

YARA EMATNÉ AMARAL PEREIRA

**INFLUÊNCIA DO CHOQUE HEMORRÁGICO
NA ANASTOMOSE DE CÓLON SIGMÓIDE EM
RATOS – AVALIAÇÃO COM TESTE DE RESISTÊNCIA
À PRESSÃO DE RUPTURA**

CAMPINAS

2007

YARA EMATNÉ AMARAL PEREIRA

**INFLUÊNCIA DO CHOQUE HEMORRÁGICO
NA ANASTOMOSE DE CÓLON SIGMÓIDE EM
RATOS – AVALIAÇÃO COM TESTE DE RESISTÊNCIA
À PRESSÃO DE RUPTURA**

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

ORIENTADOR: PROF. DR. CLÁUDIO SADDY RODRIGUES COY

CO-ORIENTADOR: PROF. DR. JOÃO JOSÉ FAGUNDES

CAMPINAS

2007

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

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

P414i Pereira, Yara Ematné Amaral
Influência do choque hemorrágico na anastomose de cólon em ratos
– Avaliação com teste de resistência à pressão de ruptura / Yara
Ematné Amaral Pereira. Campinas, SP : [s.n.], 2007.

Orientador : Cláudio Saddy Rodrigues Coy
Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Anastomose. 2. Cólon. 3. Hipovolemia. I. Coy, Cláudio
Saddy Rodrigues. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade
de Ciências Médicas. III. Título.

Título em inglês : Hemorrhagic shock influence on colonic anastomosis in rats – Evaluation with resistance test to rupture by liquid distension

Keywords: • Anastomosis
• Colon
• Hypovolemia

Titulação: Mestrado em Cirurgia
Área de concentração: Cirurgia

Banca examinadora: Prof. Dr. Claudio Said Rodríguez Coy
Prof. Dr. Luís Henrique Cury Saad
Prof. Dr. Luis Roberto Lopes

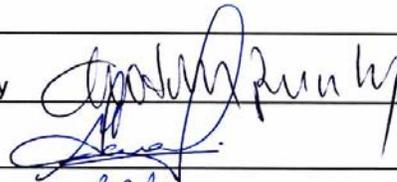
Data da defesa: 20-06-2007

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

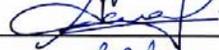
Orientador: Prof. Dr. Cláudio Saddy Rodrigues Coy

Membros:

1. Prof. Dr. Cláudio Saddy Rodrigues Coy



2. Prof. Dr. Luiz Henrique Cury Saad



3. Prof. Dr. Luiz Roberto Lopes



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

Data: 20/06/2007

DEDICO ESTA OBRA

*ao meu marido Ademir e aos meus filhos Laura e Felipe
que sempre ao meu lado, com incentivo e carinho,
tornaram possível a realização deste sonho.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Prof. Dr. Cláudio Saddy Rodrigues Coy que com seu exemplo de dedicação, otimismo e paciência, tornou possível a realização deste almejado trabalho.

Ao Prof. Dr. João José Fagundes pela sua bela e admirável capacidade de simplificar o difícil e nos fortalecer nas horas mais árduas.

Ao Prof. Dr. Ricardo Góes pelas palavras de incentivo e apoio.

À Prof. Dra. Lourdes e Dra. Raquel pelo exemplo de dedicação à vida acadêmica.

À Dra. Rosana Morandin, pela sua grande dedicação à pesquisa e que com sua experiência e grande incentivo fez com que este complexo experimento se tornasse simples e agradável.

Ao amigo Ricardo Bolzam que sempre esteve junto na realização deste trabalho.

Aos biólogos Ana Cristina de Moraes e William Adalberto Silva pela amizade, companheirismo e simplicidade.

Ao Prof. Dr. Mario Mantovani, que com grande gentileza nos cedeu o laboratório para a realização da etapa experimental.

À Vera Maria Barbosa pela valiosa ajuda fornecida no decorrer destes anos.

Ao meu finado pai Cassildo, minha mãe Lúcia e irmãos Marcelo e Gustavo que sempre acreditaram na minha vontade de crescer e na minha dedicação profissional.

E a todos, mesmo que no anonimato, se fizeram presentes e tornaram real este trabalho.

| | PÁG. |
|--|-------------|
| RESUMO | <i>xii</i> |
| ABSTRACT | <i>xiv</i> |
| 1- INTRODUÇÃO | 16 |
| 1.1- Dados da literatura | 17 |
| 1.1.1- Choque hemorrágico..... | 17 |
| 1.1.2- Choque hemorrágico e manifestações intestinais..... | 18 |
| 1.1.3- Anastomoses intestinais - Isquemia intestinal, choque hemorrágico e anemia aguda..... | 19 |
| 2- OBJETIVOS | 22 |
| 3- MATERIAL E MÉTODOS | 24 |
| 3.1- Avaliação do comitê de ética e experimentação animal | 25 |
| 3.2- Local de experimentação | 25 |
| 3.3- Animais utilizados | 25 |
| 3.4- Formação dos grupos | 25 |
| 3.5- Critérios de exclusão | 26 |
| 3.6- Etapas experimentais | 26 |
| 3.6.1- Preparo do material cirúrgico..... | 26 |
| 3.6.2- Anestesia..... | 26 |
| 3.6.3- Medida da pressão arterial média..... | 27 |
| 3.6.4- Indução do choque hemorrágico..... | 28 |
| 3.6.5- Laparotomia e realização da anastomose..... | 28 |
| 3.6.6- Dosagens do lactato sérico..... | 30 |

| | |
|---|-----------|
| 3.6.7- Reposição volêmica..... | 30 |
| 3.6.8- Analgesia pós-operatória..... | 30 |
| 3.6.9- Cuidados pós-operatórios..... | 31 |
| 3.6.10- Eutanásia..... | 31 |
| 3.6.11- Exérese e preparo da alça cólica..... | 31 |
| 3.6.12- Avaliação da anastomose..... | 33 |
| 3.6.13- Método estatístico..... | 35 |
| 4- RESULTADOS..... | 36 |
| 4.1- Evolução clínica dos animais..... | 37 |
| 4.2- Duração do ato cirúrgico..... | 38 |
| 4.3- Avaliação da cavidade abdominal e da anastomose intestinal..... | 39 |
| 4.4- Pressão arterial média..... | 39 |
| 4.4.1- Dosagem da PAM nos grupos G1 e G2..... | 39 |
| 4.4.2- Dosagem da PAM inicial e final no grupo G1..... | 41 |
| 4.4.3- Dosagem da PAM inicial e final no grupo G2..... | 42 |
| 4.5- Dosagem do lactato sérico..... | 43 |
| 4.5.1- Dosagem de lactato sérico nos grupos G1 e G2..... | 43 |
| 4.5.2- Dosagem de lactato sérico inicial e final no grupo G1..... | 45 |
| 4.5.3- Dosagem de lactato sérico inicial e final no grupo G2..... | 45 |
| 4.6- Teste de pressão de ruptura à distensão por líquido..... | 46 |
| 5- DISCUSSÃO..... | 48 |
| 6- CONCLUSÃO..... | 55 |
| 7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 57 |
| 8- ANEXOS..... | 65 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|----------------------------|---|
| PAM | Pressão arterial média |
| CH | Choque hemorrágico |
| DAO | Diamina oxidase |
| CEEA – IB – UNICAMP | Comissão de Ética na Experimentação Animal – Instituto de Biologia – Universidade Estadual de Campinas; |
| CEMIB | Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica |
| LiG2 | Lactato inicial do grupo G2 |
| L15G2 | Lactato 15 minutos após o choque no grupo G2 |
| LfG2 | Lactato final do grupo G2 |
| LiG1 | Lactato inicial do grupo G1 |
| LfG1 | Lactato final do grupo G1 |
| N | número |
| DP | desvio padrão |
| MAX | máxima |
| MIN | mínima |
| PVC | polivinilcloroeto |

LISTA DE NOTAÇÕES

| | |
|-------------|------------------------|
| min | minutos |
| mmHg | milímetros de mercúrio |
| mMol | milimoles |
| l | litro |
| kg | quilogramas |
| mg | miligramas |
| °C | graus celcius |
| % | por cento |

LISTA DE TABELAS

| | <i>PÁG.</i> |
|---|-------------|
| Tabela 1- Tempo cirúrgico médio (minutos)..... | 38 |
| Tabela 2- Pressão arterial média inicial (mmHg) - Grupos G1 e G2..... | 40 |
| Tabela 3- Pressão arterial média final (mmHg) - Grupos G1 e G2..... | 40 |
| Tabela 4- Pressão arterial média inicial e final (mmHg) - Grupo G1..... | 41 |
| Tabela 5- Pressão arterial média inicial, após 15 minutos de choque e final (mmHg) - Grupo G2..... | 42 |
| Tabela 6- Lactato sérico inicial (mMol/l) - Grupos G1 e G2..... | 43 |
| Tabela 7- Lactato sérico final (mMol/l) - Grupos G1 e G2..... | 44 |
| Tabela 8- Lactato sérico inicial e final (mMol/l) – Grupo G1..... | 45 |
| Tabela 9- Lactato sérico inicial, após 15 minutos de choque e final (mMol/l) – Grupo G2..... | 46 |
| Tabela 10- Pressão de ruptura (mmHg) - Grupos G1 e G2..... | 47 |

| | PÁG. |
|---|-------------|
| Figura 1- Material cirúrgico..... | 26 |
| Figura 2- Artéria carótida dissecada..... | 27 |
| Figura 3- Polígrafo Biomotor com registro da PAM..... | 27 |
| Figura 4- Anastomose intestinal..... | 29 |
| Figura 5- Proteção da anastomose intestinal..... | 29 |
| Figura 6- Lactímetro..... | 30 |
| Figura 7- Animais no pós-operatório imediato..... | 31 |
| Figura 8- Inventário da cavidade abdominal..... | 32 |
| Figura 9- Segmento do cólon em solução de papaverina..... | 32 |
| Figura 10- Material utilizado no teste de ruptura..... | 34 |
| Figura 11- Registro da queda de pressão..... | 35 |
| Figura 12- Evolução dos ratos operados sem e com choque, para constituição dos dois grupos..... | 38 |
| Figura 13- Tempo cirúrgico..... | 39 |
| Figura 14- Pressão artéria média inicial..... | 40 |
| Figura 15- Pressão artéria média final..... | 41 |
| Figura 16- PAM no grupo G1..... | 42 |
| Figura 17- PAM no grupo G2..... | 43 |
| Figura 18- Lactato inicial..... | 44 |
| Figura 19- Lactato final..... | 44 |
| Figura 20- Lactato no grupo G1..... | 45 |
| Figura 21- Lactato no grupo G2..... | 46 |
| Figura 22- Pressão de ruptura..... | 47 |

RESUMO



Introdução: As complicações das anastomoses intestinais podem ser graves com altos índices de morbi/mortalidade. Vários fatores relacionados à qualidade das mesmas têm sido objetos de estudos, como técnica operatória, fios de sutura ou variáveis bioquímicas, enquanto que outros, não associados diretamente à técnica cirúrgica, são menos avaliados, como por exemplo, a influência de choque hemorrágico.

Objetivo: Avaliar o efeito do choque hemorrágico em anastomoses de cólon em ratos, com teste de ruptura à distensão por líquido.

Material e Método: Foram utilizados ratos da linhagem Wistar, com idade aproximada de 90 dias e peso variando de 310 gramas a 380 gramas. Os animais foram divididos em dois grupos, sendo o grupo G1, composto por 10 animais submetidos à anastomose de cólon em condições de normovolemia e o grupo G2, composto por 10 animais submetidos à anastomose de cólon em condições de hipovolemia. O choque foi instalado através da retirada de meio mililitro de sangue a cada dois minutos, até que se atingissem valores de pressão arterial média (PAM) de 50mmHg ou volume total de retirada correspondente a 30% da volemia. Foram realizadas dosagens séricas de lactato (mmol/l) no início do procedimento e ao término do mesmo. Os valores séricos médios de lactato ao término da cirurgia foram de 1,91 mMol/l no grupo G1 e de 3,69 mMol/l no grupo G2 ($p < 0,05$) No quinto dia de pós-operatório, os animais foram submetidos à eutanásia e tiveram suas anastomoses testadas por teste de resistência à pressão de ruptura à distensão por líquido.

Resultados: No grupo G1, o valor médio da pressão de ruptura do cólon à distensão por líquido foi de 160,7 mmHg enquanto que no grupo G2 foi de 152,1mmHg ($p > 0,05$).

Conclusão: A presença de choque hemorrágico, nas condições estabelecidas neste estudo, não exerceu influência em anastomoses de cólon em ratos, avaliadas com teste de ruptura à distensão por líquido.

ABSTRACT



Introduction: Intestinal anastomoses complications can be very serious, with high morbidity and mortality rates. Several factors related to their quality have been object of studies, such as technical aspects, suture threads or biochemical variables. Others, not directly associated with the surgery technique, are less evaluated, such as the influence of hemorrhagic shock.

Objective: Evaluate the effect of hemorrhagic shock in colonic anastomoses in rats, with resistance test to rupture by liquid distension.

Methods and Material: Wistar lineage rats, averaging 90 days old and weight varying from 310 to 380 grams were divided into two groups. In the G1 group, 10 animals were submitted to colonic anastomoses in normovolemic terms and the G2 group 10 animals were submitted to colonic anastomoses in hipovolemic conditions. The shock was caused by half milliliter blood withdrawal, done every two minutes, until reached the value of average arterial pressure of 50mmHg or total volume of corresponding withdrawal to 30% of volemia. Serum lactate dosages were carried out at the beginning and at the end of the procedure. The average serum values lactate at the end of the surgery were 1,91 mMol/l in the G1 group and 3,69 mMol/l in the G2 group ($p < 0,05$). On the fifth postoperative day, the animals were submitted to euthanasia. The anastomoses were evaluated with resistance test to rupture by liquid distension.

Results: In the G1 group, the average value of colonic rupture was 160,7mmHg whereas in the G2 group was 152,1mmHg ($p > 0,05$).

Conclusion: Hemorrhagic shock, in the established conditions of this study, had no influence in colonic anastomosis in rats evaluated with resistance test to rupture by liquid distention.

1- INTRODUÇÃO

O interesse despertado pelo melhor conhecimento dos fatores envolvidos na cicatrização das anastomoses intestinais, decorre das graves repercussões clínicas que podem advir de falhas da mesma. As complicações pós-operatórias secundárias às deiscências das anastomoses intestinais aumentam o tempo de hospitalização, os custos e a mortalidade. As técnicas e procedimentos utilizados para se evitar essa importante complicação, fazem parte da rotina do cirurgião, porém nem sempre resultando na evolução pós-operatória esperada.

Assim, a busca pelo conhecimento dos diversos aspectos envolvidos na cicatrização intestinal adquire importância prática, resultando em grande número de estudos que avaliam aspectos relacionados à técnica cirúrgica, variáveis histológicas, bioquímicas ou biomecânicas.

Outros fatores não relacionados diretamente à técnica operatória, mas que poderiam influenciar a cicatrização intestinal, têm sido menos avaliados como a ocorrência de choque hipovolêmico. Esta condição e a necessidade de realização de anastomose intestinal são ocorrências comuns em cirurgias de urgência. Assim, justifica-se o estudo dos efeitos da hipovolemia e conseqüentemente da hipóxia tecidual nas suturas intestinais

1.1- Dados de literatura

1.1.1- Choque hemorrágico

Choque é definido como disfunção circulatória causando hipóxia tecidual podendo levar a falência de múltiplos órgãos (Mantovani e Filho, 1996).

Pode ser secundário a vários fatores, entre eles a hipovolemia, caracterizando assim o choque hemorrágico (CH).

O Colégio Americano de Cirurgiões define quatro classes de choque hemorrágico, sendo que somente nas classes III e IV , quando a perda sanguínea é superior a 30%, é que podemos observar disfunção circulatória e evidências de falência de múltiplos órgãos (Wilson et al., 2003).

A dosagem de lactato tem sido usada para se avaliar a ocorrência e intensidade da hipoperfusão tecidual no choque hemorrágico e como produto da glicólise anaeróbica, pode ser utilizado como mensurador indireto do débito de oxigênio (Wilson et al, 2003.). Broder e Weil (1964) observaram que níveis de lactato sérico em torno de 4mmol/l foram associados a baixas taxas de sobrevivência (11%) em pacientes críticos.

Dunham et al. (1991) demonstraram que os valores séricos do lactato são mais sensíveis que a pressão sanguínea ou débito cardíaco, como variável preditiva de mortalidade, em modelo de choque hemorrágico com cães. Knotzer et al (2006) observaram aumento da concentração sérica de lactato em estudo experimental em ratos submetidos a choque hemorrágico induzido com redução de 50% da volemia.

1.1.2- Choque hemorrágico e manifestações intestinais

Estudos em animais submetidos a choque hemorrágico visam à análise dos diferentes mediadores bioquímicos e suas repercussões secundárias às alterações do trato gastrintestinal, (Haglund et al., 1994; Jiang et al., 1995; Dzienis-Koronkiewicz et al., 1998; Fontelles, 2001; Rixen et al., 2001). O acometimento da integridade do trato gastrintestinal secundária ao choque, faz com que o mesmo desempenhe importante papel no desencadeamento de repercussões sistêmicas. A barreira mucosa assim danificada permite a liberação de mediadores inflamatórios, assim como a ocorrência de translocação bacteriana. (Haglund, 1988; Collins, 1990; Deitch et al., 1994; Chang, 1997; Li et al., 2002; Lu et al., 2006).

Chang (1997) em estudo com ratos, demonstrou que a ausência do intestino em vigência de choque hipovolêmico melhora os níveis de ATP hepático, contribuindo positivamente para a reversibilidade do choque.

Yilmaz et al. (1999), constataram em estudo em porcos, que a combinação de isquemia cólica e choque hipovolêmico são acompanhados por aumento da angiotensina II visceral, provavelmente causada por resposta seletiva da circulação esplâncnica.

Tamion et al. (2002) evidenciaram a ocorrência de repercussões sistêmicas, induzidas por isquemia e reperfusão intestinal, conseqüentes à liberação de citocinas pró-inflamatórias pelo intestino.

Li et al. (2002) demonstraram aumento dos níveis plasmáticos de diamina oxidase (DAO) e do fator de necrose tumoral em ratos submetidos a choque hemorrágico secundário à destruição celular da mucosa intestinal.

Tekin et al.(2002), em estudo com ratos, confirmando dados demonstrados por Ozden et al (1999) , evidenciaram que o tratamento com antitrombina III previne de forma significativa os efeitos deletérios da injúria provocada com isquemia e reperfusão intestinal em anastomose de cólon, com aumento da pressão de ruptura e da concentração de hidroxiprolina .

Chang et al. (2005a) avaliaram as transformações funcionais e morfológicas na barreira intestinal durante o processo de reparação tissular após choque hemorrágico em ratos, demonstrando que a mesma é seriamente danificada na fase inicial de reperfusão após o choque hemorrágico, resultando em atrofia da mucosa intestinal e conseqüente aumento de sua permeabilidade. Também pôde ser demonstrado, que a mesma possui um grande potencial de reparo, com recuperação completa em aproximadamente 24 horas após o choque, sendo este maior no cólon quando comparado ao intestino delgado.

Lu et al. (2006) em estudo realizado em ratos, observaram aumento precoce de apoptose no epitélio intestinal, quando estes animais eram submetidos a choque hemorrágico, o que poderia comprometer a integridade da parede intestinal e favorecendo assim a liberação de endotoxinas e translocação bacteriana.

1.1.3- Anastomoses Intestinais- Isquemia intestinal, choque hemorrágico e anemia aguda

As anastomoses do cólon, estão associadas a risco relativamente alto de deiscência, variando de 15% a 77% (Greca et al., 2000). Segundo Ambrosetti et al. (1999), fatores técnicos e distúrbios sistêmicos poderiam causar hipoperfusão tecidual na linha de

anastomose, aumentando assim os índices de deiscências. Vários relatos em diferentes modelos experimentais avaliam as repercussões da hipovolemia ou anemia aguda nas anastomoses intestinais.

A isquemia intestinal pode ser bastante deletéria e tem sido motivo de estudos, pois esta condição, eventualmente encontrada na prática cirúrgica, pode ser determinada por dificuldades técnicas ou secundária a distúrbios de perfusão. O efeito da isquemia intestinal em anastomoses de cólon em ratos foi analisado por Garcia et al (1998). Os autores realizaram ligaduras nos pedículos arteriais e as anastomoses foram avaliadas no 4º dia de pós-operatório. Concluiu-se que o acúmulo aumentado de radicais superóxidos e a menor quantidade de hidroxiprolina nas anastomoses contribuíram para o enfraquecimento das anastomoses, evidenciado por menor pressão de ruptura à pressão.

Rocha et al. (2005) avaliaram o possível efeito da oxigenação hiperbárica em cólon isquêmico de ratos, não evidenciando diferenças nos valores de pressão de ruptura quando comparados ao grupo controle.

Buchmiller-Crair et al. (2001) estudaram a influência da anemia aguda em anastomoses de intestino delgado e cólon em coelhos, analisando parâmetros histológicos e biomecânicos. Os autores observaram menor deposição de colágeno nos dois grupos em relação ao grupo controle, tanto na primeira como na segunda semana de avaliação. Quanto ao teste de pressão de ruptura à distensão gasosa, foi possível observar um decréscimo do valor de pressão de ruptura em anastomose do intestino delgado no 7º e 14º dia de pós-operatório, quando comparados com o grupo controle. No cólon o decréscimo foi observado apenas no 7º dia de pós-operatório.

Brito et al. (2001) em estudo em ratos, analisaram o efeito do choque hipovolêmico em anastomoses do intestino delgado, evidenciando alterações histológicas como lesão da túnica mucosa e aumento da deposição de fibras colágenas, além de tendência à diminuição da resistência da anastomose intestinal quando submetida a teste de ruptura por insuflação gasosa.

Estudo do efeito do choque hipovolêmico em anastomoses do cólon em cães, foi realizado por Greca et al. (2000), analisando parâmetros clínicos e histológicos. Os autores observaram índices de complicações infecciosas duas vezes maiores nos animais submetidos ao choque, mas sem diferença com relação à pressão de ruptura, quando comparado ao grupo controle. Porém, contrariamente às observações de Brito et al. (2001) e assim como Buchmiller-Crair et al. (2001), estes autores constataram menor quantidade de colágeno total.

Lauand et al. (2004) analisaram o efeito da hipovolemia nas anastomoses cólicas em ratos com retirada de 20% e 40% da volemia através da punção da artéria caudal. Os autores concluíram que a dosagem de hidroxiprolina nas anastomoses não foi influenciada pela intensidade da hipovolemia quando comparada ao grupo controle.

Baffa et al. (2005), estudaram o efeito da anemia aguda na cicatrização da anastomose de cólon em ratos. Foram utilizados 40 ratos divididos em dois grupos, sendo um controle e o outro grupo submetido à anemia aguda com sangria de 30% da volemia e reposição de mesmo volume com Ringer Lactato. Todos os animais foram submetidos a anastomoses no cólon, com a avaliação de parâmetros histológicos e bioquímicos no oitavo dia de pós-operatório. Quanto à dosagem de hidroxiprolina, não houve diferença significativa entre os dois grupos, porém os animais anêmicos apresentaram maior quantidade de fibrina e infiltrado monocitário, fatores deletérios na cicatrização. Evidenciaram também diminuição em parâmetros de dilatação linfática, de congestão vascular e de neoformação vascular. Os autores demonstraram assim que isoladamente, a anemia aguda causa efeitos adversos em parâmetros histológicos da cicatrização de anastomoses cólicas.

As anastomoses intestinais e sua cicatrização tem sido motivo de várias linhas de pesquisas com resultados importantes para o aprimoramento do cirurgião em sua rotina, porém outras variáveis ainda necessitam de avaliações. O choque hemorrágico é freqüente e sua associação a múltiplas lesões intra abdominais não é incomum, porém a sua real influência na evolução e tratamento das lesões intestinais faz surgir a necessidade de novos estudos.

2- OBJETIVOS

Avaliar a influência do choque hemorrágico na anastomose de cólon em ratos com teste de ruptura à distensão por líquido, no quinto dia de pós-operatório.

3- MATERIAL E MÉTODOS

3.1- Avaliação do comitê de ética e experimentação animal

O presente experimento foi submetido ao Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade Estadual de Campinas (CEEA-IB-UNICAMP), sendo aprovado como projeto de pesquisa de número 549-1 (Anexo 1).

3.2- Local de experimentação

Os experimentos foram realizados na Unidade de Técnica Cirúrgica do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da UNICAMP. Os animais foram alojados no biotério do Núcleo de Cirurgia, em sala fechada climatizada, com ciclos claro e escuro de doze horas.

Os ratos foram mantidos em gaiolas específicas, com cinco animais em cada uma delas, com livre acesso à água e ração.

3.3- Animais utilizados

Utilizou-se ratos (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*) da linhagem Wistar, machos, com peso variando de 310 a 380 gramas, idade aproximada de 90 dias, criados sob condições ambientais e alimentares semelhantes e fornecidos pelo Biotério Central da UNICAMP (CEMIB).

3.4- Formação dos grupos

Os animais foram divididos em dois grupos, denominados G1 e G2.

G1 – composto por dez ratos, submetidos à anastomose cólica em condições de normovolemia,

G2 – composto por dez ratos, submetidos à anastomose cólica na vigência de choque hemorrágico.

3.5- Critérios de exclusão

Foram excluídos os animais que evoluíram a óbito antes do quinto dia de pós-operatório, e os que apresentaram aderência e/ou deiscência da anastomose por ocasião da eutanásia.

3.6- Etapas experimentais

3.6.1- Preparo do material cirúrgico

O material cirúrgico utilizado foi imerso em álcool a 70% por 10 minutos e posteriormente lavado com soro fisiológico. (Figura 1)

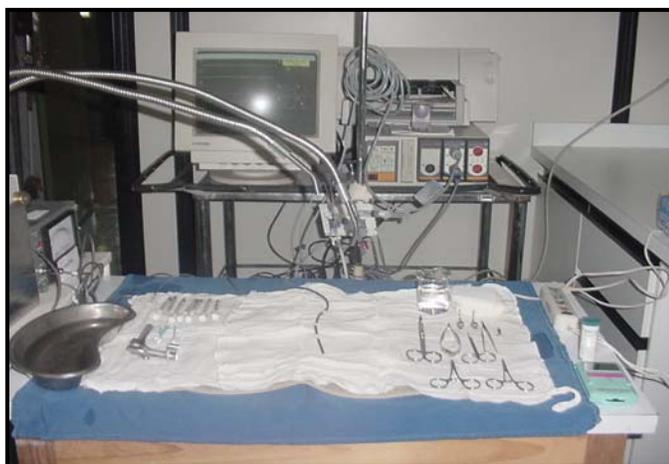


Figura 1- Material cirúrgico

3.6.2- Anestesia

Os animais foram submetidos à anestesia venosa. Foi puncionada a veia caudal com escalpe número 13. O anestésico utilizado foi o pentobarbital sódico a três por cento (Hypnol-Fontoveter ®), sendo a dose empregada de 60 miligramas por quilo.

3.6.3- Medida da pressão arterial média

A artéria carótida direita foi dissecada e cateterizada com tubo de polietileno (PE40) (Figura 2), e a medida da pressão arterial média realizada antes e durante todo o procedimento cirúrgico, foi verificada em transdutor de pressão (Edwards) e registrada em polígrafo biomonitor 7 (Bese). (Figura 3)



Figura 2- Artéria carótida dissecada

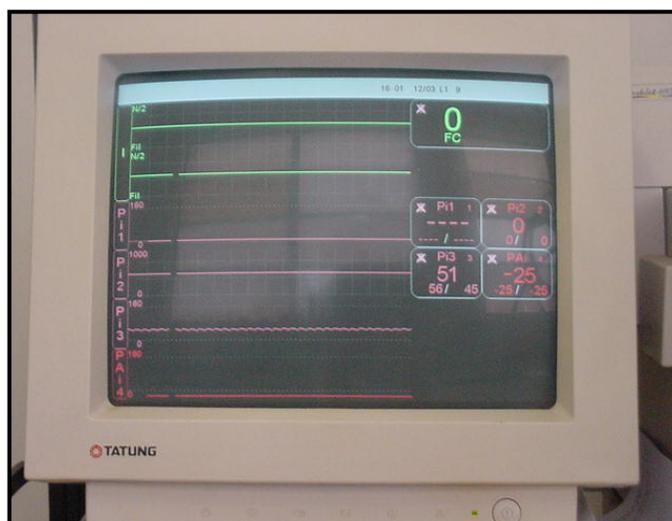


Figura 3- Polígrafo biomotor com registro da PAM

3.6.4- Indução do choque hemorrágico

A artéria carótida direita foi dissecada e cateterizada com tubo de polietileno (PE40), previamente heparinizado. O acesso arterial foi utilizado para a realização de coleta de sangue, estabelecimento do estado de choque, realização de dosagem de lactato e controle da pressão arterial média. A instalação do choque foi realizada pela retirada de meio mililitro de sangue a cada dois minutos até que se atingisse valor de pressão arterial média de 50 milímetros de mercúrio ou o limite de 30% da volemia total. Esta foi calculada em 5,43% do peso do animal (Bivin, 1979).

3.6.5- Laparotomia e realização da anastomose

Os animais foram operados pela autora constituindo uma fase comum aos dois grupos.

Após laparotomia mediana, o cólon esquerdo foi seccionado dois centímetros acima da reflexão peritoneal e a anastomose realizada com pontos separados, em plano único seromuscular extra-mucoso com fio de polipropileno sete zeros (Figura 4). A anastomose foi protegida com uma película de polivinilcloreto (PVC) quadrada, de dois centímetros de lado. Esse fragmento foi recortado de bolsas plásticas usadas como recipiente de solução fisiológica (Baxter Healthcare Cooperation) e fixado na gordura retroperitoneal com quatro pontos em suas extremidades utilizando-se fio de polipropileno cinco zeros de forma a cobrir a linha de sutura (Figura 5). Após este procedimento, o grande omento foi fixado na parede gástrica anterior com o fio anteriormente citado. O tecido adiposo do cordão espermático foi ressecado bilateralmente e os epidídimos fixados nos músculos da parede abdominal do lado correspondente com fio de polipropileno cinco zeros. Estes procedimentos foram realizados a fim de se evitar a formação de aderências que poderiam estar influenciando nos resultados. A parede abdominal foi fechada com sutura contínua de fio polipropileno dois zeros.

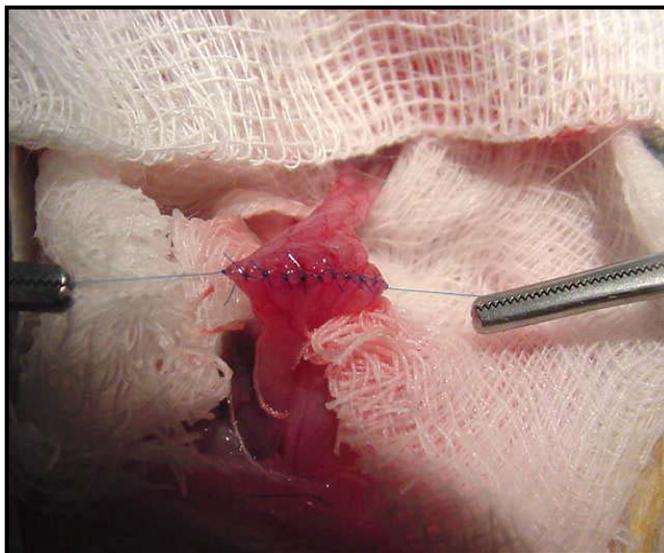


Figura 4- Anastomose intestinal

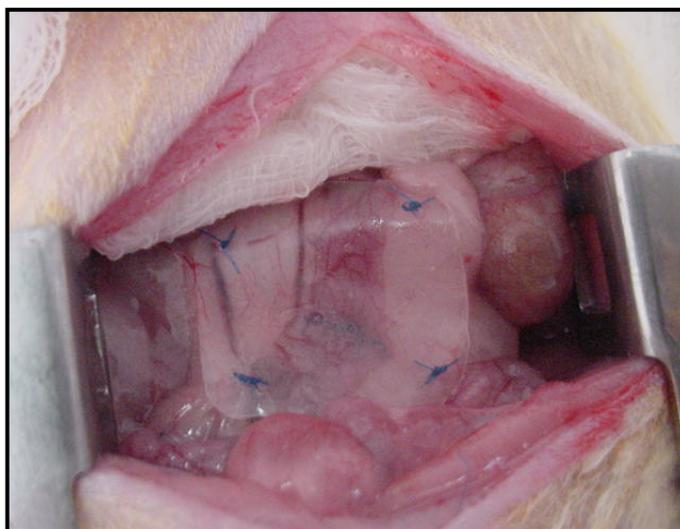


Figura 5- Proteção da anastomose intestinal

Para a manutenção da temperatura corporal durante a cirurgia, foi utilizada manta aquecida a 37°C (Termobrás).

3.6.6- Dosagens de lactato sérico

A dosagem sérica de lactato foi realizada em lactímetro (Accusport – Boehringer Mannheim) (Figura 6), com uma gota de sangue colocada em fita específica e a leitura feita após 60 segundos em mmol/l. Todas as medidas foram verificadas no início do procedimento (LiG2), aos 15 minutos (L15G2) após o estabelecimento do choque e ao final da cirurgia (LfG2) para o Grupo G2. Para o Grupo G1 as medidas foram verificadas apenas no início (LiG1) e ao final do procedimento (LfG1).



Figura 6- Lactímetro

3.6.7- Reposição volêmica

Ao final do procedimento cirúrgico, nos animais do grupo G2, foi reinfundido pela artéria carótida um terço do volume de sangue retirado, soro fisiológico 0,9%, previamente aquecido a 37 graus centígrados. No grupo G1 não houve reposição volêmica.

3.6.8- Analgesia pós-operatória

Após a recuperação anestésica até o primeiro dia de pós-operatório, os animais tiveram livre acesso ao bebedouro com água contendo paracetamol na dose de 200mg/kg de peso corporal.

3.6.9- Cuidados pós-operatórios

Após o procedimento cirúrgico, os animais foram colocados em gaiolas e aquecidos com luz artificial, recebendo água e ração à vontade. (Figura 7).



Figura 7- Animais no pós-operatório imediato

3.6.10- Eutanásia

Os animais foram sacrificados no quinto dia pós-operatório com tiopental sódico a três por cento pela veia caudal.

3.6.11- Exérese e preparo da alça cólica

Após a eutanásia, a cavidade abdominal foi aberta com incisão semicircular e realizado o inventário da cavidade (Figura 8). Segmento de cólon de cinco centímetros de comprimento, contendo a anastomose no seu ponto médio foi ressecado da cavidade abdominal e seu lúmen limpo por malaxação digital e instilação de solução fisiológica. A seguir foi colocado em recipiente contendo soro fisiológico e cloridrato de papaverina em concentração de duzentos e cinquenta miligramas por litro à temperatura de trinta e sete

graus centígrados por 30 minutos (Figura 9). Esse procedimento teve a finalidade de relaxar a parede intestinal e minimizar as variabilidades de contrações espasmódicas das alças, decorrentes da manipulação.



Figura 8- Inventário da cavidade abdominal



Figura 9- Segmento do cólon em solução de papaverina

3.6.12- Avaliação da anastomose

A avaliação foi realizada por teste biomecânico de resistência à pressão de ruptura à distensão por líquido.

A alça cólica ressecada foi infundida de forma contínua com soro fisiológico em sistema fechado, determinando-se a pressão intraluminal necessária para romper a alça, na anastomose ou fora dela. O momento da ruptura foi demonstrado pelo extravasamento do líquido através do local de rompimento e a pressão correspondente registrada pelo polígrafo, em milímetros de mercúrio.

O sistema proposto por Chung (2000) é composto pelos seguintes equipamentos (Figura 10):

1. Polígrafo Biomotor 7 (Bese) .
2. Duas bombas de infusão B. BRAUN Modelo 871.012 com suas seringas de vidro acopladas – uma bomba com a seringa de vidro utilizada apenas como suporte de uma das extremidades da alça isolada e outra para o enchimento dessa mesma alça pela infusão de solução fisiológica.
3. Duas torneiras de conexão de tripla via.
4. Dois canhões de cateter endovenoso de “teflon” número 18.

Depois de retirada a peça cirúrgica da solução de papaverina, os canhões do cateter de “teflon” número 18 foram introduzidos na luz do coto proximal e distal do segmento de alça e atados com fio de seda zero. O segmento intestinal submetido à distensão com líquido apresentava um centímetro e meio de extensão. Foram acopladas torneiras de tripla via aos canhões de teflon e seringas de vidro a estas torneiras. As seringas encontravam-se previamente posicionadas nas duas bombas, uma para infusão e outra utilizada apenas como suporte.

Terminada esta etapa, uma das extremidades do cateter de polietileno foi conectada ao transdutor de pressão do polígrafo e a outra à seringa de vidro, situada na bomba de sustentação. Iniciou-se então a infusão de soro fisiológico pela seringa conectada ao transdutor de pressão do polígrafo, formando coluna líquida, estabelecendo-se assim o equilíbrio de pressão em relação ao ambiente local, sendo configurado o parâmetro inicial no polígrafo como zero.

Dando início ao estudo da pressão de explosão, a solução fisiológica foi infundida na velocidade de dois mililitros por minuto e interrompida após a constatação da queda abrupta no registro da curva de pressão no polígrafo (Figura 11). A pressão de ruptura à distensão por líquido foi estabelecida com o registro do valor imediatamente antes da queda da pressão em milímetros de mercúrio.

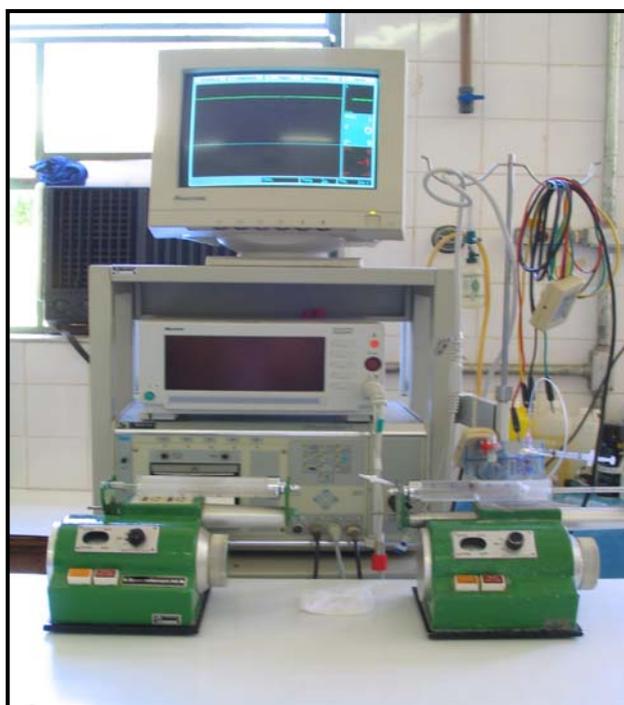


Figura 10- Material utilizado no teste de ruptura

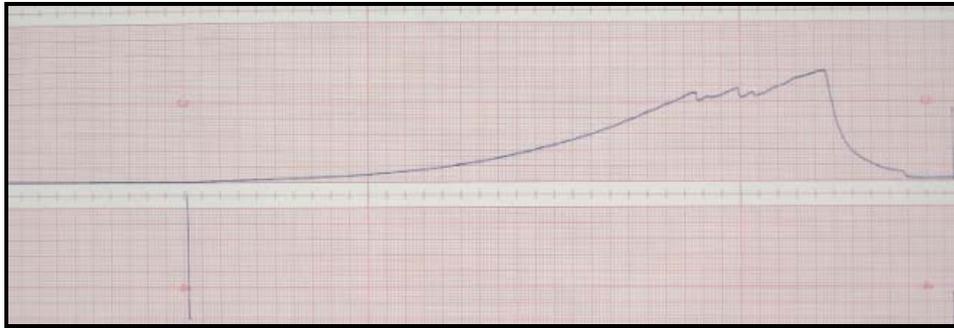


Figura 11- Registro da queda de pressão

3.6.13- Método estatístico

Para descrever o perfil da amostra segundo as diversas variáveis em estudo, foram feitas estatísticas descritivas (média, desvio padrão, mínimo e máximo, mediana) das variáveis contínuas, por grupo (G1 e G2). Para comparar as variáveis contínuas entre os dois grupos foi utilizado o teste exato de Mann-Whitney. Para comparar os valores de lactato entre os tempos foram utilizados o teste exato de Wilcoxon para amostras relacionadas (quando em dois tempos) e o teste exato de Friedman (quando em 3 tempos). O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi de cinco por cento, ou seja, $p < 0.05$.

4- RESULTADOS

4.1- Evolução clínica dos animais

Para a obtenção dos 20 animais que se prestaram ao teste biomecânico pressão de ruptura à distensão por líquido, houve a necessidade de operar-se 37 ratos. Para a formação do grupo G1 foram operados 15 animais. Um foi a óbito (6,67%) antes do quinto dia de pós-operatório. Outros quatro (26,67%) foram considerados não avaliáveis durante a eutanásia. Nestes, havia penetração de omento sob a membrana de polivinilcloro, provavelmente em decorrência de fixação mais frouxa. A sua liberação da linha de pontos foi difícil, causando traumatismos na sutura, descartando-se então esses animais. Os 10 animais restantes (66,67%), apresentaram sutura protegida pela película plástica, livres de aderências, sendo então considerados avaliáveis para o teste biomecânico (figura 12).

Para a constituição do grupo G2, induziu-se o choque hemorrágico em 22 animais, realizando-se então as anastomoses. Desse total, nove ratos foram a óbito (40,91%) antes do dia programado para a eutanásia. De forma idêntica à do grupo anterior, três outros (13,65%) foram considerados como não aptos a serem submetidos ao teste de resistência mecânica. Os 10 restantes (45,45%) constituíram o grupo G2. Portanto, 13 ratos (59,10%) sobreviveram até o quinto dia, sendo a mortalidade de 40,91% (nove ratos) para o tipo de choque empregado (figura 12).

O aspecto macroscópico das alças intestinais por ocasião do experimento foi distinto nos dois grupos. Enquanto que no grupo G2, o aparecimento de áreas isquêmicas em toda a extensão do intestino delgado ocorreu em 33% dos animais estudados e palidez em 100% das alças cólicas. Não foram observadas alterações no aspecto, tanto de delgado quanto do cólon, nos animais do grupo G1.

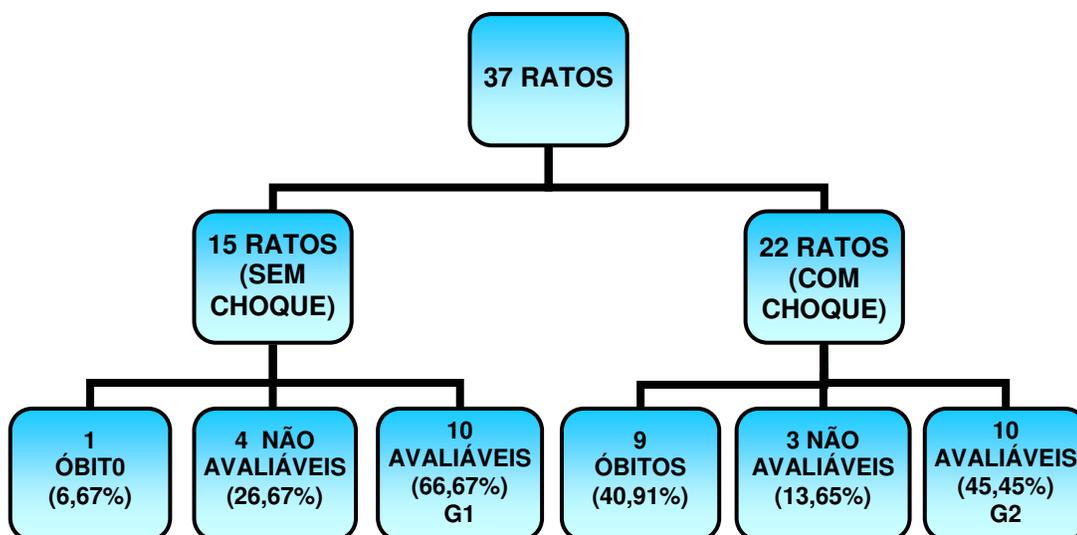


Figura 12- Evolução dos ratos operados sem e com choque, para constituição dos dois grupos.

4.2- Duração do ato cirúrgico

O tempo de médio de cirurgia no grupo G1 foi de 37,3 (30 -47) minutos e no grupo G2 de 48,3 (35 - 70) minutos ($p < 0,05$). Nos animais do grupo G2, a permanência do estado de choque variou entre 50 minutos a 85 minutos.(Tabela 1 e Figura13)

Tabela 1- Tempo cirúrgico médio (minutos)

| GRUPO | N | MEDIA | DP | MAX | MEDIANA | MIN |
|-------|----|-------|------|------|---------|------|
| G1 | 10 | 37,3 | 4,88 | 47,0 | 36,0 | 30,0 |
| G2 | 10 | 48,3 | 11,5 | 70,0 | 45,5 | 35,0 |

$p < 0,05$ (Teste de Mann-Whitney)

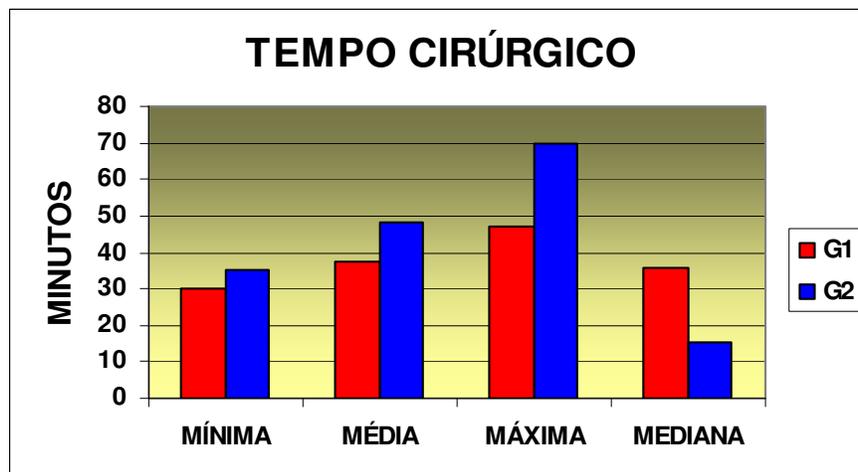


Figura 13

4.3- Avaliação da cavidade abdominal e da anastomose intestinal

No quinto dia de pós-operatório, não ocorreram, macroscopicamente, diferenças no aspecto da cavidade abdominal entre os grupos; não sendo evidenciadas coleções, líquido livre ou bloqueios perianastomóticos, com as películas de polivinilcloro de aspecto translúcido possibilitando boa visibilidade da anastomose. Com relação ao aspecto das mesmas, nos dois grupos observou-se boa coaptação das bordas e ausência de sinais de isquemia em todos os animais.

4.4- Pressão arterial média (PAM)

4.4.1- Dosagem da PAM nos grupos G1 e G2

O valor médio da PAM no Grupo G1 (PAMiG1) foi de 110,3 (94-132) milímetros de mercúrio e no Grupo G2 (PAMiG2) foi de 108,4 (94-124) milímetros de mercúrio ($p > 0,05$) (Tabela 2 e Figura 14). Ao final do procedimento, o valor médio da PAM no Grupo G1 (PAMfG1) foi de 97,3 (75-115) milímetros de mercúrio. No Grupo G2 (PAMfG2) a média foi de 56,9 (42-76) milímetros de mercúrio ($p < 0,05$) (Tabela 3 e Figura 15).

Tabela 2- Pressão arterial média inicial (mmHg) - Grupos G1 e G2

| GRUPO | N | MEDIA | DP | MAX | MEDIANA | MIN |
|--------|----|-------|-------|-----|---------|-----|
| PAMiG1 | 10 | 110,3 | 10,35 | 132 | 109 | 94 |
| PAMiG2 | 10 | 108,4 | 9,99 | 124 | 105,5 | 94 |

p>0,05 (Teste de Mann-Whitney)

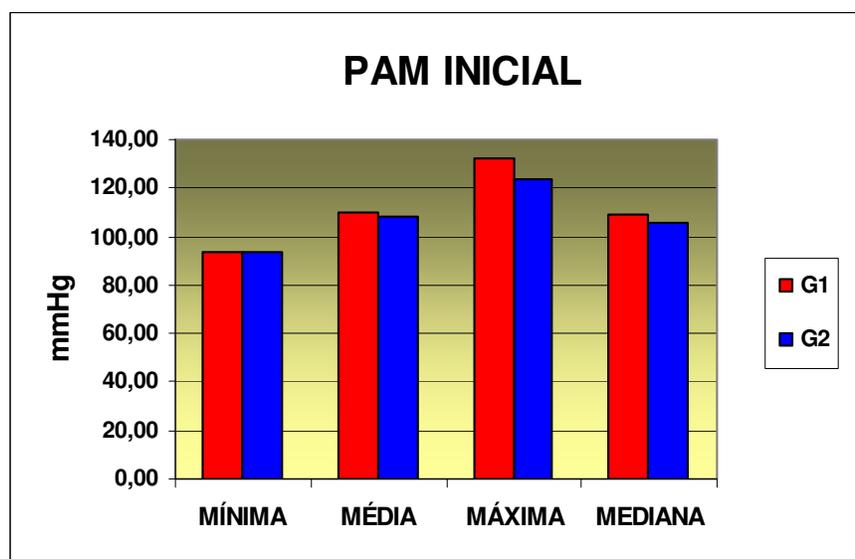


Figura 14

Tabela 3- Pressão arterial média final (mmHg) - Grupos G1 e G2

| GRUPO | N | MEDIA | DP | MAX | MEDIANA | MIN |
|--------|----|-------|-------|-----|---------|-----|
| PAMfG1 | 10 | 97,3 | 13,31 | 115 | 97 | 75 |
| PAMfG2 | 10 | 56,9 | 8,99 | 76 | 57,5 | 42 |

p<0,05 (Teste de Mann-Whitney)

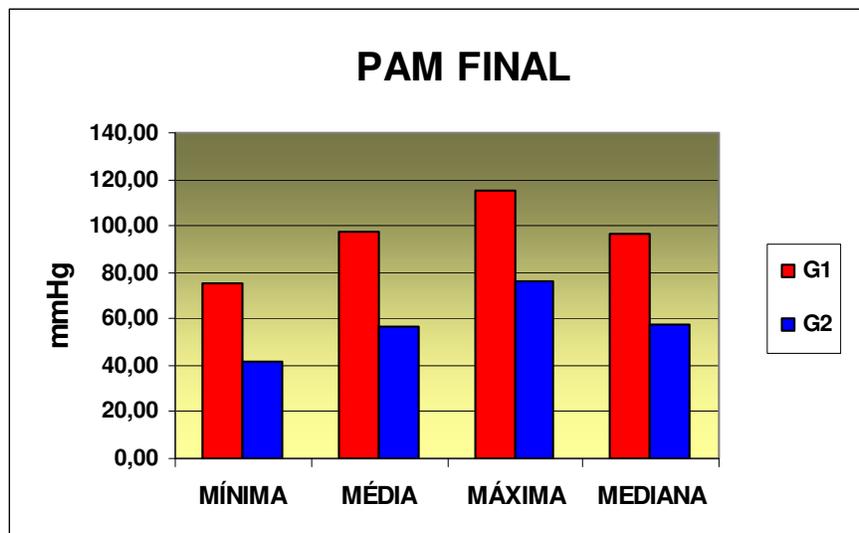


Figura 15

4.4.2- Dosagem da PAM inicial e final no Grupo G1

Quando comparados os valores médios da PAM inicial (PAMiG1) e final (PAMfG1) no grupo G1, pode-se observar diferença significativa ($p < 0,05$) quando aplicado o teste de Wilcoxon (Tabela 4 e Figura 16).

Tabela 4- Pressão arterial média inicial e final (mmHg) – Grupo G1

| PAM | N | MEDIA | DP | MAX | MEDIANA | MIN |
|--------|----|-------|-------|-----|---------|-----|
| PAMiG1 | 10 | 110,3 | 10,35 | 132 | 109 | 94 |
| PAMfG1 | 10 | 97,3 | 13,31 | 115 | 97 | 75 |

$p < 0,05$ (Teste de Wilcoxon)

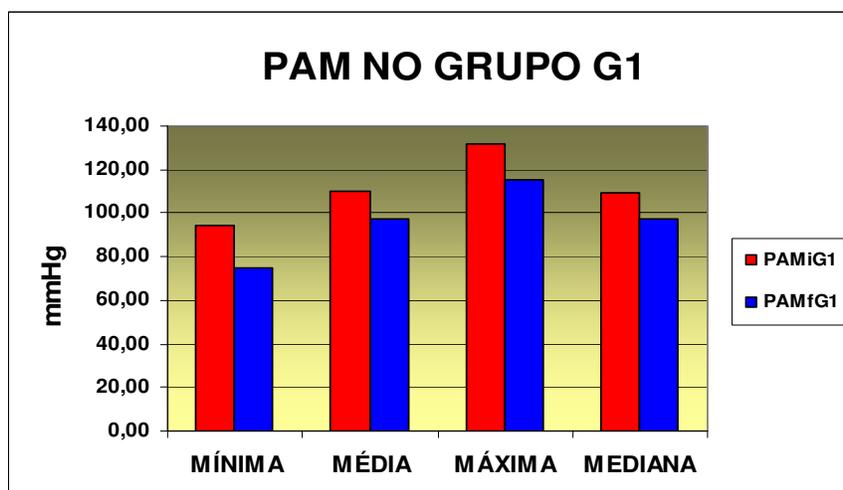


Figura 16

4.4.3- Dosagem da PAM inicial e final no grupo G2

Os valores médios da PAM inicial (PAMiG2) e final (PAMfG2) no grupo G2 apresentaram significância ($p < 0,001$) quando aplicado o teste de Friedman, bem como quando comparados os valores médios da PAM inicial e de 15' após o estabelecimento do estado de choque. (Tabela 5 e Figura 17).

Tabela 5- Pressão arterial média Inicial, após 15 minutos de choque e Final (mmHg) – Grupo G2

| PAM | N | MEDIA | DP | MAX | MEDIANA | MIN |
|---------|----|-------|------|-----|---------|-----|
| PAMiG2 | 10 | 108,4 | 9,99 | 124 | 105,5 | 94 |
| PAM15G2 | 10 | 51,3 | 4,11 | 58 | 50,5 | 47 |
| PAMfG2 | 10 | 56,9 | 8,99 | 76 | 57,5 | 42 |

$p < 0,001$ (Teste de Friedman)

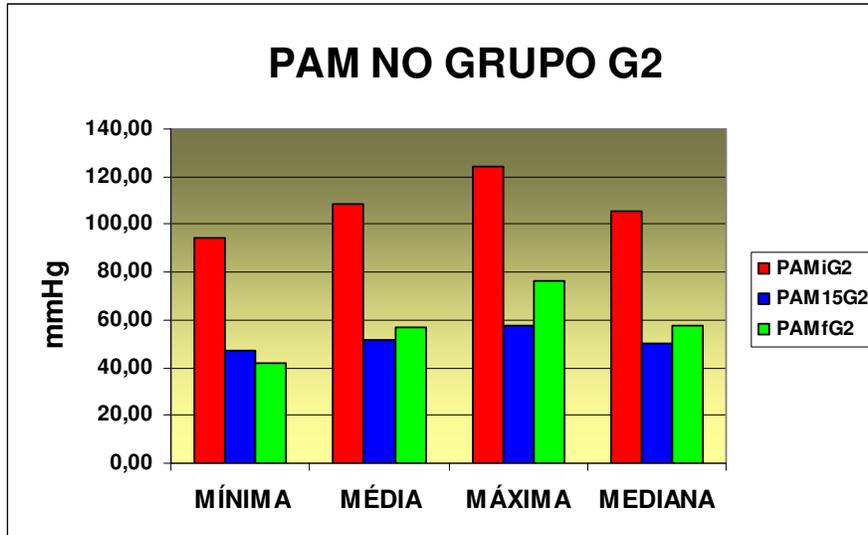


Figura 17

4.5- Dosagem de lactato sérico

4.5.1- Dosagem de lactato sérico nos grupos G1 e G2

O valor médio do lactato sérico inicial no Grupo G1 (LiG1) foi de 2,11 (1,50 -2,80) milimoles por litro e no Grupo G2 (LiG2) 2,21 (1,40 - 2,70) milimoles por litro ($p > 0,005$) (Tabela 6 e Figura 18). Ao término do procedimento, o valor médio da dosagem do lactato sérico no Grupo G1 (LfG1) foi de 1,91 (0,90 - 3,10) milimoles por litro, enquanto que no Grupo G2 (LfG2) foi de 3,69 (2,50 - 4,90) milimoles por litro ($p < 0,0001$) (Tabela 7 e Figura 19).

Tabela 6- Lactato sérico inicial (mMol/l) -Grupos G1 e G2

| GRUPO | N | MEDIA | DP | MAX | MEDIANA | MIN |
|-------|----|-------|------|------|---------|------|
| LiG1 | 10 | 2,11 | 0,47 | 2,80 | 2,20 | 1,50 |
| LiG2 | 10 | 2,21 | 0,37 | 2,70 | 2,25 | 1,40 |

$p > 0,05$ (Teste de Mann-Whitney)

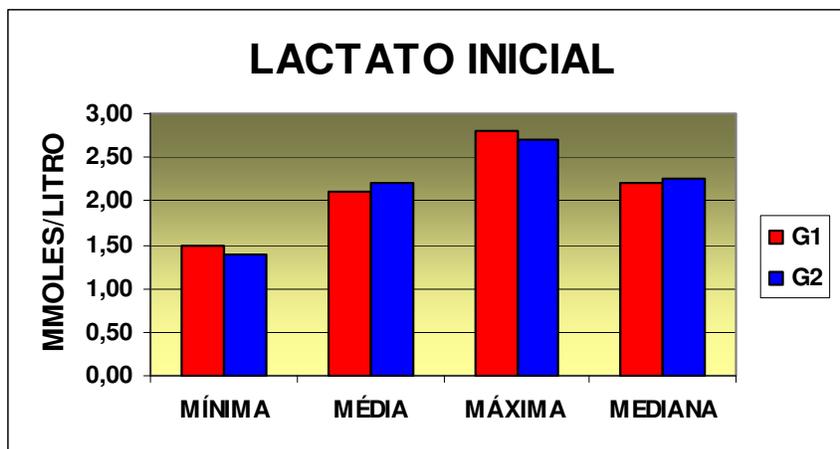


Figura 18

Tabela 7- Lactato sérico final (mMol/l) - Grupos G1 e G2

| GRUPO | N | MEDIA | DP | MAX | MEDIANA | MIN |
|-------|----|-------|------|------|---------|------|
| LfG1 | 10 | 1,91 | 0,67 | 3,10 | 1,75 | 0,90 |
| LfG2 | 10 | 3,69 | 0,68 | 4,90 | 3,80 | 2,50 |

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

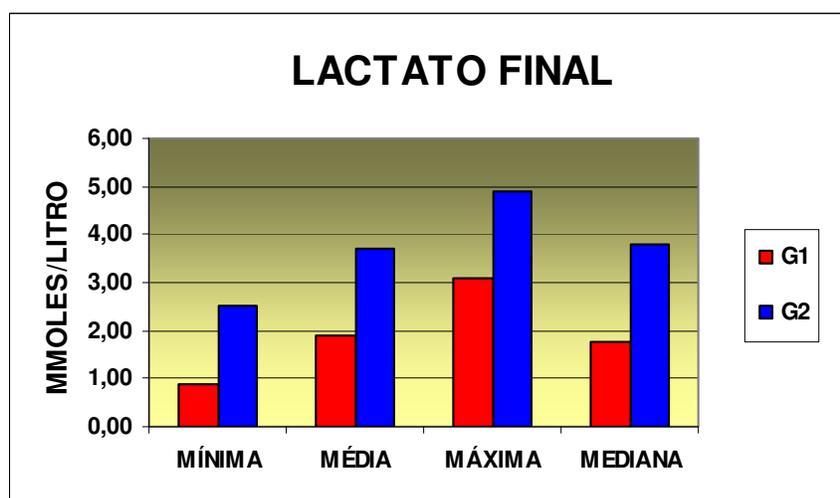


Figura 19

4.5.2- Dosagem de lactato sérico inicial e final no Grupo G1

A comparação dos valores médios da dosagem inicial (LiG1) e final (LfG1) de lactato sérico no Grupo G1 não evidenciou diferença com significância ($p > 0,05$) pelo Teste de Wilcoxon (Tabela 8 e Figura 20).

Tabela 8- Lactato sérico inicial e final (mMol/l) – Grupo G1

| LACTATO | N | MEDIA | DP | MAX | MEDIANA | MIN |
|---------|----|-------|------|------|---------|------|
| LiG1 | 10 | 2,11 | 0,47 | 2,80 | 2,20 | 1,50 |
| LfG1 | 10 | 1,91 | 0,67 | 3,10 | 1,75 | 0,90 |

$p > 0,05$ (Teste de Wilcoxon)

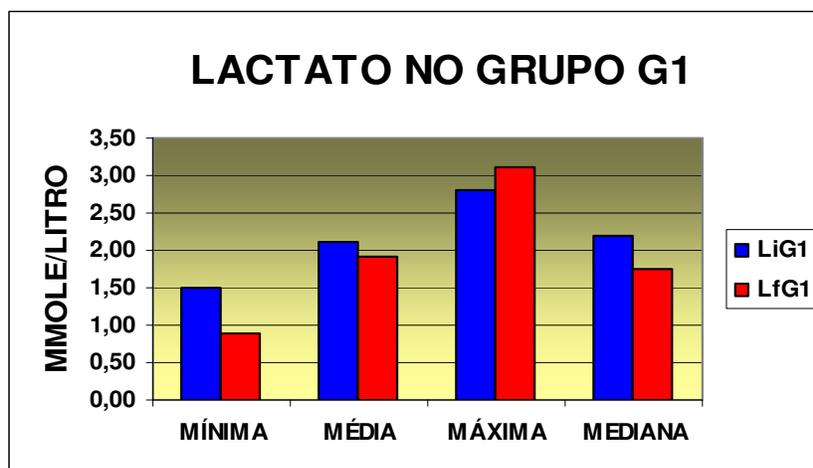


Figura 20

4.5.3- Dosagem de lactato sérico inicial e final no grupo G2

No Grupo G2, o valor médio da dosagem inicial do lactato sérico (LiG2) foi menor em relação ao valor da dosagem final (LfG2) ($p < 0,01$). No Grupo G2 observou-se também valores com significância estatística da dosagem do lactato inicial em relação aos valores obtidos aos 15 minutos após o estabelecimento do choque ($p < 0,01$). Não houve diferença significativa entre a dosagem de lactato aos 15 minutos e a dosagem de lactato final no grupo G2 (Tabela 9 e Figura 21).

Tabela 9- Lactato sérico inicial, após 15 min. de choque e final (mMol/l)–Grupo G2.

| LACTATO | N | MEDIA | DP | MAX | MEDIANA | MIN |
|---------|----|-------|------|------|---------|------|
| L iG2 | 10 | 2,21 | 0,37 | 2,70 | 2,25 | 1,40 |
| L 15G2 | 10 | 3,32 | 0,85 | 4,50 | 3,20 | 1,80 |
| LfG2 | 10 | 3,69 | 0,68 | 4,90 | 3,80 | 2,50 |

p<0,0001 (Teste de Friedman)

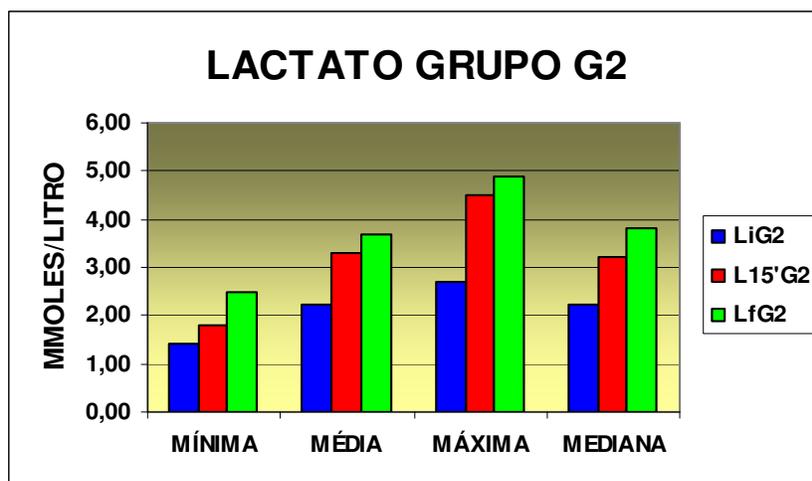


Figura 21

4.6- Teste de pressão de ruptura à distensão por líquido

O valor médio de ruptura a distensão por líquido no grupo G1 foi de 160,7 (115,0 - 206,0) mmHg e no Grupo G2 152,1 (118,0 - 204,0) mmHg ($p>0,05$). No Grupo G1 a ruptura ocorreu na anastomose em nove animais e no Grupo G2 em cinco, sendo que os nos outros animais tanto no Grupo G1 quanto no Grupo G2 a ruptura ocorreu fora da mesma (Tabela 7 e Figura 22).

Tabela 10- Pressão de ruptura (mmHg – Grupos G1 e G2).

| GRUPO | N | MEDIA | DP | MAX | MEDIANA | MIN |
|-------|----|-------|------|-------|---------|-------|
| G1 | 10 | 160,7 | 29,7 | 206,0 | 164,5 | 115,0 |
| G2 | 10 | 152,1 | 23,6 | 204,0 | 152,0 | 118,0 |

$p > 0,05$ (Teste de Mann-Whitney)

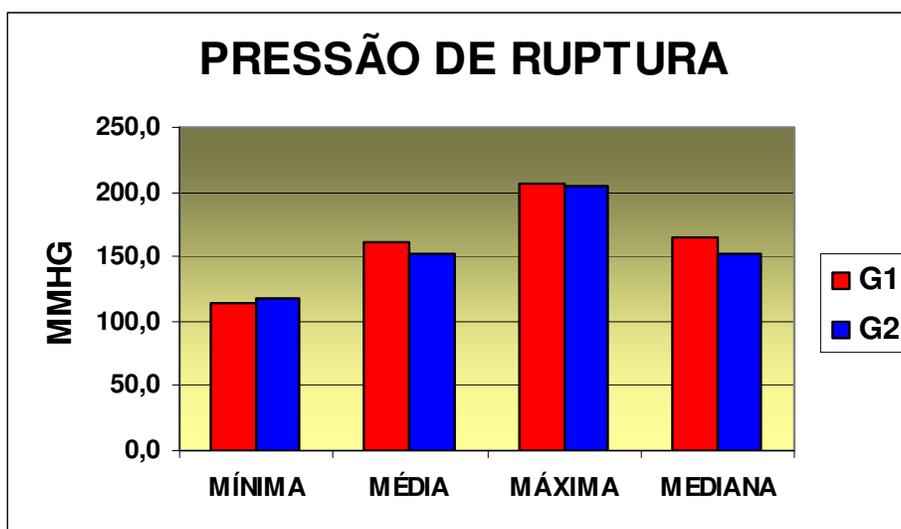


Figura 22

5- DISCUSSÃO

Entre as mais sérias complicações pós-operatórias na cirurgia gastrointestinal, principalmente nas cirurgias do cólon, destaca-se a deiscência da anastomose, podendo ser precoce ou tardia, resultando em alta mortalidade. Esta complicação pode ser atribuída a uma série de fatores como a própria doença gastrointestinal, fluxo sanguíneo inadequado, tensão na linha de sutura, ou falha técnica.

Os fundamentos da cicatrização intestinal têm sido amplamente estudados tanto em observações clínicas quanto em trabalhos experimentais constituindo linha de pesquisa do Departamento de Cirurgia da FCM - UNICAMP (Reis Neto et al., 1971; Leonardi, 1973; Mantovani, 1973; Medeiros, 1973; Rosemberg et al., 1973; Leonardi et al., 1974; Mantovani, 1975a,b,c; Medeiros et al., 1975; Leonardi, 1975; Leonardi, 1976a,b,c; Mantovani et al., 1976 a,b,c,d; Reis Neto, 1976; Leonardi et al., 1977 a,b; Mantovani et al., 1977; Mantovani et al., 1979; Medeiros, 1982; Fagundes, 1986; Quilici, 1988; Cordeiro, 1995; Fagundes, 1990; Nieri, 1999; Fraga, 2001; Mochizuki, 2005; Mochizuki et al., 2005.). Esses conhecimentos, assim adquiridos, contribuíram para o estabelecimento de conceitos utilizados na prática cirúrgica. Porém, a compreensão de todas as variáveis que possam influenciar a evolução da anastomose intestinal é complexa, estimulando a realização de novos e freqüentes estudos em modelos experimentais.

Atualmente, é notável o número de pacientes com traumatismos que têm como agravante o choque hemorrágico. Assim, a ocorrência simultânea de ferimentos intestinais em pacientes críticos torna-se relevante, e as deiscências das anastomoses contribuem para o aumento da morbi-mortalidade. O trato intestinal é um dos órgãos que sofrem precocemente as conseqüências do mecanismo de isquemia pós choque hemorrágico (Li et al., 2002; Chang et al, 2005b; Lu et al, 2006), ocasionando a liberação de citocinas, metabólitos tóxicos e translocação bacteriana, causando graves repercussões sistêmicas. (Haglund; 1988; Dunham et al, 1991; Li et al. 2002; Wilson et al, 2003).

Considerando aspectos éticos e práticos para a avaliação desta variável, isto é, influência do estado de choque hemorrágico nas anastomoses intestinais em humanos, modelos de choque hipovolêmico foram desenvolvidos em trabalhos experimentais (Greca et al, 2000; Lomas-Niera et al, 2005; Chang et al, 2005a,b). Utilizou-se no presente estudo o modelo de choque hemorrágico utilizado por Fontelles (2001), porém modificado visando diminuir a alta mortalidade verificada em estudo piloto.

Empregou-se basicamente, dois parâmetros para a monitorização do choque; a pressão arterial média (PAM) e a dosagem do lactato sérico. A PAM apesar de não ser o marcador mais fidedigno, já que existem mecanismos compensatórios durante o estado de choque visando a manutenção da mesma, foi utilizada, pois trata-se de um dos parâmetros mais utilizados na prática clínica. Além disso, como evidenciado por Gilmour et al (1980) em modelo experimental, a redução de 10% da volemia, apesar de não ser acompanhada por alterações significativas da pressão arterial, causa redução significativa do fluxo sanguíneo no cólon em 28%, assim como diminuição da disponibilidade de oxigênio em 29%. Assim sendo, neste estudo em que o desenvolvimento do estado de choque ocorreu com a retirada de 30% da volemia ou manutenção de valores de PAM de 50 mmHg, pode-se supor que a oferta tecidual de oxigênio nos animais do Grupo G2 estivesse comprometida.

A avaliação da intensidade do choque hemorrágico pode ser realizada pela dosagem de lactato sérico. O excesso de lactato como indicador de débito de oxigênio, tem sido estudado para avaliar a gravidade no estado de choque em humanos e em modelos experimentais (Broder e Weil, 1964; Dunham et al, 1991; Knotzer et al., 2006; Lu et al., 2006) sendo considerado parâmetro mais fidedigno da intensidade do choque quando comparado às medidas de pressão arterial e débito cardíaco. Rixen et al. (2001) puderam observar que o aumento dos níveis séricos de lactato em porcos submetidos a choque hemorrágico, correlacionaram-se inversamente com o débito de oxigênio, assim como demonstrados por Yilmaz et al. (1999). Níveis elevados de lactato correspondem à intensidade da falência da circulação, sendo que valores maiores do que 4mmol/l podem ser fatais (Broder e Weil, 1964).

Assim no presente trabalho, a dosagem sérica de lactato foi utilizada como parâmetro para a avaliação do estado de choque. No estudo piloto, pode-se observar alta mortalidade no grupo de animais submetidos a choque hemorrágico (51,4%) sendo que em 66,6% deles foi possível encontrar valores de concentração sérica de lactato superiores a 4mmol/l. Considerando que no Grupo G2 os valores das dosagens de lactato sérico inicial e final foram estatisticamente significantes entre si, assim como quando comparados aos valores do Grupo G1, o modelo experimental desenvolvido neste estudo simula uma

condição de choque não letal, permitindo estabelecer efetivamente que as anastomoses dos ratos do grupo G2 estiveram em condições desfavoráveis em relação ao grupo G1.

O modelo de choque hipovolêmico desenvolvido foi obtido com a retirada de meio mililitro de sangue até se obter valores de pressão arterial média de 50 milímetros de mercúrio ou se atingir o volume correspondente a 30% da volemia total do rato. O limite de 30% foi escolhido por duas razões: para simular a condição humana de choque hemorrágico moderado não letal, e pelo fato dos ratos tolerarem bem esta perda de volume, segundo projeto piloto realizado previamente.

O volume de reposição, realizado com soro fisiológico a 0,9%, correspondeu a 30% do volume retirado, estabelecido como o menor volume necessário para a diminuição da mortalidade, sem que ocorresse a restauração da PAM inicial ou necessidade de reposição volêmica significativa, comprometendo assim a análise dos resultados.

O intestino delgado assim como o cólon são particularmente susceptíveis às adversas condições de hipovolemia ou hipoxemia. Nestas condições, a isquemia resultante levaria à lesões na barreira mucosa, possibilitando translocação bacteriana assim como a liberação de mediadores inflamatórios podendo causar repercussões sistêmicas e assim poder influenciar negativamente a cicatrização intestinal.

Dzienis-Koronkiewicz et al. (1998) evidenciaram alterações distintas no cólon e intestino delgado em ratos submetidos a choque hemorrágico, no que diz respeito à liberação de enzimas proteolíticas, particularmente catepsina D. As dosagens de catepsina D apresentaram níveis mais elevados nas porções proximais do intestino delgado enquanto que as lesões morfológicas mais importantes ocorreram no íleo, duodeno e jejuno. De forma semelhante, Chang et al. (2005) evidenciaram em estudo em ratos, maior efeito deletério do choque hemorrágico em delgado quando comparado ao cólon. Estes achados sugerem uma maior susceptibilidade em relação ao comprometimento estrutural do intestino delgado em relação ao cólon. No presente estudo, o aspecto isquêmico das alças intestinais no Grupo G2, permite inferir que lesões da mucosa presentes em animais com hipovolemia secundárias ao mecanismo de isquemia e reperfusão poderiam influir negativamente na integridade da sutura.

Outros trabalhos visam o estudo de mecanismos protetores em animais submetidos a condições de isquemia intestinal. Haglind et al (1994) avaliaram os possíveis efeitos benéficos com emprego de antioxidantes e antagonista do fator de ativação plaquetária em ratos submetidos à isquemia segmentar de delgado e choque tóxico seguidos de reperfusão intestinal com solução salina. Chang (1997), estudou o efeito protetor da enterectomia e proctocolectomia na recuperação do choque hemorrágico em ratos. Este autor observou que os animais submetidos a ressecção intestinal apresentaram níveis mais elevados de ATP hepático contribuindo positivamente para a reversibilidade do choque em relação ao grupo controle. Porém este efeito poderia também ser influenciado por condições não avaliadas como o efeito da volemia total distinta nos animais com e sem ressecção.

A avaliação dos possíveis efeitos do choque hemorrágico nas anastomoses intestinais em modelos animais apresenta escassos trabalhos na literatura dificultando a análise comparativa com este estudo. Porém os efeitos da anemia aguda ou hipovolemia em alças intestinais com diversos mediadores bioquímicos são mais frequentes.

Greca et al. (2000), avaliaram o efeito do choque hemorrágico em anastomose do cólon em cães no sétimo dia de pós-operatório. Foram observados maiores índices de complicações, menor deposição de colágeno e parâmetros histológicos mais pobres no grupo submetido ao choque. Porém a pressão de ruptura à insuflação não demonstrou alterações significantes em relação ao grupo controle, dado semelhante ao do presente estudo, podendo-se inferir que as alterações histológicas talvez não fossem suficientes para modificar a qualidade final da anastomose.

Estudo importante foi realizado por Buchmiller-Crair et al. (2001) avaliando o efeito da anemia aguda em anastomoses de delgado e cólon em coelhos. Estes autores, analisaram a variação da pressão de ruptura à insuflação e as alterações histológicas presentes na anastomose. Quanto à pressão de ruptura, não foi possível observar um decréscimo com significância estatística da mesma tanto em intestino delgado como em cólon na primeira semana de pós-operatório. Entretanto, na segunda semana esta alteração foi significativamente menor, porém apenas no delgado. Histologicamente, foram avaliadas a infiltração de células inflamatórias, a neovascularização, a proliferação de fibroblastos e a

deposição de colágeno. As alterações foram mais evidentes no intestino delgado, sendo que em cólon foi possível observar uma menor deposição de colágeno tanto na primeira quanto na segunda semana de estudo, assim como um decréscimo da neovascularização na segunda semana.

Baffa et al. (2005) também estudaram o efeito da anemia aguda sobre anastomoses de cólon em ratos, constatando a presença de alterações histológicas deletérias à cicatrização. Não se evidenciou porém, alteração da pressão de ruptura à distensão por líquido nos grupos submetidos a este teste no oitavo dia pós-operatório. No presente estudo o teste de ruptura foi realizado no quinto dia pós-operatório também sem alteração nos grupos G1 e G2. Este achado poderia ser explicado pelo momento em que os testes foram realizados, permitindo reparação tecidual progressiva até o quinto dia de pós-operatório, já que não foi avaliado neste estudo, os parâmetros histológicos. Hogstrom (1987) evidenciou que, neste período, a deposição de colágeno e o período de fibroplasia não são ainda quantitativamente significativos e os pontos de sutura perderam seu poder máximo de sustentação.

O efeito do choque hipovolêmico na anastomose de intestino delgado em ratos foi analisado por Brito et al. (2001), em que parâmetros histológicos foram avaliados no sétimo e 21º dias pós-operatórios, assim como a pressão de ruptura à insuflação gasosa. Mais uma vez foram observadas alterações histológicas como graus variados de lesão da túnica mucosa e curiosamente, uma maior deposição de colágeno no grupo de animais submetidos ao choque. Quanto à pressão de ruptura, constatou-se tendência à diminuição da resistência da anastomose e da parede em intestino delgado, quanto maior o tempo de pós-operatório.

Porém, como evidenciados por Buchmiller-Crair et al. (2001) e Baffa et al. (2005), a constatação de alterações histológicas que poderiam estar associadas ao enfraquecimento da anastomose, acentua-se após a primeira semana. Pode-se supor então que a maior incidência de deiscência da anastomose, assim como a constatação de menores valores de pressão de ruptura poderiam ocorrer principalmente após o sétimo dia de pós-operatório. No presente estudo, os valores semelhantes de pressão de ruptura nos grupos estudados poderia ser explicado período mais precoce que os testes foram realizados, em que o enfraquecimento da anastomose não estava ainda evidenciado.

O presente experimento pode contribuir para o melhor entendimento de outras variáveis que possam influenciar a qualidade das anastomoses intestinais. O fato de que os valores de pressão de ruptura à distensão por líquidos não terem sido diferentes nos dois grupos estudados, permite inferir que a presença do choque hipovolêmico não interfere de forma significativa nas anastomoses do cólon de ratos no quinto dia pós-operatório. As alterações histológicas observadas em outros estudos, não parecem alterar a cicatrização intestinal ou causar o enfraquecimento da linha de sutura na primeira semana.

Deve ser considerados para a interpretação dos resultados, a intensidade do choque, o tempo de duração do mesmo, assim como o período pós-operatório da avaliação da anastomose.

6- CONCLUSÃO

A presença de choque hemorrágico não exerceu efeito deletério em anastomoses de cólon em ratos avaliadas através do teste de ruptura por líquido, no quinto dia pós-operatório.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



Ambrosetti P, Michel JM, Megevand JM, Morel P. Left colectomy with immediate anastomoses in emergency surgery. *Ann Chir* 1999; 53(10): 1023-8.

Baffa LP, Garcia RLS, Campos AD, Rocha JJR, Feres O. Efeito da Anemia Aguda na Cicatrização de Anastomoses Colônicas. Estudo Experimental em Ratos. *Rev bras Coloproct* 2005; 25(1):24-30.

Bivin WS; Crawford MP; Brewer NR - Morphophysiology. In: Baker HJ; Lindsey JR; Weisbroth SH - *The Laboratory Rat. Biology and Disease.* vol. I. Academic Press Inc., Londres, Inglaterra, 1979, pp.73-103.

Brito MVH, Koh IHJ, Lamarão LG, Damous SHB. Efeito do Choque Hipovolêmico na Anastomose do Intestino Delgado de Ratos. *Arq Gastroenterol* 2001; 38(2):116-124.

Broder G, Weil MH. Excess lactate: a index of reversibility of shock in human patients. *Science* 1964; 143: 1457-1459.

Buchmiller-Crair TL, Kim CS, Won NH, Chopourian HL, Shaw KS, Fonkalsrud EW. Effect of Acute anemia on the Healing of Intestinal Anastomoses in the Rabbit. *J Trauma* 2001; 51: 363-368.

Chang JX, Chen S, Jiang LY, Ma LP, Chang RM, Huang ZT. Effect of goblet cell in rat intestine on the restitution process of the gut barrier after hemorrhagic shock. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi* 2005a; 8(6): 510-2.

Chang JX, Chen S, Ma LP, Jiang LY, Chen JW, Chang RM, et al. Functional and morphological changes of the gut barrier during the restitution process after hemorrhagic shock. *World J Gastroenterol* 2005b; 11(35): 5485-5491.

Chang TW. Improvement of survival from hemorrhagic shock by enterectomy in rats: Finding to Implicate the Role of the Gut for Irreversibility of Hemorrhagic Shock. *J Trauma* 1997, 42(2): 223-30.

Chung WF. Estudo da ação de aderências sobre anastomose cólica: Trabalho Experimental em Ratos. [Tese – Mestrado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2000.

Collins AS. Gastrointestinal complications in shock. *Crit Care Nurs Clin North Am* 1990; 2(2); 269-77.

Cordeiro F. Anastomose mecânica em reto extraperitoneal. Tese de doutorado. Unicamp.1995.

Deitch EA, Xu D, Franko L, Ayala A, Chaudry IH. Evidence favoring the hole of the gut as a cytokine-generating organ in rats subjected to hemorrhagic shock. Shock 1994; 1(2): 141-145.

Dunham CM, Siegel JH, Weireter L, Fabian M, Goodarzi S, Guadalupi P, et al. Oxygen debt and metabolic acidemia as quantitative predictors of mortality and the severity of the ischemic insult in hemorrhagic shock. Critical Care Medicine 1991, 19(2): 231-243.

Dzienis-Koronkiewicz E, Debek W, Chyczewski L. Hemorrhagic shock-induced changes in the cathepsin D activity in the intestinal wall and blood serum in rats. Eur J Pediatr Surg 1998; 8(5): 288-94.

Fagundes JJ. Resultado do tratamento do câncer do terço médio do reto pela retocolectomia abdominoperineal com anastomose retardada. Tese de Mestrado. Unicamp. 1986.

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

Fontelles MJP. Isquemia e reperfusão hepática total em condições de normalidade e sob estado de choque hemorrágico controlado: Efeitos no seqüestro de neutrófilos no íleo terminal e cólon sigmóide do rato. [Tese – Doutorado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2001.

Fraga GP. Análise dos fatores de risco no tratamento das lesões do ceco com sutura primária em ratos. Tese de Mestrado. Unicamp. 2001.

Garcia GG, Criado FJG, Persona MAB, Alonso AG. Healing of colonic ischemic anastomoses in the rat: Role of superoxide radicals. Dis Colon Rectum 1998; 41: 892-5.

Gilmour DG, Aitkenhead AR, Hothersall AP, Ledingham IMcA. The Effect of Hipovolaemia on colonic blood flow in the dog. Br J Surg 1980; 67:82-84.

Greca FH, Biondo-Simões MLP, Paula JB, Noronha L, Cunha LSF, Baggio PV et al. Correlação entre o fluxo sanguíneo intestinal e a cicatrização de anastomoses colônicas: estudo experimental em cães. *Acta Cir. Bras* 2000; 15(3): 88-94.

Haglund E, Xia G, Rylander R. Effects of Antioxidants and PAF Receptor Antagonist in Intestinal Shock in the Rat. *Circulatory Shock* 1994; 42: 83-91.

Haglund U. The splanchnic organs as the source of toxic mediators in shock. *Prog Clin Biol Res* 1988; 264:135-145.

Hogstrom H. Mechanics and prevention of decrease in wound margin strength. *Acta Chir Scand* 1987; 539: 1-63.

Jiang J, Bahrami S, Leichtfried G, Redl H, Ohlinger W, Schlag G. Kinetics of endotoxin and tumor necrosis factor appearance in portal and systemic circulation after hemorrhagic shock in rats. *Ann Surg* 1995; 221(1): 100-106.

Knotzer H, Pajak W, Maier S, Dünser MW, Ulmer H, Schwarz B, et al. Comparison of lactated Ringer's, gelatine and blood resuscitation on intestinal oxygen supply and mucosal tissue oxygen tension in haemorrhagic shock. *British Journal of Anaesthesia* 2006; 97(4): 509-516.

Lauand F, Féres O, Rocha JJR, Campos AD, Carvalho FG. Efeito da hipovolemia sobre a cicatrização de anastomoses colônicas. Estudo experimental em ratos. *Rev. Bras Coloproct*, 2004; 24: 317-21.

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

Leonardi LS; Brandalise NA.; Mantovani M; Medeiros RR.; Fagundes JJ. Técnica de abertura e fechamento do duodeno. *Rev Ass Med Brasil*, 1974; 20 : 109 -110.

Leonardi LS ;Mantovani M.; Medeiros RR. Gastrectomias em plano único. *Revta paul Med*, 1975; 85 : 109 – 116.

Leonardi LS; Mantovani M.; Medeiros RR.; Brandalise NA.; Fagundes JJ. Resultados do emprego da sutura em plano único extramucoso na cirurgia da úlcera péptica perfurada. Rev Col Brasil Cir, 1976a; 3 : 139 – 143.

Leonardi LS; Mantovani M.; Raia AA. Seromuscular extamucosal one layer suture technique in gastrointestinal surgery. Surg Gastroent, 1976b;10 : 45 – 46.

Leonardi LS; Mantovani MM.; Brandalise NA.; Medeiros RR.; Fagundes JJ. Técnica de anastomose duodenojejunal no tratamento das lesões da terceira e quarta porções do duodeno. Rev Col Brasil Cir, 1976c; 3 : 112 – 115.

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 Brasil Cir, ,1977a; 4 : 223 – 233.

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. Revta paul Med, 1977b; 89 : 5 – 11.

Lomas –Niera JL, Perl M, Chung CS, Ayala A. Shock and Hemorrhage: an Overview of Animal Models. Shock 2005, 24(1): 33-39.

Li Jun-You, Lu Yi, Hu Sen, Sun Dan, Yao Yong-Ming. Preventive effect of glutamine on intestinal barrier dysfunction induced by severe trauma. World J Gastroenterol 2002; 8(1): 168-171.

Lu Yuan-qiang, Cai Xiu-jun, Gu Lin-hui, Wang Qi, Huang Weidong, Bao De-guo. Early difference in apoptosis of intestinal mucosa of rats with severe uncontrolled hemorrhagic shock after three fluid resuscitation methods. Chinese Medical Journal 2006; 119(10): 858-863.

Mantovani M; Sutura seromuscular extramucosa em plano único na cirurgia do intestino. Tese de Doutorado. Unicamp. 1973.

Mantovani M; Reis Neto JA.; Medeiros RR.; Fagundes JJ. Fechamento de colostomia em alça com sutura seromuscular extramucosa com justaposição das bordas. Rev Ass Med Brasil, 1975a; 21 : 223 – 225.

Mantovani M; Leonardi LS. Estudo comparativo entre sutura em um e dois planos no intestino delgado na vigência de imunossupressão. In: Congresso Latinoamericano de Proctologia, 6, Buenos Aires. 1975b.

Mantovani M; Medeiros RR; Leonardi LS. Sutura seromuscular extramucosa em plano único na cirurgia do intestino. Revta paul Med, 1975c; 86 : 125 – 130.

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 Ass Med Bras, 1976a; 22 : 79 – 86.

Mantovani M; Leonardi LS; Alcântara FG; Medeiros R.; Fagundes JJ.; Hadler WA Estudo comparativo entre diferentes variedades de sutura em um e dois planos no intestino grosso. Trabalho experimental no cão. Rev Ass Med Bras, 1976b; 22 : 245 – 251.

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. Revta paul Med, 1976c; 87 : 56 – 63.

Mantovani M; Leonardi LS; Alcântara FG; Hadler WA. Anastomose intestinal. Rev Col Brasil Cir, 1976d; 3 : 93 – 94.

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. Revta paul Med, 1977; 89 : 35 – 41.

Mantovani M, Leonardi LS, Alcântara FG. Evolução da cicatrização em anstomoses do intestino grosso em condições de mormalidade e sob a ação de drogas imunossupressoras: estudo comparativo em cães. Rev paul Méd 1979, 94: 118-126.

Mantovani M; Filho AC. Caracterização, avaliação e monitorização dos estados de choque no trauma. In: Silva MR. Choque. São Paulo: Atheneu; 1996. p.173-187.V.3.

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 de Doutorado. Unicamp. 1973.

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. *Revta paul Med*, 1975;86 : 102 – 112.

Medeiros RR; Emprego experimental do bisturi elétrico nas anastomoses do intestino grosso. Estudo da cicatrização à microscopia óptica e de polarização. Tese de Livre Docência. Unicamp. 1982.

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

Mochizuki M, Chung WF, Coy CS, Ayrizono ML, Góes JR, Fagundes JJ. Effect of guided adhesions on ischemic colic anastomoses in rats. *Acta Cir Bras* 2005 May-Jun; 20: 247-52.

Nieri TM. Estudo sobre o comportamento mecânico do cólon íntegro e com anastomose. Trabalho experimental em ratos. [Tese – Mestrado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 1999.

Ozden A, Tetic C, Bilgihan A. Antithrombin III prevents 60 minutes warm intestinal ischemia reperfusion injury in rats. *Res Exp Méd* 1999; 198: 237 – 46.

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

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

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

Rixen D, Raum M, Holzgraefe B, Sauerland S, Nagelschmidt M, Neugebauer EA. A pig hemorrhagic shock model: oxygen debt and metabolic acidemia as indicators of severity. *Shock* 2001, 16(3): 229-44.

Rocha AA, Coy CSR, Góes JRN, Ayrizono MLS, ChungWF, Fagundes JJ. Comparative study of the hyperbaric hyperoxygenation in ischemic colonic loops in rats. *Acta Cir Bras* 2005; 22 : 85 – 91.

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

Tamion F, Richard V, Lacoume Y, Thuillez C. Intestinal preconditioning prevents systemic inflammatory response in hemorrhagic shock. Role of HO-1. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 283: G408-414.

Tekin K, Aytekin FO, Özden A, Bilgihan A, Erden E, Sungurtekin U, Güney Y. Antithrombin III prevents deleterious effects of remote ischemia-reperfusion injury on healing of colonic anastomoses. *Amer J Surg* 2002; 184: 160 - 5.

Wilson M, Davis DP, Coimbra R. Diagnosis and monitoring fo hemorrhagic shock during the initial resuscitation do multiple trauma patients: a review. *Journal of Emergency Medicine* 2003; 24(4): 413-422.

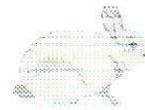
Yilmaz EN, Vahl AC, van Rij GL, Vink GQ, Lange-De Klerk ES, Brom HL, Rauwerda JA. The rennin-angiotensin system in swine during hypovolaemic shock combined with low-flow ischemia of the sigmoid colon. *Cardiovasc Surg* 1999; 7(5): 539-44.

8- ANEXOS

ANEXO 1- Certificado de aprovação pela Comissão de Ética



Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Biologia



CEEA-IB-UNICAMP

Comissão de Ética na Experimentação Animal CEEA-IB-UNICAMP

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº **549-1**, sobre "**INFLUÊNCIA DO CHOQUE HEMORRÁGICO NA ANASTOMOSE DE CÓLON ESQUERDO EM RATOS**" sob a responsabilidade de **Prof. Dr. Cláudio Saddy Rodrigues Coy/Yara Ematné Amaral Pereira** 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)-IB-UNICAMP em reunião de 08 de Maio de 2003.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº **549-1**, entitled "**HEMORRHAGI SHOCK INFLUENCE IN THE LEFT COLON ANASTOMOSIS 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 May 8, 2003.

Campinas, 08 de Agosto de 2003.

2ª. VIA

Profa. Dra. Liana Verinaud
Presidente - CEEA/IB/UNICAMP

Fátima Alonso
Secretária - CEEA/IB/UNICAMP

ANEXO 2- Protocolo utilizado no experimento

**Faculdade de Ciências Médicas – UNICAMP
Laboratório de Investigação em Cirurgia do Trauma – LICIT**

**ESTUDO COMPARATIVO EM CÓLONS ISQUÊMICOS E NÃO ISQUÊMICOS
EM RATOS**

DATA: __/__/__ FICHA Nº: _____

1 - DADOS DO ANIMAL

Grupo: _____ Nº: _____ Peso inicial: _____ g Idade: _____

VE (5,43% do peso) 100%VE: _____ ml 30%VE: _____ ml

2 - PROCEDIMENTO ANESTÉSICO

Hora: _____ Anestésicos Utilizados: _____

Volume de anestesia: _____ FR: _____ ipm(após 10 min)

Complemento de anestesia: _____ Hora: _____ FR: _____ ipm (5min)

Complemento de anestesia: _____ Hora: _____ FR: _____ ipm (5min)

Complemento de anestesia: _____ Hora: _____ FR: _____ ipm (5min)

Complemento de anestesia: _____ Hora: _____ FR: _____ ipm (5min)

3 - CONTROLES E DOSAGENS

| | INICIAL | 15' APÓS O CHOQUE | FINAL DO ATO CIRÚRGICO |
|--------------------|---------|----------------------|---------------------------|
| Tº dorsal | | | |
| Freq. Respiratória | | | |
| PAM | | | |
| Lactato | | | |

4 -CHOQUE

Início: _____

PAM 50 mmHg: _____ Tempo: _____ min

FR: _____ ipm FC: _____ bpm TR: _____ °C

Volume retirado: _____ ml %VE: _____ %

Controle do choque:

| Retiradas | | | | | | | | | | | | | |
|------------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| Reposições | | | | | | | | | | | | | |

5 - CIRURGIA

Início da cirurgia: _____

Início da anastomose: _____

Fim da anastomose: _____

Fim da cirurgia: _____

Tempo total do ato cirúrgico: _____

6 - 5ºPO

Peso _____ g

OBS na cavidade abdominal _____

Pressão de explosão: _____

ANEXO 3- Tempo cirúrgico médio entre G1 e G2

| G1 | TEMPO CIRURGICO | G2 | TEMPO CIRURGICO |
|-------|-----------------|-------|-----------------|
| R1 | 35 | R1 | 38 |
| R2 | 33 | R2 | 57 |
| R3 | 39 | R3 | 48 |
| R4 | 40 | R4 | 50 |
| R5 | 35 | R5 | 42 |
| R6 | 30 | R6 | 70 |
| R7 | 37 | R7 | 43 |
| R8 | 35 | R8 | 35 |
| R9 | 47 | R9 | 62 |
| R10 | 42 | R10 | 38 |
| MÉDIA | 37 | MÉDIA | 48 |

ANEXO 4- Dosagem de lactato sérico nos grupos G1 e G2

| G1 | LACTATO INICIAL (mmol/l) | LACTATO FINAL (mmol/l) | G2 | LACTATO INICIAL (mmol/l) | LACTATO 15' (mmol/l) | LACTATO FINAL (mmol/l) |
|-------|--------------------------|------------------------|-------|--------------------------|----------------------|------------------------|
| R1 | 2,2 | 2,8 | R1 | 2,3 | 4,5 | 3,3 |
| R2 | 1,6 | 0,9 | R2 | 1,4 | 1,8 | 4,9 |
| R3 | 1,6 | 1,7 | R3 | 2,1 | 3,2 | 2,5 |
| R4 | 2,6 | 3,1 | R4 | 2,0 | 3,0 | 4,1 |
| R5 | 1,5 | 2,4 | R5 | 2,6 | 4,1 | 4,1 |
| R6 | 2,4 | 1,7 | R6 | 2,4 | 3,2 | 3,9 |
| R7 | 2,8 | 1,8 | R7 | 2,0 | 3,0 | 3,3 |
| R8 | 2,5 | 1,8 | R8 | 2,2 | 2,6 | 3,0 |
| R9 | 2,2 | 1,6 | R9 | 2,4 | 3,3 | 3,7 |
| R10 | 1,7 | 1,3 | R10 | 2,7 | 4,5 | 4,1 |
| MÉDIA | 2,1 | 1,9 | MÉDIA | 2,2 | 3,3 | 3,7 |

ANEXO 5- Valores da Pressão de Ruptura à Distensão por Líquido

| G1 | PRESSÃO DE RUPTURA (mmHg) | G2 | PRESSÃO DE RUPTURA (mmHg) |
|-------|------------------------------|-------|------------------------------|
| R1 | 206 | R1 | 152 |
| R2 | 164 | R2 | 138 |
| R3 | 165 | R3 | 168 |
| R4 | 171 | R4 | 140 |
| R5 | 194 | R5 | 132 |
| R6 | 123 | R6 | 204 |
| R7 | 183 | R7 | 164 |
| R8 | 115 | R8 | 152 |
| R9 | 139 | R9 | 118 |
| R10 | 147 | R10 | 153 |
| MÉDIA | 161 | MÉDIA | 152 |

ANEXO 6- Tabela contendo todos os dados avaliados em G1.

| G1 | PERDA PONDERAL (g) | LACTATO INICIAL (mmol/l) | LACTATO FINAL (mmol/l) | TEMPO CIRURGICO (min) | PRESSÃO DE RUPTURA (mmHg) | PAM INICIAL (mmHg) | PAM FINAL (mmHg) |
|-------|--------------------------|--------------------------------|------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|--------------------------|------------------------|
| R1 | 19,4 | 2,2 | 2,8 | 35 | 206 | 105 | 101 |
| R2 | 18,4 | 1,6 | 0,9 | 33 | 164 | 107 | 90 |
| R3 | 11,8 | 1,6 | 1,7 | 39 | 165 | 106 | 86 |
| R4 | 25,5 | 2,6 | 3,1 | 40 | 171 | 102 | 95 |
| R5 | 35,3 | 1,5 | 2,4 | 35 | 194 | 119 | 99 |
| R6 | 30,4 | 2,4 | 1,7 | 30 | 123 | 112 | 87 |
| R7 | 33,5 | 2,8 | 1,8 | 37 | 183 | 94 | 75 |
| R8 | 28,3 | 2,5 | 1,8 | 35 | 115 | 111 | 115 |
| R9 | 23,1 | 2,2 | 1,6 | 47 | 139 | 115 | 115 |
| R10 | 22,4 | 1,7 | 1,3 | 42 | 147 | 132 | 110 |
| MÉDIA | 24,81 | 2,11 | 1,91 | 37,3 | 160,7 | 110,3 | 97,3 |

ANEXO 7- Tabela contendo todos os dados avaliados em G2.

| G2 | PERDA PONDERAL (g) | LACTATO INICIAL (mmol/l) | LACTATO 15 min (mmol/l) | LACTATO FINAL (mmol/l) | TEMPO CIRURGICO (min) | PRESSÃO DE RUPTURA (mmHg) | PAM INICIAL (mmHg) | PAM 15 min (mmHg) | PAM FINAL (mmHg) |
|-------|--------------------------|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|
| R1 | 25,6 | 2,3 | 4,5 | 3,3 | 38 | 152 | 110 | 53 | 49 |
| R2 | 36,8 | 1,4 | 1,8 | 4,9 | 57 | 138 | 103 | 47 | 42 |
| R3 | 19,0 | 2,1 | 3,2 | 2,5 | 48 | 168 | 105 | 52 | 58 |
| R4 | 38,8 | 2,0 | 3,0 | 4,1 | 50 | 140 | 94 | 48 | 57 |
| R5 | 37,4 | 2,6 | 4,1 | 4,1 | 42 | 132 | 98 | 47 | 58 |
| R6 | 29,0 | 2,4 | 3,2 | 3,9 | 70 | 204 | 104 | 58 | 61 |
| R7 | 38,0 | 2,0 | 3,0 | 3,3 | 43 | 164 | 106 | 49 | 62 |
| R8 | 25,0 | 2,2 | 2,6 | 3,0 | 35 | 152 | 119 | 54 | 54 |
| R9 | 56,3 | 2,4 | 3,3 | 3,7 | 62 | 118 | 121 | 57 | 76 |
| R10 | 59,5 | 2,7 | 4,5 | 4,1 | 38 | 153 | 124 | 48 | 52 |
| MÉDIA | 36,54 | 2,21 | 3,32 | 3,69 | 48,3 | 152,1 | 108,4 | 51,3 | 56,9 |