

EMERSON WANDER SILVA SOARES

**EFEITO DO USO PÓS-OPERATÓRIO DE 5-FLUOROURACIL NA
CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES COLÔNICAS EM RATOS**

**Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica
da Universidade Federal do Paraná
como requisito parcial à obtenção do
grau acadêmico de Mestre.**

**Orientador:
Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos**

**Coordenador:
Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos**

CURITIBA

2001

Soares, Emerson Wander Silva

Efeito do uso pós-operatório de 5-Fluorouracil na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos.

Curitiba, 2001.

f. 46.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos
Dissertação (Mestrado)/Setor de Ciências da Saúde,
Universidade Federal do Paraná.

1. 5-Fluorouracil. 2. Anastomose colônica. 3. Cicatrização.

I. Título



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA
NÍVEL MESTRADO - DOUTORADO

DECLARAÇÃO


Declaro, que o Dr. Emerson Wander Silva Soares completou os requisitos necessários para obtenção do Grau Acadêmico de Mestre em Clínica Cirúrgica ofertado pela Universidade Federal do Paraná.

Para obtê-los, concluiu os créditos didáticos previstos no Regimento do Programa e apresentou sua dissertação sob título "EFEITO DO USO PÓS-OPERATÓRIO DE 5-FLUOROURACIL NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES COLÔNICAS EM RATOS", em tempo hábil.

A dissertação foi defendida nesta data e aprovada pela Comissão Examinadora composta pelos Professores Drs. Paulo Afonso Nunes Nassif - Membro, Nicolau Gregori Czezko - Membro e Antonio Sérgio Brenner - Presidente.

E, por ser verdade, firmo a presente.

Curitiba, 18 de dezembro de 2001.


Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos
Coordenador do Programa de Pós-Graduação
em Clínica Cirúrgica da UFPR

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos, orientador deste trabalho, presença constante e amiga que de forma generosa contribuiu com seus conhecimentos, tornando possível e agradável a realização deste projeto.

Ao Dr. Calixto Antônio Hakim Neto, que como um pai, acolheu-me em Curitiba, e cujos ensinamentos ultrapassaram em muito a área da medicina.

À Prof^a. Dra. Lúcia de Noronha, pela orientação na avaliação histológica das anastomoses intestinais.

As doutorandas Silviane Pellegrinello e Tamara Veruska Vroblewski e ao médico Géser Vinícius Silva Soares, pelo auxílio na cirurgia e cuidados pós-operatórios dos ratos.

Ao LACTEC na pessoa do seu diretor, engenheiro Henrique José Ternes Neto, ao engenheiro Sérgio Luiz Henke, responsável pelo Departamento de Materiais e ao técnico Sérgio W. Santos pela valiosa colaboração.

Ao meu amigo e colega de residência Alvo Orlando Vizzotto Júnior que contribuiu para a realização deste trabalho.

À Prof^a. Maria da Graça Pellegrinello, que realizou a correção ortográfica do texto.

Muitas descobertas notáveis foram feitas por homens que, seguindo os passos da natureza com os próprios olhos, acompanharam-na por caminhos tortuosos, mas quase sempre seguros, até alcançá-la na sua cidadela da verdade.

William Harvey

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE GRÁFICOS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE SIGLAS	x
RESUMO	xi
<i>ABSTRACT</i>	xii
1 INTRODUÇÃO	01
1.1 OBJETIVO.....	02
2 REVISÃO DA LITERATURA	03
2.1 FASES DA CICATRIZAÇÃO.....	03
2.2 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES INTESTINAIS.....	03
2.2.1 Avaliação das anastomoses por métodos mecânicos	04
2.2.1.1 Pressão de ruptura.....	04
2.2.1.2 Tensão de explosão.....	04
2.2.1.3. Força de ruptura.....	04
2.2.2 Avaliação das anastomoses por métodos microscópicos	05
2.2.2.1 Estudo da revascularização da área de anastomose.....	05
2.2.2.2 Microscopia de polarização.....	05
2.2.2.3 Estudo histológico à microscopia ótica.....	05
2.2.3 Avaliação das anastomoses por métodos bioquímicos	06
2.3 PROPRIEDADES DO 5-FLUOROURACIL.....	06
2.3.1 Mecanismo de ação	06
2.3.2 Efeitos colaterais e toxicidade	07
2.4 EFEITOS DO 5-FLUOROURACIL NA CICATRIZAÇÃO EM GERAL.....	07

2.5 EFEITOS DO 5-FLUOROURACIL NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES INTESTINAIS.....	09
2.6 AVALIAÇÃO CLÍNICA DO ESTADO NUTRICIONAL.....	14
3 MATERIAL E MÉTODO.....	15
3.1 MATERIAL.....	15
3.1.1 Animais de experimentação.....	15
3.1.2 Quimioterápico.....	15
3.2 MÉTODO.....	15
3.2.1 Grupos de estudo.....	15
3.2.2 Pré-operatório.....	16
3.2.3 Anestesia.....	16
3.2.4 Técnica operatória.....	17
3.2.5 Pós-operatório.....	18
3.2.6 Administração de 5-FU.....	18
3.2.7 Morte dos ratos.....	18
3.2.8 Avaliação macroscópica.....	18
3.2.8.1 Peso.....	19
3.2.8.2 Avaliação da parede, cavidade abdominal e retirada da peça cirúrgica	19
3.2.8.3 Avaliação do grau de aderências.....	20
3.2.9 Estudo da força tênsil de ruptura da anastomose.....	20
3.2.10 Avaliação histológica.....	22
3.2.11 Análise estatística.....	23
4 RESULTADOS.....	24
4.1 ATO OPERATÓRIO E EVOLUÇÃO PÓS-OPERATÓRIA.....	24
4.2 AVALIAÇÃO DOS ACHADOS MACROSCÓPICOS.....	24
4.2.1 Exame da parede e cavidade abdominal.....	24
4.2.2 Peso corporal.....	25
4.3 ESTUDO DA FORÇA TÊNSIL DE RUPTURA.....	25

4.4 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA.....	26
5 DISCUSSÃO.....	30
5.1 MODELO EXPERIMENTAL.....	30
5.2 ACHADOS MACROSCÓPICOS.....	32
5.2.1 Peso.....	32
5.2.2 Avaliação da parede abdominal e grau de aderências.....	33
5.3 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE CICATRIZAÇÃO DA ANASTOMOSE.....	33
5.3.1 Resistência tênsil `a força de tração.....	34
5.3.2 Avaliação histológica.....	35
6 CONCLUSÃO.....	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
OBRAS CONSULTADAS.....	44
ANEXOS.....	45

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – DISTRIBUIÇÃO DOS RATOS POR GRUPOS CONFORME ÍNDICE OBTIDO NA AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA.....	23
TABELA 2 – MÉDIA E DESVIO PADRÃO (DP) DO PESO DOS RATOS...	25
TABELA 3 – FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO E FORÇA DE RUPTURA COMPLETA: MÉDIA E DESVIO PADRÃO DOS SUBGRUPOS.....	26

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – REPRESENTAÇÃO GRÁFICA REGISTRADA EM COMPUTADOR NO MOMENTO DA TRAÇÃO DA ANASTOMOSE.....	21
GRÁFICO 2 – CLASSIFICAÇÃO HISTOLÓGICA DOS SUBGRUPOS.....	27

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – ANASTOMOSE TÉRMINO-TERMINAL EM PLANO ÚNICO COM PONTOS SEPARADOS.....	17
FIGURA 2 – SEGMENTO COLORRETAL RESSECADO COM A ANASTOMOSE AO CENTRO.....	19
FIGURA 3 – MÁQUINA UNIVERSAL DE ENSAIO MECÂNICO.....	20
FIGURA 4 – MOMENTOS DA TRAÇÃO E RUPTURA DA ANASTOMOSE	22
FIGURA 5 – HISTOLOGIA DA ÁREA DE ANASTOMOSE, EM COLORAÇÃO HE COM AUMENTO DE 10X.....	28
FIGURA 6 – HISTOLOGIA DA ÁREA DE ANASTOMOSE, EM COLORAÇÃO HE COM AUMENTO DE 10X.....	28
FIGURA 7 – HISTOLOGIA DA ÁREA DE ANASTOMOSE, EM COLORAÇÃO HE COM AUMENTO DE 10X.....	29
FIGURA 8 – HISTOLOGIA DA ÁREA DE ANASTOMOSE, EM COLORAÇÃO HE COM AUMENTO DE 10X.....	29

LISTA DE SIGLAS

ADN	- ácido dextrorribonucléico
ANOVA	- análise de variância
C	- grupo controle
C5	- subgrupo controle avaliado no 5º dia de pós-operatório
C8	- subgrupo controle avaliado no 8º dia de pós-operatório
cm	- centímetros
5-FU	- 5-fluorouracil
E	- grupo experimento
E5	- subgrupo experimento avaliado no 5º dia de pós-operatório
E8	- subgrupo experimento avaliado no 8º dia de pós-operatório
FdUMP	- monofosfato de fluorodesoxiuridina
FMT	- força máxima de tração
FRC	- força de ruptura completa
HE	- hematoxilina e eosina
kg	- quilograma
LACTEC	- Laboratório do Instituto de Tecnologia para o Desenvolvimento
mg	- miligrama
mm	- milímetros
MMN	- monomorfonucleares
MTS	- <i>maximal tensil strenght</i>
p	- valor estatístico
PMN	- polimorfonucleares
RTS	- <i>rupture tensil strenght</i>
μM	- micromol
μm	- micrômetro
TS	- timidilato sintetase
TECPAR	- Instituto de Tecnologia do Paraná
UFPR	- Universidade Federal do Paraná

RESUMO

Este estudo experimental, realizado no laboratório da Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Paraná, tem por objetivo avaliar a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos submetidos ao uso de 5-fluorouracil (5-FU). Foram utilizados 40 ratos, divididos em 2 grupos de 20 animais cada, assim denominados: grupo experimento (E) e controle (C). Os ratos de cada grupo foram separados em dois subgrupos de 10 animais cada e avaliados no 5º (E5 e C5) e 8º (E8 e C8) dia de pós-operatório. Os ratos do grupo experimento receberam doses diárias de 5-fluorouracil (20 mg/kg/dia) intraperitoneal nos primeiros cinco dias de pós-operatório. Os ratos do grupo controle receberam doses diárias isovolumétricas de solução salina isotônica intraperitoneal. Os parâmetros avaliados foram: aspectos macroscópicos da parede e cavidade abdominal, intensidade de aderências perianastomóticas, teste de força da resistência tênsil anastomótica e características histológicas da anastomose, avaliada quanto aos aspectos de congestão, edema, presença de polimorfonucleares e monomorfonucleares, tecido de granulação e fibrose. A variação do peso corporal dos ratos foi usada para estimativa do estado nutricional durante o experimento. Os aspectos macroscópicos foram similares entre os grupos. Não ocorreu nenhum caso de deiscência de anastomose nos ratos estudados. Com relação a resistência tênsil, medida através da força máxima de tração (FMT) e força de ruptura completa (FRC), observou-se que a FMT foi significativamente menor no subgrupo que recebeu 5-FU em relação ao subgrupo controle, no 5º dia de pós-operatório ($p=0,0014$). O mesmo não ocorreu no 8º dia, onde os subgrupos apresentaram FMT semelhante. A FRC, avaliada no 5º e 8º dia de pós-operatório, não apresentou diferença significativa entre os grupos. A análise histológica demonstrou retardo significativo na cicatrização das anastomoses colônicas nos ratos que receberam 5-FU, tanto no 5º ($p=0,0002$) quanto no 8º ($p=0,0036$) dia de pós-operatório em relação ao grupo controle. Os ratos submetidos ao uso de 5-FU apresentaram, no 5º e 8º dia de pós-operatório, perda significativa de peso em relação ao grupo controle que manteve o peso inicial ou ganhou peso após a cirurgia ($p=0,0002$ e $p=0,0057$ respectivamente). Portanto, através do presente estudo, demonstrou-se influência negativa do 5-fluorouracil na cicatrização das anastomoses colônicas dos ratos avaliados.

Palavras-chave: 5-Fluorouracil; Anastomose Colônica; Cicatrização

ABSTRACT

EFFECT OF POSTOPERATIVE 5-FLUOROURACIL ON THE HEALING OF COLONIC ANASTOMOSES IN RATS

The aim of this study, performed in the Surgery laboratory from the Federal University of Parana, is to evaluate the effects of 5-fluorouracil (5-FU) on healing of colonic anastomosis in rats. Forty rats were divided into 2 groups of 20 rats each (experimental and control groups). Within each of those groups, the animals were assigned to two subgroups and assessed on the 5th (E5 and C5) and 8th (E8 and C8) postoperative day. The rats of the experimental group received intraperitoneal 5-fluorouracil (20 mg/kg/day) once daily for the first five postoperative days. An isovolumetric isotonic saline solution was administered intraperitoneal to the rats in the control group. The parameters studied were macroscopic aspects from abdominal wall and peritoneal cavity, anastomotic adhesions, tensile strenght of anastomoses and histologic evaluation of anastomoses by inflammatory response, vascular proliferation, fibroblast formation and collagen content. Nutritional conditions were checked on the basis of the body weight of the rats. Tensile strenght was mesured by the maximal tensil strengt (MTS) and the rupture tensil strenght (RTS). Macroscopic aspects were similar between groups and no anastomotic dehiscence was noted in the rats. The MTS was significantly higher in the rats of the control subgroup, compared with the experimental subgroup on the 5th postoperative day ($p=0,0014$). However, there were no significant differences between subgroups on 8th postoperative day. There was no significant difference in the RTS between the groups. The histological analysis showed a delayed healing of the anastomoses in rats that received 5-FU, on the 5th ($p=0,0002$) and 8th ($p=0,0036$) postoperative day. A significant body weigt reduction was noted on rats that received 5-FU, compared to the control group, on the 5th ($p=0,0002$) and 8th ($p=0,0057$) postoperative day. Therefore, according to the evaluated parameters in the present study, 5-fluorouracil adversely affected healing of colonic anastomoses in rats.

Key-words: 5-Fluorouracil; Large Bowel Anastomosis; Healing

1 INTRODUÇÃO

As anastomoses intestinais sempre foram motivo de preocupação para os cirurgiões. Preocupados com os efeitos catastróficos de uma fistula intestinal, muito já se estudou sobre a segurança de uma anastomose e os possíveis fatores que influenciam na mesma. A ocorrência de fistula gastrointestinal após uma cirurgia está associada a mortalidade que ultrapassa 20% em muitas séries (MEGUID e CAMPOS, 1996). Inúmeros modelos experimentais foram desenvolvidos para estudo da evolução cicatricial das anastomoses. Devido a estes estudos prévios, muitas dúvidas foram dirimidas e conceitos estabelecidos. Entretanto, as anastomoses intestinais constituem até hoje assunto polêmico e repleto de controvérsias.

Nas últimas três décadas, produziram-se um grande número de estudos clínicos que avaliaram o papel da quimioterapia depois da ressecção curativa do câncer de cólon. Essas experiências evoluíram a partir dos pequenos estudos iniciais não conclusivos (LI e ROSS, 1976) até grandes estudos randomizados realizados por grupos cooperativos (MAMOUNAS, WIEAND e WOLMARK, 1999). Estes últimos definiram, em grande parte, o papel da quimioterapia adjuvante e, em conjunto, ofereceram evidências que justificam seu uso no câncer de cólon de alto risco. MORTEL, FLEMING, HALLER e LAURIE (1990) demonstraram aumento em 30% na sobrevida para os pacientes que utilizaram 5-FU e levamisole após ressecção cirúrgica do tumor de cólon. A partir deste estudo a quimioterapia passou a ser considerada tratamento “padrão” para tumores de cólon no estágio III. O padrão atual de tratamento requer terapia adjuvante com esquema baseado em 5-fluorouracil (5-FU) para pacientes com doença positiva para os linfonodos que foram submetidos à ressecção curativa. A terapia, em seis meses, com 5-FU e leucovorin demonstrou ser tão eficaz quanto o 5-FU administrado com levamisole durante 12 meses (WOLMARK, ROCKETTE e MAMOUNAS, 1999).

Vários trabalhos experimentais, publicados na literatura médica mundial abordaram o tema da influência dos quimioterápicos sobre anastomoses intestinais recentes para a definição de doses seguras, o momento ideal no pós-operatório para

utilização dos mesmos, diferentes associações, sempre com objetivo de obter o melhor desempenho do medicamento, com os menores efeitos colaterais. Entretanto, devido aos vários modelos experimentais empregados, os resultados foram controversos e não permitiram até o momento, uma resposta definitiva sobre o tema. Também não houve consenso entre estudos que analisaram especificamente o 5-fluorouracil. Estudos realizado por ASZODI e PONSKI (1985), HILLAN, NORDLINGER, BALLETT, PUTS e INFANTE (1988), HANANEL e GORDON (1995) não encontraram interferência do 5-FU na cicatrização de anastomoses intestinais. Por outro lado, estudos como os de GRAF, WEIBER, GLIMELIUS, JIBORN, PAHLMAN e ZEDERFELDT (1992), KANELLOS, KAVOUNI, ZARABOUKAS, ODISSEOS, GALOVATSEA e DADOUKIS (1996), STOOP, DIRKSEN, WOBES e HENDRIS (1998) demonstraram que 5-FU interferiu na cicatrização de anastomoses intestinais em ratos.

1.1 OBJETIVO

O presente estudo experimental tem como objetivo, avaliar a evolução da cicatrização de anastomoses colônicas em ratos Wistar adultos submetidos a aplicação intraperitoneal diária de 5-FU no primeiros cinco dias de pós-operatório em relação a um grupo controle. A avaliação será feita mediante:

- a) Análise de achados macroscópicos
- b) Teste de resistência tênsil da anastomose
- c) Estudo histológico

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 FASES DA CICATRIZAÇÃO

TRAVERS, em 1812, descreveu a seqüência dos fenômenos de reparação, reconheceu, tentou reproduzir o modelo e classificou os estágios de cicatrização para anastomoses intestinais. Dizia ele: “Começa com a aglutinação da continuidade das superfícies, provavelmente pela exudação de fluido similar `a cola, pelos 2 lados da ferida recente, mantendo-a em contacto. O adesivo inflamatório se mantém ao redor de toda a circunferência até que um plano de linfa coagulada seja efusivo (...). As suturas aliviam o processo de absorção da úlcera. Durante este tempo a linfa depositada se torna organizada, ocorre contração e o cilindro original com pontes de união forma uma nova túnica.” (BALLANTYNE, 1983).

CARREL, em 1910, descreveu os eventos que são aceitos até hoje. HOWES, SOOY E HARVEY, em 1929, introduziram algumas modificações `a classificação de CARREL. Embora a cicatrização seja um processo único, para melhor interpretação dos fenômenos, dividiram-no em 3 fases. À primeira, denominaram fase lenta ou inflamatória, `a segunda, fase de fibroplasia e a terceira, fase de maturação. HERMANN, WOODWARD e PULASKI, em 1964, afirmaram que a seqüência dos eventos que ocorrem na cicatrização das anastomoses digestivas é semelhante a que ocorre nos demais tecidos. Identificaram a fase inflamatória se estendendo até o quarto dia, a de fibroplasia até, aproximadamente, o décimo-quarto dia e a de maturação daí para a frente.

2.2 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES INTESTINAIS

Várias são as formas para se avaliar as anastomoses. Parâmetros clínicos, mecânicos, histopatológicos e bioquímicos são os mais empregados. Os parâmetros clínicos mais usados são: evolução pós-operatória, achados radiográficos, índice de óbitos por insucesso das anastomoses e achados à exploração da cavidade peritoneal (deiscência, intensidade de aderências peritoneais, peritonite generalizada e abscessos

perianastomóticos, entre outros) de animais mortos por complicações anastomóticas ou mortos para estudo. A avaliação clínica visa, em última análise, ao estudo da principal qualidade de uma anastomose, que é sua segurança. Ela é tanto mais segura quanto menor for o índice de deiscência, a mais temível de suas complicações.

2.2.1 Avaliação das anastomoses por métodos mecânicos

2.2.1.1 Pressão de ruptura

Feita em segmento intestinal que contém a anastomose no centro e, após adequadamente fechada uma das extremidades, pela outra injeta-se líquido ou gás até que ocorra a ruptura. A pressão em que ocorre a ruptura é medida por manômetro de mercúrio ou fisiológico.

2.2.1.2 Tensão de explosão

Para sua medida é necessário que se conheça o raio interno da anastomose, posto que a tensão da parede é dada pelo produto da pressão pelo raio ($T = p.r.$ – lei de Laplace).

2.2.1.3 Força de ruptura

Submete-se a anastomose à tração. As extremidades de segmento intestinal contendo a anastomose são cuidadosamente presas por garras especiais e submetidas a estiramento por aparelhos capazes de registrar a força de tração. Este método foi inicialmente descrito por FAHART em 1958 e aprimorado STALEY, TRIPPEL e TRESTON em 1961.

IKEUCHI, ONODERA, AUNG, KAN, KAWAMOTO, IMAMURA e MAETANI (1999) em estudo experimental, correlacionaram a força de tração com a pressão de ruptura de anastomoses intestinais. Utilizando um modelo experimental, estimou-se força de tração e pressão de ruptura na mesma anastomose colônica em 48

ratos entre os dias zero e 14 de pós-operatório. Durante os 4 primeiros dias de pós-operatório a correlação entre os 2 métodos foi pequena ($p=0,23$). Porém houve uma correlação altamente significativa a partir do 5º dia de pós-operatório ($p<0,004$). Os autores então concluíram que não houve correlação entre os métodos na fase inicial da cicatrização e que esta ocorreu na fase de fibroplasia que se inicia a partir do 5º dia de pós-operatório. Os autores também sugeriram que a pressão de ruptura foi o melhor método para avaliar a integridade da anastomose, enquanto a força de tração o melhor método para avaliar a cicatrização da anastomose.

2.2.2 Avaliação das anastomoses por métodos microscópicos

2.2.2.1 Estudo da revascularização da área de anastomose

Um ramo da artéria mesentérica é cateterizado, com o animal vivo, para injeção de corante, que pode ser tinta da China. Depois o animal é sacrificado e o segmento intestinal que contém a anastomose é ressecado e fixado em formol a 10% para estudo esteroscópico (aumento 16 x) da vasculatura da área de anastomose.

2.2.2.2 Microscopia de polarização

Pode ser utilizada para estudo da evolução cicatricial das anastomoses pela observação da birrefringência das fibras de colágeno. O estudo de cortes histológicos das anastomoses, em diferentes estágios de evolução cicatricial, possibilita estimativa sobre a qualidade e quantidade do colágeno na área da anastomose.

2.2.2.3 Estudo histológico à microscopia ótica

As condições de cicatrização podem ser avaliadas por diferentes indicadores: crosta fibrino-leucocitária, exsudato neutrofilico, edema intersticial, necrose da mucosa, necrose transmural, dilatação linfática, depósito de fibrina, congestão vascular, hemorragia focal, infiltrado mononuclear, exsudato eosinofílico, reação

macrofágica, atividade de regeneração da mucosa, proliferação fibroblástica, neoformação vascular, processo granulomatoso e fibrose intersticial. Cada indicador, conforme SOUSA (1994) e OLIVEIRA (1995) é classificado em: ausente (-), leve (+), moderado (++) ou intenso (+++). Esses achados, assim quantificados, são submetidos a tratamento estatístico.

2.2.3 Avaliação das anastomoses por métodos bioquímicos

A quantificação do colágeno tem se firmado, nos últimos anos, como método de estudo da evolução cicatricial de anastomoses. O emprego dessa metodologia é fundamentado no conceito que o colágeno é o principal responsável pela resistência mecânica da cicatriz. A quantificação do colágeno é feita pela determinação da concentração ou do conteúdo de hidroxiprolina. A concentração de hidroxiprolina pode ser expressa em percentual de tecido fresco ou de tecido desidratado, segundo técnica proposta por STEGEMANN e STALDER (1967) e modificada por MEDUGORAC em 1980.

2.3 PROPRIEDADES DO 5-FLUOROURACIL

O 5-Fluorouracil (5-FU) pertence a classe dos agentes antimetabólicos que se caracterizam por apresentarem semelhanças estruturais em relação a intermediários bioquímicos da síntese dos ácidos nucleicos. São incorporados a rotas metabólicas em substituição aos mesmos e causam distúrbios da duplicação celular. O 5-FU é usado amplamente no tratamento de adenocarcinomas de diversas etiologias como mama, cólon, reto, estômago e pâncreas, carcinomas epidermóides de cabeça e pescoço, esôfago e pele.

2.3.1 Mecanismo de ação

O 5-FU atua na fase S da duplicação celular. É convertido intracelularmente a monofosfato de fluorodesoxiuridina (FdUMP), que é potente inibidor da enzima

timidilato sintetase (TS) pela formação de complexo covalente ternário: TS, FdUMP e 5,10 metileno tetrahidrofolato (folato reduzido). A TS catalisa a reação enzimática que proporciona a fonte intracelular do timidilato, o qual é crítico para a síntese de DNA. O ácido folínico atua aumentando a disponibilidade intracelular de folato reduzido, fundamental para a formação do complexo covalente ternário que leva à inibição da timidilato sintetase (CHU e TAKIMOTO, 1993).

2.3.2 Efeitos colaterais e toxicidade

A toxicidade dose limitante do 5-FU depende muito do esquema de administração. Os esquemas com infusão contínua são limitados pela mucosite gastrointestinal, enquanto que os esquemas em bolo tendem a produzir maior toxicidade medular. Anorexia, náuseas e vômitos podem acompanhar a terapia com qualquer esquema. Alopecia ocorre frequentemente e é reversível. *Rash* maculopapular reversível e hiperpigmentação da pele também podem ser vistos. Administração por infusão contínua por períodos prolongados causa a síndrome da mão-pé, que são parestesias dolorosas e hiperpigmentação da pele nas superfícies palmares das mãos e planta dos pés. Estes sintomas desaparecem após suspensão da droga. Ataxia cerebelar é vista raramente assim como cefaléia e distúrbios visuais menores. Ocasionalmente os pacientes também desenvolvem dor precordial e isquemia miocárdica com ou sem infarto do miocárdio (SPEYER, COLLINS e DEDRICK, 1980).

2.4 EFEITOS DO 5-FLUOROURACIL NA CICATRIZAÇÃO EM GERAL

STALEY, TRIPPEL e PRESTON realizaram trabalho pioneiro em 1961, para avaliar a influência do 5-fluorouracil na cicatrização de parede abdominal. Um grupo com 120 ratos Sprague-Dawley, com peso entre 100 e 125 gramas foram submetidos a incisão de 5 centímetros na parede abdominal e sutura em dois planos. Os animais foram divididos em 4 grupos: (I) submetidos a cirurgia, receberam ração *ad libitum* e não receberam 5-FU; (II) após a cirurgia tiveram sua ração limitada e não receberam

5-FU; (III e IV) receberam 5-fluorouracil por via intramuscular em doses de 75 mg/kg/dia no pós-operatório imediato e 1º dia de pós-operatório. O grupo III teve dieta *ad libitum* e o IV dieta reduzida. Com esta manobra os autores tentaram eliminar a nutrição como fator associado alterando a cicatrização tecidual. A cicatrização foi avaliada mediante teste de força de tração quando da morte dos animais no sétimo dia de pós-operatório. Os resultados demonstraram perda significativa de peso apenas no grupo IV. Os grupos I e II ganharam peso e grupo III manteve-se com o peso anterior a cirurgia. A maior força de tração ocorreu no grupo I e a menor no grupo IV. Não houve deiscência de sutura em nenhum animal. O grupo III também apresentou menor força de tração em relação ao grupo II. Portanto, concluiu-se que o 5-fluorouracil interferiu no estado nutricional dos ratos e prejudicou a cicatrização tecidual. Por outro lado apenas o estado nutricional não foi suficiente para alterar a cicatrização, sendo que o 5-fluorouracil, quando utilizado em ratos com estado nutricional sub-ótimo, teve o seu efeito deletério sobre a cicatrização aumentado.

HENDRIKS, MARTENS, HUYBEN e WOBES, em 1993, demonstraram efeito inibitório do 5-FU sobre a proliferação fibroblástica em cultura de pele de rato. Neste experimento as culturas foram expostas ao 5-FU por 24, 48 e 72 horas. Na cultura exposta à droga por 24 horas a proliferação fibroblástica foi refratária à concentração de 50 μM de 5-FU, corroborando com a idéia de que o tempo de exposição ao quimioterápico é fundamental para a obtenção do efeito de inibição da divisão celular.

De WAARD, MAN, WOBES, van der LINDEN e HENDRIKS, em 1998, também realizaram estudo *in vitro* com cultura de fibroblastos de pele de rato. Observaram acentuada supressão, dose-dependente, na síntese de ácido dextrorribonucléico (ADN) quando acrescentaram 5-FU a esta cultura celular por 72 horas. A inibição ocorreu com dose de 1 μM , sendo que com dose de 20 μM houve inibição de 50% da proliferação. O levamisole também produziu efeito de inibição da proliferação fibroblástica, só que em concentrações maiores, cerca de 100 μM . Ao ser usado sinergicamente, o levamisole potencializou o efeito do 5-FU. Quando usado em

cultura de fibroblastos confluentes, isto é, fora da fase de divisão celular, o 5-FU e o levamisole não afetaram o número de células presentes na cultura. Os autores concluíram que ambas as drogas isoladamente ou combinadas, na dependência da dose e do tempo de exposição, apresentaram efeito inibidor sobre a função de fibroblastos ativos.

2.5 EFEITOS DO 5-FLUOUROURACIL NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES INTESTINAIS

ASZODI e PONSKY (1985) avaliaram a ação do 5-fluorouracil infiltrado diretamente na parede da alça intestinal adjacente à região de anastomose. A anastomose foi realizada no intestino delgado. Utilizaram-se 120 ratos, divididos em 3 grupos de experimento com 20 ratos cada, que receberam 5, 10 e 20 mg de 5-fluorouracil respectivamente. Cada grupo experimento teve um grupo controle com 20 ratos. Cada grupo foi subdividido em 4 subgrupos conforme a data de sacrifício para análise da anastomose. Todos os grupos foram analisados no dia 4, 7, 8 e 12 de pós-operatório. O 5-fluorouracil foi aplicado em dose única, imediatamente após a realização da anastomose. Os parâmetros para avaliação da anastomose foram: pressão de ruptura, análise microangiográfica e estudo histológico. Os resultados deste estudo não mostraram diferença entre os grupos que receberam 5-fluorouracil e os grupos controles.

ZUIDWEIJN, WOBBER, HENDRIKS, KLOMPMAKERS e de BOER (1986) fizeram um estudo experimental com 96 ratos Wistar, analisando o efeito de agentes anti-neoplásicos na cicatrização de anastomose no intestino delgado. Usou-se um esquema quimioterápico combinado endovenoso por 5 dias com bleomicina (2 mg/kg/dia), 5-fluorouracil (10 mg/kg/dia) e cis-diaminedicloroplatina (0.35 mg/kg/dia). Os ratos foram divididos em 4 grupos. O grupo controle não recebeu quimioterapia. Os outros ratos foram operados dois dias após, dois dias antes ou durante os 5 dias de utilização dos medicamentos. Em cada grupo os ratos foram

mortos após 3, 7 e 21 dias da anastomose. A cicatrização foi avaliada através da pressão de ruptura e nível de hidroxiprolina. Os resultados demonstraram que o grupo operado durante o uso de quimioterápicos foi o que apresentou maior retardo na cicatrização da anastomose, demonstrado no 3º e 7º dia de pós-operatório. Não obstante, na análise realizada no 21º dia de pós-operatório, este grupo apresentava cicatrização semelhante aos demais grupos. Portanto, os autores concluíram que os quimioterápicos em questão retardaram mas não impediram a cicatrização da anastomose intestinal.

HILLAN, NORDLINGER, BALLETT, PUTS e INFANTE (1988) estudaram a cicatrização de anastomoses colônicas após aplicação intraperitoneal de 5-FU em ratos. Foram utilizados 78 ratos Wistar machos e aplicação de 5-fluorouracil durante 5 dias, iniciado no primeiro, terceiro e sétimo dia de pós-operatório. Para isto os 78 ratos foram divididos em 6 grupos, sendo que 3 grupos funcionaram como controle, recebendo solução salina isotônica intraperitoneal. Todos os animais foram mortos 14 dias após a cirurgia. Os critérios de análise foram: mortalidade, peso, força de tração da anastomose e deiscência espontânea. Em nenhum destes critérios houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos submetidos ao uso de 5-FU e os grupos controles. Registrou-se um maior número de casos de deiscência e fístulas nos grupos que receberam 5-FU. Os autores concluíram que o uso de 5-FU intraperitoneal pareceu não comprometer a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos saudáveis.

GRAF, WEIBER, GLIMELIUS, JIBORN, PAHLMAN e ZEDERFELDT (1992) em estudo experimental com 137 ratos, analisaram a influência do 5-fluorouracil e ácido folínico na cicatrização colônica. Ratos Wistar machos foram submetidos a ressecção colônica e divididos em 4 grupos: grupo controle (submetido a aplicação de solução salina isotônica por via intraperitoneal e endovenosa); grupo 5-fluorouracil (5-FU) (submetido a aplicação de 5-FU intraperitoneal e solução salina isotônica endovenosa); grupo ácido folínico (submetido a aplicação intraperitoneal de solução salina isotônica e endovenosa de ácido folínico); e grupo 5-FU/ácido folínico

(submetido a aplicação intraperitoneal de 5-FU e endovenosa de ácido folínico). O tratamento foi iniciado imediatamente após a cirurgia e continuado até o momento da morte no 3º e 7º dia de pós-operatório. A dose diária foi de 20 mg/kg/dia de 5-FU e 2 mg/kg/dia de ácido folínico. Complicações anastomóticas (abscesso e deiscência) ocorreram em 4 de 33 animais no grupo controle, 12 de 36 no grupo 5-FU, 1 de 32 no grupo ácido folínico e 9 de 36 no grupo 5-FU/ácido folínico. A força de ruptura da anastomose não foi diferente entre os grupos no 3º dia de pós-operatório. Entretanto, no 7º dia foi significativamente menor no grupo 5-FU. A força de tração também foi menor no grupo 5-FU/ácido folínico, mas não reduziu tanto quanto o grupo 5-FU. A força de tração nos animais que receberam ácido folínico foi similar ao grupo controle. Neste estudo, concluiu-se que a cicatrização foi prejudicada após a administração intraperitoneal de 5-FU, não havendo acréscimo neste prejuízo com a associação de ácido folínico.

Em 1994, WEIBER, GRAF, GLIMELIUS, JIBORN e PAHLMAN, em estudo experimental, avaliaram a cicatrização colônica em relação ao momento da utilização do 5-fluorouracil. Noventa e sete ratos Wistar foram submetidos a ressecção do cólon esquerdo e anastomose. Estes foram divididos em quatro grupos, sendo dois submetido ao uso de 5-fluorouracil (20 mg/kg/dia) intraperitoneal e dois grupos controles que receberam solução salina isotônica. Dos grupos que usaram 5-FU, um recebeu tratamento precoce, iniciado no dia da cirurgia e mantido com doses diárias por 7 dias. O outro grupo iniciou o uso de 5-FU no 3º dia de pós-operatório. Os ratos foram mortos no 7º e 10º dia de pós-operatório. A cicatrização da anastomose foi avaliada através da força de ruptura. O grupo que iniciou com 5-FU precoce apresentou sete casos de complicações anastomóticas comparado a nenhum caso no grupo com 5-FU a partir do 3º dia pós-operatório. A força de tração foi significativamente menor que o grupo controle, tanto no 7º quanto 10º dia pós-operatório para os ratos que receberam 5-FU precoce. O mesmo não ocorreu com o grupo que recebeu 5-FU a partir do 3º dia de pós-operatório. Concluiu-se que o uso precoce do 5-FU foi deletério para a

cicatrização, enquanto o uso a partir do 3º dia após a cirurgia não prejudicou a cicatrização da anastomose.

WEIBER, GRAF e GLIMELIUS (1994) realizaram estudo experimental com ratos para avaliar o efeito do 5-fluorouracil na síntese de colágeno e cicatrização de anastomose colônica. Foram empregados 86 ratos Wistar, divididos em 2 grupos: (A) 5-fluorouracil (20mg/kg) em doses diárias, intraperitoneal; (B) solução salina isotônica intraperitoneal, a partir da cirurgia até a morte. A cicatrização foi analisada mediante teste da força de tração com ou sem os fios de sutura na anastomose. A síntese de colágeno foi mensurada através da hidroxiprolina radioativa. Os animais foram mortos no 3º e 7º dia de pós-operatório. Observou-se alto número de complicações no grupo que recebeu quimioterapia e a força de tração foi 40% menor (com ou sem os fios de sutura) em relação ao grupo controle. Através da hidroxiprolina radioativa, observou-se redução na síntese de colágeno no grupo que recebeu 5-fluorouracil.

HANANEL e GORDON (1995), em estudo experimental com 56 ratos, avaliaram os efeitos da utilização pré-operatória do 5-fluorouracil e do leucovorin na cicatrização intestinal em anastomoses colônicas. Os ratos foram divididos em 4 grupos de 14 animais. O grupo controle foi submetido a anastomose e observação. O grupo II recebeu 10 mg/kg de 5-fluorouracil intravenoso e 10 mg/kg de leucovorin uma vez por semana por 4 semanas e então foram operados. Os grupos III e IV receberam a mesma dosagem de quimioterápico por 6 semanas, sendo submetidos a cirurgia uma e duas semanas após o término do uso de medicamentos, respectivamente. Cada grupo foi dividido em 2 subgrupos para morte no 3º e 7º dia de pós-operatório. A anastomose foi testada através da pressão de ruptura. Os resultados não mostraram diferença estatisticamente significativa entre os grupos, tanto no 3º quanto no 7º dia de pós-operatório. Os autores concluíram que este regime de quimioterapia com 5-fluorouracil e leucovorin não alterou a cicatrização da anastomose.

KANELLOS, KAVOUNI, ZARABOUKAS, ODISSEOS, GALOVATSEA e DADOUKIS (1996) estudaram os efeitos da administração pós-operatória, intraperitoneal, de 5-fluorouracil (5-FU) com e sem a associação de ácido folínico, na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos. Avaliaram-se 63 ratos, Wistar machos, divididos em 3 grupos, que receberam solução salina isotônica, 5-FU (20 mg/kg/dia) e 5-FU (20 mg/kg/dia) mais ácido folínico (2 mg/kg/dia), respectivamente. A administração do quimioterápico iniciou-se no pós-operatório imediato e prosseguiu nos dois primeiros dias de pós-operatório. Os ratos foram mortos no 3º, 5º e 8º dia de pós-operatório. A deiscência da anastomose foi significativamente maior nos ratos dos grupos que receberam 5-FU, comparado com o grupo controle ($p < 0.05$). Todavia, não houve diferença entre os grupos com 5-FU isolado e 5-FU com ácido folínico. Houve diferença significativa na pressão de ruptura para o grupo controle (que recebeu solução salina isotônica) em comparação aos grupos que receberam quimioterápico, mortos no 5º e 8º dia de pós-operatório ($p < 0.05$). A avaliação histológica também mostrou reação inflamatória mais intensa e atraso na cicatrização para os grupos que receberam 5-FU, comparado com o grupo controle. Os autores concluíram que a administração intraperitoneal de 5-FU no pós-operatório precoce inibiu a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos. A associação de ácido folínico, com injeções intraperitoneais, não agravou este efeito negativo.

STOOP, DIRKSEN, WOBES e HENDRIS (1998) avaliaram a influência da idade e do 5-fluorouracil no pós-operatório precoce na capacidade de cicatrização em anastomoses intestinais em ratos. Utilizaram-se 90 ratos divididos em 2 grupos: com 2-3 meses (ratos jovens) e 27-30 meses (ratos idosos). Realizou-se ressecção e anastomose de íleo e cólon em cada rato. Os ratos receberam 5-fluorouracil na dose de 15 ou 20 mg/kg/dia por via intraperitoneal a partir do pós-operatório imediato por 6 dias consecutivos. O grupo controle recebeu solução salina isotônica. Todos os ratos foram mortos no 7º dia de pós-operatório. A cicatrização da anastomose foi avaliada mediante medida de força de tração e deposição de colágeno na área de cicatrização. Os resultados demonstraram que não houve diferença entre os ratos jovens e idosos

quanto a cicatrização. Entretanto os grupos que receberam 5-fluorouracil sofreram uma significativa diminuição na formação de colágeno e na força de tração das anastomoses em relação aos grupos controles. Mais uma vez, ficou demonstrado o poder do 5-fluorouracil em inibir a cicatrização de anastomoses intestinais em ratos, independente da idade do animal.

Em 1998, um estudo experimental em ratos, realizado por KUZU, KÖKSOY, KALE, DEMIRPENÇE e RENDA, avaliou o efeito do 5-fluorouracil pré-operatório na integridade de anastomoses colônicas. Foram utilizados 80 ratos, divididos em 3 grupos. O grupo experimento recebeu 5-fluorouracil intraperitoneal ($20 \text{ mg/m}^2/\text{dia}$) por 5 dias consecutivos no pré-operatório. O grupo controle realizou apenas a anastomose colônica e o grupo *sham* recebeu solução salina intraperitoneal. A anastomose foi avaliada no 3º e 7º dia de pós-operatório através da análise da pressão de ruptura, dosagem de mieloperoxidase e hidroxiprolina. Na análise dos resultados não houve diferenças significativas entre os grupos, muito embora a hidroxiprolina estivesse diminuída no grupo que recebeu 5-fluorouracil. Os autores concluíram que o uso pré-operatório de 5-fluorouracil não prejudicou a cicatrização das anastomoses colônicas.

2.6 AVALIAÇÃO CLÍNICA DO ESTADO NUTRICIONAL

A avaliação do peso corporal é um indicador prático e o mais comumente empregado para avaliação do estado nutricional de animais de experimentação. A variação do peso corporal é um bom indicador de alteração do estado nutricional. Na avaliação nutricional, perda ou ganho ponderal é melhor interpretada quando calculada a variação ponderal cumulativa, que é representada pela diferença entre peso atual e peso inicial (THORBEEK, 1982). Outros aspectos devem ser considerados na avaliação clínica dos animais, como por exemplo o comportamento do animal quanto à atividade física ou queda de pêlos, os quais podem indicar alteração do estado nutricional ou mesmo desequilíbrio na oferta de nutrientes.

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 MATERIAL

3.1.1 Animais de experimentação

Foram utilizados 40 ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*, *Roentia Mammalia*), do sexo masculino, adultos, procedentes do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR), com peso corporal variando entre 200 e 250 gramas. Estes ficaram confinados em caixas de polipropileno com serragem ao fundo, em grupos de 3 ou 4 ratos por 48 horas antes de serem incluídos no estudo. Neste período receberam água e ração própria para a espécie (Nuvilab® CR1, Nuvital) *ad libitum*. As condições ambientais no laboratório de Cirurgia Experimental da Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Paraná (UFPR), onde este estudo foi realizado, eram: temperatura de 22° C e ciclo claro-escuro de 12 horas.

3.1.2 Quimioterápico

O medicamento utilizado foi o 5-fluorouracil (Fauding – Fluorouracil, Rio de Janeiro, Brasil), na dose de 20 mg/kg/dia em injeção intraperitoneal. A administração foi feita com técnicas de anti-sepsia no quadrante inferior esquerdo do abdômen do rato. O veículo de diluição foi a solução salina isotônica.

3.2 MÉTODO

3.2.1 Grupos de estudo

Os ratos foram divididos em dois grupos de 20, conforme o uso ou não de quimioterápico. Os grupos foram divididos em 4 subgrupos com 10 ratos cada, conforme especificado a seguir.

Subgrupo E5 – ratos que após a cirurgia receberam 5-FU durante cinco dias e foram mortos no quinto dia de pós-operatório.

Subgrupo E8 – ratos que após a cirurgia receberam 5-FU durante cinco dias e foram mortos no oitavo dia de pós-operatório.

Subgrupo C5 – ratos que após a cirurgia receberam solução salina isotônica durante cinco dias e foram mortos no quinto dia de pós-operatório. Considerado controle para o grupo E5.

Subgrupo C8 – ratos que após a cirurgia receberam solução salina isotônica durante cinco dias e foram mortos no oitavo dia de pós-operatório. Considerado controle para o grupo E8.

3.2.2 Pré-operatório

Os ratos foram mantidos em jejum por 12 horas prévias ao procedimento cirúrgico com o objetivo de diminuir o conteúdo fecal no local da anastomose. O acesso a água permaneceu livre.

3.2.3 Anestesia

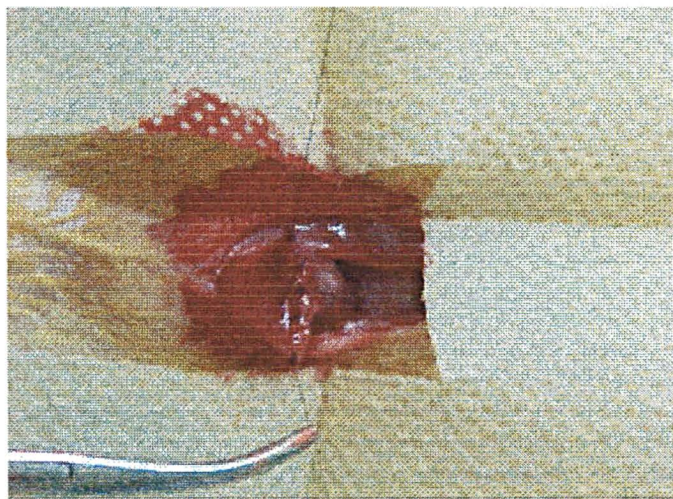
Os ratos foram submetidos à anestesia geral inalatória com éter etílico puro sob campânula de vidro. O rato foi considerado anestesiado após estar inconsciente, sem movimentos voluntários e sem reação ao manuseio cirúrgico. A dose anestésica durante a cirurgia foi baseada na observação da amplitude e frequência dos movimentos respiratórios.

3.2.4 Técnica operatória

Após a anestesia, cada rato foi pesado e identificado com pontos na orelha. Em seguida realizou-se a secção dos pêlos da região abdominal ventral rente à pele. O rato foi então colocado em decúbito dorsal e fixado pelos membros anteriores e posteriores em extensão à mesa cirúrgica. Neste período, efetuou-se a anti-sepsia tóraco-abdominal ampla com solução de polivinilpirrolidona-Iodo a 10% e delimitação do abdômen com campos esterilizados. Não se utilizou preparo de cólon ou administração de antibióticos.

Realizou-se incisão abdominal mediana com aproximadamente 3 cm de extensão, com bisturi de lâmina número 15. Os planos envolvidos foram: pele, tecido celular subcutâneo, aponeurose da parede ventral do abdômen na linha alba e peritônio. Após obtido acesso à cavidade peritoneal, identificou-se o cólon e procedeu-se colotomia 2,5 cm antes da reflexão peritoneal do reto, conforme proposta de BLOMQUIST, AHONEN, JIBORN e ZEDERFELDT (1984). Em seguida, realizou-se anastomose término-terminal (FIGURA 1), em plano único abrangendo todas as camadas da parede intestinal, com 8 (oito) pontos interrompidos de fio de náilon monofilamentar 5.0 (Paramed Suturas, São Paulo, SP, Brasil). Na seqüência procedeu-se a laparorráfia em dois planos: peritônio-musculoaponeurótico e pele, com sutura contínua e fio de náilon monofilamentar 3.0 (Paramed Suturas, São Paulo, SP, Brasil).

FIGURA 1 – ANASTOMOSE TÉRMINO-TERMINAL EM PLANO ÚNICO, COM PONTOS SEPARADOS



3.2.5 Pós-operatório

Para a recuperação imediata os ratos foram mantidos em caixas separadas. Após jejum de uma hora, reiniciou-se a alimentação habitual e o retorno as caixas de origem, nas mesmas condições ambientais e alimentares do pré-operatório. Os mesmos foram examinados duas vezes ao dia, onde procurou-se verificar a disposição para alimentação, atividade motora e complicações da ferida operatória.

3.2.6 Administração de 5-FU

Nos ratos dos subgrupos E5 e E8 procedeu-se a aplicação diária, por via intraperitoneal, de 5-fluorouracil (5-FU) na dosagem de 20 mg/kg/dia, iniciado no pós-operatório imediato e mantido por 5 dias consecutivos. Os ratos dos subgrupos C5 e C8 foram submetidos a aplicação diária, via intraperitoneal, de 0,5 ml de solução salina isotônica, por 5 dias consecutivos, iniciado no pós-operatório imediato.

3.2.7 Morte dos ratos

Foi realizada com dose letal de éter etílico puro inalatório. Nos subgrupos E5 e C5 a morte ocorreu no quinto dia de pós-operatório. Para os subgrupos E8 e C8 a morte foi realizada no oitavo dia de pós-operatório.

3.2.8 Avaliação macroscópica

Após constatada a morte do rato, este foi pesado. Então, foi posicionado em decúbito dorsal e fixado à prancha de madeira através de seus membros. Foram avaliados aspectos da parede abdominal, cavidade abdominal e grau de aderências no sítio da anastomose. Retirou-se, então, a peça cirúrgica para realização do teste de resistência tênsil da anastomose.

3.2.8.1 Peso

O ratos foram pesados no dia da cirurgia e no dia da morte. Calculou-se a variação ponderal cumulativa, que é representada pela diferença entre o peso atual e o peso inicial (THORBEEK, 1982). A balança utilizada para aferição foi regulada de acordo com os padrões do INMETRO. Os valores de peso foram mensurados e assinalados em gramas.

3.2.8.2 Avaliação da parede, cavidade abdominal e retirada da peça cirúrgica

Iniciou-se com a inspeção da cicatriz abdominal, onde se avaliou a presença ou não de coleção líquida no tecido celular subcutâneo, infecção e integridade das suturas. Realizou-se em seguida, a abertura da cavidade abdominal através de duas incisões transversais (uma abaixo do xifóide e outra acima do púbis) e outras duas incisões lateralmente a cicatriz mediana decorrente do ato operatório prévio, perfazendo um retângulo ao seu redor. Desta forma obteve-se acesso `a cavidade abdominal longe da incisão mediana. Na cavidade peritoneal buscou-se sinais sugestivos de infecção ou formação de abscesso ou plastrão, aderências, presença eventual de fístula no nível da anastomose e a sua integridade. Após, procedeu-se a retirada da peça cirúrgica, incluindo um segmento colorretal de 3 cm, contendo a anastomose (FIGURA 2) em sua região média. As estruturas ou órgãos que estavam aderidos `a anastomose foram retirados em monobloco.

FIGURA 2 – SEGMENTO COLORRETAL RESSECADO, COM A ANASTOMOSE AO CENTRO



3.2.8.3 Avaliação do grau de aderências

A intensidade de aderências ao redor da anastomose foi analisada segundo os critérios de VAN der HAMM (1992), conforme descrito a seguir:

- ausente: não ocorreram adesões no sítio de anastomose;
- mínima: adesão apenas do omento, facilmente separável;
- moderada: adesões envolvendo o mesentério adjacente, intestino ou outros órgãos;
- intensa: presença de adesões extensas, incluindo a formação de abscessos peri-anastomóticos.

3.2.9 Estudo da força tênsil de ruptura da anastomose

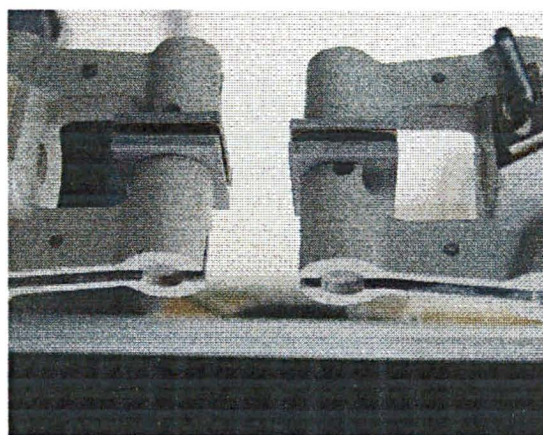
Após a retirada dos espécimes cirúrgicos, estes foram conservados em solução salina isotônica e encaminhados ao laboratório do Instituto de Tecnologia para o Desenvolvimento (LACTEC). Para avaliação da força tênsil, utilizou-se máquina universal de ensaio mecânico computadorizada, da marca Instron, modelo 4467 (Instron, London, UK), com garras de pressão pneumática a uma distância de 15 mm (FIGURA 3).

FIGURA 3 – MÁQUINA UNIVERSAL DE ENSAIO MECÂNICO

1



2

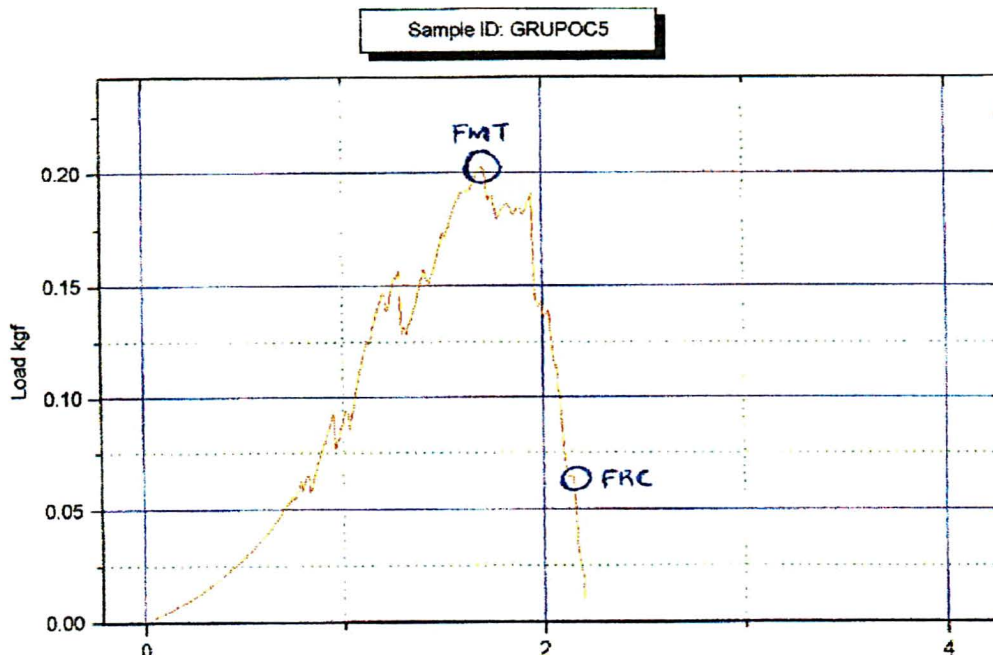


NOTA: 1- painel de controle da máquina de tração
2- garras de pressão pneumática

Após fixação das extremidades da peça cirúrgica, contendo a área de anastomose ao centro, realizou-se a tração individual de cada peça, a velocidade constante de 50 mm/minuto. Para este estudo foi utilizada uma célula de carga para 10 kg, com sensibilidade de 50 gramas e margem de erro de 0,5% do valor obtido.

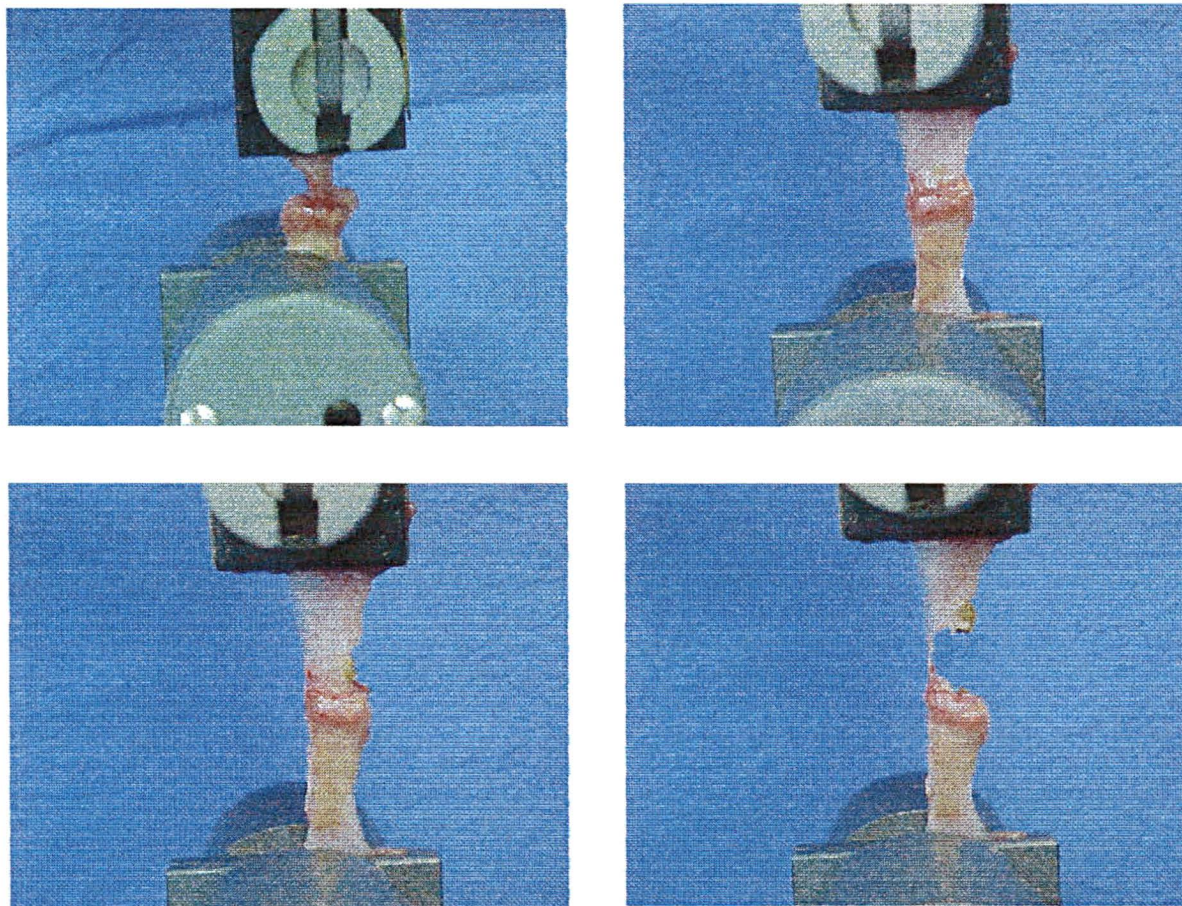
As variáveis avaliadas foram: força máxima de tração (FMT) em Kgf e força de ruptura completa (FRC) em Kgf. A FMT foi registrada em computador (GRÁFICO 1) e identificada como a força necessária para iniciar a ruptura da anastomose, ou seja, a força máxima suportada pela anastomose, mantendo-se íntegra. A FRC correspondeu a força necessária para a ruptura total da anastomose e separação da peça em dois fragmentos distintos. A FIGURA 4 mostra detalhes da ruptura durante a tração do segmento de cólon contendo a anastomose.

GRÁFICO 1 – REPRESENTAÇÃO GRÁFICA REGISTRADA EM COMPUTADOR NO MOMENTO DA TRAÇÃO DA ANASTOMOSE



NOTA – Rato do grupo C5, FMT: força máxima de tração, FRC: força de ruptura completa, Kgf: quilograma-força

FIGURA 4 – MOMENTOS DA TRAÇÃO E RUPTURA DA ANASTOMOSE



3.2.10 Avaliação histológica

A área de ruptura, correspondente a região da anastomose foi amostrada e fixada em formalina à 10%, imediatamente após o teste de tração. Este material foi submetido a processamento histológico rotineiro, confeccionando-se blocos de parafina para microtomia na espessura de 4 μ m, e os cortes foram corados pela técnica de hematoxilina e eosina (HE). A análise dos cortes histológicos foi realizada por patologista em conjunto com o autor, sem o conhecimento prévio do grupo ao qual pertencia o material em estudo. Avaliaram-se, na área de anastomose, os seguintes parâmetros:

- a) Congestão, edema e polimorfonucleares: estes três achados caracterizaram a fase aguda da cicatrização, também considerada como

fase inicial ou inflamatória. A presença destes fatores foi graduada em discreta, moderada ou acentuada, para os quais atribuíram-se valores negativos de -1, -2 e -3 respectivamente. Quando ausente o valor considerado foi zero.

- b) Monomorfonucleares, tecido de granulação e fibrose: estes fatores caracterizaram uma fase mais avançada da cicatrização, determinada pela angiogênese e proliferação fibroblástica. A presença destes fatores foi graduada em discreta, moderada ou acentuada, para os quais atribuíram-se valores positivos de +1, +2 e +3 respectivamente. Quando ausente o valor considerado foi zero.

Após a análise microscópica destes seis fatores e a somatória dos valores correspondentes, dividiram-se as lâminas em três grupos, conforme exemplificado na TABELA 1.

TABELA 1 – DISTRIBUIÇÃO DOS RATOS POR GRUPOS CONFORME ÍNDICE OBTIDO NA AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

Índice final de classificação	Fase da cicatrização
-9 a -3	Aguda
-2,9 a +2,9	Sub-aguda
+3 a +9	Crônica

A somatória dos índices obtidos pelos ratos também permitiu a classificação dos grupos e subgrupos nas fases de cicatrização demonstradas na TABELA 1.

3.2.11 Análise estatística

Calcularam-se os valores médios, desvio-padrão, intervalo de confiança de 95%, bem como valores mínimo e máximo. A comparação dos valores entre os grupos e subgrupos foi realizado pelo teste de Duncan para análise de variância das médias (ANOVA). Os dados de média foram testados pela ANOVA, sendo hipótese nula a de igualdade entre as médias versus a hipótese alternativa de médias diferentes. O nível de significância adotado foi de 5%. Os testes estatísticos foram realizados pelo programa GraphPad InStat 3.1 e StatMet (Califórnia, Estados Unidos da América).

4 RESULTADOS

4.1 ATO OPERATÓRIO E EVOLUÇÃO PÓS-OPERATÓRIA

O ato operatório transcorreu sem complicações. Todos os ratos recuperaram-se bem da anestesia. As avaliações clínicas diárias mostraram recuperação satisfatória, com manutenção do estado geral, presença de atividade física e disposição para alimentação no grupo controle.

Os ratos do grupo experimento, submetidos a doses diárias de 5-FU, apresentaram diarreia a partir do quarto dia de aplicação, persistindo por 24 horas após a interrupção das aplicações no subgrupo E8 e até o momento da morte no subgrupo E5. Esses ratos, após o início da diarreia, apresentaram diminuição da atividade física e indisposição para alimentação, o que provocou perda significativa de peso nestes dois subgrupos (E5 e E8) conforme analisado a seguir.

4.2 AVALIAÇÃO DOS ACHADOS MACROSCÓPICOS

4.2.1 Exame da parede e cavidade abdominal

A cicatrização da parede abdominal ocorreu de forma adequada em todos os ratos, sem sinais clínicos de infecção ou deiscência.

Na avaliação da cavidade abdominal, nenhum rato apresentou sinais de peritonite. Todos apresentaram algum grau de aderência ao nível da anastomose. Na maioria das vezes, a estrutura envolvida foi o omento maior. Observaram-se 4 casos de abscesso localizado, peri-anastomótico, no subgrupo controle avaliado no 5º dia de pós-operatório (C5). Outros 2 casos foram constatados no subgrupo E5 e um caso no subgrupo C8. Não se registrou caso de abscesso perianastomótico no subgrupo E8. Não houve diferença significativa no grau de aderências quando se comparou o grupo que recebeu 5-FU com o grupo controle ($p = 0,4930$).

4.2.2 Peso corporal

A média e o desvio padrão de peso para cada subgrupo foi calculado, conforme demonstrado na TABELA 2. A média de peso inicial foi homogênea para todos os subgrupos, sendo a menor de 212,8g para o subgrupo E8 e a maior de 218,1g para o subgrupo E5. Entretanto, a média de peso no dia da morte variou de 182,7g para o subgrupo E5 a 243,8g para o subgrupo C8.

Observou-se que a amostra foi homogênea entre os grupos para as médias de peso inicial ($p=0,9178$). No momento da morte, entretanto, houve uma diferença significativa no peso do grupo que recebeu 5-FU (perdeu peso) em relação ao grupo controle que ganhou peso. Esta diferença ocorreu tanto para os ratos mortos no quinto dia de pós-operatório ($p=0,0002$), quanto para os mortos no oitavo dia de pós-operatório ($p=0,0057$).

TABELA 2 – MÉDIA E DESVIO PADRÃO (DP) DO PESO DOS RATOS

Subgrupo	Peso inicial \pm DP (g)	Peso final \pm DP (g)
C5	214,3 \pm 18,96	242,4 \pm 19,73
E5	218,1 \pm 21,05	182,7 \pm 24,3
C8	216,5 \pm 15,02	243,8 \pm 12,11
E8	212,8 \pm 16,89	211 \pm 23,31

Nota: g – gramas, DP – desvio padrão

4.3 ESTUDO DA FORÇA TÊNซิล DE RUPTURA

O teste de tração foi realizado em todos os ratos. As rupturas ocorreram sempre ao nível da anastomose. Durante a tração verificou-se a força máxima de tração (FMT) e a força de ruptura completa (FRC).

A maior média para FMT foi observada no subgrupo E8 (0,2266) e a menor no subgrupo E5 (0,1283). No 5º dia de pós-operatório a FMT foi significativamente maior no subgrupo controle em relação ao subgrupo que recebeu 5-FU ($p = 0,0014$). O mesmo não ocorreu no oitavo dia de pós-operatório onde a FMT foi semelhante no subgrupo com e sem 5-FU ($p = 0,8245$).

A FRC não apresentou diferença significativa entre os grupos, quer seja no 5º ($p = 0,9572$) ou 8º ($p = 0,1519$) dia de pós-operatório. A média e o desvio padrão da FMT e FRC para cada subgrupo podem ser observados na TABELA 3.

TABELA 3 – FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO E FORÇA DE RUPTURA COMPLETA: MÉDIA E DESVIO PADRÃO DOS SUBGRUPOS

Subgrupo	FMT (Média ± DP) Kgf	FRC (Média ± DP) Kgf
C5	0,1845 ± 0,028	0,0430 ± 0,014
E5	0,1283 ± 0,019	0,0541 ± 0,020
C8	0,2230 ± 0,036	0,0862 ± 0,062
E8	0,2266 ± 0,069	0,0481 ± 0,032

NOTA: Kgf – quilograma-força, DP – desvio padrão

4.4 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

Os resultados de vários parâmetros da análise histológica são apresentados, comparativamente, para os grupos estudados.

No 5º dia de pós-operatório o subgrupo que recebeu 5-FU apresentou 7 ratos na fase aguda da cicatrização e 3 na fase sub-aguda. Neste grupo o tecido de granulação esteve ausente na maioria das anastomoses (6 casos), foi observado de forma moderada em 3 casos e discreta e 1 caso. Da mesma forma a fibrose ocorreu de forma discreta em 2 casos, moderada em 1 caso e esteve ausente nos demais. Os monomorfonucleares foram observados em 8 ratos de forma discreta e em 2 de forma moderada. Neste grupo predominou a presença de polimorfonucleares, observados de forma acentuada em 5 ratos, moderada em 3 e discreta em 2. A congestão e o edema se fizeram presentes de forma acentuada ou moderada nove vezes.

Já o subgrupo controle sacrificado no quinto dia de pós-operatório apresentou a cicatrização na forma sub-aguda em todos os ratos. A presença de fibrose ocorreu de forma discreta em todos os ratos, sendo que tecido de granulação esteve presente de forma moderada em 5 casos e acentuada em 5 casos. Tanto os PMN quanto os MMN foram encontrados de forma moderada. Neste subgrupo, diminuiu congestão e edema em relação ao subgrupo analisado anteriormente (E5).

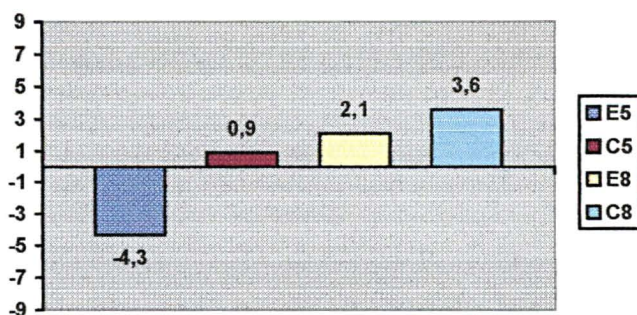
No subgrupo E8, sacrificado no 8º dia de pós-operatório e submetido ao uso de 5-FU, 5 ratos estavam na fase sub-aguda da cicatrização e 5 alcançaram a fase crônica.

Neste grupo a congestão e o edema foram discretos, os monomorfonucleares superaram os polimorfonucleares, com tecido de granulação moderado e fibrose discreta na maioria da vezes.

O subgrupo controle para o oitavo dia de pós-operatório teve todos os seus componentes na fase crônica de cicatrização, com a presença acentuada de tecido de granulação, moderada de fibrose e discreta de congestão, edema e PMN. Os monomorfonucleares foram observados de forma moderada.

Quando comparou-se os subgrupos, do ponto de vista histológico, a diferença entre o grupo que utilizou 5-FU (E) e o grupo controle (C) foi significativa, tanto no 5º dia de pós-operatório ($p = 0,0002$) quanto no 8º dia ($p = 0,0036$). O GRÁFICO 2 demonstra a média alcançada em cada subgrupo.

GRÁFICO 2 – CLASSIFICAÇÃO HISTOLÓGICA DOS SUBGRUPOS



NOTA: -9 a - 3 = aguda, -2,9 a 2,9 = sub-aguda, 3 a 9 = crônica

O subgrupo E5 ficou na fase aguda, enquanto o subgrupo C5 atingiu a fase sub-aguda. No 8º dia de pós-operatório, o subgrupo E8 ficou na fase sub-aguda e o subgrupo C8 atingiu a fase crônica.

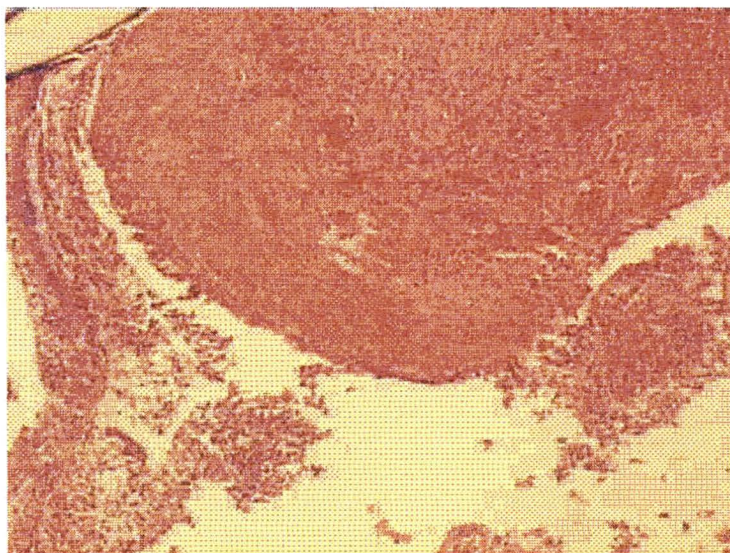
A FIGURAS 5, 6, 7 e 8 demonstram os achados histológicos das anastomoses colônicas.

FIGURA 5 – HISTOLOGIA DA ÁREA DE ANASTOMOSE, EM COLORAÇÃO HE COM AUMENTO DE 10X.



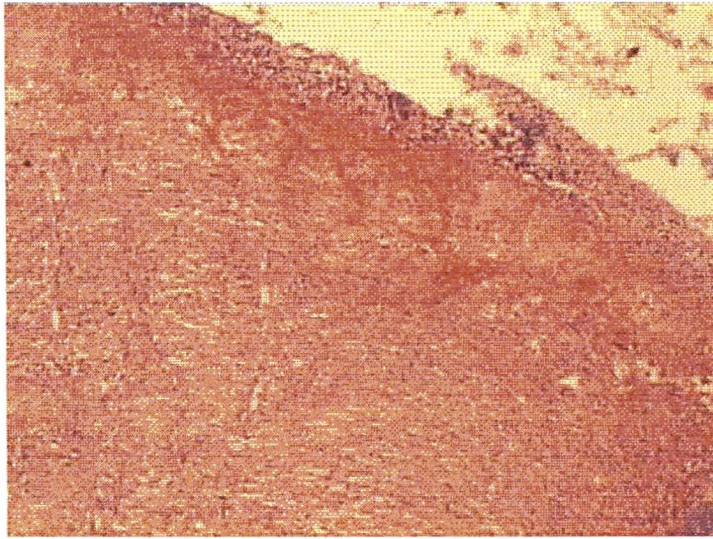
NOTA: Observa-se grande quantidade de neutrófilos na parede intestinal, por baixo da superfície mucosa

FIGURA 6 – HISTOLOGIA DA ÁREA DE ANASTOMOSE, EM COLORAÇÃO HE COM AUMENTO DE 10X



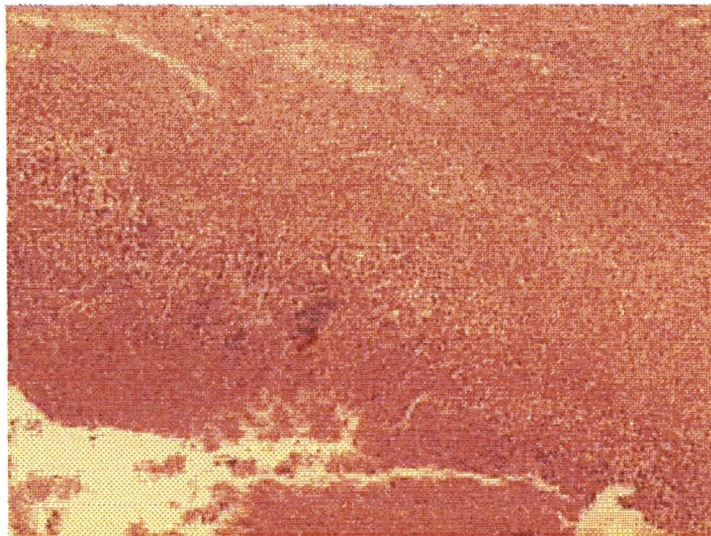
NOTA: Observa-se área ulcerada com neutrófilos em abundância que se destacam da parede por sua friabilidade. Presença de vasos congestos e edema na parede. Faixa espessa de fibrina recobrindo a superfície ulcerada.

FIGURA 7 – HISTOLOGIA DA ÁREA DE ANASTOMOSE, EM COLORAÇÃO HE COM AUMENTO DE 10X



NOTA: Observa-se superfície ulcerada porém com poucos neutrófilos restantes e edema superficial. Na profundidade, presença de tecido de granulação com proliferação vascular e alguns histiócitos.

FIGURA 8 – HISTOLOGIA DA ÁREA DE ANASTOMOSE, EM COLORAÇÃO HE COM AUMENTO DE 10X



NOTA: Observa-se grande quantidade de histiócitos, presença de fibroblastos e colágeno róseo jovem caracterizando área de fibrose recente.

5 DISCUSSÃO

5.1 MODELO EXPERIMENTAL

O rato foi escolhido para o presente estudo por ser resistente, pela grande facilidade na obtenção de animais genética e fisiologicamente semelhantes e similaridade ao homem quanto à composição da microflora intestinal (HERRMANN, WOODWARD e PULASKI, 1964). É também um animal amplamente utilizado em estudos experimentais (HERRMANN, KELLY e HIGGINS, 1970; IRVIN e HUNT, 1974; GOTTRUP, 1980; RAY, DODDI, REGULA, WILLIAMS e MELVEGER, 1981; ASECIO-ARANA e MARTINEZ-SORIANO, 1988; NASSIF, 1995). Justifica-se seu uso também no princípio de se escolher o menor animal possível para a realização do experimento, como um dos princípios de ética na experimentação, com a finalidade de manter reduzidos os níveis de sofrimento animal.

Com relação aos métodos de avaliação da cicatrização em anastomoses intestinais, é assunto até hoje polêmico e repleto de controvérsias, sendo várias as maneiras para análise. Parâmetros clínicos, mecânicos, bioquímicos e histopatológicos são muito empregados atualmente. A anastomose foi realizada em plano único, abrangendo todas as camadas da parede intestinal, com pontos separado e invaginantes, na tentativa de diminuir o grau de aderências perianastomóticas (GUIMARÃES, FERREIRA, APRILLI e CARRIL, 1973).

Segundo FISHER e TURNBULL (1955); FISHER, GUNDUZ e SAFFER (1983), quanto menor o intervalo entre a cirurgia e o início da quimioterapia, tanto maior a sua atuação. O presente estudo procurou iniciar o uso de 5-FU já no pós-operatório imediato para demonstrar os possíveis efeitos sobre a anastomose.

Sabe-se que o 5-FU pode prejudicar a anastomose colônica através de (1) efeitos sistêmicos como anorexia, enterite, desnutrição e anemia; e (2) retardando a produção e função de mediadores celulares do processo de cicatrização, como leucócitos, macrófagos e fibroblastos. Redução no aporte de leucócitos e atividade dos fibroblastos na síntese de colágeno é uma explicação para o atraso na cicatrização da

anastomose (WEIBER, GRAF e GLIMELIUS, 1994). A maioria dos trabalhos publicados previamente mostraram que o 5-FU intraperitoneal prejudicou a cicatrização da anastomose colônica em ratos (GOLDMAN, LOWE e AL-SALEEM, 1969; GRAF, WEIBER, GLIMELIUS, JIBORN, PAHLMAN e ZEDERFELDT, 1992; WEIBER, GRAF e GLIMELIUS, 1994). Porém, alguns estudos não demonstraram influência do 5-FU nas anastomoses colônicas em ratos (HILLAN, NORDLINGER, BALLETT e PUTS, 1988). Esta contradição de resultados pode ser explicada por diferentes protocolos nos estudos (doses diferentes, via e momento de administração do 5-FU).

A dose de 20 mg/kg/dia foi utilizada neste estudo por ser considerada por outros pesquisadores a máxima dose possível, sem causar a morte dos ratos. É uma dose análoga as usadas em humanos (ARBUCK, 1989).

Este estudo limitou-se a avaliar a influência do 5-FU, não associando o ácido folínico por estar amplamente demonstrado em pesquisas anteriores (GRAF, WEIBER, GLIMELIUS, JIBORN, PAHLMAN e ZEDERFELDT, 1992; KANELLOS, KAVOUNI, ZARABOUKAS, OSISSEOS, GALOVATSEA e DADOUKIS, 1996) que o mesmo não influenciou na cicatrização quando usado em conjunto com o 5-fluorouracil.

Com relação ao momento da morte dos ratos e avaliação das anastomoses, estudos anteriores demonstram que até o 3º dia pós-operatório, onde há predomínio da resposta inflamatória aguda, não há tempo suficiente para que os métodos atuais demonstrem diferença entre os grupos com quimioterápico e controle (KANELLOS, KAVOUNI, ZARABOUKAS, ODISSEOS, GALOVATSEA e DADOUKIS, 1996). Não obstante, após o 14º dia de pós-operatório, também ficou demonstrado que as cicatrizações se equivalem nos grupos submetidos ou não ao uso de quimioterápicos. Portanto, o presente estudo optou pelo 5º e 8º dia de pós-operatório, época em que há exuberante fibroplasia, conferindo grande resistência mecânica à anastomose.

5.2 ACHADOS MACROSCÓPICOS

5.2.1 Peso

A avaliação do peso corporal é indicador prático e o mais comumente empregado para avaliação do estado nutricional de animais de experimentação. A variação do peso corporal é bom indicador de alteração do estado nutricional; na avaliação nutricional, a perda ou ganho de ponderal é melhor interpretada quando calculada a variação ponderal cumulativa, que é representada pela diferença entre o peso atual e peso inicial (THORBEEK, 1982). No presente estudo, os animais apresentaram um peso inicial homogêneo. Foram submetidos a mesma oferta de alimentos e água. Entretanto, no momento da morte houve uma diferença significativa no peso entre os grupos, sendo que os animais submetidos ao uso de 5-FU perderam peso enquanto o grupo controle ganhou. Isto ocorreu tanto no 5º quanto no 8º dia de pós-operatório. Além disso, a diminuição da atividade física dos animais no grupo E foi mais um parâmetro clínico que corroborou na análise da influência negativa do 5-FU no estado nutricional dos ratos.

LAW e ELLIS (1990) ao avaliar o efeito da nutrição parenteral sobre a cicatrização de anastomoses colônicas utilizaram-se de modelo de desnutrição protéica. Encontraram diminuição significativa da pressão de ruptura da anastomose nos animais com desnutrição protéica. Desta maneira os autores sugeriram que a nutrição seria fator determinante na cicatrização das anastomoses colônicas. Estudos como os de ROY van ZUIDEWIJN, WOBES, HENDRICKS, KLOMPMAKERS e BOER (1986 e 1991) também sugeriram que as drogas antineoplásicas, ao interferir com o ganho de peso e estado nutricional, podem levar a maior índice de complicações anastomóticas. GRAF, WEIBER, JIBORN, PAHLMAN, GLIMELIUS e ZEDERFELDT (1994), no entanto, ao compararem diversos grupos de ratos submetidos a anastomose colônica sob efeito de 5-FU associado ou não a desnutrição, encontraram resultados que sugerem que o fator nutricional não é o mais importante na deficiência da cicatrização. Outros autores como KUZU, KOSKOY, KALE,

DEMIPRENÇE e RENDA (1998); IRVIN e HUNT (1974) também acreditam que, embora o uso de quimioterápicos induza perda de peso e conseqüente estado nutricional carencial, isto não é fator determinante na cicatrização das anastomoses intestinais. Nos casos em que há desnutrição e uso de quimioterápico, este seria o fator preponderante no déficit da cicatrização das anastomoses.

5.2.2 Avaliação da parede abdominal e grau de aderências

Todos os ratos apresentaram boa evolução pós-operatória, não sendo observado complicações de parede abdominal, como infecção ou deiscência. Na cavidade abdominal, constatou-se a presença de aderências em todos os casos, sendo o omento maior a estrutura envolvida na maioria das vezes. Apesar de caso de abscesso perianastomóticos serem observados, não houve peritonite generalizada ou deiscência de anastomose colônica em nenhum animal. A intensidade das aderências é medida indireta da presença de complicações anastomóticas, como definiram KUZU, KOSKOY, KALE, DEMIPRENÇE e RENDA (1998) e, por conseqüência, também uma medida indireta da cicatrização das anastomoses. Quando ocorre deiscência há vazamento de conteúdo intestinal dentro da cavidade peritoneal. Para a contenção de tal vazamento o organismo responde com bloqueio do local através da migração de estruturas intra-abdominais e formação de aderências. Constatou-se neste trabalho, mediante índice de VAN der HAMM, que o 5-FU não foi fator determinante no grau de aderências perianastomóticas.

5.3 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE CICATRIZAÇÃO DA ANASTOMOSE

Vários parâmetros são utilizados para a análise da cicatrização. Segundo BALLANTYNE (1983 e 1984), a avaliação deve ser realizada com base em três aspectos principais: o teste de resistência mecânica da cicatriz, o processo histológico da cicatrização e a determinação da taxa de colágeno.

A evolução da cicatrização das anastomoses intestinais em animais de laboratório pode ser avaliada mecanicamente em tempos diferentes do período pós-operatório, quer pela resistência que oferecem ao estiramento aplicado perpendicularmente à linha de sutura, até sua ruptura (força de ruptura), quer pela resistência de suas paredes, ao enchimento por gases ou líquidos, até que ocorra explosão, medida pela pressão de explosão ou de ruptura ou pela tensão de explosão.

Este estudo optou pela força de ruptura, por considerar que esta variável avalia a anastomose como um todo, enquanto a pressão de ruptura pode ser influenciada por erros técnicos do cirurgião (IKEUCHI, ONODRA, AUNG, KAN, KAWAMOTO, IAMAMURA e MAETANI, 1999).

5.3.1 Resistência tênsil à força de tração

A força de tração tem sido utilizada cada vez mais frequentemente como parâmetro de aferição de resistência das anastomoses. A maioria dos trabalhos utilizou métodos puramente mecânicos, como é o caso de FARHAT em 1958, STALEY, TRIPPEL e TRESTON em 1961 e HILLAN, NORDLINGER, BALLETT, PUTS e INFANTE em 1998 ou eletromecânicos, como nos trabalhos de NARESSE, LEITE, RODRIGUES, ANGELELI, MINOSSI e KOBAYASHI (1993); NARESSE, LUCCHIARI, ANGELELI, BURINI, RODRIGUES, CURI e KOBAYASHI (1988); NARESEE, MENDES, CURI, LUCCHIARI e KOBAYASHI (1987); VERDESSE (1993), para a obtenção da força de tração. Estas metodologias dificultam a obtenção precisa do momento em que se inicia o processo de ruptura das anastomoses. O método mecânico computadorizado foi utilizado por IKEUCHI, ONODRA, AUNG, KAN, KAWAMOTO, IAMAMURA e MAETANI (1999). Estes autores analisaram a correlação entre a força tênsil de ruptura e a pressão de ruptura. A primeira foi avaliada por meio de tensiômetro (TB 611-T, Nihon Kodan, Tokyo) e a segunda por meio da utilização de uma bomba de infusão (SP-60, Nipro, Tokyo). A partir deste estudo os autores propuseram que a força de tração seria o melhor método para se avaliar a resistência de anastomoses em processo de cicatrização. A precisão dos dados da força tênsil, obtida por meio da utilização de máquina de ensaio mecânico

computadorizado para aferição da força de tração pelo aparelho Instron (modelo 4467), é fator a ser destacado neste trabalho, pela confiabilidade dos resultados.

Ao se analisar os resultados deste estudo, fica evidente no 5º dia de pós-operatório, a influência do 5-FU, ao diminuir a FMT em relação ao grupo controle. No 8º dia de pós-operatório as FMT se igualam nos grupos com e sem 5-FU. Isto demonstrou que 3 dias sem receber 5-FU foi o suficiente para que os ratos recuperassem o poder de cicatrização da anastomose. Outros trabalhos que não encontraram interferência do 5-FU na cicatrização da anastomose intestinal (ASZODI e PONSKI, 1985; HILLAN, NORDLINGER, BALLETT, PUTS e INFANTE, 1988) avaliaram a anastomose após intervalo de vários dias sem o uso de 5-FU. Processo semelhante ocorreu no experimento de HANANEL e GORDON (1995), em que o 5-FU foi administrado em dose semanal sendo a avaliação uma semana após o término da administração da droga, de forma que esta teve pouco efeito prejudicial no processo cicatricial.

A força de ruptura completa, correspondendo ao momento da separação dos segmentos intestinais não se mostrou diferente entre os grupos estudados, pois sua sensibilidade em perceber pequenas diferenças de resistência à tração, como é o caso dos tecidos vivos, é pequena. Esta variável é mais utilizada na avaliação de tecidos ou materiais de alta resistência.

5.3.2 Avaliação histológica

No presente estudo a análise histológica da região de anastomose, conforme metodologia proposta por SOUSA (1994) e OLIVEIRA (1995) demonstrou um retardo no processo de cicatrização nos ratos que foram submetidos ao uso de 5-FU em relação aos ratos do grupo controle. Quando da avaliação no 5º dia de pós-operatório, os ratos do grupo controle apresentaram-se na fase de fibroplasia acentuada, enquanto que os ratos que receberam 5-FU persistiram com características da fase inflamatória, iniciando as características de fibroplasia. No 8º dia de pós-operatório, o grupo controle já apresentava em seus componentes traços de maturação da cicatrização

anastomótica, enquanto os ratos que receberam 5-fluorouracil apresentavam-se em fase de fibroplasia inicial.

Estes achados, somado aos observados na avaliação mecânica da anastomose, demonstraram retardo na cicatrização, provocado pelo 5-fluorouracil. FUMAGALLI, TRABUCHI, SOLIGO, ROSATI, REBUFFAT, TONELLI e MONTORSI (1991) e KANELLOS, KAVOUNI, ZARABOUKAS, ODISSEOS, GALOVATSEA e DADAOUKIS (1996) ao avaliar mitocina e 5-FU respectivamente, encontraram persistência dos achados histológicos de processo inflamatório agudo nos ratos que receberam droga quimioterápica. Propuseram que houve retardo no processo de reparação das anastomoses colônicas com persistência da “fase proliferativa”.

6 CONCLUSÃO

1. No 5º dia de pós-operatório a força máxima de tração é maior no subgrupo controle em relação ao subgrupo que usa 5-fluorouracil.

2. No 8º dia de pós-operatório a força máxima de tração é semelhante entre subgrupos, independente do uso ou não de 5-fluorouracil.

3. O estudo histológico demonstra retardo na processo de cicatrização, tanto no 5º quanto no 8º dia de pós-operatório, nas anastomose colônicas dos ratos submetidos ao uso de 5-fluorouracil, em relação ao grupo controle.

4. O 5-fluorouracil, utilizado por via intraperitoneal, no pós-operatório precoce, prejudica o processo de cicatrização das anastomoses colônicas em ratos, mas não provoca deiscência nas anastomoses estudadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ARBUCK, S. G. Overview of clinical trials using 5-fluorouracil and leucovorin for treatment of colorectal cancer. **Cancer**, v.63, p.1036-1044, 1989.
- 2 ASECIO-ARANA, F; MARTINEZ-SORIANO, F. Stimulation of the healing of experimental colon anastomoses by low-power lasers. **Br. J. Surg.**, v.75, p.125-127, 1988.
- 3 ASZODI, A.; PONSKY, J. L. Effects of 5-fluorouracil on the healing of bowel anastomosis in rats. **Am. Surg.**, v. 51, p. 671-674, 1985.
- 4 BALLANTYNE, G. H. Intestinal suturing: review of the experimental foundations for traditional doctrines. **Dis. Col. Rect.**, v. 26, p. 836-843, 1983.
- 5 BALLANTYNE, G. H. The experimental basis of intestinal suturing: effect of surgical technique, inflammation and infection on enteric wound healing. **Dis. Col. Rect.**, v. 27, p. 61-71, 1984.
- 6 BLOMQUIST, P.; AHONEN, J.; JIBORN, H., ZEDERFELDT, B. The effect of relative bowel rest on healing of colonic anastomoses. **Acta Chir. Scand.**, v. 150, p. 677-681, 1984.
- 7 CARREL, A. The treatment of wounds. **JAMA**, v.55, p.2148-2151, 1910.
- 8 CHU, E.; TAKIMOTO, C. H. Antimetabolites. **In De Vita Cancer Principles e Practice of Oncology**, 4th Edition J. B. Lippincott Company, 1993.
- 9 FAHART, S. M., Effect of mechlorethamine hydrochloride (nitrogen mustard) on healing of abdominal wounds. **Arch. Surg.**, v.76, p.749-753, 1958.
- 10 FISHER, B.; GUNDUZ, N.; SAFFER, E. A. Influence of the interval between primary tumor removal and chemotherapy on kinetics and growth of metastases. **Cancer Resear.**, v. 43, p. 1488-1492, 1983.

- 11 FISHER, E. R., TURNBULL, R. B. The cytological demonstration and significance of tumor cells in the mesenteric venous blood in patients with colorectal cancer. **Surg. Gynecol. Obstet.**, v.100, p.102, 1955.

- 12 FUMAGALLI, U.; TRABUCCHI, E.; SOLIGO, M.; ROSATI, R.; REBUFFAT, C.; TONELLI, C.; MONTORSI, M. Effects of intraperitoneal chemotherapy on anastomotic healing in the rat. **J. Surg. Res.**, v. 50, p. 82-87, 1991.

- 13 GOLDMAN, L. I.; LOWE, S.; AL-SALEEM, T. Effect of fluorouracil on intestinal anastomoses in the rat. **Arch Surg**, v. 98, p. 303-304, 1969.

- 14 GOTTRUP, F. Healing of incisional wounds in stomach and duodenum. A biomechanical study. **Am. J. Surg.**, v.140, p.296-301, 1980.

- 15 GRAF, W.; WEIBER, S.; GLIMELIUS, B.; JIBORN, H.; PAHLMAN, L.; GLIMELIUS, B.; ZEDERFELDT, B. Influence of 5-fluorouracil and folic acid on colonic healing: na experimental study in the rat. **Br. J. Surg.**, v. 79, p. 825-828, 1992.

- 16 GRAF, W.; WEIBER, S.; JIBORN, H.; PAHLMAN, L.; GLIMELIUS, B.; ZEDERFELDT, B. The role of nutritional depletion and drug concentration in 5-fluorouracil-induced inhibition of colonic healing. **J. Surg. Res.**, v.56, p.452-456, 1994.

- 17 GUIMARÃES, A. S.; FERREIRA, A. L.; APRILLI, F.; CARRIL, C. F. Comparação entre anastomoses intestinais em 1 e 2 planos de sutura mediante estudo da rede vascular sangüínea e da cicatrização. Trabalho experimental no intestino delgado do cão. **Rev. Ass. Med. Brasil.**, v.20, p.97-101, 1973.

- 18 HANANEL, N.; GORDON, P. H. Effect of 5-fluorouracil and leucovorin on the integrity of colonic anastomoses in the rat. **Dis. Col. Rec.**, v. 38(8), p. 886-890, 1995.

- 19 HENDRIKS, T.; MARTENS, M. F. W. C.; HUYBEN, C. M. L. C.; WOBES, T. Inhibition of basal and TGF β -induced fibroblast collagen synthesis by antineoplastic agent. Implication for wound healing. **Br. J. Cancer**, v.67, p.545-550, 1993

- 20 HERMANN, J. B.; KELLY, R. J.; HIGGINS, G. A. Polyglycolic acid sutures laboratory and clinical evaluation of a new suture material. **Arch. Surg.**, v.100, p.485-490, 1970.

- 21 HERMANN, J. B.; WOODWARDS, S. C.; PULASKI, E. J. Healing of colonic anastomoses in the rat. **Surg. Gynecol. Obstetr.**, v.119, p.269-275, 1964.
- 22 HILLAN, K.; NORDLINGER, B.; BALLEET, J. P.; PUTS, F.; INFANTE, R. The healing of colonic anastomoses after early intraperitoneal chemotherapy: an experimental study in rats. **J. Surg. Res.**, v. 44, p. 166-171, 1988.
- 23 HOWES, E. L.; SOOY, J. W.; HARVEY, S. C. The healing of wounds determined by their tensile strength. **JAMA**, v.92, p.42-45, 1979.
- 24 IKEUCHI, D.; ONODERA, H.; AUNG, T.; KAN, S.; KAWAMOTO, K.; IAMAMURA, M.; MAETANI, S. Correlation of tensile strength with bursting pressure in the evaluation of intestinal anastomosis. **Dig. Surg.**, v. 16, p. 478-485, 1999.
- 25 IRVIN, T. T.; HUNT, T.K. Effect of malnutrition on colonic healing. **Ann. Surg.**, v.180, p.765-772, 1974.
- 26 KANELLOS, I.; KAVOUNI, A.; ZARABOUKAS, T.; ODISSEOS, C; GALOVATSEA, K.; DADOUKIS, I. Influence of intraperitoneal 5-fluorouracil plus folinic acid on the healing of colonic anastomoses in rats. **Eur. Sur. Res.**, v. 28, p 374-379, 1996.
- 27 KUZU, M. A.; KÖKSOY, C.; KALE, T.; DEMIRPENÇE, E.; RENDA, N. Experimental study of the effect of preoperative 5-fluorouracil on the integrity of colonic anastomoses. **Br. J. Surg.**, v. 85, p. 236-239, 1998.
- 28 LAW, N. W.; ELLIS, H. The effect of parenteral nutrition on the healing of abdominal wall wounds and colonic anastomoses in protein-malnourished rats. **Surgery**, v.107, p.449-454, 1990
- 29 LI, M. C.; ROSS, S. T. Chemoprophylaxis for patients with colorectal cancer: prospective study with five year follow up. **JAMA**, v. 238, p. 2825-2828, 1976.
- 30 MAMOUNAS, E.; WIEAND, S.; WOLMARK, N. Comparative efficacy of adjuvant chemotherapy in patients with Dukes' B versus Dukes' C colon cancer: results from four National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project adjuvant studies (C-01, C-02, C-03 and C-04). **J. Clin. Oncol.**, v. 17(5), p. 1349-1355, 1999.

- 31 MEDUGORAC, I. Collagen content in different areas of normal and hypertrophied rat myocardium. **Cardiovasc. Res.**, v.14, p.551-554, 1980.
- 32 MEGUID, M. M.; CAMPOS, A. C. L. Surgical management of gastrointestinal fistulas. **Surg. Clin. North Am.**, vol.76, p.1019-1022, 1996.
- 33 MORTEL, C. G.; FLEMING, J. R.; HALLER, D. G.; LAURIE, J. A. Levamisole and fluorouracil for adjuvant therapy of resected colon carcinoma. **N. Engl. J. Med.**, vol.8, p.352-358, 1990.
- 34 NARESSE, L. E.; LEITE, C. V. S.; RODRIGUES, M. A. M.; ANGELELI, A. Y. O.; MINOSSI, J. G.; KOBAYASHI, S. Efeito da peritonite fecal na cicatrização do cólon distal do rato. Avaliação anátomo-patológica, estudo da força de ruptura e da hidroxiprolina tecidual. **Acta Cir. Bras.**, v.8, p.48-53, 1993.
- 35 NARESSE, L. E.; LUCCHIARI, P. H.; ANGELELI, A. Y. O.; BURINI, R. C.; RODRIGUES, M. A. M.; CURI, P. R.; KOBAYASHI, S. Estudo comparativo da anastomose no intestino delgado de cão. Estudo da força de ruptura, hidroxiprolina tecidual e anátomo-patológico. **Acta Cir. Bras.**, v.3, p.106-112, 1988.
- 36 NARESSE, L. E.; MENDES, E. F.; CURI, P. R.; LUCCHIARI, P. H.; KOBAYASHI, S. Aparelho para medida da força de ruptura das anastomoses intestinais. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo**, v. 42, p. 204-208, 1987.
- 37 NASSIF, P. A. N. **Estudo experimental das alterações causadas pela bile humana, cálculos biliares humanos e grampos de titânio na cavidade peritoneal de ratos.** Curitiba, 1995. Tese (Mestrado-Clinica Cirúrgica), Universidade Federal do Paraná.
- 38 OLIVEIRA, P. G. **Efeito da peritonite por *Cândida albicans* na cicatrização de anastomoses colônicas: estudo experimental em ratos.** Ribeirão Preto, 1995, 119 f. Tese (Doutorado) Faculdade Médica de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- 39 RAY, J. A.; DODDI, N.; REGULA, D. WILLIAMS, J. A.; MELVEGER, A. Polydioxanone (PDS), a novel monofilament sythetic absorbable suture. **Surg. Gynecol. & Obstet.**, v.153, p.497-507, 1981.
- 40 ROY van ZUIDEWIJN, D. B. W. de; WOBBS, T.; HENDRICKS, T.; KLONPMMAKERS, A. A.; BOER, H. H. M. The effect of antineoplastic agents on the healing of small intestinal anastomoses in the rat. **Cancer**, v.58, p. 62-66, 1986.

- 41 ROY van ZUIDEWIJN, D. B. W. de; WOBES, T.; HENDRICKS, T.; KLOMPMAKERS, A. A.; BOER, H. H. M. Intraperitoneal cytostatics impair healing of experimental intestinal anastomoses. **Br. J. Cancer**, v.63, p.937-941, 1991.
- 42 SOUSA, J. B. **Evolução da cicatrização de anastomoses colônicas sob a ação do diclofenaco sódico administrado no período perioperatório**: estudo experimental em coelhos. Ribeirão Preto, 1994. 95 f. Tese (Doutorado) Faculdade Médica de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- 43 SPEYER, J. L.; COLLINS, J. M.; DEDRICH, R. L. Phase I and pharmacologic studies of intraperitoneal 5-fluorouracil. **Cancer Res.**, v. 40, p. 567-572, 1980.
- 44 STAGEMANN, H.; STALDER, K. Determination of hydroxyproline. **Acta Clin. Chim.**, v.18, p.267-273, 1967.
- 45 STALEY, C. J.; TRIPPEL, O. H.; TRESTON, F. W. Influence of 5-fluorouracil on wound healing. **Surgery**, v. 49, p. 450-453, 1961.
- 46 STOOP, M. J.; DIRKSEN, R.; WOBES, T.; HENDRIKS, T. Effects of early postoperative 5-fluorouracil and ageing on the healing capacity of experimental intestinal anastomoses. **Br. J. Surg.**, v. 85, p. 1535-1538, 1998.
- 47 THORBEK, G. Studies on growth, nitrogen and energy metabolism in rats. **Arch. Tierernähr.**, v.32, p.827, 1982.
- 48 VAN der HAMM, A.; KORT, W.; VEIJMA, I. Effect of antibiotics in fibrin sealant on healing colonic anastomoses in the rat. **British Journal Surgery**, v. 79, p. 525-528, 1992.
- 49 VERDESSE, L. R. M. **Estudo biomecânico do intestino delgado e cólon de ratos na peritonite fecal, associada ao diclofenaco de sódio**. Botucatu, 1993. 114 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade Médica de Botucatu, Universidade de São Paulo.
- 50 WAARD, J. W. de; MAN, B. M.; WOBES, T.; LINDEN, C. J. van der; HENDRIKS, T. Inhibition of fibroblast collagen synthesis and proliferation by levamisole and 5-fluorouracil. **Eur. J. Cancer**, v. 34, p. 162-167, 1998.

- 51 WEIBER, S.; GRAF, W.; GLIMELIUS, B. Experimental colonic healing in relation to timing of 5-fluorouracil therapy. **British Journal Surgery**, v. 81, p. 1677-1680, 1994.
- 52 WEIBER, S.; GRAF, W.; GLIMELIUS, B. The effect of 5-fluorouracil on wound healing and collagen synthesis in left colon anastomoses. An experimental study in rats. **Eur. Sur. Res.**, v. 26, p. 173-178, 1994.
- 53 WOLMARK, N.; ROCKETTE, H.; MAMOUNAS, E. Clinical trial to assess the relative efficacy of fluorouracil and leucovorin, fluorouracil and levamisole and fluorouracil, leucovorin and levamisole in patients with Dukes' B and C carcinoma of the colon: results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project C-04. **J. Clin. Oncol.**, v. 17(11), p. 3553-3559, 1999.
- 54 ZUIDEWIJN, D. B. W. R. van de; WOBBER, T.; HENDRIKS, T.; KLOMPMARKERS, A. A.; BOER, H. H. M. The effect of antineoplastic agents on the healing of small intestinal anastomoses in the rat. **Cancer**, v. 58, p. 62-66, 1986.

OBRAS CONSULTADAS

- 55 INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMECLATURE, **Nomina anatomica veterinaria**. Ithaca, World Association of Veterinary Anatomists, 1983, 216p.
- 56 UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, SISTEMA DE BIBLIOTECAS. **Normas para Apresentação de Documentos Científicos**: gráficos, 10. Curitiba, 2000.
- 57 UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, SISTEMA DE BIBLIOTECAS. **Normas para Apresentação de Documentos Científicos**: tabelas, 9. Curitiba, 2000.
- 58 UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, SISTEMA DE BIBLIOTECAS. **Normas para Apresentação de Documentos Científicos**: teses, dissertações, monografias e trabalhos acadêmicos, 2. Curitiba, 2000.
- 59 UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, SISTEMA DE BIBLIOTECAS. **Normas para Apresentação de Documentos Científicos**: redação e editoração, 8. Curitiba, 2000.
- 60 UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, SISTEMA DE BIBLIOTECAS. **Normas para Apresentação de Documentos Científicos**: referências, 6. Curitiba, 2001.

ANEXOS

TABELA ANEXO 1: CLASSIFICAÇÃO HISTOLÓGICA DOS RATOS DO GRUPO CONTROLE MORTOS NO QUINTO DIA DE PÓS-OPERATÓRIO (C5).

RATO	CONGEST.	EDEMA	PMN	MMN	TEC. GRAN	FIBROSE	SOMA
C5 1	-1	-1	-2	2	2	1	1
C5 2	-2	-1	-2	2	2	1	0
C5 3	-2	-1	-2	2	2	1	0
C5 4	-1	-1	-2	2	2	1	1
C5 5	-2	-1	-2	2	3	1	1
C5 6	-1	-1	-2	2	3	1	2
C5 7	-2	-2	-2	2	3	1	0
C5 8	-1	-1	-2	2	2	1	1
C5 9	-1	-1	-2	2	3	1	2
C5 10	-2	-1	-2	2	3	1	1

Nota: congest.- congestão, PMN- polimorfonucleares, MMN- monomorfonucleares, Tec. Gran.- tecido de granulação.

TABELA ANEXO 2: CLASSIFICAÇÃO HISTOLÓGICA DOS RATOS DO GRUPO EXPERIMENTO MORTOS NO QUINTO DIA DE PÓS-OPERATÓRIO (E5).

RATO	CONGEST.	EDEMA	PMN	MMN	TEC. GRAN	FIBROSE	SOMA
E5 1	-2	-2	-2	2	2	1	-1
E5 2	-3	-2	-3	1	0	0	-5
E5 3	-3	-3	-3	1	1	0	-7
E5 4	-3	-2	-1	2	2	2	0
E5 5	-2	-2	-2	1	0	0	-5
E5 6	-2	-2	-3	1	0	0	-6
E5 7	-2	-2	-3	1	0	0	-6
E5 8	-2	-3	-3	1	0	0	-7
E5 9	-1	-1	-1	1	2	1	1
E5 10	-3	-3	-2	1	0	0	-7

Nota: congest.- congestão, PMN- polimorfonucleares, MMN- monomorfonucleares, Tec. Gran.- tecido de granulação.

TABELA ANEXO 3: CLASSIFICAÇÃO HISTOLÓGICA DOS RATOS DO GRUPO EXPERIMENTO MORTOS NO OITAVO DIA DE PÓS-OPERATÓRIO (E8)

RATO	CONGEST.	EDEMA	PMN	MMN	TEC. GRAN	FIBROSE	SOMA
E8 1	-1	-3	-1	3	1	1	0
E8 2	-1	-1	-2	2	3	1	2
E8 3	-1	-1	-2	2	2	1	1
E8 4	-1	0	-1	1	2	0	1
E8 5	-1	-1	-2	2	3	2	3
E8 6	-1	-1	-1	2	3	2	4
E8 7	-1	-1	-1	2	3	1	3
E8 8	-1	-1	-1	2	3	2	4
E8 9	-1	-1	-3	2	2	1	-1
E8 10	-1	-1	-1	2	3	2	4

Nota: Congest.- congestão, PMN- polimorfonucleares, MMN- monomorfonucleares, Tec. Gran.- tecido de granulação

TABELA ANEXO 4: CLASSIFICAÇÃO HISTOLÓGICA DOS RATOS DO GRUPO CONTROLE MORTOS NO OITAVO DIA DE PÓS-OPERATÓRIO (C8)

RATO	CONGEST	EDEMA	PMN	MMN	TEC. GRAN	FIBROSE	SOMA
C8 1	1	0	1	2	3	1	4
C8 2	1	0	1	2	3	1	4
C8 3	1	1	1	2	3	2	4
C8 4	1	1	1	2	3	2	4
C8 5	1	1	2	2	3	2	3
C8 6	1	1	2	2	3	2	3
C8 7	1	1	1	2	3	2	4
C8 8	2	1	1	2	3	2	3
C8 9	1	1	1	2	3	1	3
C8 10	1	1	1	2	3	2	4

Nota: Congest.- congestão, PMN: polimorfonucleares, MMN- monomorfonucleares, Tec. Gran.- tecido de granulação