uma vez identificada, era classificada de acordo com GROSS (1953) (Figura 9). O mesmo procedimento de averiguação era realizado para o pulmão direito. A traquéia e o esôfago não foram desinseridos da região da laringe, permitindo desta forma, uma melhor sustentação da peça anatômica. O abdome foi inicialmente abordado pela identificação do estômago, pâncreas, baço, duodeno e demais segmentos do intestino delgado até o reto, tomando-se extremo cuidado durante toda dissecação para não lesar ou romper as delicadas vísceras. Em seguida, os rins, ureteres e a bexiga eram identificados e foram dissecados de maneira a mantê-los fixos no retroperitoneo formando um bloco para inclusão em parafina que foi reservado para futuros estudos.

Os fetos do grupo Dox foram comparados com fetos do grupo Controle. O peso do LA dos fetos portadores de AE associadas com UHN bilateral foi comparado com peso do LA de fetos normais, para isso três grupos foram assim denominados: grupo I, fetos portadores de AE com FTE e UHN bilateral; grupo II, fetos portadores de AE sem FTE e UHN bilateral e grupo III, fetos do grupo Controle.

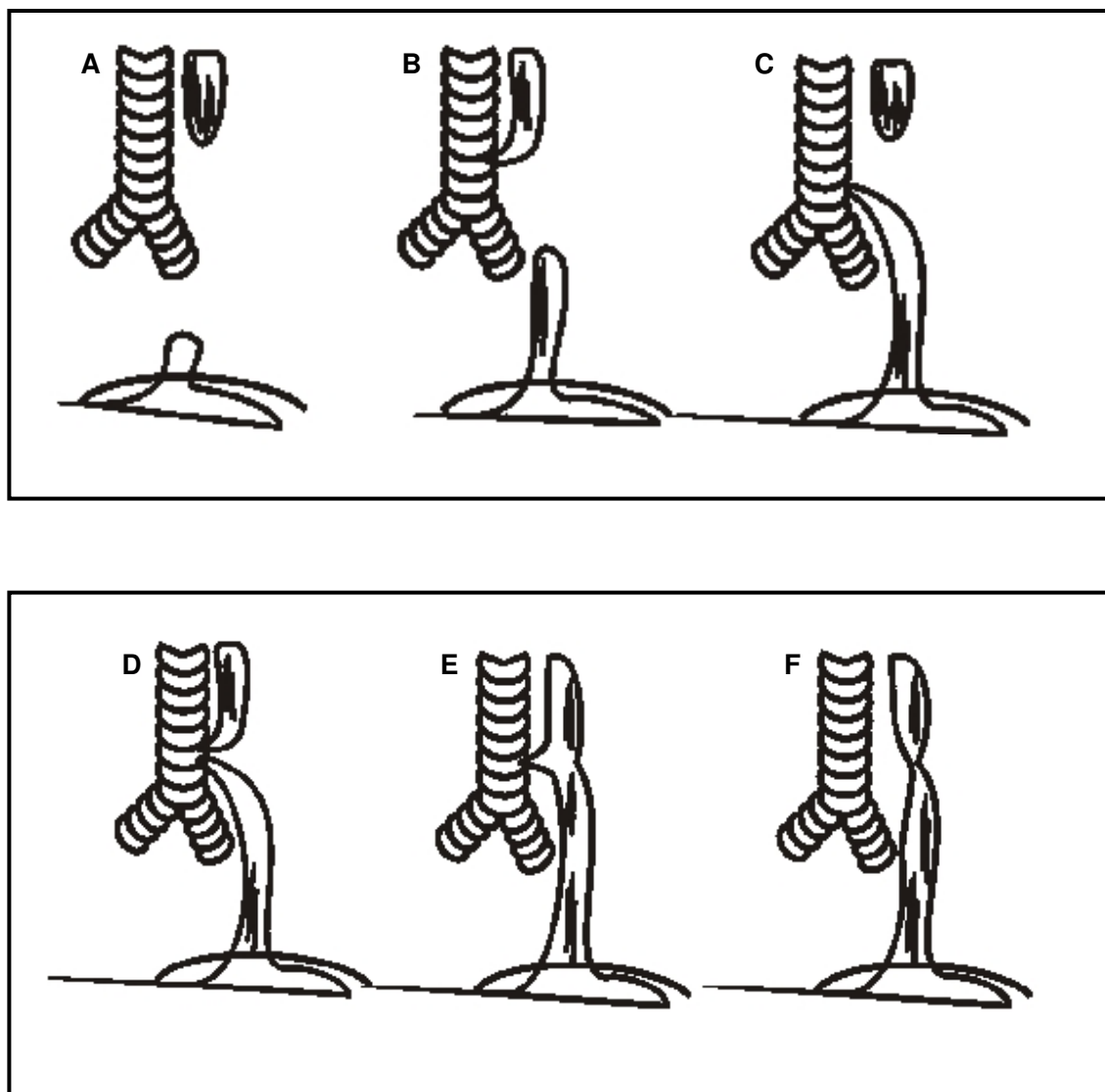


Figura 9. Representação esquemática da classificação proposta por GROSS, em 1953, para as várias apresentações da AE e da FTE, onde: AE sem FTE (A), AE com FTE proximal (B), AE com FTE distal (C – a mais comum), AE com FTE proximal e distal, AE com FTE em “H” (D) e AE representada por uma acentuada estenose da porção mediana do esôfago torácico (E).



4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada com o auxílio do Serviço de Estatística da Comissão de Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (FCM-UNICAMP).

Foram comparados, por meio do teste não-paramétrico de Mann-Whitney, os grupos Dox e Controle por meio de medidas das variáveis de interesse: peso do saco gestacional, peso do feto, peso da placenta e membranas e peso do LA.

Para descrever as diferenças entre os grupos Dox e Controle serão apresentadas dados estatísticos descritivos das medidas dos pesos e gráficos Boxplots.

Para comparar o peso do LA entre os três grupos (I, II e III) e avaliar se a presença ou ausência de FTE teria influência na quantidade de LA na presença de UHN bilateral, foi utilizada a Análise de Variância simples (ANOVA One-Way), com transformação nos postos das variáveis e, ainda, o teste de comparação múltipla de Duncan.



RESULTADOS

-Das 50 ratas que foram colocadas para acasalamento, 10 confirmaram gravidez, oito fizeram parte do grupo Dox e duas fizeram parte do grupo Controle. No grupo Dox, constituído de oito ratas, foram obtidos 81 fetos, sendo 74 vivos e sete mortos; quatro devido à reabsorção (*resorption*) e três devido a hidropsia (sobrevivência de 91%). No grupo Controle, constituído de duas ratas, obtivemos 21 fetos vivos (Diagrama 2 e Figura 10, 11 e 12).

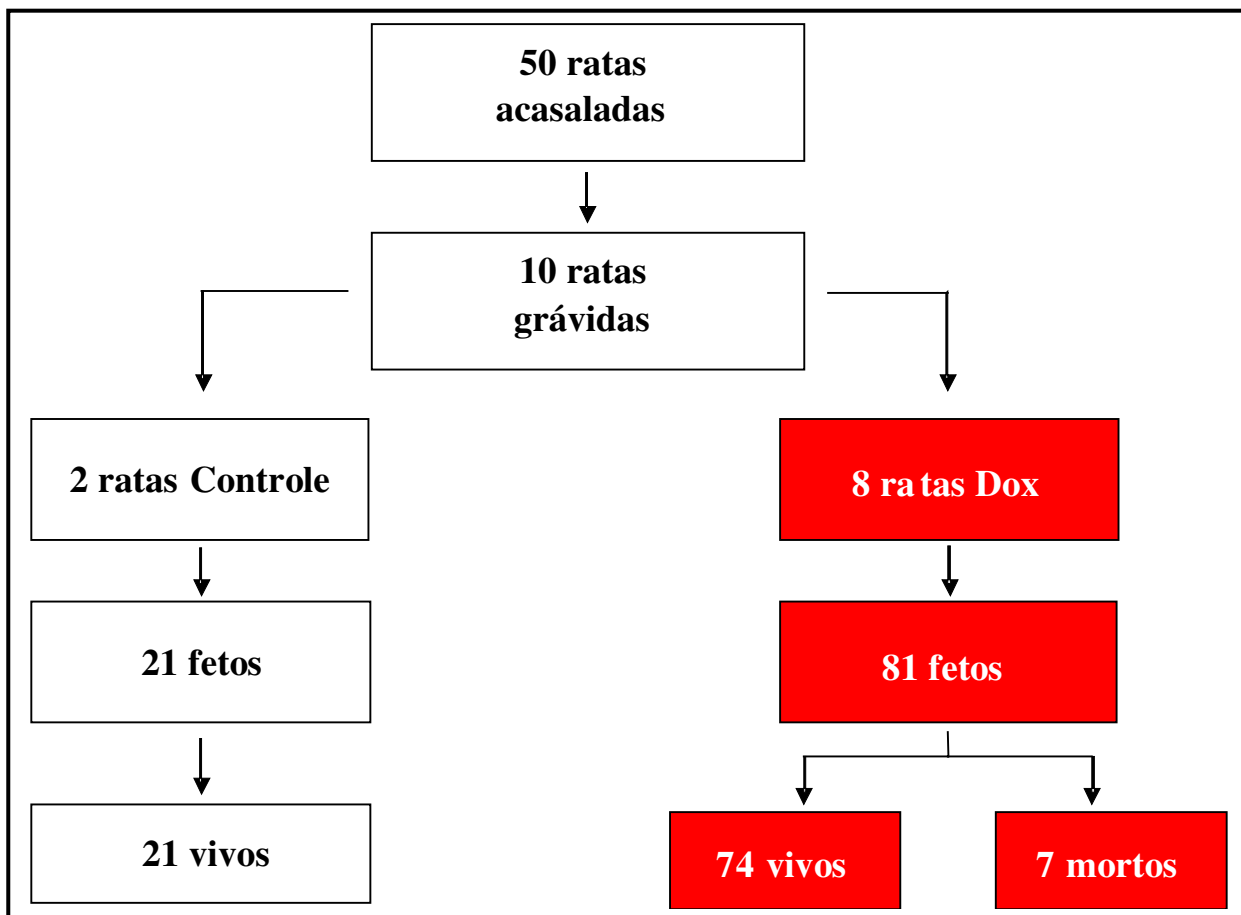


Diagrama 2: Diagrama da distribuição dos fetos entre os grupos Dox e Controle.



Figura 10. Fotografia de feto normal do grupo Controle, visão ventra.

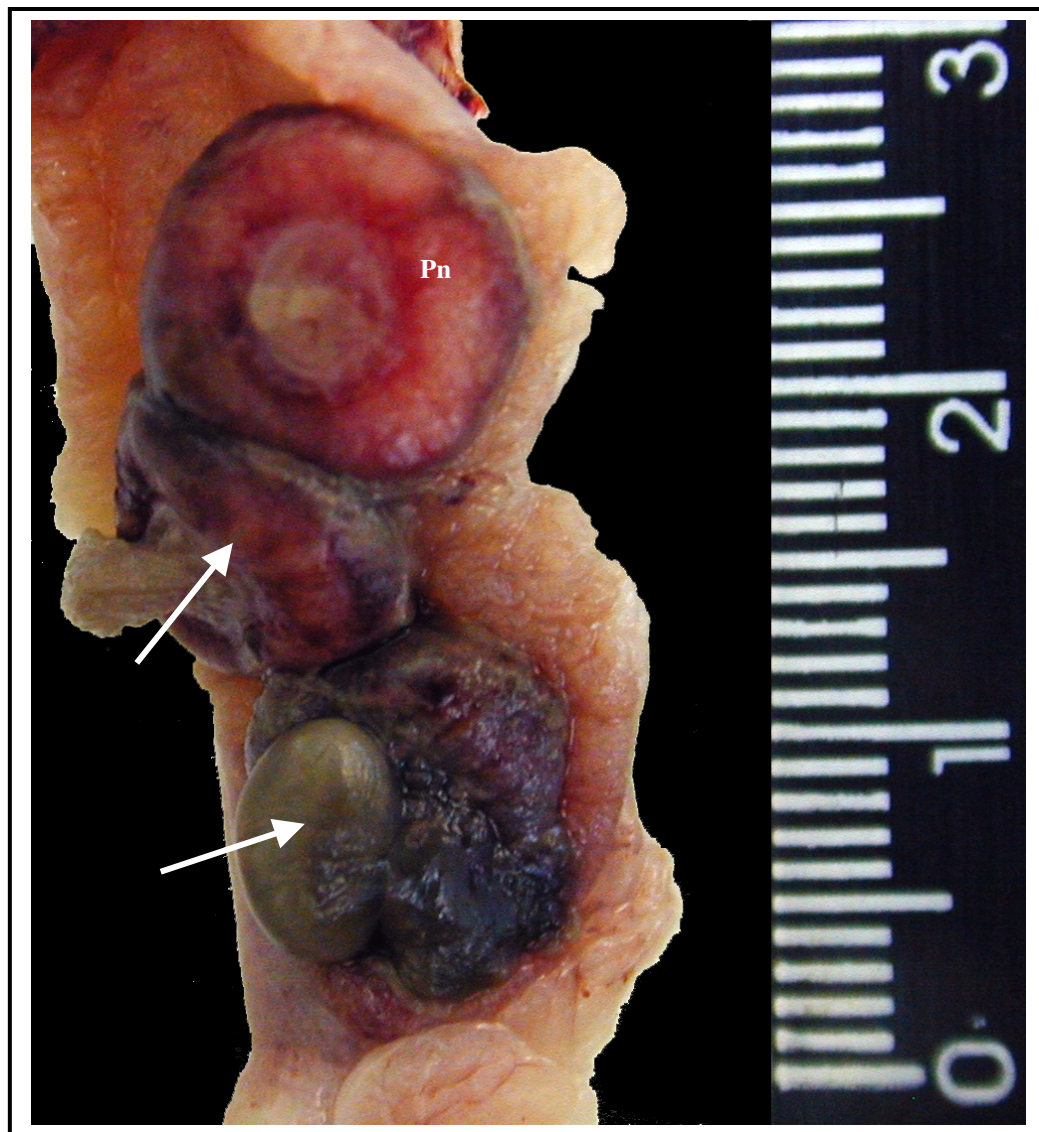


Figura 11. Fotografia de dois pontos placentários que foram reabsorvidos. As setas indicam os pontos de reabsorção e Pn indica placenta normal.



Figura 12. Fotografia de feto hidrópico do grupo Dox.

Os resultados finais das medidas de peso do saco gestacional, do peso do feto, da placenta e membranas e do LA e suas comparações estatísticas entre os grupos Dox e Controle encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados finais das medidas dos pesos do saco amniótico, do feto, da placenta e membranas e do LA em gramas.

	Grupo Dox	Grupo Controle	p
Saco Gestacional (g)	5,23 ($\pm$ 0,56) variação (3,38-6,51)	5,96 ($\pm$ 0,27) variação (5,27-6,63)	0,0001*
Peso do Feto (g)	3,39 ($\pm$ 0,43) variação (2,12-4,36)	4,27 ($\pm$ 0,18) variação (3,88-4,62)	0,0001*
Membranas e Placenta (g)	0,95 ($\pm$ 0,16) variação (0,35-1,62)	1,11 ($\pm$ 0,14) variação (0,67-1,50)	0,0001*
Líquido Amniótico (g)	0,90 ($\pm$ 0,33) variação (0,08-2,34)	0,58 ($\pm$ 0,18) variação (0,19-0,97)	0,0001*

*=valor de p com diferença significativa (Mann-Whitney).

Quando comparados os pesos médios dos sacos gestacionais (feto, placenta, membranas e LA), dos dois grupos, Dox e Controle, foram obtidos: peso do grupo Dox foi de 5,23g ($\pm$ 0,56g) com peso variando de 3,38 a 6,51g, enquanto o do grupo Controle foi de 5,96g ($\pm$ 0,27g) com peso variando de 5,27g a 6,63g. Os pesos médios dos sacos gestacionais do grupo Controle foram maiores que os do grupo Dox. De acordo com o teste de Mann-Whitney houve diferença significativa entre os pesos nos dois grupos ($p=0,0001$) (Gráfico 1).

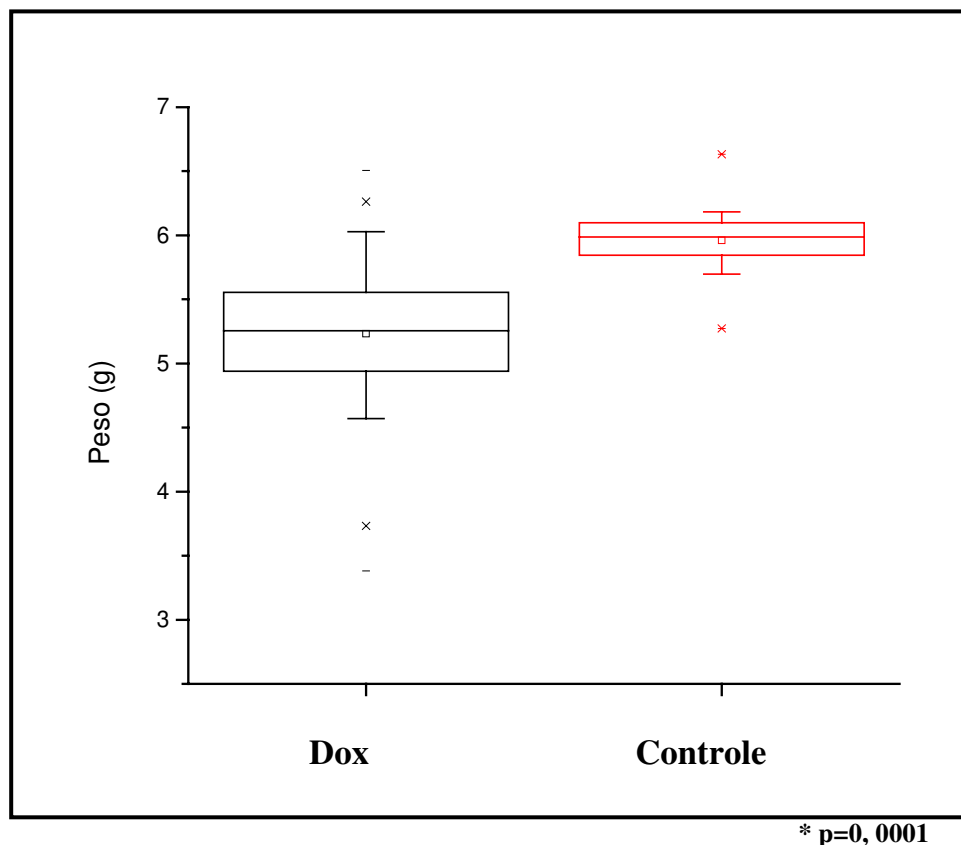


Gráfico 1. Comparação dos Pesos (g) dos Sacos Gestacionais (feto, placenta, membranas e LA), entre os grupos Dox e Controle

Quando comparados os pesos médios dos fetos entre dois grupos, Dox e Controle, foram obtidos: no grupo Dox foi de 3,39g ($\pm 0,43$ g) com peso variando entre 2,12g a 4,37g, enquanto que no grupo Controle foi de 4,27g ($\pm 0,18$ g) com peso variando entre 3,88g a 4,62g. Os pesos médios dos fetos do grupo Controle foram maiores que os do grupo Dox. De acordo com o teste de Mann-Whitney houve diferença significativa entre os pesos nos dois grupos ($p=0,0001$) (Gráfico 2).

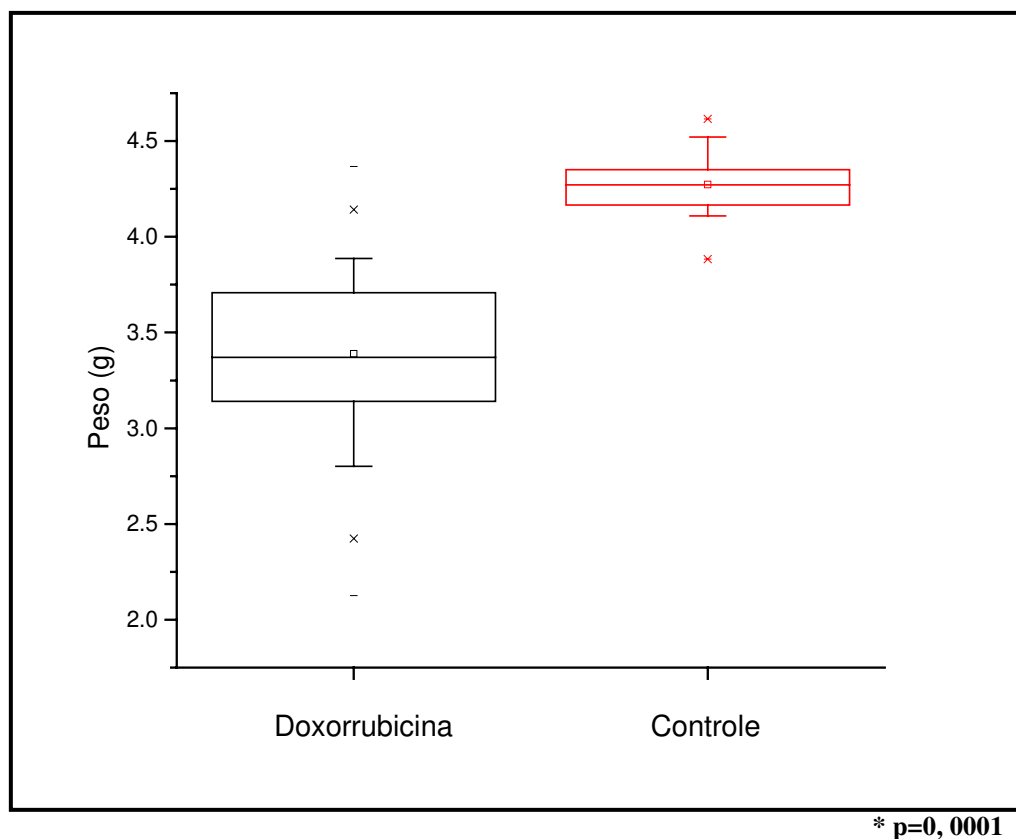
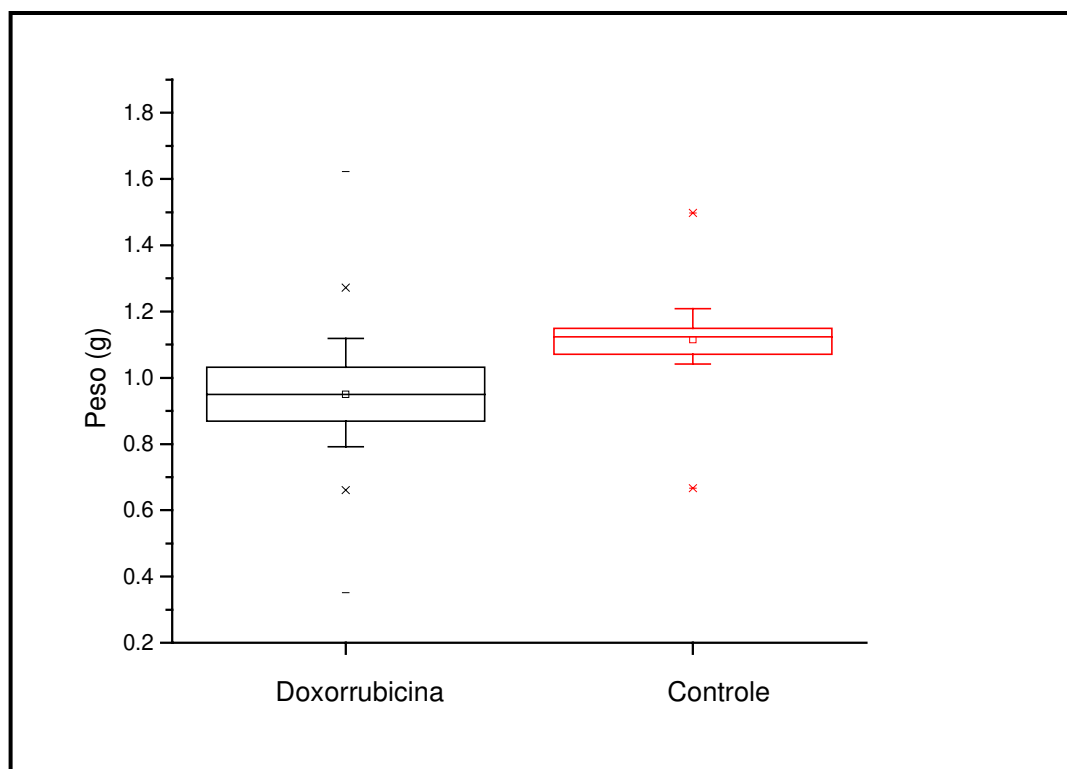


Gráfico 2. Comparação dos Pesos corporais (g) dos fetos entre os grupos Dox e Controle.

Quando comparados os pesos médios das placentas e membranas entre dois grupos, Dox e Controle, foram obtidos: o peso médio da placenta e da membrana âmniochoriônica no grupo Dox foi de 0,95g ($\pm 0,16$ g) com peso variando entre 0,35g a 1,62g enquanto que no grupo Controle foi de 1,11g, ($\pm 0,14$ g) com peso variando entre 0,67g a 1,50g. Os pesos médios das placentas e membranas amniocoriônicas do grupo Controle foram maiores que os do grupo Dox. De acordo com o teste de Mann-Whitney houve diferença significativa entre os pesos nos dois grupos ($p=0,0001$) (Gráfico 3).



* $p=0,0001$

Gráfico 3. Comparação dos Pesos (g) das Placentas e das Membranas Amniocoriônicas dos fetos entre os grupos Dox e Controle.

Quando comparados os pesos médios do LA entre dois grupos, Dox e Controle, foram obtidos: o peso médio do LA no grupo Dox foi de 0,90g ($\pm 0,33$ g) com peso variando entre 0,08g a 2,34g enquanto que no grupo Controle foi de 0,58g ($\pm 0,18$ g) com peso variando entre 0,19g a 0,97g. Os pesos médios do LA do grupo Controle foram menores que os do grupo Dox. De acordo com o teste De acordo com o Teste de Mann-Whitney houve diferença significativa entre os pesos nos dois grupos ($p=0,0001$) (Gráfico 4).

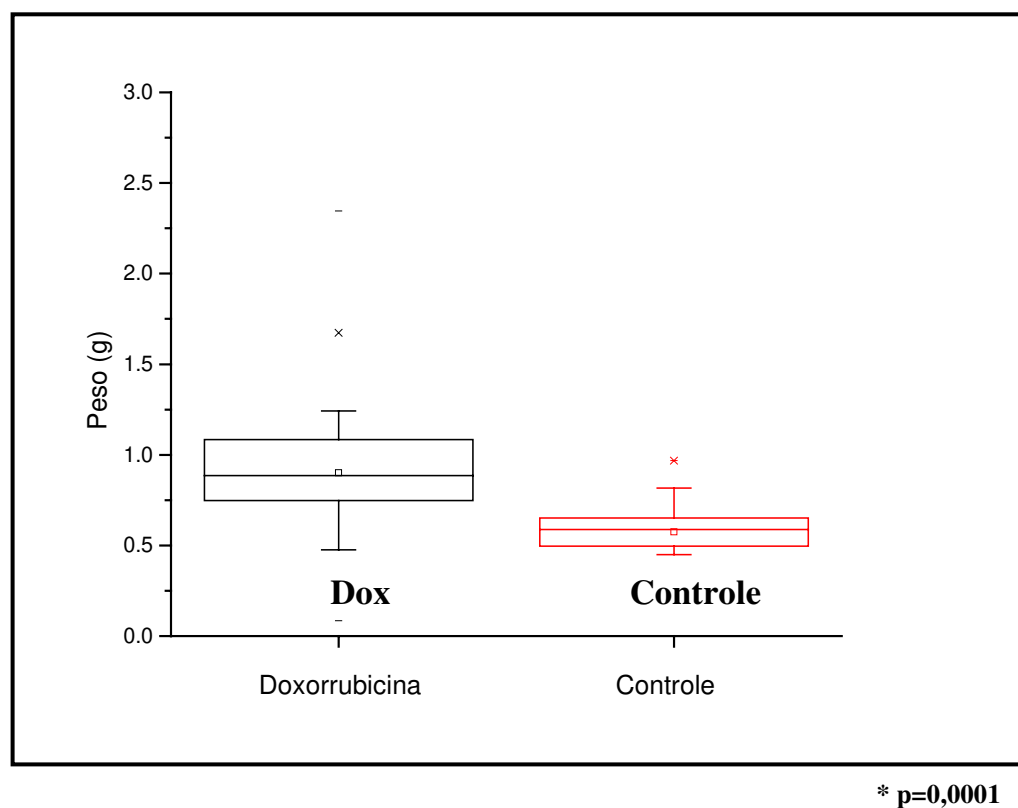


Gráfico 4. Comparação dos Pesos (g) de LA dos fetos entre os grupos Dox e Controle.

A dissecação das malformações externas e viscerais dos 74 fetos do grupo Dox revelou 100% de malformações. As malformações encontradas foram: 70 UHN (95%), sendo 64 bilaterais (86%) e seis unilaterais (8%); 68 AE (92%), sendo 46 com FTE (62%) e 22 sem FTE (30%); 68 fetos com atresia de duodeno (92%); 62 fetos com agenesia de bexiga (84%); 37 malformações da cauda (50%); 27 fetos com atresia jejuno-ileal (36%); 17 fetos com anomalia ano-retal (23%); 16 fetos não apresentavam o timo (22%); 14 fetos

com associação de VATER (19%); sete fetos com malformação dos membros (9%); cinco fetos com agastrias (7%); cinco fetos com atresia de bexiga (7%); quatro fetos com estenoses de traquéia (5%). Embora não tenham sido estudadas as alterações cardíacas, a associação de VACTERL foi identificada em dois fetos (3%), pois os mesmos apresentavam no mínimo quatro ou cinco malformações que definem a associação. E foi encontrado um feto apresentando cisto de pâncreas (1%). Exencefalias não foram encontradas em nenhum feto (Tabela 2 e Figuras 13, 14, 15a, 15b, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 e 24).

A dissecação dos 21 fetos do grupo Controle não identificou malformações em nenhum feto.

Tabela 2. Frequência de malformações obtidas no grupo Dox.

Malformação	n° (%)
Uretero-Hidronefrose	70 (95%)
Bilateral	64 (91%)
Unilateral	6 (9%)
Atresia de Esôfago	68 (92%)
AE com FTE	46 (68%)
AE sem FTE	22 (32%)
Atresia de Duodeno	68 (92%)
Agenesia de Bexiga	62 (84%)
Malformação da Cauda	37 (50%)
Atresia Jejuno-ileal	27 (36%)
Anomalia Ano-Retal	17 (23%)
Ausência e Timo	16 (22%)
VATER	14 (19%)
Malformação de Membros	7 (9%)
Agastria	5 (7%)
Atresia de Bexiga	5 (7%)
Estenose de Traquéia	4 (5%)
VACTERL	2 (3%)
Cisto de Pâncreas	1 (1%)
Total	74 (100%)

OBS: Excluídos 7 fetos: 4 reabsorvidos e 3 hidróticos.

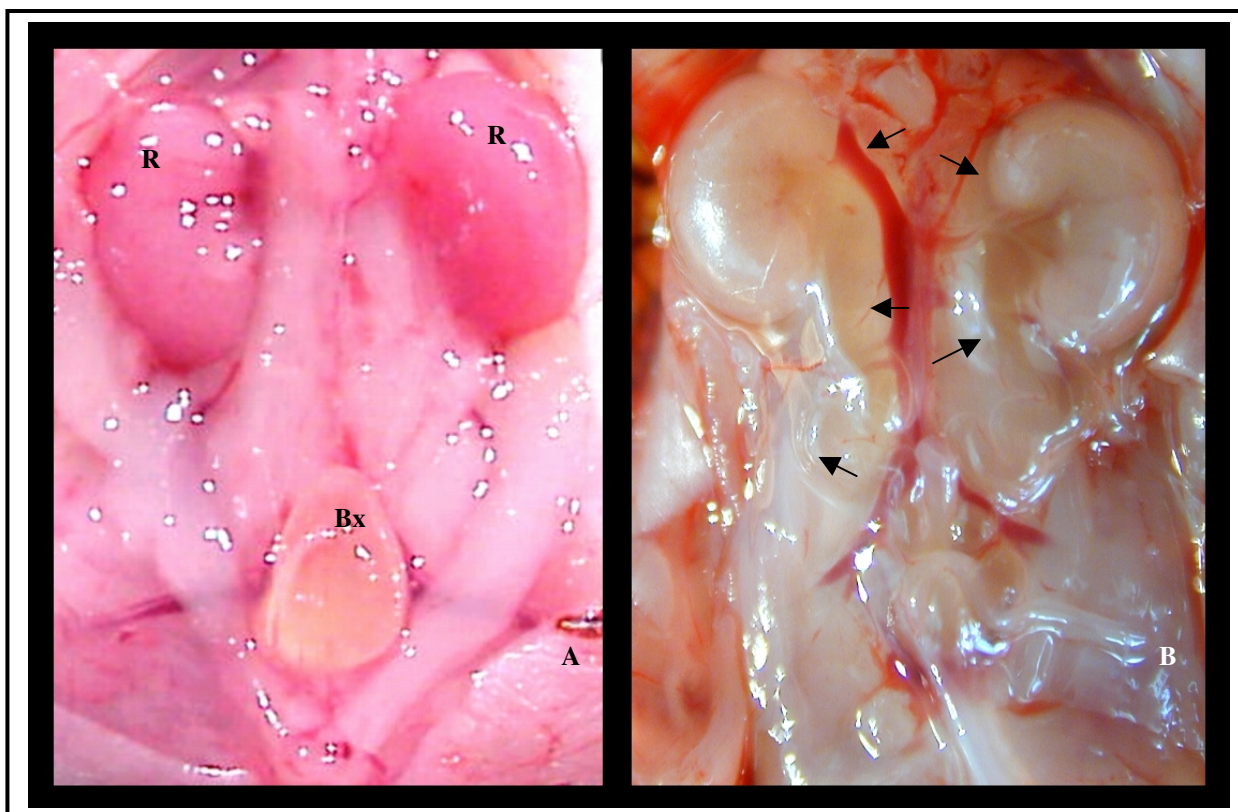


Figura 13. Fotografia do sistema urinário normal (A), com rins (R) e bexiga (Bx) e sistema urinário com UHN bilateral (B). As setas indicam a pelve e os ureteres dilatados.

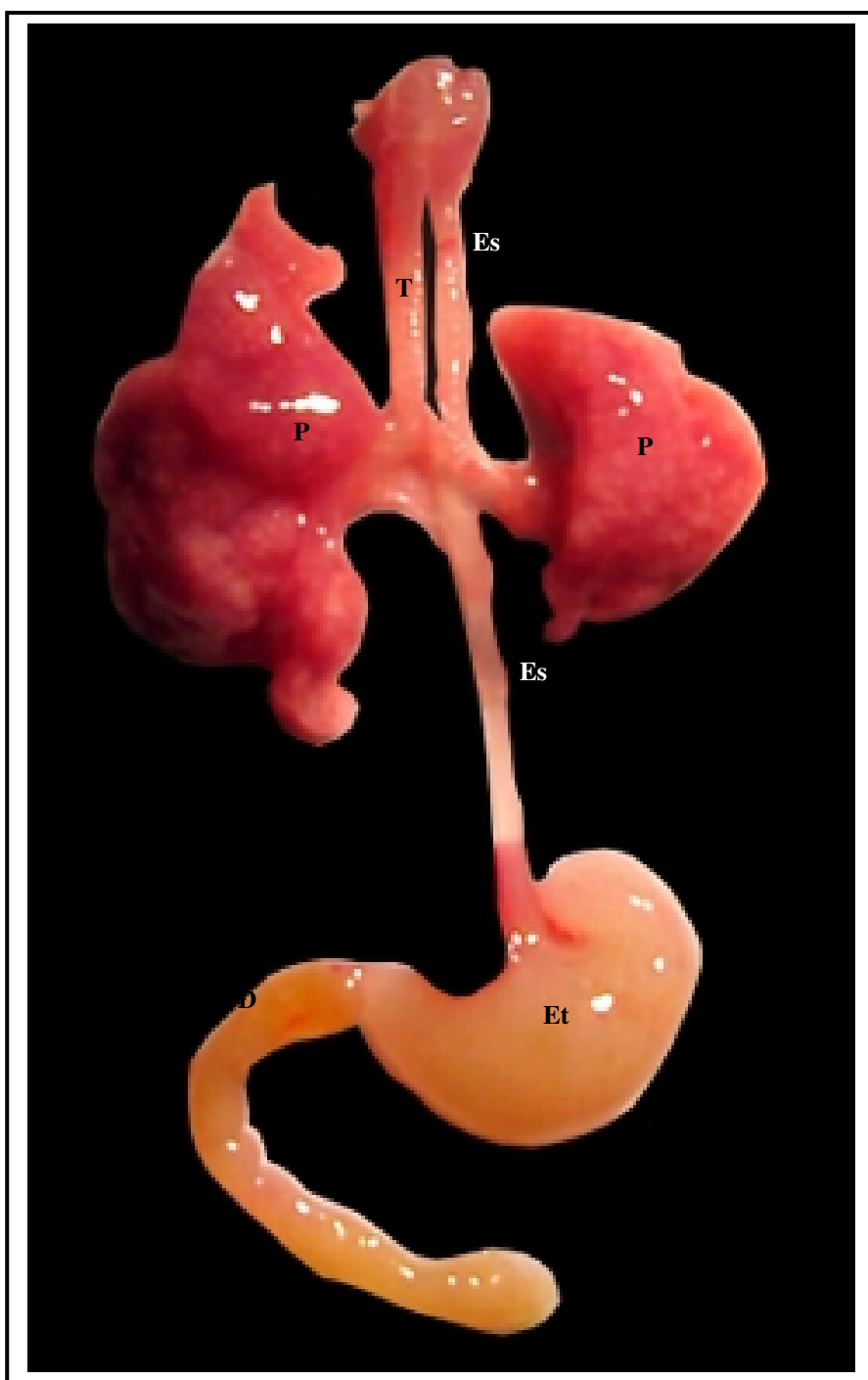


Figura 14. Fotografia de peça anatômica de feto normal mostrando: traquéia (T), pulmões (P), esôfago (Es), estômago (Et) e duodeno (D).

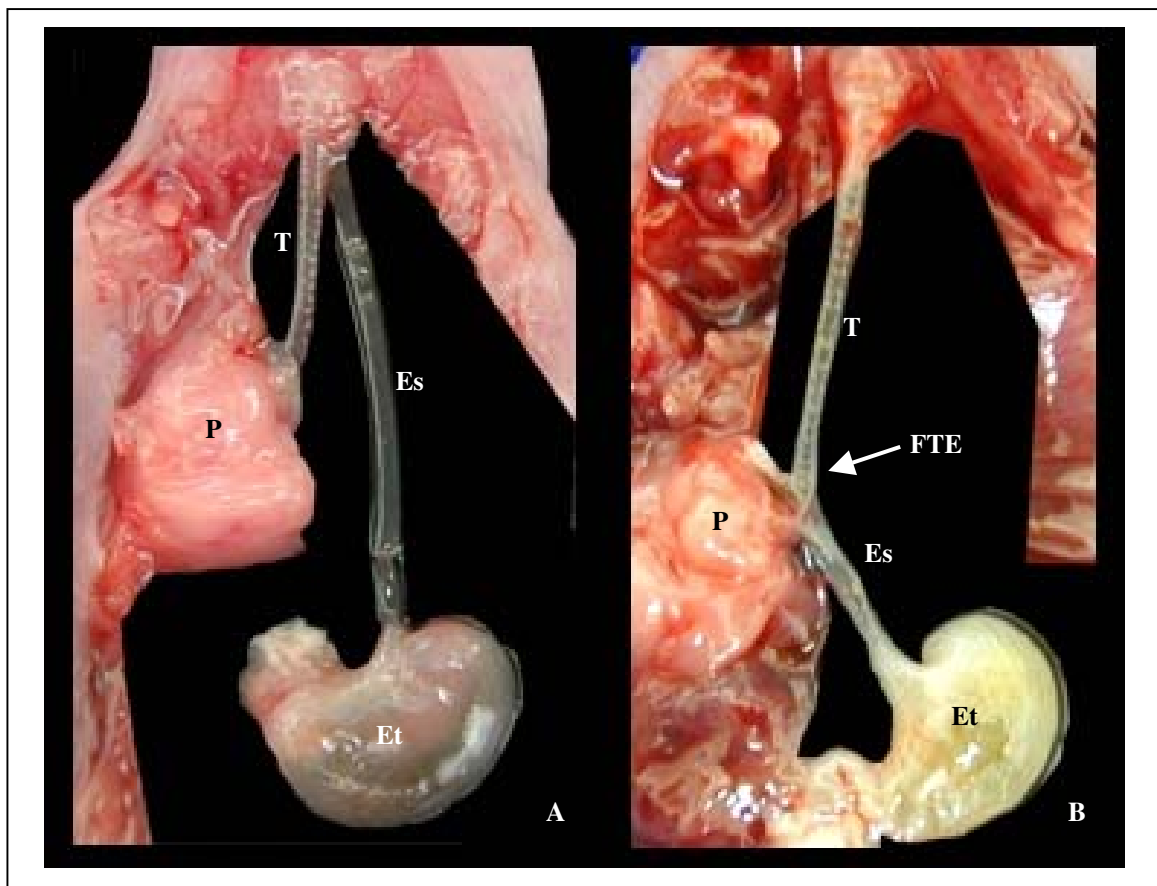


Figura 15a Fotografia de peça anatômica do esôfago e da traquéia de feto normal (A), e de AE com FTE distal, tipo C de GROSS (B). Traquéia (T), pulmão (P), estômago (Et), esôfago (Es) e fístula tráqueo-esofágica (FTE).

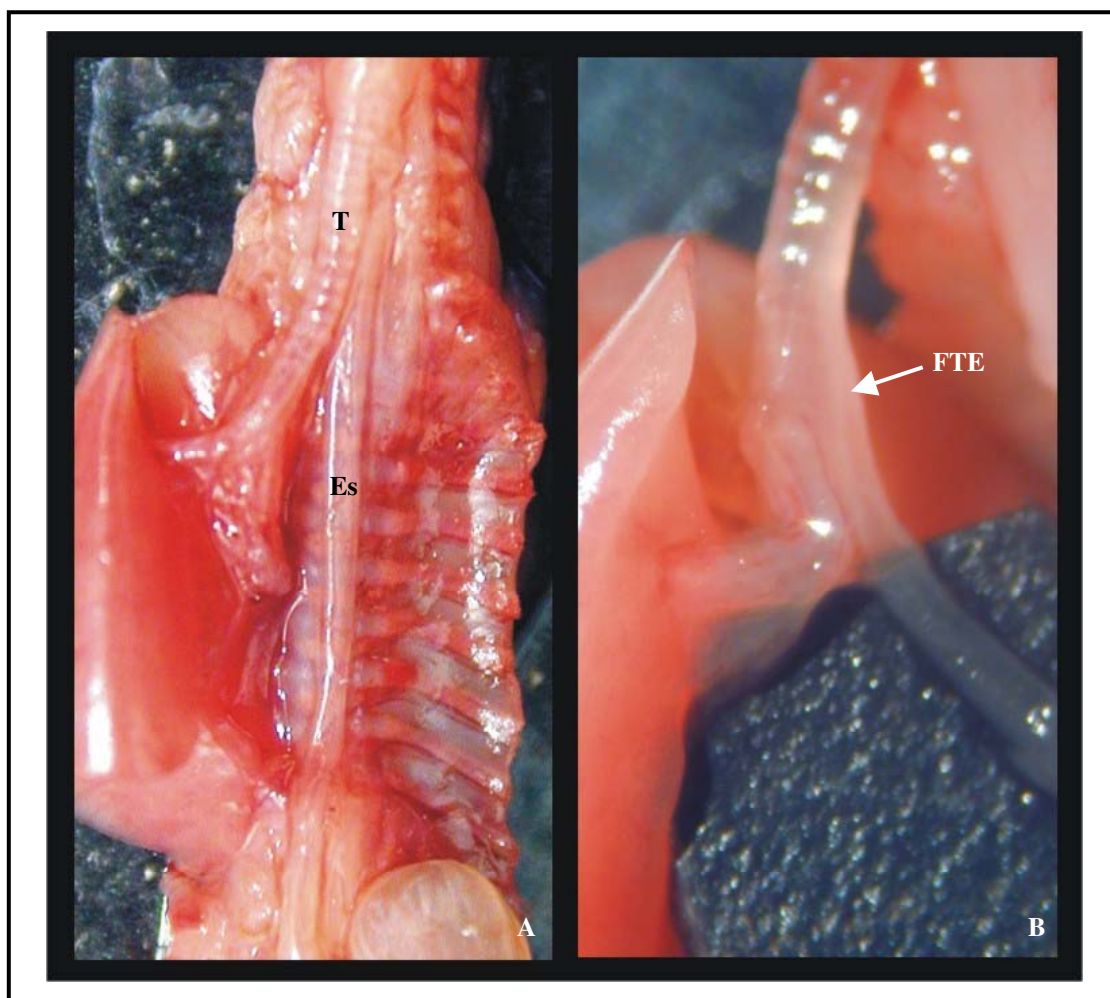


Figura 15b. Fotografia de peça anatômica do esôfago e da traquéia em outro feto normal (A), e de AE com FTE distal, tipo C de GROSS (B). Esôfago (Es), traquéia (T) e fístula tráqueo-esofágica (FTE).

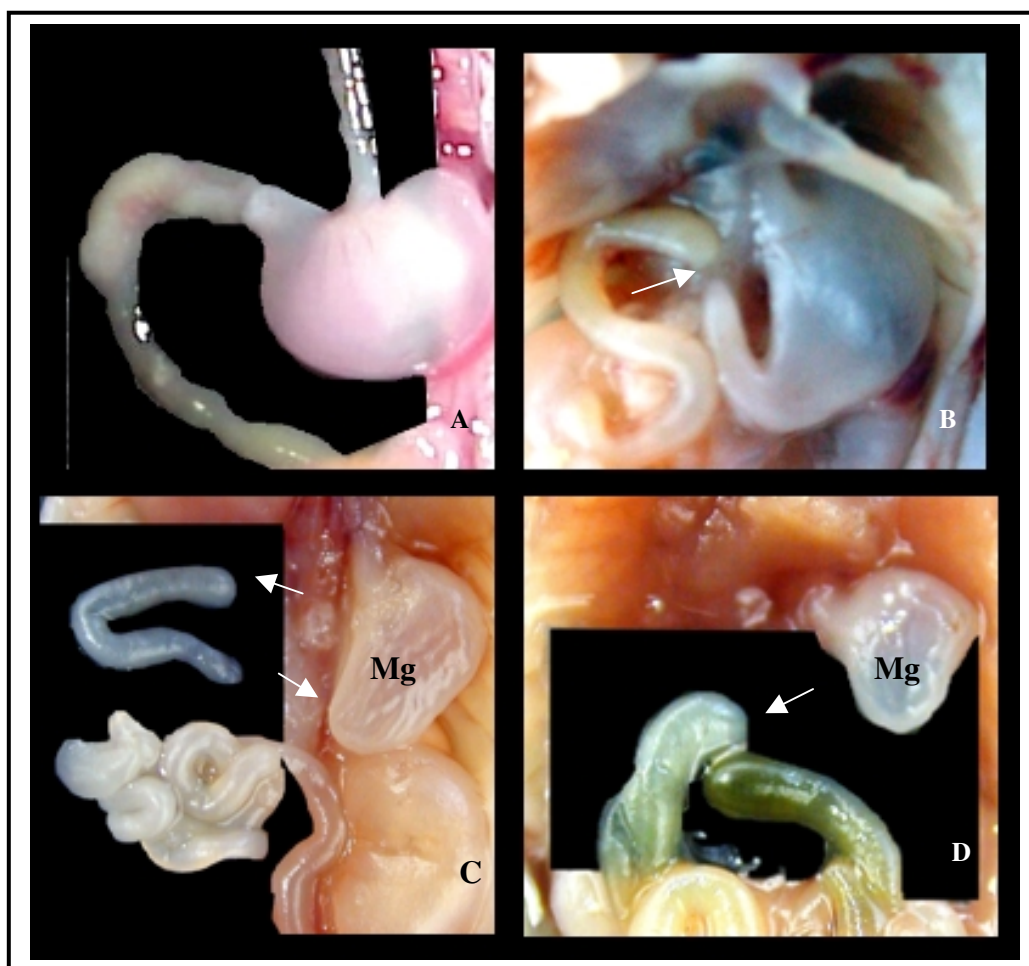


Figura 16a^a Fotografia de um duodeno normal (A), Atresia de Duodeno na primeira porção (B). As fotos C e D apresentam detalhes de Atresia de Duodeno (setas) associada a Microgastria (Mg).

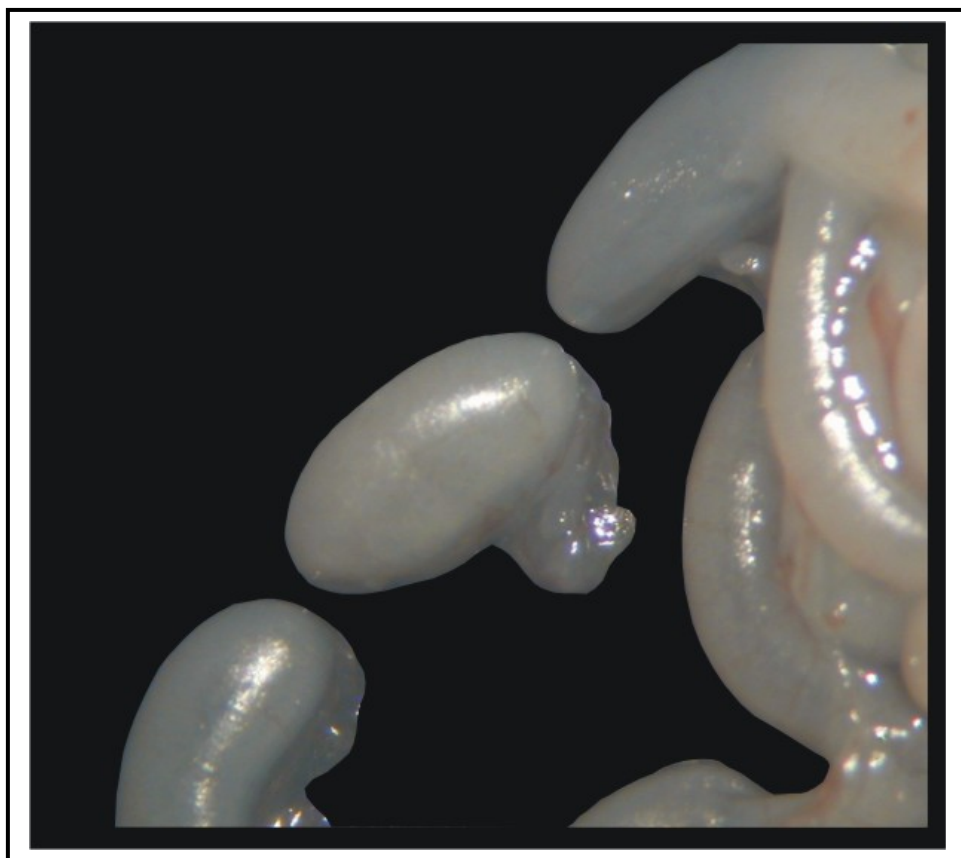


Figura 16b. Fotografia de detalhe de dupla Atresia de Duodeno, na primeira e segunda porções.

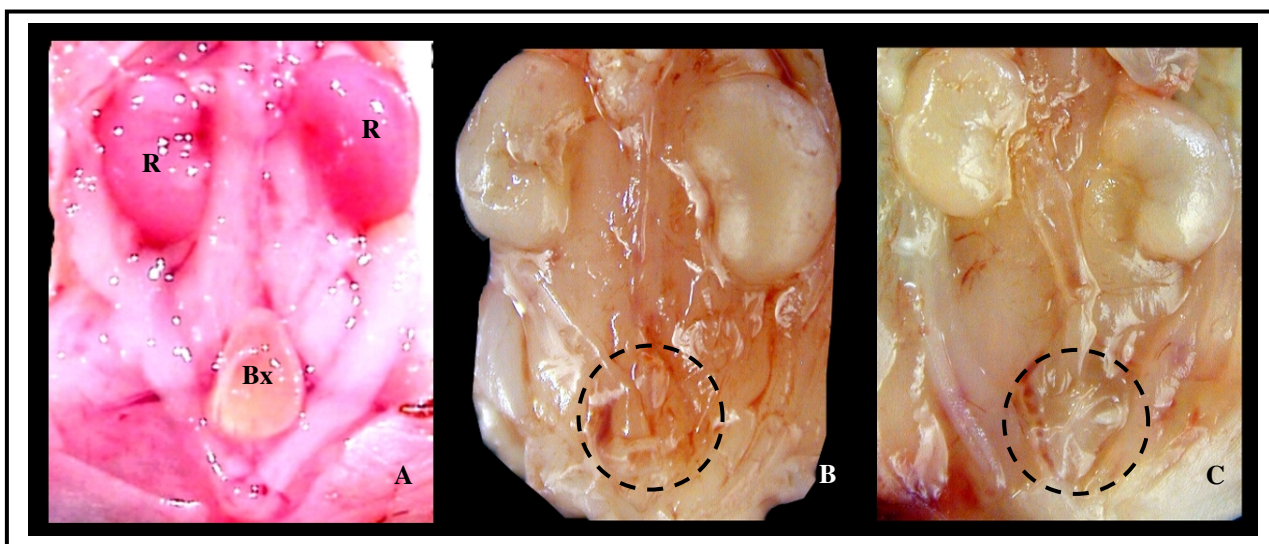


Figura 17. Fotografia de sistema urinário normal (A) e bexiga normal (Bx) em feto do grupo Controle. Agenesia de Bexiga (B e C – círculos tracejados) em feto do grupo Dox.

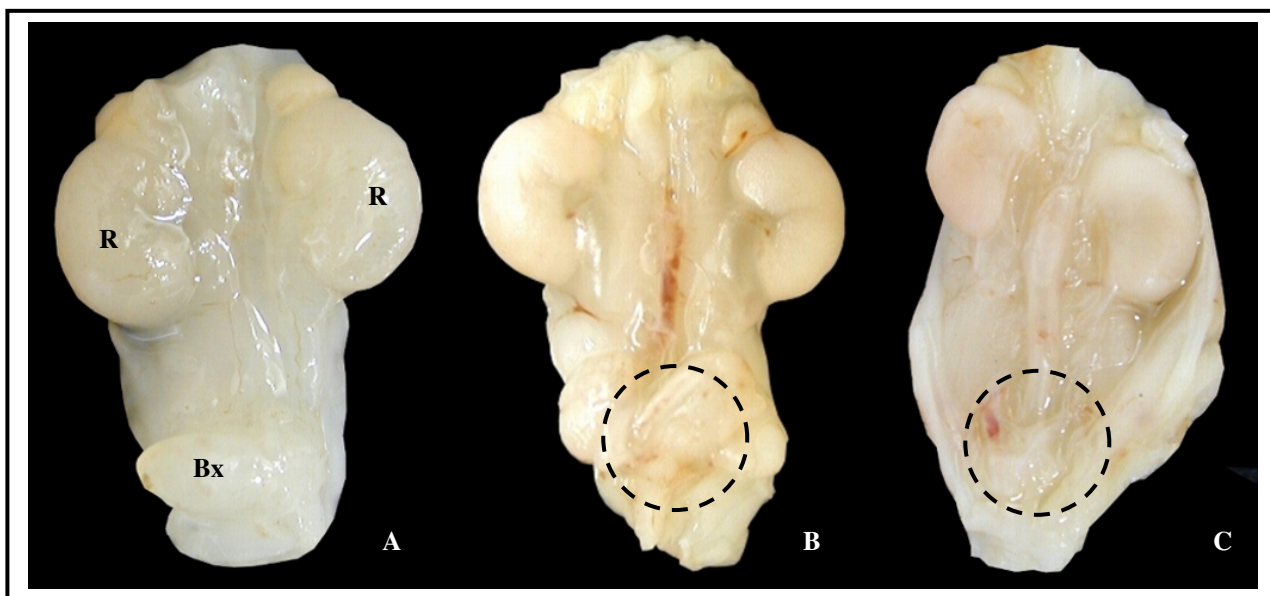


Figura 18. Em A fotografia do sistema urinário normal com bexiga (Bx). As fotos B e C representam o sistema urinário de fetos do grupo Dox com Agenesia de Bexiga (círculos tracejados). Peças anatômicas fixadas na formalina 10%.



Figura 19. Fotografia de caudas de fetos normais (A e B), e as várias apresentações de malformações de caudas malformadas em fetos do grupo Dox (C, D, E e F).



Figura 20. Fotografia de atresias múltiplas de intestino delgado, envolvendo segmentos desde o duodeno (A), jejuno-íleo (B e C) e colo (D), em feto do grupo Dox.

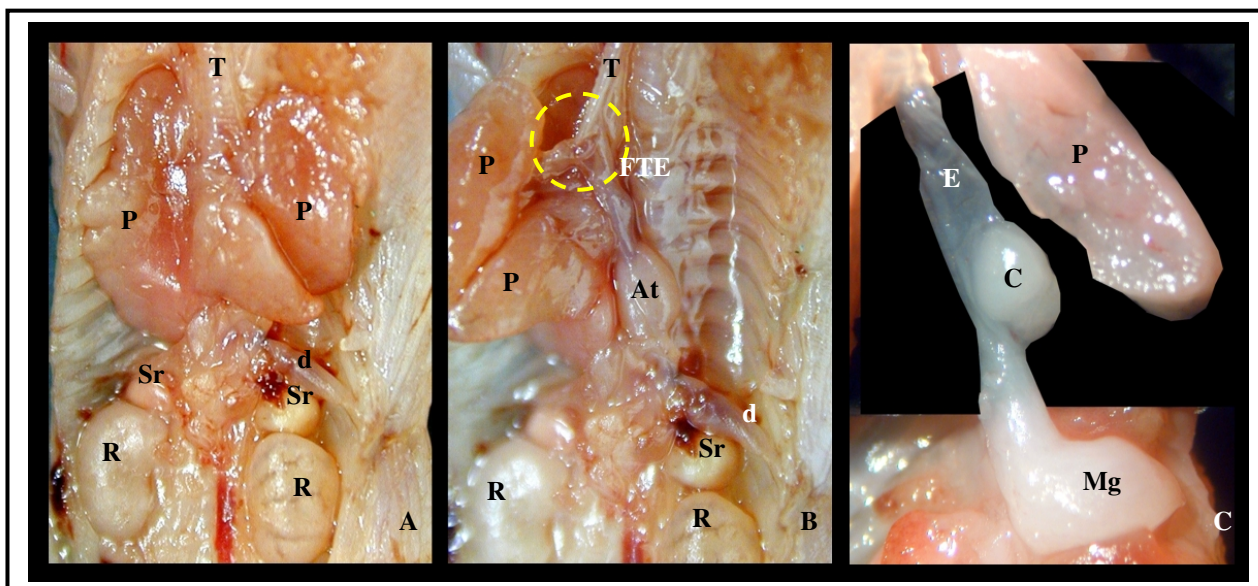


Figura 21. Fotografia de feto com Agastria (A) e de uma FTE associada a estômago atrésico (At) localizado na região torácica (B). Notar pulmões (P), traquéia (T), diafragma (d), supra-renais (Sr), rins (R), Microgastria (Mg), FTE e estrutura no terço médio do esôfago que pode representar uma duplicação ou cisto (C).

Os resultados das malformações associadas dos 68 fetos portadores de AE foram: 65 fetos com atresia de duodeno (96%), 64 fetos com ureterohidronefrose (94%), 59 fetos com agenesia de bexiga (87%), 34 fetos com malformação da cauda (50%) e 28 fetos com atresia jejuno-ileal (41%) (Tabela 3).

Outras alterações foram: 34 fetos com malformação da cauda (50%), 28 fetos com atresia jejuno-ileal (41%); 17 fetos com anomalia ano-retal (25%); 14 fetos com associação de VATER (21%); 16 fetos não apresentaram timo (22%), sete fetos com alteração dos membros (10%), seis fetos com associação de VACTERL (9%), quatro fetos com estenose de traquéia (6%) e quatro atresia de bexiga (6%) (Tabela 3).

Quando estudados os fetos portadores simultaneamente de AE e UHN bilateral foram obtidos 42 fetos portadores de AE com FTE (grupo I) e 22 sem FTE (grupo II). Destes fetos, 59 de 68 (87%) apresentaram agenesia de bexiga, sendo que 40 de 46 (87%) com AE com FTE e 19 de 22 (86%) com AE sem FTE, e 4 apresentaram atresia de bexiga (6%).

Tabela 3. Frequência de malformações associadas dos 68 fetos do grupo Dox portadores de AE com ou sem FTE.

	Atresia de Esôfago		Atresia de Esôfago		Total	
	com FTE		sem FTE			
	n=46	(%)	n=22	(%)	n=68	(%)
Atresia de Duodeno	43	(93%)	22	(100%)	65	(96%)
Uretero-Hidronefrose*	42	(91%)	22	(100%)	64	(94%)
Agenesia de Bexiga	40	(87%)	19	(86%)	59	(87%)
Malformação da Cauda	20	(43%)	14	(63%)	34	(50%)
Atresia Jejuno-Ileal	17	(37%)	11	(50%)	28	(41%)
Anomalia Ano-Retal	7	(15%)	10	(45%)	17	(25%)
VATER	7	(15%)	7	(32%)	14	(21%)
Ausência de Timo	3	(7%)	9	(41%)	12	(18%)
Alteração de Membros	2	(4%)	5	(23%)	7	(10%)
VACTERL	2	(4%)	4	(18%)	6	(9%)
Atresia de Bexiga	4	(9%)	0	(0%)	4	(6%)

Onde: *Das 42 uretero-hidronefoses nos fetos com AE com FTE, 36 eram bilaterais e 6 unilaterais e das 22 uretero-hidronefroses nos fetos com AE sem FTE, 21 eram bilaterais e 1 unilateral.

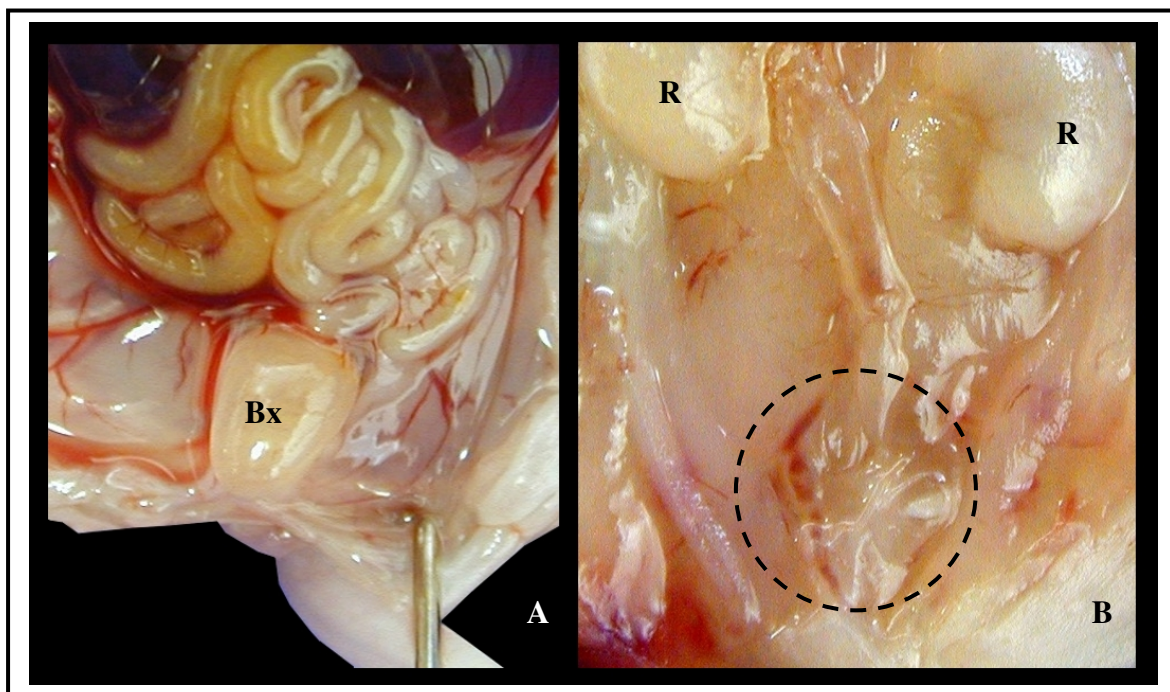


Figura 22. Fotografia de bexiga normal em feto do grupo Controle (A), e agenesia de bexiga (círculo) em feto do grupo Dox (B). Bexiga (Bx) e rim (R).

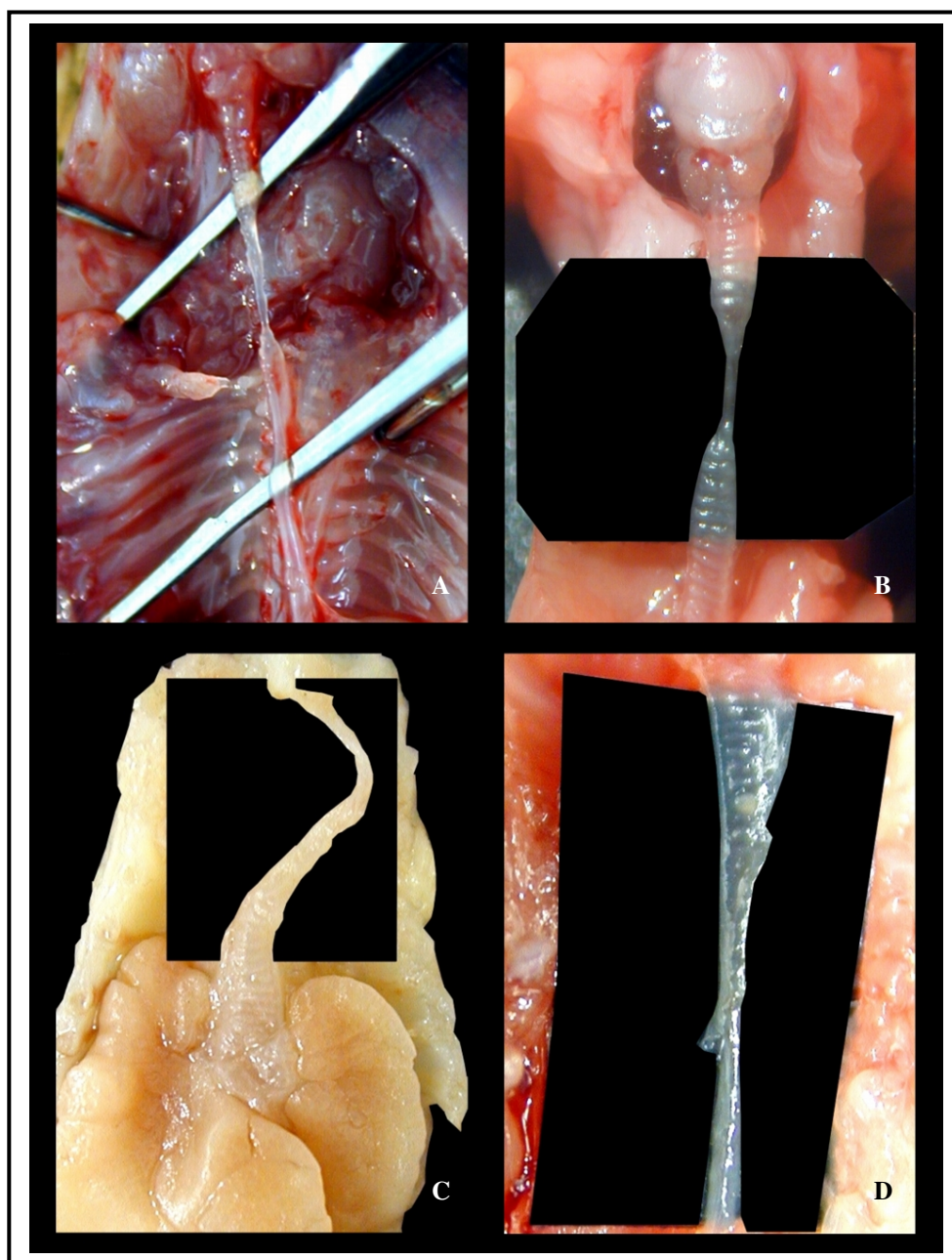


Figura 23. Fotografia dos 4 tipos de Estenose de Traquéia obtidos nos fetos do grupo Dox. Notar a estenose completa em A, segmentar em B, proximal em C e distal em D.

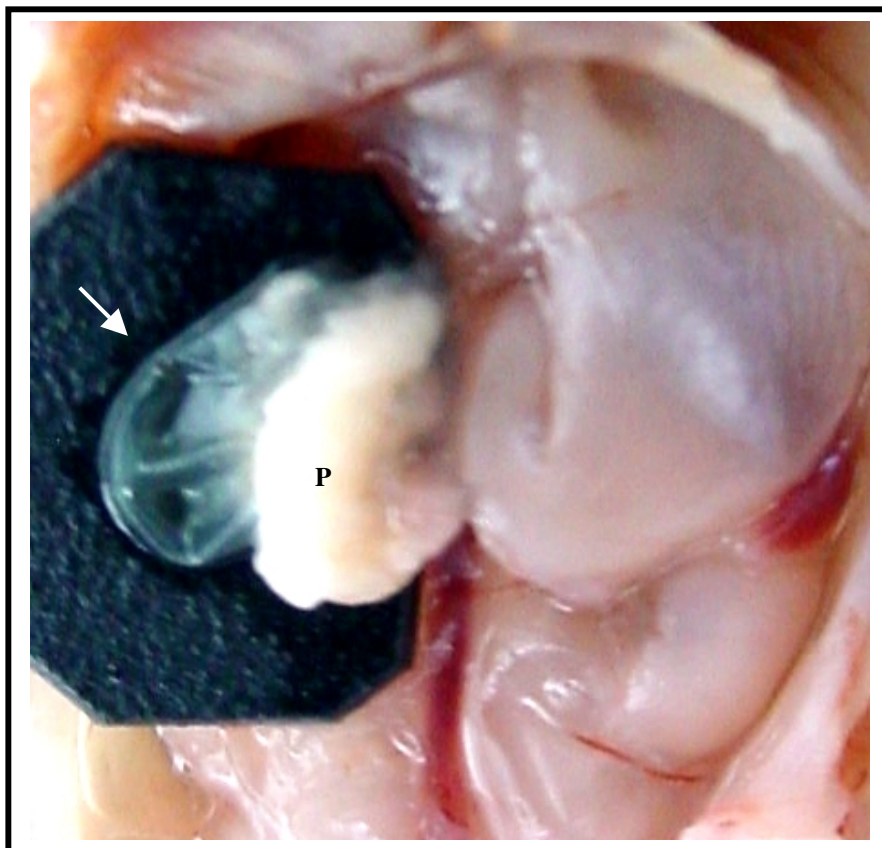


Figura 24. Fotografia representando Cisto de pâncreas (seta) evidenciado em feto do grupo Dox, onde P representa o pâncreas.

Para comparar os resultados dos pesos do LA dos fetos com AE associados a UHN bilateral foram separados 3 grupos: grupo I, fetos portadores de AE com FTE; grupo II, portadores de AE sem FTE; e grupo III, formado por fetos do grupo Controle. Esta comparação revelou aumento do LA nos grupos I e II quando comparados com o grupo III ($p=0,0001$, ANOVA) (Tabela 4 e Gráfico 5), sendo que a diferença foi evidenciada pelo teste de DUNCAN para os três grupos. Não houve diferença significativa quando comparados os grupos I e II (Tabela 5).

Tabela 4. Representa a comparação do peso do LA dos fetos com AE associados com UHN bilateral entre os grupos I (AE com FTE), II (AE sem FTE) e III (Controle).

Grupos	Líquido Amniótico (g)	P
I (n = 36)	0,87 ($\pm 0,38$) variação (0,08-2,34)	p=0,0001*
II (n = 22)	0,92 ($\pm 0,28$) variação (0,24- 1,67)	
III (n = 21)	0,58 ($\pm 0,18$) variação (0,19-0,97)	

*p-valor=0,0001 (ANOVA).

Tabela 5. Representa a comparação dos três grupos através do teste de DUNCAN.

Agrupamento Duncan	Posto médio	N	Grupo
A	44.472	36	I - AE com FTE
A	50.273	22	II - AE sem FTE
B	21.571	21	III - Controle

OBS: letras diferentes na primeira coluna indicam diferença significativa entre os grupos e quando as letras são iguais, não há diferença significativa.

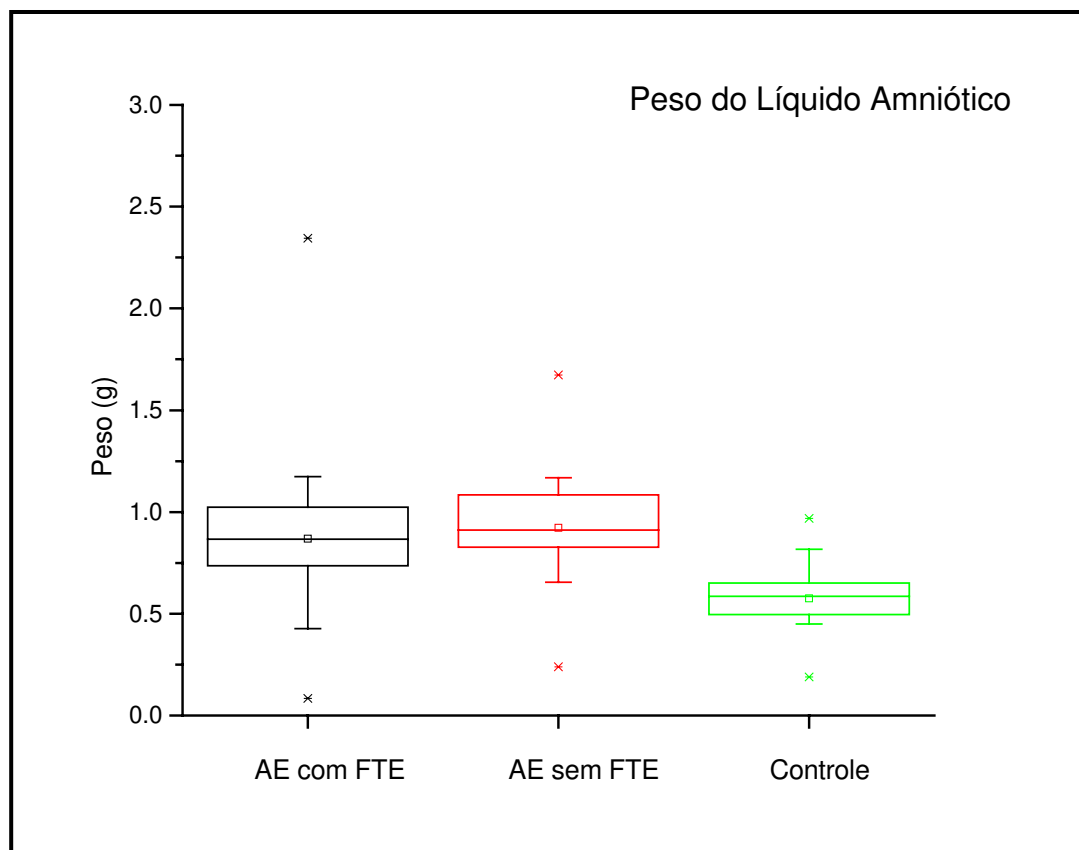


Gráfico 5. Comparação do peso do LA entre os 3 grupos: AE com FTE, AE sem FTE e Controle (I, II e III).

Foram comparados, por meio do teste não-paramétrico de Mann-Whitney, os grupos Dox e Controle por meio de medidas das variáveis de interesse: peso do saco gestacional, peso do feto, peso da placenta e membranas e peso do LA.

Para descrever as diferenças entre os grupos Dox e Controle serão apresentadas dados estatísticos descritivos das medidas dos pesos e gráficos Boxplots.

Para comparar o peso do LA entre os três grupos (I, II e III) e avaliar se a presença ou ausência de FTE teria influência na quantidade de LA na presença de UHN bilateral, foi utilizada a Análise de Variância simples (ANOVA One-Way), com transformação nos postos das variáveis e, ainda, o teste de comparação múltipla de Duncan.

Os resultados obtidos com relação à dosagem, o tempo de administração e o número de malformações obtidas em comparação com os de outras publicações da literatura estão apresentados na Tabela 6, abaixo.

Tabela 6. Comparação entre os resultados da literatura comparando a dose, o número de aplicações de Dox em dias e a presença de malformações.

	UNICAMP 2002 n = 74 (%)	QI <i>et al.</i> 1996 n = 68 (%)	XIA <i>et al.</i> 1999 n = 134 (%)	MEREI <i>et al.</i> 1999 n = 89 (%)
Dose (mg/kg de peso)	2,2	1,75	2,0	2,0
Nº de aplicações (dias)	2	4	2	2
Malformação	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)
UHN Bilateral	64 (91%)	63 (93%)	110 (82%)	86 (97%)
UHN Unilateral	6 (9%)	-	-	-
Atresia de Esôfago	68 (92%)	-	-	-
Com FTE	46 (68%)	28 (41%)	83 (62%)	62 (60%)
Sem FTE	22 (32%)	-	-	-
Atresia de Duodeno	68 (92%)	29 (43%)	84 (62%)	29 (32%)
Agenesia Bexiga	62 (84%)	-	30 (22%)	-
Malformação da Cauda	37 (50%)	7 (10%)	44 (32%)	-
Atresia Jejuno-Ileal	27 (36%)	29 (29%)	35 (26%)	21 (25%)
Anomalia Ano-Retal	17 (23%)	17 (25%)	51 (38%)	21 (25%)
VATER	14 (14%)	-	70 (52%)	-
Malformação de Membros	7 (9%)	-	-	-
Agastria	5 (7%)	-	-	-
Atresia de Bexiga	5 (7%)	53 (78%)	-	-
Estenose de Traquéia	4 (5%)	-	-	-
VACTERL	2 (3%)	-	8 (6%)	-
Cisto de Pâncreas	1 (1%)	-	-	-

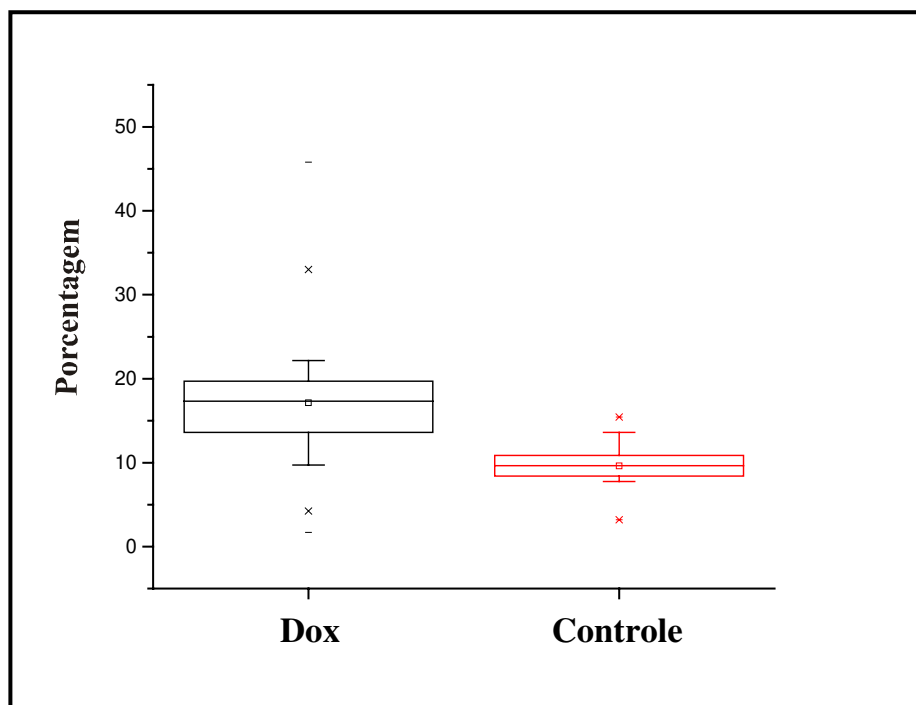
Onde: FTE = fístula tráqueo-esofágica; UHN = uretero-hidronefrose; VATER é a associação de malformação vertebral, AE, FTE, e malformação renal; VACTERL é a associação de malformação vertebral, cardiopatia, AE, FTE, e malformação renal e de membros. Nenhum dos autores referidos acima relatou malformação de membros, agastria, estenose de traquéia ou cisto de pâncreas.

Na análise da diferença de peso do LA, corrigindo-se para o peso entre os grupos, foram comparadas as porcentagens do LA sobre o saco gestacional entre os grupos Dox e Controle (teste de Mann-Whitney), para excluir a possibilidade do peso do feto influenciar o resultado final na medida do peso do LA, pois fetos mais pesados poderiam ter menos LA e fetos mais leves, isto é, menores, poderiam ter maior peso de LA. Os resultados estão na Tabela 7 e expostos no Gráfico 6 abaixo.

Tabela 7. Porcentagem do LA sobre o saco gestacional = (LA/saco gestacional*100).

Grupos	N	LA (%)
Dox	74	17,14 (±6,17) variação (1,69-45,80)
Controle	21	9,62 (±2,89) variação (3,21-15,45)

p=0,0001 (Teste de Mann-Whitney)



*p=0,0001

Gráfico 6. Porcentagem do peso do LA sobre o saco gestacional.

A análise comparativa da porcentagem do peso do LA correspondente ao peso do saco gestacional entre os grupos: I (UHN bilateral e AE com FTE), II (UHN bilateral e AE sem FTE) e III (Controle), (ANOVA nos postos), está apresentada nas Tabelas 8 e 9, e exposta no Gráfico 7.

Tabela 8. Representa a análise descritiva da medida por grupo.

Grupos	N	LA (%)
I	36	16,45 ($\pm 7,21$) variação (1,69-45,80)
II	22	18,16 ($\pm 5,17$) variação (7,07-33,01)
III	21	9,62 ($\pm 2,89$) variação (3,21-15,45)

p=0,0001 (ANOVA nos postos)

Tabela 9. Comparação da porcentagem do peso do LA correspondente ao peso do saco gestacional entre os três grupos.

Agrupamento Duncan	Posto médio	N	Grupo
A	44.722	36	I
A	53.136	22	II
B	18.143	21	III

OBS: letras diferentes da primeira coluna indicam diferença significativa entre os grupos e quando as letras são iguais, não há diferença significativa.

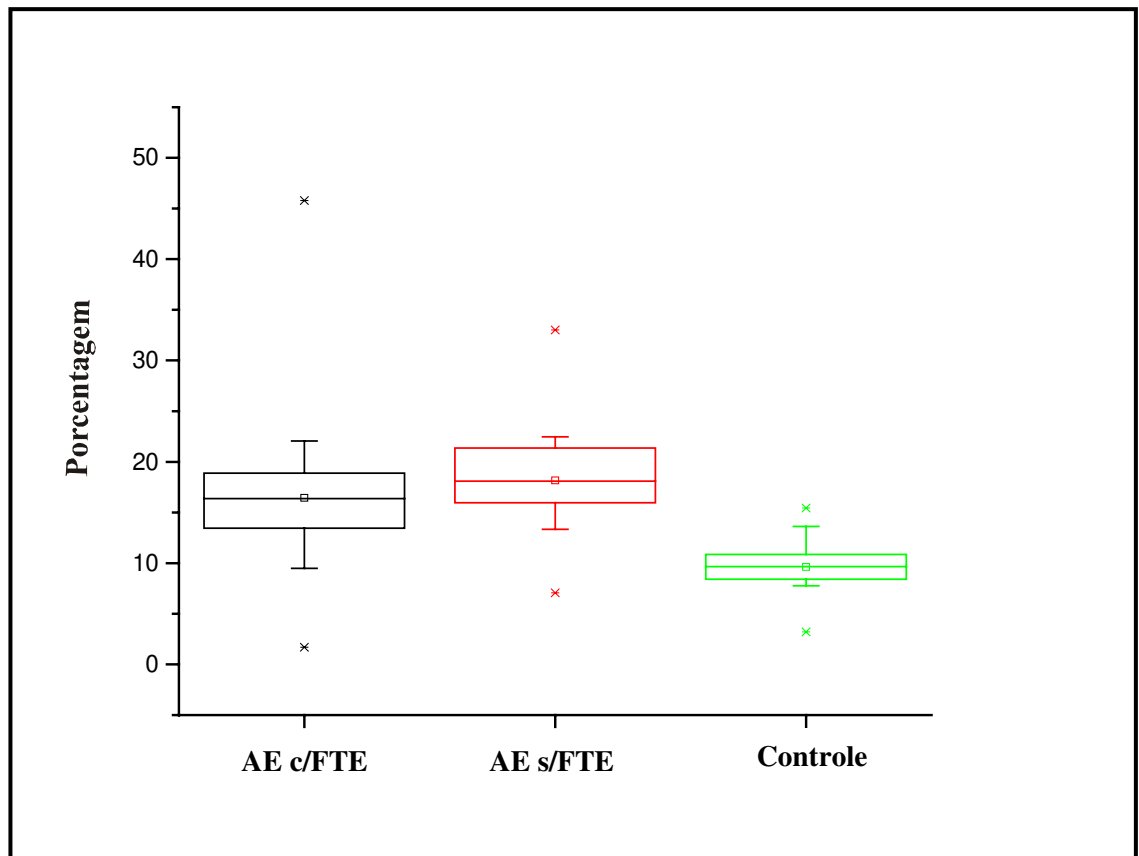


Gráfico 7. Comparação da porcentagem do peso do LA sobre o peso do saco gestacional entre os três grupos.



DISCUSSÃO

A AE é uma malformação caracterizada por falha na divisão do intestino anterior durante a formação do esôfago e da traquéia. Incide em 1:2500 a 4500 nascidos vivos e está associada em 50% das vezes a outras malformações, especialmente as cardiovasculares (QI, DIEZ-PARDO, NAVARRO *et al.*, 1996, SPITZ, *et al.*, 1993 e CRISERA, *et al.*, 1999).

O modelo experimental para o estudo da AE foi descrito primeiramente por THOMPSON (1978). Este modelo experimental consiste na administração de 2,0 mg/kg/peso de Dox em ratas *Sprague-Dawley* grávidas, via intraperitoneal, dose única diária por quatro dias, do 6º ao 9º dias de gestação. A Dox administrada nesta idade gestacional provoca distúrbios na divisão do intestino anterior levando à AE, malformações viscerais e externas.

Várias publicações procuraram estabelecer a dose e o tempo de aplicação mais adequados neste modelo. No presente estudo foi testado um modo mais simples para a posologia da droga com o objetivo de tornar o experimento mais rápido e fácil, sem, contudo comprometer os resultados. Para isso, a dose de Dox foi elevada para 2,2 mg/kg/peso de rata como propuseram CRISERA *et al.* (1999) e foi diminuído o número de dias para dois e não quatro (8º e 9º dias da gestação), como propuseram XIA *et al.* (1999) e BEASLEY *et al.* (2000).

Com a administração de Dox em maior concentração e em tempo menor foram obtidos 92% de AE, sendo este, um resultado mais expressivo que o de QI *et al.* 1996, XIA *et al.*, 1999 e MEREI *et al.*, 1999, que obtiveram respectivamente 41%, 62% e 60% de AE. Com relação às malformações viscerais associadas à AE, foram obtidos 95% de UHN, 92% de AD e 84% de AgB, resultados melhores que os dos mesmos autores sendo que a UHN, foi a malformação mais freqüente encontrada por todos os autores (Tabela 5).

Ao redor do 22º dia de gestação, o intestino anterior se alonga e divide-se longitudinalmente em uma porção ventral que dará origem a traquéia e uma porção dorsal que dará origem ao esôfago. Esta divisão se dá por meio de dobras, fendas ou invaginações laterais ao longo do intestino anterior e em seguida se fundem medialmente, formando o SET. Na região ventral o divertículo traqueal se alonga e se divide distalmente em brotos

pulmonares direito e esquerdo. Falhas deste desenvolvimento embrionário sugerem ser a causa da maior parte das malformações esôfago-traqueais (O'RAHILLY & MÜLLER, 1984 e de LORIMIER & HARRISON, 1985).

A embriogênese do intestino anterior primitivo pela qual o esôfago e a traquéia se dividem a partir do SET é a mais aceita na literatura. No entanto, outros estudos de embriologia utilizando histologia e microscopia eletrônica, propõem novas explicações para a separação entre esôfago e a traquéia.

KLUTH *et al.* (1987), utilizando microscopia eletrônica, não evidenciaram a presença do SET nem a presença de quaisquer dobras ou fendas laterais que seriam as responsáveis pela formação do SET. Também não evidenciaram a fusão medial entre estas dobras, mas apenas a aproximação entre elas. Segundo estes autores, o mecanismo normal de desenvolvimento do esôfago e da traquéia seria devido a uma redução do tamanho do intestino anterior enquanto que a malformação seria resultado do desarranjo na formação das dobras laterais durante o desenvolvimento do intestino anterior (KLUTH *et al.*, 1987).

Sendo assim, o mecanismo de separação do esôfago da traquéia ainda não apresenta um consenso e envolve processos complexos da embriogênese do intestino anterior, ainda não muito bem esclarecidos (MEREI *et al.*, 1997; XIA *et al.*, 1999).

POSSÖGEL *et al.* (1998), utilizando estudos histológicos, também não encontraram evidências da fusão das fendas laterais no intestino anterior e explicaram a separação entre esôfago e traquéia pelo rápido crescimento do mesênquima interposto entre os futuros órgãos, formando um septo que dividiria o intestino anterior semelhante ao fechamento de um zíper. Para estes autores o intestino anterior termina em uma trifurcação entre o esôfago dorsal e dois brotos pulmonares ventrais (POSSÖGEL *et al.*, 1998).

Estes são importantes achados para explicar o mecanismo normal do desenvolvimento esofágico, pois consideram que o mecanismo de formação da AE e da FTE seja um rearranjo celular tardio do intestino anterior, com perda parcial de material esofágico durante o período de rápido crescimento do intestino anterior (POSSÖGEL *et al.*, 1998).

CRISERA *et al.* (1999 e 2000), utilizando histologia e imuno-histoquímica para o fator de transcrição tireoideana um (FTT-1), estudaram especificamente o que chamaram de trifurcação, na porção caudal do intestino anterior, por meio de marcadores celulares e conseguiram visualizar três ramos: dois ramos pulmonares ventrais e um ramo dorsal. Os dois ramos pulmonares ventrais, que crescem lateralmente, continuam a se dividir em ramos menores até formarem as estruturas pulmonares normais; o ramo dorsal mediano continua a se desenvolver e a se alongar em direção caudal, através do mesênquima até o estômago. Ao verificarem no ramo dorsal mediano (esôfago distal) a presença de FTT, fator que indica a presença de tecido de origem respiratória, os autores acreditam que durante o desenvolvimento do esôfago, sendo de origem respiratória, o epitélio esofágico sofreria uma metaplasia e se transformaria em um epitélio escamoso (CRISERA *et al.*, 1999; CRISERA *et al.*, 2000).

A Apoptose é outro mecanismo celular envolvido na divisão do intestino anterior. Este termo é utilizado para descrever a morte programada de células em local e hora previamente determinados (JACOBSON, WEIL & RAFF, 1997 e WYLLIE, 1997).

Na embriologia do esôfago de fetos normais, por volta do 12º ao 12,5º dia de gestação, as células apoptóticas apresentam-se em grande número e intensa atividade na região das dobras laterais do intestino anterior, mas no 13º dia, as células apoptóticas não estão mais presentes.

Ao contrário, na embriologia do esôfago de fetos expostos a Dox, as células apoptóticas são raras no 12º dia, estando presentes apenas no 13º dia de gestação, indicando que a separação do intestino anterior em esôfago e traquéia tenha sofrido atraso e ainda, que ela tenha sido completada normalmente no 12º dia em fetos normais. Acredita-se que nos fetos normais a Dox promova um bloqueio na proliferação e diferenciação celular do mesênquima e que, provavelmente, a apoptose interfira na síntese de DNA e RNA, tendo participação no processo de perda celular, particularmente, na porção póstero-superior do intestino anterior (ZHOU, HUTSON & FARMER, 1999 e BEASLEY *et al.*, 2000; WILLIAMS *et al.*, 2000 e 2001).

O LA é formado quase que exclusivamente pela urina fetal, especialmente no final da gestação. Alterações estruturais urinárias, especialmente a UHN, podem levar à diminuição do LA (BARCELLOS & NAHOUN, 1998). A UHN é a malformação mais comum detectada na ultrassonografia pré-natal, correspondendo a 50% de todas as lesões detectadas neste período. As obstruções mais comuns são a estenose da junção uretero-pélvica, a válvula de uretra posterior e a síndrome de Prune Belly (REDDY *et al.*, 1998).

Os mecanismos de regulação do LA ainda não estão muito bem esclarecidos, mas sabe-se que apenas discretas a moderadas mudanças no fluxo do LA para a cavidade amniótica por dias ou semanas (Diagrama 1, p.19), podem levar ao polidrâmnio ou ao oligodrâmnio (BRACE, 1997). O polidrâmnio ocorre com maior frequência nos fetos com atresias intestinais proximais do que naqueles com atresias distais. Isto ocorre, provavelmente, porque nas atresias intestinais distais há um comprimento de intestinal e superfície absorptiva suficientes que não interferem no mecanismo nem de deglutição nem de absorção do LA pelo tubo digestivo do feto. Ao contrário, nas atresias intestinais proximais como a AE e AD, nas quais o comprimento do intestino não é suficiente para absorver todo o LA deglutido (KIMBLE, HARDING & KOLBE, 1998).

Estes autores relatam ainda, que as atresias intestinais incompletas, como as atresias do tipo membrana, mas que apresentam pequenos orifícios que permitem a passagem de LA para o trato digestivo não apresentam aumento do LA de maneira significativa. Isto poderia ocorrer também com as AE com FTE, nas quais haveria a possibilidade da passagem de LA para o tubo digestivo pela FTE, diminuindo a possibilidade de ocorrer polidrâmnio.

O polidrâmnio está associado ao aumento da mortalidade perinatal e está relacionado com o mau posicionamento fetal, com a ruptura placentária, com parto prematuro e em pequena porcentagem com malformações intestinais. Em seres humanos o polidrâmnio está presente em aproximadamente 30-35% dos casos de AE com FTE e 80% nas AE sem FTE (PINUS, 1998), o que é compatível com as observações de KIMBLE *et al.*, 1998, no parágrafo anterior.

O oligodrâmnio é a diminuição do LA medido pelo ultrassom e é uma reconhecida condição clínica na qual ocorre um iminente e grave comprometimento fetal, com aumento da morte perinatal e necessidade de avaliação principalmente de todo o sistema urinário, pois obstruções deste levam invariavelmente à diminuição do LA (BASTIDE *et al.*, 1986).

Os resultados obtidos de peso corporal fetal e LA são semelhantes aos de DIEZ-PARDO *et al.* (1996), que obtiveram fetos menores com polidrâmnio e encontraram 100% de UHN associadas à AE, contudo, estes autores não relacionaram estes achados com o hidrâmnio.

Nos fetos que apresentavam AE com FTE associada a UHN bilateral (grupo I) foi verificado que o peso do LA estava aumentado quando comparados com os fetos do grupo Controle (grupo III), ($p=0,0001$, ANOVA nos postos). Quando comparados os fetos que apresentavam AE sem FTE (grupo II), com os fetos do grupo Controle a diferença também foi significativa ($p=0,0001$, ANOVA nos ranks). Mas, não foi encontrada diferença significativa quando comparados os grupos I e II.

Não foram encontrados resultados semelhantes na literatura no que refere à comparação dos pesos de LA neste modelo experimental.

Se os fetos portadores de AE, com e sem FTE, apresentaram aumento do peso do LA em comparação com o grupo Controle, por que haveria aumento do volume do LA nos fetos com AE portadores de UHN bilateral se esta diminuiria a diurese do feto e conseqüentemente tenderia a oligodrâmnio? Como explicar então, o LA aumentado nos 64 fetos do grupo Dox com AE e UHN bilateral (Tabela 3)?

MEREI, BATIHA, HANI *et al.* (2001), estudaram UHN no modelo experimental da Dox, especificamente nos fetos que possuíam associação de VATER. Estes autores atribuem a UHN ao fato dos ureteres terminarem em fundo cego bilateralmente, mas não correlacionaram estes achados às variações de peso do LA, estando seus resultados restritos a associação de VATER e não a AE (com ou sem FTE).

Ao contrário dos rins e ureteres, que são de origem mesodérmica, as estruturas do trato urinário inferior que se originam do intestino posterior, são de origem endodérmica. Seu desenvolvimento embrionário mantém estreita relação com a formação do reto e ânus, mas é possível um desenvolvimento independente dos ureteres se os brotos ureterais emergirem numa posição mais alta do ducto mesonéfrico, podendo ocorrer falha na sua junção adjacente á bexiga. Se isso ocorrer, os ureteres podem terminar na uretra ou no vestíbulo vaginal (GRAY & SKANDALAKKS, 1972). Isso explicaria o fato de que, mesmo com agenesia de bexiga, o feto pode urinar; sugerindo que a UHN bilateral seja de provável origem obstrutiva (anatômica), mas que permitindo a passagem e eliminação de urina para a cavidade amniótica.

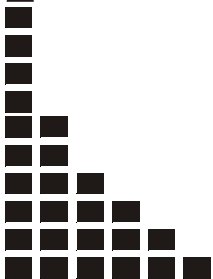


CONCLUSÃO

Conclui-se que o modelo experimental de AE testado, utilizando a Dox em dose maior e menor tempo foi adequado para a obtenção de AE e outras malformações viscerais associadas, o que permitiu uma identificação de anomalias numa proporção maior que da literatura.

Analisando as medidas de peso nas 4 variáveis (saco gestacional, peso do feto, placenta/membranas e LA), verificou-se que os pesos foram maiores quando comparados aos pesos das mesmas variáveis nos fetos do grupo Controle, com diferença significativa ($p=0,0001$, Mann-Whitney).

Correlacionando a associação de AE e UHN bilateral (grupo I e II) verificou-se que os fetos do grupo Dox apresentaram maior peso do LA, com diferença significativa ($p=0,0001$, ANOVA), quando comparados com os pesos de LA dos fetos do grupo Controle (grupo III). Os fetos do grupo I e II não apresentaram diferença significativa quando comparados seus pesos de LA.



***REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS***

- BARCELLOS, J.M. Placenta, Cordão Umbilical, Sistema Amniótico. In: **Rezende, J. OBSTETRÍCIA** 8º ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 1998. p. 54-7.
- BARSS, V.A.; BENACERRAF, B.R.; FRIGOLETTO, F.D.JR. - Second Trimester Oligohydramnionios, a Predictor of Poor Fetal Outcome. **Obst. Gynec.**, 64:608, 1984.
- BASTIDE, A.; MANNING, F.; HARMAN, C.; LANGE, I.; MORRISON, C.- Ultrasound Evaluation of Amniotic Fluid: Outcome of Pregnancies with Severe Oligohydramnios. **Amer. J. Obst. Gynec.**, 154:895, 1986.
- BEASLEY, S.W.; DIEZ-PARDO, J.; QI, B.Q.; TOVAR, J.A.; XIA, H.M. - The contribution of the adriamycin-induced rat model of the VATER association to our understanding of congenital abnormalities and their embryogenesis. **Pediatr. Surg. Int.**, 16: 465-72, 2000.
- BRACE, R.A. - Physiology of Amniotic Fluid Volume Regulation. **Clin. Obstetr. Gynecol.**, 40(2): 280-9, 1997.
- CALABRESI, P.; CHABNER, B.A.; Quimioterapia das Doenças Neoplásicas. In: **GOODMAN & GILMAN**; As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 9º ed. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill. 1996. 903-7.
- CHITTMITRAPAP, S.; SPITZ, L.; KIELY, E.M.; BRERETON, R.J. - Oesophageal atresia and associated anomalies. **Arch. Dis. Child.** 64: 364-8, 1989.
- CRISERA, C.A.; GRAU, J.B.; MALDONADO, T.S.; KADISON, A.S.; LONGAKER, M.T.; GITTES, G.K. - Defective epithelial-mesenchymal interactions dictate the organogenesis of tracheoesophageal fistula. **Pediatr. Surg. Int.** 16(4): 258-64, 2000.
- CRISERA, C.A.; MALDONADO, T.S.; KADISON, A.S.; LI, M.; LONGAKER, M.T.; GITTES, G.K. - Patterning of the “distal Esophageal Atresia with Tracheo-esophageal Fistula: Is Thyroid Transcription Factor 1 a player ? **J. Surg. Res.** 92: 245-49, 2000.
- de LORIMIER, A.A.; HARRISON, M.R. - Esophageal Atresia: Embryogenesis and Management. **World. J. Surg.** 9(2): 250-7, 1985.
- DIEZ-PARDO, J.A.; QI, B.Q.; NAVARRO, C.; TOVAR, J.A. - A new rodent experimental model of esophageal atresia and tracheoesophageal fistula: preliminary report. **J. Pediatr. Surg.** 31(4): 498-502, 1996.
- DURSTON, W. - *Philosophical transaction of the royal society*, 1670.

- GIBSON, T. - *The anatomy of humane bodies epitomized*, ed. 5, London, Awnsham and Churchill, 1697.
- GILLICK, J.; GILES, S.; BANNIGAN, S.; PURI, P. – Midgut atresias result from development of the notochord in an Adriamycin rat model. **J. Pediatr. Surg.** 37(5): 719-22, 2002.
- GREENWOOD, R.D.; ROSENTHAL, A. - Cardiovascular Malformations associated with tracheoesophageal fistula and esophageal atresia. **Pediatrics.** 57(1): 87-91, 1976.
- GROSS, R.E. - The surgery of infancy and childhood, Philadelphia, 1953, W B Sanders.
- HAIGHT, C. - Some observations on esophageal atresias and tracheoesophageal fistulas of congenital origin. **J. Thoracic. Surg.** 34(2): 141-72, 1957.
- HAIGHT, C.; TOWSLEY, H. - Congenital atresia of the esophagus with tracheoesophageal fistula: extrapleural ligation of fistula and end-to-end anastomosis of esophagus segments. **Surg. Gynecol. Obstet.** 76: 672, 1943
- HARMON, C.M.; CORAN, A.G. - Congenital Anomalies of the Esophagus. In: O'NEILL, J.A.Jr.; ROWE, M.I.; GROSFELD, J.L.; FONKALSRUD, E.W.; CORAN, A.G. **Pediatric Surgery**, ed. 5º, Missouri, USA, Mosby-Year Book, 1998. p. 941-967.
- HOLDER, T.M. – Esophageal Atresia and Tracheoesophageal Fistula. In ASHCRAFT, K.W. & HOLDER, T.M.: **Pediatric Esophageal Surgery**. Orlando, FLA. Grune & Stratton Inc, 1986. cap. 2, p.29-52,
- HOTTA, M.; ISHIMATSU, J.; MANABE, A.; HAMADA, T; YAKUSHIJI, M. – Polyhydramnios: Ultrasonic Detection on Fetal and Maternal Conditions. **Kur. Med. Jour.** 41: 31-6, 1994.
- JACOBSON, M.D.; WEIL M., RAFF, MC. – Programmed cell death in animal development. **CELL.** 88: 347-54, 1997.
- KLUTH, D.; STEDING, G.; SEIDL, W. – The embryology of foregut malformations. **J. Pediatr. Surg.** 22(5): 389-393, 1987.
- LADD, W.E. - The surgical treatment of esophageal atresia and tracheo-esophageal fistula. **New Engl. J. Med.** 230: 625, 1944.

- LEVIN, N.L. - Congenital atresia of the esophagus with tracheo-esophageal fistula: Report of successfull extrapleural ligation of fistulous communication and cervical esophagostomy. **J. Thoracic Surg.** 10:648, 1949.
- LIU, M.I.; HUTSON, J.M.; ZHOU, B. – Critical timing embryogenesis in a adriamycin-exposed rat model: A clue to the origin of the bladder. **J. Pediatr. Surg.** 34(11): 1647-51, 1999.
- LIU, M.I.; HUTSON, J.M. – Cloacal and urogenital malformations in adrimycin-exposed rat fetuses. **B.J.U.** 86(1): 107-112, 2000.
- LONGMIRE, W.P. - Cogenital atresia and tracheo-esophageal fistula. **Arch. Surg.** 55: 330, 1947.
- MEREI, J.; BATIHA, A.; HANI, B.I; EL-QUDAH, M. – Renal anomalies in the VATER animal model. **J. Pediatr. Surg.** 36(11): 1693-7, 2001.
- MEREI, J.; HASTHORPE, S.; FARMER, P.; HUTSON, J.M. - Relationship between Esophageal Atresia with Tracheoesophageal Fistula and Vertebral Anomalies in mammalian embryos. **J. Pediatr. Surg.** 33 (1): 58-63, 1998.
- MEREI, J.M.; HUTSON, J.M. – Embryogenesis of tracheal esophageal anomalies: a review. **Pediatr. Surg. Int.** Published online: 5 june 2002,
- McKENNA, M. K.; GOLDSTEIN, R. B.; STRINGER, M. D. – Small or absent fetal stomach Prognostic Significance. **Radiology.** 197: 729-733, 1995.
- MOORE, K.L.; PERSAUD, T.V.N. – Sistema Digestivo. In: MOORE & PERSAUD. Embriologia Clínica, 6º ed., Rio de Janeiro – RJ: Guanabara Koogan AS; 2000, p. 260-89.
- MYERS, N.A. – Oesophageal atresia: The epitome of modern surgery. **Ann. R. Coll. Surg. Engl.** 54: 227, 1974;
- O'RAHILLY, R.; MULLER, F. - Chevalier Jackson lecture. Respiratory and alimentary relations in staged human embryos. New embryogenesis data and congenital anomalies. **Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.** 93(5 Pt 1): 421-9, 1984
- ORFORD, J.E.; CASS, D.T. - Dose response relationship between Adriamycin and birth defects in rat model of VATER association. **J. Pediatr. Surg.** 34 (3): 392-8. 1999.
- ORFORD, J.E.; MANGLIK, P.; CASS, D.T.; TAM, P.P. - Mechanisms for the development of esophageal atresia. **J. Pediatr. Surg.** 36(7): 985-94. 2001.

- PINUS, J. - Atresia do Esôfago. In: Maksoud JJ. (1ªed.) **Cirurgia Pediátrica**. Rio de Janeiro, BR, 1998. cap. 37, p. 502-517.
- POSSÖGEL, A.K.; DIEZ-PARDO, J.A.; MORALES, C.; NAVARRO, C.; TOVAR, J.A. - Embryology of esophagus atresia in the adriamycin rat model. **J. Pediatr. Surg.** 33(4), 606-612, 1998.
- QI, B.Q.; DIEZ-PARDO, J.A.; NAVARRO, C.; TOVAR, J.A. - Narrowing the embryologic window of the adriamycin-induced rat model of esophageal atresia and tracheoesophageal fistula. **Pediatr. Surg. Int.** 11: 444-7, 1996.
- REDDY, P.P.; MANDELL, J. – PRENATAL DIAGNOSIS. Therapeutic Implications. In: **Urologic Clinics of North America**. 25(2): 171-80, 1998.
- SADLER, T.W. - Sistema digestivo. SADLER, T.W. In: **Langman Embriologia Médica**. 7º ed. Maryland, USA: G. Koogan; 1995. p. 153-6.
- SPITZ, L.; KIELY, E.M.; MORECROFT, J.A.; DRAKE, D.P. – Oesophageal atresia: at-risk groups for the 1990s. **J. Pediatr. Surg.** Jun; 29(6): 723-5, 1994.
- STRINGER, M.D.; McKENNA, K.M.; GOLDSTEIN, R.B.; FILLY, R.; ADZICK N.S.; HARRISON, M.R. – Prenatal diagnosis of esophageal atresia. **J. Pediatr. Surg.** 30(9): 1258-63, 1995.
- THOMPSON, D.J.; MOLELLO, J.A.; STRENBING, R.J. - Teratogenicity of Adriamycin and Daunomycin in the rat and rabbit. **Teratology** 17: 151-8, 1978.
- WATERSTON, D.J.; BONHAM-CARTER, R.E.; - Aberdeen E. Esophageal atresia: tracheo-esophageal fistula. A study of survival in 218 infants. **Lancet** 1: 819, 1962.
- WILLIAMS, A.K.; QI, B.Q.; BEASLEY, S.W. – Temporospacial Aberrations of Apoptosis in the Rat Embryo Developing Esophageal Atresia. **J. Pediatr. Surg.** 35(11): 1617-20, 2000.
- WYLLIE, A.H. – Apoptosis: an overview. **Br. Med. Bull.** 53(3): 451-465, 1997.
- XIA, H.; MIGLIAZZA, L.; MONTEDONICO, S; RODRIGUES, JI; DIEZ-PARDO, J.A.; TOVAR, J.A. Skeletal malformations associated with esophageal atresia: Clinical and Experimental studies. **J. Pediatr. Surg.** 34(9): 1385-92, 1999.
- XIA, H.; OTTEN, C.; MIGLIAZZA, L.; DIEZ-PARDO, J.A.; TOVAR, J.A. Tracheal Malformations in Experimental Esophageal Atresia. **J. Pediatr. Surg.** 34(4): 536-9, 1999.

YAMAN, C.; ARTZ, W.; TULZER, G.; TEWS, G. – The polyhydramnios symptom: analysis of 56 cases. **Geburtshilfe Frauenheilkd.** 56(6): 287-90, 1996.

ZAW-TUNG, H.A. – The Tracheo-Esophageal Septum – Fact or Fantasy ? **Acta Anat.** 114: 1-21, 1982.

BIBLIOGRAFIA DE NORMATIZAÇÃO

1. HERANI, M.L.G. – Normas para apresentação de Dissertação e Teses.

BIREME, São Paulo, 1991. 45p.

2. Normas e procedimentos para publicação de dissertações e teses.

Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP. Ed. SAD – OF.

CIR/PRPG/06/95 - Normas ABNT. 1995. 8p.



ANEXOS

Planilha 1: Representa os resultados das malformações dos fetos do grupo Dox.

Nº	Rata	Fetos	Data	Saco Amniótico (g)	Peso Feto (g)	Placenta+Membranas (g)	Líquido Amniótico (g)	AE and TEF	Gross
1	1	L1R5 F1	8-mai	5,9473	3,6188	0,8435	0,3623	s	C
2	1	L1R5 F2	8-mai	4,9861	2,8467	0,7229	0,4461	s	C
3	1	L1R5 F3	8-mai	5,1127	3,3338	1,0426	0,5258	s	C
4	1	L1R5 F4	8-mai	6,5068	4,1200	1,2465	0,8130	s	C
5	2	L1R4 F1	8-mai	5,1722	3,1827	1,6226	0,4228	s	C
6	2	L1R4 F2	8-mai	5,1874	3,4508	0,9496	0,6487	s	C
7	2	L1R4 F3	8-mai	4,5707	3,2056	0,7918	0,4062	s	C
8	2	L1R4 F4	8-mai	5,8064	3,6978	0,9635	0,8295	s	C
9	2	L1R4 F5	8-mai	5,4344	3,5878	0,8841	0,6798	s	C
10	2	L1R4 F6	8-mai	5,2987	3,7311	0,7946	0,4672	s	C
11	2	L1R4 F7	8-mai	4,7522	3,3862	0,9043	0,4801	s	C
12	2	L1R4 F8	8-mai	6,2074	3,7631	1,1583	0,6982	s	C
13	2	L1R4 F9	8-mai	5,1820	3,3456	0,9386	0,3278	Ag+FTE	C
14	2	L1R4 F10	8-mai	6,0567	3,8549	1,1080	0,6220	s	C
15	2	L1R4 F11	8-mai	5,1035	3,2639	1,0024	0,5864	s	C
16	2	L1R4 F12	8-mai	4,9532	2,9880	0,8722	0,5583	s	C
17	3	L1R6 F1	8-mai	6,0562	3,5310	1,1896	0,9683	s	C
18	3	L1R6 F2	8-mai	5,5848	3,6410	0,8898	0,7538	s	C
19	3	L1R6 F3	8-mai	5,4555	3,4790	0,9288	0,8818	s	C
20	3	L1R6 F4	8-mai	5,5735	3,8001	0,9074	0,5290	s	C
21	3	L1R6 F5	8-mai	4,4436	3,2460	0,7772	0,4738	s	C
22	3	L1R6 F6	8-mai	5,3790	3,3831	0,9883	0,7662	s	C
23	3	L1R6 F7	8-mai	5,2007	3,7545	1,0190	0,5156	s	C
24	3	L1R6 F8	8-mai	5,0587	3,2859	0,8208	0,6477	s	C
25	3	L1R6 F9	8-mai	4,9207	3,1400	0,9160	0,5555	s	C
26	3	L1R6 F10	8-mai	5,1202	2,4243	0,3511	0,7472	s	C
27	3	L2R6 F1	15-mai	3,7325	2,1246	0,7697	0,6015	AEs/FTE	A
28	3	L2R6 F2	15-mai	4,7532	3,0017	0,9903	0,6569	AEs/FTE	A
29	3	L2R6 F3	15-mai	5,2550	3,3876	0,9560	0,6615	AEs/FTE	A
30	3	L2R6 F4	15-mai	4,9084	3,1755	1,0785	0,5618	AEs/FTE	A
31	3	L2R6 F5	15-mai	5,5538	3,6396	1,0288	0,7720	AEs/FTE	A
32	3	L2R6 F6	15-mai	5,9340	óbito	x	x	x	x
33	3	L2R6 F7	15-mai	6,0422	4,1406	0,9162	0,6964	AEs/FTE	A
34	3	L2R6 F8	15-mai	5,5178	3,8435	0,9327	0,5300	s	C
35	4	L2R7 F1	15-mai	6,0273	3,6663	1,1186	1,0024	s	C
36	4	L2R7 F2	15-mai	5,7264	3,3704	1,2723	0,8036	Ag-FTE	A
37	4	L2R7 F3	15-mai	4,6692	3,0852	1,1084	0,3545	Ag-FTE	A
38	4	L2R7 F4	15-mai	4,3810	2,7284	0,8996	0,5918	s	C
39	4	L2R7 F5	15-mai	4,6701	2,9863	0,7993	0,7256	s	C
40	4	L2R7 F6	15-mai	4,7323	2,9186	0,8032	0,9001	Ag-FTE	A
41	4	L2R7 F7	15-mai	5,0405	2,9448	0,9276	0,9162	Ag-FTE	A

Onde: L, lote; R, rata; F, feto; AE, atresia de esôfago; FTE, fistula traqueo-esôfágica; AD, atresia de duodeno; AUJ, atresia de jejuno-íleo; AAR, anomalia ano-retal; AE s/ ou c/ FTE, atresia de esôfago sem ou com fistula; Ag, agastria; UHN, uretero-hidronefrose; B, bilateral; U, unilateral; AgB, agenesia de bexiga; AB, atresia de bexiga.

Planilha 1: Representa os resultados das malformações dos fetos do grupo Dox.

Nº	Rata	Fetos	Data	Saco Amniótico (g)	Peso Feto (g)	Placenta+Membranas (g)	Líquido Amniótico (g)	AE and TEF	Gross
42	5	L3 R2 F1	22-mai	5,3328	3,2318	0,9195	0,9327	AEs/FTE	A
43	5	L3 R2 F2	22-mai	4,4677	2,7558	0,8850	0,6633	AEs/FTE	A
44	5	L3 R2 F3	22-mai	3,8009	2,7506	0,8694	0,1026	AEs/FTE	A
45	5	L3 R2 F4	22-mai	4,1324	3,2508	0,7062	0,0546	s	C
46	5	L3 R2 F5	22-mai	5,0573	3,0520	0,7358	1,1048	s	C
47	5	L3 R2 F6	22-mai	5,1615	3,0821	0,9626	0,9703	AEs/FTE	A
48	5	L3 R2 F7	22-mai	5,0680	2,7342	0,6608	0,4558	AEs/FTE	A
49	5	L3 R2 F8	22-mai	5,4395	3,3468	0,9947	0,8990	AEs/FTE	A
50	5	L3 R2 F9	22-mai	5,1670	3,2110	0,9596	0,7877	AEs/FTE	A
51	5	L3 R2 F10	22-mai	4,9005	3,1602	0,9219	0,5826	AEs/FTE	A
52	5	L3 R2 F11	22-mai	8,0987	óbito	x	x	x	x
53	5	L3 R2 F12	22-mai	5,0937	3,3532	0,8249	0,5610	AEs/FTE	A
54	6	L3 R4 F1	22-mai	4,6875	2,8014	0,8630	0,8719	s	C
55	6	L3 R4 F2	22-mai	6,2644	4,3680	1,0443	0,6230	s	A
56	6	L3 R4 F3	22-mai	5,6150	3,7500	1,1174	0,5281	s	C
57	6	L3 R4 F4	22-mai	5,4998	3,6040	1,0744	0,4810	s	A
58	6	L3 R4 F5	22-mai	6,1702	óbito	x	x	x	x
59	7	L4 R6 F1	29-mai	5,3110	3,2144	0,9226	0,6233	s	C
60	7	L4 R6 F2	29-mai	5,5054	3,3515	0,9958	0,5791	s	C
61	7	L4 R6 F3	29-mai	4,6640	2,9548	0,8656	0,5658	s	A
62	7	L4 R6 F4	29-mai	resorption	x	x	x	x	x
63	7	L4 R6 F5	29-mai	5,2033	3,2339	1,1170	0,5587	s	C
64	7	L4 R6 F6	29-mai	5,3606	3,3871	1,1209	0,6326	s	C
65	7	L4 R6 F7	29-mai	5,2978	3,1903	1,1575	0,5078	s	C
66	7	L4 R6 F8	29-mai	resorption	x	x	x	x	x
67	7	L4 R6 F9	29-mai	resorption	x	x	x	x	x
68	7	L4 R6 F10	29-mai	4,9411	4,0606	0,7968	0,0410	s	C
69	7	L4 R6 F11	29-mai	resorption	x	x	x	x	x
70	8	L4 R7 F1	29-mai	5,5719	3,7931	1,0315	0,5163	n	n
71	8	L4 R7 F2	29-mai	4,3125	2,6822	0,7964	0,6230	s	C
72	8	L4 R7 F3	29-mai	6,2088	4,1380	1,0829	0,7780	s	C
73	8	L4 R7 F4	29-mai	5,5441	3,8820	0,9648	0,5239	n	n
74	8	L4 R7 F5	29-mai	5,6214	4,0327	0,9577	0,2451	s	C
75	8	L4 R7 F6	29-mai	5,4128	3,7042	0,9713	0,5618	n	n
76	8	L4 R7 F7	29-mai	5,8429	3,8868	1,0470	0,7000	s	C
77	8	L4 R7 F8	29-mai	5,4952	3,5754	0,9540	0,7745	n	n
78	8	L4 R7 F9	29-mai	5,4277	3,9751	0,9341	0,4755	s	C
79	8	L4 R7 F10	29-mai	5,7128	3,8555	0,9868	0,5566	n	n
80	8	L4 R7 F11	29-mai	5,0665	3,5701	0,8742	0,4628	s	C
81	8	L4 R7 F12	29-mai	5,4040	3,7067	0,9657	0,4419	n	n

continuaç

Onde: L, lote; R, rata; F, feto; AE, atresia de esôfago; FTE, fistula traqueo-esôfágica; AD, atresia de duodeno; AJI, atresia de jejuno-íleo; AAR, anomalia ano-retal; AE s/ ou c/ FTE, atresia de esôfago sem ou com fistula; Ag, agastria; UHN, uretero-hidronefrose; B, bilateral; U, unilateral; AgB, agenesia de bexiga; AB, atresia de bexiga.

Planilha 1: Representa os resultados das malformações dos fetos do grupo Dox.

AD	AJI	AAR	UHN	AB	Timo	Membros	Cauda	Exencefalla
n	n	n	n	s	presente	n	n	n
s	n	n	E	s	presente	n	s	n
s	s	n	B	s	presente	n	s	n
s	s	n	n	s	presente	n	n	n
s	s	n	B	s	presente	n	n	n
s	s	n	E	s	presente	n	n	n
s	s	n	B	s	presente	n	n	n
s	n	n	B	s	presente	n	n	n
s	n	n	B	s	presente	n	n	n
s	n	n	B	s	presente	n	n	n
s	n	n	E	s	presente	n	s	n
s	s	n	E	s	presente	n	n	n
s	s	n	B	s	presente	n	n	n
s	n	n	B	s	presente	n	n	n
s	n	n	B	s	presente	n	n	n
s	n	n	B	s	presente	n	s	n
s	n	n	B	s	presente	n	n	n
s	n	n	B	s	presente	n	n	n
s	n	n	B	s	presente	n	s	n
s	n	n	B	s	presente	n	n	n
s	n	n	D	s	presente	n	n	n
s	s	n	B	n	presente	n	n	n
s	n	n	B	s	presente	n	n	n
s	n	n	B	n	presente	n	n	n
s	n	n	B	s	presente	n	n	n
s	n	n	B	s	presente	n	n	n
s	s	n	B	s	presente	n	s	n
s	n	n	B	s	presente	n	n	n
s	n	n	B	s	presente	n	s	n
s	n	n	B	s	ausente	s	s	n
s	n	s	B	s	ausente	s	s	n
s	n	n	B	n	ausente	n	s	n
s	n	n	B	n	ausente	n	n	n
s	n	x	x	x	x	x	x	n
x	x	n	B	s	ausente	s	s	n
s	n	n	B	s	presente	n	s	n
s	s	s	n	s	presente	s	s	n
s	n	n	B	s	ausente	n	n	n
s	s	n	B	s	ausente	s	n	n
s	s	n	B	s	ausente	n	n	n
s	n	s	B	s	ausente	n	s	n
s	n	s	B	s	ausente	n	n	n
s	n	n	B	s	presente	n	s	n

continuação

Planilha 1: Representa os resultados das malformações dos fetos do grupo Dox.

AD	AJI	AAR	UHN	AB	Timo	Membros	Cauda	Exencefalia
S	S	n	B	S	ausente	n	n	n
S	S	n	B	S	ausente	n	n	n
S	S	S	B	S	presente	n	S	n
S	n	S	B	S	presente	n	S	n
S	n	n	B	S	presente	n	S	n
S	n	S	B	S	presente	n	S	n
S	S	S	B	S	ausente	n	S	n
S	n	n	B	S	presente	n	S	n
S	n	S	B	S	presente	n	S	n
S	S	S	B	S	presente	n	S	n
X	X	X	X	X	x	x	X	n
S	n	n	B	S	presente	n	S	n
S	S	n	B	S	ausente	S	S	n
S	S	S	B	S	ausente	S	S	n
S	n	S	B	S	presente	n	S	n
S	n	S	B	S	ausente	n	n	n
X	X	X	X	X	x	x	n	n
S	n	S	B	S	presente	n	S	n
S	S	S	B	S	presente	n	n	n
S	S	S	B	S	presente	n	S	n
X	X	X	X	X	x	x	X	n
S	S	n	B	S	presente	n	S	n
S	S	n	B	S	presente	n	S	n
X	X	X	X	X	x	x	X	n
S	S	S	B	S	presente	n	S	n
X	X	X	X	X	x	x	X	n
n	n	n	B	S	presente	n	S	n
S	n	n	n	S	presente	n	n	n
S	n	n	B	At	presente	n	n	n
n	n	n	B	At	presente	n	S	n
n	n	n	B	S	presente	n	n	n
S	n	n	B	S	presente	n	n	n
S	n	n	B	At	presente	n	n	n
S	n	n	B	S	presente	n	n	n
n	n	n	B	At	presente	n	n	n
n	n	n	D	At	presente	n	S	n
S	n	n	B	S	presente	n	n	n

continuação

Planilha 1: Representa os resultados dos fetos do grupo Controle.

Nº	Rata	Fotos	Data	Saco Amniótico (g)	Peso Feto (g)	Placenta+Membranas (g)	Líquido Amniótico (g)	AE and TEF
1	1	C1R1F1	19-Jun	5,7919	4,2891	1,0532	0,2700	n
2	1	C1R1F2	19-Jun	6,1224	4,4393	1,1860	0,3112	n
3	1	C1R1F3	19-Jun	5,9097	4,2815	1,1239	0,3714	n
4	1	C1R1F4	19-Jun	6,0221	4,2580	1,1485	0,3539	n
5	1	C1R1F5	19-Jun	6,0986	4,2684	1,2359	0,3744	n
6	1	C1R1F6	19-Jun	6,1578	4,3508	1,1140	0,4649	n
7	1	C1R1F7	19-Jun	5,9111	4,2234	1,4980	0,3293	n
8	1	C1R1F8	19-Jun	6,0024	4,2738	1,1374	0,4196	n
9	1	C1R1F9	19-Jun	5,837	4,2707	1,0418	0,3824	n
10	1	C1R1F10	19-Jun	6,0256	4,3377	1,1722	0,3199	n
11	1	C1R1F11	19-Jun	6,0811	4,3846	1,1098	0,4339	n
12	1	C1R1F12	19-Jun	5,8677	4,1376	1,1116	0,3997	n
13	1	C1R1F13	19-Jun	5,5802	3,9884	1,1240	0,3767	n
14	2	C2R2F1	26-Jun	5,6977	3,8836	0,9981	0,4994	n
15	2	C2R2F2	26-Jun	6,1831	4,5349	1,1278	0,3616	n
16	2	C2R2F3	26-Jun	5,9150	4,6151	1,0781	0,4436	n
17	2	C2R2F4	26-Jun	5,9866	4,2653	1,0706	0,3967	n
18	2	C2R2F5	26-Jun	6,6321	4,5214	1,2086	0,5147	n
19	2	C2R2F6	26-Jun	6,2647	4,1647	1,1324	0,6247	n
20	2	C2R2F7	26-Jun	5,8438	4,1089	1,0699	0,2575	n
21	2	C2R2F8	26-Jun	5,2726	4,1126	0,6672	0,3824	n

Onde: L, lote; R, rata; F, feto; AE, atresia de esôfago; FTE, fistula traqueo-esofágica; AD, atresia de duodeno; AJI, atresia de jejuno-íleo; AAR, anomalia ano-retal; AE s/ ou c/ FTE, atresia de esôfago sem ou com fistula; UHN, uretero-hidronefrose; B, bilateral; U, unilateral; AgB, agenesia de bexiga; AB, atresia de bexiga.

Planilha 1: Representa os resultados dos fetos do grupo Controle.

[illegible]

continuação

De: Comissão de Pesquisa - Estatística - FCM - Unicamp
Para: Willy Marcus Gomes França / Lourenço Sbragia Neto - Cirurgia
Data: 08/nov/2002

Atresia de esôfago e anomalias viscerais em fetos de ratas *Sprague-dawley* induzidas pela doxorubicina e suas relações com o hidrânio materno

Objetivos

- Descrever e comparar os grupos Controle e Doxorubicina através das medidas das variáveis de interesse: peso do saco amniótico, do feto, da placenta e membranas e do líquido amniótico.
- Descrever e comparar o peso do líquido amniótico entre os 3 grupos: Controle, AE sem FTE e AE com FTE.

Metodologia

- Para descrever os grupos são apresentados estatísticas descritivas das medidas dos pesos e gráficos Boxplots para comparação dos grupos.
- Para comparação dos pesos entre os grupos Controle e Doxorubicina foi utilizado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney, e para comparar o peso do líquido amniótico entre os grupos Controle, AE sem FTE e AE com FTE, foi utilizada a Análise de Variância simples (ANOVA One-Way) com transformação de ranks (ou de postos) das variáveis, e o teste de comparação múltipla de Duncan.
- O nível de significância adotado foi de 5%.

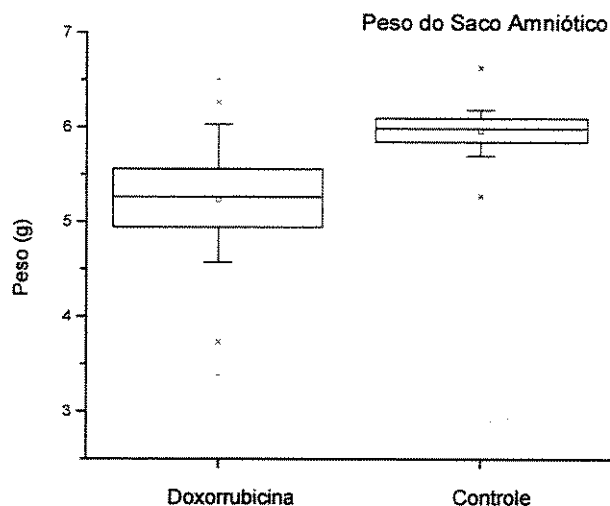
Resultados

1 - Análise descritiva e gráficos boxplots dos pesos por grupo:

Peso do Saco Amniótico

GRUPO	N	MÉDIA	DP	MÍN	MEDIANA	MÁX
Doxorrubicina	74	5.23	0.56	3.38	5.23	6.51
Controle	21	5.96	0.27	5.27	5.99	6.63

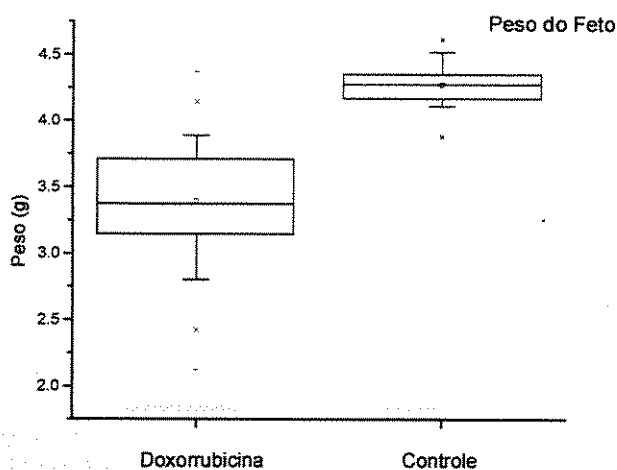
p-valor=**0.0001** (Teste de Mann-Whitney)



Peso do Feto

GRUPO	N	MÉDIA	DP	MÍN	MEDIANA	MÁX
Doxorrubicina	74	3.39	0.43	2.12	3.36	4.37
Controle	21	4.27	0.18	3.88	4.27	4.62

p-valor=0.0001 (Teste de Mann-Whitney)

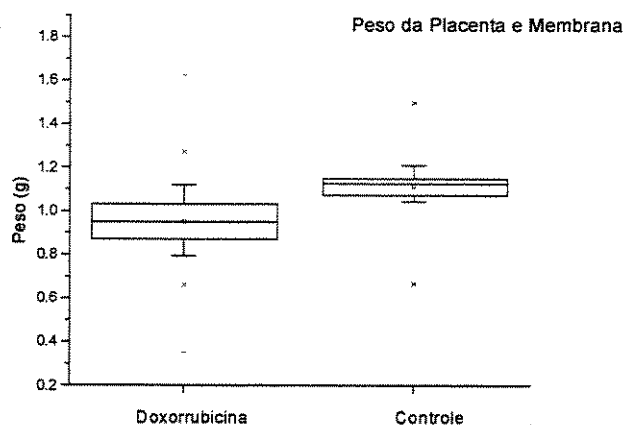


Peso da Placenta e Membrana

104

GRUPO	N	MÉDIA	DP	MÍN	MEDIANA	MÁX
Doxorrubicina	74	0.95	0.16	0.35	0.94	1.62
Controle	21	1.11	0.14	0.67	1.12	1.50

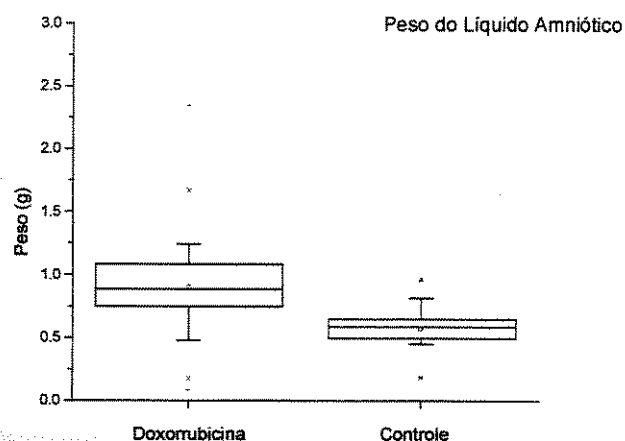
p-valor=0.0001 (Teste de Mann-Whitney)



Peso do Líquido Amniótico

GRUPO	N	MÉDIA	DP	MÍN	MEDIANA	MÁX
Doxorrubicina	74	0.90	0.33	0.08	0.88	2.34
Controle	21	0.58	0.18	0.19	0.59	0.97

p-valor=0.0001 (Teste de Mann-Whitney)



2 - Comparação do peso do líquido amniótico entre os 3 grupos: Controle, AE sem FTE e AE 10⁵ FTE.

n=79

- Análise descritiva da medida por grupo.

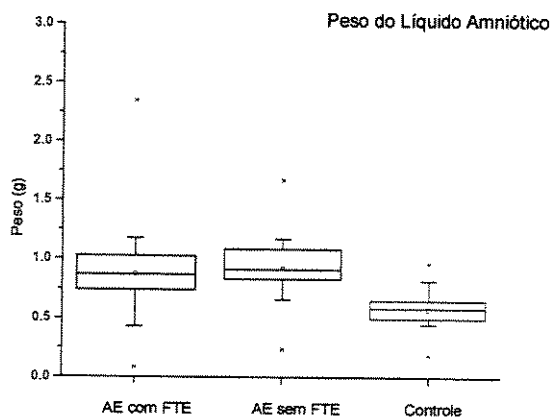
GRUPO	N	MEDIA	DP	MAX	MEDIANA	MIN
AE c/ FTE	36	0.87	0.38	2.34	0.87	0.08
AE s/ FTE	22	0.92	0.28	1.67	0.90	0.24
Controle	21	0.58	0.18	0.97	0.59	0.19

p-valor=0.0001 (Anova nos ranks)

- Comparação dos grupos através do teste de Duncan.

Duncan Grouping	Rank médio	N	GRUPO
A	50.273	22	AE s/ FTE
A	44.472	36	AE c/ FTE
B	21.571	21	Controle

Obs: Letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos.



Referências bibliográficas:

- Conover, W. J. (1971), *Practical Nonparametric Statistics*. New York: John Wiley & Sons.
- Fleiss, J. L. (1981), *Statistical Methods for Rates and Proportions*. New York: John Wiley & Sons, 2nd ed.
- Cleveland, W. S. (1985), *The Elements of Graphing Data*. Monterey, Califórnia: Wadsworth Advanced Books and Software.

Programas computacionais:

- The SAS System for Windows (Statistical Analysis System), versão 8.02. SAS Institute Inc, 1999-2001, Cary, NC, USA.

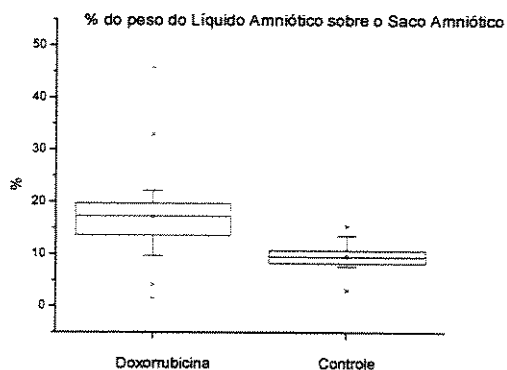
3 - Comparação da porcentagem do líquido amniótico sobre o saco amniótico entre os grupos: Doxorrubicina e Controle.

106

% do Peso do Líquido Amniótico sobre o Saco Amniótico = (Hidram/Sac*100)

GRUPO	N	MEDIA	DP	MIN	MEDIANA	MÁX
Doxorrubicina	74	17.14	6.17	1.69	17.33	45.80
Controle	21	9.62	2.89	3.21	9.65	15.45

p-valor=0.0001 (Teste de Mann-Whitney)



4 - Comparação da porcentagem do líquido amniótico sobre o saco amniótico entre os grupos: Controle, AE c/ FTE e AE s/ FTE.

n=79

- Análise descritiva da medida por grupo.

-

GRUPO	N	MEDIA	DP	MAX	MEDIANA	MIN
AE c/ FTE	36	16.45	7.21	45.80	16.20	1.69
AE s/ FTE	22	18.16	5.17	33.01	18.03	7.07
Controle	21	9.62	2.89	15.45	9.65	3.21

p-valor=0.0001 (Anova nos ranks)

- Comparação dos grupos através do teste de Duncan.

Duncan Grouping	Rank médio	N	GRUPO
A	53.136	22	AE c/FTE
A	44.722	36	AE s/ FTE
B	18.143	21	Controle

Obs: Letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos.

