

ANTONIO ANGELO ROCHA

**ESTUDO DA OXIGENOTERAPIA HIPERBÁRICA SOBRE A
RESISTÊNCIA MECÂNICA DAS ANASTOMOSES
CÓLICAS NA PRESENÇA DE PERITONITE INDUZIDA POR
PUNÇÃO E LIGADURA CECAL: TRABALHO
EXPERIMENTAL EM RATOS**

CAMPINAS

2010

ANTONIO ANGELO ROCHA

**ESTUDO DA OXIGENOTERAPIA HIPERBÁRICA SOBRE A
RESISTÊNCIA MECÂNICA DAS ANASTOMOSES
CÓLICAS NA PRESENÇA DE PERITONITE INDUZIDA POR
PUNÇÃO E LIGADURA CECAL: TRABALHO
EXPERIMENTAL EM RATOS**

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

ORIENTADOR: João José Fagundes

CO-ORIENTADOR: Wu Feng Chung

CAMPINAS

2010

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

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

R582e Rocha, Antonio Angelo
Estudo da oxigenoterapia hiperbárica sobre a resistência mecânica das anastomoses cólicas na presença de peritonite induzida por punção e ligadura cecal: trabalho experimental em ratos / Antonio Angelo Rocha. Campinas, SP : [s.n.], 2010.

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

1. Anastomose cirúrgica. 2. Cólon (Anatomia). 3. Oxigenação hiperbárica. 4. Peritonite. I. Fagundes, João José. II. Wu, Feng Chung. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Título em inglês : Hyperbaric Oxygen Therapy Study on the Mechanical Resistance of Colonics Anastomosis under the Presence of Induced Peritonitis by Puncture and Cecal Ligature: Experimental Study in Rats.

Keywords: • Anastomosis, surgical
• Colon
• Hyperbaric oxygenation
• Peritonitis

Titulação: Doutor em Cirurgia
Área de concentração: Cirurgia

Banca examinadora:

Prof. Dr. João José Fagundes
Prof. Dr. Alcino Lázaro da Silva
Prof. Dr. Virgínio Cândido Tosta de Souza
Prof. Dr. Cláudio Saddy Rodrigues Coy
Profa. Dra. Raquel Franco Leal

Data da defesa: 24-02-2010

Banca Examinadora da Tese de DOUTORADO

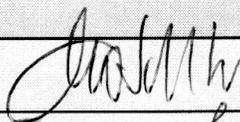
Antonio Ângelo Rocha

Orientador: Prof(a). Dr(a). João José Fagundes

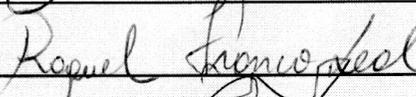


Membros:

1. Prof(a). Dr(a). Claudio Saddy Rodrigues Coy



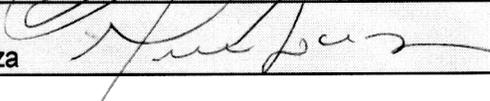
2. Prof(a). Dr(a). Raquel Franco Leal



3. Prof(a). Dr(a). Alcino Lázaro da Silva



4. Prof(a). Dr(a). Virginio Cândido Tosta de Souza



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

Data: 24/02/2010.

Dedicatórias

*À Cláudia Regina Gomes
Rocha, esposa que eu amo, que sempre
esteve ao meu lado me apoiando e me
incentivando. Tenho certeza que sem a sua
presença eu não seria feliz. Espero chegar
ao fim dos meus dias sempre ao seu lado.*

*Aos meus dois filhos Paula
Marina de Freitas Rocha e Antonio Angelo
Rocha Filho, amores da minha vida, por
aceitarem meus momentos de ausência.*

*Ao meu pai, Antonio de Pádua
Nogueira Rocha (in memoriam), que mesmo
ausente, se faz presente em todos
momentos de minha vida. Por ele entendi a
melhor definição de saudade:
“Saudade é presença da ausência”*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Juvenal Ricardo Navarro Góes (*in memoriam*): agradeço pelo apoio técnico, ética, entusiasmo e a palavras de grande incentivo.

Ao Prof. Dr. Cláudio Saddy Rodrigues Coy: agradeço ao companheirismo e pelo apoio e orientações técnicas.

À Profa. Dra. Maria de Lourdes Setsuko Ayrizono: agradeço pelo apoio e pela ajuda na confecção deste trabalho.

À Profa. Dra. Raquel Franco Leal: agradeço pelo apoio e pela ajuda na confecção deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Wu Feng Chung: agradeço imenso auxílio e apoio desde o início deste trabalho e por permitir o emprego do programa SABI.

À Dra. Nair Teodora Smith Chuva, colega e amiga incansável. Agradeço pelo imenso apoio e compreensão nos meus períodos ausência, pela grande amizade e por me ensinar conduta profissional e humana a todo momento.

Aos biólogos Ana Cristina de Moraes, William Adalberto Silva e Rosana Celestina Morandin; aos técnicos Miguel Luiz Cândido e Waldemir Benedito Costa. Vocês são pessoas de valor inestimável para mim. São pessoas que me acolheram com os braços e coração abertos. Com paciência e carinho foram pessoas fundamentais neste trabalho. O apoio, incentivo, dedicação e ensinamento de todos vocês, formou-se o alicerce para este estudo. Durante este longo convívio aprendi as angústias e alegrias de ser um pesquisador.

À Andrea Ferreira Semolini, membro do setor de Estatística da Câmara de Pesquisa da Faculdade de Ciências Médias da UNICAMP, pelo imenso auxílio e colaboração nos estudos estatísticos.

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

Agradecimento Especial

Aos dois grandes mestres e educadores que marcaram minha vida profissional:

Prof. Dr. Virgínio Cândido Tosta de Souza, foi exemplo para mim desde os primeiros anos de minha vida acadêmica. Aprendi a admirá-lo e inspirei-me como exemplo de ser humano e profissional. Sempre ao meu lado, ensinou-me mais que medicina, ensinou-me caráter, ética e valores humanos Hoje sigo seus ensinamentos e tento transmitir, aos meus próximos, alguns de seus inúmeros ensinamentos. Nunca me esquecerei de uma de suas frases: “seu sucesso dependerá, mais que sua capacidade técnica, será resultado da conduta ética e profissional diante das difíceis situações que aparecerão pela vida”.

Prof. Dr. João José Fagundes, mestre e educador, de qualidades incontáveis. Acolheu-me de coração e braços abertos. Durante todos estes anos, adotou-me de maneira humana e paternal. Com imensa paciência, carinho e extrema dedicação, orientou-me passo a passo, sendo um de cada vez. Sempre me apoiou e incentivou. Com visão simples da vida, sempre me motivou. Foi a sustentação principal para eu poder galgar cada etapa. Com sabedoria mostrou-me o caminho diante das adversidades. Serei eternamente grato por tudo que fez por mim de maneira incondicional.

SUMÁRIO

RESUMO.....	xxvi
ABSTRACT.....	xxviii
1- INTRODUÇÃO.....	31
1.1- Considerações Gerais.....	32
1.2- Efeitos do oxigênio na cicatrização.....	34
1.3- Efeitos do oxigênio sobre a infecção.....	37
1.4- Bases biofísicas da hiperóxia hiperbárica.....	40
1.5- Peritonite e resistência mecânica de anastomose cólica.....	43
1.6- Modelo de peritonite experimental.....	45
1.7- Aferição da resistência mecânica da cicatrização intestinal: testes biomecânicos.....	47
1.8- Dados da Literatura.....	48
2- OBJETIVO.....	53
3- MATERIAL E MÉTODO.....	55
3.1- Local de experimentação	56
3.2- Animais utilizados	56
3.3- Procedimento experimental	57
3.3.1- Divisão dos grupos	57
3.4- Etapas experimentais.....	60
3.4.1- Anestesia.....	60
3.4.2- Procedimento cirúrgico	62
3.4.2.1- Descrição do procedimento cirúrgico	62
3.4.2.2- Descrição da técnica de punção e ligadura cecal.....	65
3.4.2.3- Descrição da técnica da anastomose	67

SUMÁRIO

3.4.3- Emprego da câmara hiperbárica experimental.....	72
3.4.4- Observação dos aspectos clínicos no pós-operatório	75
3.4.5- Eutanásia e avaliação macroscópica da cavidade peritoneal	76
3.4.6- Retirada e limpeza da alça cólica	76
3.4.7- Estudo do comportamento biomecânico da alça intestinal.....	78
3.4.7.1- Teste de Resistência Biomecânico de Energia Total de Ruptura	78
3.4.8- Análise estatística	84
4- RESULTADOS.....	85
4.1- Pós-operatório imediato, evolução clínica e avaliação da cavidade abdominal.....	86
4.2- Distribuição da mortalidade entre os grupos	95
4.3- Teste de Resistência Biomecânica Energia Total de Ruptura	96
4.4- Análise Estatística.....	98
5- DISCUSSÃO.....	103
5.1- Considerações Iniciais.....	104
5.2- Animal de Experimentação.....	105
5.3- Modelo experimental de peritonite	106
5.4- Peritonite e resistência das anastomoses cólicas.....	107
5.5- Hiperoxigenação hiperbárica no modelo experimental peritonite.....	109
5.6- Considerações finais.....	111
6- CONCLUSÃO.....	113
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	115

LISTA DE ABREVIATURAS

ATA	Atmosfera absoluta
CEEA	Comissão de Ética na Experimentação Animal
CEMIB	Centro de Bioterismo
cm	Centímetro
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
dl	Decilitro
ETR	Energia Total de Ruptura
FCM	Faculdade de Ciências Médicas
FT	Força de ruptura à tração
gf	Gramas-força
Hb	Hemoglobina
HBO	Oxigenoterapia hiperbárica
H₂O₂	Peróxido de hidrogênio
IB	Instituto de Biologia
ICLAS	<i>International Council for Laboratory Animal Science.</i>
K_m	Metade da velocidade máxima
ml	Mililitro
mm	Milímetro
mmHg	Milímetros de mercúrio
NADPH	Dinucleotídeo fosfato de nicotinamida adenina
PDGF	Fator de crescimento derivado das plaquetas
pO₂	Pressão parcial de oxigênio

LISTA DE ABREVIATURAS

<i>paO₂</i>	Pressão parcial de oxigênio arterial
PLC	Punção e ligadura cecal
RNA	Ácido ribonucleico
RNA_m	Ácido ribonucleico mensageiro
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SABI	Sistema de Aquisição e Análise de Dados Biomecânicos
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
V_{max}	Velocidade máxima
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma do experimento.....	29
Figura 2 – Organograma do experimento.....	29
Figura 3 - Posicionamento do "scalp" na veia caudal conectado à seringa contendo o anestésico.....	31
Figura 4 - Mesa cirúrgica com os materiais utilizados durante os procedimentos cirúrgicos	32
Figura 5 - Posicionamento do animal na prancheta.....	33
Figura 6 - Cavidade abdominal aberta com afastador.....	34
Figura 7 - Ressecção da gordura do funículo espermático bilateralmente.....	35
Figura 8 - Ligadura do ceco	36
Figura 9 - Punção do ceco	37
Figura 10 - Animal do Grupo 1 com anastomose sendo confeccionada.....	38
Figura 11 - Animal do Grupo 2: confecção da anastomose com peritonite.....	38
Figura 12 - Fechamento da cavidade: sutura da aponeurose	39
Figura 13 - Fechamento da parede: sutura da pele e tela subcutânea	40
Figura 14 - Câmara hiperbárica. Vista lateral e frontal.....	42
Figura 15 - Válvula principal para promover a exaustão dos gases da câmara.....	43
Figura 16 - (A) Fluxômetro, (B) válvula de exaustão - ajuste de alto fluxo, (C) válvula de exaustão - ajuste fino do fluxo, (D) válvula de admissão - ajuste de fino fluxo e (E) válvula de exaustão - ajuste de alto fluxo.....	44
Figura 17 - Câmara hiperbárica. Vista lateral com a presença de duas vigias circulares e do fluxômetro na porção superior indicando duas atmosferas absolutas de pressão.....	44
Figura 18 - Gaiola especial de contenção dos animais na câmara hiperbárica.....	45
Figura 19 - Segmento de alça cólica de quatro centímetros após limpeza intraluminal.....	47

LISTA DE FIGURAS

Figura 20 - Representação esquemática do Teste Biomecânico Energia Total de Ruptura: (a) sistema de tração, (b) gancho de aço inoxidável, (c) canhão do cateter número 18 com a luz ínvia e fixada em sistema de corrente, (d) segmento de alça cólica contendo a anastomose na área central, (e) canhão do cateter número 18 com a luz aberta, (f) torneira de tripla-via fixada em sistema de corrente, (g) balança de precisão, (h) célula de carga, (i) alavanca de conexão entre a célula de carga da balança com os componentes do sistema, (j) saída serial da balança, (l) cabo de comunicação serial, (m) microcomputador PC padrão, (n) cateter de polietileno P.E. 80, (o) transdutor do polígrafo, (p) polígrafo e (q) aplicativo SABI.	51
Figura 21 - Definição da Regra do Trapézio na integração numérica.....	52
Figura 22 - Área calculada pelo aplicativo SABI 2.0: Força (gf) x Elongação (cm).....	54
Figura 23 - Aspecto da cavidade do Rato 1 do Grupo Controle. Não se observa líquido livre ou coleções na cavidade. A anastomose encontra-se íntegra e sem aderências (seta).....	58
Figura 24 - Rato 8 do Grupo Peritonite que foi a óbito nas primeiras 24 horas: presença de peritonite difusa com acentuada distensão do ceco e de alças de delgado.....	59
Figura 25 - Rato 11 do Grupo Peritonite que foi a óbito nas primeiras 24 horas: acentuada distensão de alças e detalhe da anastomose íntegra (seta).....	60
Figura 26 - Rato 6 do Grupo Peritonite: acentuada distensão do abdome.....	61
Figura 27 - Aspecto da cavidade abdominal do Rato 6 do Grupo Peritonite: presença de grande quantidade líquido livre na cavidade (setas), bloqueio de alças do delgado. Ausência de aderências sobre a anastomose. Pontos purulentos nos locais da punção cecal.....	62
Figura 28 - Box-plot do peso inicial e final de cada grupo.....	64

LISTA DE FIGURAS

- Figura 29** - Rato 4 do Grupo GCH. Óbito no primeiro dia do pós-operatório: presença de peritonite difusa e anastomose íntegra (seta)..... **64**
- Figura 30** - Aspecto da cavidade abdominal do Rato 5 do grupo GCH: presença de grande quantidade líquido livre na cavidade, distensão de alças do delgado e do ceco, coleções purulentas disseminadas (seta amarela). Anastomose íntegra (seta branca)..... **65**
- Figura 31** - Aspecto da cavidade abdominal do Rato 10 do grupo GCH: presença de grande quantidade de líquido livre na cavidade, distensão de alças de delgado. Ceco distendido e recoberto por secreção purulenta espessa. Anastomose íntegra (seta)..... **66**
- Figura 32** - Característica da mucosa em segmento de alça cólica com a sua respectiva área de anastomose nos grupos GC, GP e GCH. A seta indica o local de ruptura da linha de sutura durante o teste ETR..... **67**
- Figura 33** - Distribuição gráfica dos valores da energia total de ruptura, em Joules, pertencentes aos grupos GC, GP e GCH..... **69**
- Figura 34** - Gráfico “Box-plot” da variável Energia de Ruptura por grupo.....**71**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estatísticas descritivas da variável peso inicial e final por grupo.....	63
Tabela 2 - Resultado da mortalidade por grupos.....	67
Tabela 3 - Valores da Energia Total de Ruptura, em Joules, dos animais pertencentes aos grupos GC, GP e GCH.....	68
Tabela 4 - Tabela de dupla entrada entre Grupo x Óbito	70
Tabela 5 - Estatísticas descritivas da variável Energia Total de Ruptura por grupo.....	70
Tabela 6 - Resultados da Análise de Variância para variável ETR por grupo.....	71
Tabela 7 - Tabela do Teste de Tukey para comparação entre os grupos.....	72
Tabela 8 - Comparação entre os grupos pelo Teste de Tukey.....	72



RESUMO

A cicatrização das anastomoses intestinais depende de fatores locais e sistêmicos. A peritonite é fator importante que pode alterar a cicatrização das anastomoses no intestino. A hiperóxia hiperbárica (HBO) consiste na inalação de oxigênio a 100% em pressão superior à atmosférica. OBJETIVO: Analisar o efeito da oxigenoterapia hiperbárica sobre a resistência mecânica de anastomoses realizadas em cólon distal de ratos na presença de peritonite induzida por ligadura e punção cecal utilizando o teste biomecânico de Energia Total de Ruptura (ETR). MATERIAL e MÉTODO: Foram utilizados 45 ratos distribuídos em três grupos de 15 animais. No Grupo Controle (GC), realizou-se anastomose no cólon distal sem peritonite. No Grupo Peritonite (GP), realizou-se anastomose seis horas após a indução da peritonite por ligadura e punção cecal. No Grupo Câmara Hiperbárica (GCH), realizou-se anastomose seis horas após a indução da peritonite por ligadura e punção cecal. Os animais dos GC e GP foram mantidos em ar ambiente. Os animais do GCH foram colocados em uma câmara hiperbárica experimental para inalarem oxigênio a 100%, a duas atmosferas absolutas, durante 120 minutos, por quatro dias consecutivos. A eutanásia ocorreu no quinto dia do experimento. Todos os animais foram submetidos ao Teste de Resistência Biomecânico Energia Total de Ruptura (ETR). A Energia Total de Ruptura foi definida como a energia interna acumulada necessária para promover o rompimento do cólon após a imposição de uma força externa de tração. RESULTADOS: O Grupo Peritonite apresentou menor média de ETR que o Grupo Controle. Não houve diferença estatística entre o Grupo Peritonite e o Grupo Câmara Hiperbárica. CONCLUSÃO: A oxigenoterapia hiperbárica não alterou a resistência mecânica de anastomoses realizadas no cólon distal de ratos na presença de peritonite induzida por ligadura e punção cecal.



ABSTRACT

The cicatrization of bowel anastomosis depends on local and systemic factors. Peritonitis is an important factor that can alter the cicatrization of anastomosis in bowels. The HBO consists of inhaling oxygen at 100% under a pressure greater than the surrounding atmosphere. PURPOSE: To analyze the effect of hyperbaric oxygen therapy on the mechanical resistance of the anastomosis in the distal colon of rats in the presence of peritonitis induced by cecal ligation and puncture using the Total Energy Rupture biomechanical test (ETR). MATERIAL and METHOD: We used 45 rats divided into three groups of 15 animals. In the Control Group (CG) distal colon anastomosis was carried out without peritonitis. In the Peritonitis Group (GP), anastomosis was carried out six hours after the induction of peritonitis by cecal ligation and puncture. In the Hyperbaric Chamber Group (GCH), anastomosis was carried out six hours after induction of peritonitis by cecal ligation and puncture. The animals in the study and control groups were kept in environmental air. The GCH animals were placed in an experimental hyperbaric chamber to inhale 100% oxygen, at two absolute atmospheres for 120 minutes, for four consecutive days. Euthanasia occurred on the fifth day of the experiment. All animals were submitted to the Total Energy Rupture biomechanical test (ETR). The Total Energy Rupture was defined as the accumulated internal energy necessary to promote the rupture of the colon after the imposition of an external force of traction. RESULTS: The Peritonitis Group showed smaller average ETR than the Control Group. There was no statistical difference between the Peritonitis Group and the Hyperbaric Chamber Group. CONCLUSION: The hyperbaric oxygen therapy did not alter the mechanical resistance of the anastomosis in the distal colon of rats in the presence of peritonitis induced by cecal ligation and puncture.



1-INTRODUÇÃO

1.1 - Considerações Gerais

As anastomoses intestinais são motivo de estudo e pesquisas há mais de um século (1).

A cicatrização adequada de uma anastomose intestinal depende de fatores locais e sistêmicos (2). Dentre os fatores sistêmicos, que podem contribuir para aumento do risco de deiscência estão o sexo masculino, obesidade, desnutrição, hipoalbuminemia, tabagismo, etilismo, leucocitose, transfusão de sangue intraoperatória, doenças cardiovasculares, doença pulmonar obstrutiva crônica e cirurgia de urgência em paciente com duas ou mais doenças prévias associadas (3,4). As deiscências anastomóticas representam a principal causa de mortalidade em cirurgia colorretal (5). As fístulas do cólon esquerdo são causas de abdome agudo (6). Estas complicações acarretam elevados custos físicos, psicológicos, sociais e econômicos.

No passado, as anastomoses colorretais apresentavam elevados índices de deiscência, variando de 15% a 77% (7). Com o passar do tempo, esses números foram decrescendo, atualmente permanece em um intervalo de 10% a 20% (8-11). Estes índices são bastante variados entre os autores 1,8% (3), 2,8% (5) e 10% (12). Em relação aos índices de mortalidade ocasionada pelas deiscências situam-se entre 2% e 4% (11) e de 32% (3).

Além da técnica cirúrgica, outros fatores interferem na qualidade da anastomose, tais como os efeitos dos antibióticos (13,14), dos anti-inflamatórios hormonais e não hormonais (15-19), dos antioxidantes (20,21), dos

antineoplásicos (22), das drogas imunossupressoras (23) e de hormônios (24) sobre as fases de cicatrização das anastomoses.

Citam-se ainda outros fatores que também interferem com as anastomoses intestinais, como diabetes melito (25), trauma (26), choque (7,27-29), ação das aderências (30-34) e hipóxia local (21,24,35-45).

Além dos fatores acima, a peritonite é fator importante que pode alterar a cicatrização das anastomoses intestinais (36,46-64).

A peritonite, afecção caracterizada como a inflamação do peritônio, é decorrente de um conjunto de doenças que frequentemente ocorrem depois da contaminação intra-abdominal provocada por um agente patológico e pode ser dividida em peritonite primária e peritonite secundária. A peritonite primária resulta da disseminação hematogênica de bactéria de um local remoto da cavidade peritoneal. A peritonite secundária pode ser causada por perfuração de víscera oca, deiscência de anastomose ou contaminação depois de uma operação (65).

O estudo da cicatrização das anastomoses no tubo digestivo constitui uma das linhas de pesquisa mais antigas na Disciplina de Moléstias do Aparelho Digestivo do Departamento de Cirurgia, da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). A partir de 1971, vários trabalhos e defesas de tese exploraram o tema (66-104).

A oxigenoterapia hiperbárica também é assunto de pesquisa no mesmo Departamento de Cirurgia, pelo Grupo de Coloproctologia (43,99,102) e pelo seu Grupo de Metabologia Cirúrgica (105-107).

Embora o tratamento por meio de oxigenoterapia hiperbárica possa apresentar pouco efeito sobre a cicatrização da ferida normal não complicada, ela

parece ser efetiva nas feridas isquêmicas ou com infecção (108). Seus efeitos sobre anastomoses cólicas normais ou com isquemia têm sido estudados (42,43), porém esses mesmos efeitos em anastomoses cólicas na presença de peritonite ainda são controversos.

Tendo em vista estas considerações, torna-se justificável a realização do trabalho experimental aqui proposto: anastomoses cólicas na presença de peritonite e oxigenoterapia hiperbárica.

1.2 - Efeitos do oxigênio na cicatrização

O oxigênio é elemento essencial para o metabolismo da célula, especialmente na produção de energia. Sua presença tem fundamental importância para a cicatrização das feridas, em consequência do aumento da demanda metabólica principalmente nos processos de proliferação celular e de síntese de colágeno (109).

A síntese do colágeno na ferida é acelerada pela exposição moderada à hiperóxia. A produção de colágeno é proporcional à oferta de oxigênio. Quanto mais oxigênio é oferecido, maior será o consumo pela ferida em cicatrização. A pressão parcial de oxigênio arterial (paO_2) é mais importante na cicatrização do que a capacidade da hemoglobina de carrear oxigênio, pois existe uma relação direta entre a taxa de síntese de colágeno com a paO_2 . Aumentando-se a paO_2 de 82 para 200 mmHg, o transporte de oxigênio aumenta apenas 1%, porém, ocorre um aumento de 50% na síntese de colágeno. A taxa de síntese do colágeno está mais relacionada à paO_2 que ao oxigênio carreado pela

hemoglobina. Portanto a hemoglobina é necessária, porém não é o fator mais importante para cicatrização (35).

Em tecidos, tal como o músculo, onde a distância intercapilar é menor e o consumo de oxigênio é relativamente maior, a oferta depende mais do oxigênio proveniente da hemoglobina eritrocitária do que da paO_2 . Porém, nos tecidos como fâscias, tendões e osso, onde a distância intercapilar é maior e o consumo de oxigênio relativamente menor, sua oferta depende principalmente da paO_2 . O trauma tissular é seguido de lesão na microcirculação e contração vascular. Isto faz com que aumente a distância para a difusão do oxigênio gerando hipóxia local. Assim sendo a paO_2 passa a ser o principal mecanismo de oferta de oxigênio para este local. Portanto, tecidos de cicatrização mais lenta são mais dependentes da paO_2 do sangue e dos tecidos do que da concentração de hemoglobina sanguínea (110).

Não só os fagócitos, mas a quase totalidade das células constituintes do microambiente de uma ferida estão equipadas para converterem o oxigênio molecular em espécies reativas de oxigênio (ROS), incluindo agentes oxidantes como radicais livres e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Estas substâncias atuam como mensageiros celulares para induzir regeneração, agindo na ação das citocinas, angiogênese, motilidade celular e formação de matriz extracelular (111).

Crê-se que as espécies reativas do oxigênio não sejam inerentemente lesivas, porém, em baixas concentrações agem como mediadores em ampla variedade de respostas celulares (111-113).

A angiogênese é um fator precoce crítico na reparação de lesões teciduais. Embora a hipóxia possa contribuir para o início da neovascularização, este fenômeno não tem, individualmente, a capacidade de mantê-la. A administração suplementar de oxigênio acelera a neovascularização (114,115). O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) constitui-se em potente estímulo para o crescimento vascular em feridas (111). A administração de oxigênio estimula o surgimento de VEGF RNA_m (RNA mensageiro) em células endoteliais e macrófagos (116,117) e aumenta a expressão da proteína VEGF em feridas “*in vivo*” (111). O oxigênio induz o início da diferenciação do fibroblasto em miofibroblasto (119), célula responsável pela contração da ferida.

Em detrimento do efeito sobre a angiogênese e aceleração da neovascularização, a oxigenoterapia tem sido empregada experimentalmente em cirurgias de preservação esplênica (120-122).

O processo de cicatrização das feridas envolve numerosas fases e, na sua grande maioria, dependentes diretas da presença de oxigênio. A deposição de colágeno é passo fundamental na cicatrização, ao representar a matriz de suporte para a neovascularização e a remodelação tissular. Várias passagens da síntese de colágeno são oxigênio-dependentes (123). Da secreção do pró-colágeno, no ambiente extracelular, oito etapas são necessárias até a formação do colágeno. Dentre essas, a hidroxilação da prolina e da lisina são fundamentais (53,124). A enzima prolil-hidroxilase, que requer oxigênio molecular como co-fator, converte resíduos de prolina em hidroxiprolina, o que permite às cadeias de pró-colágeno assumirem sua configuração de tripla hélice. Após ocorrer a formação da tripla hélice e excreção do pró-colágeno, as fibras individuais de colágeno são

arranjadas em fibrilas lineares via ligação cruzada pela enzima lisil-hidroxilase, também necessitando do oxigênio molecular como co-fator. Fisiologicamente, as ligações cruzadas extracelulares são, em última análise, responsáveis pela resistência adquirida pela lesão cicatrizada (111).

Nos processos enzimáticos oxigênio-dependentes a síntese de colágeno é refletida pela taxa em que ocorre a hidroxilação da prolina (125,126). A quantidade de oxigênio molecular para atingir 50% da velocidade máxima (K_m pela equação de *Michaelis-Menten*, onde $K_m = V_{max} / 2$) da síntese de colágeno equivale a uma paO_2 de 20mmHg a 25mmHg(127), com velocidade máxima ($V_{máx}$) ocorrendo a cerca de 250mmHg. A correção da paO_2 na ferida é objetivo fundamental que por si só pode colocar em funcionamento o mecanismo da cicatrização (111). Este valor, 250mmHg, excede a disponibilidade de oxigênio normalmente presente na ferida, sugerindo que o oxigênio suplementar possa aumentar a síntese de colágeno. Portanto, o aumento da oxigenação da ferida pode resultar em aumento da deposição de colágeno e conseqüente melhora da sua resistência mecânica (128-131).

1.3 - Efeitos do oxigênio sobre a infecção

A complicação mais comum na ferida cirúrgica é a infecção. As bactérias nas feridas são normalmente destruídas por mecanismos oxidativos intracelulares dos leucócitos, e o oxigênio molecular é necessário para a produção de radicais de oxigênio, especialmente superóxidos bactericidas (108).

Hopf *et al.* (132) demonstraram uma relação direta entre a paO_2 do tecido subcutâneo e a infecção na ferida de pacientes cirúrgicos. Os níveis críticos de paO_2 para ocorrência de infecção situam-se entre 30mmHg e 40 mmHg. No entanto, se a paO_2 no tecido subcutâneo for maior ou igual a 90mmHg, não ocorreu infecção.

Além da diminuição da produção de radicais de oxigênio, a hipóxia causa ativação prematura dos leucócitos diminuindo sua ação sobre a bactéria e também diminuição da produção de interleucinas (108).

Os principais mecanismos de ação da oxigenoterapia hiperbárica sobre as infecções são:

- Aumento da atividade leucocitária: os leucócitos consomem grandes quantidades de oxigênio molecular para produção de radicais de oxigênio, tais como hidroxil, peróxidos e superóxidos, para o processo oxidativo intracelular após a fagocitose do patógeno. A produção destes radicais aumenta proporcionalmente ao oxigênio ofertado, ou seja, quanto maior a oferta de oxigênio maior será a produção de radicais de oxigênio e como consequência, maior será a atividade leucocitária (133).
- Supressão do crescimento bacteriano no tecido com hiperóxia: o crescimento bacteriano aumenta nos tecidos com hipóxia e a elevação da tensão de oxigênio nos tecidos diminui o crescimento das bactérias. Portanto, quanto maior a tensão de oxigênio no tecido maior será sua resistência à infecção (134).

- Ação de sinergismo com os antibióticos: o aumento da tensão de oxigênio nos tecidos promove aumento da eficácia dos aminoglicosídeos (135) e do sulfametoxazol e trimetoprim (136).
- Efeito sobre as bactérias anaeróbicas: a bactéria anaeróbica tem naturalmente capacidade de se defender dos radicais livres e dos radicais de oxigênio. No entanto, o aumento da produção destes agentes antimicrobianos pelos leucócitos, pelo aumento da oferta de oxigênio, tem ação bactericida sobre organismos anaeróbicos. Além disso, a hiperóxia hiperbárica (HBO) inibe a produção da alfatoxina e tem efeito de supressão do crescimento de microorganismos do gênero Clostrídio (137).

A hiperoxigenação hiperbárica interfere no metabolismo oxidativo energético e não-energético na sepse. Na oxidação energética destaca-se o potencial de uma compensação transitória da hipóxia que ocorre na sepse, por vários mecanismos. Nos processos oxidativos não-energéticos age na potencialização da ação de granulócitos, efetores vitais na defesa imunológica, e o estímulo à produção de enzimas antioxidantes, aumentando a resistência de tecidos íntegros aos radicais livres ativados (106).

A capacidade do oxigênio suplementar em reduzir os índices de infecção é mediada pelas espécies reativas de oxigênio (ROS) geradas pela NADPH oxidase (dinucleotídeo fosfato de nicotinamida adenina – forma reduzida) nos neutrófilos e

macrófagos das feridas. A concentração necessária de oxigênio para atingir a metade da velocidade máxima (K_m) da produção de ROS situa-se na faixa de 45mmHg a 80mmHg, com velocidade máxima (V_{max}) em pO_2 de 300mmHg (138).

Este valor só pode ser alcançado pela administração suplementar, semelhante ao que ocorre na síntese do colágeno. Aproximadamente 98% do oxigênio consumido por neutrófilos e macrófagos em feridas são utilizados para queima na cadeia respiratória (138). Nesses locais, as espécies reativas do oxigênio são geradas por quase todas as células presentes na ferida (111).

No cólon, a célula muscular lisa e o fibroblasto são responsáveis pela produção de colágeno. Todos os mecanismos envolvidos funcionam com pressão parcial de oxigênio a partir de 30mmHg (139-141).

1.4 - Bases biofísicas da hiperóxia hiperbárica

A HBO consiste na inalação de oxigênio a 100% e em pressão superior à atmosférica. Em Medicina Hiperbárica, geralmente os valores de pressão ambiente são referidos em atmosferas absolutas (atm abs ou ATA). Ao nível do mar, tem-se pressão de uma ATA = 760mmHg.

A atmosfera é constituída por uma mistura de gases nas seguintes proporções: 20,94% de oxigênio, 78,08% de nitrogênio, 0,04% de gás carbônico e pequenas quantidades de argônio, criptônio e hélio (142).

A lei de Dalton determina que a pressão parcial de um gás, componente de uma mistura, seja proporcional a sua fração neste sistema. Portanto, considerando ao nível do mar, a pressão ambiental de oxigênio (pO_2) é de aproximadamente

160mmHg, ou seja, 20,94% de 760mmHg, enquanto a pO_2 alveolar é cerca de 104mmHg (143). Na pressão de duas ATA, com 21% de oxigênio, a pO_2 será de 320mmHg.

No sangue, praticamente todo oxigênio é transportado pela hemoglobina dentro das hemácias. Cada grama de hemoglobina, em condições fisiológicas e ao nível do mar, transporta 1,34 mililitros (ml) de oxigênio. Um indivíduo com 15 gramas de hemoglobina por decilitro (dl) de sangue e saturação de oxigênio próxima de 100% apresenta cerca de 200 ml de oxigênio ligado à hemoglobina, por litro de sangue (20 volumes %) (106).

O plasma transporta oxigênio apenas dissolvido fisicamente, e nas mesmas condições, atinge 0,3 volumes por cento. Aproximadamente 97% do oxigênio do sangue são transportados pela hemoglobina e apenas 3%, o que equivale a 0,3ml por dl, é transportado dissolvido no plasma (106).

O conteúdo de oxigênio no sangue é determinado pela soma do oxigênio carregado pela hemoglobina (Hb) e o oxigênio dissolvido no plasma.

Fórmula do cálculo do Conteúdo de Oxigênio no sangue está apresentada abaixo:

$$\text{Conteúdo de Oxigênio} = 1.34 (\text{Hb}) (\% \text{ saturação}) + pO_2 (.003)$$

Elevando-se a pressão de oxigênio até 200mmHg, a saturação da hemoglobina será de 100%. Portanto, elevando-se a pressão de oxigênio acima de 200mmHg não aumentaremos o transporte de oxigênio mediado pela hemoglobina (144). Porém, o aumento da pressão parcial de oxigênio eleva seu grau de dissolução no plasma de forma linear. A elevação de 1mmHg na pressão parcial de oxigênio alveolar acarretará aumento de aproximadamente 0,0031 volumes % de oxigênio dissolvido no plasma (141). Administrando-se 100% de oxigênio à pressão ambiente (hiperóxia normobárica), esta concentração multiplica-se por cinco, ou seja, 1,5ml/dl (145); à pressão de duas atmosferas, será 4,44ml/dl (146) e a três atmosferas este valor será de 6,8ml/dl (147).

Esse aumento é significativo e os tecidos em repouso extraem em média cinco a seis volumes por cento de oxigênio (148). Aplicando-se hiperoxigenação hiperbárica de duas ATA, o capilar arterial passa a apresentar paO_2 de 1150mmHg enquanto o capilar venoso chega a 100mmHg (106,144). Sendo assim, a tensão de oxigênio pode exceder 2000mmHg nas artérias e pode alcançar 400mmHg nos tecidos (146). Na hiperoxigenação hiperbárica de 2,5 ATA, a paO_2 é de 2000mmHg o que gera 5,4 volume por cento (vol%) de oxigênio dissolvido no plasma, capaz de manter as funções metabólicas basais na completa ausência de hemoglobina. O plasma hiperoxigenado pode transportar oxigênio para áreas que são inacessíveis para célula vermelha, ofertando oxigênio para tecidos relativamente hipóxicos na proporção da tensão de oxigênio do plasma (137). O acréscimo de oxigênio dissolvido no plasma, proporcionado pela hiperoxigenação hiperbárica, é mais do que suficiente para suprir as necessidades fisiológicas dos tecidos (141).

As exposições breves e intermitentes à hiperóxia hiperbárica não afetam as funções não-oxidativas dos neutrófilos (149), porém exposições prolongadas, mesmo em hiperóxia normobárica, podem levar à disfunções importantes dos neutrófilos e macrófagos (150).

A oxigenação hiperbárica na pressão de três ATA multiplica a distância de difusão do oxigênio no tecido por um fator de três a quatro no capilar arterial e por um fator de dois no capilar venoso (151).

1.5 - Peritonite e resistência mecânica de anastomose cólica

A possível interferência da peritonite sobre a cicatrização das anastomoses intestinais é assunto amplamente estudado, porém, ainda controverso.

A infecção do peritônio tem efeito adverso sobre a cicatrização de anastomoses cólicas. Esta infecção provoca significativas mudanças no metabolismo do colágeno durante a fase inicial da cicatrização. O aumento da lise do colágeno neoformado associado à redução de sua formação intracelular provoca defeitos na cicatrização da anastomose cólica infectada (46).

A infecção bacteriana pode diminuir a oferta de oxigênio tecidual que é essencial para a formação intracelular do colágeno pelo fibroblasto (130).

Mantovani *et al.* (152) estudaram o efeito da oxigenoterapia hiperbárica sobre a taxa de mortalidade em modelo de peritonite fecal. Foram estudados 46 ratos com perfuração circular de três milímetros (mm) de diâmetro no ceco. O grupo controle de 22 animais respirou ar ambiente e os outros 24 animais foram colocados em câmara hiperbárica a 2,5 ATA por 60 a 90 minutos, durante quatro

dias consecutivos. Os autores concluíram que a oxigenoterapia hiperbárica diminuiu a mortalidade em modelo de peritonite fecal experimental nas primeiras 48 horas após a perfuração, de 81,8% no grupo controle para 37,5% no grupo tratado.

Naresse *et al.* (49) observaram que a infecção peritoneal exerceu efeito deletério na evolução das anastomoses cólicas, prolongando a fase latente do processo cicatricial, favorecendo a deiscência das anastomoses.

Minossi *et al.* (50) demonstraram que a peritonite fecal diminuiu a resistência mecânica da alça cólica íntegra a partir de três horas e persistiu até 24 horas após a injeção intraperitoneal de suspensão de fezes humanas.

Embora a peritonite fecal difusa possa provocar alterações na cicatrização das anastomoses, a peritonite focal induzida por perfuração não modificou o processo de cicatrização das anastomoses no cólon distal de ratos (52).

A peritonite diminui a concentração e maturação do colágeno em anastomoses colocólicas, porém esta alteração não interferiu na capacidade da anastomose suportar pressão (55).

de Hingh *et al.* (58) observaram que a peritonite tem efeito limitado e transitório sobre a resistência mecânica das anastomoses cólicas. Os testes mecânicos mostraram diminuição da resistência da anastomose no terceiro dia e retornaram próximo aos valores do grupo controle no quinto dia de pós-operatório. Eles não observaram deiscência de anastomose.

1.6 - Modelo de peritonite experimental

O modelo de punção e ligadura cecal (PLC) foi descrito originalmente por Wichterman *et al.* (153) em 1980. Os autores descreveram e padronizaram o modelo que se difundiu amplamente e é dos mais usados na atualidade. Neste modelo, o ceco é ligado parcialmente e puncionado com agulha o que permite o extravasamento do conteúdo para cavidade peritoneal, com consequente peritonite fecal. O modelo resulta em choque séptico e morte que ocorre em 24 horas a 48 horas após a punção. Associam-se sepse polimicrobiana, bacteremia, sendo uma fase inicial hiperdinâmica seguido de uma fase tardia, hipodinâmica.

Uma vantagem deste modelo é que o índice de mortalidade pode ser modulado pelo tamanho do diâmetro da agulha usada para provocar o orifício no ceco. Quanto maior essa medida, maior a mortalidade, assim como também o número de punções realizadas. Outra grande vantagem do modelo é que os animais desenvolvem uma fase inicial de resposta cardiovascular hiperdinâmica, semelhante ao observado em humanos, onde o débito cardíaco está aumentado e a resistência vascular sistêmica diminuída. Os animais desenvolvem bacteremia e sinais de sepse sistêmica bem como resposta inflamatória. Com a passar do tempo, evoluem para uma segunda fase, onde pioram progressivamente podendo culminar com colapso cardiovascular (choque séptico) e morte (154).

Schoeffel *et al.* (155) detectaram a presença de bactérias no exsudato peritoneal três horas após a punção e ligadura cecal.

Brooks *et al.* (156) estudaram os efeitos da punção e ligadura cecal em ratos. A PLC resultou em hemoculturas de bactéria entéricas positivas em todos os animais, diminuição da atividade motora, presença de febre a partir de quatro a cinco horas e hipotermia, após 17 horas. Observaram também perda de peso, leucopenia e hipoglicemia além de mudanças histopatológicas no cérebro, fígado, pulmões e sistema vascular. O modelo de PLC não somente resulta em sepse, mas causa danos teciduais compatíveis com desenvolvimento da síndrome de falência múltipla de órgãos em humanos. Os autores concluíram que o modelo de sepse por punção e ligadura cecal é o melhor modelo animal para o estudo da sepse.

Pancoto *et.al.* (157) constaram que a PLC promove disfunção progressiva do sistema nervoso autonômico do coração e de vasos sanguíneos nas primeiras horas de indução da peritonite no rato.

Scheiermann *et al.* (158) apresentaram um modelo de incisão e ligadura cecal. Realizaram uma incisão de 1,5 centímetro (cm) no ceco, observando mortalidade de 50% dos ratos. Os autores concluíram que o modelo provocou peritonite bacteriana intensa com consequente disfunção de órgãos sistêmicos, podendo ser usado como modelo de sepse experimental grave.

Neste estudo, as anastomoses foram realizadas seis horas após a punção e ligadura cecal com o objetivo de estudar as anastomoses confeccionadas na fase inicial da sepse no rato.

1.7 - Aferição da resistência mecânica da cicatrização intestinal: testes biomecânicos

Diversos modelos são usados para aferir a resistência mecânica das anastomoses intestinais.

Os testes biomecânicos mais utilizados são representados por ensaios uniaxiais (33,49,159) e biaxiais (43) para a verificação da resistência mecânica da linha anastomótica ou da parede íntegra de segmento intestinal (99). Estes testes biomecânicos analisam o momento da ruptura da anastomose, porém não representam integralmente o comportamento do tecido biológico na sua totalidade. Em virtude disso, o comportamento físico-mecânico da alça intestinal contendo a anastomose é analisado parcialmente e atributos essenciais pertencentes aos materiais viscoelásticos, tais como deformação, tempo de ruptura e módulo de elasticidade não são frequentemente avaliados nestes ensaios (100,160).

Baseados nestes conceitos, estudos com testes biomecânicos buscaram modelos com capacidade para aferir a resistência intrínseca de ruptura da alça ou da anastomose, assim denominada Energia Intrínseca de Deformação. A Energia Intrínseca é então representada pela resultante das forças aplicadas por unidade de tempo ou alongação. Nestes modelos a energia é calculada dentro do intervalo elástico da função Força x Deformação ou Tensão x Deformação (96,160).

Wu *et al.* (100) descreveram o teste biomecânico Energia Total de Ruptura (ETR). Este teste biomecânico representa, provavelmente, de modo mais adequado o comportamento real e integral da resistência mecânica do segmento de cólon sob teste, já que a análise da função Força x Alongação foi realizada até

o momento exato de ruptura. A Energia Interna de Deformação é obtida por meio da área delimitada pela curva da função Função x Deformação.

O comportamento biomecânico da alça intestinal está diretamente relacionado ao fator tempo em virtude desse material biológico possuir propriedade viscoelástica não-linear. Portanto, se a velocidade de tração para um mesmo espécime for modificada, energias resultantes obtidas serão diferentes. Em razão disso, os espécimes são submetidos aos ensaios ETR com velocidade de tração axial constante. O trabalho realizado para promover o rompimento do segmento de cólon descendente de rato, por meio da aplicação de uma força axial externa, é equivalente à Energia Total de Ruptura acumulada nesse espécime durante o ensaio mecânico (92,100).

Considerando todas estas informações, neste trabalho foi utilizado o teste Biomecânico Energia Total de Ruptura (ETR) para aferir a resistência mecânica das anastomoses na presença de peritonite induzida.

1.8. Dados da Literatura

As alterações provocadas pela peritonite sobre a cicatrização das anastomoses intestinais ainda é assunto discutido e controverso. Ainda mais polêmico é o efeito da oxigenoterapia hiperbárica sobre os fatores capazes de alterar a evolução normal de uma anastomose.

Shandall *et al.* (20) evidenciaram que a tensão de oxigênio perianastomótica encontrada no intestino delgado e no cólon de coelhos estava diretamente relacionada com a pressão de explosão, força de ruptura à tração e conteúdo de hidroxiprolina nessa área. Além disso, as taxas de deiscência da linha de sutura foram de 10% quando eram realizadas com tensões tissulares perianastomóticas superiores a 55mmHg e foram de 100% quando realizadas em tensões inferiores a 25mmHg.

Naresse *et al.* (49) estudaram o efeito da peritonite fecal na cicatrização de anastomoses no cólon distal de ratos. Foram estudados 240 ratos e a peritonite foi induzida pela inoculação de injeção intraperitoneal de suspensão de fezes humanas frescas. Os autores concluíram que a infecção peritoneal foi prejudicial à cicatrização o que poderia favorecer a deiscência das anastomoses.

Ahrendt *et al.* (161) demonstraram que a sepse intra-abdominal, provocada por punção e ligadura cecal, diminuiu a pressão de explosão e a concentração de colágeno em anastomoses no cólon distal de ratos.

Ahrendt *et al.* (51) estudaram o efeito da sepse intra-abdominal sobre a síntese de colágeno em anastomoses cólicas de ratos. Eles evidenciaram que a peritonite diminuiu a síntese de colágeno novo e a síntese proteica não-colagenosa. Além disso, a sepse intra-abdominal alterou a regulação da expressão do gene do colágeno tipo I e tipo III. Estes dois fatores contribuíram para diminuir a força mecânica das anastomoses cólicas.

Hamzaoglu *et al.* (42) estudaram o efeito da oxigenioterapia hiperbárica na fase inicial da cicatrização das anastomoses no cólon esquerdo de ratos, com e sem isquemia provocada. Utilizando o teste de Pressão de Ruptura à Distensão

por Líquido e a dosagem de hidroxiprolina, concluíram que a isquemia piorou a cicatrização da anastomose e que a oxigenoterapia hiperbárica melhorou a cicatrização, com e sem isquemia induzida.

de Hingh *et al.* (58) estudaram a anastomose realizada no cólon distal na presença de peritonite provocada por punção e ligadura cecal. Foram operados 96 ratos machos, sendo 47 o grupo controle e 49 o grupo peritonite. A anastomose foi realizada 24 horas depois da indução da peritonite. Antibióticos e fluidos de ressuscitação foram empregados. Nove ratos do grupo peritonite morreram de septicemia nas primeiras 48 horas de pós-operatório. Não ocorreu deiscência das anastomoses no exame pós-morte. A eutanásia, dos demais animais, foi realizada nos dias zero, um, dois, três e cinco do pós-operatório. As anastomoses foram aferidas por testes mecânicos (teste de pressão de explosão e teste de força de ruptura à tração) além da análise bioquímica (dosagem dos níveis de hidroxiprolina e da atividade da matriz de metaloproteinase). Os testes mecânicos mostraram diminuição da resistência da anastomose no grupo peritonite por volta de terceiro dia e que retornaram próximo aos valores do grupo controle no quinto dia de pós-operatório. Não houve diferença dos níveis de hidroxiprolina entre os grupos. Os autores concluíram que o efeito da peritonite bacteriana sobre a cicatrização da anastomose tem efeito limitado e transitório.

Yagci *et al.* (45) avaliaram os parâmetros mecânicos e biomecânicos do uso de oxigênio hiperbárico pré e pós-operatório em anastomoses cólicas normais e isquêmicas de 80 ratos machos. As anastomoses foram realizadas no cólon esquerdo, sendo os grupos divididos com e sem isquemia induzida e com HBO apenas pré-operatória, HBO apenas pós-operatória e em ambos. A HBO foi

administrada com pressão de 2,8 ATA por duas sessões com duração de 90 minutos por dois dias no pré-operatório e quatro dias no pós-operatório. A eutanásia foi realizada no quinto dia de pós-operatório. Os autores concluíram que a HBO combinada, pré e pós-operatória, aumentou os parâmetros mecânicos e biomecânicos nas anastomoses isquêmicas; também aumentou os níveis de hidroxiprolina e, no entanto, não aumentou os valores da pressão de explosão nas anastomoses normais.

Teke *et al.* (60) observaram que o uso do ditiocarbamato de pirrolidina melhorou os efeitos deletérios da peritonite, induzida por punção e ligadura cecal, sobre as cicatrização das anastomoses cólicas em ratos.

Teke *et al.* (61) constaram que a peritonite provocada por punção e ligadura cecal diminuiu a pressão de explosão e os níveis de hidroxiprolina nas anastomoses do cólon esquerdo de ratos, porém estes valores são revertidos com uso da “proteína C ativada” que é uma protease sérica com ação anticoagulante e anti-inflamatória.

Brocco *et al.* (62) estudaram o efeito da lavagem peritoneal com solução de bupivacaína em ratos com peritonite fecal induzida pela injeção, na cavidade abdominal, de suspensão de fezes autólogas diluídas, recém defecadas. Após seis horas, os animais eram reoperados, a cavidade era tratada com limpeza com compressa, lavagem com soro fisiológico ou solução de bupivacaína diluída em solução fisiológica. Os autores concluíram que a lavagem peritoneal com solução de bupivacaína foi eficaz para evitar o óbito, por 11 dias, em 100% dos animais com peritonite fecal.

Sucullu *et al.* (63) estudaram o efeito da oxigenoterapia hiperbárica na anastomose cólica na presença de peritonite induzida experimentalmente por punção e ligadura cecal. A anastomose foi realizada 24 horas depois da indução da peritonite. Antibióticos e fluidos de ressuscitação foram empregados. Foram operados 32 ratos de ambos os sexos que foram divididos em dois grupos, sendo reoperados no terceiro e sétimo dias, respectivamente. Estes dois grupos foram divididos em dois subgrupos de oito animais cada, com e sem uso da hiperóxia hiperbárica. As sessões de câmara hiperbárica foram empregadas na pressão de 2,5 ATA por 90 minutos, diariamente. A cicatrização das anastomoses foi aferida por três parâmetros: pressão de explosão, avaliação histológica (índice fibrótico) e dosagem dos níveis de hidroxiprolina. Os autores concluíram que a oxigenoterapia hiperbárica aumentou os níveis da pressão de explosão em ambos os grupos, porém não alterou o índice fibrótico e os níveis da hidroxiprolina.



2-OBJETIVO

2 - Objetivo

Analisar e avaliar os efeitos da oxigenoterapia hiperbárica sobre a resistência mecânica das anastomoses no cólon distal de ratos na presença de peritonite provocada por punção e ligadura cecal, utilizando-se o teste biomecânico de Energia Total de Ruptura.



3-MATERIAL E MÉTODO

3.1 - Local de experimentação

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

Os animais operados foram alojados no biotério do próprio Núcleo de Cirurgia em gaiolas específicas com cinco ratos em cada uma delas. O ciclo claro/escuro foi caracterizado pela ação de luz artificial por um período de 12 horas ao dia, sendo a temperatura e umidade as mesmas do ambiente geral.

A água e a ração (NUVILAB-CR1[®] - NUVITAL NUTRIENTES Ltda) foram oferecidas livremente aos animais durante todo o experimento. Não houve jejum prévio ao ato operatório.

3.2 - Animais utilizados

Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal do Instituto de Biologia CEEA-IB-UNICAMP, segundo os princípios éticos adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA (Protocolo número 923-1).

Foram utilizados 45 ratos machos (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*), da linhagem Wistar, com peso variando de 350 gramas a 400 gramas e idade entre 100 dias e 110 dias.

Os animais eram provenientes do Centro de Bioterismo – CEMIB/ UNICAMP e criados sob condições ambientais e alimentares semelhantes.

3.3 - Procedimento experimental

3.3.1 - Divisão dos grupos

Os 45 animais foram separados aleatoriamente em três grupos (Figura 1):

- **Grupo Controle (GC):** Grupo composto por 15 animais submetidos à laparotomia, inventário da cavidade e manipulação das alças intestinais e do ceco, ressecção do omento maior e da gordura do funículo espermático seguido de laparorrafia. Não se realizou punção e ligadura cecal. Após seis horas, os animais foram novamente anestesiados e submetidos à laparotomia seguida de secção e anastomose no cólon descendente. Os animais foram mantidos em ar ambiente durante os cinco dias de experimento. Sessões de câmara hiperbárica não foram empregadas. Os ratos tinham livre acesso à ração e à água. Os animais não receberam antibióticos ou hidratação parenteral durante o experimento. A eutanásia foi realizada no quarto dia de pós-operatório (Figura 2).
- **Grupo Peritonite (GP):** Grupo composto por 15 animais submetidos à laparotomia, inventário da cavidade e manipulação das alças intestinais, ressecção do omento maior e da gordura do funículo espermático; a seguir provocou-se peritonite pelo método de punção e ligadura cecal seguido de laparorrafia. Após seis horas, os animais foram novamente anestesiados e submetidos à laparotomia, seguida de secção e anastomose no cólon descendente. Os animais foram mantidos em ar ambiente durante os cinco dias de experimento. Sessões de câmara hiperbárica não foram empregadas. Os ratos tinham livre acesso à ração e à água. Os animais

não receberam antibióticos ou hidratação parenteral durante o experimento. A eutanásia foi realizada no quarto dia de pós-operatório (Figura 2).

- **Grupo Câmara Hiperbárica (GCH):** Grupo composto por 15 animais submetidos à laparotomia, inventário da cavidade e manipulação das alças intestinais, ressecção do omento maior e da gordura do funículo espermático; a seguir provocou-se peritonite pelo método de punção e ligadura cecal seguido de laparorráfia. Após seis horas, os animais foram novamente anestesiados e submetidos à laparotomia seguida de secção e anastomose no cólon descendente. Logo após o ato operatório, os ratos deste grupo eram colocados em uma câmara hiperbárica experimental para inalarem oxigênio a 100%, a duas atmosferas absolutas de pressão, durante 120 minutos. Cada sessão era repetida diariamente, no mesmo horário, por quatro dias consecutivos. Nos intervalos entre as sessões, os animais respiravam ar ambiente e tinham livre acesso à ração e à água. Os animais não receberam antibióticos ou hidratação parenteral durante o experimento. No quinto dia do experimento, ou seja, quarto dia de pós-operatório, os animais eram submetidos à eutanásia (Figura 2).

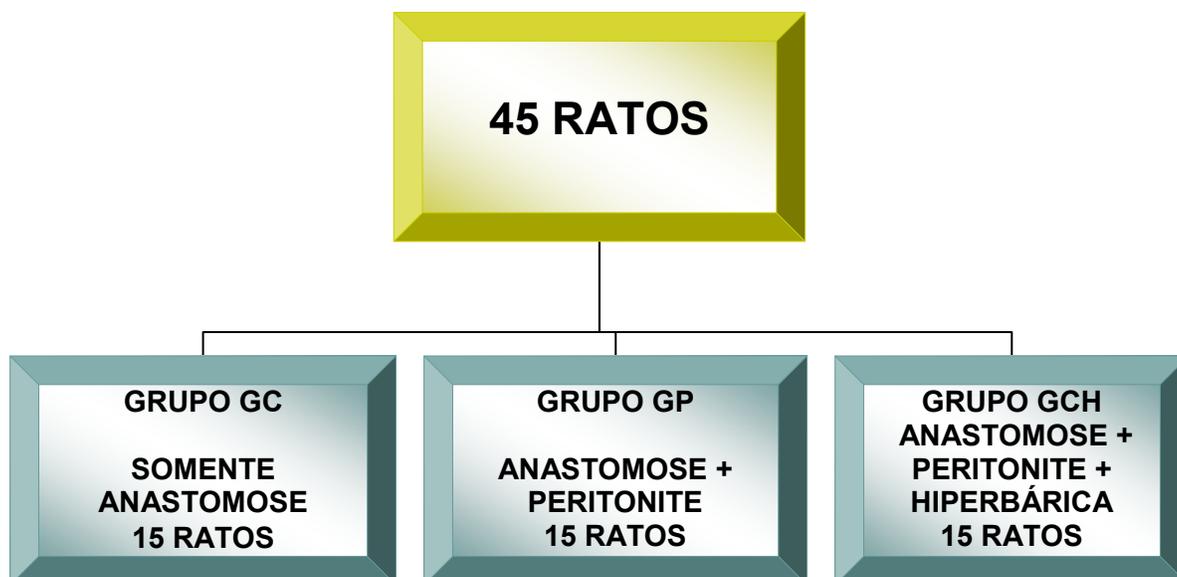


Figura 1 - Fluxograma do experimento.

		1º DIA PÓS-OPERATÓRIO	2º DIA PÓS-OPERATÓRIO	3º DIA PÓS-OPERATÓRIO	4º DIA PÓS-OPERATÓRIO
	1º DIA EXPERIMENTO	2º DIA EXPERIMENTO	3º DIA EXPERIMENTO	4º DIA EXPERIMENTO	5º DIA EXPERIMENTO
GRUPO CONTROLE (Anastomose)	Operação (Anastomose) + Ar ambiente	Ar Ambiente	Ar Ambiente	Ar Ambiente	Eutanásia
GRUPO PERITONITE (Anastomose + Peritonite)	Operação (Anastomose + Peritonite) + Ar ambiente	Ar Ambiente	Ar Ambiente	Ar Ambiente	Eutanásia
GRUPO CÂMARA HIPERBÁRICA (Anastomose + Peritonite + Câmara Hiperbárica)	Operação (Anastomose + Peritonite) + Câmara Hiperbárica	Câmara Hiperbárica 2 ATA 2 horas	Câmara Hiperbárica 2 ATA 2 horas	Câmara Hiperbárica 2 ATA 2 horas	Eutanásia

Figura 2 - Organograma do experimento

3.4 - Etapas experimentais

As etapas experimentais foram delineadas de acordo com a sequência a seguir:

- Anestesia;
- Procedimento cirúrgico;
- Câmara hiperbárica experimental;
- Observação dos aspectos clínicos no pós-operatório;
- Eutanásia e avaliação macroscópica da cavidade peritoneal;
- Retirada e limpeza da alça cólica;
- Estudo biomecânico de Energia Total de Ruptura (ETR);
- Análise estatística.

Especificação das etapas:

3.4.1. Anestesia

A anestesia foi realizada pela via venosa por meio de punção da veia da cauda do rato com "scalp" número 23. A droga utilizada foi o pentobarbital sódico a três por cento (*Hypnol-Fontoveter*[®]).

O anestésico foi diluído em solução fisiológica resultando uma concentração de 25 miligramas por mililitro. A dose empregada era de 30

miligramas por quilo, aplicada por uma seringa de plástico de cinco mililitros da marca *Nipro*[®].

O plano anestésico foi determinado de acordo com o reflexo respiratório e com a tonicidade muscular apresentada pelo animal na anestesia e durante o procedimento cirúrgico. O plano ideal era atingido quando o rato mantinha respiração regular e apresentava flacidez muscular.

Para eventual manutenção desse plano e na necessidade de administrar doses suplementares de anestésico no período intraoperatório, manteve-se o "scalp" fixado à veia da cauda, acoplado à seringa com o pentobarbital (Figura 3).

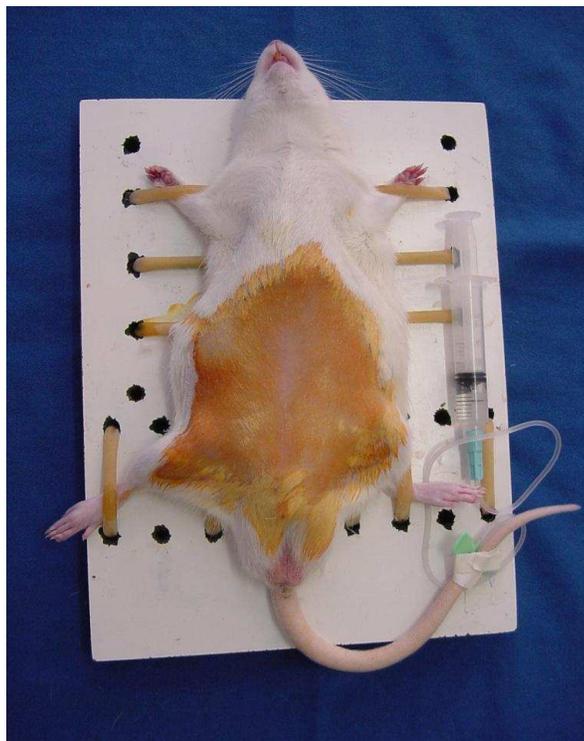


Figura 3 - Posicionamento do "scalp" na veia caudal conectada à seringa contendo o anestésico.

3.4.2. Procedimento cirúrgico

Todos os animais foram operados pelo autor, sendo utilizada a mesma técnica e instrumental cirúrgico (Figura 4).



Figura 4 - Mesa cirúrgica com os materiais utilizados durante os procedimentos cirúrgicos

O dia cirúrgico para cada grupo foi determinado por meio de sorteio. No quinto dia de experimento, os animais eram submetidos à eutanásia e ao teste biomecânico de Energia Total de Ruptura (ETR).

3.4.2.1. Descrição do procedimento cirúrgico

Os procedimentos cirúrgicos foram executados de acordo com as etapas seguintes:

- Ausência de jejum prévio;
- Pesagem do animal;

- Procedimento anestésico;
- Tricotomia da parede abdominal anterior e antissepsia da área cirúrgica com solução tópica de polivinilpirrolidona-iodo a 10%;
- Colocação do animal em prancheta cirúrgica apropriada em posição de decúbito dorsal e fixação dos membros (Figura 5);

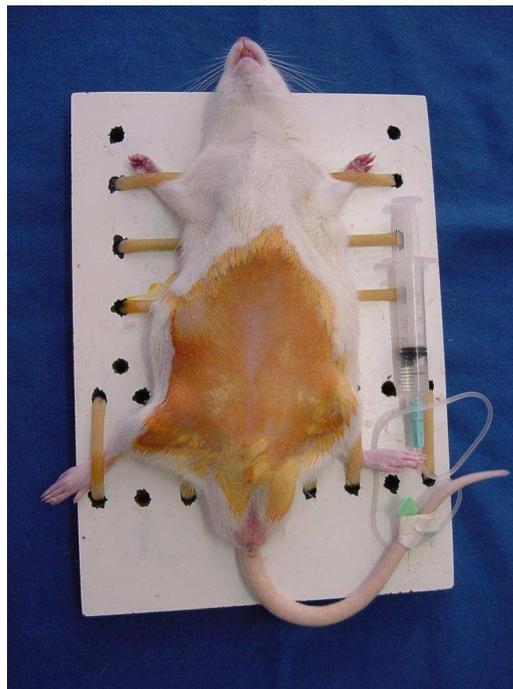


Figura 5 - Posicionamento do animal na prancheta

- Colocação de campo fenestrado;
- Incisão mediana de quatro centímetros e abertura por planos até a cavidade peritoneal e colocação do afastador abdominal com finalidade de expor amplamente as vísceras abdominais (Figura 6);

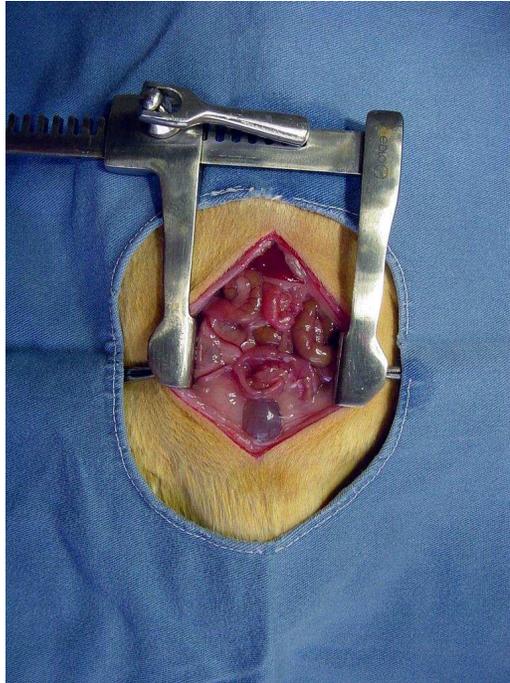


Figura 6 – Cavity abdominal aberta com afastador.

- Inventário da cavidade abdominal e identificação do ceco e cólon descendente;
- Ressecção e ligadura com fio de seda 3.0 do omento maior próximo a grande curvatura gástrica,
- Ressecção e ligadura com fio de seda 3.0 da gordura do funículo espermático bilateralmente, (Figura 7).

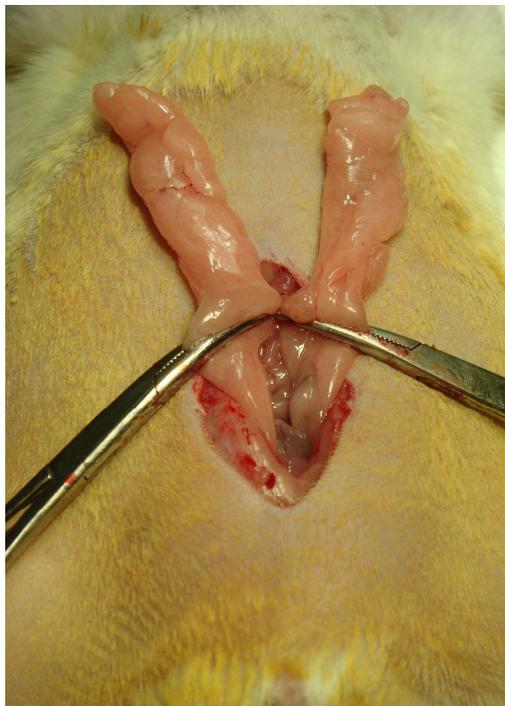


Figura 7: Ressecção da gordura do funículo espermático bilateralmente

Após este procedimento, os animais do grupo controle eram submetidos ao fechamento da parede abdominal enquanto os animais dos grupos GP e GCH eram submetidos à ligadura e punção cecal antes de realizar o fechamento.

3.4.2.2. Descrição da técnica de punção e ligadura cecal

Identificação e mobilização do ceco e manobra de malaxar o conteúdo intraluminal do cólon ascendente no sentido proximal para preencher o ceco com fezes. A seguir, procedeu-se à ligadura parcial do ceco como fio monofilamentar de polipropileno 4.0 (Prolene®) com agulha cilíndrica, imediatamente abaixo da válvula ileocecal, não englobando os vasos cecais, com a finalidade de aumentar a pressão intraluminal e sem promover a isquemia do órgão (Figura 8). A seguir,

realizaram-se dez punções na face antimesentérica do ceco com agulha de calibre 40mm por 1,2 mm ou G=18,5, equidistantes cinco milímetros entre cada punção, no total de cinco centímetros de extensão. Pelos orifícios feitos, ocorria extravasamento de conteúdo fecal do ceco (Figura 9).

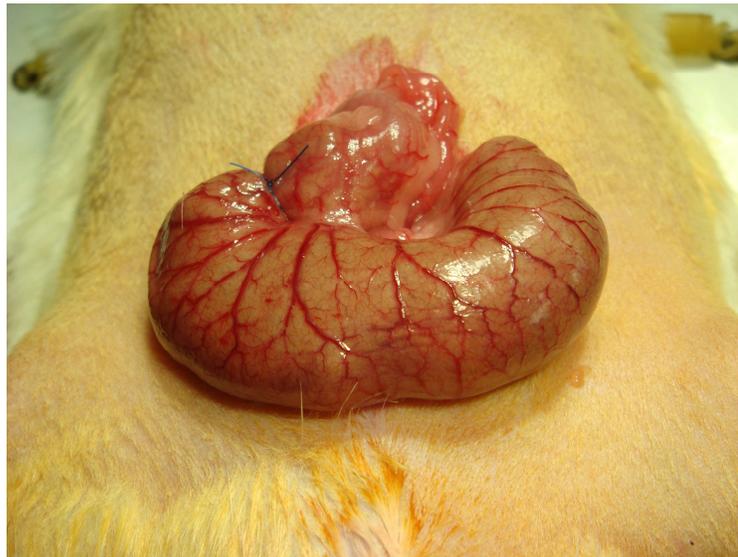


Figura 8 – Ligadura do ceco.

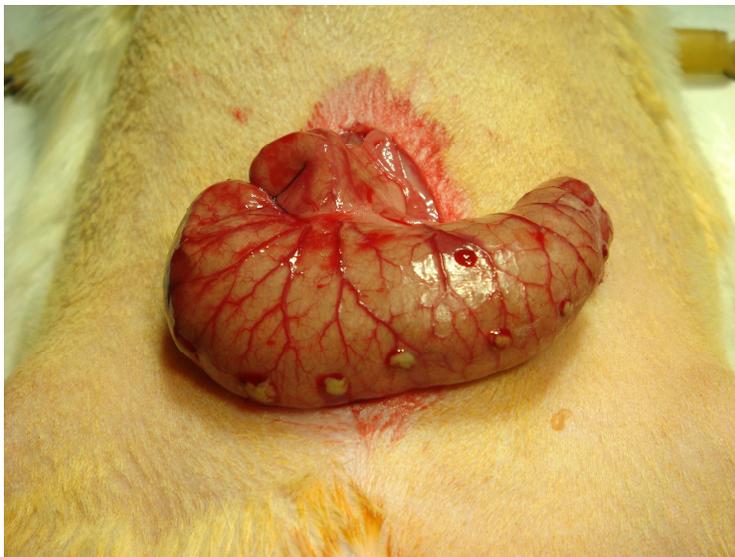


Figura 9 – Punção do ceco.

Posteriormente, o ceco era cuidadosamente posicionado dentro da cavidade abdominal e a parede abdominal fechada em dois planos.

Após seis horas do fechamento da parede abdominal, os animais foram novamente anestesiados e reoperados para confecção da anastomose. A ligadura e punção cecal não foi tratada, de modo que, a peritonite provocada manteve-se durante todos os dias do experimento até a eutanásia.

3.4.2.3. Descrição da técnica da anastomose

A cavidade abdominal foi aberta após a secção dos fios de fechamento; identificação e secção transversal do cólon descendente dois centímetros acima da reflexão peritoneal com microtesoura. Iniciou-se anastomose com um ponto de reparo na face antimesentérica e outro ponto na borda mesentérica do cólon para facilitar a realização da anastomose. A seguir, confeccionou-se a anastomose

término-terminal com 16 pontos separados, seromusculares extramucosos, com fio monofilamentar de polipropileno 7.0 (Prolene®) munido de agulha cilíndrica (Figuras 10 e 11).

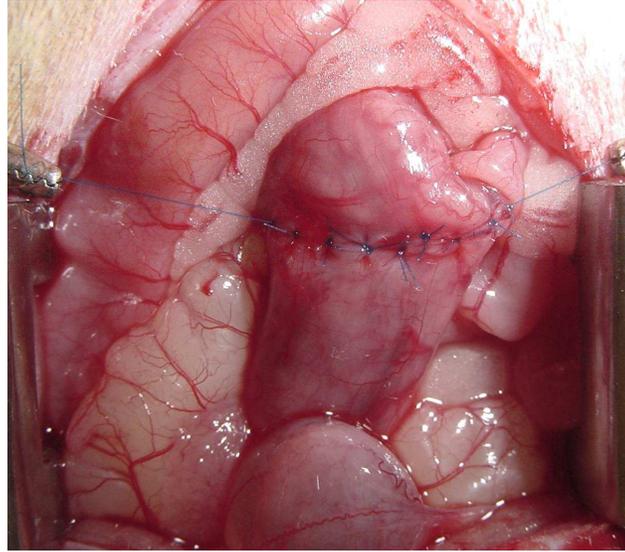


Figura 10 – Animal do grupo 1 com anastomose sendo confeccionada.

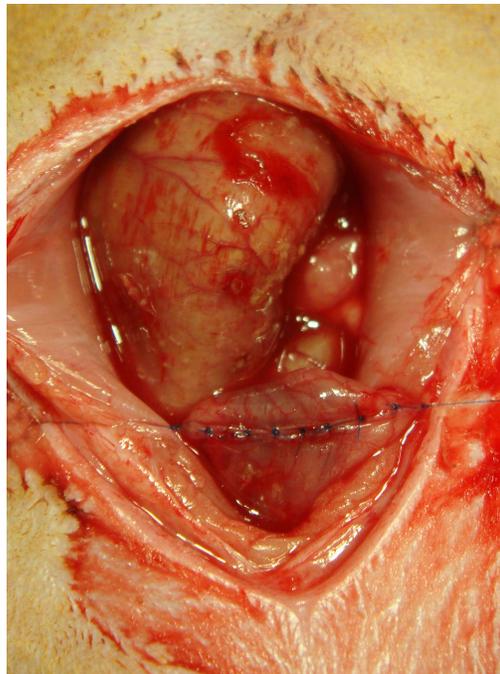


Figura 11 – Animal do grupo 2: confecção da anastomose com peritonite.

- Após a realização da anastomose as alças intestinais foram cuidadosamente posicionadas na cavidade abdominal
- Síntese da parede abdominal em dois planos:
 - O primeiro plano englobou peritônio, camada muscular e aponeurose com sutura contínua com fio inabsorvível monofilamentar de polipropileno 4.0 (Prolene®) com agulha cilíndrica (Figura 12).



Figura 12 - Fechamento da cavidade: sutura da aponeurose

- o segundo plano de sutura contínua envolveu pele e subcutâneo com fio monofilamentar de polipropileno 4.0 (Prolene®) munido de agulha cilíndrica (Figura 13).



Figura 13 – Fechamento da parede: sutura da pele e tela subcutânea.

Com o final dos procedimentos cirúrgicos, o instrumental utilizado era lavado e mergulhado em solução de álcool etílico a 70% por 30 minutos e posteriormente seco em compressa limpa. Após o término de cada ato operatório, o processo anterior de limpeza dos materiais era repetido.

Os animais não receberam antibióticos ou hidratação parenteral durante todos os cinco dias do experimento.

Logo após o término das operações, os animais foram distribuídos aleatoriamente sendo que os ratos dos grupos GC e GP permaneciam em gaiolas com cinco animais e respiravam ar ambiente até a eutanásia no quinto dia do experimento. Os animais do grupo GCH foram submetidos às sessões diárias de câmara hiperbárica.

Os 15 ratos do grupo GCH foram levados à câmara hiperbárica, após a recuperação da anestesia, de acordo com as etapas seguintes:

- Lavagem da área interior do vaso de pressão da câmara hiperbárica com água;
- Posicionamento dos animais na câmara;
- Fechamento da escotilha;
- Ventilação do interior do vaso de pressão da câmara hiperbárica experimental durante cinco minutos pelo oxigênio a 100% com fluxo constante de dez litros por minuto, mantendo a válvula de exaustão aberta;
- Fechamento da válvula de exaustão;
- Início da pressurização da câmara com duração de 15 minutos até alcançar a pressão de duas atmosferas absolutas;
- Manutenção da ventilação por um período de 120 minutos em fluxo constante de dez litros por minuto com oxigênio a 100%, a duas atmosferas absolutas;
- Despressurização da câmara experimental com duração de 15 minutos;
- Recolocação dos animais na gaiola de contenção com a liberação imediata de água e ração.

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

As sessões de câmara hiperbárica iniciaram-se no primeiro dia de experimento, logo após a recuperação anestésica, sempre no mesmo horário, por quatro dias consecutivos. A eutanásia foi realizada no quarto dia de pós-operatório, ou seja, no quinto dia de experimento.

3.4.3. Emprego da câmara hiperbárica experimental

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

Apresenta-se por meio de um vaso de pressão com volume de 110 litros e possui uma escotilha removível em uma das extremidades, cuja função é realizar a abertura e o fechamento da câmara (Figura 14).

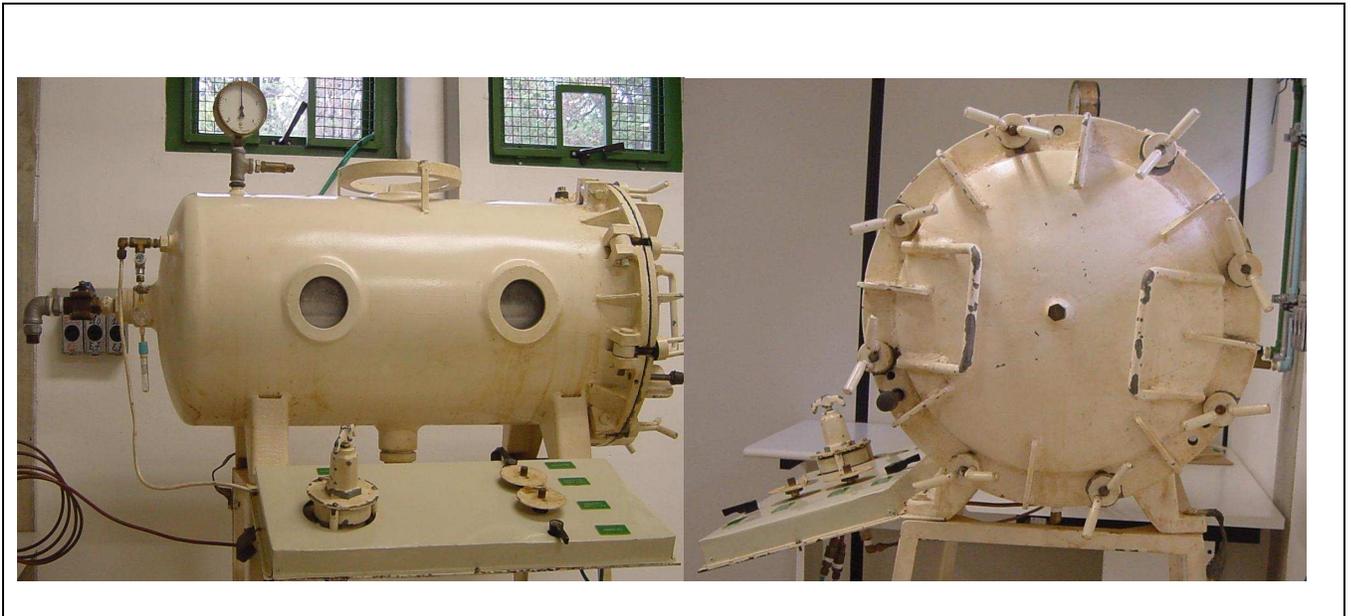


Figura 14 - Câmara hiperbárica. Vista lateral e frontal.

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

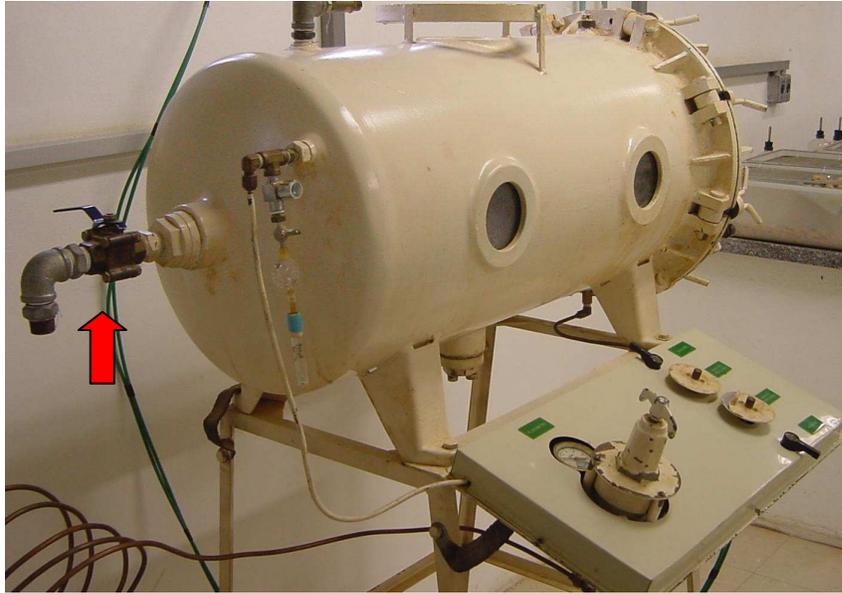


Figura 15 - Válvula principal (seta) para promover a exaustão dos gases da câmara.

Além dessa válvula de exaustão, existem no painel de controle outras quatro pequenas válvulas e um fluxômetro. Duas dessas válvulas são responsáveis pelo controle de admissão de gases, enquanto as outras duas, pela exaustão.

Uma das válvulas de admissão realiza o ajuste de alto fluxo de entrada dos gases no sistema da câmara hiperbárica, enquanto que a outra efetua o ajuste fino. Ambas são controladas pelo fluxômetro. As válvulas de exaustão apresentam o mesmo processo de controle em relação às válvulas de admissão (Figura 16).

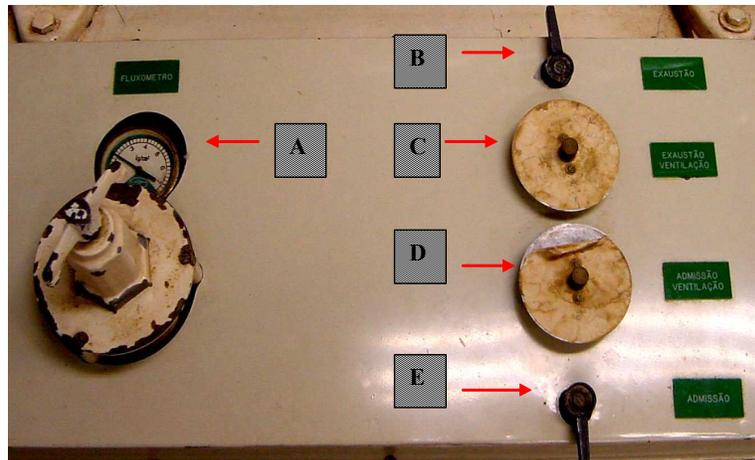


Figura 16 - (A) Fluxômetro, (B) válvula de exaustão - ajuste de alto fluxo, (C) válvula de exaustão - ajuste fino do fluxo, (D) válvula de admissão - ajuste de fino fluxo e (E) válvula de exaustão - ajuste de alto fluxo.

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

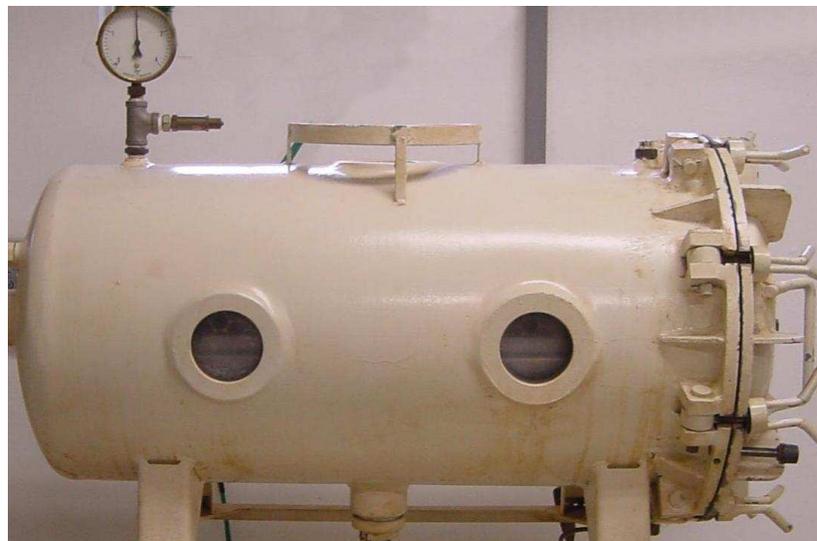


Figura 17 - Câmara hiperbárica. Vista lateral com a presença de duas vigias circulares e do fluxômetro na porção superior indicando duas atmosferas absolutas de pressão.

O posicionamento dos ratos no interior da câmara foi feito em gaiolas especiais de contenção, permitindo a permanência de até dez animais com total liberdade de movimento (Figura 18).



Figura 18 - Gaiola especial de contenção dos animais na câmara hiperbárica.

3.4.4. Observação dos aspectos clínicos no pós-operatório

Após o procedimento cirúrgico, os animais foram colocados em gaiolas de contenção. Foram observados até o completo despertar, verificando-se a frequência respiratória e sua movimentação na gaiola. Quando os ratos estavam totalmente recuperados da anestesia, os pertencentes ao grupo GCH eram levados à câmara hiperbárica. Os demais permaneciam nas gaiolas respirando ar ambiente.

Durante os quatro dias seguintes ao ato cirúrgico, foram observados os aspectos clínicos abaixo relacionados:

- Peso;

- Ingestão de alimentos;
- Aspectos da cicatrização;
- Distensão abdominal;
- Aspecto das fezes.

3.4.5 - Eutanásia e avaliação macroscópica da cavidade peritoneal

A eutanásia foi realizada no quarto dia de pós-operatório com o uso de dose letal de tiopental sódico a três por cento, intravenoso, pela veia caudal. A seguir, a cavidade abdominal era aberta por incisão mediana xifopúbica.

A cavidade peritoneal era inventariada com a finalidade de detectar a presença de secreções (líquido livre na cavidade), edema e distensão das alças intestinais, peritonite bloqueada ou difusa, abscessos intracavitários, deiscência da anastomose e aderências.

3.4.6. Retirada e limpeza da alça cólica

O cólon descendente era seccionado, ao nível da reflexão peritoneal, e quatro centímetros acima dela com tesoura de íris. A anastomose ficava então na sua porção média. A seguir, este segmento de cólon de quatro centímetros e contendo a anastomose era retirado e submetido à limpeza intraluminal (Figura 19).



Figura 19 - Segmento de alça cólica de quatro centímetros após limpeza intraluminal.

Quando havia fezes, movimentos suaves de “ordenha” digital eram realizados para retirá-las.

Após esses procedimentos, o lúmen era lavado com fluxo lento e contínuo de solução fisiológica com o intuito de remover os resíduos restantes de fezes que aderem à mucosa. Essa manobra visava impedir que resíduos fecais pudessem obstruir alguma via pertencente ao sistema de medição.

Os espécimes eram então mergulhados individualmente, por um período de 20 minutos, em um recipiente tipo “Becker” contendo solução fisiológica e cloridrato de papaverina, em concentração de 250 miligramas por litro, à temperatura de 37 graus Celsius.

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

3.4.7. Estudo do comportamento biomecânico da alça intestinal

3.4.7.1. Teste de Resistência Biomecânico de Energia Total de Ruptura (ETR)

A Energia Total de Ruptura foi definida como a energia interna acumulada necessária para promover o rompimento do cólon após a imposição de uma força externa de tração. Essa energia foi medida pelo aplicativo SABI 2.0 - Sistema de Aquisição e Análise de Dados Biomecânicos, o qual está inserido no teste de resistência biomecânico Energia Total de Ruptura (43).

O sistema proposto para promover a medição da Energia Total de Ruptura (ETR) por meio do teste de resistência biomecânico foi composto pelos seguintes equipamentos e aplicativo (Figura 20):

- Sistema de tração da bomba de infusão da marca B.BRAUN / Modelo 871.012 (Figura 20 a);
- Gancho de aço inoxidável especialmente confeccionado (Figura 20 b);
- Canhão do cateter endovenoso de "teflon" número 18 com a luz ínvia e fixada em um sistema de corrente (Figura 20 c);

- Canhão do cateter endovenoso de "teflon" número 18 com a luz aberta (Figura 20 e);
- Torneira de tripla-via com a extremidade fixada em um sistema de corrente (Figura 20 f);
- Célula de carga da balança de precisão da marca Mettler-Toledo / Modelo SB8000 (Figura 20 h);
- Polígrafo da marca SIEMENS-ELEMA / Modelo 804 / MINGOGRAFT (Figura 20 p);
- Cateter de polietileno (P.E. 80) de 50 centímetros de comprimento (Figura 20 n);
- Seringa de plástico com volume de dez mililitros de marca Nipro posicionada no transdutor de pressão do polígrafo (Figura 20 o);
- Alavanca confeccionada para promover a conexão da célula de carga da balança de precisão com o sistema de tração (Figura 20 i);
- Microcomputador PC padrão com canal de comunicação serial (Figura 20 m);
- Cabo de comunicação serial (Figura 20 l);
- Saída serial da balança de precisão (Figura 20 j);
- Aplicativo SABI 2.0 - Sistema de Aquisição e Análise de Dados Biomecânicos versão 2.0 (Figura 20 q).

Depois de retirado do copo de Becker contendo a solução de papaverina, o espécime previamente preparado foi submetido ao seguinte procedimento:

- Introdução do canhão do cateter número 18 com a luz aberta e do canhão do cateter número 18 com a luz ínvia e fixada ao sistema de corrente nas extremidades proximal e distal do segmento de alça, respectivamente;
- Em seguida, estes dois canhões eram atados, com fio de seda 2.0, nas extremidades do segmento de alça que continha a anastomose equidistante dois centímetros de cada canhão e com total de quatro centímetros de extensão (Figura 20 d).

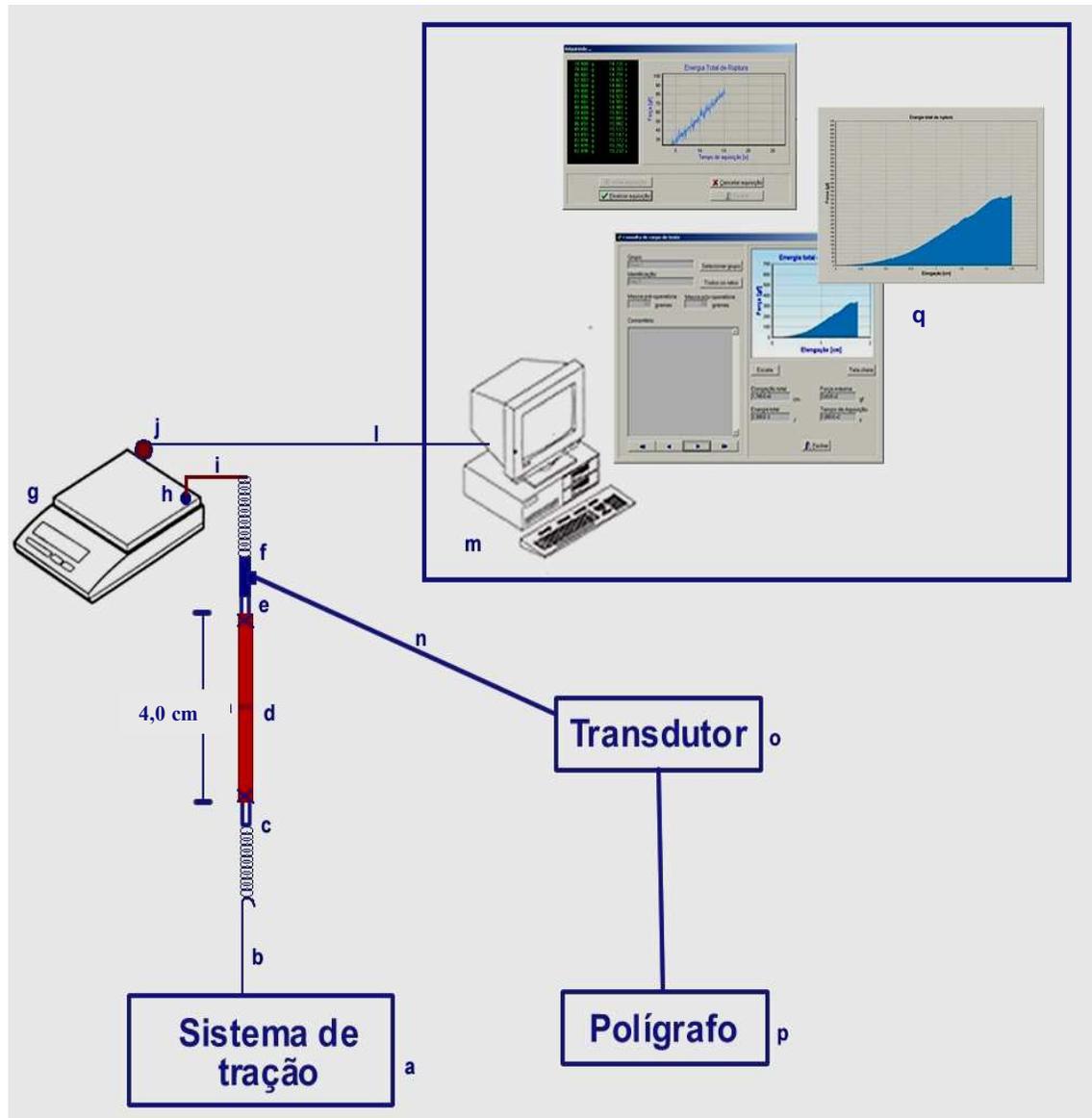


Figura 20 - Representação esquemática do Teste Biomecânico Energia Total de Ruptura: (a) sistema de tração, (b) gancho de aço inoxidável, (c) canhão do cateter número 18 com a luz ínvia e fixada em sistema de corrente, (d) segmento de alça cólica contendo a anastomose na área central, (e) canhão do cateter número 18 com a luz aberta, (f) torneira de tripla-via fixada em sistema de corrente, (g) balança de precisão, (h) célula de carga, (i) alavanca de conexão entre a célula de carga da balança com os componentes do sistema, (j) saída serial da balança, (l) cabo de comunicação serial, (m) microcomputador PC padrão, (n) cateter de polietileno P.E. 80, (o) transdutor do polígrafo, (p) polígrafo e (q) aplicativo SABI.

O SABI 2.0 (Sistema de Aquisição e Análise de Dados Biomecânicos) constitui-se de dois subsistemas. O primeiro responsável pela automatização da aquisição de dados por meio de comunicação serial via RS232 e o segundo pela interpretação e análise dos dados adquiridos durante os ensaios biomecânicos. Esses dados gerados pela célula de carga da balança eram, em tempo real, delineados na tela do computador por uma curva pertencente à função Força x Tempo. Após o término da aquisição, essa função era convertida, automaticamente, à função Força x Elongação, já que a velocidade de tração (um centímetro por minuto) foi constante durante todo o ensaio. Aplicando-se o método de integração numérica Regra do Trapézio, o SABI 2.0 foi capaz de determinar a área sob essa curva (Figura 21). O valor obtido dessa área representou a energia total acumulada (ETR) para promover o rompimento do espécime sob teste (100).

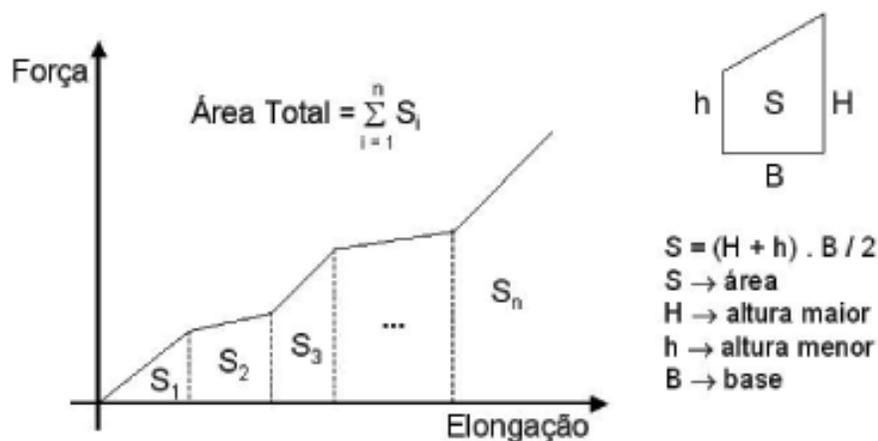


Figura 21 – Definição da Regra do Trapézio na integração numérica

Os componentes pertencentes ao teste ETR mantiveram as mesmas proporções de localização e medida durante os ensaios mecânicos. Com o

sistema montado, infundiu-se a solução fisiológica contida no interior da seringa de plástico posicionada no transdutor do polígrafo, preenchendo assim, o cateter de polietileno, a via lateral da torneira de tripla-via e o segmento de alça, pois o fluxo da torneira de tripla-via estava aberto nas três direções. Esse procedimento foi realizado para eliminar as bolhas de ar contidas dentro do sistema. Após, posicionando-se o fluxo da torneira de tripla-via na direção das vias lateral e inferior, o segmento de alça com as suas conexões eram transformadas em um sistema de vasos comunicantes em relação ao polígrafo.

Depois dessas etapas, realizou-se um balanço no polígrafo, tomando essa posição como linha de base zero. Em seguida, tarou-se a balança e o movimento de tração era iniciado com a velocidade de um centímetro por minuto. A partir desse momento, originou-se um movimento de arrasto onde todos os componentes do sistema sofreram tração em direção vertical. Com isso, as forças axiais crescentes aplicadas sobre o segmento de alça transferiram-se para a célula de carga da balança de precisão. Esses valores eram capturados, registrados e analisados pelo microcomputador por meio do aplicativo SABI 2.0. A velocidade de aquisição da força axial externa imposta sobre o sistema apresentava a média de três dados por segundo em tempo real. Esses dados geravam uma curva na tela do computador expressando a função Força x Tempo. Com a finalização do processo de aquisição, essa função (Força x Tempo) era convertida, automaticamente, para a Função Força x Elongação por meio do aplicativo SABI 2.0. No instante de ruptura da alça, a força axial máxima foi denominada força de ruptura à tração (FT) e os dados adquiridos pós-rompimento não eram considerados no cálculo da ETR (Figura 22).

Além disso, com a tração, ocorreu a formação de pressão dentro do sistema de vasos comunicantes, sendo essa pressão registrada pelo polígrafo. As variações da curva dessa pressão em relação ao tempo eram adquiridas e no momento de ruptura da alça cólica, a curva retornava a sua linha de base inicial zero decorrente da perda do líquido pelo ponto de rompimento da parede do espécime sob teste.

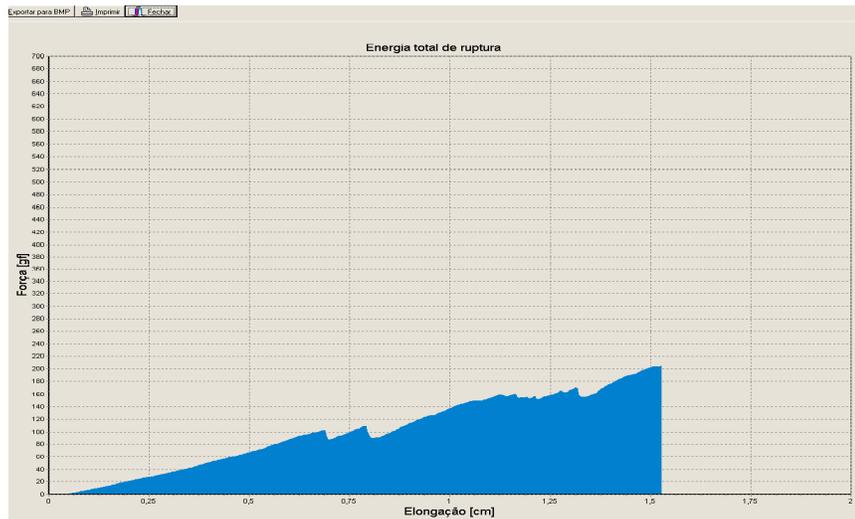


Figura 22- Área calculada pelo aplicativo SABI 2.0 : Força (gf) x Elongação (cm).

3.4.8. Análise estatística

Conforme o protocolo experimental, todos os animais, representados pelos seus segmentos intestinais retirados, foram submetidos ao teste de Energia Total de Ruptura e os seus resultados submetidos à análise estatística. Os testes estatísticos utilizados foram Análise de Variância (ANOVA) e Teste de *Tukey*.

O teste de *Fisher* foi utilizado para verificar se houve diferença nos grupos com relação ao óbito.

Os resultados foram considerados diferentes quando $p \leq 0,05$.



4-RESULTADOS

4.1. Pós-operatório imediato, evolução clínica e avaliação da cavidade abdominal

De forma didática, a apresentação dos resultados será dividida nos três grupos interessando o pós-operatório imediato, a evolução clínica nos quatro dias de pós-operatório e a avaliação da cavidade após a eutanásia.

- **Grupo Controle (GC):** Grupo composto por 15 animais submetidos à laparotomia, inventário da cavidade e manipulação das alças intestinais e do ceco, ressecção do omento maior e da gordura do funículo espermático seguido de laparorrafia. Não se realizou punção e ligadura cecal. Após seis horas, os animais foram novamente anestesiados e submetidos à laparotomia seguida de anastomose no cólon descendente. Os animais foram mantidos em ar ambiente durante os cinco dias de experimento. Sessões de câmara hiperbárica não foram empregadas. Os ratos tinham livre acesso à ração e água. A eutanásia foi realizada no quarto dia pós-operatório (Figura 2)

Os animais evoluíram clinicamente bem durante os quatro dias de pós-operatório, com boa aceitação de alimento e água. Os 15 ratos perderam peso. A média da perda de peso no grupo foi 10,66% (Tabela 1 e Figura 32).

Não ocorreu óbito. Os ratos não apresentaram distensão da parede abdominal. As fezes encontradas nas gaiolas de contenção apresentavam-se com aspecto normal durante os cinco dias analisados.

As cavidades abdominais foram abertas após a eutanásia e não apresentavam peritonite macroscopicamente. As vísceras apresentavam-se de

aspecto normal e não havia aderências sobre o cólon. Todas as anastomoses estavam íntegras. (Figura 23).

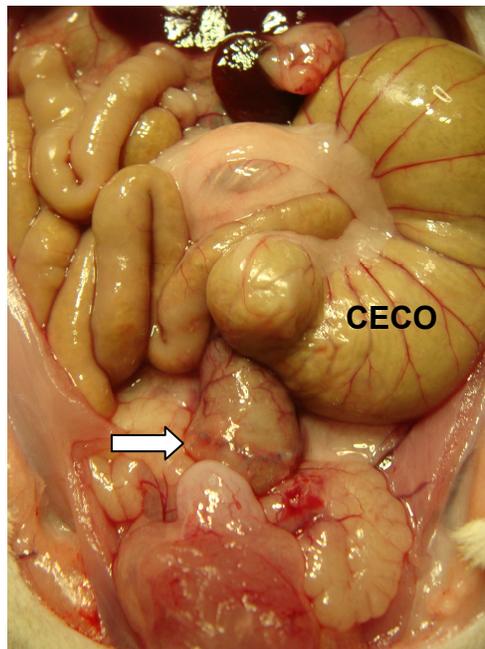


Figura 23 - Aspecto da cavidade do Rato 1 do Grupo Controle. Não se observa líquido livre ou coleções na cavidade. A anastomose encontra-se íntegra e sem aderências (seta).

- **Grupo Peritonite (GP):** Grupo composto por 15 animais submetidos à laparotomia, inventário da cavidade e manipulação das alças intestinais, ressecção do omento maior e da gordura do funículo espermático; a seguir provocou-se peritonite pelo método de punção e ligadura cecal seguido de laparorráfia. Após seis horas, os animais foram novamente anestesiados e submetidos à laparotomia seguida de anastomose no cólon descendente. Os animais foram mantidos em ar ambiente durante os cinco dias de experimento. Não foram empregadas de câmara hiperbárica. Os ratos tinham livre acesso à ração e água. A eutanásia foi realizada no quarto dia pós-operatório (Figura 2).

Os animais evoluíram, nas primeiras 48 horas, movimentando-se pouco na gaiola. Permaneciam “encurvados” em posição de flexão do abdome. O pêlo do dorso permanecia ereto. Alimentaram-se pouco. Após 72 horas, ficavam mais ativos na gaiola. Todos os animais perderam peso. A média da perda de peso no grupo foi 14,64% (Tabela 1 e Figura 28).

Ocorreram seis óbitos nas primeiras 24 horas do experimento (Figuras 24 e 25).

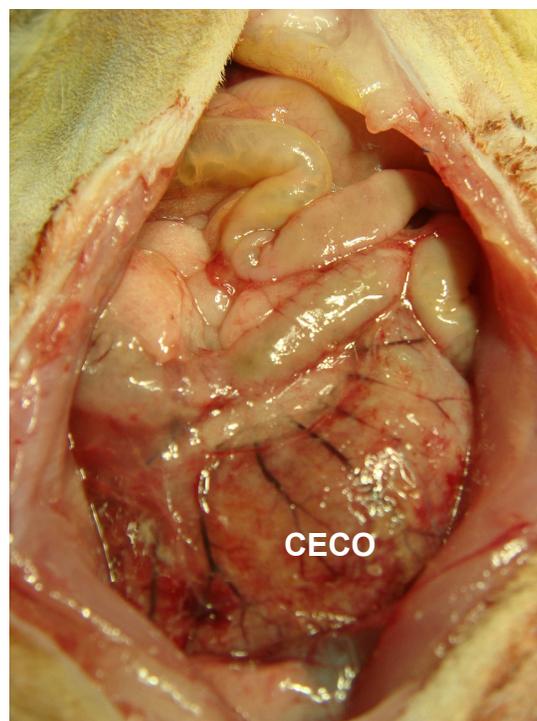


Figura 24 - Rato 8 do Grupo Peritonite que foi a óbito nas primeiras 24 horas: presença de peritonite difusa com acentuada distensão do ceco e de alças de delgado.

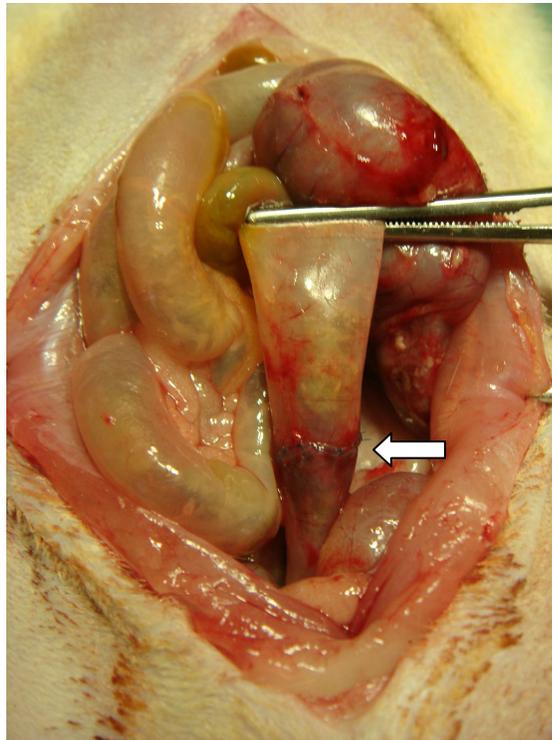


Figura 25 - Rato 11 do Grupo Peritonite que foi a óbito nas primeiras 24 horas: acentuada distensão de alças e detalhe da anastomose íntegra (seta).

Alguns animais apresentaram distensão da parede abdominal (Figura 26). As fezes encontradas nas gaiolas de contenção apresentavam-se com aspecto normal durante os cinco dias analisados.



Figura 26: Rato 6 do Grupo Peritonite: acentuada distensão do abdome.

As cavidades abdominais foram abertas após a eutanásia e apresentavam-se com sinais macroscópicos de peritonite difusa, como presença de odor fétido, acentuada distensão das alças intestinais, grande quantidade de líquido livre na cavidade e presença de pontos purulentos distribuídos por toda cavidade ou bloqueados por alças intestinais. O ceco encontrava-se distendido e com sinais de extravasamento de fezes pelos orifícios das punções. Havia aderências do ceco principalmente com alças do delgado e às vezes com o estômago ou baço. (Figura 27).

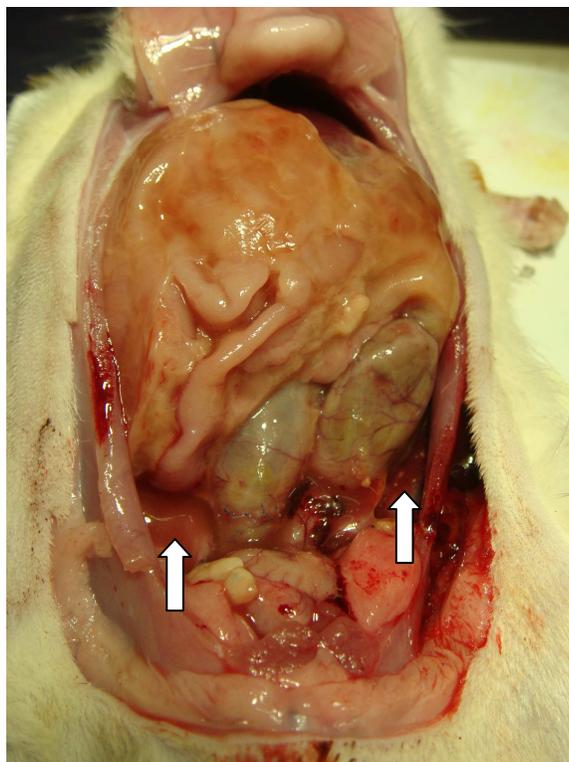


Figura 27- Aspecto da cavidade abdominal do Rato 6 do Grupo Peritonite: presença de grande quantidade líquido livre na cavidade (setas), bloqueio de alças do delgado. Ausência de aderências sobre a anastomose. Pontos purulentos nos locais da punção cecal.

- **Grupo Câmara Hiperbárica (GCH):** Grupo composto por 15 animais submetidos à laparotomia, inventário da cavidade e manipulação das alças intestinais, ressecção do omento maior e da gordura do funículo espermático; a seguir provocou-se peritonite pelo método de punção e ligadura cecal seguido de laparorráfia. Após seis horas, os animais foram novamente anestesiados e submetidos à laparotomia seguida de anastomose no cólon descendente. Logo após o ato operatório, os ratos deste grupo eram colocados em uma câmara hiperbárica experimental para inalarem oxigênio a 100%, a duas atmosferas absolutas de pressão, durante 120 minutos. Cada sessão era repetida diariamente, no mesmo horário, por quatro dias consecutivos. Nos intervalos entre

as sessões, os animais respiravam ar ambiente e tinham livre acesso à ração e água. No quinto dia do experimento, ou seja, quarto dia de pós-operatório, os animais eram submetidos à eutanásia (Figura 2).

Os animais evoluíram de maneira semelhante ao grupo peritonite nas primeiras 48 horas. Após 72 horas, ficavam mais ativos na gaiola. Alimentaram-se pouco. Todos os animais perderam peso. A média da perda de peso do grupo foi 14,49 % (Tabela 1 e Figura 28).

Tabela 1: Estatísticas descritivas da variável peso inicial e final por grupo.

GRUPO	N	Variável	Média	D.P.	Mínimo	Mediana	Máximo
Controle	15	M.INICIAL	385.67	20.13	350.00	396.00	400.00
		M.FINAL	344.53	22.88	306.00	351.00	373.00
Peritonite	9	M.INICIAL	389.33	13.20	360.00	396.00	400.00
		M.FINAL	333.00	24.27	284.00	340.00	363.00
Câmara Hiperbárica	9	M.INICIAL	387.89	17.24	356.00	395.00	400.00
		M.FINAL	331.67	19.28	300.00	337.00	362.00

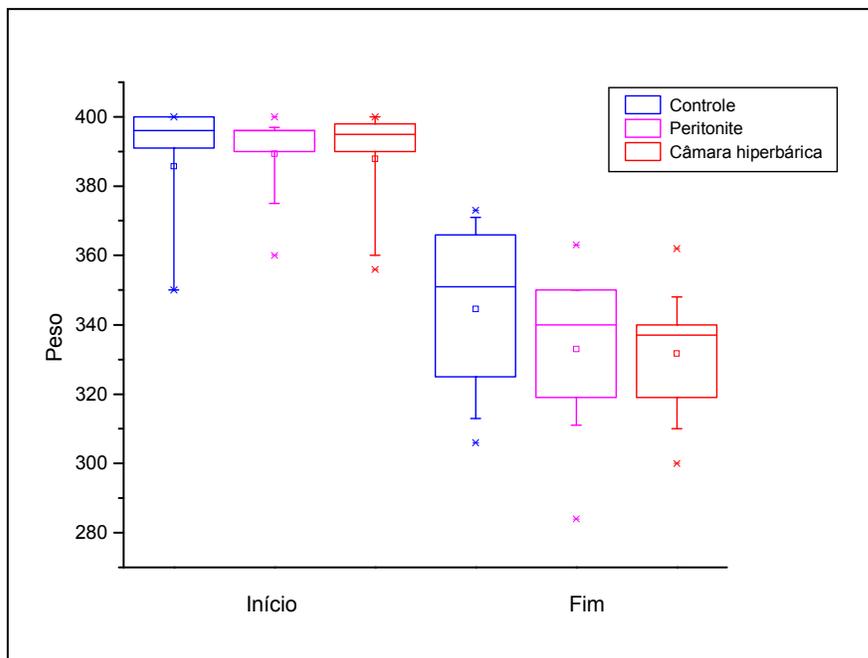


Figura 28 - Box-plot do peso inicial e final de cada grupo.

Ocorreram cinco óbitos nas primeiras 24 horas e um óbito com 48 horas de experimento (Figura 29).

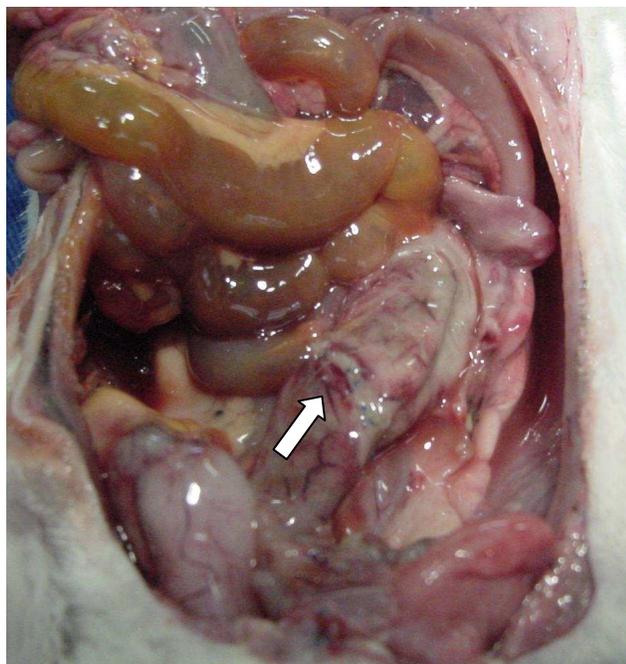


Figura 29 - Rato 4 do Grupo GCH. Óbito no primeiro dia do pós-operatório: presença de peritonite difusa e anastomose íntegra (seta).

Alguns animais apresentaram distensão da parede abdominal semelhante ao grupo GP. As fezes encontradas nas gaiolas de contenção apresentavam-se com aspecto normal durante os cinco dias analisados.

As cavidades abdominais foram abertas após a eutanásia e apresentavam-se com sinais macroscópicos de peritonite difusa como presença de odor fétido, acentuada distensão das alças intestinais, grande quantidade de líquido livre na cavidade, presença de pontos purulentos distribuídos por toda cavidade ou bloqueados por alças intestinais. O ceco encontrava-se distendido, apresentando extravasamento de fezes pelos orifícios das punções. Havia aderências do ceco principalmente com alças do delgado e às vezes com o estômago ou baço. (Figuras 30 e 31).

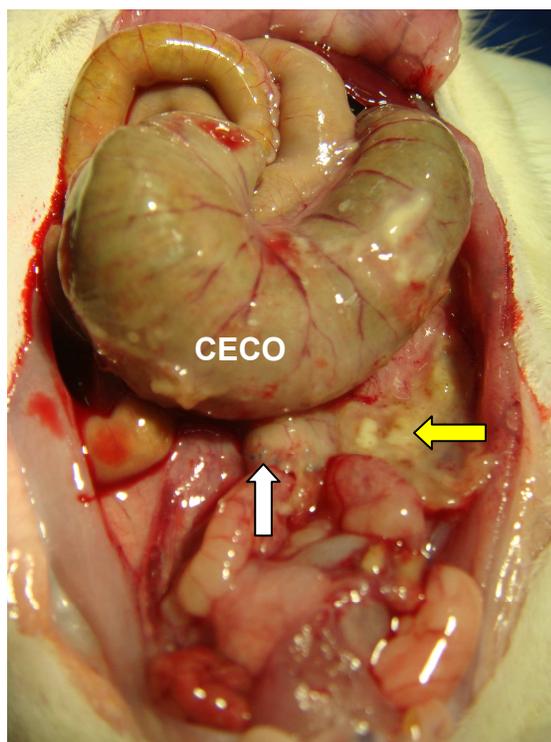


Figura 30 - Aspecto da cavidade abdominal do Rato 5 do grupo GCH: presença de grande quantidade líquido livre na cavidade, distensão de alças do delgado e do ceco, coleções purulentas disseminadas (seta amarela). Anastomose íntegra (seta branca).

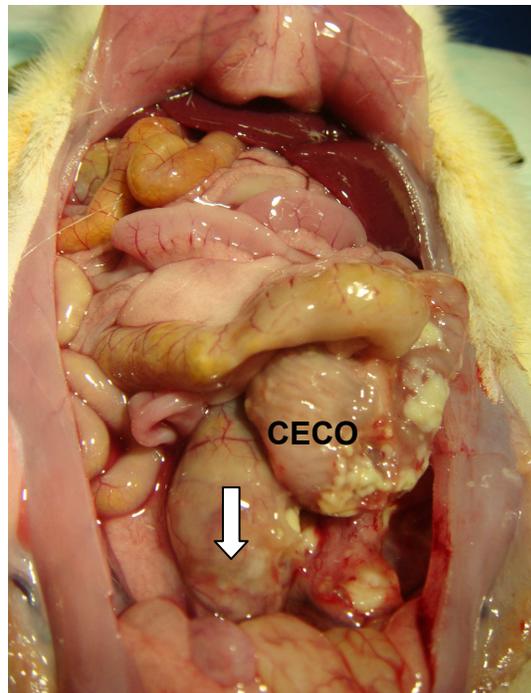


Figura 31 - Aspecto da cavidade abdominal do Rato 10 do grupo GCH: presença de grande quantidade de líquido livre na cavidade, distensão de alças de delgado. Ceco distendido e recoberto por secreção purulenta espessa. Anastomose íntegra (seta).

4.2. Distribuição da mortalidade entre os grupos

Durante o período do experimento, que compreendia quatro dias de pós-operatório, ocorreram 12 óbitos, sendo seis no Grupo GP e seis no Grupo GCH. Destes 12 animais, 11 morreram nas primeiras 24 horas após a confecção da anastomose e apenas um morreu com 48 horas do experimento. No Grupo GC não ocorreu óbito (Tabela 2).

Durante a necrópsia destes 12 animais, observou-se peritonite difusa na cavidade abdominal, porém com as anastomoses sem sinais de deiscência. Estes animais não foram submetidos ao teste de resistência biomecânica.

Tabela 2: Resultado da mortalidade por grupos.

	Dia Cirúrgico	1º pós-operatório	2º pós-operatório	3º pós-operatório	4º pós-operatório	Total Óbitos
GRUPO GC	0	0	0	0	0	0
GRUPO GP	0	6	0	0	0	6
GRUPO GCH	0	5	1	0	0	6

4.3. Teste de Resistência Biomecânica Energia Total de Ruptura

Neste trabalho utilizou-se o teste de resistência biomecânica Energia Total de Ruptura (ETR) para aferir a resistência intrínseca das anastomoses realizadas no cólon distal de ratos.

Após o teste biomecânico Energia Total de Ruptura, os espécimes eram abertos no sentido longitudinal e em região oposta ao ponto de rompimento. A ruptura das alças sempre ocorreu na linha de sutura.

Este procedimento teve como finalidade analisar o padrão macroscópico da região intraluminal onde estavam as anastomoses e a localização do ponto de ruptura (Figura 32).

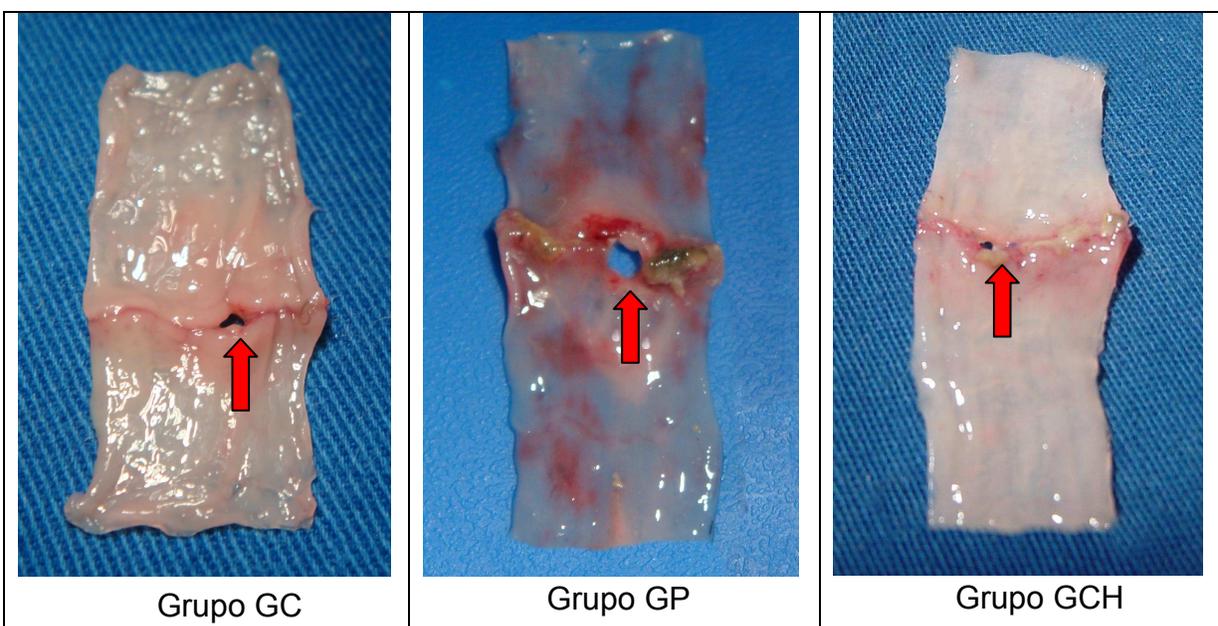


Figura 32 – Característica da mucosa em segmento de alça cólica com a sua respectiva área de anastomose nos grupos GC, GP e GCH. A seta indica o local de ruptura da linha de sutura durante o teste ETR.

Os resultados da Energia Total de Ruptura, em grama-força por centímetro (gf.cm), obtidos por meio do teste de resistência biomecânica estão representados na Tabela 3 e Figura 37.

gfTabela 3: Valores da Energia Total de Ruptura, em gf.cm, dos animais pertencentes aos grupos GC, GP e GCH.

	Grupo Controle	Grupo Peritonite	Grupo HBO
Rato 1	238,40	149,90	Óbito
Rato 2	215,60	Óbito	Óbito
Rato 3	224,60	166,20	Óbito
Rato 4	186,00	134,10	Óbito
Rato 5	120,50	102,10	151,20
Rato 6	233,30	160,10	132,80
Rato 7	314,90	82,09	107,10
Rato 8	109,30	Óbito	151,30
Rato 9	221,00	224,60	56,80
Rato 10	254,40	28,87	43,21
Rato 11	144,20	Óbito	Óbito
Rato 12	137,30	Óbito	Óbito
Rato 13	152,80	102,20	260,90
Rato 14	226,50	Óbito	151,10
Rato 15	165,50	Óbito	144,60
Média	196,29	127,80	133,22

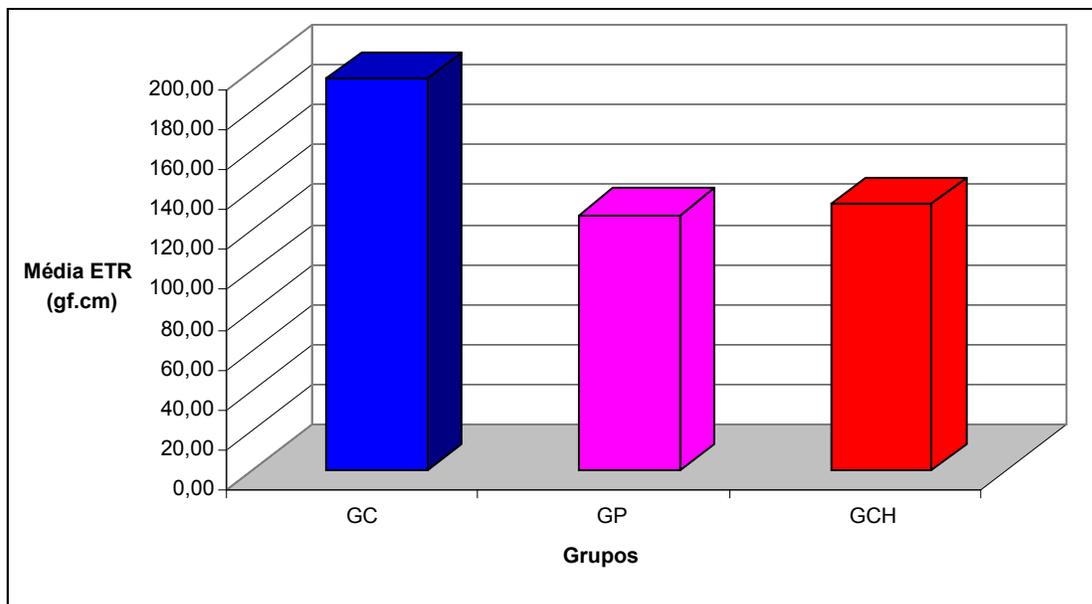


Figura 33 – Distribuição gráfica dos valores da energia total de ruptura, em gf.cm, pertencentes aos grupos GC, GP e GCH.

4.4. Análise Estatística

Foram utilizadas estatísticas descritivas (média, desvio-padrão, mínimo, mediana e máximo) para a variável contínua Energia Total de Ruptura (ETR) para cada grupo e a tabela de frequência para a variável óbito.

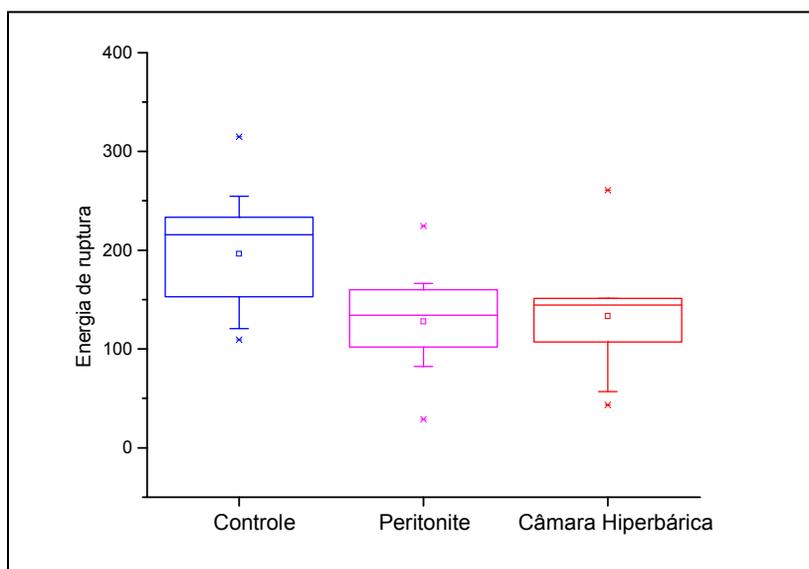
Para verificar se existe diferença dos Grupos com relação ao óbito, foi utilizado o teste exato de *Fisher*.

O estudo comparativo e as análises da taxa de mortalidade ocorrida nos três grupos foram realizados por meio do teste estatístico de *Fisher* (Tabela 4).

O resultado encontrado comparando o Grupo GC em relação aos Grupos GP e GCH demonstrou diferença significativa entre a taxa de mortalidade ($p=0,0107$).

Tabela 6. Resultados da Análise de Variância para variável ETR por grupo.

Fonte de Variação	p-valor
Grupo	0.0001

**Figura 34.** Gráfico “Box-plot” da variável Energia de Ruptura por grupo.

Quando a diferença foi significativa, realizaram-se testes de comparação múltipla (Teste de *Tukey*) para identificar as diferenças. O teste de *Tukey* faz as comparações múltiplas de dois a dois, à nível de 5%. O nível de significância adotado foi de 5%, ou seja, $p \leq 0.05$. Ele apresenta a diferença entre as médias dos grupos e o respectivo intervalo de confiança (95%) dessa diferença. Quando esse intervalo contem o valor zero, a diferença entre os grupos não é significativa (Tabelas 7 e 8).

Tabela 7: Tabela do Teste de Tukey para comparação entre os grupos: o símbolo (***) indica diferença estatística entre os grupos.

Comparação dos Grupos	Diferença entre as médias	Intervalo de confiança (95%)
Controle x Peritonite	63,06	2,05 a 124,08 ***
Controle x Câmara Hiperbárica	68,49	7,47 a 129,51 ***
Peritonite x Câmara Hiperbárica	5,43	- 62,79 a 73,65

Tabela 8: Comparação entre os grupos pelo Teste de Tukey.

Teste de Tukey	Alpha= 0.05
Grupo Controle x Grupo Peritonite	Significativo
Grupo Controle x Grupo Câmara Hiperbárica	Significativo
Grupo Peritonite x Grupo Câmara Hiperbárica	Não Significativo

Em suma, pode-se concluir que o Grupo Controle é diferente estatisticamente do Grupo Peritonite e do Grupo Câmara Hiperbárica, no entanto, o Grupo Peritonite não apresenta diferença estatística em relação ao Grupo Câmara Hiperbárica.



5-DISCUSSÃO

5.1. Considerações Iniciais

As deiscências anastomóticas podem ocorrer como consequência de cicatrização inadequada. Constituem-se no pior tipo de complicação da cirurgia intestinal, provocando altos índices de morbidade e de mortalidade (162). As causas para deiscência das anastomoses são multifatoriais (163), sendo que a cicatrização pode ser afetada por eventos locais e sistêmicos (53).

A infecção do peritônio é um dos principais fatores que interferem de forma negativa na cicatrização das anastomoses cólicas (46,49,59-61,63,64,161).

Por outro lado, a oxigenoterapia hiperbárica parece aumentar a resistência mecânica das anastomoses, na presença ou não de isquemia induzida (42,43,45,164).

Este trabalho teve como objetivo analisar o efeito da hiperoxigenação hiperbárica sobre a resistência mecânica de anastomoses realizadas no cólon distal de ratos, na presença de peritonite difusa induzida por punção e ligadura cecal.

Para esta finalidade, elegeu-se o teste biomecânico Energia Total de Ruptura (ETR) com o propósito de se aferir a qualidade da cicatrização intestinal, por meio da sua resistência mecânica.

5.2. Animal de Experimentação

O animal escolhido foi o rato da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*), provenientes do Centro de Bioterismo – CEMIB da UNICAMP credenciado pelo ICLAS – *International Council for Laboratory Animal Science*.

Os procedimentos anestésicos e cirúrgicos foram realizados de maneira semelhante em todos os animais, sendo os grupos escolhidos aleatoriamente. A manutenção do plano anestésico durante todo o ato operatório foi bastante satisfatória, pela preservação da seringa contendo a substância anestésica em via venosa caudal.

Os ratos foram submetidos aos procedimentos cirúrgicos sem período prévio de jejum e sem preparo de cólon. A eutanásia foi realizada no quarto dia de pós-operatório, em analogia com trabalhos que estudaram anastomoses e por ser considerado fase crítica da cicatrização intestinal (21,42,43,49,99,165). Todos os espécimes, antes de serem submetidos ao teste biomecânico, foram imersos durante 20 minutos em solução de cloridrato de papaverina, com a finalidade de diminuir o espasmo intestinal originado pelo manuseio, minimizando assim, suas interferências nos resultados obtidos (33,43,49,99,166).

5.3. Modelo experimental de peritonite

Vários modelos experimentais de peritonite têm sido descritos na literatura, mas o modelo de punção e ligadura cecal (PLC) tem como grande vantagem poder-se modular o índice de mortalidade pelo tamanho da agulha utilizada, bem como o número de punções realizadas (154). Além disso, a PLC provoca sepse e simula a falência múltipla de órgãos em humanos (156,157). Neste estudo foram realizadas dez punções na borda antimesentérica do ceco, sendo a mortalidade de 40% nos grupos peritonite e câmara hiperbárica.

Uma vez que as aderências sobre as anastomoses podem interferir na resistência intrínseca das mesmas (98,101), associou-se ao modelo original de PLC, a ressecção do omento maior e da gordura dos funículos espermáticos bilateralmente.

Na presença de peritonite, Schoeffel *et al.* (155) detectaram bactérias no exsudato peritoneal três horas após a punção e ligadura cecal.

Brooks *et al.* (156) demonstraram ocorrência de bactérias entéricas na hemocultura, além de perda de peso, diminuição da atividade motora e febre em todos os animais submetidos à PLC.

Brocco *et al.* (62) realizaram tratamento da peritonite fecal em ratos seis horas após indução da peritonite. Demonstraram que a lavagem peritoneal com solução de bupivacaína foi eficaz para evitar óbito em 100% dos animais com peritonite fecal induzida pela inoculação de fezes autólogas diluídas na cavidade peritoneal.

No presente trabalho, a anastomose também foi realizada seis horas após a indução da peritonite. A eutanásia foi realizada no quarto dia de pós-operatório. Após a abertura do abdome observou-se, no Grupo Controle, anastomoses íntegras e ausência de peritonite. Nos Grupos Peritonite e Câmara Hiperbárica, todas as anastomoses estavam íntegras, porém com sinais sugestivos de peritonite difusa, tais como odor fétido, grande quantidade de líquido livre na cavidade, acentuada distensão das alças intestinais, formação de múltiplos abscessos e aderências viscerais nos locais de punção no ceco. Não ocorreram aderências sobre as anastomoses. As aderências que se formaram ocorriam principalmente entre os orifícios de punção no ceco e as alças do delgado, estômago ou baço.

5.4. Peritonite e resistência das anastomoses cólicas

Gutman *et al.* (48) constataram que a peritonite não teve efeito sobre a pressão de explosão de anastomoses intestinais.

Naresse *et al.* (49) concluíram que a peritonite fecal foi prejudicial à cicatrização intestinal o que poderia favorecer a deiscência das anastomoses.

Minossi *et al.* (50) demonstraram que a peritonite fecal diminuiu a resistência mecânica da alça cólica íntegra a partir de três horas e persistiu até 24 horas após a injeção intraperitoneal de suspensão de fezes humanas.

Ahrendt *et al.* (51,161) realizaram também PLC e evidenciaram diminuição da resistência mecânica das anastomoses cólicas com redução da pressão de explosão e concentração de colágeno na presença de peritonite induzida.

Biondo-Simões *et al.* (55) demonstraram que a peritonite não interfere na capacidade da anastomose cólica suportar pressão, apesar da peritonite ter provocado diminuição da concentração e maturação do colágeno.

de Hingh *et al.* (58) realizaram anastomoses no cólon distal de ratos 24 horas após a indução de peritonite também por PLC. Houve nove óbitos de um total de 49 animais no grupo peritonite, porém, as anastomoses estavam íntegras no exame pós-mortem. Também realizaram os testes mecânicos pressão de explosão e força de ruptura à tração além de análise bioquímica. Os testes mecânicos, realizados nos dias zero, um, dois, três e cinco do pós-operatório, mostraram diminuição da resistência da anastomose por volta do terceiro dia e retomada próximo aos valores do grupo controle no 5º dia de pós-operatório, demonstrando que o efeito da peritonite sobre a cicatrização de anastomoses tem efeito limitado e transitório. Também não observaram deiscências anastomóticas devidas à peritonite.

Teke *et al.* (61) observaram que a peritonite provocada por PLC diminuiu a pressão de explosão e os níveis de hidroxiprolina nas anastomoses do cólon esquerdo de ratos, mas esses valores foram revertidos com uso de “proteína C ativada”.

Neste trabalho, a peritonite fecal provocou redução significativa da resistência mecânica das anastomoses no quarto dia de pós-operatório (ETR = 196,29 gf.cm no Grupo Controle *versus* ETR = 127,80 gf.cm do Grupo Peritonite).

5.5.Hiperoxigenação hiperbárica no modelo experimental peritonite

Mantovani *et al.* (152) relataram que a oxigenoterapia hiperbárica diminuiu significativamente a taxa de mortalidade em modelo de peritonite fecal, de 81,8% para 37,5%, utilizando-se câmara hiperbárica a 2,5 ATA por 60 a 90 minutos, durante quatro dias consecutivos.

Neste trabalho, no entanto, a taxa de mortalidade foi idêntica (40%) no grupo com peritonite fecal difusa sem tratamento e no grupo tratado com HBO. Aqui se utilizou câmara hiperbárica a duas ATA, por 120 minutos, também durante quatro dias.

Hamzaoglu *et al.* (42) utilizaram oxigenoterapia hiperbárica na fase inicial de cicatrização de anastomoses cólicas de ratos, com e sem isquemia induzida. Realizaram 14 sessões de 90 minutos na pressão de 2,5 ATA, durante quatro dias. Através do teste de Pressão de Ruptura à Distensão por Líquido e dosagem de hidroxiprolina, verificaram que a isquemia piorou a cicatrização da anastomose, e que a oxigenioterapia hiperbárica, melhorou a cicatrização, com e sem isquemia induzida.

Yagci *et al.* (45) empregaram oxigênio hiperbárico no pré e pós-operatório de anastomoses cólicas normais e isquêmicas de ratos. Empregaram 2,8 ATA em duas sessões de 90 minutos, dois dias no pré-operatório e quatro dias no pós-operatório com a eutanásia realizada no quinto dia. Os autores concluíram que a HBO combinada, pré e pós-operatória, melhorou os parâmetros mecânicos e

biomecânicos e os níveis de hidroxiprolina nas anastomoses isquêmicas, porém não aumentou os valores da pressão de explosão nas anastomoses normais.

Lionço *et al.* (167) utilizaram parâmetros clínicos, mecânicos e biomecânicos para avaliar as anastomoses esôfago-jejunais, sem isquemia ou infecção, em ratos. Concluíram que a oxigenoterapia hiperbárica não interferiu no processo de cicatrização destas anastomoses.

Embora a HBO pareça ser eficaz nas anastomoses cólicas na presença de isquemia, o seu uso na presença de peritonite difusa ainda permanece controverso.

Sucullu *et al.* (63) estudaram o efeito da oxigenoterapia hiperbárica em anastomoses cólicas realizadas após 24 horas da indução de peritonite por PLC. Antibiótico, ampicilina-sulbactam, e fluidos de ressuscitação foram empregados. A cicatrização das anastomoses foi aferida por três parâmetros: pressão de explosão, avaliação histológica e dosagem dos níveis de hidroxiprolina. Os autores concluíram que a oxigenioterapia hiperbárica, 2,5 ATA por 90 minutos diariamente, durante 3 e 7 dias, melhorou a pressão de explosão e não alterou os demais parâmetros

Neste trabalho não foram utilizados antibióticos ou hidratação parenteral. Portanto, o efeito de sinergismo entre HBO e os antibióticos não ocorreu. As anastomoses foram realizadas na fase inicial da sepse. O foco de peritonite, ou seja, as punções no ceco, não foram tratadas cirurgicamente, permanecendo assim durante todo experimento. A média da Energia Total de Ruptura foi de 127,8 gf.cm no Grupo Peritonite e de 133,22 gf.cm no Grupo Câmara Hiperbárica, não havendo diferença estatística entre os dois grupos.

5.6. Considerações finais

No trabalho onde a oxigenoterapia hiperbárica foi empregada para tratar anastomoses cólicas em presença de peritonite, ela foi efetiva em aumentar a resistência mecânica (63).

Porém, neste trabalho, a hiperóxia hiperbárica não foi capaz de reverter os danos locais e sistêmicos de sepse grave, bem como não diminuiu a mortalidade neste modelo de peritonite fecal difusa. A terapêutica com câmara hiperbárica não melhorou a resistência mecânica das anastomoses no quarto dia de pós-operatório na presença de peritonite.

Abre-se linha de pesquisa para obtenção de outros modelos de peritonite para estudo das anastomoses. Talvez a hiperóxia hiperbárica influencie resultados em outras condições de peritonite menos intensa ou possa alterar outros parâmetros não-mecânicos tais como histológico ou imunológico. Também fica em aberto a ação de um maior número de sessões de câmara hiperbárica.

Nesta mesma linha de pesquisa, além do teste Biomecânico Energia Total de Ruptura, outros métodos, biomecânicos ou não, poderão ser empregados para avaliar os efeitos da hiperoxigenação hiperbárica sobre as anastomoses cólicas na presença de peritonite.



6-CONCLUSÃO

6. Conclusão

As avaliações e análises dos resultados deste trabalho permitem a seguinte conclusão:

- A hiperoxigenação hiperbárica não altera a resistência mecânica das anastomoses realizadas no cólon distal de ratos na presença de peritonite induzida por punção e ligadura cecal.



7-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Halsted WS. Circular suture of the intestine: an experimental study. *Am J Med Sci.* 1887;94:436-61.
2. Nigro AJT. Anastomoses digestivas. In: Souza VCT. *Coloproctologia.* 4ª ed., Rio de Janeiro: Medsi; 1999.p.668-71.
3. Choi HK, Law WL, Ho JW. Leakage after resection and intraperitoneal anastomosis for colorectal malignancy: analysis of risk factors. *Dis Colon Rectum.* 2006 Nov;49(11):1719-25.
4. Kingham TP, Pachter HL. Colonic anastomotic leak: risk factors, diagnosis, and treatment. *J Am Coll Surg.* 2009 Feb;208(2):269-78.
5. Konishi T, Watanabe T, Kishimoto J, Nagawa H. Risk factors for anastomotic leakage after surgery for colorectal cancer: results of prospective surveillance. *J Am Coll Surg.* 2006 Mar;202(3):439-44.
6. Rocha AA, Andrade LC. Abdomên Agudo. In: Souza VCT. *Coloproctologia.* 4ª ed., Rio de Janeiro: Medsi; 1999.p.315.
7. Greca FH, Biondo-Simões MLP, Paula JB, Noronha L, Cunha LSF, Baggio PV. Correlação entre o fluxo sangüíneo intestinal e a cicatrização de anastomoses colônicas: estudo experimental em cães. *Acta Cir. Bras.* 2000;15 (Suppl 3) p.88-94.

8. Kasperk R, Philipps B, Vahrmeyer M, Willis S, Schumpelick V. Risk factors for anastomosis dehiscence after very deep colorectal and coloanal anastomosis. *Chirurg*. 2000 Nov;71(11):1365-9.
9. Schiedeck TH, Schwandner O, Baca I, Kasperk R, Philipps B, Vahrmeyer M, Willis S, Schumperlick V. Laparoscopic surgery for the cure of colorectal cancer: results of a German five-center study. *Dis Colon Rectum*. 2000 Jan;43(1):1-8.
10. Nesbakken A, Nygaard K, Lunde OC. Outcome and late functional results after anastomotic leakage following mesorectal excision for rectal cancer. *Br J Surg*. 2001 Mar;88(3):400-4.
11. Parra-Membrives P, Ruiz-Luque V, Escudero-Severín C, Aguilar-Luque J, Méndez-García V. Effect of pentoxifylline on the healing of ischemic colorectal anastomoses. *Dis Colon Rectum*. 2007 Mar;50(3):369-75.
12. Corman ML, Allison SI, Kuhene J. Carcinoma do Reto. In; Corman ML, Allison SI, Kuhene J. *Manual de Cirurgia Colorretal*. pg. 496-600. Revinter, 2006. Rio de Janeiro.
13. Cohen SR, Cornell CN, Collins MH, Sell JE, Blanc WA, Altman RP. Healing of ischemic colonic anastomoses in the rat: Role of antibiotic preparation. *Surgery*. 1985 Apr;97(4):443-6.

14. Hershey SD, Lucas CE, Ledgerwood AM, Cushing R. Effects of antimicrobials on wound healing. *Surg Forum*. 1987;33:30-1.
15. Mantovani M, Leonardi LS, Alcântara FG. Evolução da cicatrização em anastomoses do intestino grosso em condições de normalidade e sob a ação de drogas imunossupressoras: estudo comparativo em cães. *Rev Paul Med*. 1979;94:118-26.
16. Sousa JB, Soares EG, Aprilli F. Effects of diclofenac sodium on intestinal anastomotic healing. Experimental study on the small intestine of rabbits. *Dis Colon Rectum*. 1991 Jul;34(7):613-7.
17. Martins Jr A, Guimarães AS, Ferreira AL. Efeito de corticosteróides na cicatrização das anastomoses intestinais. *Acta Cir Bras*. 1992;7:28-30.
18. Furst MB, Stromberg BV, Blatchford GJ, Christensen MA, Thorson AG. Colonic anastomoses: bursting strength after corticosteroid treatment. *Dis Colon Rectum*. 1994 Jan;37(1):12-5.
19. Minossi JG. Ação do diclofenaco de sódio na cicatrização de anastomoses realizadas no íleo terminal e no cólon distal de ratos. Estudo da força de ruptura, hidroxiprolina tecidual e exame histopatológico. [Tese – Doutorado]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 1995.

20. Shandall AA, Willians GT, Hallett MB, Young HL. Colonic healing: a role for polymorphonuclear leucocytes and oxygen radical production. *Br J Surg*. 1986 Mar;73(3):225-8.
21. Garcia JG, Criado FJ, Persona MA, Alonso AG. Healing of colonic ischemic anastomoses in the rat: role of superoxide radicals. *Dis Colon Rectum*. 1998 Jul;41(7):892-5.
22. Yazdi PG, Miedema BW, Humphrey L. Immediate postoperative 5-FU does not decrease colonic anastomotic strength. *J Surg Oncol*. 1998 Nov;69(3):125-7.
23. Mantovani M, Leonardi LS, Alcântara FG, Hadler WA. Estudo comparativo entre suturas em um e dois planos no intestino delgado na vigência de drogas imunossupressoras: trabalho experimental no cão. *Rev Paul Med*. 1977;89:35-41.
24. Yarimkaya A, Apaydin B, Unal E, Karabicak I, Aydogan F, Uslu E, Erginoz E, Artis T, Eyuboglu E. Effects of recombinant human growth hormone and nandrolone phenylpropionate on the healing of ischemic colon anastomosis in rats. *Dis Colon Rectum*. 2003 Dec;46(12):1690-7.
25. Goodson WH 3rd, Hunt TK. Wound healing in experimental diabetes mellitus: importance of early insulin therapy. *Surg Forum*. 1978;29:95-8.

26. Irvin TT, Hunt TK. The effect of trauma on colonic healing. *Br J Surg.* 1974 Jun;61(6):430-6.
27. Brito MV, Koh IH, Lamarão LG, Damous SH. Effect of hypovolemic shock in anastomose of small intestine of rats. *Arq Gastroenterol.* 2001 Apr-Jun;38(2):116-24.
28. Pereira YEA. Influência do choque hemorrágico na anastomose de cólon sigmóide em ratos – avaliação com teste de resistência à pressão de ruptura [Dissertação]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2007.
29. Nascimento RB. Influência da omentoplastia na anastomose cólica de animais submetidos a choque hemorrágico: estudo experimental em ratos [Dissertação]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2007
30. Scott-Coombes DM, Vipond MN, Thompson JN. General surgeons' attitudes to the treatment and prevention of abdominal adhesions. *Ann R Coll Surg Engl.* 1993 Mar;75(2):123-8.
31. Garcia-Olmo D, Lucas FJ, Paya J. Relationship between peritoneal adhesion phenomena and the experimental resistance of colonic anastomoses: influence of omentoplasty. *Eur Surg Res.* 1996 Jul-Aug;28(4):315-22.

32. DeCherney AH, diZerega GS. Clinical problem of intraperitoneal postsurgical adhesion formation following general surgery and the use of adhesion prevention barriers. *Surg Clin North Am.* 1997 Jun;77(3):671-88.

33. Wu FC. Estudo da ação das aderências sobre anastomose cólica: trabalho experimental em ratos [Dissertação]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2000.

34. Mochizuki M. Efeito das aderências dirigidas sobre anastomose cólica isquêmica: Trabalho experimental em ratos [Dissertação]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2005.

35. Hunt TK, Pai MP. The effect of varying ambient oxygen tensions on wound metabolism and collagen synthesis. *Surg Gynecol Obstet.* 1972 Oct;135(4):561-7.

36. Schrock TR, Deveney CW, Dunphy JE. Factor contributing to leakage of colonic anastomoses. *Ann Surg.* 1973 May;177(5):513-8.

37. Fielding LP, Stewart-Brown S, Blesovsky L, Kearney G. Anastomotic integrity after operations for large-bowel cancer: a multicentre study. *Br Med J.* 1980 Aug 9;281(6237):411-4.

38. Tagart RE. Colorectal anastomosis: factors influencing success. *J R Soc Med.* 1981 Feb;74(2):111-8.

39. Khoury GA, Waxman BP. Large bowel anastomoses. I. The healing process and sutured anastomoses. A review. *Br J Surg*. 1983 Feb;70(2):61-3.
40. Foster ME, Laycock JR, Silver IA, Leaper DJ. Hypovolaemia and healing in colonic anastomoses. *Br J Surg*. 1985 Oct;72(10):831-4.
41. Van der Ham AC, Kort WJ, Weijma IM, Van den Ingh HF, Jeekel H. Healing of ischemic colonic anastomosis: fibrin sealant does not improve wound healing. *Dis Colon Rectum*. 1992 Sep;35(9):884-91.
42. Hamzaoglu I, Karahasanoglu T, Aydin S, Sahin DA, Carkman S, Sariyar M, et al. The effects of hyperbaric oxygen on normal and ischemic colon anastomoses. *Am J Surg*. 1998 Nov;176(5):458-61.
43. Wu FC. Estudo dos efeitos de diferentes concentrações de oxigênio e da hiperoxigenação hiperbárica sobre anastomoses cólicas comprometidas ou não pela isquemia: trabalho experimental em ratos [Tese – Doutorado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2003.
44. Attard JA, Raval MJ, Martin GR, Kolb J, Afrouzian M, Buie WD, et al. The effects of systemic hypoxia on colon anastomotic healing: an animal model. *Dis Colon Rectum*. 2005 Jul;48(7):1460-70.

45. Yagci G, Ozturk E, Ozgurtas T, Gorgulu S, Kutlu OC, Topal T, et al. Preoperative and postoperative administration of hyperbaric oxygen improves biochemical and mechanical parameters on ischemic and normal colonic anastomoses. *J Invest Surg.* 2006 Jul-Aug;19(4):237-44.
46. Irvin TT. Collagen metabolism in infected colonic anastomoses. *Surg Gynecol Obstet.* 1976 Aug;143(2):220-4.
47. Hesp FL, Hendriks T, Lubbers EJ, de Boer HH. Wound healing in the intestinal wall. Effects of infection on experimental ileal and colonic anastomoses. *Dis Colon Rectum.* 1984 Jul;27(7):462-7.
48. Gutman M, Klausner JM, Lelcuk S. Fecal peritonitis - the effect on anastomotic healing. *Eur Surg Res.* 1993;25(6):366-9.
49. Naresse LE, Souza CV. Efeito da peritonite fecal na cicatrização do cólon distal no rato: avaliação anatomopatológica, estudo da força de ruptura e da hidroxiprolina tecidual. *Acta Cir Bras.* 1993;8(2):48-53.
50. Minossi JG, Naresse LE, Leite CVS, Rodrigues MAM, Angeleli MAY, Curi PR, et al. Fecal peritonitis in the rat. Alterations of the distal colon wall. A biomechanical and anatomopathologic study. *Acta Cir Bras.* 1994;9(1):12-8.

51. Ahrendt GM, Tantry US, Barbul A. Intra-abdominal sepsis impairs colonic reparative collagen synthesis. *Am J Surg.* 1996 Jan;171(1):102-7.

52. Biondo-Simões MLP, Adur RC, de La Quintana LF, Gonçalves CA, Demarchi HL, Mello AL, et al. Evolution of left colon anastomosis after focal peritonitis induction in rats. *Arq Gastroenterol.* 1996 Apr-Jun;33(2):79-85.

53. Thornton FJ, Barbul A. Healing in the gastrointestinal tract. *Surg Clin North Am.* 1997 Jun;77(3):549-73.

54. Orlando MD, Chendrasekhar A, Bundz S, Burt ET, Moorman DW, Timberlake GA. The effect of peritoneal contamination on wound strength of small bowel and colonic anastomoses. *Am Surg.* 1999 Jul;65(7):673-5.

55. Biondo-Simões MLP, Greca FH, Bryk Junior A, Komatsu MCG, Bittencourt FO, Greca LM. Influência da peritonite sobre a síntese de colágeno em anastomoses do cólon distal: estudo experimental em ratos. *Acta Cir Bras.* 2000;15(Suppl 3):69-73.

56. Kiyama T, Onda M, Tokunaga A, Yoshiyuki T, Barbul A. Effect of early postoperative feeding on the healing of colonic anastomoses in the presence of intra-abdominal sepsis in rats. *Dis Colon Rectum.* 2000 Oct;43(10 Suppl):S54-8.

57. Fraga GP. Análise dos fatores de risco no tratamento das lesões do ceco com sutura primária em ratos [Dissertação]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2001.

58. de Hingh IH, de Man BM, Lomme RM, van Goor H, Hendriks T. Colonic anastomotic strength and matrix metalloproteinase activity in an experimental model of bacterial peritonitis. *Br J Surg.* 2003 Aug;90(8):981-8.

59. Aytakin FO, Teke Z, Aydin C, Kabay B, Yenisey C, Sacar S, Demir EM, Tekin K. Effects of a membrane-permeable radical scavenger, Tempol, on healing of colonic anastomoses in the cecal ligation and puncture model of polymicrobial sepsis in rats. *Am J Surg.* 2007 Jun;193(6):723-9.

60. Teke Z, Aytakin FO, Aydin C, Kabay B, Yenisey C, Sacar S, et al. Effects of pyrrolidine dithiocarbamate on healing of colonic anastomoses in the cecal ligation and puncture model of intraperitoneal sepsis in rats. *World J Surg.* 2007 Jan;31(1):200-9.

61. Teke Z, Sacar S, Yenisey C, Atalay AO, Kavak T, Erdem E. Role of activated protein C on wound healing process in left colonic anastomoses in the presence of intra-abdominal sepsis induced by cecal ligation and puncture: an experimental study in the rat. *World J Surg.* 2008 Nov;32(11):2434-43.

62. Brocco MC, Paulo DN, Baptista JF, Carraretto AR, Ferrari TA, de Azevedo TC, da Silva AL. Effects of peritoneal lavage with bupivacaine on survival of mice with fecal peritonitis. *Rev Bras Anesthesiol*. 2008 Sep-Oct;58(5):474-9, 470-4.

63. Sucullu I, Sinan H, Filiz AI, Yildiz S, Yucel E, Kurt Y, et al. The effects of hyperbaric oxygen therapy on colonic anastomosis in rats with peritonitis. *J Invest Surg*. 2008 Jul-Aug;21(4):195-200.

64. Uludag M, Citgez B, Ozkaya O, Yetkin G, Ozcan O, Polat N, Isgor A. Effects of amniotic membrane on the healing of primary colonic anastomoses in the cecal ligation and puncture model of secondary peritonitis in rats. *Int J Colorectal Dis*. 2009 May;24(5):559-67.

65. Malangoni MA. Current concepts in peritonitis. *Curr Gastroenterol Rep*. 2003 Aug;5(4):295-301.

66. Reis Neto JA, Brandalise NA, Leonardi LS, Mantovani M, Medeiros RR, Vlieira RW. Anastomose intestinal extramucosa. In: *Congresso Brasileiro de Proctologia 1971*; Salvador (BR).

67. Leonardi LS. Resultados do emprego da sutura em plano único extramucoso na cirurgia gástrica. [Tese – Livre Docência]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 1973.

68. Mantovani M. Sutura seromuscular extramucosa em plano único na cirurgia do intestino. [Tese – Doutorado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 1973.

69. Rosemberg D, Frazatto Jr. C., Mantovani M, Vieira RW, Medeiros RR. Estudo experimental comparativo entre as suturas em plano único total, extramucosa e de eversão. Rev Paul Med. 1973;81:5-11.

70. Medeiros RR. Estudo comparativo da cicatrização nas anastomoses do esôfago cervical com técnicas de sutura em um e dois planos: trabalho experimental em cães. [Tese – Doutorado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 1973.

71. Leonardi LS, Brandalise NA, Mantovani M, de Medeiros RR. Technic of duodenal opening and suturing. AMB Rev Assoc Med Bras. 1974 Mar;20(3):109-10.

72. Mantovani M, Medeiros RR, Leonardi LS. Sutura seromuscular extramucosa em plano único na cirurgia do intestino. Rev Paul Med. 1975a;86:125-30

73. Mantovani M, Reis Neto JA, Medeiros RR, Fagundes JJ. Fechamento de colostomia em alça com sutura seromuscular extramucosa com justaposição das bordas. Rev Ass Med Brasil. 1975b;21:223-5.

74. Leonardi LS, Mantovani M, Medeiros RR. Gastrectomias em plano único. Rev Paul Med. 1975 May-Jun;85(5-6):109-15.

75. Mantovani M, Leonardi LS. Estudo comparativo entre sutura em um e dois planos no intestino delgado na vigência de imunossupressão. In: Congresso Latinoamericano de Proctologia 1975; Buenos Aires (ARG).

76. Medeiros RR, Mantovani M, Leonardi LS, Fagundes JJ, Morisot P. Estudo comparativo da cicatrização nas anastomoses do esôfago cervical com técnicas de sutura em um e dois planos : trabalho experimental em cães. Rev Paul Med. 1975;86:102-2.

77. Mantovani M, Leonardi LS, Alcântara FG, Medeiros RR, Fagundes JJ, Hadler WA. Estudo comparativo entre diferentes variedades de sutura em um e dois planos no intestino delgado. Trabalho experimental no cão. AMB Rev Assoc Med Bras. 1976a Mar;22(3):79-86.

78. Mantovani M, Leonardi LS, Alcântara FG, Medeiros RR, Fagundes JJ, Hadler WA. Estudo comparativo entre diferentes variedades de sutura em um e dois planos no intestino grosso. Trabalho experimental no cão. AMB Rev Assoc Med Bras. 1976bJul;22(7):245-51.

79. Mantovani M, Leonardi LS, Alcântara FG, Hadler WA. Estudo comparativo entre suturas em plano único e em dois planos no intestino delgado na vigência de isquemia: trabalho experimental no cão. Rev Paul Med. 1976c;87:56-63.

80. Mantovani M, Leonardi LS, Alcântara FG, Hadler WA. Anastomose intestinal. Rev Col Bras Cir. 1976d;3:93-4.

81. Leonardi LS, Mantovani M, Brandalise NA, Medeiros RR, Fagundes JJ. Técnica de anastomose duodenojejunal no tratamento das lesões da terceira e quarta porções do duodeno. Rev Col Bras Cir. 1976a;3:112-5.

82. Leonardi LS, Mantovani M, Medeiros RR, Brandalise NA, Fagundes JJ. Resultados do emprego da sutura em plano único extramucoso na cirurgia da úlcera péptica perfurada. Rev Col Bras Cir. 1976b,3:139- 43.

83. Leonardi LS, Mantovani M, Raia AA. Seromuscular extamucosal one layer suture technique in gastrointestinal surgery. Surg Gastroent. 1976c,10:45-6.

84. Reis Neto JA. Anastomose intestinal (cólica) em plano único seromuscular extramucoso com justaposição das bordas, com pontos separados. Rev Col Bras Cir. 1976;3:100-2.

85. Leonardi LS, Brandalise NA, Mantovani M, Carvalho PL, Fagundes JJ. Anastomose coledocoduodenal látero-látero. Estudo crítico. Arq Gastroent. 1977a;14:144-8.

86. Leonardi LS, Mantovani M, Alcântara FG, Hadler WA. Estudo comparativo entre suturas em plano único e em dois planos no intestino delgado na vigência de peritonite: trabalho experimental no cão. Rev Paul Med. 1977bJan-Feb;89(1-2):5-11.

87. Leonardi LS, Reis Neto JA, Brandalise NA, Mantovani M, Medeiros RR, Fagundes JJ. Sutura em plano único na cirurgia gastrointestinal: resultados clínicos em 756 doentes. Rev Col Bras Cir. 1977c;4:223-33.

88. Brandalise NA, Leonardi LS, Mantovani M, Costa LA, Andreollo NA. A eletrocauterização para hemostasia dos vasos da submucosa em cirurgia do aparelho digestivo. Rev Paul Med. 1979 Nov-Dec;94(5-6):130-1.

89. Medeiros RR. Emprego experimental do bisturi elétrico nas anastomoses do intestino grosso. Estudo da cicatrização à microscopia óptica e de polarização. [Tese - Livre Docência]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 1982.

90. Fagundes JJ. Resultado do tratamento do câncer do terço médio do reto pela retocolectomia abdominoperineal com anastomose retardada. [Dissertação]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 1986.

91. Quilici FA. Anastomose mecânica e manual em reto extraperitoneal. Estudo comparativo em cães [Tese – Doutorado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 1988.

92. Fagundes JJ. Estudo comparativo da cicatrização de anastomoses cólicas realizadas com o auxílio do bisturi elétrico e do bisturi “laser” de dióxido de carbono: trabalho experimental em cães. [Tese – Doutorado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 1990.

93. Cordeiro F. Anastomose mecânica em reto extraperitoneal [Tese – Doutorado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 1995.

94. Amaral CAR. Estudo comparativo entre anastomoses realizadas com sutura manual e com a técnica de compressão sem sutura com anel biofragmentável: trabalho experimental em cães. [Dissertação]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 1997.

95. Coy CSR. Correlação entre parâmetros fisiológicos e função clínica nas anastomoses coloanais com e sem reservatório [Tese – Doutorado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 1997.

96. Nieri TM. Estudo sobre o comportamento mecânico do cólon íntegro e com anastomose. Trabalho experimental em ratos [Dissertação]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 1999.
97. Machado RB, Lee HD, Wu FC, Fagundes JJ, Góes JR, Coy CSR, Voltolini RF, Metz J. A computational system to evaluate biomechanical colonic test: SABI - Biomechanical data acquisition and analysis system. In: International conference on computer science, software engineering and information technology. Proceedings; 2002; Foz do Iguaçu (BRA).
98. Wu FC, Ayrizono ML, Fagundes JJ, Coy CSR, Góes JRN, Leonardi LS. Estudos biomecânicos da ação de aderências sobre anastomose cólica. Trabalho experimental em ratos. Acta Cir Bras. 2003;18:216-33.
99. Rocha AA. Estudo comparativo da hiperoxigenação hiperbárica em alças cólicas isquêmicas: trabalho experimental em ratos [Dissertação]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2004.
100. Wu FC, Lee HD, Machado RB, Dalmás S, Coy CSR, Góes JRN, et al. Energia total de ruptura: um teste biomecânico para avaliação de material biológico com propriedade viscoelástica não linear. Acta Cir Bras. 2004;19:609-16.

101. Mochizuki M, Chung WF, Coy CS, Ayrizono ML, Góes JR, Fagundes JJ. Effect of guided adhesions on ischemic colic anastomoses in rats. *Acta Cir Bras.* 2005 May-Jun;20(3):247-52.
102. Rocha AA, Coy CSR, Góes JRN, Ayrizono MLS, Chung WF, Fagundes JJ. Comparative study of the hyperbaric hyperoxygenation in ischemic colonic loops in rats. *Acta Cir Bras.* 2007 Mar-Apr;22(2):85-91.
103. Pereira, YEA, Fagundes JJ, Morandini RC, Ayrizono MLS, Nascimento RB, Leal RF, et al. Hemorrhagic shock influence on colonic anastomoses in rats: evaluation of rupture by liquid distension resistance test. *Acta Cir. Bras.* 2008 June;23(3):237-42.
104. Bolzam-Nascimento R, Coy CS, Pereira YE, Leal RF, Reis RC, Mantovani M, et al. Influence of omentoplasty on colonic anastomosis in animals submitted to hemorrhagic shock in rats. *Acta Cir Bras.* 2009 May-Jun;24(3):233-8.
105. Iazzetti PE. Hiperoxigenação hiperbárica. In: Terzi RGG. Equilíbrio ácido-básico e transporte de oxigênio. São Paulo: Manole; 1992.p.180-204.
106. Iazzetti PE. Efeitos da hiperoxigenação hiperbárica na sepse por ligadura e punção cecal em ratos: aspectos microbiológicos, hematológicos e imunológicos [Tese – Doutorado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 1996.

107. Iazzetti PE, Terzi RGG. Hipóxia e radicais livres do oxigênio na sepsi. In: Rocha e Silva M. Choque. Clínicas brasileiras de medicina intensiva. São Paulo: Ateneu; 1996.p.27-29.
108. Gottrup F. Oxygen in wound healing and infection. World J Surg. 2004 Mar;28(3):312-5.
109. Tandara AA, Mustoe TA. Oxygen in wound healing - more than a nutrient. World J Surg. 2004 Mar;28(3):294-300.
110. Gottrup F, Firmin R, Rabkin J, Halliday BJ, Hunt TK. Directly measured tissue oxygen tension and arterial oxygen tension assess tissue perfusion. Crit Care Med. 1987 Nov;15(11):1030-6.
111. Gordillo GM, Sen CK. Revisiting the essential role of oxygen in wound healing. Am J Surg. 2003 Sep;186(3):259-63.
112. Sen CK, Packer L. Antioxidant and redox regulation of gene transcription. FASEB J. 1996 May;10(7):709-20.
113. Sen CK, Khanna S, Gordillo G, Bagchi D, Bagchi M, Roy S. Oxygen, oxidants, and antioxidants in wound healing: an emerging paradigm. Ann N Y Acad Sci. 2002 May;957:239-49.

114. Knighton DR, Silver IA, Hunt TK. Regulation of wound-healing angiogenesis-effect of oxygen gradients and inspired oxygen concentration. *Surgery*. 1981 Aug;90(2):262-70.

115. Knighton DR, Hunt TK, Scheuenstuhl H, Halliday BJ, Banda MJ. Oxygen tension regulates the expression of angiogenesis factor by macrophages. *Science*. 1983 Sep 23;221(4617):1283-5.

116. Maniscalco WM, Watkins RH, Finkelstein JN, Campbell MH. Vascular endothelial growth factor mRNA increases in alveolar epithelial cells during recovery from oxygen injury. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1995 Oct;13(4):377-86.

117. Darrington RS, Godden DJ, Park MS, Ralston SH, Wallace HM. The effect of hypoxia on the expression of cytokine mRNA in endothelial cells. *Biochem Soc Trans*. 1997 May;25(2):292S.

118. Sheikh AY, Gibson JJ, Rollins MD, Hopf HW, Hussain Z, Hunt TK. Effect of hyperoxia on vascular endothelial growth factor levels in wound model. *Arch Surg*. 2000 Nov;135(11):1293-7.

119. Roy S, Khanna S, Bickerstaff AA, Subramanian SV, Atalay M, Bierl M. et al. Oxygen sensing by primary cardiac fibroblasts: a key role of p21 (Waf1/Cip1/Sdi1). *Circ Res*. 2003 Feb 21;92(3):264-71.

120. Paulo DN, Kalil M, Grillo Junior LS, Borges EB, Cintra LC, Pereira FE, et al. Viability of the spleen in rats after ligation of the splenic vessels: effects of hyperbaric oxygen therapy. *Rev Assoc Med Bras.* 2005 Jan-Feb;51(1):46-50.

121. Paulo IC, Paulo DN, Cintra LC, Santos MC, Rodrigues H, Ferrari TA, et al. Preservative spleen surgery and hyperbaric oxygen therapy. *Acta Cir Bras.* 2007 Mar-Apr;22 Suppl 1:21-8.

122. Paulo IC, Paulo DN, Ferrari TA, Azeredo TC, Silva AL. The splenic inferior pole of rats and hyperbaric oxygen. *Rev Assoc Med Bras.* 2008 Jan-Feb;54(1):77-81.

123. Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. *Surg Clin North Am.* 1997 Jun;77(3):509-28.

124. Udenfriend S. Formation of hydroxyproline in collagen. *Science.* 1966 Jun 3;152(727):1335-40.

125. Prockop D, Kivirikko K, Tuderman L, Guzman N. The biosynthesis of collagen and its disorders (part 1). *N Engl J Med.* 1979a Jul 5;301(1):13-23.

126. Prockop D, Kivirikko K, Tuderman L, Guzman N. The biosynthesis of collagen and its disorders (part 2). *N Engl J Med.* 1979b Jul 12;301(2):77-85.

127. Hutton J, Tappel A, Udenfried S. Cofactor and substrate requirements of collagen proline hydroxylase. *Arch Biochem Biophys*. 1967;118:231-40.
128. Niinikoski J. Effect of oxygen supply on wound healing and formation of experimental granulation tissue. *Acta Physiol Scand Suppl*. 1969;334:1-72.
129. Stephens FO, Hunt TK. Effect of changes in inspired oxygen and carbon dioxide tensions on wound tensile strength: an experimental study. *Ann Surg*. 1971 Apr;173(4):515-9.
130. Niinikoski J, Hunt TK, Dunphy JE. Oxygen supply in healing tissue. *Am J Surg*. 1972 Mar;123(3):247-52.
131. Hunt TK. Basic principles of wound healing. *J Trauma*. 1990 Dec;30(12 Suppl):S122-8.
132. Hopf HW, Hunt TK, West JM, Blomquist P, Goodson WH 3rd, Jensen JA, et al. Wound tissue oxygen tension predicts the risk of wound infection in surgical patients. *Arch Surg*. 1997 Sep;132(9):997-1004.
133. Babior BM. Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes. *N Engl J Med*. 1978 Mar 23;298(12):659-68.

134. Knighton DR, Halliday BJ, Hunt TK. Oxygen as an antibiotic: a comparison of inspired oxygen concentration and antibiotic administration on in vivo bacterial clearance. *Arch Surg*. 1986 Feb;121(2):191-5.
135. Park MK, Muhvich KH, Myers RA, Marzella L. Hyperoxia prolongs the aminoglycoside-induced postantibiotic effect in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1991 Apr;35(4):691-5.
136. Gottlieb SF, Solosky JA, Aubrey R, Nedelkoff DD. Synergistic action of increased oxygen tensions and PABA-folic acid antagonists on bacterial growth. *Aerosp Med*. 1974 Aug;45(8):829-33.
137. Kaide CG, Khandelwal S. Hyperbaric oxygen: applications in infectious disease. *Emerg Med Clin North Am*. 2008 May;26(2):571-95.
138. Allen DB, Maguire JJ, Mahdavian M, Wicke C, Marcocci L, Scheuenstuhl H, et al. Wound hypoxia and acidosis limit neutrophil bacterial killing mechanisms. *Arch Surg*. 1997 Sep;132(9):991-6.
139. Hirn M. Hyperbaric oxygen in the treatment of gas gangrene and perineal necrotizing fasciitis. A clinical and experimental study. *Eur J Surg Suppl*. 1993;(570):1-36.

140. Quirinia A, Viidik A. The effect of hyperbaric oxygen on different phases of healing of ischaemic flap wounds and incisional wounds in skin. *Br J Plast Surg.* 1995 Dec;48(8):583-9.
141. Tibbles PM, Edelsberg JS. Hyperbaric-oxygen therapy. *N Engl J Med.* 1996 Jun 20;334(25):1642-8.
142. Fisher B, Jain KK. Physical and physiological basis of hyperbaric oxygenation. In: *Handbook of hyperbaric oxygen therapy.* Berlin: Springer-Verlag; 1988.
143. Guyton AC. Transporte de oxigênio e dióxido de carbono entre os alvéolos e células teciduais. In: Guyton AC. *Fisiologia humana e mecanismos das doenças.* 3ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara; 1986. p.264-74.
144. Basset BE, Bennen PB. Introduction to the physical and physiological bases of hyperbaric therapy. In: Davis JC. *Hyperbaric oxygen therapy.* Maryland: Undersea Medical Society; 1977. p.11-24.
145. Lambertsen CJ, Stroud MW, Gould RA, Kough RH, Ewing JH, Schmidt CF. Oxygen toxicity; respiratory responses of normal men to inhalation of 6 and 100 per cent oxygen under 3.5 atmospheres pressure. *J Appl Physiol.* 1953 Mar;5(9):487-93.

146. Davis JC, Dunn JM, Heimbach RD. Hyperbaric medicine: patients selection, treatment procedures, and side affects. In: Davis JC, Hunt TK. Problem wounds: the role of oxygen. New York: Elsevier Science publishing Co Inc; 1988. p.225-35.
147. Marx RE, Ehler WJ, Tayapongsak P, Pierce LW. Relationship of oxygen dose to angiogenesis induction in irradiated tissue. Am J Surg. 1990 Nov;160(5):519-24.
148. Grim PS, Gottlieb LJ, Boddie A, Batson E. Hyperbaric oxygen therapy. JAMA. 1990 Apr 25;263(16):2216-20.
149. Gadd MA, McClellan DS, Neuman TS, Hansbrough JF. Effect of hyperbaric oxygen on murine neutrophil and T-lymphocyte functions. Crit Care Med. 1990 Sep;18(9):974-9.
150. Rister M. Effects of hyperoxia on phagocytosis. Blut. 1982 Sep;45(3):157-66.
151. Sheffield PJ. Tissue oxygen measurements. In Davies JC, Hunt TK. Problem wounds. The role of oxygen. New York: Elsevier Sciense; 1988.p.17-51.
152. Mantovani M, Iazzetti PE, Rizoli SB, Neto AC, Filho AB, Leonardi LS. Efeitos da oxigenoterapia hiperbárica na peritonite fecal experimental. Rev Col Bras Cir. 1989;16(2):84-6.

153. Wichterman KA, Baue AE, Chaudry IH. Sepsis and septic shock - a review of laboratory models and a proposal. *J Surg Res.* 1980 Aug;29(2):189-201.
154. Deitch EA. Rodent models of intra-abdominal infection. *Shock.* 2005 Dec;24(Suppl 1):19-23.
155. Schoeffel U, Windfuhr M, Freudenberg N, Treutner KH, Jacobs E, Galanos C. The role of intestinal endotoxin in experimental peritonitis. *Circ Shock.* 1989 Jan;27(1):83-91.
156. Brooks HF, Osabutey CK, Moss RF, Andrews PL, Davies DC. Cecal ligation and puncture in the rat mimics the pathophysiological changes in human sepsis and causes multi-organ dysfunction. *Metab Brain Dis.* 2007 Dec;22(3-4):353-73.
157. Pancoto JA, Corrêa PB, Oliveira-Pelegrin GR, Rocha MJ. Autonomic dysfunction in experimental sepsis induced by cecal ligation and puncture. *Auton Neurosci.* 2008 Feb 29;138(1-2):57-63.
158. Scheiermann P, Hoegl S, Revermann M, Ahluwalia D, Zander J, Boost KA, et al. Cecal ligation and incision: an acute onset model of severe sepsis in rats. *J Surg Res.* 2008 Jan;151(1):132-7.
159. Souza Filho ZA, Ioshii SO, Greca FH, Biondo-Simões MLP, Rocha SL, Duda JR, et al. Emprego da submucosa de intestino delgado porcino no reparo de

lesões do esôfago cervical. Estudo experimental em cães. *Acta Cir Bras.* 2003; 18(3):224-31.

160. Forrester JC. Mechanical, biochemical, and architectural features of surgical repair. *Adv Biol Med Phys.* 1973;14:1-34.

161. Ahrendt GM, Gardner K, Barbul A. Loss of colonic structural collagen impairs healing during intra-abdominal sepsis. *Arch Surg.* 1994 Nov;129(11):1179-83.

162. Hendriks T, Mastboom WJ. Healing of experimental intestinal anastomoses. Parameters for repair. *Dis Colon Rectum.* 1990 Oct;33(10):891-901.

163. Koruda MJ, Rolandelli RH. Experimental studies on the healing of colonic anastomoses. *J Surg Res.* 1990 May;48(5):504-15.

164. Guzel S, Sunamak O, AS A, Celik V, Ferahman M, Nuri MM, Gazioglu E, Atukeren P, Mutlu O. Effects of hyperbaric oxygen and Pgg-glucan on ischemic colon anastomosis. *World J Gastroenterol.* 2006 Mar 7;12(9):1421-5.

165. Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomoses. I. Bursting strength of the colon after left colon resection and anastomosis. *Am J Surg.* 1978 Nov;136(5):587-94.

166. Gottrup F. Healing of incisional wounds in stomach and duodenum. A biomechanical study. *Am J Surg.* 1980 Aug;140(2):296-301.

16. Lionço JD, Lionço LC, Filippi LT, Lionço CC, Volkweiss B, Gurski RR. Effect of hyperbaric oxygen therapy on esophagojejunal anastomosis healing in rats. *Acta Cir Bras.* 2008 Nov-Dec;23(6):491-6.