



**MICHEL GARDERE CAMARGO**

**INFLUÊNCIA DA LAVAGEM PERITONEAL  
COM BUPIVACAÍNA NA MORTALIDADE E NA  
RESISTÊNCIA DE ANASTOMOSE CÓLICA EM  
VIGÊNCIA OU NÃO DE PERITONITE FECAL:  
estudo experimental em ratos**

**Campinas  
2014**





---

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**  
**Faculdade de Ciências Médicas**

**MICHEL GARDERE CAMARGO**

**INFLUÊNCIA DA LAVAGEM PERITONEAL COM BUPIVACAÍNA NA  
MORTALIDADE E NA RESISTÊNCIA DE ANASTOMOSE CÓLICA EM  
VIGÊNCIA OU NÃO DE PERITONITE FECAL:  
estudo experimental em ratos**

**Orientador: Profa. Dra. Maria de Lourdes Setsuko Ayrizono**

**Co-orientador: Prof. Dr. Cláudio Saddy Rodrigues Coy**

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP para obtenção do título Mestre em Ciências.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELO ALUNO MICHEL GARDERE CAMARGO E ORIENTADA PELA PROFA. DRA MARIA DE LOURDES SETUSKO AYRIZONO

---

Assinatura da Orientadora

**Campinas**  
**2014**

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas  
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

C14i Camargo, Michel Gardere, 1979-  
Influência da lavagem peritoneal com bupivacaína na mortalidade e na resistência de anastomose cólica em vigência ou não de peritonite fecal : estudo experimental em ratos / Michel Gardere Camargo. – Campinas, SP : [s.n.], 2014.

Orientador : Maria de Lourdes Setsuko Ayrizono.  
Coorientador : Cláudio Saddy Rodrigues Coy.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Anestésicos locais. 2. Bupivacaína. 3. Cólon. 4. Anastomose cirúrgica. 5. Modelos animais. I. Ayrizono, Maria de Lourdes Setsuko, 1962-. II. Coy, Cláudio Saddy Rodrigues, 1961-. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** Influence of the peritoneal lavage with bupivacaine on the mortality and resistance of colonic anastomoses performed under fecal peritonitis or not : experimental study in rats

**Palavras-chave em inglês:**

Anesthetics, Local

Bupivacaine

Colon

Anastomosis, Surgical

Models, Animal

**Área de concentração:** Fisiopatologia Cirúrgica

**Titulação:** Mestre em Ciências

**Banca examinadora:**

Maria de Lourdes Setsuko Ayrizono [Orientador]

Luis Roberto Lopes

Luiz Henrique Cury Saad

**Data de defesa:** 12-03-2014

**Programa de Pós-Graduação:** Ciências da Cirurgia

---

**BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO**

**MICHEL GARDERE CAMARGO**

---

Orientadora PROFA. DRA. MARIA DE LOURDES SETSUKO AYRIZONO

---

**MEMBROS:**

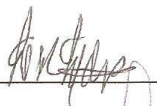
---

1. PROFA. DRA. MARIA DE LOURDES SETSUKO AYRIZONO



---

2. PROF. DR. LUIS ROBERTO LOPES



---

3. PROF. DR. LUIZ HENRIQUE CURY SAAD



---

---

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

---

**Data: 12 de março de 2014**

---



*Aos meus pais, Marcus e Patrícia, e meu irmão Christian. Graças  
a vocês tudo na minha vida foi possível.*

*À minha mulher Greice e minha filha Lara, meus maiores tesouros.*





*“É sempre prudente olhar em frente, mas é difícil olhar  
para mais longe do que se pode ver.”*

**Winston Churchill**



## AGRADECIMENTOS

À **UNICAMP**, instituição da qual faço parte desde 1998 e que me deu sólida formação teórica e prática, sendo determinante para minha carreira profissional. Foi o local onde construí minha vida pessoal e profissional, e que me brindou com toda sorte de sentimentos e emoções.

À **Profa. Dra. Maria de Lourdes Setsuko Ayrizono**, docente do grupo de Coloproctologia da Disciplina de Moléstias do Aparelho Digestivo (FCM-UNICAMP), pelo aceite de orientação e pelo apoio na pós-graduação. Mais do que isso, agradeço pelas lições recebidas ao longo da graduação e da residência médica. Dotada de vasta experiência clínico-cirúrgica, seu empenho é um exemplo a ser seguido. Obrigado pelos muitos conhecimentos transmitidos e pela amizade que desenvolvemos ao longo do tempo.

Ao **Prof. Dr. João José Fagundes**, docente do grupo de Coloproctologia da Disciplina de Moléstias do Aparelho Digestivo (FCM-UNICAMP), pela honra de tê-lo tido como professor na faculdade e preceptor na residência. Não tenho palavras para agradecer seu imenso apoio e seu compartilhamento de experiência em Cirurgia Experimental, que foram determinantes para a realização deste trabalho. Mais do que cirurgião inteligente e habilidoso, um verdadeiro médico e um iluminado professor. Em minha mente, perduram seus ensinamentos de vida e de Medicina.

Ao **Prof. Dr. Cláudio Saddy Rodrigues Coy**, coordenador do grupo de Coloproctologia da Disciplina de Moléstias do Aparelho Digestivo (FCM-UNICAMP) e co-orientador deste trabalho, pelo privilégio de tê-lo conhecido e ter me dado tantas oportunidades. Juntamente com o **Prof. Dr. João José Fagundes**, forjou meus alicerces na Coloproctologia, transmitindo seu vasto conhecimento muito além da Medicina. Modelo de dedicação e competência, ao qual espero um dia poder retribuir parte do tanto que me foi dado.

À **Profa. Dra. Raquel Franco Leal**, docente do grupo de Coloproctologia da Disciplina de Moléstias do Aparelho Digestivo (FCM-UNICAMP), sou muito grato pelos ensinamentos transmitidos e pelo convívio ao longo do tempo. Orgulho-me desta

profissional exemplar, destacando-se em cenário nacional e com muito a contribuir com a Coloproctologia.

Aos colegas de trabalho do grupo de Coloproctologia da Disciplina de Moléstias do Aparelho Digestivo (FCM-UNICAMP), **Dr. Umberto Morelli, Dra. Débora Helena dos Gonçalves Rossi, Dra. Natália Pranzetti Vieira e Dra. Priscilla de Sene Portel Oliveira**, médicos talentosos e de enorme potencial em desenvolvimento. Obrigado pelo compartilhamento das atividades diárias e pela amizade que temos.

Aos outros docentes e médicos assistentes da Disciplina de Moléstias do Aparelho Digestivo (FCM-UNICAMP), obrigado por terem sido os responsáveis pela minha formação em Cirurgia Gastroenterológica e pelos relacionamentos que criamos.

Aos biólogos **William Adalberto Silva e Ana Cristina de Moraes**, e aos funcionários do NMCE/UNICAMP, muito obrigado pelo apoio e pela qualidade do serviço prestado em todos os momentos de meus experimentos.

Aos colegas **Dr. André Canesso Pierro, Dr. Celso de Oliveira, Dr. Fábio Cavalheiro Dória e Dr. Sandro Nunes Ângelo**, que me deram a chance de integrar sua equipe cirúrgica na medicina privada. Ajudando-me a consolidar minha técnica, esses cirurgiões altamente capacitados e de caráter inquestionável, são verdadeiros amigos que tornam a rotina cirúrgica um prazer.

Ao **Prof. Dr. Ryu Munemasa**, ex-diretor do Chiba Cancer Center (Chiba, Japão), que ao me receber em seu serviço abriu-me uma nova perspectiva da Medicina. Obrigado pelos conselhos dados e pela amizade que criamos. Apesar da distância, conseguimos uma forma de ficarmos próximos um ao outro.

# SUMÁRIO

<b>RESUMO.....</b>	<b>xix</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xxi</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>23</b>
1.1.Considerações Gerais .....	24
1.2.Fatores Relacionados à Cicatrização de Anastomoses Intestinais.....	25
1.2.1. Técnica cirúrgica .....	25
1.2.2. Fatores locais .....	28
1.2.3. Fatores sistêmicos e relacionados ao paciente.....	29
1.2.4. Fatores relacionados à doença de base .....	33
1.3.Fatores Relacionados à Peritonite e Sepsis .....	35
1.4.Aspectos Anti-inflamatórios dos Anestésicos Locais .....	38
1.4.1. Efeito dos anestésicos locais sobre doenças gastrintestinais .....	41
1.4.2. Efeito dos anestésicos locais sobre infecção .....	42
1.4.3. Efeito dos anestésicos locais sobre peritonites infecciosas.....	43
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>45</b>
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>47</b>
3.1.Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais .....	48
3.2.Local de Experimentação .....	48
3.3.Animais Utilizados .....	48
3.4.Definição dos Grupos Experimentais .....	49
3.5.Critérios de Exclusão para Estudo da Anastomose Cólica.....	50
3.6.Etapas do Experimento.....	50
3.6.1. Injeção intraperitoneal pré-operatória .....	51
3.6.2. Preparação do material cirúrgico.....	52
3.6.3. Anestesia.....	52
3.6.4. Procedimento cirúrgico com lavagem da cavidade peritoneal ...	54

3.6.5. Analgesia pós-operatória .....	60
3.6.6. Seguimento pós-operatório dos animais.....	60
3.6.7. Eutanásia.....	60
3.6.8. Preparo do segmento da alça cólica contendo a anastomose.....	61
3.6.9. Teste biomecânico Energia Total de Ruptura.....	63
3.6.10. Análise estatística .....	67
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>69</b>
4.1.Evolução Clínica, Avaliação da Cavidade Peritoneal e Anastomose Cólica .....	70
4.2.Estudo Comparativo da Mortalidade Entre os Grupos.....	71
4.3.Estudo Biomecânico Energia Total de Ruptura .....	72
<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	<b>75</b>
5.1.Considerações Iniciais .....	76
5.2.Considerações Sobre a Utilização da Película de Polivinilcloreto (PVC)....	76
5.3.Considerações Sobre o Modelo de Peritonite.....	77
5.4.Considerações Sobre a Avaliação da Resistência da Anastomose Cólica....	80
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>83</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>85</b>
<b>8. APÊNDICES.....</b>	<b>111</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>°C</b>	Grau Celsius
<b>ANOVA</b>	Análise de Variância
<b>ASA</b>	Anesthesia Severity Assessment
<b>cm</b>	Centímetro
<b>dl</b>	Decilitro
<b>ETR</b>	Teste Biomecânico Energia Total de Ruptura
<b>g</b>	Gramma
<b>gf</b>	Gramma Força
<b>IC</b>	Intervalo de Confiança
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	Interleucina-1 beta
<b>IL-6</b>	Interleucina-6
<b>IL-8</b>	Interleucina-8
<b>IL-10</b>	Interleucina-10
<b>IMC</b>	Índice de massa corpórea
<b>kg</b>	Kilograma
<b>l</b>	Litro
<b>mg</b>	Miligramma
<b>ml</b>	Mililitro
<b>mm</b>	Milímetro
<b>NMCE</b>	Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental
<b>NO</b>	Óxido Nítrico
<b>NS</b>	<i>Physiological Solution</i>
<b>PMN</b>	Polimorfonucleares
<b>PO</b>	Pós-operatório
<b>pO<sub>2</sub></b>	Pressão parcial de oxigênio
<b>PVC</b>	Polivinilcloreto
<b>s</b>	Segundo
<b>SF</b>	Solução fisiológica
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Fator de necrose tumoral alfa
<b>UNICAMP</b>	Universidade Estadual de Campinas

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Definição dos grupos experimentais.....	49
<b>Tabela 2.</b> Mortalidade nos grupos nos dias de pós-operatório.....	71
<b>Tabela 3.</b> Valores de Energia Total de Ruptura (gf.cm) dos animais dos grupos.....	72
<b>Tabela 4.</b> Achados estatísticos de ETR dos grupos e efeito da peritonite fecal.....	73
<b>Tabela 5.</b> Achados estatísticos de ETR dos grupos 1 e 2 e efeito da lavagem peritoneal com bupivacaína.....	73
<b>Tabela 6.</b> Achados estatísticos de ETR dos grupos 3 e 4 e Efeito da Interação Peritonite Fecal e Lavagem Peritoneal com Bupivacaína.....	73



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Injeção intraperitoneal pré-operatória.....	52
<b>Figura 2.</b> Instrumental cirúrgico utilizado nos procedimentos.....	53
<b>Figura 3.</b> Punção da veia caudal para anestesia do animal.....	53
<b>Figura 4.</b> Incisão de 5cm na pele.....	54
<b>Figura 5.</b> Laparotomia por planos. ....	55
<b>Figura 6.</b> Exteriorização das alças intestinais.....	56
<b>Figura 7.</b> Cólon descendente com fezes.....	56
<b>Figura 8.</b> Cólon descendente sem fezes.....	56
<b>Figura 9.</b> Alça seccionada com pontos de reparo.....	57
<b>Figura 10.</b> Anastomose cólica.....	58
<b>Figura 11.</b> Posicionamento da película de PVC para recobrir a anastomose.....	59
<b>Figura 12.</b> Sutura músculo-aponeurótica.....	60
<b>Figura 13.</b> Sutura cutânea.....	60
<b>Figura 14.</b> Abertura da sutura cutânea.....	61
<b>Figura 15.</b> Abertura da cavidade peritoneal.....	61
<b>Figura 16.</b> Segmento de alça cólica contendo anastomose na solução de papaverina ..	62
<b>Figura 17.</b> Segmento de alça cólica contendo a anastomose.....	62
<b>Figura 18.</b> Sistema de tração contendo a anastomose cólica.....	64
<b>Figura 19.</b> Sistema de tração contendo a anastomose cólica.....	64
<b>Figura 20.</b> Representação esquemática do Teste Energia Total de Ruptura.....	66



## RESUMO

A ocorrência de deiscência de anastomose intestinal está associada com aumento do tempo de internação, morbimortalidade, necessidade de reoperações, custos de assistência médico-hospitalar e sofrimento do paciente. O conhecimento dos mecanismos envolvidos na cicatrização de tecidos permite o cirurgião interferir no reparo de tecidos, prevenindo e prevendo complicações. Nosso objetivo foi avaliar os efeitos da lavagem peritoneal com bupivacaína na mortalidade e na cicatrização da anastomose em cólon descendente de ratos, em vigência de peritonite fecal ou não. Foram utilizados quarenta ratos machos Wistar, pesando entre 300-350g, distribuídos aleatoriamente em quatro grupos de dez animais cada. Foi realizada laparotomia e anastomose em cólon descendente seis horas após injeção intraperitoneal de solução fisiológica (SF) ou de fezes autólogas. Grupo 1: sem peritonite e lavagem com 3ml de SF; Grupo 2: Sem peritonite e lavagem com 8 mg/kg de bupivacaína a 0,5% (0,5ml) adicionado a 2,5ml de SF; Grupo 3: Peritonite e lavagem com 3ml de SF; Grupo 4: Peritonite e lavagem com 8 mg/kg de bupivacaína a 0,5% (0,5ml) adicionado a 2,5ml de SF. Os animais que evoluíram para óbito foram submetidos a necropsia. A eutanásia e o teste biomecânico de Energia Total de Ruptura (ETR) foram realizados no quinto dia de pós-operatório dos animais sobreviventes. O grupo 4 apresentou maior sobrevida quando comparado ao Grupo 3, sem significância estatística. O grupo 3 apresentou valores de ETR menores que os dos outros grupos, com significância estatística. Concluímos que a peritonite fecal aumentou a mortalidade e influenciou negativamente a anastomose em cólon descendente de ratos, diminuindo sua resistência intrínseca. A lavagem peritoneal com bupivacaína aumentou a resistência da anastomose em cólon descendente de ratos em vigência de peritonite fecal.



## **ABSTRACT**

Ocurrence of intestinal anastomotic dehiscence is associated with significant increase of length of stay, morbidity, mortality, need of reoperations, healthcare costs and patient's distress. The knowledge on the mechanisms involved in tissue healing allows the surgeon to interfere on tissue healing, prevent and anticipate complications. Our purpose was to evaluate the effects of peritoneal lavage with bupivacaine on survival and initial healing of anastomosis on distal colon, performed under peritonitis or not. Forty male Wistar rats, weighing from 300 to 350g, were randomly divided in four groups and underwent laparotomy and anastomosis on the distal colon six hours after intraperitoneal injection of physiological solution (NS) or autologous fecal material. Group 1: No peritonitis and lavage with 3ml NS; Group 2: No peritonitis and lavage with 0.5ml of 0.5% bupivacaine (8mg/kg) added to 2.5 mL of NS; Group 3: Peritonitis and lavage with 3ml NS; Group 4: Peritonitis and lavage with 0.5ml of 0.5% bupivacaine (8mg/kg) added to 2.5 mL of NS. Necropsies were performed on the animals that died. Surviving animals were submitted to euthanasia and Total Energy of Rupture (TER) biomechanical test on the fifth post-operative day. Group 4 showed survival increase compared to Group 3, without statistical significance. Group 3 presented the smallest average TER, with statistical significance. We concluded that fecal peritonitis increased mortality and negatively influenced anastomosis performed on descending colon in rats, decreasing its resistance. Peritoneal lavage with bupivacaine increased the resistance of colic anastomosis performed on descending colon in rats under fecal peritonitis.



# **1. INTRODUÇÃO**

## 1.1. Considerações Gerais

Até o século XIX, a cicatrização inadequada e incompleta de tecidos após cirurgias era muito comum, levando a graves complicações pós-operatórias. Após o desenvolvimento da antisepsia e do cuidado de feridas, juntamente com a introdução da anestesia, houve uma enorme mudança na Cirurgia. Atualmente, apesar do melhor conhecimento dos mecanismos de reparo de tecidos, ainda persistem complicações decorrentes de cicatrização inadequada e infecção, justificando a pesquisa de diversos aspectos que possam interferir na evolução das anastomoses gastrintestinais. Esse conhecimento permite que o cirurgião possa entender melhor o reparo dos tecidos, além de prevenir e prever complicações.

Dentre as complicações das cirurgias do aparelho digestivo, destacam-se as fístulas digestivas pós-operatórias, ocorrendo em 3,5% a 37% das operações gastroenterológicas eletivas (1). A ocorrência de uma fístula digestiva está relacionada a significativo aumento do tempo de internação, necessidade de reoperações, taxas de morbimortalidade, custos de assistência médico-hospitalar e sofrimento do paciente (2). Apesar de todos os avanços das técnicas operatórias e do manejo perioperatório, a incidência de fístulas digestivas não tem diminuído significativamente (3).

Halstead (4) demonstrou que apesar de todas as camadas intestinais participarem do processo de cicatrização, é a submucosa que dá resistência à anastomose colorretal. Graham et al. (5) e Ellison (6) demonstraram que a cicatrização da mucosa ocorre por hiperplasia e migração celulares sobre tecido de granulação, que se completa em torno de três dias. Di Zerega (7) e Getzen (8) observaram que a apropriada aposição da serosa diminui o risco de deiscência anastomótica.

Cronin et al. (9) relataram que durante o processo de cicatrização, as anastomoses intestinais têm uma taxa de aumento de resistência maior do que de ferimentos cutâneos. Graham et al. (10) demonstraram que na anastomose intestinal, os fibroblastos e as células musculares lisas produzem colágeno. Não obstante, Martens et al. (11) relataram que os fibroblastos gastrintestinais têm uma regulação diferente quando comparados aos fibroblastos cutâneos, respondendo de forma diferente a vários estímulos.



A incidência de deiscência anastomótica nas cirurgias colorretais varia entre 3% e 22%, com mortalidade de 6% a 39,3% (12-15). Acredita-se que a frequência de extravasamentos menores pelas anastomoses colorretais seja maior. Goligher (16) constatou 6,6% de fístulas após colectomias e ressecções anteriores do reto, em 135 pacientes. Entretanto, após o exame destes casos com retossigmoidoscopia e enema opaco com meio de contraste hidrossolúvel, observou-se extravasamento de contraste de adicionais 27% dos casos, totalizando 33,6% de deiscências anastomóticas. Em anastomoses para ressecções anteriores do reto, houve 49% de deiscências e nas anastomoses cólicas, sua incidência foi de 20%, das quais 1,2% tiveram repercussões clínicas e 18,8% foram apenas achados radiológicos.

Em virtude da importância das deiscências anastomóticas colorretais, seu estudo é objeto contínuo de pesquisas em todo o mundo. Em nossa instituição, uma série de trabalhos abordou este tema, constituindo-se em uma importante linha de pesquisa (17- 70).

## **1.2. Fatores Relacionados à Cicatrização de Anastomoses Intestinais**

A manutenção da integridade da anastomose intestinal resulta de uma complexa interação entre técnica cirúrgica, fatores locais, sistêmicos e àqueles relacionados ao paciente e à doença de base.

### **1.2.1. Técnica cirúrgica**

Numerosos estudos foram realizados por diferentes autores sobre diversas modalidades de suturas manuais e mecânicas, além do uso de cola de colágeno, próteses extraluminais e endoluminais, adesivos biológicos e não-biológicos, não se conseguindo eliminar o risco de deiscência (21,26,30,34,38,52,71-77).

A questão da sutura manual *versus* mecânica foi motivo de vários estudos, sendo que poucos deles demonstraram adequadamente a superioridade de um método sobre o outro. Em meta-análise da base de dados Cochrane (78), foram revisados nove estudos de

resseções colorretais (total de 1.233 doentes), concluindo que as anastomoses manuais e mecânicas são equivalentes, apresentando taxas semelhantes de deiscências anastomóticas clínicas e radiológicas.

Tjandra e Chan (79) publicaram meta-análise de 17 estudos randomizados controlados (total de 4.013 pacientes) que avaliaram os resultados de curto prazo da cirurgia videolaparoscópica colorretal, comprovando diversos benefícios quando comparada à cirurgia aberta, não estando associada ao maior risco de deiscência anastomótica.

Diferentes estudos por meio de análises multivariadas identificaram os seguintes fatores relacionados à qualidade da técnica cirúrgica ao risco de deiscência anastomótica: tempo operatório prolongado, hemorragia intraoperatória e transfusão sanguínea (80-82). Em estudo de caso-controle, Telem et. al. (83) revisaram dados de 90 pacientes com deiscência de anastomose colorretal, definindo valores superiores a 200ml de perda sanguínea e a 200 minutos de tempo operatório como fatores de risco para deiscência. Entretanto, não há consenso na literatura para definição de tempo operatório prolongado e de hemorragia intraoperatória. Em dois estudos experimentais com ratos, Tadros et al. (84,85) demonstraram que a transfusão sanguínea associa-se a complicações de anastomoses intestinais.

Com o intuito de proteger e melhorar a cicatrização das anastomoses intestinais e minimizar os riscos de deiscência anastomótica, muitos estudos avaliaram a aplicação de técnicas que utilizam aderências intencionalmente dirigidas. De acordo com Cartier et al. (86), Wu (54) e Wu et al. (58), a utilização do omento para recobrir anastomoses intestinais tem como base teórica a possível neovascularização, o fechamento de microfalhas e a absorção de resíduos peri-anastomóticos. Lanter e Mason (87) avaliaram positivamente o uso de retalho pediculado de omento para proteção de anastomoses colorretais distais em humanos. Wu (54) e Wu et al. (58) relataram que as aderências pós-operatórias peri-anastomóticas de ratos promovem maior resistência das anastomoses cólicas. De forma semelhante, Mochizuki (61) e Mochizuki et al. (62) também demonstraram que as aderências proporcionam o aumento da resistência intrínseca de

anastomoses cólicas em ratos. Katsikas et al. (88) demonstraram em cães os efeitos benéficos do uso de omento para envolvimento de anastomoses intestinais isquêmicas. Nascimento (66) e Nascimento et al. (68) concluíram que a proteção omental em ratos aumentou a resistência das anastomoses cólicas confeccionadas em vigência de choque hemorrágico. Após revisão de estudos publicados entre 1996 e 1997, O'Leary (89) concluiu que a omentoplastia em humanos foi benéfica para o tratamento de fístulas retais complexas e para evitar a deiscência da ferida perineal em pacientes submetidos a amputação abdominoperineal, mas não diminuiu os riscos de deiscência anastomótica colorretal e de desenvolvimento de enterite actínica pós-operatória. Por outro lado, Gainant (90) publicou trabalho sobre prevenção de deiscências anastomóticas colorretais, no qual sugere o uso do omento para proteção das anastomoses, dentre outras medidas. Em estudo randomizado de 112 doentes portadores de neoplasia maligna do reto, Tocchi et al. (91) avaliaram o uso de omentoplastia sobre anastomoses colorretais, concluindo que apesar da semelhante incidência de deiscências anastomóticas entre os dois grupos, os pacientes submetidos a proteção omental tiveram complicações menos graves. Agnifili et al. (92,93), em estudo randomizado de 126 doentes submetidos a anastomoses colorretais por condições benignas e malignas, relataram no grupo da omentoplastia menores índices de óbitos, fístulas anastomóticas e reoperações.

A influência individual do cirurgião, composta por sua experiência, habilidade técnica, especialização e volume anual, nos resultados a curto e longo prazo tem sido investigada. Choi et al. (94) avaliaram pacientes submetidos a cirurgia videolaparoscópica de ressecção retal, relatando menor risco de deiscência de anastomose colorretal (em torno de 8%) quando o cirurgião havia realizado mais de 50 procedimentos. Hohenberger et al. (95) identificaram que cirurgiões com grande volume cirúrgico de casos de câncer retal - definido pela realização de pelo menos sete cirurgias ao ano - apresentaram menores taxas de comprometimento da margem circunferencial e de mortalidade pós-operatória, além de maiores taxas de sobrevida global e de tempo livre de doença. De forma similar, Archampong et al. (96) em revisão da base de dados Cochrane, que incluiu 943.728 pacientes de 54 estudos observacionais, relataram que cirurgiões especialistas e cirurgiões com grande volume cirúrgico anual apresentam maiores taxas de sobrevida global, menores

taxas de mortalidade pós-operatória e de confecção de estomas intestinais permanentes. De modo geral, existe um consenso parcialmente embasado pela literatura de que os cirurgiões do câncer colorretal com melhores resultados a curto e longo prazo operam respeitando os preceitos oncológicos por meio de dissecação precisa, com menor tempo operatório e sangramento, confeccionando anastomoses intestinais de boa qualidade.

### **1.2.2. Fatores locais**

Dentre os fatores locais que influenciam a anastomose colorretal destacam-se: perfusão sanguínea, hipóxia perioperatória, tensão na linha de sutura e estratégias perioperatórias de manejo de fluidos.

Locke et al. (97) estudaram a pressão parcial de oxigênio nos dois lados de anastomoses intestinais realizadas em cães, observando necrose intestinal em 48 horas nos casos em que os valores eram 30% menores que os pré-anastomose. Com o objetivo de avaliar a influência da hipóxia pós-operatória, Attard et al. (98) estudaram ratos submetidos a ressecção cólica e anastomose primária, observando que o grupo mantido em ambiente de hipóxia por sete dias apresentou menor pressão de ruptura anastomótica quando comparado ao grupo controle. Corroborando esses trabalhos, Wu (57) demonstrou em ratos que a hiperóxia hiperbárica apresentou efeitos benéficos na fase inicial da cicatrização de anastomoses cólicas submetidas a isquemia ou não, aumentando sua resistência.

Para garantir um fluxo sanguíneo adequado, também é necessária a confecção de anastomose sem tensão. Shikata e Shida (99) avaliaram em cães os efeitos deletérios da tensão sobre o fluxo sanguíneo da submucosa, que é mais afetado no cólon do que no intestino delgado. Assim como os estudos citados, outros também validam o antigo conceito de que é necessário um fluxo sanguíneo adequado e ausência de tensão para garantir a integridade da anastomose intestinal.

Na prática diária, não há indicador clínico confiável de perfusão adequada da anastomose, cabendo ao cirurgião avaliar a qualidade do fluxo sanguíneo. Entretanto, há tentativas de introduzir novas tecnologias para avaliação imediata da perfusão tecidual,

indicando o melhor local para realização da sutura intestinal. Um exemplo é a angiografia com fluorescência intraoperatória, como demonstra estudo de Kudzus et al. (100) em pacientes submetidos a cirurgias colorretais, concluindo que o método está associado a menores taxas de deiscência anastomótica e de complicações graves.

Kimberger et al. (101) estudaram modelo experimental de anastomose colorretal em suínos, concluindo que a técnica de restrição de fluidos é benéfica quando utiliza soluções colóides, por aumentar o fluxo sanguíneo da microcirculação e a tensão tecidual de oxigênio no sítio perianastomótico. Em estudo randomizado controlado com 172 pacientes submetidos a ressecções colorretais eletivas, Brandstrup et al. (102) avaliaram a restrição de fluidos – definida como a manutenção perioperatória do peso corporal do paciente por meio da administração de colóides e cristalóides – e observaram que este grupo apresentou menos complicações graves e apenas uma deiscência anastomótica, enquanto o grupo controle teve quatro deiscências. Entretanto, após estudo de 70 pacientes submetidos a cirurgias abdominais de grande porte, Futier et al. (103) associaram a técnica de restrição de fluidos (6ml/kg/h) a maior índice de complicações e de deiscências de anastomose, quando comparada à abordagem convencional (12ml/kg/h).

### **1.2.3. Fatores sistêmicos e relacionados ao paciente**

A desnutrição protéico-calórica é tema de diversos estudos experimentais, como os realizados por Irvin (104) e Greenhalgh e Gamelli (105), que demonstraram os prejuízos à cicatrização da ferida operatória. Existe uma relação da desnutrição com o metabolismo oxidativo, conforme demonstrado por Pelissier et al. (106) e Darmon et al. (107), causado por redução das enzimas antioxidantes provocada pela dieta pobre em proteínas. Jonas et al. (108) descreveram a atrofia da mucosa intestinal, inibindo a ação da enzima antioxidante glutathione peroxidase, favorecendo cada vez mais a injúria oxidativa dos radicais livres no sítio intestinal. Apesar dessas premissas, Pantoja (60) não conseguiu demonstrar maior estresse oxidativo, por meio da dosagem do aldeído dimalônico sistêmico e nas anastomoses ileais de ratos jovens desnutridos. A deficiência do estado nutricional, sendo caracterizada por hipoalbuminemia (níveis menores que 3,5-3,0g/dl) ou perda de massa

ponderal superior a 10% no momento da cirurgia, tem sido descrita como fator de risco para a deiscência de anastomoses colorretais. Em análise retrospectiva de 763 pacientes, Golub et al. (14) relataram que níveis séricos de albumina menores que 3g/dl associaram-se a maior risco de deiscência de anastomose colorretal, com *odds-ratio* de 2.73 (IC 95%, 1.29-581). Em estudo corroborativo, Mäkelä et al. (109) analisaram pacientes submetidos a ressecções colorretais esquerdas, identificando ainda maior impacto da desnutrição e da perda ponderal sobre a incidência de deiscências anastomóticas colorretais, com *odds-ratio* de 13.22 (IC 95%, 2.83-61.85).

O uso de drogas imunossupressoras está associado com alterações na cicatrização de anastomoses intestinais. Mantovani et al. (46) relataram efeitos deletérios sobre a cicatrização de anastomoses intestinais de cães em uso de drogas imunossupressoras. Furst et al. (110) demonstraram diminuição significativa da força de ruptura de anastomoses intestinais de ratos previamente submetidos a corticoterapia. Por outro lado, em um estudo com metodologia semelhante ao anterior, Mastboom et al. (111) não encontraram diferenças significativas na cicatrização de anastomoses intestinais realizadas sob vigência de corticoterapia.

O uso de anti-inflamatórios não-hormonais tem ação prejudicial sobre a cicatrização de anastomoses intestinais. Minossi (112) relatou a interferência negativa do diclofenaco sódico na cicatrização de anastomoses ileais e cólicas em ratos. Souza et al. (113) demonstraram que o uso do diclofenaco sódico também influenciou negativamente a cicatrização anastomótica do intestino delgado de coelhos.

Em estudo experimental de Goodson e Hunt (114), há demonstração do prejuízo da cicatrização de tecidos causado pelo *diabetes mellitus*, que pôde ser minimizado pela insulino-terapia precoce. De forma semelhante, Vignali et al. (115) também observaram que pacientes diabéticos têm maior risco de deiscências de anastomoses colorretais.

O uso de antibioticoterapia também foi demonstrado como fator de interferência na cicatrização de tecidos. Siemonsma et al. (116) relataram que a aplicação sistêmica de doxiciclina aumenta a resistência das anastomoses cólicas em ratos. Binnebösel et al. (117)

realizaram a aplicação intraperitoneal de gentamicina em ratos submetidos à feitura de anastomoses cólicas, observando aumento da resistência e do teor de colágeno.

Em relação ao uso de quimioterápicos, Yazdi et al. (118) demonstraram em seu estudo que a resistência de anastomoses cólicas não foi alterada após a aplicação pós-operatória imediata do quimioterápico 5-fluorouracil.

A anemia aguda e o choque hipovolêmico são condições apontadas como possíveis fatores contribuintes para a deiscência de anastomose. Greca et al. (119) estudaram anastomoses intestinais em cães sob anemia aguda, encontrando valores de resistência à explosão menores ao final de duas semanas de pós-operatório, quando comparados aos do grupo controle. Mochizuki (61), Mochizuki et al. (62), Pereira (65) e Pereira et al. (67) realizaram estudos com ratos submetidos a choque hipovolêmico, encontrando valores menores de resistência de anastomoses cólicas isquêmicas quando comparados aos de não-isquêmicas.

Criada pela Sociedade Americana de Anestesiologia, a classificação de risco anestésico ASA (Anesthesia Severity Assessment) tem relação com o índice de complicações anastomóticas, conforme demonstrado em numerosos estudos. Buchs et al. (80) relataram que pacientes submetidos a ressecções colorretais com classificação de risco ASA maior ou igual a 3 (doença sistêmica grave com ou sem incapacidade) apresentaram maior risco de deiscência de anastomose. De forma semelhante, Jestin et al. (120) em estudo de caso-controle de 134 pacientes que foram submetidos a ressecção anterior do reto por neoplasia e tiveram deiscência anastomótica, identificando classificação de ASA maior que 2 como fator de risco, com *odds-ratio* de 1.40 (IC 95%, 1.05-1.83).

A idade do paciente no momento da cirurgia demonstrou-se como fator de risco de deiscência de anastomose, apesar de não haver definição exata de idade avançada. Em estudo retrospectivo de 1.391 pacientes, Jung et al. (121) relataram que pacientes com idade maior que 60 anos submetidos a ressecção colorretal por neoplasia apresentaram maior risco de deiscência de anastomose. Ao avaliarem os resultados da excisão total do mesorreto para tratamento do câncer do reto, Nesbakken et al. (122) identificaram que

pacientes com idade maior que 75 anos apresentaram maior risco de deiscência da anastomose colorretal.

A obesidade parece não ter maior importância como fator contribuinte para deiscência de anastomose cólica em ressecções do cólon direito, conforme demonstrado por Benoist et al. (123). Entretanto, no mesmo estudo os autores observaram que pacientes com índice de massa corpórea (IMC) maior que 27 quando submetidos a colectomia esquerda ou proctectomia tiveram maior incidência de deiscência (16% *versus* 6% dos não-obesos). Em outro estudo que avaliou fatores de risco de deiscência de anastomose colorretal em pacientes portadores de neoplasia maligna do reto, Rullier et al. (15) identificaram a obesidade associada a maiores taxas de deiscência nas anastomoses com distância menor que 5 centímetros (cm) da linha pectínea. Apesar de diversos relatos semelhantes na literatura, Park et al. (124) não identificaram a obesidade (IMC maior que 30) como fator de risco de deiscência anastomótica na cirurgia videolaparoscópica colorretal, apesar de estar associada com maior tempo de internação e maior taxa de conversão para cirurgia aberta.

Conforme descrito em diversos estudos, o tabagismo e o consumo de bebidas alcólicas parecem estar relacionados ao maior risco de deiscência de anastomose colorretal, embora a quantificação desses fatores seja difícil, uma vez que depende de relato dos pacientes. Avaliando complicações de cirurgias colorretais, Sørensen et al. (125) relataram que tabagistas comparados a não-tabagistas têm risco-relativo para deiscência anastomótica de 3.18 (IC 95%, 1.44-7.00), assim como etilistas comparados a abstêmios, com risco-relativo de deiscência de 7.18 (IC 95%, 1.20-43.01). Em concordância, Richards et al. (126) também afirmaram com resultados semelhantes que o tabagismo aumenta a taxa de deiscência de anastomose colorretal em pacientes submetidos a ressecção anterior do reto. Entretanto, em meta-análise de dois estudos randomizados controlados e 15 estudos observacionais, Shabanzadeh e Sørensen (127) não identificaram o etilismo como fator de risco independente para deiscência de anastomose colorretal ou infecção de ferida operatória.



Os fatores sistêmicos e aqueles relacionados ao paciente são difíceis de serem modificados, entretanto, a sua presença deve alertar o cirurgião quanto à possibilidade de ocorrência de complicações, suspeitando precocemente de uma deiscência anastomótica colorretal.

#### **1.2.4. Fatores relacionados à doença de base**

De acordo com diferentes estudos, as anastomoses colorretais realizadas em regime de urgência têm maior risco de deiscência. Choi et al. (128) avaliaram casuística de 1.417 pacientes submetidos a ressecção colorretal e anastomose intraperitoneal, relatando taxa de deiscência anastomótica de 1,8%. Porém, ao analisarem as cirurgias de urgência, a taxa de deiscência foi de 44% (11 pacientes de um total de 25). Em outro estudo, Biondo et al. (129) relataram 208 pacientes submetidos a colectomia esquerda em regime de urgência, observando taxa de 5,7% de deiscência anastomótica, sendo que a obesidade foi o único fator preditor identificado. De forma semelhante, Komen et al. (130) ao revisarem 709 pacientes submetidos a ressecções colorretais com anastomose primária, por meio de análise multivariada, observaram que as cirurgias de urgência e a obesidade eram fatores predisponentes para a deiscência de anastomose.

Conforme relato de diferentes estudos, a localização extraperitoneal de anastomoses colorretais tem maior risco de deiscência, independente de radioterapia ou outros fatores de risco do paciente, havendo consenso para realização de estomas de proteção nesses casos. Jestin et al. (120) publicaram estudo descrevendo maior risco de deiscência nas anastomoses colorretais confeccionadas a 6cm da linha pectínea ou distais desse nível, com *odds-ratio* de 1.39 (IC 95%, 1.01-1.90). Em estudo constatando ainda maior risco, Lee et al. (82) analisaram 499 pacientes portadores de câncer retal submetidos a tratamento cirúrgico pelo mesmo cirurgião, identificando que as anastomoses colorretais localizadas abaixo de 5cm da margem anal têm maior risco de deiscência, com *odds-ratio* de 5.32 (IC 95%, 1.608-17.252). Em concordância com esse estudo, Rullier et al. (15) descreveram risco 6.5 vezes maior de deiscência nas anastomoses colorretais com distância igual ou menor que 5cm da margem anal, em um total de 272 pacientes portadores de câncer retal. Entretanto, a proctectomia perineal com anastomose coloanal manual e sem confecção de

estoma de proteção, realizada em casos de procidência retal, tem apresentado baixos índices de deiscência. Altomare et al. (131) observaram apenas um caso de deiscência anastomótica em um total de 93 pacientes, enquanto Cirocco (132) não relatou nenhuma deiscência em 103 pacientes.

A radioterapia prévia tem sido apresentada como fator de risco independente para a deiscência de anastomoses colorretais em portadores de câncer retal, conforme estudo de Matthiessen et al. (133), que avaliou 6.833 pacientes. Esses autores observaram taxa de 31% de deiscência anastomótica nos pacientes submetidos a radioterapia, enquanto 9% dos pacientes não tratados com essa modalidade tiveram deiscência da anastomose. Em concordância com esses relatos, Buie et al. (134) e Jestin et al. (120) também identificaram a radioterapia como fator independente para deiscência anastomótica. Em estudo multicêntrico, Park et al. (135) analisaram 1.609 pacientes submetidos a cirurgia videolaparoscópica para tratamento de câncer retal, observando que os pacientes com antecedente de radioterapia tiveram 6.28 vezes mais risco de deiscência anastomótica. Entretanto, Martel et al. (136) não identificaram a radioterapia pré-operatória como fator de risco para deiscência da anastomose, após estudo de 220 pacientes submetidos a excisão total do mesorreto para tratamento do câncer retal.

As ressecções colorretais realizadas para o tratamento de doenças inflamatórias intestinais (doença de Crohn e retocolite ulcerativa inespecífica) estão associadas à maior ocorrência de complicações infecciosas pós-operatórias e de deiscências de anastomose, principalmente devido ao uso de corticóides. Em estudo retrospectivo de 161 pacientes submetidos a ileocectomias por doença de Crohn, Alves et al. (137) relataram 9,31% de complicações infecciosas intra-abdominais, identificando como fatores de risco independentes a corticoterapia, desnutrição, doença de Crohn recorrente e abscesso intra-abdominal. Com achados similares, Post et al. (138) estudaram 658 anastomoses intestinais em 429 cirurgias por doença de Crohn, com 9,7% de complicações pós-operatórias, sendo os fatores mais associados a estas a presença de abscesso intra-abdominal e corticoterapia. Até o momento, o uso de imunomoduladores e de infliximabe (anticorpo monoclonal contra TNF- $\alpha$ ) na doença de Crohn parece ser seguro. Colombel et al. (139) relataram 270 pacientes submetidos a tratamento cirúrgico por doença de Crohn, e não associaram o uso de infliximabe ou de imunomoduladores a maiores índices de complicações, com taxa de

deiscência anastomótica de 3% e de abscesso intra-abdominal de 2%. Em relação à retocolite ulcerativa inespecífica, Selvasekar et al. (140) revisaram 47 pacientes em uso de infliximabe que foram submetidos a cirurgia de retocoliectomia total e reservatório ileal, observando maiores índices de deiscência anastomótica e de complicações infecciosas pós-operatórias. Com achados similares, Mor et al. (141) também relataram maiores índices de complicações infecciosas pós-operatórias e de deiscências de anastomose. Entretanto, dois estudos posteriores não indicaram associação do infliximabe com maiores taxas de complicações pós-operatórias em pacientes portadores de retocolite ulcerativa inespecífica submetidos a cirurgia. Após análise de 22 pacientes por Ferrante et al. (142) e de 29 pacientes por Gainsbury et al. (143), ambos os estudos não demonstraram associação do infliximabe com aumento de complicações pós-operatórias em pacientes portadores de retocolite ulcerativa inespecífica.

Em revisão de 233 pacientes submetidos a ressecção anterior do reto, Richards et al. (126) identificaram a neoplasia colorretal metastática como fator de risco independente para deiscência anastomótica com *odds-ratio de 3.43* (IC 95%, 1.29-9.13).

O tratamento de lesões traumáticas colorretais vem passando por mudança nos últimos anos. Anteriormente, era mandatória a confecção de colostomias para o tratamento das mesmas, mesmo na ausência de peritonite fecal e choque hipovolêmico. Em estudo multicêntrico com objetivo de comparar anastomoses cólicas primárias com derivações intestinais, Demetriades et al. (144) identificaram como fatores de risco independentes para complicações abdominais pós-operatórias a contaminação fecal grosseira, transfusão de quatro ou mais concentrados de hemácias nas primeiras 24 horas de pós-operatório e antibioticoprofilaxia com antimicrobiano único.

### **1.3. Fatores Relacionados à Peritonite e Sepses**

Em estudo multicêntrico, Sartelli et al. (145) constataram que apesar de todos os avanços dos métodos diagnósticos, técnicas cirúrgicas e antibioticoterapia, as taxas de morbimortalidade relacionadas às infecções intra-abdominais graves continuam excessivamente altas, principalmente em pacientes de alto risco.

Inui et al. (146), em estudo retrospectivo, descreveram forte associação entre mortalidade por peritonite com a idade e a disfunção de múltiplos órgãos e sistemas. Neste mesmo estudo, também observaram que a infecção de ponta de cateter com repercussão sistêmica e os eventos cardíacos pós-operatórios têm impacto negativo no prognóstico.

Sartelli (147) cita como fatores de mau prognóstico na peritonite grave a falta de controle do foco primário, antibioticoterapia empírica inadequada e infecções hospitalares. Dessa forma, colocam-se como fundamentais o tratamento cirúrgico adequado e precoce para controle do sítio primário de peritonite e o uso racional de antibióticos. Além disso, ressalta a importância da identificação dos pacientes de alto risco para instituição precoce de terapias mais agressivas.

Após revisão da literatura, Mazuski (148) classifica os portadores de peritonite grave em pacientes de baixo ou alto risco. Para os pacientes de baixo risco, devem-se evitar complicações relacionadas ao tratamento cirúrgico e à antibioticoterapia. Optando-se por terapias cirúrgicas menos agressivas e antibioticoterapia de curta duração, com menores espectro e toxicidade, diminuem-se os efeitos adversos e a indução de resistência bacteriana. Com base nos seus fatores de risco individuais, os pacientes de alto risco devem ser submetidos a antibioticoterapia adequada e tratamento cirúrgico que melhor controla o sítio primário da infecção, além do uso dos melhores cuidados intensivos direcionados a pacientes graves.

O risco de morbimortalidade aumenta na peritonite quando há falência de múltiplos órgãos e sistemas, decorrente de resposta séptica grave. A sepse é resultado de uma resposta inflamatória complexa que gera um conjunto de manifestações graves em todo o organismo, tendo como causa uma infecção, podendo evoluir para disfunção de múltiplos órgãos e óbito nos casos mais graves (149).

A sepse é originada por uma resposta inflamatória onde atuam citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, com a participação de leucócitos, ativação do sistema complemento e da cascata de coagulação. Dentre os mediadores inflamatórios, destacam-se: lipopolissacarídeo bacteriano, óxido nítrico (NO), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ ), interleucina-6 (IL-6) e interleucina-8 (IL-8) (150,151).

Em 97 pacientes portadores de sepse, Casey et al. (152) documentaram aumento dos níveis de TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 e lipopolissacarídeo, independente das culturas, atribuindo a estes mediadores um papel patogênico na sepse, além de sugerir que o aumento combinado destes marcadores poderia estar associado a mau prognóstico.

Estudo prospectivo de Riché et al. (153), com 52 portadores de choque séptico por peritonite generalizada, não identificou diferença nos resultados ao comparar peritonites por perfuração espontânea ou pós-operatórias, ou entre infecção monomicrobiana e polimicrobiana. Os valores máximos de TNF- $\alpha$  e IL-6 ocorreram no primeiro dia, com rápida diminuição nos dias seguintes. Não foram observados níveis detectáveis de IL-1. Porém, a IL-6 persistiu com taxas elevadas nos pacientes que evoluíram para óbito. Outro achado dos pesquisadores foi o fato do TNF- $\alpha$  elevar-se em vigência de bacteremia.

Badju et al. (154) avaliaram os níveis de citocinas pró-inflamatórias IL-1 beta, IL-6 e TNF- $\alpha$  em 100 pacientes com peritonite, observando que os doentes portadores de níveis mais elevados tiveram pior prognóstico. Portanto, concluíram que essas citocinas pró-inflamatórias são marcadores de mau prognóstico e a avaliação de seus níveis pode auxiliar na condução terapêutica.

Walley et al. (155) induziram peritonite fecal com punção e ligadura do ceco em ratos, relatando elevação dos níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6 diretamente proporcionais ao aumento do diâmetro das punções do ceco. O uso da citocina anti-inflamatória IL-10 prévio à indução da peritonite reduziu significativamente a mortalidade dos animais. Por outro lado, o uso de anticorpo anti-IL-10 esteve associado a aumento significativo da taxa de mortalidade e dos níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6. Foi demonstrado que a sepse é resultado de um balanço entre mecanismos pró-inflamatórios e anti-inflamatórios, relacionando-se diretamente com a gravidade e a mortalidade.

Após revisão da literatura, Blackwell e Christman (156) descreveram a magnitude da complexidade da resposta inflamatória na sepse, que envolve a liberação de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, assim como de receptores solúveis de citocinas e receptores antagonistas de citocinas. A interferência neste balanço poderia trazer

benefícios, mas até aquele momento, todas as tentativas clínicas de modular a resposta inflamatória em humanos não haviam tido sucesso.

Naresse (157) avaliou a influência da peritonite fecal na cicatrização de cólon distal de ratos. A peritonite foi induzida pela injeção intraperitoneal de fezes, e o grupo controle foi submetido a injeção intraperitoneal de solução fisiológica (SF). Os animais com peritonite apresentaram maiores índices de deiscências anastomóticas e de mortalidade. Os animais sobreviventes tiveram anastomoses cólicas com menores índices de força de ruptura da anastomose cólica e menores concentrações de colágeno.

Orlando et al. (158) avaliaram as anastomoses de dez ratos submetidos a peritonite fecal, comparando-os a dez ratos do grupo controle. A peritonite foi realizada por ligadura do ceco e punção única 12 horas antes da re-laparotomia, na qual foi realizada tiflectomia e anastomose ileocólica primária. Após quatro dias de pós-operatório, foram avaliadas as forças de ruptura das anastomoses e seu conteúdo de hidroxiprolina. Não houve diferença entre os achados dos dois grupos. Os autores concluíram nesse modelo que a contaminação fecal do peritônio por curto tempo de duração não alterou a cicatrização da anastomose e não deve ser uma contraindicação à anastomose primária.

#### **1.4. Aspectos Anti-inflamatórios dos Anestésicos Locais**

Pela capacidade de bloquear canais de sódio, os anestésicos locais são utilizados classicamente como antiarrítmicos e anestésicos locorregionais. Entretanto, por outros meios que não pelo bloqueio dos canais de sódio, os anestésicos locais têm efeito anti-inflamatório. Essa ação ocorre pela alteração da permeabilidade vascular e principalmente pelo efeito sobre neutrófilos, mas também sobre monócitos e macrófagos (159). A ação anti-inflamatória sobre essas células ocorre por meio de diferentes mecanismos: alteração na liberação de mediadores inflamatórios, radicais livres, NO e enzimas lisossomais (160-164). Há também interferência nas funções celulares de adesão, migração, acumulação e sensibilização (165-169).

Os anestésicos locais têm sido apontados em uma série de estudos como substâncias capazes de interferir em diversos processos inflamatórios, como nas lesões promovidas por

isquemia-reperfusão. Os eventos isquêmicos promovem lesões locais e à distância. Segundo Welbourn et al. (170), o dano tissular é causado em grande parte pela ativação de neutrófilos que se acumulam no tecido durante a reperfusão. Os mesmos autores sugerem que a lesão de isquemia-reperfusão é iniciada pela produção de substâncias reativas de oxigênio, peróxidos e íons de oxigênio, que promovem a quimiotaxia de neutrófilos. Uma vez aderidos ao endotélio, os neutrófilos liberam mais substâncias reativas de oxigênio e enzimas proteolíticas, especialmente a elastase.

Wang et al. (171) avaliaram cães submetidos a *bypass* cardiopulmonar com hipotermia a 20°C e perfusão cerebral retrógrada por 120 minutos. Após o término do *bypass*, era iniciada a reperfusão cerebral e os animais reaquecidos a 36°C. Compararam-se dois grupos: um submetido a infusão contínua de lidocaína durante todo o procedimento e outro submetido a infusão de solução salina. Observou-se que o grupo de animais que recebeu lidocaína teve a recuperação do tecido cerebral acelerada, evidenciada pelo aumento mais rápido dos níveis de adenosina trifosfato e fosfocreatina, quando comparado ao grupo controle. A lidocaína não teve associação com aumento na formação de edema cerebral.

Em um segundo estudo com o mesmo modelo experimental, Wang et al. (172) demonstraram menor número de neurônios cerebrais isquêmicos no grupo que recebeu a infusão contínua de lidocaína, sugerindo que esta substância pode ter efeito neuroprotetor.

Lee et al. (173) promoveram isquemia miocárdica em suínos por 90 minutos, e observaram que a infusão retrógrada contínua de lidocaína reduziu a área infartada, sem interferir de forma aguda na contratilidade após três horas de reperfusão. Os autores ressaltam que a lidocaína deve estar presente antes da reperfusão para promover o efeito cardioprotetor.

Sultan et al. (174) estudaram corações isolados de cães submetidos a modelo de isquemia e reperfusão, e observaram que o grupo que recebeu lidocaína associada à betametasona teve menores níveis pós-infarto de creatinoquinase MB e aspartato aminotransferase, sugerindo que o mecanismo seja por meio da estabilização de membrana celular. Este mesmo grupo demonstrou os maiores valores de pressão sistólica no

ventrículo esquerdo após a reperfusão, demonstrando que a associação destas substâncias promove benefícios à viabilidade funcional e bioquímica do miocárdio.

Schmid et al. (175) estudaram cães submetidos a transplante pulmonar, e evidenciaram que a lidocaína promoveu a redução de neutrófilos no lavado broncoalveolar pós-operatório. Além disso, a lidocaína inibiu a adesão endotelial de polimorfonucleares (PMN), uma vez que os níveis da citocina pró-inflamatória PMN CD11b/CD18 não se elevaram. Dessa forma, a lesão de reperfusão pós-isquemia pulmonar foi amenizada com a administração de lidocaína.

Das e Misra (176) realizaram experimento em pulmões isolados de ratos, que foram submetidos a 60 minutos de isquemia e dez minutos de reperfusão, em condições normotérmicas. A lesão de reperfusão foi prevenida pela aplicação de lidocaína, sendo evidenciada pela diminuição do edema pulmonar, da pressão da artéria pulmonar e da pressão de pico da via aérea, em relação ao grupo controle.

Chen et al. (177) estudaram a isquemia-reperfusão em fígado de ratos e constataram que a injeção prévia de lidocaína no ligamento hepatoduodenal tem efeitos protetores na lesão de isquemia-reperfusão, com níveis significativamente menores de alanina transferase e aspartato transferase.

Por outro lado, de Graaf et al. (178) avaliaram a administração sistêmica de lidocaína em ratos submetidos a 45 minutos de isquemia hepática e hepatectomia parcial, e não encontraram diferenças nos parâmetros bioquímico e histológico de dano hepatocelular, quando comparados ao grupo controle. Além disso, o grupo da lidocaína também não melhorou a função hepática quando comparado ao grupo controle.

Nellgard et al. (179) realizaram um estudo em ratos, no qual induziram obstrução intestinal por meio da ligadura do íleo, sendo realizada administração endovenosa e tópica de lidocaína. Como resultado, obtiveram inibição da secreção fluida e do extravasamento de albumina. Este efeito da lidocaína pode ser explicado pelo bloqueio neuronal do plexo mioentérico que inibe a liberação de mediadores secretórios, como o polipeptídeo intestinal vasoativo, e pela interferência nos diversos passos da cascata inflamatória.



Rimbäck et al. (180) estudaram ratos submetidos a peritonite química por ácido clorídrico, sendo realizada aplicação tópica de lidocaína e bupivacaína, que inibiram o extravasamento de albumina marcada com azul de Evans, que traduz a menor permeabilidade microvascular.

#### **1.4.1. Efeitos dos anestésicos locais sobre doenças gastrintestinais**

Em um modelo murino de colite, Martinsson et al. (181) observaram que o uso de ropivacaína produziu efeitos protetores sobre a ação inflamatória de leucócitos. Arlander et al. (182) e Björck et al. (183) estudaram o uso de enemas de ropivacaína em portadores de retocolite ulcerativa inespecífica, observando significativa melhora clínica e endoscópica.

As cirurgias abdominais estão associadas à liberação de diversos mediadores inflamatórios, como histamina, cininas e prostaglandinas. O desencadeamento de reflexos neuroentéricos abdominais pelo trauma cirúrgico resulta em ações inflamatórias, que inibem a motilidade gastrointestinal de forma duradoura, gerando o íleo adinâmico pós-operatório (184). Como os anestésicos locais afetam a liberação de mediadores inflamatórios, levantou-se a hipótese de que poderiam atuar benéficamente acelerando a retomada do trânsito intestinal, assim como é observado com o uso de anti-inflamatórios não-esteroidais (185). Rimbäck et al. (186,187) demonstraram em pacientes colecistectomizados a aceleração do tempo de trânsito cólico, através de marcadores radiopacos, com a infusão peri-operatória endovenosa contínua de bupivacaína e lidocaína.

Groudine et al. (188) observaram que o uso de lidocaína em pacientes submetidos a prostatectomia radical diminuiu a dor pós-operatória, o tempo de íleo adinâmico e o período de permanência hospitalar.

Em estudo randomizado com pacientes submetidos a colecistectomia, Harvey et al. (189) relataram que o grupo que recebeu a administração de lidocaína nas primeiras 24 horas de pós-operatório teve a primeira evacuação, em média, 24 horas antes que o grupo placebo. O grupo placebo teve permanência hospitalar significativamente mais longa.

Em meta-análise de oito estudos, com um total de 159 pacientes, Marret et al. (190) concluíram que a infusão endovenosa contínua de lidocaína, no pós-operatório de cirurgias abdominais, diminui a dor pós-cirúrgica, abrevia o tempo de íleo adinâmico e reduz o tempo de internação.

#### **1.4.2. Efeitos dos anestésicos locais sobre infecção**

Um aspecto relevante acerca das propriedades anti-inflamatórias dos anestésicos locais seria a possibilidade de maior susceptibilidade à infecção. Uma vez que essas substâncias reduzem o metabolismo oxidativo dos PMN, seria factível um aumento na proliferação bacteriana.

MacGregor et al. (191) realizaram em ratos a inoculação intraperitoneal de *Staphylococcus aureus* na dose de  $3 \times 10^8$  unidades formadoras de colônias, ocasionando óbito em cinco dos seis animais tratados com lidocaína. No grupo dos animais que receberam placebo, houve somente um óbito entre seis animais. Powell et al. (192) demonstraram maior taxa de infecção em lesões cutâneas submetidas a tratamento com cremes contendo anestésicos locais. Entretanto, Peck et al. (193) relataram apenas um leve decréscimo na função bactericida dos PMN de pacientes submetidos a infusão de lidocaína.

Ravin et al. (194) demonstraram, *in vitro*, efeitos antimicrobianos da lidocaína sobre bactérias anaeróbias e *Haemophilus influenzae*. Também *in vitro*, Rosenberg e Renkonen (195) relataram ação antimicrobiana da bupivacaína. Em estudo *in vivo*, Conte e Laforet (196) observaram ação bactericida de soluções tópicas contendo anestésicos locais sobre secreções brônquicas.

Schmidt e Rosenkranz (197) avaliaram o efeito da lidocaína sobre diversas bactérias e observaram inibição do crescimento bacteriano, exceto em *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Os mecanismos responsáveis pela ação antimicrobiana ainda são desconhecidos, mas provavelmente trata-se de um efeito bactericida, em vez de bacteriostático, conforme demonstrado por Fazly Bazaz e Salt (198). Estes autores descreveram ação dos anestésicos locais sobre a respiração celular e o vazamento de componentes citoplasmáticos das bactérias.

Altas concentrações de anestésicos locais também têm ação antiviral, conforme descrito em estudo de De Amici et al. (199), que relataram inibição da replicação do vírus *herpes simplex 1* com o uso de bupivacaína e mepivacaína em elevadas doses. Observou-se inibição significativamente mais acentuada quando os anestésicos locais foram associados à epinefrina, provavelmente por influência da alteração de pH. Esses achados sugerem que o efeito antiviral provavelmente ocorre por ação direta sobre o vírus. Tal fato difere da maioria das drogas antivirais, que atuam sobre mecanismos de replicação viral.

Como os efeitos antibacterianos e antivirais dos anestésicos locais são observados apenas em altas concentrações, as ações dessas substâncias a níveis sistêmicos teoricamente podem aumentar o risco de infecção. Esse fato não tem sido relevante nos estudos *in vivo* até o momento, exceto em casos de grande contaminação bacteriana. Conforme descrito anteriormente, um importante ponto seria a possibilidade dos anestésicos locais modularem respostas inflamatórias exageradas, sem comprometerem significativamente as defesas do hospedeiro.

#### **1.4.3. Efeitos dos anestésicos locais sobre peritonites infecciosas**

MacGregor et al. (191) demonstraram em ratos que a peritonite gera um substancial aumento da adesão de PMN, com conseqüente produção de exsudato. Os autores constataram que o acúmulo dessas células inflamatórias é suprimido pela lidocaína.

Brocco et al. (200) realizaram estudo de mortalidade em ratos submetidos a laparotomia e lavagem da cavidade peritoneal com bupivacaína após indução de peritonite fecal. Não houve mortalidade no grupo de animais submetidos a essa terapêutica até o

décimo-primeiro dia de pós-operatório. Comparativamente, o grupo sem tratamento algum e o grupo submetido apenas a enxugamento da cavidade peritoneal tiveram mortalidade de 100%, enquanto o grupo submetido a lavagem da cavidade peritoneal com SF teve mortalidade de 50%. Os autores atribuem esses resultados aos efeitos anti-inflamatórios e antimicrobianos dos anestésicos locais. O mesmo grupo de pesquisa realizou estudo idêntico (201) ao anterior com a lidocaína e obteve resultados semelhantes. Em outros estudos (202,203), esses autores utilizaram a ropivacaína no mesmo modelo de peritonite e observaram diminuição dos níveis de TNF- $\alpha$  e de IL-6, além de diminuição de achados histopatológicos relacionados à atividade inflamatória.

Até o momento, sabemos que para atingir os efeitos anti-inflamatórios dos anestésicos locais *in vivo*, são necessárias doses muito maiores que aquelas *in vitro*. Em função da alta morbimortalidade da peritonite fecal, é importante o melhor conhecimento dos efeitos de diversas terapêuticas sobre seus mecanismos fisiopatológicos associados à alta morbimortalidade da peritonite fecal. Até o momento, não há estudos sobre o efeito da aplicação direta de anestésicos locais sobre anastomoses cólicas em vigência de peritonite fecal.

Como a peritonite fecal influencia negativamente a sobrevida e a cicatrização da anastomose cólica, levantamos a hipótese da bupivacaína, por sua ação anti-inflamatória e antimicrobiana, interferir na mortalidade e na fase inicial da cicatrização da anastomose cólica.

## **2. OBJETIVOS**

Avaliar os efeitos da administração intraperitoneal de bupivacaína na mortalidade e na resistência da anastomose em cólon descendente de ratos, em vigência ou não de peritonite fecal.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **3.1. Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)**

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (IB/UNICAMP), sob protocolo 1996-1, seguindo as diretrizes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

### **3.2. Local de Experimentação**

Os experimentos foram feitos no Laboratório de Técnica Cirúrgica do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental (NMCE) da UNICAMP.

### **3.3. Animais Utilizados**

Foram utilizados 40 ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*) com peso entre 300 e 350 gramas e idade aproximada de 120 dias.

Os animais utilizados foram fornecidos pelo Biotério Central da UNICAMP (CEMIB/UNICAMP), sendo alojados no Biotério do NMCE/UNICAMP em gaiolas próprias, contendo cinco ratos em cada uma delas. Os animais foram criados e armazenados em condições equivalentes, com ciclo claro/escuro de períodos de 12 horas ao dia, sob luz artificial. Umidade e temperatura eram semelhantes às do ambiente. Durante o período do estudo, havia livre acesso à água e ração.



### 3.4. Definição dos Grupos Experimentais

Foram definidos quatro grupos:

- Grupo 1 – Composto por dez ratos submetidos à injeção intraperitoneal pré-operatória de SF (5ml/kg). Após seis horas foi realizada laparotomia e confeccionada anastomose no cólon descendente. Realizada lavagem da cavidade peritoneal com 3ml de SF, que permaneceu na cavidade por três minutos e em seguida enxugada com gaze.
- Grupo 2 - Composto por dez ratos submetidos à injeção intraperitoneal pré-operatória de SF (5ml/kg). Após seis horas foi realizada laparotomia e confeccionada anastomose no cólon descendente. Realizada lavagem da cavidade peritoneal com solução de 8mg/kg de bupivacaína a 0,5% (Cristália®), 0,5ml, em 2,5ml de SF, com volume final de 3ml, que permaneceu na cavidade por três minutos e em seguida enxugada com gaze.
- Grupo 3- Composto por dez ratos submetidos à injeção intraperitoneal pré-operatória de 5ml/kg de peso de suspensão preparada com dois gramas de fezes autólogas recém-defecadas diluídas em 17ml de SF. Após seis horas foi realizada laparotomia e confeccionada anastomose no cólon descendente. Realizada lavagem da cavidade peritoneal com 3ml de SF, que permaneceu na cavidade por três minutos e em seguida enxugada com gaze.
- Grupo 4 - Composto por dez ratos submetidos à injeção intraperitoneal pré-operatória de 5ml/kg de peso de suspensão preparada com dois gramas de fezes recém-defecadas diluídas em 17ml de SF. Após seis horas foi realizada laparotomia e confeccionada anastomose no cólon descendente. Realizada lavagem da cavidade peritoneal com solução de 8mg/kg de bupivacaína a 0,5% (Cristália®), 0,5ml, em 2,5ml de SF, com volume final de 3ml, que permaneceu na cavidade por três minutos e em seguida enxugada com gaze.

**Tabela 1: Definição dos grupos experimentais.**

<b>Grupo 1</b> N=10	<b>Anastomose cólica</b> <b>Sem peritonite</b> <b>Sem bupivacaína</b>
<b>Grupo 2</b> N=10	<b>Anastomose cólica</b> <b>Sem peritonite</b> <b>Com bupivacaína</b>
<b>Grupo 3</b> N=10	<b>Anastomose cólica</b> <b>Com peritonite</b> <b>Sem bupivacaína</b>
<b>Grupo 4</b> N=10	<b>Anastomose cólica</b> <b>Com peritonite</b> <b>Com bupivacaína</b>

### **3.5. Critérios de Exclusão para Estudo da Anastomose Cólica**

Excluíram-se os animais que evoluíram para óbito e aqueles que apresentaram anastomose cólica deiscente por ocasião do quinto dia pós-operatório, quando foi realizada a eutanásia.

### **3.6. Etapas do Experimento**

- Injeção intraperitoneal pré-operatória
- Preparação do material cirúrgico
- Anestesia

- Procedimento cirúrgico com lavagem da cavidade peritoneal
- Analgesia pós-operatória
- Seguimento pós-operatório dos animais
- Eutanásia
- Preparo do segmento da alça cólica contendo a anastomose
- Teste biomecânico Energia Total de Ruptura (ETR)
- Análise estatística

### **3.6.1. Injeção intraperitoneal pré-operatória**

Seis horas antes do procedimento cirúrgico, foi realizada punção intraperitoneal com cateter de calibre 16G, no quadrante inferior esquerdo do abdome (Figura 1).

Os animais dos grupos 1 e 2 foram submetidos à injeção de SF na dose de 5ml/Kg.

Os animais dos grupos 3 e 4 foram submetidos à indução de peritonite fecal com injeção intraperitoneal pré-operatória de 5ml/kg de peso de suspensão preparada com dois gramas de fezes recém-defecadas diluída em 17ml de SF, filtrada em gaze a fim de evitar a obstrução da agulha.



**Figura 1. Injeção intraperitoneal pré-operatória.**

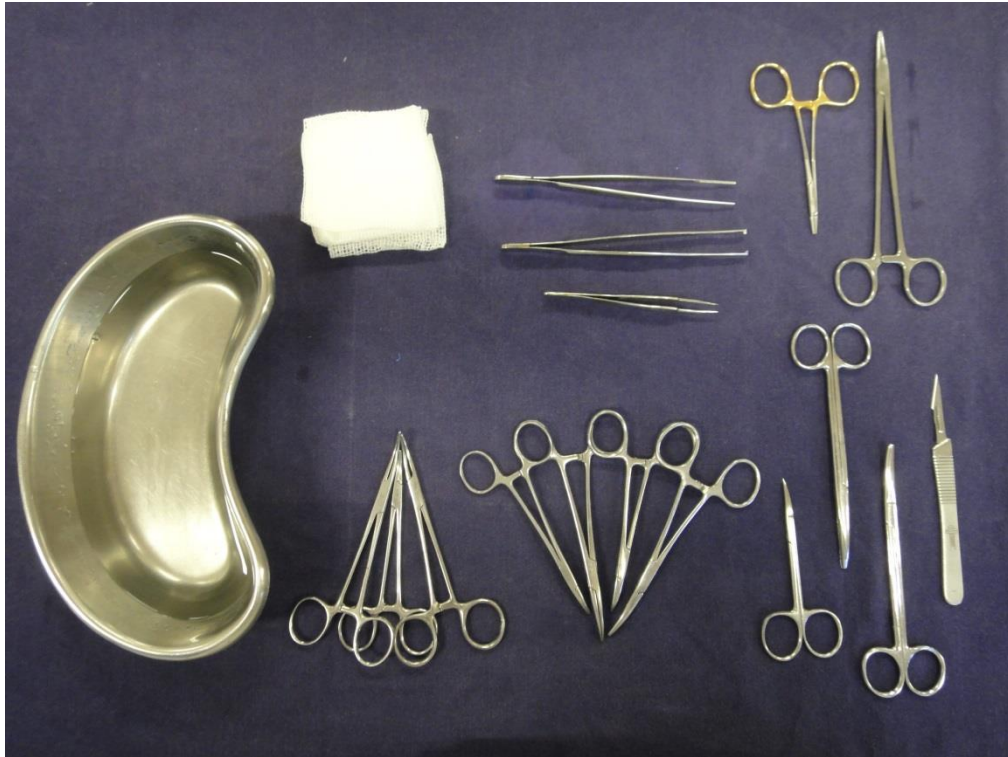
### **3.6.2. Preparação do material cirúrgico**

Antes de cada procedimento cirúrgico, o material usado (Figura 2) permaneceu imerso em álcool etílico a 70% por dez minutos e depois foi lavado com SF.

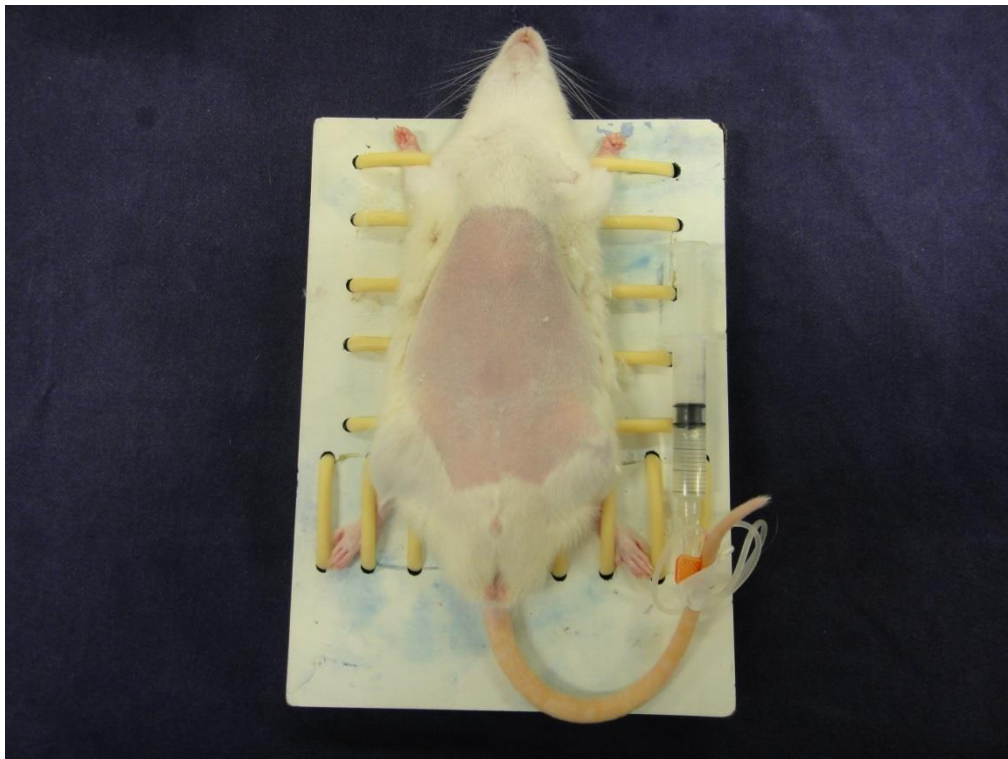
### **3.6.3. Anestesia**

Foi realizada punção da veia caudal do rato com “scalp” 13G (Figura 3), que era mantida durante todo o procedimento cirúrgico para administração de pentobarbital sódico 3% (Hypnol-Fontoveter®) na dose de 30mg/kg, através de seringa plástica de 5ml (Nipro®). A diluição do anestésico em SF tinha uma concentração de 5mg/ml.

Como parâmetros anestésicos, observaram-se o tônus muscular e a frequência respiratória. Se necessário, eram administradas novas doses de anestésico durante o ato operatório.



**Figura 2. Instrumental cirúrgico utilizado nos procedimentos.**



**Figura 3. Punção da veia caudal para anestesia do animal.**

#### **3.6.4. Procedimento cirúrgico e lavagem da cavidade peritoneal**

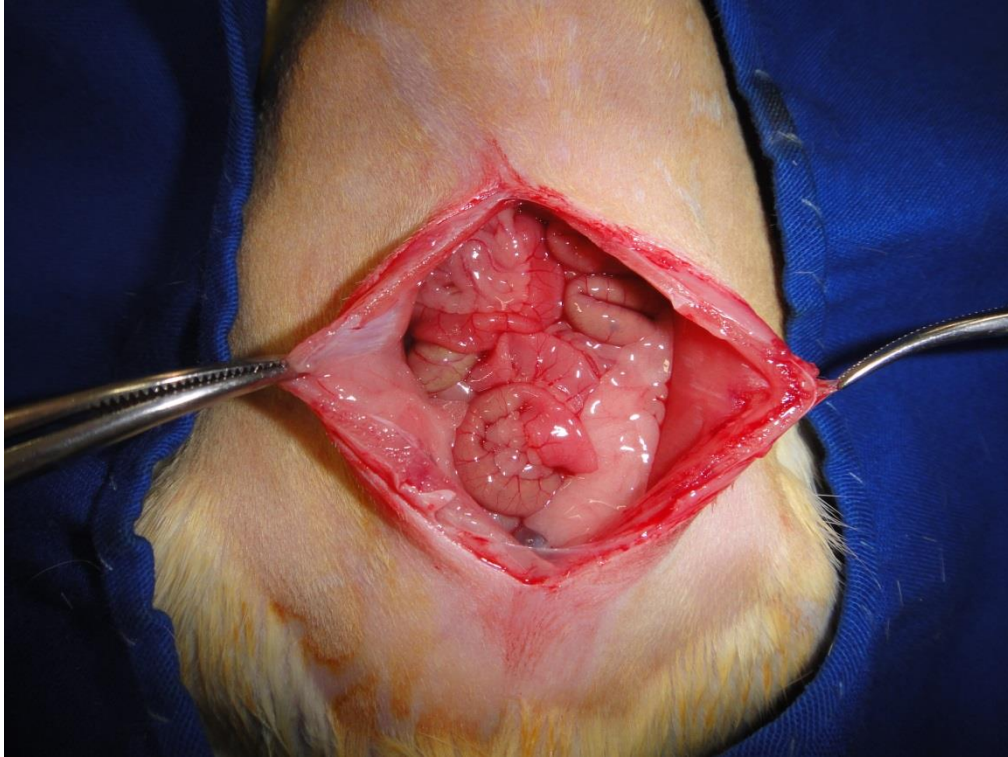
O procedimento cirúrgico era iniciado após seis horas da injeção intraperitoneal. Os animais não foram submetidos a jejum ou preparo do cólon antes do procedimento, e eram pesados imediatamente antes da indução anestésica, em balança com sensibilidade de um grama. Após serem anestesiados, realizava-se a raspagem dos pelos abdominais e a antisepsia com solução tópica de polivinilpirrolidona (iodo a 10%).

O animal era posicionado em decúbito dorsal na mesa cirúrgica e colocava-se um campo fenestrado esterilizado sobre o campo operatório. Realizava-se incisão mediana de 5cm, por planos (Figuras 4 e 5). Com auxílio de um afastador tipo Finochietto, expunha-se a cavidade peritoneal e enxugava-se com gaze o conteúdo da injeção intraperitoneal pré-operatória.

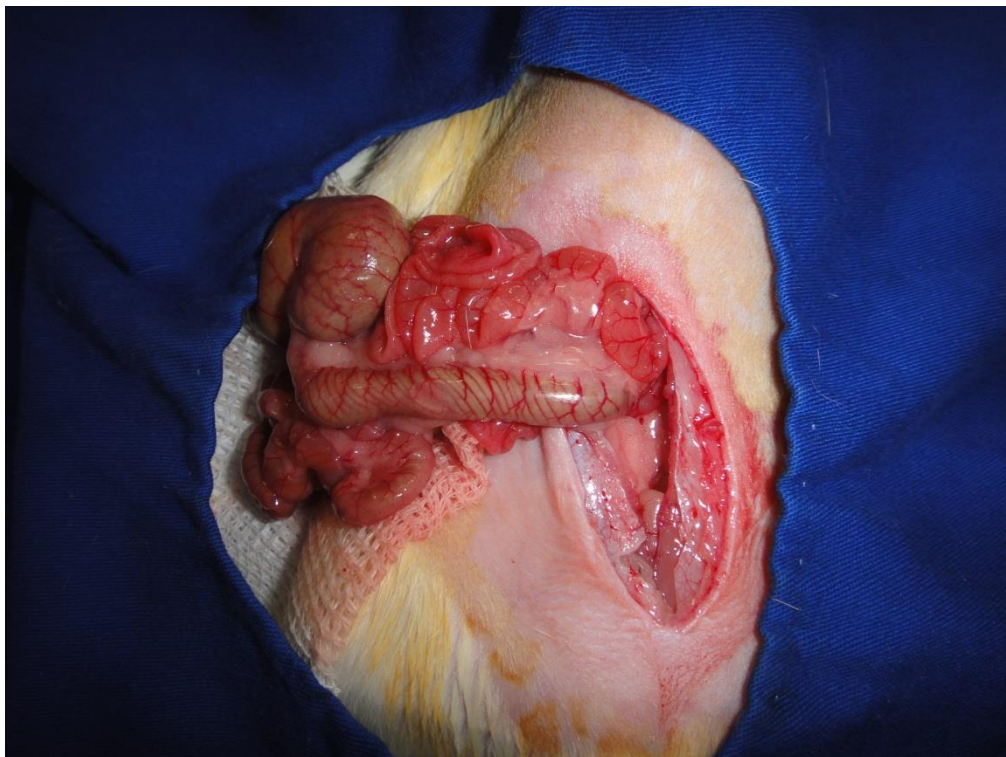


**Figura 4. Incisão de 5cm na pele.**

Após exteriorização das alças intestinais (Figura 6), as mesmas eram cobertas por duas gazes esterilizadas contendo SF.

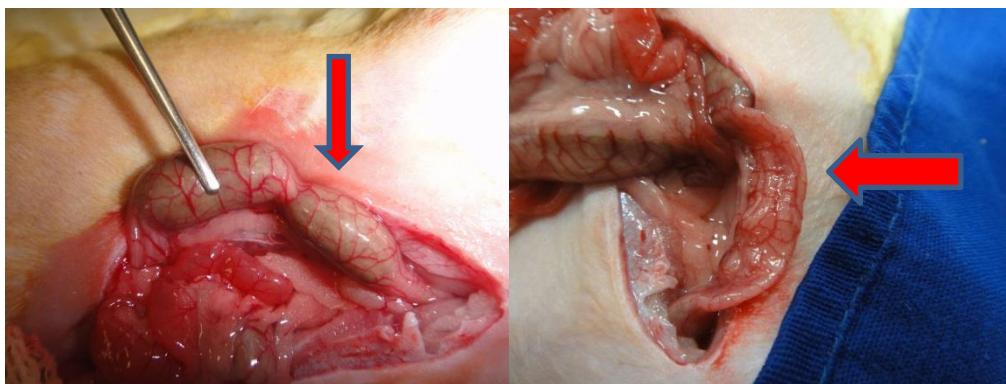


**Figura 5. Laparotomia por planos.**



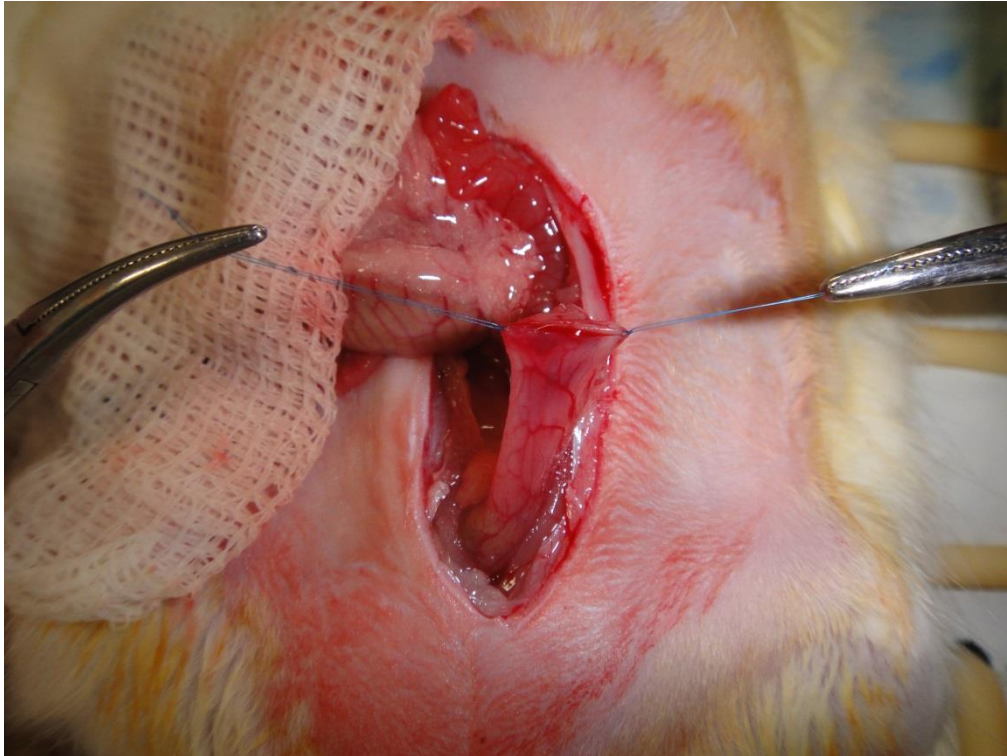
**Figura 6. Exteriorização das alças intestinais.**

Uma vez identificado o local a ser realizada a anastomose cólica, 2cm proximais à reflexão peritoneal, deslocavam-se as fezes desta região em sentido distal (Figuras 7 e 8). Com a proteção da cavidade peritoneal por gazes esterilizadas, seccionava-se a alça cólica no sentido transversal com tesoura de íris (Figura 9), tendo o cuidado de não lesar os vasos mesocólicos.



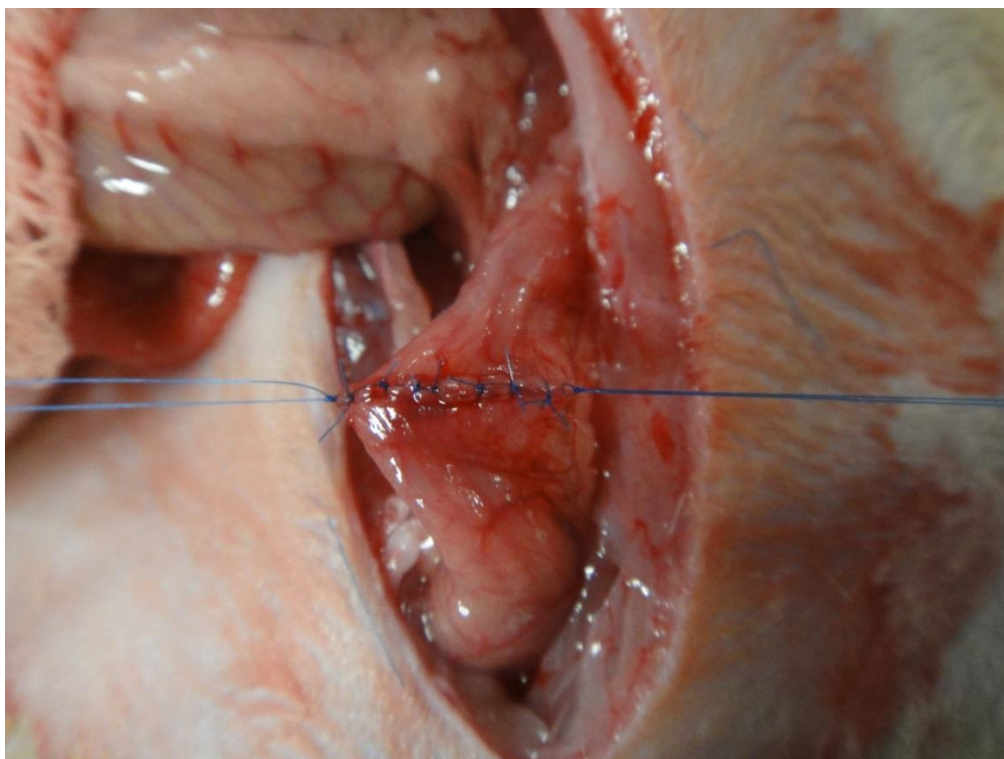
**Figura 7 e 8. Cólon descendente com fezes e sem fezes.**





**Figura 9. Alça seccionada com pontos de reparo.**

A feitura da anastomose cólica término-terminal era realizada com fio de polipropileno, monofilamentar e não-absorvível, de espessura sete zeros com agulha cilíndrica de seis milímetros e três décimos (Prolene®), com pontos seromusculares separados (Figura 10). A confecção da anastomose necessitava de 16 a 20 pontos.



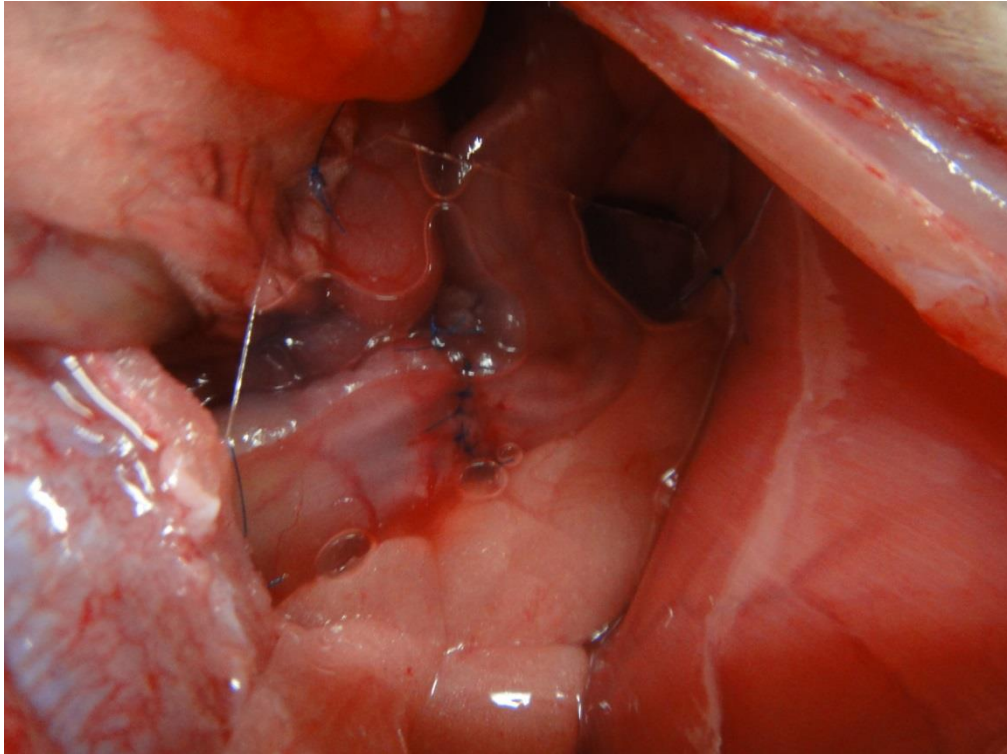
**Figura 10. Anastomose cólica.**

A fim de evitar aderências do omento e da gordura do cordão espermático à anastomose, o primeiro era suturado à parede gástrica anterior com fio de polipropileno sete zeros, e o segundo ressecado bilateralmente após ligadura de sua base com ponto transfixante de algodão três zeros.

A seguir, procedia-se à lavagem da cavidade peritoneal, com delicada manipulação do conteúdo intra-abdominal para permitir o maior contato da solução com o peritônio. Os ratos dos grupos 1 e 3 foram submetidos à lavagem com 3ml de SF, que permaneceu na cavidade por três minutos e foi enxugada após este período com gazes esterilizadas. Por sua vez, os ratos dos grupos 2 e 4 receberam para lavagem da cavidade a solução contendo 8mg/kg de bupivacaína a 0,5%, 0,5ml adicionada a 2,5ml de SF, com um volume final de 3ml, que igualmente permaneceu na cavidade por três minutos e foi enxugada com gazes esterilizadas.

Após a lavagem da cavidade peritoneal, todos os animais tinham sua anastomose cólica recoberta por uma película de polivinilcloro (PVC) obtida a partir de recipientes de SF (Baxter Healthcare Corporation®), em formato de quadrado de 2cm de lado (Figura 11).

A colocação desta película tinha o objetivo de impedir a formação de aderências sobre a linha de sutura, com a precaução de não comprimir a anastomose. A fixação da película foi feita com pontos separados de polipropileno sete zeros ao músculo íleo lombar esquerdo e ao mesocólon esquerdo.



**Figura 11. Posicionamento da película de PVC para recobrir a anastomose.**

Em seguida, recolocavam-se as alças intestinais dentro da cavidade peritoneal de forma adequada e infundia-se 5ml de SF na cavidade peritoneal para hidratação do animal.

Para fechamento da parede abdominal, utilizava-se uma sutura contínua de fio de algodão dois zeros com agulha cilíndrica 20mm (Polycot®), num plano contendo peritônio e a camada músculo-aponeurótica (Figura 12). Finalizando o procedimento de síntese, a pele era suturada com esse mesmo fio em um segundo plano de pontos contínuos (Figura 13). Antes de colocar o animal para recuperação pós-anestésica, o excesso da solução iodada utilizada na antissepsia era removido com SF e o acesso vascular caudal era retirado.



**Figuras 12 e 13. Suturas músculo-aponeurótica e cutânea.**

### **3.6.5. Analgesia pós-operatória**

No pós-operatório imediato, todos os animais do experimento receberam analgesia com paracetamol gotas (200mg/ml, Medley®) diluídos na água do bebedouro.

### **3.6.6. Seguimento pós-operatório dos animais**

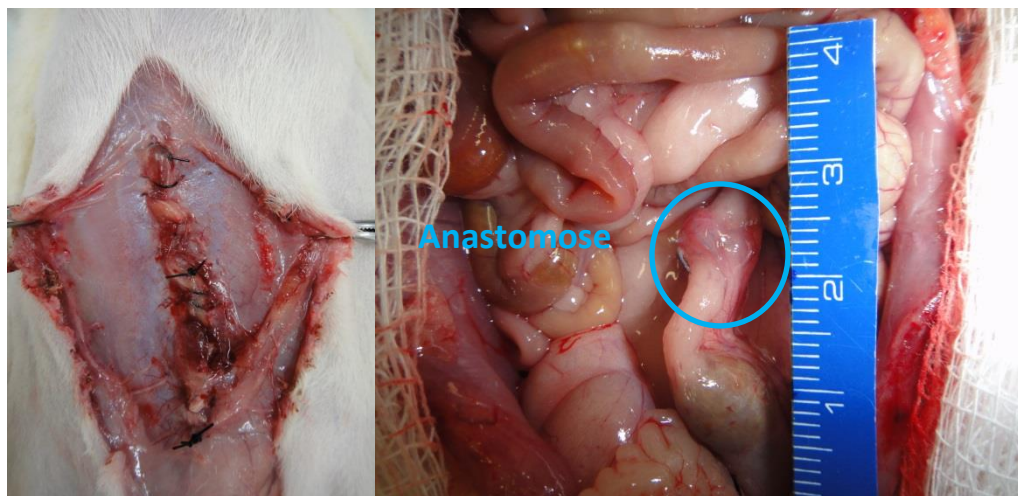
Durante os cinco dias de pós-operatório, os animais permaneceram alojados na forma habitual com livre acesso à água e ração. Houve atenção especial aos seguintes itens: ingesta alimentar, peso, distensão abdominal, aspecto da cicatrização dos tecidos e características das fezes.

### **3.6.7. Eutanásia**

Foi realizada no quinto dia pós-operatório com uso de dose letal de tiopental sódico a 3%, com infusão venosa caudal.

### 3.6.8. Preparo do segmento da alça cólica contendo a anastomose

A cavidade peritoneal era aberta após desfazerem-se as suturas de fechamento (Figura 14). Uma vez aberta, procedia-se ao inventário da cavidade para pesquisa de deiscência de suturas, secreções e aderências (Figura 15). Em seguida, seccionava-se o segmento de cólon que continha a anastomose, numa extensão de cinco cm.



**Figuras 14 e 15. Abertura da sutura cutânea e da cavidade peritoneal.**

Uma vez retirado o segmento intestinal, limpavam-se as fezes contidas no mesmo, com injeção intraluminal lenta e delicada de SF aquecida.

Após limpos, os espécimes eram imersos separadamente por 30 minutos em recipiente contendo cloridrato de papaverina diluído em SF, com concentração final de 250mg/l e temperatura de 37°C (Figura 16). O objetivo deste procedimento era adquirir um espécime de paredes relaxadas e com mínimas contrações espasmódicas decorrentes de manipulação da alça cólica, conforme descrito por Naresse (157) e Wu (54).

Finalmente, o segmento intestinal foi reduzido a 4cm, com a anastomose localizando-se equidistante das extremidades (Figura 17).



**Figura 16. Segmento de alça cólica contendo anastomose na solução de papaverina.**



**Figura 17. Segmento de alça cólica contendo a anastomose.**

### **3.6.9. Teste biomecânico Energia Total de Ruptura (ETR)**

Foi utilizado o Sistema de Aquisição e Análise de Dados Biomecânicos 2.0 Beta (SABI 2.0 Beta), um software desenvolvido conjuntamente entre o Laboratório de Bioinformática da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (LABI/UNIOESTE) e o Grupo de Coloproctologia da Disciplina de Moléstias do Aparelho Digestivo da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP (56).

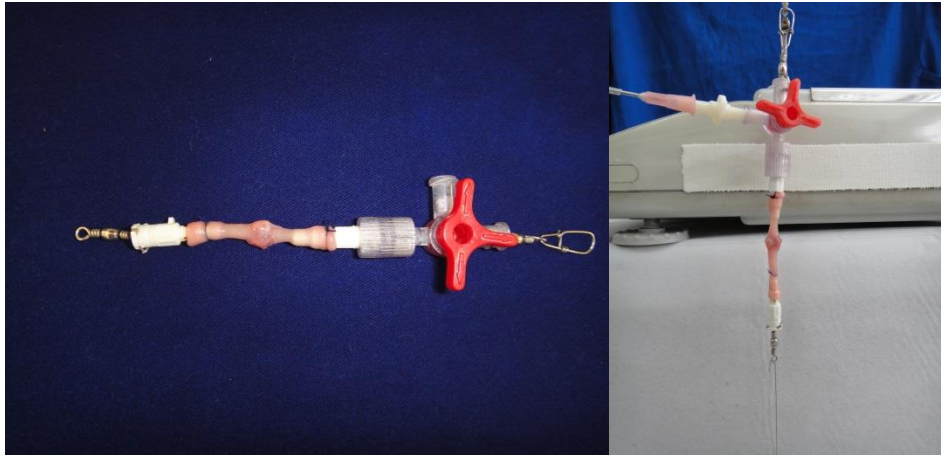
Esse sistema tem a função de adquirir e analisar dados biomecânicos, automatizando e reproduzindo matematicamente o comportamento da alça intestinal, estando inserido no teste biomecânico ETR.

Iniciado o teste, serão considerados todos os valores captados pelo SABI até o instante imediatamente anterior à ruptura da anastomose cólica, sendo desprezados os dados pós-rompimento para cálculo da área. Com a delimitação do intervalo da curva da função força vs. tempo, este último atributo é convertido para alongação, uma vez que a velocidade de tração da alça no sistema é constante durante todo o experimento (1cm/min). Portanto, o tempo para ruptura é diretamente proporcional à alongação da alça intestinal.

Dessa forma, a função força vs. tempo será transformada em função força vs. alongação, e a área calculada por meio da integração numérica regra do trapézio determinará a ETR acumulada no espécime.

Definiu-se como ETR a energia interna acumulada necessária para gerar o rompimento da anastomose cólica, após a imposição de uma força axial externa de tração. A ETR pode ser expressa por meio de unidades de medida pertencentes ao sistema internacional (SI) e ao sistema cgs (centímetro-grama-segundo).

Depois de retirado da solução contendo papaverina, o espécime teve fixado na sua extremidade proximal, com fio de algodão zero, um canhão de cateter 18G com a luz pérvia. Na extremidade distal da alça, por sua vez, fixou-se com mesmo fio um canhão de cateter 18G com a luz obliterada e anexada a um sistema de corrente (Figuras 18 e 19). O segmento de alça tracionado tinha 1,5cm de extensão em todos os espécimes.



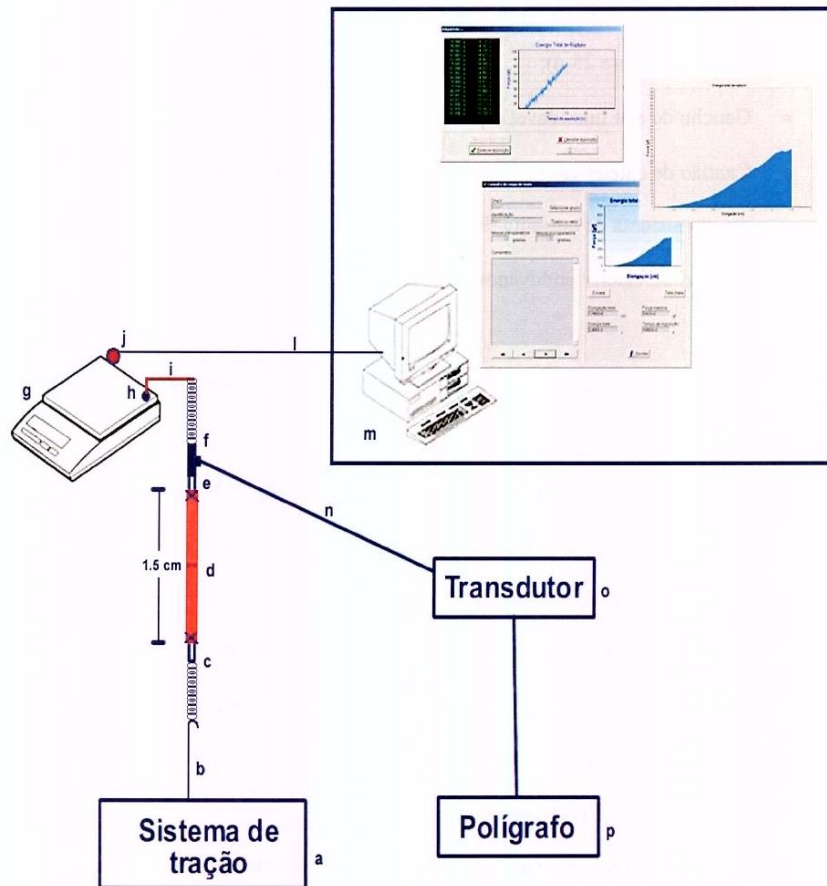
**Figuras 18 e 19. Sistema de tração contendo a anastomose cólica.**

Abaixo, listam-se os componentes e sua disposição para a realização do teste biomecânico ETR (Figura 20):

- Balança de precisão (Mettler-Toledo modelo SB8000) posicionada superiormente aos componentes do sistema;
- Conexão serial entre a balança de precisão e microcomputador PC contendo o software SABI 2.0 Beta;
- Conexão com alavanca entre a célula de carga da balança de precisão e o restante dos componentes pertencentes ao sistema;
- Fixação da corrente acoplada à região superior da torneira de tripla-via na alavanca de conexão, e este na célula de carga da balança. A região inferior da mesma torneira, por sua vez, foi conectada ao canhão de cateter com a luz aberta, sendo que este estava anteriormente amarrado ao segmento de alça intestinal proximal;



- Um gancho de aço inoxidável foi conectado ao canhão de cateter previamente fixado ao segmento de alça intestinal distal;
- A outra extremidade do gancho de aço inoxidável estava acoplada ao sistema de tração da bomba de infusão (B. BRAUN Modelo 871012), alinhada em relação à célula de carga de balança;
- A via lateral da torneira de tripla via estava conectada, por meio de um cateter de polietileno, ao transdutor do polígrafo (SIEMENS-ELEMA Modelo 804 Mingograf), o qual continha uma seringa plástica de 10ml de SF.



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

Após a montagem do sistema anteriormente descrito, infundia-se lentamente a SF da seringa do polígrafo, preenchendo o cateter de polietileno, a via lateral da torneira de tripla-via e o segmento de alça cólica. Dessa forma, eliminavam-se as bolhas de ar do sistema e mantinha-se a comunicação do polígrafo com o segmento de alça intestinal.

Após tara da balança, iniciou-se a tração do sistema com velocidade constante de 1cm/min, gerando aplicação de forças axiais na direção vertical, que eram transmitidas à célula de carga da balança de precisão. Os valores desta eram registrados pelo aplicativo SABI 2.0 Beta, que gerava uma curva na tela do microcomputador expressando a função força vs. tempo, que seria convertida para a função força vs. alongação.

A velocidade de registro do polígrafo era de 2,5mm/s. No momento em que havia ruptura do segmento de alça intestinal, perdia-se o líquido contido em seu interior e a curva retornava à linha de base zero.

#### **3.6.10. Análise Estatística**

O estudo dos resultados de mortalidade foi feito com o teste exato de Fisher. Para análise dos resultados de ETR, foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA). Foi utilizado o software SAS (Statistical Analysis System) for Windows, versão 9.2 (SAS Institute Incorporation, Estados Unidos da América).

O nível de significância estatística adotado foi de 5% ( $p < 0,05$ ).



## **4. RESULTADOS**

#### **4.1. Evolução Clínica, Avaliação da Cavidade Peritoneal e Anastomose Cólica**

Comparando-se os quatro grupos, não houve diferenças no tempo operatório. A seguir, descrevem-se as características de cada grupo:

- **Grupo 1** – Sem peritonite e sem bupivacaína

Todos os animais deste grupo tiveram evolução pós-operatória satisfatória, sem ocorrência de óbito. Houve boa aceitação alimentar, sem distensão abdominal ou alteração nas características das fezes.

O inventário da cavidade peritoneal não evidenciou abscessos, deiscências da anastomose ou deslocamento da película de PVC, que impediu a formação de aderências sobre a anastomose. Após remoção da película, observou-se uma fina camada de fibrina sobre a anastomose.

- **Grupo 2** – Sem peritonite e com bupivacaína

Semelhante ao grupo 1, todos os animais desse grupo tiveram boa evolução pós-operatória.

- **Grupo 3** - Com peritonite e sem bupivacaína

Nesse grupo, houve ocorrência de cinco óbitos, sendo os ratos 1, 3, 6, 7 e 10, totalizando uma mortalidade de 50%. Os dois primeiros animais morreram no primeiro dia de pós-operatório, e os restantes no segundo dia. Foi realizada a necropsia destes animais, que evidenciou peritonite intensa com líquido turvo e de odor fétido, além de numerosas aderências sobre a película de PVC, que após ser retirada, mostrava um ou mais pontos deiscências na anastomose, além de uma espessa camada de fibrina.

Os animais que permaneceram vivos até o quinto dia de pós-operatório, foram submetidos à eutanásia, evidenciando-se os mesmos achados de peritonite, aderências e

líquido turvo e fétido, além de uma espessa camada de fibrina sobre a anastomose, porém em menor grau que os animais que morreram.

● **Grupo 4** – Com peritonite e com bupivacaína

Os animais desse grupo tiveram boa evolução pós-operatória, com ocorrência de dois óbitos. Os ratos 4 e 7, morreram no segundo e terceiro dias de pós-operatório, respectivamente. A necropsia evidenciou peritonite intensa com líquido turvo e fétido, grande quantidade de aderências, deiscência da anastomose cólica com abscesso circunvizinho.

O restante dos animais que permaneceram vivos até o quinto dia de pós-operatório, e foram submetidos à eutanásia, apresentavam peritonite discreta, com pequena quantidade de líquido amarelado e de aderências, sem presença de abscessos.

#### 4.2. Estudo Comparativo da Mortalidade Entre os Grupos

No estudo, houve sete óbitos, e todos ocorreram em grupos nos quais foi induzida a peritonite fecal. O grupo 3 apresentou mortalidade de 50%, e o grupo 4 mostrou índice de 20%, sem diferença estatisticamente significativa ( $p=0,3498$ ).

**Tabela 2: Mortalidade nos Grupos nos dias de pós-operatório.**

	PO1	PO2	PO3	PO4	Total de óbitos	Total de animais
<b>Grupo 1</b>	0	0	0	0	0	10
<b>Grupo 2</b>	0	0	0	0	0	10
<b>Grupo 3</b>	2	3	0	0	5	10
<b>Grupo 4</b>	0	1	1	0	2	10

### 4.3. Estudo Biomecânico ETR

A avaliação da resistência da anastomose cólica foi obtida por meio do teste de resistência biomecânica ETR. Em todos os casos, a ruptura deu-se na linha de sutura da anastomose.

**Tabela 3: Valores da ETR (gf.cm) dos Animais dos Grupos.**

<b>Ratos</b>	<b>Grupo 1</b>	<b>Grupo 2</b>	<b>Grupo 3</b>	<b>Grupo 4</b>
<b>1</b>	<b>17.120</b>	<b>11.720</b>	<b>ÓBITO</b>	<b>9.310</b>
<b>2</b>	<b>13.010</b>	<b>13.493</b>	<b>2.088</b>	<b>8.610</b>
<b>3</b>	<b>12.278</b>	<b>4.397</b>	<b>ÓBITO</b>	<b>10.596</b>
<b>4</b>	<b>14.982</b>	<b>13.324</b>	<b>3.283</b>	<b>ÓBITO</b>
<b>5</b>	<b>5.690</b>	<b>11.996</b>	<b>890</b>	<b>4.188</b>
<b>6</b>	<b>15.123</b>	<b>14.292</b>	<b>ÓBITO</b>	<b>9.120</b>
<b>7</b>	<b>16.130</b>	<b>13.510</b>	<b>ÓBITO</b>	<b>10.472</b>
<b>8</b>	<b>13.336</b>	<b>15.286</b>	<b>4.220</b>	<b>3.446</b>
<b>9</b>	<b>4.913</b>	<b>5.090</b>	<b>2.985</b>	<b>ÓBITO</b>
<b>10</b>	<b>14.782</b>	<b>10.996</b>	<b>ÓBITO</b>	<b>11.922</b>

Para comparação dos resultados de ETR entre os grupos, foi utilizada a ANOVA.



**Tabela 4: Achados Estatísticos de ETR dos Grupos e Efeito da Peritonite Fecal.**

<b>Grupo</b>	<b>N</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio-Padrão</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Mediana</b>	<b>Máximo</b>	<b>Valor de p</b>
<b>1</b>	<b>10</b>	<b>12736,4</b>	<b>4178,7</b>	<b>4913</b>	<b>14059</b>	<b>17120</b>	<b>&lt;0,00001</b>
<b>2</b>	<b>10</b>	<b>11410,4</b>	<b>3733,9</b>	<b>4397</b>	<b>12660</b>	<b>15286</b>	
<b>3</b>	<b>5</b>	<b>2693,2</b>	<b>1263,1</b>	<b>890</b>	<b>2985</b>	<b>4220</b>	
<b>4</b>	<b>8</b>	<b>8458</b>	<b>3051,2</b>	<b>3446</b>	<b>9215</b>	<b>11922</b>	

**Tabela 5: Achados Estatísticos de ETR dos Grupos 1 e 2 e Efeito da Lavagem Peritoneal com Bupivacaína.**

<b>Grupo</b>	<b>N</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio-Padrão</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Mediana</b>	<b>Máximo</b>	<b>Valor de p</b>
<b>1</b>	<b>10</b>	<b>12736,4</b>	<b>4178,7</b>	<b>4913</b>	<b>14059</b>	<b>17120</b>	<b>0,2507</b>
<b>2</b>	<b>10</b>	<b>11410,4</b>	<b>3733,9</b>	<b>4397</b>	<b>12660</b>	<b>15286</b>	

**Tabela 6: Achados Estatísticos de ETR dos Grupos 3 e 4 e Efeito da Interação Peritonite Fecal e Lavagem Peritoneal com Bupivacaína.**

<b>Grupo</b>	<b>N</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio-Padrão</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Mediana</b>	<b>Máximo</b>	<b>Valor de p</b>
<b>3</b>	<b>5</b>	<b>2693,2</b>	<b>1263,1</b>	<b>890</b>	<b>2985</b>	<b>4220</b>	<b>0,0156</b>
<b>4</b>	<b>8</b>	<b>8458</b>	<b>3051,2</b>	<b>3446</b>	<b>9215</b>	<b>11922</b>	



## **5. DISCUSSÃO**

### **5.1. Considerações Iniciais**

Dentre os numerosos fatores que podem influenciar negativamente a reparação da anastomose intestinal, destacam-se as infecções intra-abdominais. A compreensão da fisiopatologia do peritônio em vigência de sepse cirúrgica e o conhecimento da fonte de organismos patogênicos que atingem a cavidade peritoneal são cruciais para a prevenção da infecção intra-abdominal. Frequentemente, pacientes portadores de peritonite são submetidos a cirurgias de ressecção de segmentos intestinais ou mesmo derivação do trânsito intestinal, sendo necessária a confecção de anastomoses intestinais.

O Departamento de Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP tem tradição na pesquisa experimental de anastomose gastrintestinal. Esta pesquisa segue a linha de estudo da instituição e avalia a ação da bupivacaína sobre a anastomose em cólon descendente de ratos, em vigência ou não de peritonite fecal, além de sua influência na mortalidade destes animais.

### **5.2. Considerações Sobre a Utilização da Película de PVC**

Sabe-se que a formação de aderências pode influenciar a cicatrização da anastomose intestinal, uma vez que elas ocorrem simultaneamente. Wu et al. (58) demonstraram que as aderências, mesmo quando removidas antes do estudo biomecânico, geram maior pressão de ruptura à distensão por líquido da anastomose cólica de ratos. Além disso, a remoção das aderências pode traumatizar a anastomose, devendo ser feita com cautela.

O uso da película de PVC sobre a anastomose age como uma barreira, uma vez que a isola das outras estruturas intra-abdominais e elimina a influência das aderências sobre a cicatrização intestinal. Neste estudo, todas as anastomoses cólicas foram protegidas por esta película.

### **5.3. Considerações Sobre o Modelo de Peritonite**

Foram propostos diversos modelos experimentais de peritonite, que podem ser realizados a partir da perfuração de alças intestinais, da inoculação direta na cavidade peritoneal de material fecal ou de culturas bacterianas puras pré-determinadas (204).

Os primeiros modelos experimentais consistiam no isolamento de segmentos intestinais intactos, com a desvantagem da necessidade de aguardar a ocorrência de perfuração intestinal, o que gerava um modelo não-controlado (204).

Um modelo muito utilizado é o de ligadura e punção cecal, no qual o ceco é ligado distal à válvula ileocecal e é perfurado por punções de agulha (205). Pode-se variar o número e o calibre das punções, com o objetivo de regular a gravidade do modelo (206). Sua descrição inicial foi em ratos, mas foi utilizado com sucesso em outras espécies de animais (207). Sem tratamento de suporte, este modelo induz rapidamente a choque séptico e óbito. A vantagem deste modelo é a semelhança com processos infecciosos como apendicite e diverticulite perfuradas, uma vez que consistem em infecção peritoneal por flora bacteriana mista em vigência de tecido desvitalizado. Além disso, não é necessário o cultivo e a quantificação de cepas bacterianas. Sua desvantagem é a necessidade de uma cirurgia para implantá-lo, a incapacidade para controlar a magnitude da sepse e a dose microbiológica variável.

Lang et al. (208) e Karazian et al. (209) descreveram a injeção intraperitoneal de fezes autólogas para a indução de peritonite, com formação de abscessos e exsudato. Estes modelos mostraram-se efetivos para a indução de sepse sustentada em animais, com alterações metabólicas e hemodinâmicas semelhantes à sepse em humanos. As vantagens deste método são a reprodutibilidade, a regulagem da quantidade de material inoculado e dispensa a realização de cirurgia para implantação. Assim como o modelo de ligadura e punção cecal, tem a desvantagem de carga microbiológica variável. Utilizamos este modelo em nosso estudo pela capacidade de gerar uma peritonite fecal difusa grave e por ser de fácil execução e reprodutibilidade. Em nosso estudo piloto, 16 ratos foram submetidos a este procedimento, com mortalidade de 100% em 24 horas.

Entretanto, há diversos modelos que induzem peritonite a partir da inoculação de materiais padronizados em relação aos microorganismos e suas quantidades. A vantagem destes modelos são a reprodutibilidade e a possibilidade de variação na carga microbiológica. Os estudos que utilizaram um único tipo de bactéria (210,211) mostraram-se inferiores aos modelos polimicrobianos (212,213), em que há sinergia entre bactérias aeróbias e anaeróbias. As evidências mostram que as bactérias anaeróbias estão associadas à formação de abscessos (204), enquanto que as bactérias Gram-negativas estão mais relacionadas às repercussões metabólicas e hemodinâmicas da sepse (214).

Não obstante, com objetivo de agravar o quadro séptico, há modelos nos quais são inoculados outros materiais juntamente com as fezes autólogas, como fezes humanas (215), sais biliares (216), sulfato de bário (217) e hemoglobina autóloga (218).

A escolha dos modelos de experimentação animal é baseada nas práticas tradicionais, fatores sócio-econômicos, disponibilidade, experiência do investigador e aspectos éticos. Os roedores são usados nas pesquisas científicas iniciais pré-clínicas. Entretanto, devemos lembrar que eles são bastante resistentes às endotoxinas, têm acesso vascular e volemia limitados, além de fisiologia cardiovascular significativamente diferente dos humanos (219).

Os estudos clínicos de sepse em humanos são de mais difícil interpretação quando comparados aos estudos em animais, uma vez que estes são selecionados com base em características semelhantes: idade, comorbidades, estado nutricional, gênero e peso. Além disso, os animais são impostos a uma condição adversa única e bem- definida. Já os seres humanos formam grupos heterogêneos quanto à idade, fontes de infecção, agentes microbianos e comorbidades prévias, além da possibilidade de terem sido submetidos a traumas e cirurgias (219).

A história natural da sepse grave em animais de laboratório difere daquela dos humanos. Em geral, os animais desenvolvem mais rapidamente o colapso cardiovascular que pode acarretar em óbito. Por outro lado, a melhora clínica e a resolução do quadro clínico nos animais também são mais acelerados. A mortalidade em vigência de sepse em seres humanos geralmente está associada à falência de múltiplos órgãos dias ou semanas após o início do quadro clínico. Dessa forma, modelos experimentais que tenham alta

mortalidade dentro de seis a 12 horas talvez não possam explicar de forma convincente o curso clínico em humanos (220).

Os agentes investigados nos estudos experimentais com animais são comumente administrados imediatamente após a ocorrência do evento adverso, e muitas vezes, ocorre num cenário que dificilmente pode ser reproduzido em estudos clínicos. Além disso, a utilização de modelo de estudo randomizado e duplo-cego na pesquisa animal é pouco comum, o que pode ser uma fonte de vieses (220).

Apesar disso, os modelos animais continuam sendo fundamentais para o desenvolvimento de novas terapias para infecções, fornecendo informações sobre farmacocinética, farmacodinâmica e toxicidade.

Qadan et al. (221) realizaram uma meta-análise de 23 estudos de peritonite experimental, e constataram uma mortalidade de 48,9% nos animais submetidos a lavagem da cavidade peritoneal com SF, o que coincide com a mortalidade de 50% do grupo 3 do nosso estudo. Comparada a nenhum tratamento de peritonite, essa meta-análise descreve uma diminuição do risco absoluto de óbito de 25% com o uso da lavagem da cavidade peritoneal com SF. Devemos lembrar que em nosso estudo piloto, já previamente mencionado, tivemos mortalidade de 100% em menos de 24 horas. Em conformidade com a literatura (221,222), nosso experimento comprova o efeito benéfico da lavagem com SF.

Brocco et al. (200) relataram em seu estudo que a lavagem peritoneal com solução de bupivacaína foi eficaz para evitar o óbito em 100% dos animais com peritonite fecal. De nosso conhecimento, não há outros estudos avaliando o impacto da lavagem da cavidade peritoneal com bupivacaína na anastomose intestinal em vigência de peritonite fecal. Uma vez que os animais do grupo 4 de nosso estudo foram submetidos à feitura de anastomose no cólon descendente e lavagem da cavidade com bupivacaína após seis horas de peritonite, acreditamos que a anastomose tenha adicionado morbimortalidade ao grupo, que apresentou mortalidade de 20%.

Em nosso estudo, todos os óbitos ocorreram nos grupos submetidos à indução de peritonite, ocorrendo cinco óbitos no grupo 3 (sem lavagem da cavidade com bupivacaína) e dois óbitos no grupo 4 (com lavagem da cavidade com bupivacaína). O uso de

bupivacaína para lavagem da cavidade peritoneal com peritonite (grupo 4) diminuiu a ocorrência de óbitos quando comparado à lavagem da cavidade apenas com SF, com um total de dois óbitos, porém sem significância estatística ( $p=0,3486$ ). Este efeito na diminuição da mortalidade pode ser atribuído às propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias da bupivacaína.

#### **5.4. Considerações Sobre a Avaliação da Resistência da Anastomose Cólica**

Para avaliar a resistência intrínseca da anastomose em cólon descendente de rato, utilizamos o teste biomecânico ETR. Esse método reproduz e avalia de forma integral o comportamento do segmento intestinal contendo a linha de sutura, após a aplicação de uma força axial externa de tração e variável com o tempo.

Esse teste foi desenvolvido em conjunto pelo Grupo de Coloproctologia do Departamento de Cirurgia da UNICAMP e o Laboratório de Bioinformática (LABI) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), com a criação do software SABI (56).

Nesse método, em vez da fixação das extremidades da alça intestinal com garras ou prensas, elas são amarradas com fios em canhões de cateter número 18. A vantagem deste procedimento é evitar um possível dano à parede intestinal e promover a distribuição uniforme da força aplicada à anastomose.

Além disso, os componentes do sistema são preenchidos com SF, o que mantém a forma tubular da alça intestinal e distribui a pressão gerada de forma homogênea, durante todo o teste em cada ponto do corpo de prova. A presença de líquido proporciona, de forma exata, a observação do instante de ruptura da anastomose, uma vez que a curva do gráfico de pressão gerado pela tração sofre queda abrupta no momento da ruptura da anastomose.

Para avaliação da resistência mecânica da anastomose, os ensaios biomecânicos usualmente utilizam ensaios uniaxiais (52,157) e biaxiais (54). Dessa forma, não são avaliados itens como deformação, tempo de ruptura e módulo de elasticidade, que são atributos dos materiais viscoelásticos que compõem a alça intestinal. Uma vez que o segmento de alça intestinal é submetido a tração por uma força axial externa variável com o



tempo, essa força distribui-se para as unidades estruturais da alça. Portanto, a resistência intrínseca do espécime é melhor representada pela resultante das forças aplicadas por unidade de tempo ou alongação, que equivale à energia total acumulada no segmento de alça intestinal durante o teste mecânico até o instante da ruptura.

Portanto, acredita-se que a ETR representa adequadamente a resistência mecânica do segmento intestinal contendo a anastomose, uma vez que o estudo da função força *versus* alongação é realizado até o momento exato da ruptura.

No método ETR, para compor a abscissa da função, utiliza-se o atributo alongação, cujos valores são captados com média de aquisição de três dados por segundo, do início do ensaio biomecânico até o momento de ruptura da anastomose. E para que a energia resultante obtida não seja variável, a velocidade de tração axial é constante.

A partir do método de integração numérica regra do trapézio, o aplicativo SABI determina a área sob a curva força *versus* alongação. O valor obtido dessa área representa o total de energia acumulada necessária para romper o segmento de cólon contendo a anastomose.

Wu et al. (63) publicaram um estudo comparando, em ratos, o teste ETR à força de ruptura do segmento intestinal contendo a anastomose. A conclusão foi que o teste ETR teve menor coeficiente de variação do que a força de ruptura, mesmo considerando um maior número de atributos para seu cálculo.

Até o momento, não há estudos sobre o efeito da lavagem peritoneal com bupivacaína sobre a cicatrização de anastomoses intestinais. Portanto, não temos como comparar nossos resultados com outros trabalhos da literatura. Entretanto, encontram-se estudos sobre o efeito da bupivacaína administrada por via espinhal sobre a cicatrização da anastomose cólica. Jansen et al. (223) mostraram que a analgesia epidural com bupivacaína, em cães submetidos a colectomia, não altera a pressão de ruptura da anastomose cólica e não influencia o tempo de trânsito cólico no pós-operatório. Por sua vez, Schnitzler et al. (224) utilizaram a bupivacaína para analgesia epidural em porcos submetidos a colectomia, e também não evidenciaram influência na cicatrização da anastomose cólica, apesar de constatarem uma diminuição no tempo de trânsito cólico.

Em nosso estudo, o grupo 1 (sem peritonite e sem lavagem da cavidade peritoneal com bupivacaína) apresentou os maiores valores de ETR da anastomose cólica, com média de 12.736gf.cm. Comparado ao grupo 1, o grupo 2 (sem peritonite e com lavagem da cavidade peritoneal com bupivacaína) apresentou menores valores de ETR, com média de 11.410gf.cm. Após o desdobramento dos fatores estatísticos, essa diferença não se mostrou estatisticamente significativa ( $p=0,3486$ ). É possível que o efeito anti-inflamatório da bupivacaína tenha influenciado negativamente a cicatrização da anastomose, gerando menores valores de ETR.

A indução de peritonite fecal, independente da lavagem peritoneal com bupivacaína, está relacionada à menor resistência da anastomose cólica ( $p<0,05$ ). Seguindo o modelo ETR, Rocha et al. (70) avaliaram os efeitos da oxigenoterapia hiperbárica sobre anastomoses cólicas em ratos, submetidos à peritonite fecal induzida por punção e ligadura o ceco. Em concordância com nosso estudo, constatou valores menores de ETR nos animais com peritonite. Em sua amostra, a oxigenoterapia hiperbárica não aumentou a resistência das anastomoses cólicas nos animais com peritonite.

O grupo 3 (com peritonite e sem lavagem da cavidade peritoneal com bupivacaína) apresentou os menores valores de ETR da anastomose cólica, com média de 2.693gf.cm. Por sua vez, o grupo 4 teve valores de ETR com média de 8.458gf.cm, com resultados superiores e estatisticamente significativos quando comparados ao grupo 3 ( $p=0.0024$ ), demonstrando um efeito benéfico da bupivacaína sobre a cicatrização da anastomose cólica de ratos em vigência de peritonite.

## **6. Conclusões**

A) A peritonite fecal aumentou a mortalidade e influenciou negativamente a anastomose cólica, diminuindo a sua resistência intrínseca no quinto dia pós-operatório;

B) A lavagem peritoneal com bupivacaína apresentou efeitos benéficos sobre a anastomose em cólon descendente de ratos em vigência de peritonite fecal, aumentando sua resistência intrínseca no quinto dia pós-operatório.

## **7. Referências Bibliográficas**

- 1) Goligher JC. Resection with exteriorization in the management of faecal fistulas originating in the small intestine. *Br J Surg*. 1971;58:163-7.
- 2) Campos ACL, Meguid MM, Jorge Filho I, Rojas JAC. Fístulas digestivas. In: Coelho JCU (org.). *Aparelho digestivo: clínica e cirurgia*. São Paulo: Atheneu; 2006.
- 3) Falconi M, Pederzoli P. The relevance of gastrointestinal fistulae in clinical practice: a review. *Gut*. 2001;49(4):2-10.
- 4) Halstead WS. Circular suture of the intestine: an experimental study. *Am J Med Sci*. 1887;94:436-61.
- 5) Graham MF, Blomqvist P, Zederfeldt B. The alimentary canal. In: Cohen IK, Diegelmann RF, Lindblad WJ (org.). *Wound Healing: Biochemical and Clinical Aspects*. Philadelphia: WB Saunders; 1992.
- 6) Ellison G. Wound healing in the gastrointestinal tract. *Semin Vet Med Surg (Small Anim)*. 1989;4:287-93.
- 7) Di Zerega GS. The peritoneum and its response to surgical injury. *Prog Clin Biol Res*. 1990;385:1-11.
- 8) Getzen LC. Clinical use of everted intestinal anastomoses. *Surg Gynecol Obstet*. 1966;123:1027-36.
- 9) Cronin K, Jackson DS, Dunphy JE. Changing bursting strength and collagen content of the healing colon. *Surg Gynecol Obstet*. 1968;126(4):747-53.
- 10) Graham MF, Drucker DE, Diegelmann RF, Elson CO. Collagen synthesis by human intestinal smooth muscle cells in culture. *Gastroenterology*. 1987;92:400-5.
- 11) Martens MF, Huyben CM, Hendriks T. Collagen synthesis in fibroblasts from human colon: regulatory aspects and differences with skin fibroblasts. *Gut*. 1992;33:1664-70.
- 12) Goligher JC, Graham NG, DeDombal FT. Anastomotic dehiscence after anterior resection of rectum and sigmoid. *Br J Surg*. 1970;57:109-18.

- 13) Irvin TT, Goligher JC. Etiology of disruption of intestinal anastomoses. *Br J Surg.* 1973;60:461-4.
- 14) Golub R, Golub RW, Cantu Jr R, Stein HD. A multivariate analysis of factors contributing to leakage of intestinal anastomoses. *J Am Coll Surg.* 1997;184:364-72.
- 15) Rullier E, Laurent C, Garrelon JL, Michel P, Saric J, Parneix M. Risk factors for anastomotic leakage after resection of rectal cancer. *Br J Surg.* 1998;85:355-8.
- 16) Goligher JC. *Surgery of the anus, rectum and colon*, 4 ed. London: Balliere-Tindall, 1980.
- 17) Reis Neto JA, Brandalise NA, Leonardi LS, Mantovani M, Medeiros RR, Vieira RW. Anastomose intestinal extramucosa. In: 21º Congresso Brasileiro de Proctologia, 1971, Salvador.
- 18) Leonardi LS. Resultados do emprego da sutura em plano único extramucoso na cirurgia gástrica [Tese – Livre Docência]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 1973.
- 19) Mantovani M. Sutura seromuscular extramucosa em plano único na cirurgia do intestino [Tese – Doutorado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 1973.
- 20) 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.
- 21) Rosemberg D, Frazatto Júnior C, Mantovani M, Vieira RW, Medeiros RR. Estudo comparativo entre as suturas em plano único total, extramucosa e de eversão. *Rev paul med.* 1973;81:5-11.
- 22) Leonardi LS, Brandalise NA, Mantovani M, Medeiros RR, Fagundes JJ. Técnica de abertura e fechamento do duodeno. *Rev Assoc Med Bras.* 1974;20:109-10.
- 23) Leonardi LS, Mantovani M, Medeiros RR. Gastrectomias em plano único. *Rev paul med.* 1975;85:109-6.

- 24) Mantovani M, Leonardi LS. Estudo comparativo entre sutura em um ou dois planos no intestino delgado em vigência de imunossupressão. In: 6º Congresso Latinoamericano de Proctologia, 1975, Buenos Aires.
- 25) Mantovani M, Reis Neto JA, Medeiros RR, Fagundes JJ. Fechamento de colostomia em alça com sutura seromuscular extramucosa com justaposição das bordas. Rev Assoc Med Bras. 1975;21:223-5.
- 26) 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;86:102-12.
- 27) Mantovani M, Medeiros RR, Leonardi LS. Sutura seromuscular extramucosa em plano único na cirurgia do intestino. Rev paul med. 1975;86:125-30.
- 28) Leonardi LS, Mantovani M, Medeiros RR, Brandalise NA, Fagundes JJ. Resultados do emprego da sutura em plano único extramucoso na cirurgia de úlcera péptica perforada. Rev Col Bras Cir. 1976;3:139-43.
- 29) 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. 1976;3:112-5.
- 30) Leonardi LS, Mantovani M, Raia AA. Seromuscular extramucosal one layer suture technique in gastrointestinal surgery. Surg gastroenterol. 1976;10:45-6.
- 31) 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. Rev Assoc Med Bras. 1976;22:79-86.
- 32) 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. 1976;87:56-63.



- 33) 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. Rev Assoc Med Bras. 1976;22:245-51.
- 34) Mantovani M, Leonardi LS, Alcântara FG, Hadler WA. Anastomose intestinal. Rev Col Bras Cir. 1976;3:93-4.
- 35) 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.
- 36) Leonardi LS, Brandalise NA, Mantovani M, Carvalho PL, Fagundes JJ. Anastomose coledocoduodenal látero-lateral. Estudo crítico. Arq gastroenterol. 1977;14:144-8.
- 37) ) 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. 1977;89:5-11.
- 38) Leonardi LS, Reis Neto JA, Brandalise NA, Mantovani M, Medeiros RR, Fagundes JJ. Sutura em plano único na cirurgia gastrintestinal: resultados clínicos em 756 doentes. Rev Col Bras Cir. 1977;4:223-33.
- 39) Mantovani M, Leonardi LS. Estudo comparativo da cicatrização com técnicas de sutura em um e dois planos em anastomoses do intestino delgado em condições de adversidade. Trabalho experimental no cão. Gen. 1977;89:35-41.
- 40) 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.
- 41) Leonardi LS, Mantovani M, Alcântara FG, Accorroni ME, Santos HO. Estudo comparativo de reestabelecimento da rede vascular sanguínea em anastomoses íleo-cólicas. Trabalho experimental em cães. Rev paul med. 1978;91:121-5.

- 42) Mantovani M. Estudo da cicatrização de anastomoses do intestino grosso de cães em condições de normalidade e sob a ação de drogas imunossupressoras. [Tese – Livre-Docência]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 1978.
- 43) Mantovani M. Comparative study of suture line healing in one and two layers anastomosis of the small bowel in adverse circumstances. Experimental work in dogs. Chir gastroenterol. 1978;12:39-41.
- 44) Aquino Neto PA, Alcântara FG, Leonardi LS, Mantovani M, Steiger A. Estudo comparativo de técnica para o fechamento de grandes ferimentos duodenais. Trabalho experimental. Rev paul med. 1979;94:64-9.
- 45) 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;94:130-1.
- 46) 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.
- 47) 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.
- 48) 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.
- 49) Quilici FA. Anastomose mecânica e manual em reto extraperitoneal. Estudo comparativo em cães. [Tese – Doutorado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 1988.
- 50) Fagundes JJ. Estudo comparativo da cicatrização de anastomoses cólicas realizadas com 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.

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

52) 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.

53) 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.

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

55) 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.

56) Machado RB, Lee HD, Wu FC, Fagundes JJ, Góes JRN, Coy CRS et al. 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. 2002, Foz do Iguaçu.

57) 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.

58) Wu FC, Ayrizono MLS, 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.

- 59) Rocha AA. Estudo comparativo da hiperoxigenação hiperbárica em alças cólicas isquêmicas: trabalho experimental em ratos. [Dissertação]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2004.
- 60) Pantoja MS. Estresse oxidativo no sangue e na anastomose ileal de ratos submetidos à dieta aprotéica. [Tese - Doutorado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2005.
- 61) Mochizuki M. Efeito das aderências dirigidas sobre anastomose cólica isquêmica: trabalho experimental em ratos. [Dissertação]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2005.
- 62) Mochizuki M, Wu FC, Coy CSR, Ayrizono MLS, Góes JRN, Fagundes JJ. Efeito das aderências dirigidas sobre anastomoses cólicas isquêmicas em ratos. *Acta Cir Bras.* 2005;20:247-52.
- 63) Wu FC, Lee HD, Niz MA, Ayrizono ML, Coy CS, Góes JR et al. Comparative study of descendent colon rupture resistance considering traction force of rupture and total energy of rupture in rats. *Acta Cir Bras.* 2006;21(2):97-100.
- 64) Rocha AA, Coy CSR, Góes JRN, Ayrizono MLS, Wu FC, Fagundes JJ. Comparative study of hyperbaric hiperoxigenation in ischemic colonic loops in rats. *Acta Cir Bras.* 2007;22:85-91.
- 65) Pereira YEA. Influência do choque hemorrágico na anastomose do cólon sigmoide em ratos – avaliação com teste de resistência à pressão de ruptura. [Dissertação]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2007.
- 66) 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.
- 67) 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;23:237-42.

- 68) Bolzam-Nascimento R, Coy CSR, Pereira YEA, Leal RF, Reis ACM, Mantovani M et al. Influence of omentoplasty on colonic anastomosis in animals submitted to hemorrhagic shock in rats. *Acta Cir Bras.* 2009;24:233-8.
- 69) Rocha AA. Estudo da oxigenoterapia hiperbárica sobre a resistência mecânica das anastomoses cólicas na presença de peritonite induzida por punção e ligadura e cecal: trabalho experimental em ratos. [Tese - Doutorado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2010.
- 70) Rocha AA, Leal RF, Ayrizono MLS, Wu FC, Coy CSR, Lee HD et al. Hyperbaric oxygen therapy and mechanical resistance of the colonics anastomosis in rats with peritonitis. *Acta Cir Bras.* 2010;25:368-74.
- 71) Aprilli F, Guimarães AS, Rocha JJR. Anastomoses intestinais. In: Silva Júnior OC. Modelos experimentais de pesquisa em cirurgia. São Paulo: Robe editorial; 1998.
- 72) Aprilli F, Carril CF, Guimarães AS, Ferreira AL. Estudo comparativo da segurança de três tipos de anastomose intestinais: trabalho experimental no intestino delgado do cão. *Rev Ass Med Bras.* 1975;21:307-8.
- 73) Canalis F, Ravitch MM. Study of healing of inverting and everting intestinal anastomoses. *Surg Gynecol Obstet.* 1968;126:109-14.
- 74) Brennam SS, Pickford IR, Evans M, Pollock AV. Staples or sutures for colonic anastomoses – a controlled clinical trial. *Br J Surg.* 1982;69:722-4.
- 75) Fazio VW, Jagelman DG, Lavery IC. Evaluation of the proximate ILS circular stapler: a prospective study. *Ann Surg.* 1985;201:108-14.
- 76) Memon AA, Marks CG. Stapled anastomoses in colorectal surgery: a prospective study. *Eur J Surg.* 1996;162:805-10.
- 77) Biondo-Simões MLP, Koppe GL, Hansell H, Rasário MAK, Malafaia O. Uso de adesivo biológico em anastomoses intestinais. Estudo experimental em cães. *Acta Cir Bras.* 1992;7:151-3.

- 78) Lustosa SA, Matos D, Atallah AN. Stapled versus handsewn methods for colorectal anastomosis surgery: a systematic review of randomized controlled trials. *Sao Paulo Med J.* 2002;120(5):132-6.
- 79) Tjandra JJ, Chan MK. Systematic review on the short-term outcome of laparoscopic resection for colon and rectosigmoid cancer. *Colorectal Dis.* 2006;8(5):375-88.
- 80) Buchs NC, Gervaz P, Secic M, Bucher P, Mugnier-Konrad B, Morel P. Incidence, consequences, and risk factors for anastomotic dehiscence after colorectal surgery: a prospective monocentric study. *Int J Colorectal Dis.* 2008;23(3):265-70.
- 81) Suding P, Jensen E, Abramson MA, Itani K, Wilson SE. Definitive risk factors for anastomotic leaks in elective open colorectal resection. *Arch Surg.* 2008;143(9):907-11.
- 82) Lee MR, Hong CW, Yoon SN, Lim SB, Park KJ, Park JG. Risk factors for anastomotic leakage after resection for rectal cancer. *Hepatogastroenterology.* 2006;53(71):682-6.
- 83) Telem DA, Chin EH, Nguyen SQ, Divino CM. Risk factors for anastomotic leak following colorectal surgery: a case-control study. *Arch Surg.* 2010;145(4):371-6.
- 84) Tadros T, Wobbes T, Hendricks T. Blood transfusion impairs the healing of experimental intestinal anastomoses. *Ann Surg.* 1992;215:276-81.
- 85) Tadros T, Wobbes T, Hendricks T. Opposite effects of interleukin-2 on normal and transfusion suppressed healing of experimental intestinal anastomoses. *Ann Surg.* 1993;218:800-8.
- 86) Cartier R, Brunette L, Hashimoto K, Bourne WN, Schaff HV. Angiogenic factor: a possible mechanism for neovascularization produced by omental pedicles. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1990;99:264-8.
- 87) Lanter B, Mason RA. Use of omental pedicle graft to protect low anterior colonic anastomoses. *Dis Colon Rectum.* 1979;22:448-51.
- 88) Katsikas D, Sechas M, Antypas G. Beneficial effect of omental wrapping of unsafe intestinal anastomoses. An experimental study in dogs. *Int Surg.* 1977;62:435-7.

- 89) O'Leary DP. Use of the greater omentum in colorectal surgery. *Dis Colon Rectum*. 1999;42:533-9.
- 90) Gainant A. Prevention of anastomotic dehiscence in colorectal surgery. *J Chir*. 2000;137:45-50.
- 91) Tocchi A, Mazzoni G, Lepre L, Costa G, Liotta G, Agostini N et al. Prospective evaluation of omentoplasty in preventing leakage of colorectal anastomoses. *Dis Colon Rectum*. 2000;43:951-5.
- 92) Agnifili A, Schietroma M, Carloni A, Mattucci S, Caterino G, Carlei F. Omentoplasty is effective in lowering the complications of ano-rectal resections. *Minerva Chir*. 2004;59:363-8.
- 93) Agnifili A, Schietroma M, Carloni A, Mattucci S, Caterino G, Carlei F. et al. The value of omentoplasty in protecting colorectal anastomoses from leakage. A prospective randomized study in 126 patients. *Hepatogastroenterology*. 2004;51:1694-7.
- 94) Choi DH, Hwang JK, Ko YT, Jang HJ, Shin HK, Lee YC et al. Factors for anastomotic leakage after laparoscopic rectal resection. *J Korean Soc Coloproctol*. 2010;26(4):265–73.
- 95) Hohenberger W, Merkel S, Hermanek P. Volume and outcome in rectal cancer surgery: the importance of quality management. *Int J Colorectal Dis*. 2013;28(2):197-206.
- 96) Archampong D, Borowski D, Wille-Jørgensen P, Iversen LH. Workload and surgeon's specialty for outcome after colorectal cancer surgery. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;14;3:CD005391.
- 97) Locke R, Hauser CJ, Shoemaker WC. The use of surface oximetry to assess bowel viability. *Arch Surg*. 1984;119(11):1252-6.
- 98) 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;48(7):1460-70.

- 99) Shikata J, Shida T. Effects of tension on local blood flow in experimental intestinal anastomoses. *J Surg Res.* 1986;40(2):105-11.
- 100) Kudzus S, Roesel C, Schachtrupp A, Höer JJ. Intraoperative laser fluorescence angiography in colorectal surgery: a noninvasive analysis to reduce the rate of anastomotic leakage. *Langenbecks Arch Surg.* 2010;395(8):1025-30.
- 101) Kimberger O, Arnberger M, Brandt S, Plock J, Sigurdsson GH, Kurz A et al. Goal-directed colloid administration improves the microcirculation of healthy and perianastomotic colon. *Anesthesiology.* 2009;110(3):496-504.
- 102) Brandstrup B, Tønnesen H, Beier-Holgersen R, Hjortsø E, Örding H, Lindorff-Larsen K et al. Effects of intravenous fluid restriction on postoperative complications: comparison of two perioperative fluid regimens: a randomized assessor-blinded multicenter trial. *Ann Surg.* 2003;238(5):641-8.
- 103) Futier E, Constantin JM, Petit A, Chanques G, Kwiatkowski F, Flamein R et al. Conservative vs restrictive individualized goal-directed fluid replacement strategy in major abdominal surgery: A prospective randomized trial. *Arch Surg.* 2010;145(12):1193-200.
- 104) Irvin TT. Effects of malnutrition and hyperalimentation on wound healing. *Surg Gynecol Obstet.* 1978;146:33-7.
- 105) Greenhalgh DG, Gamelli RL. Is impaired healing caused by infection or nutritional depletion? *Surgery.* 1987;102(2):306-12.
- 106) Pelissier MA, Darmon N, Desjeux JF, Albrecht R. Effects of protein deficiency on lipid peroxidation in the small intestine and liver of rats. *Food Chem Toxicol.* 1993;31:59-62.
- 107) Darmon N, Pelissier MA, Heyman M, Albrecht R, Desjeux JF. Oxidative stress may contribute to the intestinal dysfunction of weanling rats fed a low protein diet. *J Nutr.* 1993;123:1068-75.



- 108) Jonas CR, Farrel CL, Scully S, Eli A, Estivariz CF, Gu LH et al. Enteral nutrition and keratinocyte growth factor regulate expression of glutathione-related enzyme messenger RNAs in rat intestine. *J Parenter Enteral Nutr.* 2000;24(2):67-75.
- 109) Mäkelä JT, Kiviniemi H, Laitinen S. Risk factors for anastomotic leakage after left-sided colorectal resection with rectal anastomosis. *Dis Colon Rectum.* 2003;46(5):653-60.
- 110) Furst MB, Stromberg BV, Batchford GJ, Christensen MA, Thorson AG. Colonic anastomoses: bursting strength after corticosteroid treatment. *Dis Colon Rectum.* 1994;37(1):12-5.
- 111) Mastboom WJ, Hendriks T, de Man BM, de Boer HH. Influence of methylprednisone on the healing of intestinal anastomoses in rats. *Br J Surg.* 1991;78:54-6.
- 112) 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 de São Paulo; 1995.
- 113) Souza JB, Soares EG, Aprilli F. Effect of diclofenac sodium on intestinal anastomotic healing: experimental study on the small intestine of rabbits. *Dis Colon Rectum.* 1991;34:13-7.
- 114) Goodson WH, Hunt TK. Wound healing in experimental diabetes mellitus: importance of early insulin therapy. *Surg Forum.* 1978;29:95-8.
- 115) Vignali A, Fazio VW, Lavery IC, Milsom JW, Church JM, Hull TL et al. Factors associated with the occurrence of leaks in stapled rectal anastomoses: a review of 1014 patients. *J Am Coll Surg.* 1997;185:105-13.
- 116) Siemonsma MA, de Hingh IH, de Man BM, Lomme RM, Verhofstad AA, Hendriks T. Doxycycline improves wound strength after intestinal anastomosis in the rat. *Surgery.* 2003;133(3):268-76.

- 117) Binnebösel M, Junge K, Kaemmer DA, Krones CJ, Titkova S, Anurov M et al. Intraperitoneally applied gentamicin increases collagen content and mechanical stability of colon anastomosis in rats. *Int J Colorectal Dis.* 2009;24(4):433-40.
- 118) Yazdi PG, Miedema BW, Humphrey L. Immediate postoperative 5-FU does not decrease anastomotic strength. *J Surg Oncol.* 1998;69:125-7.
- 119) Greca FH, Biondo-Simões MLP, Paula JB, Noronha L, Cunha LSF, Baggio PV. Correlação entre o fluxo sanguíneo intestinal e a cicatrização de anastomoses colônicas: estudo experimental em cães. *Acta Cir Bras.* 2000;15:88-94.
- 120) Jestin P, Pählman L, Gunnarsson U. Risk factors for anastomotic leakage after rectal cancer surgery: a case-control study. *Colorectal Dis.* 2008;10(7):715-21.
- 121) Jung SH, Yu CS, Choi PW, Kim DD, Park IJ, Kim HC et al. Risk factors and oncologic impact of anastomotic leakage after rectal cancer surgery. *Dis Colon Rectum.* 2008;51(6):902-8.
- 122) Nesbakken A, Nygaard K, Westerheim O, Lunde OC, Mala T. Audit of intraoperative and early postoperative complications after introduction of mesorectal excision for rectal cancer. *Eur J Surg.* 2002;168(4):229-35.
- 123) Benoist S, Panis Y, Alves A, Valleur P. Impact of obesity on surgical outcomes after colorectal resection. *Am J Surg.* 2000;179(4):275-81.
- 124) Park JW, Lim SW, Choi HS, Jeong SY, Oh JH, Lim SB. The impact of obesity on outcomes of laparoscopic surgery for colorectal cancer in Asians. *Surg Endosc.* 2010;24(7):1679-85.
- 125) Sörensen LT, Jörgensen T, Kirkeby LT, Skovdal J, Vennits B, Wille-Jørgensen P. Smoking and alcohol abuse are major risk factors for anastomotic leakage in colorectal surgery. *Br J Surg.* 1999;86(7):927-31.
- 126) Richards CH, Campbell V, Ho C, Hayes J, Elliott T, Thompson-Fawcett M. Smoking is a major risk factor for anastomotic leak in patients undergoing low anterior resection. *Colorectal Dis.* 2012;14(5):628-33.

- 127) Shabanzadeh DM, Sörensen LT. Alcohol drinking does not affect postoperative surgical site infection or anastomotic leakage: a systematic review and meta-analysis. *J Gastrointest Surg.* 2013;9. [Epub ahead of print]
- 128) Choi HK, Law WL, Ho JW. Leakage after resection and intraperitoneal anastomosis for colorectal malignancy: analysis of risk factors. *Dis Colon Rectum.* 2006;49(11):1719-25.
- 129) Biondo S, Parés D, Kreisler E, Ragué JM, Fraccalvieri D, Ruiz AG et al. Anastomotic dehiscence after resection and primary anastomosis in left-sided colonic emergencies. *Dis Colon Rectum.* 2005;48(12):2272-80.
- 130) Komen N, Dijk JW, Lalmahomed Z, Klop K, Hop W, Kleinrensink GJ et al. After-hours colorectal surgery: a risk factor for anastomotic leakage. *Int J Colorectal Dis.* 2009;24(7):789-95.
- 131) Altomare DF, Binda G, Ganio E, De Nardi P, Giamundo P, Pescatori M. Long-term outcome of Altemeier's procedure for rectal prolapse. *Dis Colon Rectum.* 2009;52(4):698-703.
- 132) Cirocco WC. The Altemeier procedure for rectal prolapse: an operation for all ages. *Dis Colon Rectum.* 2010;53(12):1618-23.
- 133) Matthiessen P, Hallböök O, Andersson M, Rutegård J, Sjö Dahl R. Risk factors for anastomotic leakage after anterior resection of the rectum. *Colorectal Dis.* 2004;6(6):462-9.
- 134) Buie WD, MacLean AR, Attard JA, Brasher PM, Chan AK. Neoadjuvant chemoradiation increases the risk of pelvic sepsis after radical excision of rectal cancer. *Dis Colon Rectum.* 2005;48(10):1868-74.
- 135) Park JS, Choi GS, Kim SH, Kim HR, Kim NK, Lee KY et al. Multicenter analysis of risk factors for anastomotic leakage after laparoscopic rectal cancer excision: the Korean laparoscopic colorectal surgery study group. *Ann Surg.* 2013;257(4):665-71.

- 136) Martel G, Al-Suhaibani Y, Moloo H, Haggar F, Friedlich M, Mamazza J et al. Neoadjuvant therapy and anastomotic leak after tumor-specific mesorectal excision for rectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 2008;51(8):1195-201.
- 137) Alves A, Panis Y, Bouhnik Y, Pocard M, Vicaut E, Valleur P. Risk factors for intra-abdominal septic complications after a first ileocecal resection for Crohn's disease: a multivariate analysis in 161 consecutive patients. *Dis Colon Rectum*. 2007;50(3):331-6.
- 138) Post S, Betzler M, von Ditfurth B, Schürmann G, Küppers P, Herfarth C. Risks of intestinal anastomoses in Crohn's disease. *Ann Surg*. 1991;213(1):37-42.
- 139) Colombel JF, Loftus EV Jr, Tremaine WJ, Pemberton JH, Wolff BG, Young-Fadok T et al. Early postoperative complications are not increased in patients with Crohn's disease treated perioperatively with infliximab or immunosuppressive therapy. *Am J Gastroenterol*. 2004;99(5):878-83.
- 140) Selvasekar CR, Cima RR, Larson DW, Dozois EJ, Harrington JR, Harmsen WS et al. Effect of infliximab on short-term complications in patients undergoing operation for chronic ulcerative colitis. *J Am Coll Surg*. 2007;204(5):956-62.
- 141) Mor IJ, Vogel JD, da Luz Moreira A, Shen B, Hammel J, Remzi FH. Infliximab in ulcerative colitis is associated with an increased risk of postoperative complications after restorative proctocolectomy. *Dis Colon Rectum*. 2008;51(8):1202-7.
- 142) Ferrante M, D'Hoore A, Vermeire S, Declerck S, Noman M, Van Assche G et al. Corticosteroids but not infliximab increase short-term postoperative infectious complications in patients with ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2009;15(7):1062-70.
- 143) Gainsbury ML, Chu DI, Howard LA, Coukos JA, Farraye FA, Stucchi AF et al. Preoperative infliximab is not associated with an increased risk of short-term postoperative complications after restorative proctocolectomy and ileal pouch-anal anastomosis. *J Gastrointest Surg*. 2011;15(3):397-403.

- 144) Demetriades D, Murray JA, Chan L, Ordoñez C, Bowley D, Nagy KK et al. Penetrating colon injuries requiring resection: diversion or primary anastomosis? An AAST prospective multicenter study. *J Trauma*. 2001;50(5):765-75.
- 145) Sartelli M, Catena F, Ansaloni L, Moore E, Malangoni M, Velmahos G et al. Complicated intra-abdominal infections in a worldwide context: an observational prospective study (CIAOW Study). *World J Emerg Surg*. 2013;8(1):1.
- 146) Inui T, Handas M, Claridge JA, Malangoni MA. Mortality for intra-abdominal infection is associated with intrinsic risk factors rather than the source of infection. *Surgery*. 2009;146(4):654-61.
- 147) Sartelli M. A focus on intra-abdominal infections. *World J Emerg Surg*. 2010;19:5-9.
- 148) Mazuski JE. Clinical challenges and unmet needs in the management of complicated intra-abdominal infections. *Surg Infect (Larchmt)*. 2005;6(2):49-69.
- 149) Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D et al. "2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference". *Critical Care Medicine*. 2003;31(4):1250-6.
- 150) van der Poll T, van Deventer SHJ. Cytokines and anticytokines in the pathogenesis of sepsis. *Infect Dis Clin North Am*. 1999;13:413-28.
- 151) Benjamin CF — Atualização sobre mediadores e modelos experimentais de sepse. *Medicina (Ribeirão Preto)*. 2001;34:18-26.
- 152) Casey LC, Balk RA, Bone RC. Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with the sepsis syndrome. *Ann Intern Med*. 1993;119(8):771-8.
- 153) Riché FC, Cholley BP, Panis YH, Laisné MJ, Briard CG, Graulet AM et al. Inflammatory cytokine response in patients with septic shock secondary to generalized peritonitis. *Crit Care Med*. 2000;28(2):433-7.
- 154) Badju DC, Paunescu V, Aungurenci A, Pasarica D. Proinflammatory cytokines in peritonitis. *J Med Life*. 2011;15;4(2):158-62.

- 155) Walley KR, Lukacs NW, Standiford TJ, Strieter RM, Kunkel SL. Balance of inflammatory cytokines related to severity and mortality of murine sepsis. *Infect Immun.* 1996;64(11):4733-8.
- 156) Blackwell TS, Christman JW. Sepsis and cytokines: current status. *Br J Anaesth.* 1996;77(1):110-7.
- 157) Naresse LE. Efeito da peritonite fecal na cicatrização do cólon distal no rato. Avaliação anátomo-patológica, estudo da força de ruptura e da hidroxiprolina tecidual. [Tese - Doutorado]. Botucatu (SP): Universidade Estadual de São Paulo; 1990.
- 158) Orlando MD, Chendrasekar 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;65(7):673-5.
- 159) Hollmann MW, Durieux ME. Local anesthetics and the inflammatory response: a new therapeutic indication? *Anesthesiology.* 2000;93(3):858-75.
- 160) Sinclair R, Eriksson AS, Gretzer C, Cassuto J, Thomsen P. Inhibitory effects of amide local anaesthetics on stimulus-induced humanleukocyte metabolic activation, LTB4 release and IL-1 secretion in vitro. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1993;37:159-65.
- 161) Yanagi H, Sankawa H, Saito H, Iikura Y. Effect of lidocaine on histamine release and Ca<sup>2+</sup> mobilization from mast cells and basophils. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1996;40:1138-44.
- 162) Mikawa K, Akamatsu H, Nishina K, Shiga M, Maekawa N, Obara H et al. Inhibitory effect of local anaesthetics on reactive oxygen species production by human neutrophils. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1997;41:524-8.
- 163) Mamiya K, Tomoda MK, Edashige K, Ueda W, Manabe M: Local anesthetics enhance nitric oxide production by human peripheral neutrophils. *Physiol Chem Phys Med NMR.* 1995;27:111-9.

- 164) Goldstein IM, Lind S, Hoffstein S, Weissmann G: Influence of local anesthetics upon human polymorphonuclear leukocyte function in vitro: Reduction of lysosomal enzyme release and superoxide anion production. *J Exp Med.* 1977;146:483–94.
- 165) Hoidal JR, White JG, Repine JE: Influence of cationic local anesthetics on the metabolism and ultrastructure of human alveolar macrophages. *J Lab Clin Med.* 1979;93:857–66.
- 166) Cullen BF, Haschke RH. Local anesthetic inhibition of phagocytosis and metabolism of human leukocytes. *Anesthesiology.* 1974 40:142–6.
- 167) Dickstein R, Kiremidjian-Schumacher L, Stotzky G. Effect of lidocaine on production of migration inhibitory factor and on macrophage motility: In vitro exposure of guinea pig lymphocytes and macrophages. *J Leukocyte Biol.* 1984;36:621–32.
- 168) Fischer LG, Conrad B, Krumm B, Hollmann MW, Durieux ME. Time-dependent attenuation by lidocaine of respiratory burst in human neutrophils primed with lysophosphatic acid. *Anesth Analg.* 2000;90:405.
- 169) Eriksson AS, Sinclair R, Cassuto J, Thomsen P. Influence of lidocaine on leukocyte function in the surgical wound. *Anesthesiology.* 1992;77:74–8.
- 170) Welbourn CR, Goldman G, Paterson IS, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. *Br J Surg.* 1991;78(6):651-5.
- 171) Wang D, Wu X, Zhou Y, Shan G, Hu X, Li J et al. Lidocaine improving the cerebral protection by retrograde cerebral perfusion. *Chin Med J.* 1998;111(10):885-90.
- 172) Wang D, Wu X, Zhong Y, Zhou Y, Shan G, Hu X et al. Effect of lidocaine on improving cerebral protection provided by retrograde cerebral perfusion: a neuropathologic study. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 1999;13(2):176-80.

- 173) Lee R, Nitta T, Schmid RA, Schuessler RB, Harris KM, Gay WA Jr. Retrograde infusion of lidocaine or L-arginine before reperfusion reduces myocardial infarct size. *Ann Thorac Surg.* 1998;65(5):1353-9.
- 174) Sultan I, Sunamori M, Suzuki A. Heart preservation: analysis of cardioprotective infusate characteristics. Membrane stabilization, calcium antagonism, and protease inhibition on myocardial viability: a biochemical, ultrastructural, functional study. *J Heart Lung Transplant.* 1992;11(4 Pt 1):607-18.
- 175) Schmid RA, Yamashita M, Ando K, Tanaka Y, Cooper JD, Patterson GA. Lidocaine reduces reperfusion injury and neutrophil migration in canine lung allografts. *Ann Thorac Surg.* 1996;61(3):949-55.
- 176) Das KC, Misra HP. Prevention of reperfusion lung injury by lidocaine in isolated rat lung ventilated with higher oxygen levels. *J Postgrad Med.* 2003;49(1):17-20.
- 177) Chen MY, Li CH, Huang ZQ, Liu JC, Zhou NX, Huang XQ et al. Protective effects of lidocaine injected into the hepatoduodenal ligament on warm ischemia-reperfusion injury to the rat liver. *Chin Med J.* 2004;117(2):275-9.
- 178) de Graaf W, Diepenhorst GM, Herroeder S, Erdogan D, Hollmann MW, van Gulik TM. Systemic lidocaine does not attenuate hepatic dysfunction after liver surgery in rats. *Anesth Analg.* 2012;114(3):566-73.
- 179) Nellgard P, Jonsson A, Bojo L, Tarnow P, Cassuto J. Small-bowel obstruction and the effects of lidocaine, atropine and hexamethonium on inflammation and fluid losses. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1996;40:287-92.
- 180) Rimbäck G, Cassuto J, Wallin G, Westlander G. Inhibition of peritonitis by amide local anesthetics. *Anesthesiology.* 1988;69:881-6.



- 181) Martinsson T, Oda T, Fernvik E, Roempke K, Dalsgaard CJ, Svensjo E: Ropivacaine inhibits leukocyte rolling, adhesion and CD11b/CD18 expression. *J Pharmacol Exp Ther.* 1997;283:59–65.
- 182) Arlander E, Ost A, Stahlberg D, Lofberg R. Ropivacaine gel in active distal ulcerative colitis and proctitis: A pharmacokinetic and exploratory clinical study. *Aliment Pharmacol Ther.* 1996;10:73–81.
- 183) Björck S, Dahlstrom A, Johansson L, Ahlman H. Treatment of the mucosa with local anaesthetics in ulcerative colitis. *Agents Actions.* 1992;special number:60–72.
- 184) Di Rosa M, Giroud JP, Willoughby DA. Studies on the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. *J Pathol.* 1971;104:15–29.
- 185) Cheng G, Cassissi C, Drexler PG, Vogel SB, Sninsky CA, Hocking MP. Salsalate, morphine, and postoperative ileus. *Am J Surg.* 1996;171:85–8.
- 186) Rimbäck G, Cassuto J, Faxen A, Hogstrom S, Wallin G, Tollesson PO. Effect of intra-abdominal bupivacaine instillation on postoperative colonic motility. *Gut.* 1986;27:170–5.
- 187) Rimbäck G, Cassuto J, Tollesson PO. Treatment of postoperative paralytic ileus by intravenous lidocaine infusion. *Anesth Analg.* 1990;70:414–9.
- 188) Groudine SB, Fisher HAG, Kaufman RP, Patel MJ, Wilkins LJ, Mehta SA et al. Intravenous lidocaine speeds the return of bowel function, decreases postoperative pain, and shortens hospital stay in patients undergoing radical retropubic prostatectomy. *Anesth Analg.* 1998;86:235–9.
- 189) Harvey KP, Adair JD, Isho M, Robinson R. Can intravenous lidocaine decrease postsurgical ileus and shorten hospital stay in elective bowel surgery? A pilot study and literature review. *Am J Surg.* 2009;198(2):231-6.

- 190) Marret E, Rolin M, Beaussier M, Bonnet F. Meta-analysis of intravenous lidocaine and postoperative recovery after abdominal surgery. *Br J Surg.* 2008;95(11):1331-8.
- 191) MacGregor RR, Thorner RE, Wright DM: Lidocaine inhibits granulocyte adherence and prevents granulocyte delivery to inflammatory sites. *Blood.* 1980;56:203–9.
- 192) Powell DM, Rodehaever GT, Foresman PA, Hankins CL, Bellian KT, Zimmer CA et al. Damage to tissue defenses by EMLA cream. *J Emerg Med* 1991;9:205–9.
- 193) Peck SL, Johnston RB Jr, Horwitz LD. Reduced neutrophil superoxide anion release after prolonged infusions of lidocaine. *J Pharmacol Exp Ther.* 1985;235:418–22.
- 194) Ravin CE, Latimer JM, Matsen JM. In vitro effects of lidocaine on anaerobic respiratory pathogens and strains of *Hemophilus influenzae*. *Chest.* 1977;72:439–41.
- 195) Rosenberg PH, Renkonen OV. Antimicrobial activity of bupivacaine and morphine. *Anesthesiology.* 1985;62:178–9.
- 196) Conte BA, Laforet EG. The role of the topical anesthetic solutions on bronchial secretions during bronchoscopy. *N Engl J Med.* 1962;267:957–9.
- 197) Schmidt RM, Rosenkranz HS. Antimicrobial activity of local anesthetics: lidocaine and procaine. *J Infect Dis.* 1970;121:597–607.
- 198) Fazly Bazaz BS, Salt WG. Local anaesthetics as antibacterial agents: effects on cellular respiration and the leakage of cytoplasmic constituents. *Microbios.* 1983;37:139–49.
- 199) De Amici D, Ramaioli F, Ceriana P, Percivalle E. Antiviral activity of local anaesthetic agents. *J Antimicrob Chemother.* 1996;37:635.
- 200) Brocco MC, Paulo DNS, Baptista JFA, Carraretto AR, Ferrari TA, Azevedo TCV, Silva. Efeito da Lavagem Peritoneal com Bupivacaína na Sobrevida de Ratos com Peritonite Fecal. *Rev Bras Anesthesiol.* 2008;58:5:470-9.

- 201) Brocco MC, Paulo DN, Baptista JF, Ferrari TA, Azevedo TC, Silva AL. Effects of peritoneal lavage with lidocaine on survival of rats with fecal peritonitis. *Acta Cir Bras.* 2008;23(1):42-7.
- 202) Brocco MC, Paulo DN, Almeida CE, Carraretto AR, Cabral SA, Silveira AC et al. A study of interleukin 6 (IL-6) and tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) serum levels in rats subjected to fecal peritonitis and treated with intraperitoneal ropivacaine. *Acta Cir Bras.* 2012;27(7):494-8.
- 203) Brocco MC, Gomez RS, Paulo DN, Almeida CE, Baptista JF. Histological features of peritoneal lavage with ropivacaine in rats with fecal peritonitis. *Acta Cir Bras.* 2012;27(2):193-9.
- 204) Parker SJ, Watkins PE. Experimental models of gram-negative sepsis. *Br J Surg.* 2001;88:22-30.
- 205) Wicherman KA, Baue AE, Chaudry IH. Sepsis and septic shock – A review of laboratory models and a proposal. *J Surg Res.* 1980;29:189-201.
- 206) Ebong S, Call D, Nemzek J, Bolgos G, Newcomb D, Remick D. Immunopathologic alterations in murine models of sepsis of increasing severity. *Infect Immun.* 1999;67:6603-10.
- 207) Richmond JM, Walker JF, Avila A, Petrakis A, Finley RJ, Sibbald WJ et al. Renal and cardiovascular response to nonhypotensive sepsis in a large animal model with peritonitis. *Surgery.* 1985;97:205-14.
- 208) Lang CH, Bagby GJ, Bornside GH, Vial LJ, Spitzer JJ. Sustained hypermetabolic sepsis in rats: characterization of the model. *J Surg Res.* 1983;35(3):201-10.
- 209) Karazian KK, Perdue PW, Lynch W, Dziki A, Nevola J, Lee CH et al. Porcine peritoneal sepsis: modeling for clinical relevance. *Shock.* 1994;1:201-12.

- 210) Quezado Z, Natanson C, Alling D, Banks SM, Koev CA, Elin RJ et al. A controlled trial of HA-1A in a canine model of gram negative septic shock. *J Am Med Assoc.* 1993;269:2221-7.
- 211) Goldfarb RD, Marton A, Szabó E, Virág L, Salzman AL, Glock D et al. Protective effect of a novel, potent inhibitor of poly (adenosine 5'-diphosphate-ribose) synthetase in a porcine model of severe bacterial sepsis. *Crit Care Med.* 2002;30:970-80.
- 212) Nakatani T, Sato T, Marzella L, Hirai F, Trump FB, Siegel JH. Hepatic and systemic metabolic response to aerobic and anaerobic intra-abdominal abscesses in a highly reproducible chronic rat model. *Circ Shock.* 1984;13:271-94.
- 213) Natanson C, Danner RL, Elin RJ, Hosseini JM, Peart KW, Banks SM et al. Role of endotoxemia in cardiovascular dysfunction and mortality. *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* challenges in a canine model of human septic shock. *J Clin Invest.* 1989;83:243-51.
- 214) Natanson C, Fink MP, Ballantyne HK, MacVittie TJ, Conklin JJ, Parrillo JE. Gram negative bacteremia produces both severe systolic and diastolic cardiac dysfunction in a canine model that simulates human septic shock. *J Clin Invest.* 1986;78:259-70.
- 215) Nichols RL, Smith JW, Balthazar ER. Peritonitis and intraabdominal abscess: an experimental model for the evaluation of human disease *J Surg Res.* 1978;25:129-34.
- 216) Scheneierson SS, Amsterdam D, Perlman E. Enhancement of intraperitoneal staphylococcal virulence for mice with different bile salts. *Nature.* 1961;190:829-30.
- 217) Weinstein WM, Onderdonk AB, Bartlett SG, Gorbach SL. Experimental intraabdominal abscesses in rats: development of an experimental model. *Infect Immun.* 1974;10:1250-5.

- 218) Hau T, Nelson RD, Fiegel VD, Levenson R, Simmon RL. Mechanisms of the adjuvant action of hemoglobin in experimental peritonitis. 2. Influence of hemoglobin on human leukocyte chemotaxis in vitro. *J Surg Res.* 1977;22:174-80.
- 219) Michie HR. The value of animal models in the development of new drugs for the treatment of sepsis syndrome. *J Antimicrob Chemother.* 1998;41:47-9.
- 220) Piper RD, Cook DJ, Bone RC, Sibbald WJ. Introducing critical appraisal to studies of animal models investigating novel therapies in sepsis. *Crit Care Med.* 1996;24:2059-70.
- 221) Qadan M, Dajani D, Dickinson A, Polk HC Jr. Meta-analysis of the effect of peritoneal lavage on survival in experimental peritonitis. *Br J Surg.* 2010;97(2):151-9.
- 222) Sortini D, Feo CV, Maravegias K, Carcoforo P, Pozza E, Liboni A et al. Role of peritoneal lavage in adhesion formation and survival rate in rats: an experimental study. *J Invest Surg.* 2006;19(5):291-7.
- 223) Jansen M, Fass J, Tittel A, Mumme T, Anurov M, Titkova S et al. Influence of postoperative epidural analgesia with bupivacaine on intestinal motility, transit time, and anastomotic healing. *World J Surg.* 2002;26(3):303-6.
- 224) Schnitzler M, Kilbride MJ, Senagore A. Effect of epidural analgesia on colorectal anastomotic healing and colonic motility. *Reg Anesth.* 1992;17(3):143-7.



## **8. Apêndices**





# Apêndice 1: Liberação da Comissão de Ética na Experimentação Animal do Instituto de Biologia da UNICAMP.



CEEA/Unicamp

## Comissão de Ética na Experimentação Animal CEEA/Unicamp

### CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 1996-1, sobre "Influência da lavagem peritoneal com bupivacaína na cicatrização de anastomose cólica em vigência de peritonite fecal: estudo experimental em ratos", sob a responsabilidade de Prof. Dr. João José Fagundes / Dr. Michel Gardere Camargo, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal – CEEA/Unicamp em 05 de outubro de 2009.

### CERTIFICATE

We certify that the protocol nº 1996-1, entitled "Influence of peritoneal lavage with bupivacaine in the healing of colic anastomosis in the presence of fecal peritonitis: an experimental study in rats", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - Unicamp) on October 5, 2009.

Campinas, 07 de abril de 2010.

2ª. VIA

Prof. Dr. Alexandre Leite Rodrigues de Oliveira  
Presidente

Fátima Alonso  
Secretária Executiva

CEEA – Unicamp  
Caixa Postal 6109  
13083-970 Campinas, SP – Brasil

Telefone: (19) 3521-6359  
E-mail: [comisib@unicamp.br](mailto:comisib@unicamp.br)  
<http://www.ib.unicamp.br/ceea/>

**Apêndice 2: tempo operatório (em minutos) dos animais dos grupos.**

<b>Ratos</b>	<b>Grupo 1</b>	<b>Grupo 2</b>	<b>Grupo 3</b>	<b>Grupo 4</b>
<b>1</b>	<b>39</b>	<b>46</b>	<b>35</b>	<b>55</b>
<b>2</b>	<b>42</b>	<b>38</b>	<b>45</b>	<b>36</b>
<b>3</b>	<b>47</b>	<b>53</b>	<b>41</b>	<b>40</b>
<b>4</b>	<b>37</b>	<b>49</b>	<b>49</b>	<b>41</b>
<b>5</b>	<b>48</b>	<b>39</b>	<b>39</b>	<b>49</b>
<b>6</b>	<b>43</b>	<b>42</b>	<b>54</b>	<b>38</b>
<b>7</b>	<b>56</b>	<b>54</b>	<b>47</b>	<b>51</b>
<b>8</b>	<b>41</b>	<b>43</b>	<b>43</b>	<b>45</b>
<b>9</b>	<b>40</b>	<b>46</b>	<b>40</b>	<b>47</b>
<b>10</b>	<b>46</b>	<b>39</b>	<b>48</b>	<b>50</b>

**Influence of the peritoneal lavage with bupivacaine on the survival and resistance of colonic anastomoses performed under fecal peritonitis in rats<sup>1</sup>**

Michel Gardere Camargo<sup>I</sup>, João José Fagundes<sup>II</sup>, Raquel Franco Leal<sup>III</sup>, Maria de Lourdes Setsuko Ayrizono<sup>IV</sup>, Débora Helena dos Gonçalves Rossi<sup>V</sup>, Priscilla de Sene Portel Oliveira<sup>VI</sup>, Wu Feng Chung<sup>VII</sup>, Hwei Diana Lee<sup>VIII</sup>, Cláudio Saddy Rodrigues Coy<sup>IX</sup>

<sup>I</sup>Fellow Master degree, Postgraduate Program in Sciences of Surgery, Campinas University (UNICAMP), Sao Paulo-SP, Brazil. Conception, design and scientific content of the study; technical procedures; analysis and interpretation of data; manuscript writing.

<sup>II</sup>PhD, Full Professor, Colorectal Surgery Unit, Gastroenterological Surgery Division, Surgery Department, UNICAMP, Sao Paulo-SP, Brazil. Conception, design and scientific content of the study; analysis and interpretation of data; manuscript writing.

<sup>III</sup>PhD, Assistant Professor, Colorectal Surgery Unit, Gastroenterological Surgery Division, Surgery Department, UNICAMP, Sao Paulo-SP, Brazil. Technical procedures.

<sup>IV</sup>PhD, Assistant Professor, Colorectal Surgery Unit, Gastroenterological Surgery Division, Surgery Department, UNICAMP, Sao Paulo-SP, Brazil. Critical revision.

<sup>V</sup>MD, Colorectal Surgery Unit, Gastroenterological Surgery Division, Surgery Department, UNICAMP, Sao Paulo-SP, Brazil. Manuscript writing.

<sup>VI</sup>MD, Colorectal Surgery Unit, Gastroenterological Surgery Division, Surgery Department, UNICAMP, Sao Paulo-SP, Brazil. Technical procedures.

<sup>VII</sup>PhD, Assistant Professor, Bioinformatics Division, Department of Computer Science, State University of the West of Parana, Brazil. Analysis and interpretation of data.

<sup>VIII</sup>PhD, Assistant Professor, Bioinformatics Division, Department of Computer Science, State University of the West of Parana, Brazil. Conception, design and scientific content of the study; analysis and interpretation of data.

<sup>IX</sup>PhD, Full Professor and Head, Colorectal Surgery Unit, Gastroenterological Surgery Division, Surgery Department, UNICAMP, Sao Paulo-SP, Brazil. Critical revision.

---

**ABSTRACT**

**PURPOSE:** To evaluate the effects of peritoneal lavage with bupivacaine on survival and initial resistance of anastomosis on distal colon, performed under peritonitis or not.

**METHODS:** Forty rats, weighing from 300 to 350g (321.29±11.31g), were randomly divided in four groups and underwent laparotomy and anastomosis on the distal colon six hours after induction of peritonitis by intraperitoneal injection of autologous fecal material or not. Group 1: No peritonitis and lavage with 3ml NS; Group 2: No peritonitis and lavage with 8 mg.kg<sup>-1</sup> (± 0.5 mL) of 0.5% bupivacaine added to 2.5 mL of NS; Group 3: Peritonitis and lavage with 3ml NS; Group 4: Peritonitis and lavage with 8 mg.kg<sup>-1</sup> (± 0.5 mL) of 0.5% bupivacaine added to 2.5 mL of NS. Necropsies were performed on the animals that died and the time of death was recorded. Surviving animals were submitted to euthanasia on the fifth post-operative day and Total Energy of Rupture biomechanical test (TER) was applied.

**RESULTS:** Group 4 showed survival increase compared to Group 3, without statistical significance. Group 3 presented the smallest average TER, with statistical significance.

**CONCLUSION:** Peritonitis increased mortality and influenced negatively the resistance of colic anastomosis in rats. Peritoneal lavage with bupivacaine increased anastomotic resistance.

**Key words:** Anesthetics, Local. Bupivacaine. Anastomosis, Surgical. Colon. Peritonitis. Rats.

---