

MARCELO FERREIRA

**RADIOTERAPIA PRÉ E PÓS-OPERATÓRIA NA
CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES COLÔNICAS EM RATOS
AVALIADA MEDIANTE ESTUDO TENSIOMÉTRICO,
HISTOLÓGICO E DA MORFOMETRIA DO COLÁGENO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Clínica Cirúrgica .

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos

Coordenador: Prof. Dr. Jorge Eduardo F. Matias

CURITIBA

2004

A Deus, por me capacitar e permitir que eu me tornasse médico.

Aos meus pais, pelo encorajamento, educação, incentivo constante e apoio incondicional para que eu pudesse chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

A elaboração deste trabalho só se tornou possível devido a colaboração de inúmeras pessoas. Nomear a todos seria impossível. No entanto, gostaria de registrar aquelas pessoas e/ou instituições que estiveram mais diretamente vinculadas à realização desta dissertação, aos quais agradeço:

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos, Professor Titular do Departamento de Cirurgia e Vice-Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, orientador desta dissertação, pela fundamental participação e dedicação; o que tornou possível a realização do trabalho e pela importante contribuição na minha formação profissional e acadêmica.

Aos acadêmicos de Medicina da Universidade Federal do Paraná: Thiago Campos Costa e Alexandre César Dall' Pizzol, pelo importante auxílio durante a fase experimental.

Ao Dr. Sérgio Ossamu Ioshii e à Dr^a Maria Fernanda Bertolozzi Soares, patologistas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pela contribuição na avaliação de parte dos estudos histológicos deste trabalho.

Ao acadêmico Paulo Roberto Benites Filho e à Dr^a Teresa Maria da Silva Figueiredo, pela participação na avaliação da densitometria do colágeno da presente dissertação.

À Sr^a Salete do Carmo Pelanda, pelo apoio na avaliação estatística dos dados do presente trabalho.

Aos médicos dos Departamentos de Cirurgia Geral e Oncologia do Hospital Nossa Senhora das Graças, pela amizade, incentivo e ensinamentos recebidos durante minha formação profissional.

Ao Laboratório de Pesquisa em Cirurgia Experimental da Universidade Federal do Paraná e ao técnico Elson Dias de França, pela colaboração durante a fase experimental do trabalho.

Ao Biotério do setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, na pessoa do Sr. Cândido pela colaboração no fornecimento dos animais.

Às funcionárias do programa de pós-graduação Edilaine Araújo dos Santos e Regina Sass Marques pelo auxílio logístico na elaboração deste trabalho.

Às amigas e colegas Paula Suzin Trubian, Carolina Gomes e Anne Groth pelas contribuições em várias fases deste trabalho.

Ao Dr. Ademar Cezar Volpi, colega e amigo, pelo grande auxílio e dedicação na fase final deste trabalho.

À Universidade Federal do Paraná, pela oportunidade de realizar meus cursos de graduação e de pós-graduação.

À CAPES, pela concessão da bolsa e pelo incentivo à pesquisa em nosso país.

De tudo ficam três coisas:

*A certeza de que estamos sempre começando,
A certeza de que é preciso continuar e
A certeza de que podemos ser interrompidos antes de terminarmos.
Fazer da interrupção um novo caminho,
Da queda um passo de dança,
Do medo uma escada,
Do sonho uma ponte,
Da procura um encontro."
(Fernando Sabino)*

SUMÁRIO

	LISTA DE GRÁFICOS.....	ix
	LISTA DE TABELAS	x
	LISTA DE FIGURAS.....	xii
	LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	xiv
	RESUMO.....	xvi
	ABSTRACT.....	xvii
1	INTRODUÇÃO.....	2
1.1	OBJETIVO.....	5
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	7
2.1	CICATRIZAÇÃO DAS FERIDAS CIRÚRGICAS.....	7
2.1.1	Cicatrização das Suturas Gastrointestinais.....	8
2.1.2	Importância do Colágeno na Cicatrização das Suturas Gastrointestinais.....	9
2.2	MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES INTESTINAIS.....	11
2.2.1	Parâmetros Clínicos.....	11
2.2.1.1	Peso.....	12
2.2.1.2	Mortalidade.....	14
2.2.1.3	Aderências intra-abdominais.....	14
2.2.2	Métodos Mecânicos.....	15
2.2.2.1	Pressão de ruptura.....	16
2.2.2.2	Força tênsil de ruptura.....	17
2.2.3	Métodos Histológicos.....	19
2.3	A RADIOTERAPIA.....	22
2.3.1	Características Físicas e Biológicas da Radioterapia.....	22
2.3.2	Efeitos da Radioterapia Sobre a Cicatrização Tecidual.....	26
2.3.3	Efeitos da Radioterapia Sobre a Cicatrização de Anastomoses Colônicas....	28

3	MATERIAL E MÉTODO	35
3.1	MATERIAL	35
3.1.1	Animais.....	35
3.1.2	Radioterapia.....	36
3.2	MÉTODO	37
3.2.1	Grupos de Estudo.....	37
3.2.2	Técnica de Radioterapia.....	38
3.2.3	Procedimento Cirúrgico.....	42
3.2.4	Pós-Operatório.....	47
3.2.5	Morte dos Animais.....	47
3.2.6	Dados Avaliados.....	49
3.2.6.1	Peso.....	49
3.2.6.2	Mortalidade.....	49
3.2.6.3	Aderências intra-abdominais.....	49
3.2.6.4	Força tênsil de ruptura da anastomose colônica.....	51
3.2.6.5	Avaliação histológica.....	54
3.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	61
4	RESULTADOS	63
4.1	PESO	63
4.1.1	Variação de Peso.....	65
4.2	DOSIMETRIA	66
4.3	ADERÊNCIAS INTRA-ABDOMINAIS	66
4.4	FORÇA TÊNSIL DE RUPTURA	68
4.5	AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA	70
4.5.1	Coloração de Hematoxilina-Eosina.....	70
4.5.2	Densitometria do Colágeno.....	77

5	DISCUSSÃO	83
5.1	MODELO EXPERIMENTAL.....	83
5.2	UTILIZAÇÃO DA RADIOTERAPIA.....	86
5.3	AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES INTESTINAIS.....	88
5.4	FORÇA TÊNซิล DE RUPTURA.....	93
5.5	AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA.....	97
6	CONCLUSÕES	104
	REFERÊNCIAS	106
	ANEXO	117

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1	MÉDIA DA DIFERENÇA DE PESO ENTRE OS GRUPOS.....	65
GRÁFICO 2	COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DE FORÇA MÁXIMA DE TRACÇÃO ENTRE OS GRUPOS DE ESTUDO.....	69
GRÁFICO 3	COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DE FORÇA DE RUPTURA TOTAL ENTRE OS GRUPOS DE ESTUDO.....	70
GRÁFICO 4	COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO PERCENTUAL DE NEUTRÓFILOS.....	72
GRÁFICO 5	COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO PERCENTUAL DE EDEMA.....	73
GRÁFICO 6	COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO PERCENTUAL DE CONGESTÃO.....	73
GRÁFICO 7	COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO PERCENTUAL DE COLÁGENO TIPO I.....	79
GRÁFICO 8	COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO PERCENTUAL DE COLÁGENO TIPO III.....	80
GRÁFICO 9	COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO IMaC.....	81

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO PESO INICIAL E PESO FINAL INTRA-GRUPOS (C, RPRE E RPOS) NO 4º E NO 8º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO.....	64
TABELA 2	COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO PESO INICIAL E PESO FINAL INTER-GRUPOS (C, RPRE E RPOS) NO 4º E NO 8º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO.....	64
TABELA 3	COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DA DOSIMETRIA INTRA-GRUPOS (RPRE E RPOS).....	66
TABELA 4	COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DA DOSIMETRIA INTER-GRUPOS (RPRE E RPOS).....	66
TABELA 5	COMPARAÇÃO DOS ÍNDICES DE ADERÊNCIA INTRA-ABDOMINAIS INTRA-GRUPOS (C, RPRE E RPOS).....	67
TABELA 6	COMPARAÇÃO DOS ÍNDICES DE ADERÊNCIA INTRA-ABDOMINAIS INTER-GRUPOS (C, RPRE E RPOS).....	67
TABELA 7	COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DA FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO (FMT) E FORÇA DE RUPTURA TOTAL (FRT) INTRA-GRUPOS (C, RPRE E RPOS).....	68
TABELA 8	COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DA FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO (FMT) E FORÇA DE RUPTURA TOTAL (FRT) INTER-GRUPOS C, RPRE E RPOS.....	69
TABELA 9	COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DOS ÍNDICES HISTOLÓGICOS (HE), NEUTRÓFILOS, EDEMA E CONGESTÃO INTRA-GRUPOS (C, RPRE E RPOS).....	71
TABELA 10	COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DOS ÍNDICES HISTOLÓGICOS (HE), NEUTRÓFILOS, EDEMA E CONGESTÃO INTER-GRUPOS (C, RPRE E RPOS).....	71
TABELA 11	COMPARAÇÃO DOS ÍNDICES HISTOLÓGICOS (HE), INFILTRADO MONOMORFONUCLEAR (MMN) E HEMORRAGIA INTRA-GRUPOS (C, RPRE E RPOS).....	74
TABELA 12	COMPARAÇÃO DOS ÍNDICES HISTOLÓGICOS (HE), INFILTRADO MONOMORFONUCLEAR (MMN) E HEMORRAGIA INTER-GRUPOS (C, RPRE E RPOS).....	75

TABELA 13	COMPARAÇÃO ENTRE A PRESENÇA DOS ÍNDICES HISTOLÓGICOS (HE), TECIDO DE GRANULAÇÃO (TEC.GRAN.), ULCERAÇÃO EPITELIAL (ULC. EP.) E ATIPIAS, NO 4º E NO 8º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO INTRA-GRUPOS (C, RPRE E RPOS).....	76
TABELA 14	COMPARAÇÃO ENTRE A PRESENÇA DOS ÍNDICES HISTOLÓGICOS (HE), TECIDO DE GRANULAÇÃO (TEC.GRAN.), ULCERAÇÃO EPITELIAL (ULC. EP.) E ATIPIAS, NO 4º E NO 8º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO INTER-GRUPOS (C, RPRE E RPOS).....	76
TABELA 15	COMPARAÇÃO ENTRE A PRESENÇA DOS ÍNDICES HISTOLÓGICOS (HE), TECIDO DE GRANULAÇÃO (TEC.GRAN.), ULCERAÇÃO EPITELIAL (ULC. EP.) E ATIPIAS, INTER-GRUPOS, NO 8º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO.....	77
TABELA 16	COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO PERCENTUAL DE COLÁGENOS TIPO I, III E ÍNDICE DE MATURAÇÃO DO COLÁGENO (IMaC) INTRA-GRUPOS C, RPRE E RPOS NO 4º E NO 8º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO.....	78
TABELA 17	COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO PERCENTUAL DE COLÁGENOS TIPO I, III E ÍNDICE DE MATURAÇÃO DO COLÁGENO (IMaC) INTER-GRUPOS C, RPRE E RPOS NO 4º E NO 8º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO.....	78

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	ANIMAIS DISPOSTOS EM SUAS GAIOLAS NO LABORATÓRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA DA UFPR.....	36
FIGURA 2	CONTROLE EXTERNO DO APARELHO DE TELECOBALTOTERAPIA.....	36
FIGURA 3	VISTA FRONTAL E PERFIL DO APARELHO DE TELECOBALTOTERAPIA THERATRON® 780C.....	37
FIGURA 4	POSIÇÃO DOS ANIMAIS NO APARATO PARA A REALIZAÇÃO DA RADIOTERAPIA.....	39
FIGURA 5	SIMULAÇÃO COM RADIOGRAFIA PARA AVALIAÇÃO DO CAMPO IRRADIADO.....	41
FIGURA 6	POSIÇÃO DO APARATO DE FIXAÇÃO NO APARELHO DE TELECOBALTOTERAPIA.....	42
FIGURA 7	ÁREA DE IRRADIAÇÃO ABDOMINAL.....	42
FIGURA 8	FIXAÇÃO DO CECO NO QUADRANTE SÚPERO-DIREITO.....	44
FIGURA 9	FIXAÇÃO DO CECO NO QUADRANTE ÍNFERO-ESQUERDO....	44
FIGURA 10	IMPLANTE DO DOSÍMETRO.....	45
FIGURA 11	ASPECTO DO CÓLON APÓS REALIZAÇÃO DAS ANASTOMOSES PROXIMAL (A) E DISTAL (B).....	46
FIGURA 12	ANASTOMOSES COLÔNICAS FIXADAS NO QUADRANTE ÍNFERO-ESQUERDO.....	46
FIGURA 13	ASPECTO FINAL DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO COM IMPLANTE DO DOSÍMETRO.....	47
FIGURA 14	SEGMENTO COLÔNICO CONTENDO A ANASTOMOSE EM SUA POSIÇÃO MÉDIA.....	48
FIGURA 15	EXEMPLO DE ADERÊNCIAS INTRA-ABDOMINAL.....	50
FIGURA 16	MÁQUINA DE ENSAIO MECÂNICO COMPUTADORIZADA....	51

FIGURA 17	SEQUÊNCIA DEMONSTRANDO ESTUDO DA TRAÇÃO EM CORPOS DE PROVA CONTENDO A ANASTOMOSE COLÔNICA.....	52
FIGURA 18	GRÁFICO DEMONSTRANDO A EVOLUÇÃO DA FORÇA DE RUPTURA DURANTE O ENSAIO MECÂNICO.....	53
FIGURA 19	EXEMPLO DE INFILTRADO NEUTROFÍLICO (H.E., 40X).....	55
FIGURA 20	EXEMPLO DE EDEMA DA SUBMUCOSA ASSOCIADO A LINFANGIECTASIA (H.E.,40X).....	56
FIGURA 21	EXEMPLO DE CONGESTÃO VASCULAR (H.E., 40X).....	56
FIGURA 22	EXEMPLO DE INFILTRADO MONOMORFONUCLEAR (H.E., 100X).....	57
FIGURA 23	EXEMPLO DE TECIDO DE GRANULAÇÃO (H.E., 40X).....	57
FIGURA 24	EXEMPLO DE HEMORRAGIA (H.E., 40X).....	58
FIGURA 25	EXEMPLO DE ULCERAÇÃO EPITELIAL (H.E., 40X).....	58
FIGURA 26	EXEMPLO DE ATIPIAS REGENERATIVAS (H.E., 200X).....	59
FIGURA 27	EXEMPLO DE FOTOMICROGRAFIA (40X) CORADA POR PICROSÍRIUS-RED ANTES E DEPOIS DA POLARIZAÇÃO DA LUZ.....	60
FIGURA 28	DEMONSTRAÇÃO DO APLICATIVO IMAGE PRO PLUS VERSÃO 4.5 NA ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO COLÁGENO.	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

5-FU	- 5-Fluorouracil
C	- Grupo controle
C4	- Subgrupo controle morto no quarto dia de pós-operatório
C8	- Subgrupo controle morto no oitavo dia de pós-operatório
cGy	- centigray
cm	- Centímetro
CMI	- Collagen maturation index
d	- Dia
DNA	- Ácido Desoxirribonucléico
EP	- Erro-padrão
EUA	- Estados Unidos da América
et al	- e colaboradores
FMT	- Força Máxima de Tração
FRT	- Força de Ruptura Total
g	- Grama
Gy	- Gray
HE	- Hematoxilina-Eosina
GH	- Hormônio de Crescimento
IMaC	- Índice de maturação do colágeno
INMETRO	- Instituto Nacional de Metrologia
IPARDES	- Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social
Kcal	- Kilocalorias
Kg	- Kilograma
Kgf	- Kilograma-força
KW	- Teste de Kruskal-Wallis
M	- Média
MDFI	- Média das diferenças entre peso final e peso inicial
MAC	- Mínima Concentração Anestésica
mg	- Miligrama

mm	- Milímetro
MMN	- Monomorfonuclear
MTS	- Maximal tensil strength
µm	- Micrômetro
n	- Tamanho da amostra
n°	- Número
p	- Nível de significância estatística
PO	- Pós-operatório
PMN	-Polimorfonuclear
RTMI	- Resistência Mínima à Tração
RPRE	- Grupo radioterapia pré-operatória
RPRE4	- Subgrupo radioterapia pré-operatória morto no quarto dia de pós-operatório
RPRE8	- Subgrupo radioterapia pré-operatória morto no oitavo dia de pós-operatório
RPOS	- Grupo radioterapia pós-operatória
RPOS4	- Subgrupo radioterapia pós-operatória morto no quarto dia de pós-operatório
RPOS8	- Subgrupo radioterapia pós-operatória morto no oitavo dia de pós-operatório
RTS	- Rupture tensil strength
t	- Teste t de Student
T	- Tensão
UK	- Reino Unido
° C	- Graus Celsius
=	- Igual a
±	- Mais ou menos
®	- Marca registrada
<	- Menor que
>	- Maior que
%	- Porcentagem

RESUMO

Introdução: A radioterapia é frequentemente utilizada como terapia neo-adjuvante ou adjuvante para tratamento de pacientes com câncer colo-retal e está associada a alterações do processo cicatricial, podendo comprometer a integridade das anastomoses intestinais. O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da radioterapia na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos. **Material e Método:** Foram utilizados 60 ratos *Wistar* machos, adultos, com peso variando de 264 a 310g, divididos em 3 grupos: controle (C), radioterapia pré-operatória (RPRE) e radioterapia pós-operatória (RPOS) e subdivididos em 4 e 8 dias, de acordo com o dia de morte do animal. Todos os animais do estudo foram submetidos a um procedimento cirúrgico inicial para fixação do ceco e cólon esquerdo e implante de um dosímetro. O esquema de irradiação empregado foi de dose única de 20 Gy no quadrante ínfero-esquerdo dos animais, local no qual o cólon foi fixado previamente. Duas anastomoses colônicas foram realizadas. No quarto, bem como no oitavo dia de pós-operatório metade dos animais de cada grupo foi morta e as anastomoses foram encaminhadas para estudos de resistência à tração, medida através da força máxima de tração (FMT) e força de ruptura total (FRT), e histológico (HE e densitometria do Colágeno). Os resultados da determinação do percentual de colágeno foram expressos mediante o IMAc (índice de maturação do colágeno). Foram avaliados também os parâmetros clínicos: variação de peso e índice de aderências intra-abdominais. A análise estatística incluiu os testes t de Student, Kruskal Wallis, Qui-quadrado e probabilidade exata de Fisher e para todos os testes o nível de significância adotado foi $p < 0,05$. **Resultados:** Os animais submetidos à radioterapia tiveram maior perda de peso e maior índice de aderências intra-abdominais quando comparados ao grupo controle. Com relação à força tênsil observou-se que a FMT foi significativamente maior para o subgrupo C8 em relação aos subgrupos C4 ($p=0,0002$), RPRE8 ($p=0,002$) e RPOS8 ($p=0,002$). Na análise da FRT, a média foi estatisticamente maior no subgrupo C8 em comparação com os subgrupos C4 ($p=0,0002$), RPRE8 ($p=0,003$) e RPOS8 ($p=0,002$). Da mesma forma, a FRT foi estatisticamente maior no subgrupo C4 em relação aos subgrupos RPRE4 ($p=0,008$) e RPOS4 ($p=0,001$). A média do infiltrado neutrofílico foi significativamente menor no subgrupo C8 em relação aos subgrupos RPRE8 ($p=0,02$) e RPOS8 ($p=0,003$). A presença de tecido de granulação foi significativamente maior para o subgrupo C4 em relação aos subgrupos RPRE4 ($p=0,0001$) e RPOS4 ($p=0,001$), da mesma forma que houve diferença estatisticamente maior para o subgrupo C8 em relação aos subgrupos RPRE8 ($p=0,001$) e RPOS8 ($p=0,0001$). O IMAc no 8º dia P.O. foi significativamente menor nos grupos submetidos à radioterapia pré-operatória ($p=0,002$) e pós-operatória ($p=0,003$) em relação ao grupo controle. **Conclusões:** Conclui-se que a radioterapia pré-operatória e pós-operatória diminui a força necessária à ruptura total das anastomoses colônicas e a área percentual ocupada pelo colágeno tipo I (maduro) no 4º e 8º dia de pós-operatório.

Palavras -chave: Radioterapia ; Pré-operatória; Pós-operatória; Anastomose Colônica; Cicatrização; Colágeno.

ABSTRACT

Background: Radiotherapy is frequently used as neoadjuvant or adjuvant therapy for treatment in colorectal cancer patients and this therapy is associated with changes in the healing process that could compromise the integrity of the intestinal anastomoses. The aim of this study was to evaluate the influence of radiotherapy on the healing of colonic anastomoses in rats. **Methods and Materials:** Sixty adult male *Wistar* rats, weighting between 264 and 310g were used, divided into three groups: control (C), preoperative radiotherapy (RPRE) and post-operative radiotherapy (RPOS) and were further divided into two subgroups, according to the day they were killed, either 4th or 8th P.O. day. All animals of the study were submitted to a initial surgical procedure to fix the cecum and the colon, and to implant a dosimeter. The plan of radiotherapy consist in a single dose of 20 Gy, in the left lower quarter of the abdomen of the animal, where the colon were previously fixed. Two colonic anastomoses were made. The day they were killed, either 4th or 8th P.O. day, the colonic anastomoses were sent to tensile strength, measured by the maximal tensil strength (MTS) and the rupture tensil strength (RTS) tests, and histologic (HE and Collagen Densitometry) studies. The results obtained from the determination of collagen percentage were expressed by the CMI (collagen maturation index). The dosimeters were also taken sent to dosimetric analysis. Clinical parameters were also recorded: weight changes and intrabdominal adherences. Student's *t*, Kruskal Wallis, Chi-Square's and Fisher's Exact Probability tests were applied, with the level of significance was set at $p < 0,05$. **Results:** The animals submitted to radiotherapy had greater weight loss and greater intrabdominal adherences indexes than the control group. The MTS was significantly higher in the subgroup C8 than in the subgroups C4 ($p=0,0002$), RPRE8 ($p=0,002$) and RPOS8 ($p=0,002$). Also, it was significantly higher in the subgroup C8 than in the subgroups C4 ($p=0,0002$), RPRE8 ($p=0,003$) and RPOS8 ($p=0,002$). In addition, RTS was higher in the subgroup C4 than in the subgroups RPRE4 ($p=0,008$) and RPOS4 ($p=0,01$). The mean of neutrophilic infiltrate index was higher in the subgroup C4 than in the subgroups C8 ($p=0,003$), RPRE4 ($p=0,0003$) and RPOS4 ($p=0,005$). The presence of granulation tissue was significantly higher in the subgroup C4 than in the subgroups RPRE4 ($p=0,0001$) and RPOS4 ($p=0,001$), and also higher in the subgroups C8 than in the subgroups RPRE8 ($p=0,001$) and RPOS8 ($p=0,0001$). The CMI was smaller for the groups submitted to preoperative Radiotherapy ($p=0,002$) and post-operative radiotherapy ($p=0,003$) in the 8th P.O. day as compared to the control group. **Conclusions:** Both preoperative and post-operative radiotherapy reduce total rupture strength and impair the percentual area of type I (mature) collagen at the anastomoses sites on post-op. days 4 and 8.

Key- Words: Radiotherapy; Preoperative; Post-operative; Colonic Anastomoses; Healing; Collagen.

1 INTRODUÇÃO

As anastomoses intestinais continuam sendo motivo para muitos estudos experimentais por ser assunto controverso, apesar dos inúmeros trabalhos publicados a este respeito. A adequada cicatrização de anastomoses colônicas tem grande importância na prática clínica, haja vista que o comprometimento deste processo pode resultar em deiscência, fístula e peritonite fecal. HENDRIKS e MASTBOOM (1990), em vasta revisão da literatura, encontraram variabilidade de 0 a 35% na incidência destas complicações, influenciada pelas diferentes populações estudadas e pela presença de fatores de risco nos pacientes. A ocorrência de deiscência anastomótica leva, de maneira geral, ao aumento de duas vezes na duração do internação, de três vezes no índice de mortalidade perioperatória e, conseqüentemente, à elevação considerável dos custos do tratamento (KORUDA e ROLANDELLI, 1990; CAMPOS, MEGUID e COELHO, 1996).

Muitos fatores foram identificados como influenciadores do processo cicatricial das anastomoses colônicas, tais como: preparo intestinal, técnica cirúrgica e estado nutricional do paciente. A cicatrização de anastomose colônicas é um processo multifatorial, o que torna muito difícil a investigação dos mecanismos de ocorrência e, conseqüentemente, de prevenção da deiscência colônica no contexto clínico. Assim sendo, diversos estudos têm procurado desenvolver modelos animais visando ao estudo da cicatrização colônica e da patogênese da falência do processo cicatricial (BLOMQUIST, JIBORN e ZEDERFELDT, 1984; BRASKEN, RENVALL e SANDBERG, 1991; GARCIA-OLMO e PAYA, 1996).

Durante as décadas de 50 e 60, as pesquisas foram direcionadas ao estudo dos fatores de ordem técnica capazes de interferir na cicatrização. Estas pesquisas contribuíram com alguns conceitos, hoje universalmente aceitos, como a importância da inversão ou eversão das paredes intestinais na linha de sutura para melhorar a coaptação das bordas e a necessidade de inclusão da submucosa nos pontos, por ser

esta camada rica em colágeno (GETZEN, ROE e HOLLOWAY, 1966; CRONIN, JACKSON e DUNPHY, 1968).

Mais recentemente, houve crescente interesse para o estudo dos efeitos dos agentes farmacológicos sobre a cicatrização, tanto benéficos quanto deletérios. Dentre estas substâncias podem ser citados os antiinflamatórios hormonais ou não-hormonais, vários tipos de antibióticos, prostaglandinas, antineoplásicos, imunomoduladores e dietas específicas (ROLANDELLI et al., 1986; CAMPOS, MEGUID E COELHO., 1996; SKINOVSKY, 2000; VIZZOTTO JUNIOR, 2001; SOARES, 2001; COSTA, 2002; BONIN, 2003).

A radioterapia é freqüentemente utilizada como forma de terapia (neo) adjuvante à cirurgia em pacientes com carcinomas colo-retais e, sabidamente, tem efeitos deletérios sobre a cicatrização. Em contraste com o trauma físico, a terapia com radiação fracionada produz uma série de danos repetitivos ao tecido, o qual sofre alterações significativas no transcorrer da irradiação. As respostas dos tecidos normais também são influenciadas pela taxa de dose cumulativa e outros fatores que estão relacionados ao planejamento do tratamento radioterápico (DENHAM e HAUER-JENSEN, 2002).

Foram descritas, na literatura, incidências de recorrência local em câncer de reto maiores que 50% quando a cirurgia é utilizada como única forma de tratamento (FRYKHOLM, GLIMELIUS e PAHLMAN, 1993; MARSCH, JAMED e SCHOFIELD, 1994). A combinação de radioterapia e cirurgia melhora o controle local da doença. A radioterapia também mostrou benefício no aumento da sobrevida (SWEDISH RECTAL CANCER TRIAL, 1997). A seqüência apropriada de irradiação e cirurgia ainda é motivo de discussões (SAUSE et al. 1994; MOHIUDDIN, REGINE e MARKS, 1996).

Muitos estudos clínicos demonstraram que a radioterapia pré-operatória é mais efetiva na redução das taxas de recorrência local, haja vista que reduções maiores que 60% foram descritas com a sua utilização (ROUGIER e NORDLINGER, 1993). As justificativas para utilização da radioterapia pré-operatória incluem: redução no tamanho do tumor primário para aumentar a possibilidade de se realizar a cirurgia

conservadora, principalmente nos carcinomas de reto baixo, com intenção de preservação esfinteriana (MINSKI et al. 1992); aumentar o controle local da doença e como consequência, diminuir o risco de recorrência local; reduzir o risco de disseminação pela manipulação cirúrgica durante a operação; conversão de um tumor inicialmente irresssecável a ressecável e, finalmente, oferecer terapêutica mais adequada em virtude da irradiação ser distribuída em um tumor bem vascularizado.

A radioterapia pós-operatória é amplamente utilizada como terapia adjuvante no tratamento do carcinoma colo-retal na prática clínica. Porém, a radioterapia pós-operatória tem desvantagem sobre a terapia pré-operatória no que se refere à alteração da oxigenação tecidual das áreas manipuladas cirurgicamente, além disso, é mais provável envolver no campo de irradiação estruturas como o intestino delgado (MARSCH, JAMED e SCHOFIELD, 1994).

A dose máxima de irradiação tolerada para a realização de uma anastomose cirúrgica com segurança, na prática clínica, ainda não é conhecida. Também existem controvérsias sobre a melhor forma de fracionamento da dose total aplicada para o tratamento. Diversos esquemas de irradiação foram descritos em estudos experimentais, incluindo-se a utilização de dose única ou pequeno número de frações de uma dose total geralmente baixa (20 a 25 Gy), assim como esquemas com fracionamento convencional similar aos utilizados na prática clínica e hiperfracionamento da dose total aplicada (WEIBER, et al., 1993; BIERT et al., 1997; DE MEELEER, et al., 1999; SEIFERT et al., 1995; CEELEM et al., 2001). Além disso, no tratamento cirúrgico do carcinoma colo-retal, geralmente uma porção do cólon não irradiado é anastomosado com o reto irradiado. Algumas vezes, não é claro nos dados experimentais se a anastomose é realizada com apenas um segmento colônico submetido à irradiação ou ambas as bordas irradiadas, dificultando a comparação dos dados entre os trabalhos. Várias taxas de complicação foram descritas em estudos clínicos no pós-operatório precoce, bem como no pós-operatório tardio de pacientes que foram submetidos à terapia combinada de radioterapia e cirurgia.

Nenhum estudo experimental foi encontrado na literatura comparando os efeitos da radioterapia no pré-operatório e pós-operatório da confecção de anastomoses

colônicas, o que justifica avaliar experimentalmente a interferência da radiação ionizante sobre a cicatrização , antes e após o ato cirúrgico.

1.1 OBJETIVOS

Avaliar a influência da radioterapia pré-operatória e pós-operatória na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos no quarto e oitavo dias de pós-operatório em relação a um grupo controle não submetido à radioterapia, objetivando-se especificamente:

1. Avaliar o efeito da radioterapia nos parâmetros clínicos da evolução pós-operatória;
2. Demonstrar a influência da radioterapia na força de tração das anastomoses;
3. Avaliar o efeito da radioterapia no padrão histológico das anastomoses mediante coloração hematoxilina-eosina (HE);
4. Cotejar a influência da radioterapia na deposição do colágeno (morfometria e índice de maturação do colágeno);
5. Comparar força de tração e padrão histológico nos grupos de radioterapia pré-operatória e pós-operatória entre o quarto e oitavo dias de pós-operatório.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CICATRIZAÇÃO DAS FERIDAS CIRÚRGICAS

A cicatrização de feridas consiste em perfeita e coordenada cascata de eventos celulares e moleculares que interagem para que ocorra a reconstituição tecidual. O processo cicatricial é comum a todas as feridas, independentemente do agente que a causou, e é um processo sistêmico e dinâmico e está diretamente relacionado às condições gerais do organismo.

A cicatrização pode ser definida como um processo que se desenvolve em três etapas: inicialmente um estágio inflamatório, seguido de proliferação e finalizando com o reparo em um estágio de remodelação (HOWES, SOOY e HARVEY, 1929).

A forma mais completa de classificação divide o processo cicatricial em cinco fases principais: coagulação, inflamação, proliferação, contração da ferida e remodelação (ORGILL e DEMLING, 1988). Em determinado período de tempo as fases coincidem e acontecem simultaneamente, permitindo assim o sucesso da cicatrização.

A coagulação inicia imediatamente após o surgimento da ferida. Essa fase depende da atividade plaquetária e da cascata de coagulação. Ocorre uma complexa liberação de produtos. Substâncias vasoativas, proteínas adesivas, fatores de crescimento e proteases são liberadas e ditam o desencadeamento de outras fases. A formação do coágulo serve não apenas para coaptar as bordas das feridas, mas também para cruzar a fibronectina, oferecendo matriz provisória, em que os fibroblastos, células endoteliais e queratinócitos possam ingressar na ferida (CLARK, 1985).

A fase inflamatória depende, além de inúmeros mediadores químicos, das células inflamatórias, como os leucócitos polimorfonucleares (PMN), macrófagos e linfócitos. Os PMN chegam no momento da injúria tecidual e ficam por um período que varia de três a cinco dias e são eles os responsáveis pela fagocitose das bactérias. O macrófago é a célula mais importante desta fase e este permanece na ferida do

terceiro ao décimo dia. O macrófago fagocita bactérias, desbrida corpos estranhos e direciona o desenvolvimento do tecido de granulação. Os linfócitos aparecem na ferida em aproximadamente sete dias e seu papel ainda não é bem definido, porém sabe-se que as linfocinas produzidas por estas células têm importante influência sobre os macrófagos. Além das células e dos mediadores químicos, a fase inflamatória conta com o importante papel da fibronectina, a qual é sintetizada por uma variedade de células como os fibroblastos e as células endoteliais, funcionando como adesivo para consolidar o coágulo de fibrina, as células e os componentes da matriz extracelular (WAHL e WAHL, 1992).

A fase de proliferação celular é importante na formação do tecido de granulação (coleção de elementos celulares, incluindo fibroblastos, células inflamatórias, endoteliais e componentes da matriz extracelular, como a fibronectina, as glicosaminoglicanas e o colágeno). A formação do tecido de granulação depende da ação do fibroblasto que além de produzir o colágeno, produz elastina, fibronectina, glicosaminoglicanas e proteases, estas responsáveis pelo desbridamento e remodelamento fisiológico. Durante a fase de proliferação também ocorre a angiogênese, essencial para o suprimento de oxigênio e nutrientes para a cicatrização (BANDA et al., 1982; JULIANO e HASKILL, 1993).

As duas últimas fases, de contração e de remodelação, são processos mais tardios, responsáveis pela maturação das feridas. A primeira, se dá com participação intensa dos miofibroblastos e tem como conseqüência a redução do tamanho da lesão. A segunda, decorrente da formação de pontes entre as fibras de colágeno, tem como resultado a formação de cicatriz madura (RUDOLPH, VAN DER BERG e EHRLICH, 1992).

2.1.1 Cicatrização das Suturas Gastrointestinais

Embora muitos componentes do processo de cicatrização sejam comuns a todos os tecidos, existem variações entre os tipos de tecidos que podem alterar a velocidade e a qualidade da cicatrização.

O trato gastrointestinal apresenta características diferentes de outros tecidos e que podem influenciar no processo de cicatrização: a sua arquitetura variada, a presença de grande quantidade de microrganismos na sua luz, a influência da serosa no selamento da linha de sutura e a diminuição da perfusão intestinal pela presença de hipotensão ou choque. Estas características determinam propriedades divergentes ao comparar-se com a cicatrização da pele, por exemplo. Primeiramente, o ganho de força na cicatrização em condições normais de suturas intestinais é mais rápido do que em suturas de pele. Segundo, a produção de colágeno a partir das fibras musculares lisas, observada no trato gastrointestinal, não ocorre na derme. Terceiro, a regulação da síntese de colágeno no trato gastrointestinal é diferente do observado na pele (THORNTON e BARBUL, 1997).

ADAMSONS e KAHAN (1970), citam que o processo de cicatrização do trato gastrointestinal pode ser influenciado por diversos fatores, que podem ser divididos em fatores locais (do próprio tecido em cicatrização) e fatores gerais (do organismo).

2.1.2 Importância do Colágeno na Cicatrização das Suturas Gastrointestinais

Em 1884, HALSTED, *apud* DIETZ (1995), ressaltou a importância do colágeno ao afirmar que a resistência mecânica do tubo digestivo está na dependência da camada colágena contida na submucosa.

O colágeno é a proteína mais abundante do tecido conectivo em fase de cicatrização. As várias diferenças na composição química do colágeno determinam as suas funções biológicas. Foram descritas até o presente 19 isoformas (tipos) de colágeno, codificadas por um único gene. Os tipos de fibras colágenas do tecido conjuntivo são helicoidais, com uma seqüência tripeptídica repetitiva composta de glicina- X - Y, sendo X representada pela prolina e Y pela hidroxiprolina. A rica presença de glicina e prolina é necessária para que uma molécula madura de colágeno assumira estrutura de tripla hélice (ROBSON, STEED e FRANZ, 2001).

O colágeno tipo I é o mais freqüente, é sintetizado pelos fibroblastos, e é mais predominante em ossos e tendões. O tipo III é mais comumente encontrado em tecidos

moles, como vasos sangüíneos, derme e fáscia. A derme íntegra contém aproximadamente 80% de colágeno tipo I e 20 % de colágeno tipo III. Já um tecido de granulação expressa 30 a 40 % de colágeno do tipo III, sendo considerado colágeno imaturo (ROBSON, STEED e FRANZ, 2001).

A degradação do colágeno se inicia precocemente e é muito ativa durante o processo inflamatório. A digestão do colágeno ocorre em ambiente extracelular e é mediada por colagenases específicas. São conhecidos quatro tipos de colagenases: as séricas (elastase, catepsina C e proteinase neutra) e as metaloproteinases. A atividade das colagenases é controlada por citocinas liberadas principalmente por células inflamatórias, endoteliais, fibroblastos e queratinócitos. A formação da matriz extracelular é, pois, resultante de um balanço entre a deposição e degradação de colágeno.

A análise da presença de colágeno em determinado tecido pode ser realizada por meio de técnicas quantitativas ou qualitativas. A quantificação da taxa de hidroxiprolina tecidual representa análise quantitativa e pode ser expressa a partir de amostras hidratadas ou desidratadas em mg por g de tecido, mg por área de tecido ou em taxa de nitrogênio (DIETZ, 1995). MADDEN e PEACOCK, em 1968, determinaram a taxa de deposição de colágeno a partir da administração de prolina radioativa em ratos submetidos à incisão na pele. Observaram que a taxa de deposição de colágeno foi máxima ao redor do 14º dia. Estes autores relatam que as técnicas quantitativas de colágeno não fornecem informações sobre as taxas de síntese ou degradação de colágeno e ressaltam a importância da utilização de técnicas que permitam o estudo do metabolismo do colágeno.

A concentração de colágeno e a resistência mecânica de anastomoses intestinais exibem diferentes padrões dependendo da fase de cicatrização. CRONIN, JACKSON e DUNPHY, em 1968, realizaram estudo experimental com ressecção e anastomose colônica em ratos, comparados a grupo controle, utilizando como parâmetros análise quantitativa de colágeno e a pressão de ruptura. Observaram que durante os três primeiros dias da cicatrização ocorreu decréscimo da concentração de colágeno de 40% até 2,5 centímetros próximo da anastomose. Durante os dois dias seguintes,

embora tenha sido verificado que a pressão de ruptura encontrava-se próxima à do grupo controle, não havia alteração significativa na taxa de concentração de colágeno. A partir do quinto dia a concentração de colágeno aumentou progressivamente até o décimo dia, atingindo concentrações próximas às do grupo controle, enquanto a pressão de ruptura apresentou valores bem acima do grupo controle.

Existe controvérsia na correlação entre a análise quantitativa de colágeno com a resistência mecânica de anastomoses intestinais. KORUDA e ROLANDELLI (1990), em artigo de revisão sobre estudos experimentais de cicatrização de anastomoses colônicas em animais, ressaltam que não identificaram trabalhos que nunca houve significância estatística da correlação direta entre a medida da taxa de hidroxiprolina e a resistência mecânica das anastomoses nos trabalhos publicados até aquela data. Estes autores citam que tanto a quantidade como a qualidade do colágeno, representada pela sua propriedade de entrelaçamento, determinam maior ou menor resistência mecânica da anastomose. Assim, a resistência de uma sutura intestinal poderia ser melhor definida pela determinação da proporcionalidade da presença de colágeno imaturo, pouco entrelaçado, e de colágeno maduro, bastante entrelaçado.

2.2 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES INTESTINAIS

As anastomoses intestinais podem ser avaliadas mediante parâmetros clínicos, mecânicos, histopatológicos e bioquímicos. Outros métodos, menos comumente utilizados, são os parâmetros microbiológicos, radiográficos, microangiográficos e de microscopia eletrônica (VIZZOTTO JUNIOR, 2001).

2.2.1 Parâmetros Clínicos

Os parâmetros clínicos levam em conta a evolução pós-operatória do animal e os achados intra-abdominais após sua morte, seja ela em meio à fase de experimentação ou provocada no término desta para coleta de dados. Eles indicam o sucesso ou insucesso da anastomose e refletem a presença de deiscência anastomótica

o que, em última análise, se procura avaliar nos experimentos em que se estuda cicatrização de anastomoses colônicas (VIZZOTO JUNIOR, 2001; SOARES, 2001; COSTA, 2002; BONIN, 2003).

Os dados evolutivos mais comumente explorados são: variação de peso e a evolução pós-operatória (óbitos). À exploração da cavidade abdominal, os dados mais freqüentemente avaliados são: quantificação e qualificação de aderências pós-operatórias e possíveis complicações anastomóticas (deiscência, abscesso peri-anastomótico e estenose).

2.2.1.1 Peso

A perda de peso pode interferir na evolução das anastomoses intestinais. Decréscimo ponderal durante o período peri-operatório sugere certo grau de desnutrição, o que pode acarretar deficiência na cicatrização e, conseqüentemente, maior incidência de complicações anastomóticas.

LAW e ELLIS (1990) avaliaram o efeito da nutrição parenteral sobre a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos com desnutrição protéica. Foram comparados três grupos de animais: dieta normal (1), dieta hipoprotéica (2) e dieta hipoprotéica com nutrição parenteral (3). O delineamento do experimento consistiu em submeter os animais à laparotomia com realização de anastomoses colônicas, sendo testada tanto a resistência da parede abdominal à tração como a anastomose mediante medida da pressão de ruptura. Comparando-se os dois primeiros grupos observou-se que a pressão de ruptura foi significativamente menor no grupo 2 ($p < 0,001$). Aliado a este achado, observou-se também que esta diminuição da força de ruptura nos animais com dieta hipoprotéica pode ser parcialmente revertida com a utilização da nutrição parenteral, haja vista que os valores de pressão de ruptura no grupo 3 foram significativamente maiores que os do grupo 2, porém menores que do primeiro grupo. Os autores demonstram a importância da nutrição na cicatrização e de que maneira a primeira pode ser afetada pela última.

KARAHASANOGLU et al. (1998) realizaram estudo de avaliação da cicatrização de anastomoses colônicas no qual 40 ratos Sprague-Dawley foram divididos em quatro grupos: os grupos 1 e 2 receberam dieta normal (3-6g de proteína, 40Kcal/dia) e os grupos 3 e 4 receberam dieta isocalórica, mas hipoprotéica (1-2 g de proteína) por 10 dias antes da cirurgia. Após a realização de anastomose colônica, os animais tiveram acesso livre à ração normal para ratos. Durante quatro dias os ratos dos grupos 1 e 3 receberam 2mg/kg de hormônio de crescimento (GH) por via subcutânea, enquanto os grupos 2 e 4 receberam salina. No 4º dia de pós-operatório os animais foram mortos e foram realizados: teste da pressão de ruptura da anastomose e dosagem de hidroxiprolina tecidual por espectrofotometria. Houve redução de 15% no peso dos ratos alimentados com dieta hipoprotéica até o momento da cirurgia e esta perda se manteve após o procedimento em torno de 5%. A pressão de ruptura foi menor nos ratos desnutridos em relação aos animais alimentados com dieta normoprotéica, com significância estatística. Não houve diferença na dosagem de hidroxiprolina entre os grupos. Os autores concluíram que, de maneira indireta, o peso serve como parâmetro clínico na avaliação da cicatrização de anastomoses intestinais.

JAHNSON e GERDIN (1996) desenvolveram estudo experimental para avaliar os efeitos crônicos da irradiação pré-operatória na cicatrização de anastomoses em íleo em ratos com desnutrição protéica. No grupo dos animais desnutridos, os ratos receberam, duas semanas antes da confecção da anastomose, uma ração contendo 25% menos proteínas que a ração padronizada ofertada aos demais animais. O peso corporal dos animais com desnutrição protéica foi significativamente menor em relação aos ratos alimentados com ração normoprotéica. As complicações anastomóticas foram mais comuns nos animais irradiados em comparação com o controle não irradiados, sem correlação com o tipo de nutrição ofertada.

A desidratação, diarreia e perda de peso podem influenciar no processo de cicatrização.

2.2.1.2 Mortalidade

LEITE et al. (1993) estudaram o efeito da desnutrição protéica na anastomose de cólon distal em amostra de 185 ratos Wistar mediante força de ruptura, deposição de colágeno tecidual e parâmetros clínicos. Observaram 4 casos de deiscências anastomóticas acompanhadas de óbito no grupo de animais desnutridos, enquanto esta complicação não ocorreu no grupo controle que recebeu dieta normoprotéica para a espécie, demonstrando assim a relação direta que existe entre desnutrição, deiscência, peritonite fecal e óbito.

NARESSE et al. (1993), estudaram os efeitos da peritonite fecal induzida em ratos Wistar sobre a cicatrização de anastomoses realizadas no cólon distal. Encontraram no grupo submetido à confecção de anastomose na vigência de peritonite, incidência de deiscência em 10 animais (8%) dos quais 7 evoluíram a óbito. Os achados corroboram o efeito deletério da infecção intra-abdominal concomitante à realização de suturas no intestino grosso.

Podem ser outras causas de óbito as complicações anestésicas e metabólicas (VIZZOTO JUNIOR, 2001; SOARES, 2001; COSTA, 2002; BONIN, 2003).

2.2.1.3 Aderências intra-abdominais

A formação de aderências intra-abdominais reflete a capacidade de resposta inflamatória reparadora da agressão à cavidade peritoneal e, de certa forma, a atividade do processo de reparação cicatricial. O aspecto principal no índice de aderências, no entanto, está no fato de que quando há deiscência da anastomose e extravazamento do conteúdo intestinal há concomitante tendência de bloqueio mediante formação de aderências por parte do mesentério e de vísceras adjacentes ao processo inflamatório. Assim, quanto maior for a incidência de deiscência anastomótica, maior será o índice de aderência esperado.

Um método de sistematização para a avaliação de aderências intra-abdominais foi proposto por KNIGHTLY, AGOSTINO e CLIFFTON (1962). Os autores

investigaram o efeito da fibrinolisa e da heparina na formação de aderências peritoneais, tendo atribuído índices para caracterizar cada nível de intensidade do processo aderencial, o que possibilitou sua aferição e a comparação entre os diversos grupos.

KUZU et al. (1998a) utilizaram o índice proposto por KNIGHTLY em 1962. Os autores avaliaram, em ratos, a interferência do 5-fluorouracil administrado intraperitonealmente no pré-operatório de anastomoses colônicas na formação de aderências intra-abdominais. Os autores não encontraram diferença significativa na média dos índices de aderência entre os grupos experimentais submetidos a administração de 5-FU intraperitoneal e o grupo controle.

ORMISTON (1985) realizou um estudo experimental em ratos, utilizando radioterapia pré-operatória no íleo terminal em doses únicas de 10, 15 ou 20 Gy, associando-se irradiação ou não dos apêndices gordurosos dos testículos. As anastomoses foram realizadas em intervalos de 2 a 24 semanas após a irradiação. Neste estudo foi enfatizada a importância das aderências no processo cicatricial. O autor demonstrou que deiscências podem ocorrer mesmo se os tecidos irradiados (no caso os apêndices gordurosos testiculares) forem posicionados próximos à linha de sutura realizada em intestino normal nos ratos, sugerindo que na prática clínica, seria aconselhável que as anastomoses com risco de dano pela radioterapia deveriam ser envolvidas por um tecido não irradiado, como o omento.

2.2.2 Métodos Mecânicos

As anastomoses intestinais sofrem influências de várias forças mecânicas atuando em direções e intensidades diferentes. A resistência de uma anastomose intestinal à força mecânica é fator fundamental para que não ocorra cicatrização inadequada e, conseqüentemente, disjunção da mesma.

HOWES, SOOY e HARVEY (1929) realizaram estudo pioneiro visando à sistematização da avaliação da tensão das feridas cirúrgicas na fase precoce da cicatrização. Naquele experimento foram avaliadas a resistência da sutura em anastomoses intestinais e a habilidade da parede intestinal em conter a sutura realizada

por meio de diferentes técnicas. Houve correlação entre as forças de tensão necessárias à ruptura dos tecidos estudados e o processo fibroplásico conhecido.

Segundo VAN WINCKLE (1969) e KORUDA e ROLANDELLI (1990), existem variáveis que podem influenciar a interpretação dos resultados obtidos com relação aos parâmetros acima mencionados: remoção ou não dos fios de sutura, elasticidade do tecido, estudo com a anastomose *in situ* ou após a sua remoção, a maneira como o raio da anastomose foi medido (durante ou depois da distensão), o local de ruptura do segmento a ser estudado e se ocorreu ruptura parcial ou total da anastomose.

O tipo de instrumento a ser utilizado também pode influenciar a medida de força de ruptura. NARESSE et al., em 1987, desenvolveram instrumento para medida da força de ruptura, o qual foi utilizado para estudo de cicatrização de anastomoses intestinais em cães. Os autores concluíram que o aparelho apresentou precisão de medida de 98%, sendo considerado instrumento adequado para estudos de cicatrização intestinal. VIZZOTTO JUNIOR (2000); COSTA (2002); COSTA, CAMPOS, COELHO et al. (2003); SKINOVSKY (2000); LEMOS (2002) e BONIN (2003) utilizaram instrumento universal de ensaio mecânico computadorizado com garras de pressão pneumática e sistema eletrônico de aquisição de dados, o que permitiu tração uniforme e constante fosse aplicada ao tecido a ser estudado.

A avaliação da resistência das anastomoses intestinais por métodos mecânicos tem sido realizada mais freqüentemente por duas técnicas: pressão de ruptura, e força de ruptura.

2.2.2.1 Pressão de ruptura

Este método foi descrito há pouco mais de um século por CHLUMSKY, em 1899, *apud* RABAU, EYAL, KLUGER e DAYAN (1998), e é bastante utilizado atualmente em estudos experimentais de cicatrização [como no de RABAU, EYAL, KLUGER e DAYAN em 1998]. A avaliação é feita no segmento do intestino onde foi realizada a anastomose, sendo que esta fica exatamente no centro da peça a ser testada.

Uma das extremidades é fechada e na outra se conecta uma bomba de insuflação. Através desta última infunde-se líquido ou ar atmosférico até que haja ruptura da anastomose. A pressão de ruptura é registrada por manômetro ou fisiógrafo. Este método pode ser aplicado ao animal vivo e anestesiado, sem se desfazerem as aderências perianastomóticas ou em segmento ressecado; os resultados serão diferentes nos dois casos, mas ambos com validade científica.

Outro método útil e simples, utilizado para avaliação da pressão de ruptura foi descrito por CARRIL em 1970 e largamente utilizado por diversos autores como ROCHA em 1989, SOUSA, SOARES e APRILLI em 1991 e MARTINS, GUIMARÃES e FERREIRA em 1993. Este método consta em um sistema em que, através do lúmen da alça intestinal, passa-se um cilindro metálico oco, com orifícios e fechado com uma rolha em uma de suas extremidades. Com um fio de cordonê se fixa uma das extremidades da alça intestinal na rolha. Na outra extremidade do cilindro oco introduz-se outra rolha que envolve o cilindro sem permitir qualquer vazamento. Na extremidade livre do cilindro conecta-se um manguito que está ligado a um manômetro de mercúrio. O segmento de intestino é então colocado em uma cuba contendo líquido. Insufla-se ar pelo manguito que provoca a distensão do segmento intestinal e também provoca gradativamente a subida do nível de mercúrio no manômetro. A pressão atingida no manômetro quando começa o vazamento de ar pela anastomose é considerada a pressão de ruptura.

2.2.2.2 Força tênsil de ruptura

A força de ruptura é medida pela força de tração do segmento de tecido até que o mesmo se rompa. FARHART et al. (1958) desenvolveram dispositivo mecânico para efetuar a tração de um segmento de tecido e o utilizaram para avaliação de anastomoses em processo de cicatrização. Posteriormente houve aprimoramento do método, com o desenvolvimento de um dispositivo eletro-mecânico, descrito por JONSSON, JIBORN e ZEDERFELDT (1983), com maior precisão para a aferição da força de ruptura. A utilização do método de força de tração para avaliação da

resistência das anastomoses intestinais, como proposto por JONSSON em 1983, se dá pela fixação das extremidades do segmento de intestino no aparelho, seguida de tração até que haja a ruptura deste segmento no local onde está a anastomose. A tração pode ser exercida com aumento contínuo da força, como utilizado por BLOMQUIST, JIBORN e ZEDERFELDT em 1984, ou aumentando-se a força em intervalos.

NARESSE et al. (1987) idealizaram um aparelho de tração para avaliar a força de ruptura das anastomoses intestinais. Os autores idealizaram este aparelho com base no extensômetro de resistência elétrica (*Strain Gauge*). Para avaliar sua precisão foram utilizados 32 cães submetidos à anastomose de intestino delgado e aleatoriamente divididos em quatro grupos. De cada animal, em tempos diferentes de avaliação pós-operatória (3^o, 7^o, 14^o e 21^o PO), foram obtidas duas amostras: uma contendo a anastomose e a outra de intestino delgado íntegro. Ambos os segmentos foram submetidos à tração no aparelho supracitado. Este foi ajustado e aferido com diferentes escalas de peso, com o objetivo de testar sua precisão. As leituras da força de ruptura não apresentaram diferenças significativas frente à adição dos pesos padrões nas aferições de 100 a 600 gramas. Analisando-se a regressão linear dos resultados obtidos encontraram erro de leitura inferior a 2%. Houve variação significativa e progressiva da intensidade da força de ruptura nos segmentos contendo a anastomose nos dias 3, 7 e 14 de pós-operatório ($p < 0,01$, $p < 0,01$ e $p < 0,05$, respectivamente) quando comparada aos segmentos íntegros de intestino delgado. A força de ruptura testada no subgrupo morto no 21^o dia não apresentou diferença estatística em relação ao intestino íntegro. Os autores concluíram que o instrumento utilizado para medida de força de ruptura apresenta erros mínimos de leitura, tornando justificável sua utilização em investigações experimentais, não só da cicatrização intestinal, como de toda ferida cirúrgica.

A força de ruptura pode ser utilizada para se avaliar apenas um segmento de tecido contendo a anastomose no centro, como descrito por NARESSE et al. (1988b) e NARESSE et al. (1988a), ou toda extensão da alça intestinal com a anastomose, como descreveram LEITE et al. (1993) e NARESSE et al. (1993).

Mais recentemente foi desenvolvido método mecânico computadorizado de alta precisão para a determinação da força de ruptura, descrito por IKEUCHI et al., em 1999. Os autores tentaram estabelecer correlação entre este método e o método de pressão de ruptura, já consagrado na literatura, bem como definir qual deles seria considerado o padrão ouro na avaliação mecânica da cicatrização de anastomoses intestinais. Foram utilizados 48 ratos em modelo que tinha como objetivos medir a pressão e tensão de ruptura, simultaneamente, na mesma anastomose colônica, no período compreendido entre a realização da cirurgia e o 14^o dia de pós-operatório. A tensão de ruptura foi determinada mediante duas variáveis: força mínima de tração (força necessária para romper parte da anastomose) e força máxima de tração (força necessária para realizar a disjunção da anastomose). Durante a análise das variáveis os autores notaram que, durante a fase inflamatória da cicatrização (0-4 dias), havia pobre correlação entre força de tração e a pressão de ruptura, enquanto na fase fibroplásica (\geq 5 dias) esta correlação se mostrou altamente significativa mediante análise de regressão. Valores positivos de forças mínimas e máximas de tensão foram encontrados quando as pressões de ruptura correspondentes eram iguais a zero. Os autores concluíram que a força mínima de tensão seria o melhor método para avaliação biológica da cicatrização das anastomoses enquanto a pressão de ruptura seria mais adequada na pesquisa de integridade anastomótica em geral, não refletindo o processo cicatricial.

2.2.3 Métodos Histológicos

A microscopia ótica é um método de avaliação do processo de cicatrização de anastomoses intestinais muito utilizado em estudos clínicos e experimentais. Sua real importância é, de certo modo, questionada pela subjetividade na avaliação. Entretanto, quando realizada por patologistas experientes e imparciais, pode fornecer dados passíveis de quantificação que são fundamentais na análise e comparação de processos cicatriciais.

O processo de reparação pode ser avaliado mediante técnica de coloração com hematoxilina-eosina (HE), utilizando diversos indicadores tais como: exsudato neutrofílico, edema intersticial, necrose de mucosa, necrose transmural, deposição de fibrina, congestão vascular, infiltrado monomorfonuclear, atividade regenerativa da mucosa, proliferação fibroblástica, neoformação vascular, processo granulomatoso e fibrose intersticial.

VIZZOTTO JUNIOR (2001) fez uso dos parâmetros histológicos de edema, infiltrado polimorfonuclear e congestão como indicadores de processo inflamatório agudo. Os parâmetros de fibrose, presença de tecido de granulação e infiltrado monomorfonuclear eram sugestivos de processo inflamatório crônico. Utilizou este método para avaliar cicatrização de anastomoses colônicas de ratos na vigência de cisplatina intraperitoneal. COSTA (2002) utilizou o método histológico para avaliar o efeito da suplementação oral de glutamina na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos.

STOOP, DIRKSEN e HENDRIKS em 1996, bem como BRASKEN, RENVALL e SANDBERG em 1991 utilizaram amplamente parâmetros histológicos em trabalhos que avaliaram cicatrização de anastomoses colônicas, juntamente com outros parâmetros bioquímicos e mecânicos. SOUSA, SOARES e APRILLI (1991), estudaram alguns dos parâmetros supracitados classificando-os e quantificando-os, de acordo com sua presença e intensidade, em ausente, leve, moderado ou intenso.

Outro método histológico de grande utilidade, principalmente na avaliação e diferenciação de tipos de colágeno, é o da polarização com *Picrosirius*. A coloração de Van Gieson (picrofucsina) foi introduzida nas técnicas histológicas em 1889 e ainda é largamente utilizada (SWEAT, PUCHTLER e ROSENTHAL, 1964). Quando o corante *sirus red* F3AB, um corante ácido e forte, reage com o colágeno, sua birrefringência normal é aumentada devido ao fato de suas moléculas serem acoladas às fibrilas de colágeno de maneira que as mesmas fiquem paralelas. O estudo comparativo de órgãos de animais vertebrados por este método identificou estreita correlação entre a localização de diferentes cores e intensidade de birrefringência com a distribuição bioquímica dos tipos I, II e III de colágeno, criando a possibilidade de

diferenciação tecidual dos mesmos. O colágeno tipo I aparece como fibras espessas, fortemente birrefringentes, de coloração amarelo ou vermelho; já o colágeno do tipo III possui o aspecto de fibras finas, fracamente birrefringentes e de coloração esverdeada (JUNQUEIRA, MONTES e SANCHEZ, 1982). O cálculo da porcentagem das fibras, classificadas em maduras ou imaturas de acordo com a sua coloração, permite avaliação qualitativa de fibras colágenas, podendo ser utilizado em estudos de cicatrização de anastomoses intestinais (RABAU et al., 1994; SKINOVSKI, 2000; COSTA, 2002; BONIN, 2003).

A densitometria do colágeno, mediante análise de anastomoses de intestino delgado de ratos, foi utilizada em modelo experimental para avaliação dos efeitos da nicotina na cicatrização em três períodos de pós-operatório (3^o, 7^o e 28^o) por SKINOVSKY (2000), e o mesmo não observou diferença com significância estatística da distribuição do colágeno dos tipos I e III nos grupos estudados.. Os autores PICKERING e BOUGHNER (1990) demonstraram excelente correlação desta técnica com a análise bioquímica da hidroxiprolina na avaliação da presença de fibrose em enxertos cardíacos.

LEMOS (2002), em estudo para verificar a influência da desnutrição intra-uterina na cicatrização da parede abdominal em ratos lactentes, idealizou o índice de maturação do colágeno (IMaC), que foi definido como a razão entre as porcentagens de colágeno tipo I e tipo II. A morfometria do colágeno demonstrou semelhança nos momentos estudados para o colágeno tipo I aos 7 dias e aos 21 dias de pós-operatório, e a deposição do colágeno tipo I aumentou entre os dias 7 e 21 de modo significativo. A correlação entre o IMaC e os estudos de resistência à tração foi negativa no 7^o dia de pós-operatório e positiva no 21^o dia de pós-operatório, o que permitiu o autor concluir que a desnutrição materna afeta a resistência à tração das cicatrizes cirúrgicas dos filhotes no pós-operatório precoce (7^o dia).

2.3 A RADIOTERAPIA

A radioterapia, assim como a cirurgia, é uma modalidade de tratamento local do câncer. Seu uso depende, em grande parte, da radiosensibilidade inerente do tumor e dos tecidos normais adjacentes. Em termos ideais, a radioterapia deveria destruir o tecido canceroso causando mínima desorganização das estruturas normais circundantes. Outra consideração é a capacidade do tecido normal de manter e reparar a lesão induzida por radiação e do paciente ter uma resposta apropriada, mesmo quando a função dos órgãos está diminuída (DENHAM e HAUER-JENSEN, 2002).

2.3.1 Características Físicas e Biológicas da Radioterapia

As radiações ionizantes podem ser divididas em radiação corpuscular e em radiação eletromagnética.

As radiações corpusculares são partículas subatômicas (elétrons, nêutrons, partículas alfa, prótons e pi-mésons negativos) que, de uma maneira ou outra, são acelerados, adquirindo altíssimas velocidades e, portanto, energia cinética. Estas partículas aceleradas convenientemente produzem o fenômeno de ionização ao atingirem os tecidos vivos. Entre as radiações corpusculares, os elétrons são as partículas de uso mais freqüente (HELLMAN, 1997).

As radiações beta ou raios beta são partículas com cargas elétricas negativas produzidas ao nível dos núcleos de átomos de isótopos radioativos durante o processo de desintegração. Quando um núcleo radioativo emite uma partícula beta (elétron negativo), seu número de massa não se altera, mas seu número atômico aumenta em uma unidade. Admite-se que um nêutron se transformou em um próton, em um elétron que é emitido e em uma outra partícula que se denominou de neutrino, esta última sem carga e de massa desprezível. Essas transformações ocorrem quando o núcleo radioativo é instável pelo excesso de nêutrons em relação ao número de prótons. As radiações beta ou partículas beta têm poder de penetração relativamente pequeno, conseguindo atravessar apenas alguns milímetros de alumínio.

Os raios-X e os raios gama são duas outras formas de radiação ionizante empregadas freqüentemente em radioterapia. Estas radiações não são de natureza corpuscular, isto é, não são partículas. Elas são de natureza eletromagnética como também o são a luz, as ondas hertzianas, o infravermelho e o ultravioleta. As radiações eletromagnéticas são formas de energia que tem como característica a propriedade de atravessarem os corpos opacos, daí o largo emprego da radiação X como recurso de diagnóstico. A diferença entre os raios-X e os raios gama está na maneira de como são obtidos.

Os raios-X são obtidos nas ampolas de raios-X ou nos tubos acelerados pelo choque de elétrons (produzidos ao nível do cátodo) contra um anteparo de metal (o ânodo). O mecanismo básico de produção dos raios-X utilizados em radioterapia é o mesmo dos raios-X utilizados em radiodiagnóstico. O que difere, porém, é a faixa de energia, a técnica de utilização para um ou para outro fim, assim como diversas são as características dos aparelhos empregados.

Os raios gama são produzidos durante o processo de desintegração dos núcleos dos átomos dos isótopos radioativos. As radiações gama são produzidas ao mesmo tempo em que são produzidas as radiações alfa e beta. A origem dos raios gama é nuclear, enquanto dos raios-X é extra-nucleares. Vários isótopos radioativos são empregados em radioterapia, como o cobalto-60, o ouro 198 e o rádio-226.

Apesar das radiações X e gama diferirem completamente dos raios beta ou dos elétrons, as energias daquelas radiações também são medidas em elétron-volt. Um elétron-volt é a energia adquirida por um elétron quando acelerado por uma diferença de potencial de 1 volt.

Em radioterapia utilizam-se aparelhos que emitam raios-X ou isótopos radioativos que emitem raios gama, cujas energias são da ordem de quiloelétron-volt ou megaelétron-volt.

A radioterapia por feixe externo se refere à radiação ministrada por uma fonte fora do corpo. Feixes de elétrons de alta energia (megavolts) são gerados por aceleradores lineares ou pelo decaimento radioativo do cobalto 60 e são usualmente utilizados para irradiar lesões profundas. Os aceleradores lineares são os mais

utilizados, e produzem um feixe mais localizado com menor sombra. Esses feixes penetrantes de alta energia propiciam dose superficial menos intensa e, assim, preservam a pele. Feixes de ortovoltagem de menor energia geram maior dose aos tecidos superficiais e são usados para tratar lesões superficiais, como tumores malignos de pele. A radiação ministrada por inserção de substâncias radioativas dentro do corpo adjacente ao sítio tumoral, ou nele próprio, é chamada de braquiterapia. Pode consistir em inserções intracavitárias, usadas nos tumores ginecológicos, como no carcinoma de colo uterino, ou em implantes intersticiais, como os utilizados no câncer de próstata. A braquiterapia pode ser empregada em conjunto com a terapia por feixe externo, como no tratamento de tumores de cabeça e pescoço, em que os implantes proporcionam reforço de alta intensidade no leito tumoral (MARRS, HOUSSEL e WILKINSON, 1993).

A dose de radiação é definida como a unidade de energia absorvida (joules) por quilograma de tecido. O rad foi substituído pelo Gray (Gy). Um rad é igual a 0,01 Gy. Uma dada dose de radiação destrói um percentual constante de células, não um número constante. Em doses elevadas de radiação, a sobrevivência celular diminui com a cinética da primeira ordem em proporção à dose crescente de radiação. Em doses de radiação menores surge uma projeção na curva devido à menor taxa de morte celular e talvez represente a presença de mecanismos de reparo celular.

O alvo para a morte celular induzida pela radiação é o ácido desoxirribonucléico (DNA). A radiação ionizante gera radicais livres e intermediários oxigênio-reativos que lesam os substituintes celulares locais, inclusive o ácido desoxirribonucléico. A citotoxicidade da radiação é dependente do processo de divisão celular. Tecidos normais com proliferação rápida, como a mucosa intestinal, a medula óssea e a pele, são particularmente susceptíveis à citotoxicidade induzida pela radiação.

O reparo celular normalmente se completa quatro a seis horas após a exposição radioativa. A capacidade e a extensão dos mecanismos de reparo celular determinam em parte, a radiosensibilidade de determinado tumor ou do tecido normal. A concentração de oxigênio é outro determinante importante da sensibilidade da

radiação. Assim, as áreas centrais de massas tumorais maiores mal vascularizadas, provavelmente exibem insensibilidade relativa à radiação. A presença de oxigênio é importante na geração e na manutenção dos radicais livres produzidos pela radiação (DENHAM e HAUER-JENSEN, 2002).

A morte celular motivada pela radioterapia deve-se, essencialmente, a lesões no genoma celular, que se evidenciam apenas quando as células se dividem. Este processo é regido por leis probabilísticas. A redução do número de células tumorais obedece a uma função logarítmica, isto é, determinada dose aniquila uma percentagem fixa de células, baixando o seu número em fração logarítmica. Assim sendo, pode-se inferir que maior dose de radiação aumenta a probabilidade de destruir todas as células tumorais, e que, quanto maior o tumor, maior a dose necessária para erradicá-lo. Conclui-se, então, que não há tumores radorresistentes, sendo apenas variável a dose necessária para a sua destruição. No entanto, a radiocurabilidade depende de outros fatores, o que faz com que nem todos os tumores sejam curados pela radioterapia, ou porque não são localizados, e a radioterapia é um tratamento essencialmente local, ou porque estão na proximidade de tecidos sãos, com tolerância limitada às radiações, impedindo a administração de doses tumorocidas. Geralmente é prescrita a dose máxima tolerável pelos tecidos sãos na área de irradiação, de modo a maximizar a probabilidade de erradicar todas as células tumorais. A ausência de efeitos colaterais, em grupos de doentes submetidos a radioterapia, pode significar um esforço terapêutico insuficiente, pois alguns desses efeitos podem ser compensados pelo melhor controle do crescimento tumoral.

Alguns tumores são inadequados para serem tratados com radioterapia, devido a evolução clínica prolongada ou por se apresentarem como grandes massas tumorais, obrigando a prescrição de doses maiores de radiação, ou quando há probabilidade de doença disseminada, o que exclui a radioterapia como tratamento curativo. Por outro lado, a proximidade de estruturas nobres (órgãos de tolerância) pode limitar a dose a ser administrada.

O tratamento com feixes de partículas, que empregam nêutrons ou partículas carregadas, como prótons, está atualmente em uso em centros especializados. Os

feixes de partículas têm a vantagem da localização tecidual mais precisa e são menos dependentes da presença de oxigênio para a citotoxicidade em comparação à radioterapia convencional (HELLMAN, 1997; RUBIN, 1985).

2.3.2 Efeitos da Radioterapia Sobre a Cicatrização Tecidual

A lesão radioterápica é um processo complexo que ocorre em tecidos organizados, isto é, tecidos que incluem grande número de linhagens de células que interagem e que são mutuamente dependentes umas das outras, bem como das inúmeras moléculas extracelulares biologicamente ativas. Esta visão contrasta com a análise tradicional (minimalista) que considera a lesão localizada em uma linhagem celular que pode ser reproduzida por cultura de células *in vitro*. Todo tecido organizado é capaz de muitas respostas reparadoras à injúria. A resposta dos tecidos normais à radioterapia pode ser vista como o envolvimento de dois componentes que se interagem parcialmente, cada qual sendo muito complexo. O primeiro é o processo que em muitos aspectos se assemelha com a cicatrização de feridas traumáticas. O segundo é um conjunto de lesões específicas que afetam virtualmente todos os componentes celulares e extracelulares do volume irradiado, e que pode ser responsável pela progressão da lesão por períodos de muitos anos (TIBBS, 1997).

As lesões traumáticas agudas das feridas térmicas e químicas ocorrem de forma instantânea nos tecidos. Em contraste com esse tipo de lesão, a exposição à radiação ionizante produz uma explosão de radicais livres, causando alterações no ácido desoxirribonucléico, bem como nas proteínas, lipídios, carboidratos e complexos moleculares. Mesmo quando a quantidade de energia depositada é mínima, cada exposição à radiação está associada a uma lesão considerável. Outra característica importante da terapia com radiação é que ela está implicada com uma série de pequenos insultos a cada fração de dose que é aplicada. Em muitos tecidos, cada fração da dose contribui para o acúmulo de células inflamatórias recrutadas, bem como para o acúmulo de lesões teciduais diretas. Além disso, cada fração afeta o tecido que já apresenta um espectro dinâmico de lesão celular, reparo contínuo, inflamação e outras respostas fisiopatológicas. Portanto, com a exposição repetida à radiação,

muitas respostas celulares e moleculares estarão substancialmente exacerbadas, suprimidas ou substancialmente alteradas quando comparadas à situação de exposição única à radiação ou lesão traumática (DENHAM e HAUER-JENSEN, 2002).

A taxa de dose cumulativa é importante para todo este processo, e algumas vezes é completamente dependente do valor da fração de dose. O tempo e a magnitude da resposta inflamatória à radioterapia dependem da taxa de dose cumulativa, visto que as respostas inflamatórias não cessam dentro de horas após cada exposição à radiação, como geralmente ocorre após lesão celular sub-letal. Portanto, quando um esquema de radioterapia envolve dose cumulativa rápida, independentemente como a dose é fracionada, as respostas inflamatórias também acumulam rapidamente. Isto pode ser importante, pois a resposta inflamatória é capaz de grandes amplificações das lesões micro-vasculares induzidas pela radiação. Da mesma forma, a supressão da resposta de reparo tecidual decorrente da injúria pela radiação depende da taxa de dose cumulativa, pois cada resposta, seja ela re-epitelização ou formação de tecido de granulação, envolve proliferação vigorosa de inúmeras linhagens de células. Além disso, quanto mais rapidamente a dose for fornecida aos tecidos, mais efetiva será a supressão da resposta de reparo tecidual (THAMES e HENDRY, 1987).

É bem sabido que feridas traumáticas cicatrizadas sofrem um processo de remodelação continuamente durante anos após a lesão inicial. Em contraste, a viabilidade dos tecidos irradiados e sua capacidade de remodelação estão freqüentemente comprometidas por disfunções celulares ou mudanças no estroma de suporte. O processo inflamatório pode promover mais estresse às linhagens de tecidos epiteliais irradiados quando falhas no processo de reparação resultarem em função de barreira epitelial insuficiente. Interligado a isso, e algumas vezes associada à fibrose reativa auto-sustentada, é observada depleção progressiva da matriz celular com substituição desta por fibrose, sendo este quadro reconhecido como um efeito tardio à radiação.

2.2.3 Efeitos da Radioterapia Sobre a Cicatrização de Anastomoses Colônicas

A cicatrização de anastomoses colônicas é essencialmente similar às fases de cicatrização de feridas em qualquer segmento do corpo. O processo inflamatório agudo caracteriza o processo de reparo precoce. Após, ocorre proliferação de fibroblastos acompanhada pela síntese de colágeno e de substâncias da matriz, as quais estão envolvidas na maturação extracelular do colágeno. Finalmente, o colágeno é modelado e a ferida fortalecida. A resistência mecânica das anastomoses é dependente do colágeno contido na submucosa. A epitelização resulta de mitoses e migração de células cripticas, resultando em cicatrização primária, com fibrose mínima na linha da anastomose. O foco de estudo das anastomoses colônicas está envolvido com a investigação de dois processos: o metabolismo do colágeno e a epitelização (KORUDA e ROLANDELLI, 1990).

A radioterapia está se tornando uma modalidade de tratamento no câncer colorretal de importância crescente nos últimos anos. É bem conhecido o risco aumentado de deiscência de anastomoses colônicas tanto no período precoce, como no período tardio após o tratamento com radioterapia. Os efeitos locais da radiação sobre o cólon, os quais prejudicam a cicatrização, têm componentes precoces e tardios. Os efeitos precoces ocorrem dentro de 7 a 30 dias após o tratamento e são caracterizados pela perda de massa epitelial, diminuição do índice mitótico e edema das camadas submucosa e muscular (CROWLEY et al. 1968). Alterações crônicas e tardias ocorrem em um período compreendido entre 1 mês a 20 anos ou mais após o tratamento. Alterações histológicas crônicas incluem ulcerações mucosas, substituição das células epiteliais dentro da parede intestinal (colite cística profunda), ectasias de vasos mucosos e submucosos, fibrose, estenoses e isquemia (BLACK et al. 1980).

Muitos estudos experimentais em animais foram realizados visando avaliar o efeito da radioterapia pré-operatória, intra-operatória ou pós-operatória na cicatrização de anastomoses colônicas. Quando estes estudos são avaliados e comparados são fatores pertinentes que devem ser observados: a dose total de irradiação e seu fracionamento, o campo irradiado, o tempo de intervalo entre o tratamento com

radiação e a cirurgia e a incidência de complicações sistêmicas pós-irradiação, como enterite e perda de peso.

Com intenção de se determinar o período após o qual as anastomoses intestinais poderiam ser realizadas com menores índices de complicação, SOUCHON et al. (1982) realizaram radioterapia fracionada pré-operatória na dose de 50 Gy, em 230 ratos, sendo o cólon anastomosado um dia, quatro semanas, oito semanas ou quatro meses após o término da irradiação. As análises da pressão de ruptura foram realizadas no 3º, 7º, 14º e 21º dias de pós-operatório da confecção das anastomoses. A análise dos resultados demonstrou que a cicatrização das anastomoses foi retardada em todos os grupos submetidos à irradiação, e não foi observada influência no período de tempo entre a irradiação e a operação.

WEIBER et al. (1993) realizaram em um estudo experimental com ratos submetidos à radioterapia pélvica e abdominal baixa, na dose de 20 Gy, fracionada em duas doses de 10 Gy, com intervalo de quatro dias entre elas. Os grupos de animais foram acompanhados por oito meses após a irradiação para avaliação dos efeitos colaterais. Foi evidenciada leucopenia na primeira semana pós-irradiação e demora em ganho de peso por um período acima de dois meses após a irradiação. Efeitos locais na parede intestinal também foram descritos, como aumento da atividade da mieloperoxidase (indicando acúmulo leucocitário) nas áreas irradiadas do cólon durante os primeiros 11 dias, permanecendo significativamente elevado após dois meses nas áreas irradiadas do cólon, bem como nas áreas protegidas. Esses dados foram correlacionados com os achados histológicos de reação inflamatória, atipias e displasia nos primeiros dez dias após a irradiação, porém esses achados não foram observados após dois meses de seguimento. WEIBER, JIBORN e ZEDERFLD (1994) publicaram estudo experimental com o mesmo delineamento anteriormente descrito, porém realizando ressecções padronizadas no cólon esquerdo, sendo as anastomoses colônicas confeccionadas após quatro ou oito dias do término da irradiação. O pós-operatório foi avaliado por período superior a dois meses. Os autores observaram retardo no ganho de peso no pós-operatório no grupo submetido à radioterapia. A força de ruptura foi similar na fase precoce de cicatrização pós-operatória, porém foi

reduzida após dois meses. A quantidade de hidroxiprolina e a atividade de mieloperoxidase nos segmentos anastomosados foram similares quando comparados o grupo controle com os grupos submetidos à radioterapia, não sendo evidenciado comprometimento do processo cicatricial das anastomoses nos animais submetidos à irradiação.

BIERT et al. (1997) realizaram estudo em ratos, utilizando radioterapia pré-operatória em segmento colônico de 2,2cm, em dose única de 25Gy, que foi administrada 28 ou 5 ou 3 ou 1 dia antes da ressecção intestinal. A reconstrução foi feita com anastomose colo-colônicas término-terminal, na qual somente a borda distal havia sido irradiada. Os animais foram sacrificados no 3º e 7º dia de pós-operatório. Quando foram comparados os grupos controles (não irradiados) com os animais submetidos à radioterapia pré-operatória foi demonstrado que a radioterapia não interferiu na força de ruptura, e nem na concentração e quantidade de hidroxiprolina nas anastomoses com apenas uma das bordas irradiada.

KUZU et al. (1998b) desenvolveram estudo em ratos, no qual os animais do grupo de estudo foram submetidos à radioterapia pré-operatória na dose de 22 Gy, fracionada em quatro dias, com frações de 5,5 Gy. Quatro dias após o término da irradiação de toda pelve, os animais foram submetidos à colotomia e anastomoses colo-colônicas término-terminais. Os ratos foram mortos no 3º e 7º dias de pós-operatório para avaliação da cicatrização das anastomoses. Na análise dos resultados, os autores identificaram perda de peso mais pronunciada no grupo dos animais irradiados, porém não houve diferenças entre os grupos quanto à presença de aderências intrabdominais e complicações anastomótica. No grupo submetido à radiação pré-operatória também foi identificado decréscimo significativo na pressão de ruptura, da quantidade de hidroxiprolina e na atividade da mieloperoxidase.

DE MEERLEER et al. (1999) estudaram a influência da radioterapia pré-operatória com fracionamento convencional ou hiperfracionamento com doses cumulativas de 40, 60 e 80 Gy, em ratos. Dosímetros foram utilizados para comprovar as doses de irradiação administradas. Foram comparadas anastomoses com uma ou duas bordas irradiadas para os dois esquemas de fracionamento de doses de irradiação.

Anastomoses látero-laterais, entre o cólon e o ceco, foram confeccionadas no dia seguinte ao término da radioterapia. No décimo dia de pós-operatório foi estudada a pressão de ruptura das anastomoses, cujos resultados demonstraram que anastomoses do cólon podem ser confeccionadas com segurança após altas doses de radioterapia (80 Gy) se apenas um dos segmentos da anastomose for irradiado. Nas anastomoses com as duas bordas irradiadas a força de tensão foi reduzida em altas doses (80 Gy) de irradiação em comparação com doses menores.

CEELEM et al. (2001) em trabalho em ratos, estudaram o efeito do fracionamento da radioterapia pré-operatória na cicatrização de anastomoses colônicas. Neste estudo, os animais foram randomizados para receber doses de 0, 40, 60 e 80Gy em apenas uma borda das anastomoses. A radioterapia foi validada através do implante de dosímetro, antes do início da radioterapia. O ceco foi fixado fora do campo de irradiação. No primeiro dia após o término da radioterapia foi confeccionada anastomose látero-lateral, sendo os ratos mortos no 10º dia de pós-operatório. Na análise dos resultados não foram evidenciadas diferenças nas taxas de peritonites, complicações anastomótica, pressão de ruptura e quantidade de hidroxiprolina quando comparados os grupos irradiados com o grupo controle. Os ratos irradiados ganharam peso mais lentamente que os ratos do grupo controle. Dessa forma, os autores demonstraram, neste modelo experimental, que radioterapia pré-operatória em altas doses não altera os resultados relacionados à cicatrização colônica quando apenas uma das bordas da anastomose é irradiada.

SACLARIDES et al. (1992) estudaram o efeito da radioterapia intra-operatória em dose única de 2000 rads, em ratos. No experimento, foram comparados animais submetidos a anastomoses intestinais com uma ou ambas as bordas irradiadas e controles não irradiados. Os animais foram mortos no sétimo dia de pós-operatório. Não houve diferença estatística na força de tensão das anastomoses, quando comparados o grupo controle não irradiado com o grupo com apenas uma borda da anastomose irradiada. Entretanto quando ambas as bordas haviam sido irradiadas houve redução significativa na força de tensão, indicando prejuízo no processo cicatricial.

BIERT et al. (1993) relataram o efeito da radioterapia no pós-operatório imediato da confecção de anastomoses intestinais. O experimento foi realizado em ratos submetidos a ressecção de 1 cm de sigmóide e posterior anastomose colônica término-terminal, sendo estes animais irradiados antes ou após o fechamento da parede abdominal com doses únicas de 20 ou 25Gy. Os animais foram sacrificados no 3º e 7º dia de pós-operatório. No grupo dos animais irradiados após o fechamento da cavidade abdominal ocorre perda de peso e hipoalbuminemia significativas em decorrência de envolvimento do intestino delgado no campo de irradiação. Não houve diferenças entre o grupo controle e os grupos irradiados, quanto aos parâmetros relacionados à cicatrização das anastomoses, sugerindo que a aplicação de dose única de irradiação (20 e 25Gy) em anastomoses colônicas no pós-operatório imediato ou no intra-operatório não tem efeito negativo na fase inicial da cicatrização de anastomoses colônicas, entretanto a irradiação externa, envolvendo alças intestinais de delgado, resulta em efeitos colaterais indesejados como a diarreia e perda de peso.

SEIFERT et al. (1995) estudaram o efeito deletério da radioterapia intra-operatória na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos. Os animais do estudo foram submetidos a irradiação, em dose única de 25 Gy, da borda proximal ou de ambas as bordas antes da confecção das anastomoses. Os ratos do grupo de estudo foram comparados com o grupo controle não irradiado. Os animais foram sacrificados no 3º, 7º e 14º dia após a cirurgia. No 3º dia de pós-operatório a pressão de ruptura foi significativamente diminuída no grupo com apenas uma das bordas da anastomose irradiada, ao passo que no grupo com ambas as bordas irradiadas tanto a pressão de ruptura quanto a força de ruptura foram significativamente menores quando comparadas ao grupo controle. No 7º dia a força de ruptura foi reduzida apenas no grupo com ambas as bordas irradiadas. A capacidade de síntese de colágeno, nos segmentos anastomosados, foi significativamente menor nos grupos submetidos a radioterapia na avaliação do 3º dia pós-operatório, resultando em diminuição da concentração de colágeno na área da anastomose após o 7º dia. No 14º dia de pós-operatório não foi encontrada diferença com relação à força de ruptura quando comparados os grupos controle com os grupos irradiados. Os níveis de hidroxiprolina

nas anastomoses foram significativamente maiores nos grupos submetidos à radioterapia em relação ao grupo controle.

HENDRIKS et al. (1998) avaliaram o efeito da radioterapia intra-operatória na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos. Os animais do grupo experimental receberam doses únicas de irradiação de 10, 15, 20 ou 25 Gy em um segmento de 1 cm da borda do cólon que foi anastomosada. Os ratos foram mortos no 3º e 7º dia de pós-operatório. A pressão de ruptura foi significativamente menor nos grupos irradiados (em todas as doses estudadas) em comparação com o grupo controle no terceiro dia de pós-operatório, e a pressão de ruptura foi significativamente menor nos grupos irradiados com doses de 15Gy ou maior no sétimo dia. A quantidade de hidroxiprolina foi significativamente menor apenas nos grupos submetidos a altas doses de irradiação. Dessa forma, os autores sugeriram que a radioterapia intra-operatória retarda a cicatrização precoce de anastomoses colônicas, mesmo em doses moderadas.

Alguns pacientes com câncer colo-retal podem ser beneficiados com esquemas de associação de radioterapia e quimioterapia. Estudos experimentais foram realizados avaliando essa associação e sua interferência sobre o processo de cicatrização (BIERT et al., 1996b; KUZU et al., 1998c e 1999; EL-MALT et al., 2001a e 2001b). A associação de radioterapia e hipertermia também foi avaliada experimentalmente (BIERT et al., 1996 e 1998a).

A utilização de dietas enriquecidas com glutamina (CAMPOS et al., 1994 e 1996), a suplementação de vitamina A (WINKSEY et al., 1987) e a utilização de cola de fibrina (TAYFUN et al., 1997) foram descritas em estudos experimentais, realizados para avaliação de seus efeitos protetores sobre o intestino irradiado.

3 MATERIAL E MÉTODO

3 MATERIAL E MÉTODO

As normas técnicas utilizadas neste trabalho seguiram as orientações do Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social – IPARDES contidas nas Normas para Apresentação de Documentos Científicos da Universidade Federal do Paraná de 2000. Utilizou-se a *Nomina Anatomica Veterinaria* de 1975. Os procedimentos experimentais foram realizados no Centro de Pesquisa do Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná e no Departamento de Radioterapia do Hospital Erasto Gaertner .

3.1 MATERIAL

3.1.1 Animais

Foram utilizados 60 ratos *Wistar* (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*), machos, adultos (160-200 dias), com peso variando entre 264 e 310 gramas , provenientes do Biotério do TECPAR (Instituto de Tecnologia do Paraná). Os animais foram confinados, em grupos de cinco, em caixas de polipropileno forradas com serragem e, durante período de aclimação de sete dias, receberam água *ad libitum* e ração para ratos (NUVILAB-CR1[®], Nuvital, Curitiba, Paraná) (figura 1). As condições ambientais do laboratório foram: temperatura de 22±1 °C e ciclo claro-escuro de 12 horas, controlados eletronicamente (Cronomat[®], Mallory do Brasil, São Paulo-SP). Os animais foram mantidos no Laboratório de Cirurgia Experimental da Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Paraná (UFPR), onde também os procedimentos cirúrgicos foram realizados.

FIGURA 1 – ANIMAIS DISPOSTOS EM SUAS GAIOLAS NO LABORATÓRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA DA UFPR



3.1.2 Radioterapia

A irradiação dos animais foi realizada no Departamento de Radioterapia do Hospital Erasto Gaertner utilizando um aparelho de telecobaltoterapia (Theratron[®] 780C , Philips Medical Systems , Crawley, Grã-Bretanha)(figuras 2 e 3).

FIGURA 2 – CONTROLE EXTERNO DO APARELHO DE TELECOBALTOTERAPIA



FIGURA 3 – VISTA FRONTAL E PERFIL DO APARELHO DE TELECOBALTOTERAPIA THERATRON® 780C



3.2 MÉTODO

3.2.1 Grupos de Estudo

Após os sete dias de aclimação os ratos foram pesados e divididos aleatoriamente em três grupos: grupo controle (C) , grupo radioterapia pré-operatória (RPRE) e grupo radioterapia pós-operatória (RPOS). Estes três grupos foram subdivididos em quatro e oito dias, de acordo com o dia da morte do animal. Todos os animais do estudo receberam ração para ratos, água ad libitum e foram submetidos a procedimento cirúrgico para fixação das alças de cólon no quadrante inferior esquerdo abdominal e implante de dosímetro.

O Grupo C – Controle - (N= 20) oito dias após à laparotomia inicial, os animais foram submetidos a um novo procedimento cirúrgico para confecção das anastomoses colônicas , sem realizar radioterapia durante o experimento .

Aclimação	Laparotomia fixação das alças e implante do dosímetro	Anastomoses	4º dia de Pós-operatório	8º dia de Pós-operatório
-----------	---	-------------	-----------------------------	-----------------------------

O Grupo RPRE - Radioterapia Pré-operatória - (N=20) três dias após à laparotomia inicial, os animais foram submetidos a radioterapia . As anastomoses colônicas foram realizadas cinco dias após ao tratamento radioterápico, correspondendo a oito dias após a primeira intervenção .

Aclimação	Laparotomia fixação das alças e implante do dosímetro	Radioterapia Pré-operatória	Anastomoses	4º dia de Pós-operatório	8º dia de Pós-operatório
-----------	---	--------------------------------	-------------	-----------------------------	-----------------------------

O Grupo RPOS – Radioterapia Pós-operatória - (N=20) oito dias após à laparotomia inicial, os animais foram submetidos a um novo procedimento cirúrgico para confecção das anastomoses colônicas , sendo a radioterapia realizada logo após ao procedimento cirúrgico .

Aclimação	Laparotomia fixação das alças e implante do dosímetro	Anastomoses Radioterapia Pós-operatória	4º dia de Pós-operatório	8º dia de Pós-operatório
-----------	---	---	-----------------------------	-----------------------------

Os ratos do grupo controle (C) que foram mortos no quarto dia de pós-operatório foram denominados C4 e os do oitavo dia de pós-operatório foram denominados C8. Da mesma maneira foram denominados os subgrupos do grupo

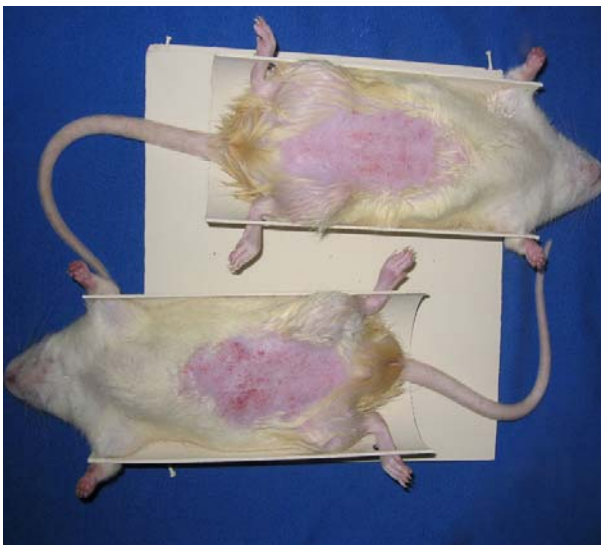
RPRE de RPRE4 e RPRE8 e do grupo RPOS de RPOS4 e RPOS8 , conforme o momento da morte dos animais .

3.2.2 Técnica de Radioterapia

Para assegurar irradiação precisa de uma área abdominal dos animais , o quadrante inferior esquerdo, foi necessário desenvolver técnica de imobilização adequada e reproduzível . Antes de ser imobilizado o rato foi submetido à tricotomia abdominal ampla e posteriormente anestesiado. Para a anestesia foi utilizada a via inalatória com éter etílico comercial em sistema fechado de campânula para indução. Os ratos foram imobilizados em tabuleiro de madeira no qual foram afixados dois semi-cilíndricos tunelizados de PVC (policloreto de vinila). Com o animal em decúbito dorsal, foram imobilizados os membros anteriores e posteriores, colocando-os em aberturas existentes em cada lado do aparato e fixados com amarras de barbante. Esta forma de imobilização teve o intuito de prevenir os movimentos longitudinais do animal. Os semi-cilíndros de PVC foram dispostos de maneira que, com os animais em decúbito dorsal, foi possível a irradiação da área desejada em dois animais simultaneamente (figura 4).

FIGURA 4 – POSIÇÃO DOS ANIMAIS NO APARATO PARA REALIZAÇÃO DA RADIOTERAPIA

1



2



NOTA: 1 – posicionamento dos animais para a irradiação; 2 – localização da área a ser irradiada.

A técnica de irradiação foi validada *in vivo* através de dosimetria. Foram utilizados dosímetros termoluminescentes (TLD) com 1 mm de diâmetro e 6 mm de comprimento (TLD 100 LiF rods, Solon Technologies Inc., Solon , EUA), lacrados em tubo de polietileno (PE-205, Clay Adams-Becton Dickinson , Parsippany, EUA) . Estes dosímetros foram previamente esterelizados com óxido de etileno e posteriormente implantados no campo operatório, no quadrante inferior esquerdo abdominal, sendo os mesmo fixados com um ponto de prolene 5.0 na face interna da parede abdominal de cada um dos ratos submetidos ao experimento .

Os TLDs foram calibrados e verificados individualmente antes da implantação para se avaliar a estabilidade dos mesmos. Para calibração dos dosímetros foi utilizado o mesmo aparelho de telecobaltoterapia que foi utilizado no experimento. Com o intuito de minimizar os erros na aferição dos dosímetros, foram testados também, para calibração do equipamento, outros TLDs além daqueles destinados aos grupos de estudo, sendo estes irradiados com doses conhecidas crescentes de irradiação (1, 2 , 3, 4, 5 , 10, 15 e 25Gy), diferentes da dose utilizada no experimento . As análises dos dosímetros foram realizadas pela empresa Sapra-Landauer - Serviço de Assessoria e Proteção Radiológica S/C LTDA, estabelecida em São Carlos – São Paulo.

Os TLDs foram retirados e enviados para análise no momento em que os animais foram mortos, dependendo do subgrupo a que pertenciam, no quarto ou oitavo dias de pós-operatório das anastomoses colônicas.

Nos ratos do grupo radioterapia pré-operatória (RPRE) a irradiação dos animais foi realizada três dias após à laparotomia para fixação das alças intestinais e implante do dosímetro, e as anastomoses colônicas foram realizadas cinco dias após a irradiação. Nos ratos do grupo radioterapia pós-operatória (RPOS), a irradiação dos animais foi realizada no pós-operatório imediato, de 4 a 8 horas após o procedimento cirúrgico para a confecção das anastomoses colônicas, sendo este intervalo de tempo necessário, pois para realizar a radioterapia , os animais tiveram que ser transportados do Centro de Pesquisa do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da

Universidade Federal do Paraná até o Departamento de Radioterapia do Hospital Erasto Gaertner .

A irradiação dos animais foi realizada utilizando-se aparelho de telecobaltoterapia (Theratron[®] 780C, Philips Medical Systems, Crawley, Grã-Bretanha) , no Departamento de Radioterapia do Hospital Erasto Gaertner. Antes da irradiação foi realizada simulação do procedimento, realizando-se radiografia para certificação da posição do animal e localização precisa do campo de irradiação (figuras 5, 6 e 7). Foi utilizado um único portal anterior para irradiação. O tamanho do campo foi de 5x10 cm, o que permitiu irradiar dois ratos simultaneamente. A distância do foco da pele foi de 51 cm. A taxa de dose foi de 0,9633 cGy/ minuto e a dose total administrada foi de 20 Gy, em dose única .

FIGURA 5 – SIMULAÇÃO COM RADIOGRAFIA PARA AVALIAÇÃO DO CAMPO DE IRRADIAÇÃO

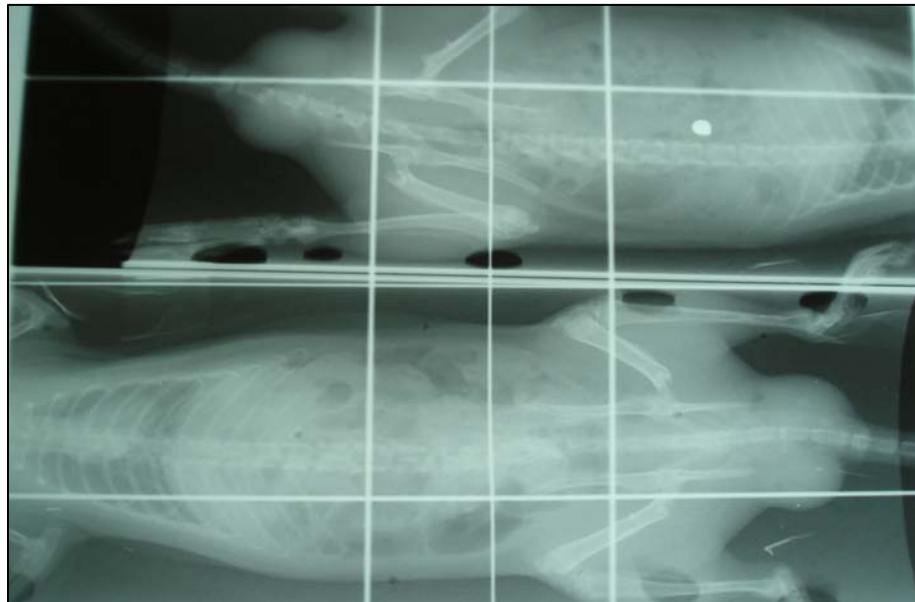


FIGURA 6 – POSIÇÃO DO APARATO DE FIXAÇÃO NO APARELHO DE TELECOBALTOTERAPIA



FIGURA 7 – ÁREA DE IRRADIAÇÃO ABDOMINAL



3.2.3 Procedimento Cirúrgico

Pré-operatório: todos os ratos foram submetidos a jejum de 12 horas prévias ao procedimento cirúrgico.

Per-operatório:

Anestesia: Para indução anestésica foi escolhida a via inalatória utilizando-se éter etílico comercial em sistema fechado de campânula, e para manutenção do plano anestésico foi utilizado hidrato de cloral 10% na dose de 400mg/Kg intraperitoneal.

Ato Cirúrgico:

Fixação das Alças de Cólon e Implante de Dosímetro: Após a anestesia os animais foram pesados. A seguir foi realizada a tricotomia abdominal ampla e posterior fixação do rato à mesa cirúrgica com membros em extensão. Por meio de incisão abdominal mediana de cerca de 4 cm de extensão foi obtido acesso ao *cavum abdominis* para a exposição do cólon. As alças intestinais foram retiradas da cavidade abdominal para individualização do intestino delgado, ceco e cólon. Posteriormente as alças intestinais foram recolocadas na cavidade abdominal de forma que as alças de intestino delgado juntamente com o ceco passaram a ocupar o quadrante superior direito abdominal. Para manter as alças nesta posição, o ceco foi fixado à face interna da parede abdominal no quadrante superior direito com um ponto sero-muscular de fio inabsorvível de polipropileno 5.0 (Prolene® 5,0, Ethicon, São José dos Campos, SP) (figura 8). Da mesma forma, os dois segmentos de cólon que seriam anastomosados foram individualizados e fixados à face interna da parede abdominal no quadrante inferior esquerdo, com ponto sero-muscular de fio inabsorvível de polipropileno 5.0 (Prolene® 5,0, Ethicon, São José dos Campos, SP) (figura 9). Após a fixação das alças intestinais foi realizada inspeção da cavidade abdominal para certificação de que não havia acotovelamentos das alças e torções que pudessem evoluir com complicações no pós-operatório. O dosímetro foi implantado no final do procedimento cirúrgico, sendo o mesmo fixado à face interna do quadrante inferior esquerdo da parede abdominal com ponto de fio inabsorvível de polipropileno 5.0 (Prolene® 5,0, Ethicon, São José dos Campos, SP) (figura 10). O fechamento da parede foi feito com sutura contínua ancorada de fio monofilamentar inabsorvível 3.0 (Mononylon® 3,0, Ethicon, São José dos Campos, SP) em 2 planos: músculo-aponeurótico e intradérmico.

FIGURA 8 – FIXAÇÃO DO CECO NO QUADRANTE SÚPERO-DIREITO

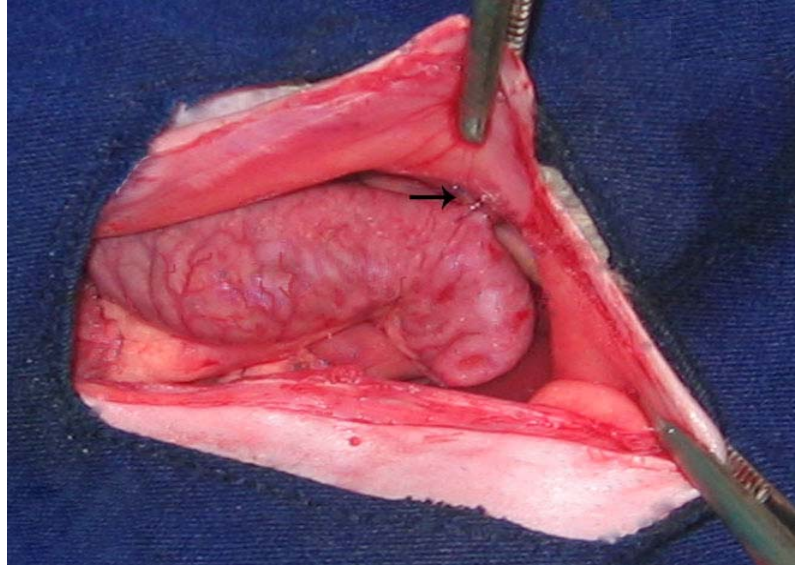


FIGURA 9 – FIXAÇÃO DO CÓLON NO QUADRANTE ÍNFERO-ESQUERDO

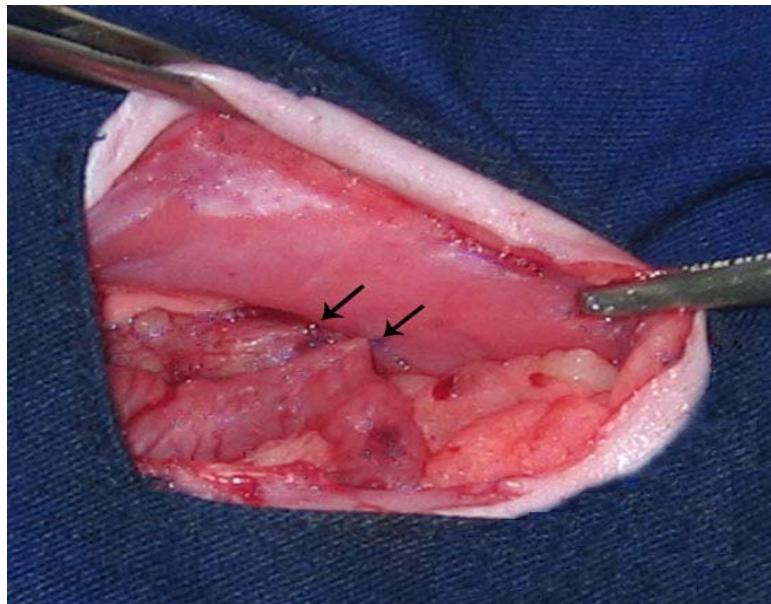


FIGURA 10 – IMPLANTE DO DOSÍMETRO



Confecção das Anastomoses Colônicas: Após a anestesia os animais foram pesados e posteriormente fixados à mesa cirúrgica com os membros em extensão. Por meio de incisão abdominal mediana de cerca de 4 cm de extensão foi obtido acesso ao *cavum abdominis* (cavidade peritoneal) para a exposição do cólon. Procedeu-se, então, a duas secções completas do cólon, a primeira na *flexura coli dextra* (flexura menor do cólon) a aproximadamente 3 cm distais do *ostium ileale* (válvula íleo-cecal) e a segunda, 6 cm distais à primeira no *colon descendens* (colon distal), atentando para a preservação dos *rami colici* (vasos cólicos). A reconstrução foi realizada mediante anastomose término-terminal, em plano único total, com 8 pontos separados de fio monofilamentar inabsorvível 6.0 (Mononylon[®] 6,0, Ethicon, São José dos Campos, SP). A fixação das alças intestinais foi mantida após a confecção das anastomoses colônicas cerca de 1cm distal destas, como descrito anteriormente, bem como o posicionamento do dosímetro (figuras 11, 12 e 13). O fechamento da parede foi feito com sutura contínua ancorada de fio monofilamentar inabsorvível 3.0 (Mononylon[®]3,0, Ethicon, São José dos Campos, SP) em 2 planos: músculo-aponeurótico e intradérmico.

FIGURA 11 – ASPECTO DO CÓLON APÓS A REALIZAÇÃO DAS ANASTOMOSES PROXIMAL (A) E DISTAL (B)

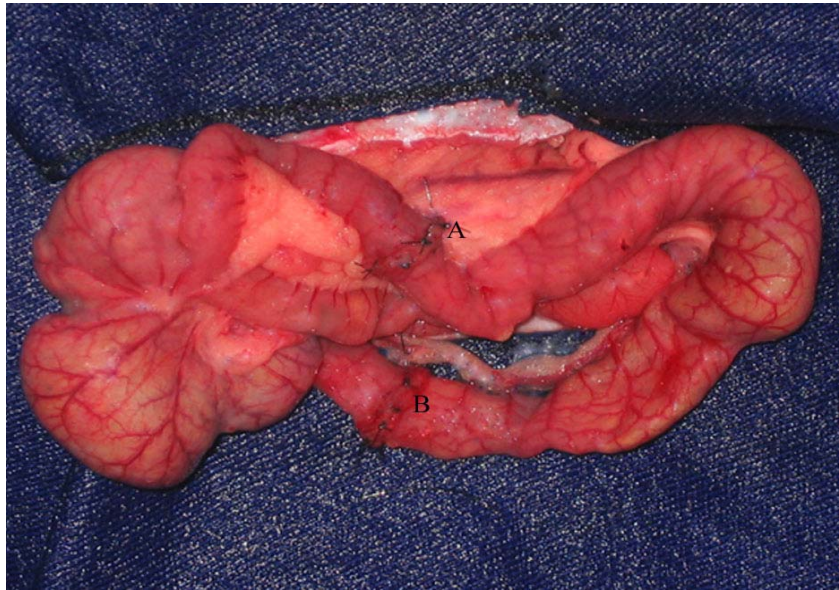
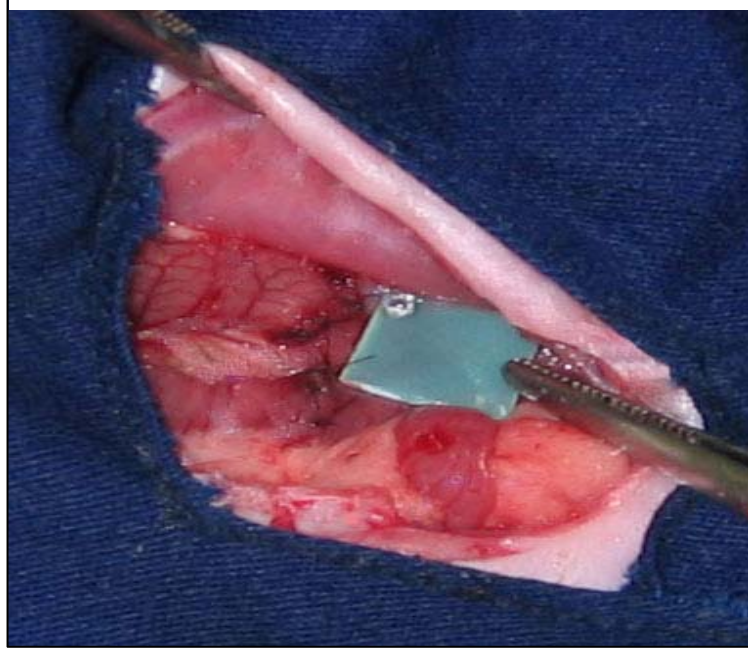


FIGURA 12 - ANASTOMOSES COLÔNICAS FIXADAS NO QUADRANTE ÍNFERO-ESQUERDO



FIGURA 13 – ASPECTO FINAL DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO COM O IMPLANTE DO DOSÍMETRO



3.2.4 Pós-Operatório

Após a recuperação anestésica cada animal foi colocado em sua gaiola de origem, onde voltou a receber, uma hora após ao procedimento, água e ração *ad libitum*, e permaneceu, sob condições já citadas de temperatura e iluminação. Os ratos foram inspecionados diariamente no período da manhã, procedendo-se avaliação da ferida, ocorrência de diarreia e estado geral dos animais.

3.2.5 Morte dos Animais

Metade dos ratos de cada grupo foi morta no quarto dia de pós-operatório e a outra metade no oitavo dia de pós-operatório. Foi utilizada dose letal de éter etílico inalatório. Realizou-se laparotomia mediana para acesso à cavidade abdominal. Na

seqüência, após inspeção cuidadosa da cavidade e classificação das aderências, procedeu-se à lise parcial destas e à retirada de dois segmentos do cólon, de 5 cm de extensão cada, contendo as anastomoses proximal e distal em suas porções médias. Os dois espécimes cirúrgicos de cada animal (proximal e distal) foram conservados alternadamente em solução salina isotônica e formalina a 10% para estudos de tração computadorizada e para estudo histológico, respectivamente. Os dosímetros foram retirados e enviados para análise.

Os animais que evoluíram a óbito durante o experimento foram excluídos de todas as avaliações do estudo. Os grupos foram, no final, compostos da seguinte maneira: C4 com dez animais, C8 com dez animais, RPRE4 com nove animais, RPRE8 com oito animais, RPOS4 com dez animais e RPOS8 com dez animais (figura 14).

FIGURA 14 – SEGMENTO COLÔNICO CONTENDO A ANASTOMOSE EM SUA PORÇÃO MÉDIA



3.2.6 Dados Avaliados

3.2.6.1 Peso

Os ratos tiveram seus pesos aferidos no dia inicial do experimento, isto é, após os sete dias de aclimação no Laboratório de Cirurgia Experimental que corresponde ao dia da realização da fixação das alças intestinais, no dia da confecção das anastomoses colônicas e no dia da morte. A balança eletrônica modelo AM 5500 (*Marte*®, São Paulo, SP) utilizada para tal aferição estava regulada de acordo com os padrões do INMETRO. Os valores do peso foram mensurados e registrados em gramas.

Avaliaram-se as diferenças de peso entre os dias da operação inicial e da morte, bem como das médias das diferenças entre os pesos nos dias da operação e morte.

3.2.6.2 Mortalidade

Todos os animais que, durante o estudo, evoluíram a óbito, apesar de não serem incluídos na análise estatística dos parâmetros de cicatrização, foram laparotomizados para evidenciação da *causa mortis*.

3.2.6.3 Aderências intra-abdominais

Durante a laparotomia inspecionou-se a cavidade abdominal quanto à presença de aderências (figura 15), que foram quantificadas segundo o índice de *Knighthly* (KNIGHTLY, 1962) conforme descrito no Quadro 1.

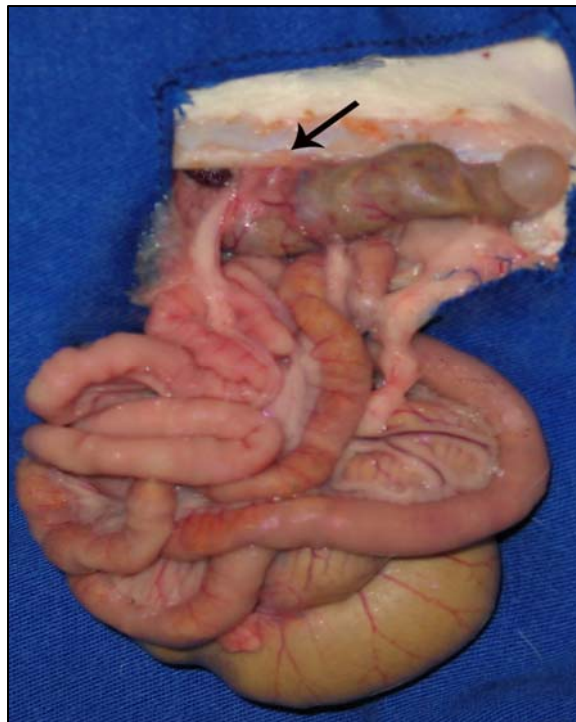
Utilizaram-se, para cálculo, as médias dos índices de cada subgrupo, sendo estas comparadas entre os subgrupos no 4º e 8º dias de pós-operatório.

QUADRO 1 – ÍNDICE DE ADERÊNCIAS DE KNIGHTLY

GRAU	DESCRIÇÃO
0	AUSÊNCIA DE ADERÊNCIAS
1	ADERÊNCIA ÚNICA, FINA E FACILMENTE SEPARÁVEL
2	ADERÊNCIAS EM PEQUENA EXTENSÃO, FRACAS E QUE SE ROMPEM COM PEQUENA TRAÇÃO
3	ADERÊNCIAS VISCERAIS EXTENSAS QUE SE ESTENDEM ATÉ A PAREDE
4	ADERÊNCIAS NUMEROSAS, EXTENSAS E DENSAS QUE ENVOLVEM O MESENTÉRIO, INTESTINO, OMENTO E PAREDE ABDOMINAL

FONTE: KNIGHTLY, 1962

FIGURA 15 – EXEMPLO DE ADERÊNCIA INTRA-ABDOMINAL



3.2.6.4 Força tênsil de ruptura da anastomose colônica

A avaliação da força de tensão da anastomose foi realizada no laboratório do Centro de Pesquisa do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná .

Para avaliação desta variável foi utilizada máquina universal de ensaio mecânico computadorizada, da marca *EMIC*[®], modelo DL-500-MF (*EMIC, São José dos Pinhais , PR*), com garras de pressão ajustáveis manualmente e sistema eletrônico de aquisição de dados com utilização do *software TESC*, versão 1.01 (figura 16).

FIGURA 16 – MÁQUINA DE ENSAIO MECÂNICO COMPUTADORIZADA

1



2



3



4



NOTA: 1 e 2 - painel de controle associado ao dispositivo de tração; 3 e 4 – detalhes do sistema de prensão do dispositivo de tração.

O segmento colônico de cada animal, separado para o ensaio de tração e acondicionado em frascos contendo solução salina a 0,9%, foi fixado com suas extremidades presas às presilhas, contendo a anastomose em sua porção média. Todos os testes de tração foram feitos logo após a ressecção dos corpos de prova. A tração ocorreu com velocidade de 50 mm/minuto, utilizando-se carga de 10 Kg, com sensibilidade de 50 g, com margem de erro de 0,5%, até a ruptura total do corpo de prova. A força de tração foi constantemente mensurada através do computador anexo ao sistema de presilhas (figura 17).

FIGURA 17 – SEQUÊNCIA DEMONSTRANDO ESTUDO DA TRAÇÃO EM CORPOS DE PROVA CONTENDO ANASTOMOSE COLÔNICA

1



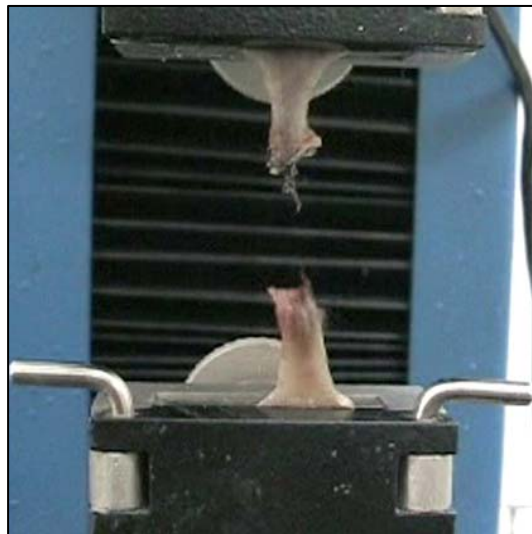
2



3



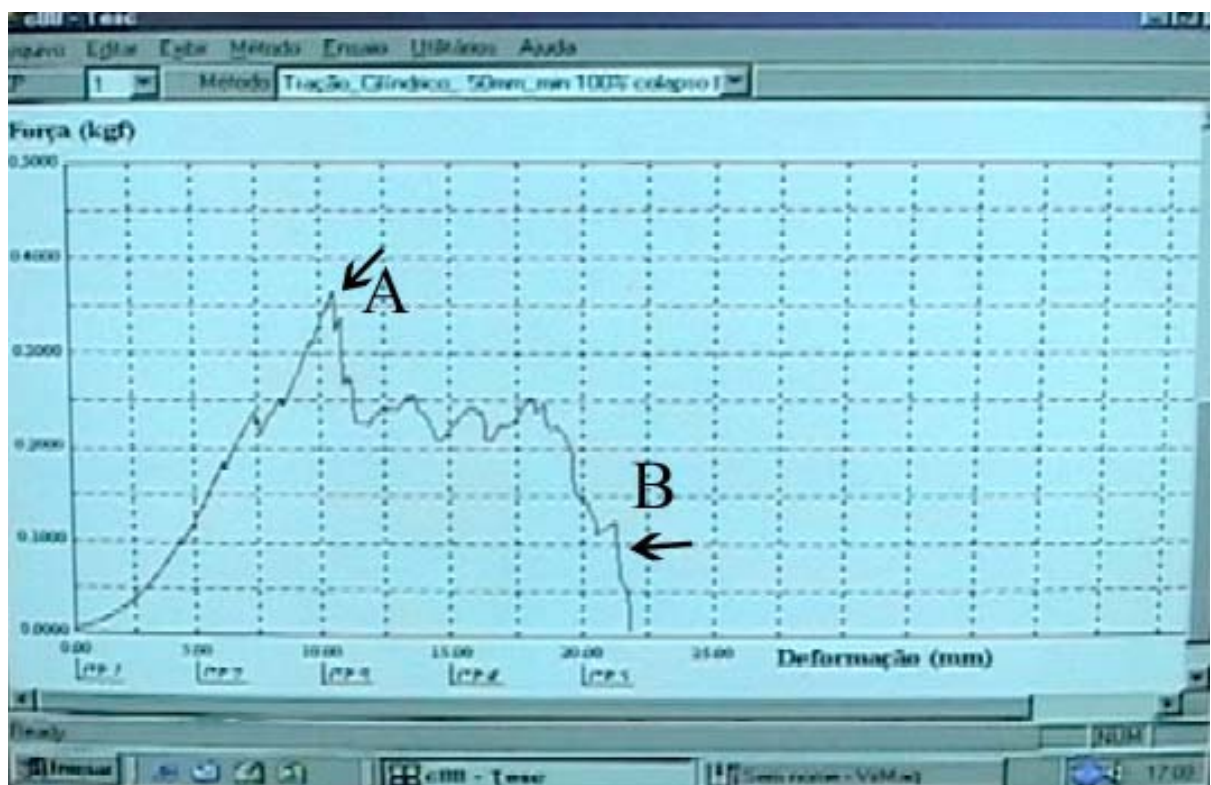
4



O programa demonstrava o sistema de coordenadas cartesianas cujo eixo x representava a unidade Distância e o eixo y a unidade Força. Inicialmente o gráfico apresenta direção ascendente. No momento da ruptura inicial, o gráfico demonstra a mudança imediata de direção correspondendo à Força Máxima de Tração (FMT) suportada pelo corpo de prova. Durante a fase descendente do gráfico, a ruptura da peça estava em progressão, até o momento de queda de tensão ao nível zero; este ponto corresponde à separação total dos cotos colônicos (figura 18). A última força medida pelo computador, no gráfico, foi denominada Força de Ruptura Total (FRT).

As duas variáveis de força (FMT e FRT) foram submetidas a análises comparando-se os animais dentro de seus grupos e entre os diferentes grupos.

FIGURA 18 – GRÁFICO DEMONSTRANDO EVOLUÇÃO DA FORÇA DE RUPTURA DURANTE ENSAIO MECÂNICO



NOTA: A - força máxima de tração (FMT), B- força de ruptura total (FRT)

3.2.6.5 Avaliação histológica

Após a obtenção do segmento colônico de cada animal, destinado à análise histológica, as peças cirúrgicas foram abertas em sentido longitudinal, na borda anti-mesentérica, fixadas em formalina a 10% e encaminhadas para o estudo histológico. Secções perpendiculares ao maior eixo da sutura foram efetuadas e encaminhadas para o processamento histológico, incluindo desidratação, diafanização e emblocamento em parafina histológica. Após microtomia a 4 µm de espessura, os cortes histológicos foram corados pela técnica de hematoxilina-eosina (HE).

As secções histológicas coradas foram examinadas em microscópio óptico marca *Olympus*[®], modelo BH-2, com lentes planas apocromáticas (*Olympus*, Tóquio, Japão). Este método teve o objetivo de avaliar o tipo e quantidade das células predominantes na reação inflamatória (infiltrado polimorfonuclear e monomorfonuclear), presença de edema intersticial, hemorragia, congestão vascular, formação de tecido de granulação, ulceração epitelial e atipias (figuras 19 a 26).

Os dados obtidos pela técnica de HE foram classificados em “abundantes”, “moderados”, “discretos” e “ausentes”, de acordo com a intensidade em que foram encontrados, e transformados em variáveis quantitativas através da atribuição de índice aos achados histológicos, para os seguintes fatores: neutrófilos, edema, congestão, hemorragia, monomorfonucleares. Para os dados correspondentes ao tecido de granulação, ulceração epitelial e atipias foram classificados como “presentes” ou “ausentes”. A presença de edema, congestão, hemorragia e células neutrofílicas foi indicativa de processo inflamatório agudo. Já a presença de tecido de granulação e células monomorfonucleares foi o achado determinante de processo inflamatório crônico. A atribuição dos índices foi realizada pelo mesmo patologista, que não sabia a qual grupo pertencia o animal, conjuntamente com o autor do trabalho, como mostra os QUADROS 2 e 3 (SOUSA, SOARES e APRILLI, 1991).

QUADRO 2 - CLASSIFICAÇÃO E ATRIBUIÇÃO DE ÍNDICES AOS ACHADOS HISTOLÓGICOS DE HEMATOXILINA-EOSINA

Achados de HE	Intensidade dos Achados			
	Abundante	Moderado	Discreto	Ausente
Neutrófilos	3	2	1	0
Edema	3	2	1	0
Congestão	3	2	1	0
Monomorfonucleares	3	2	1	0

QUADRO 3 - CLASSIFICAÇÃO E ATRIBUIÇÃO DE ÍNDICES AOS ACHADOS HISTOLÓGICOS DE HEMATOXILINA-EOSINA

Achados de HE	Intensidade dos Achados	
	Ausente	Presente
Tecido de granulação	0	1
Ulceração epitelial	0	1
Atipias	0	1

FIGURA 19 – EXEMPLO DE INFILTRADO NETROFÍLICO (H.E. , 40X)

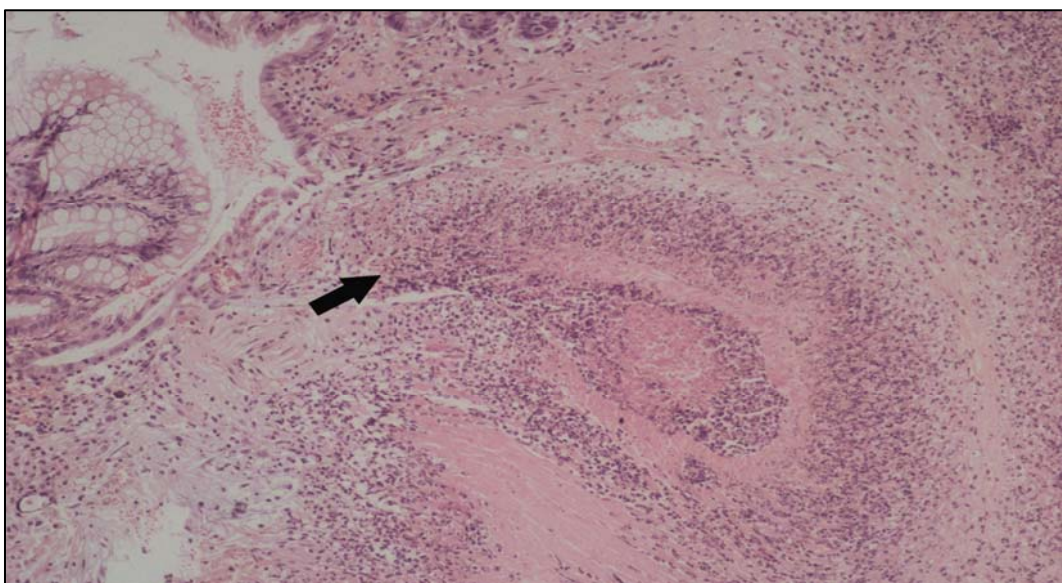


FIGURA 20 – EXEMPLO DE EDEMA DA SUBMUCOSA ASSOCIADO A LINFANGIECTASIA (H.E., 40X)

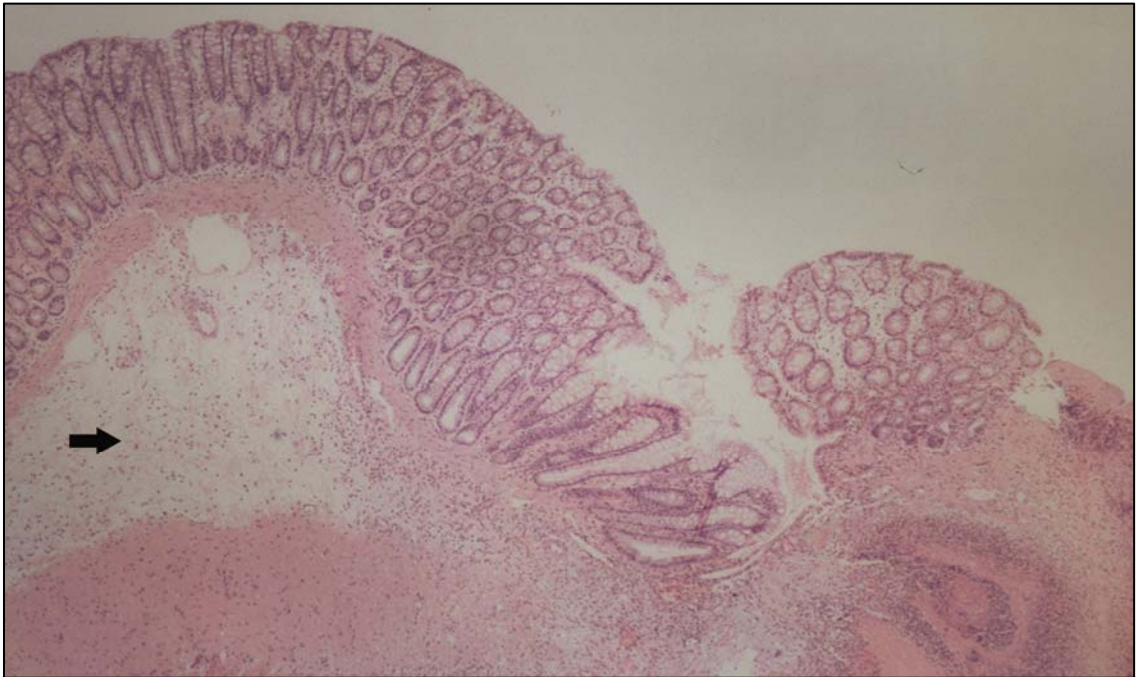


FIGURA 21 – EXEMPLO DE CONGESTÃO VASCULAR (H.E., 40X)

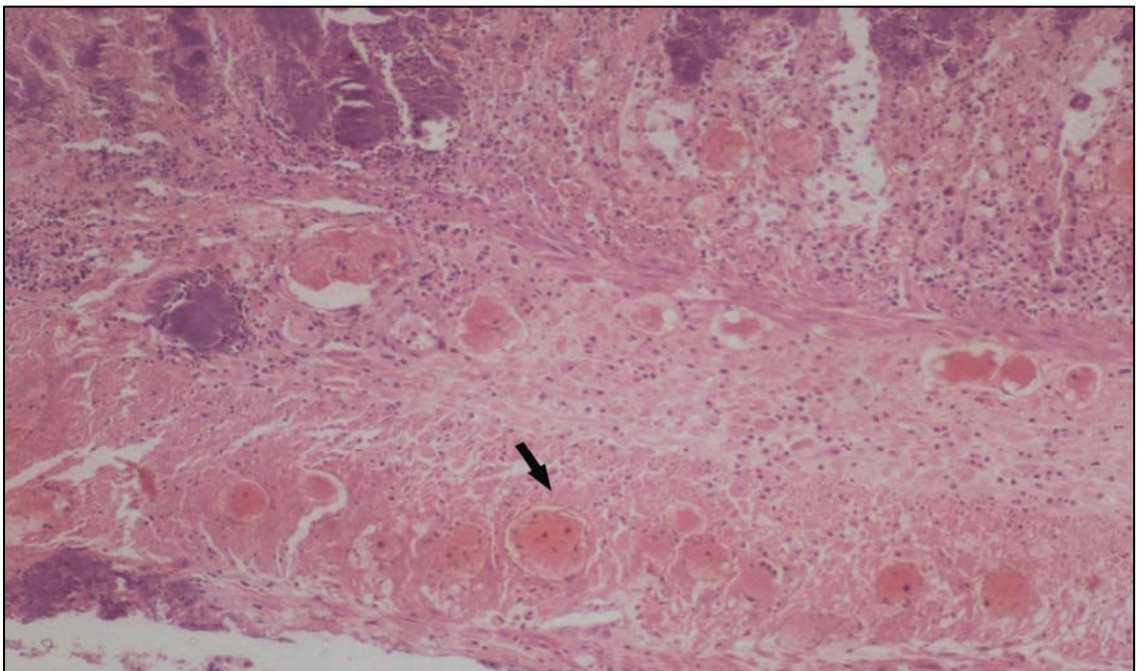


FIGURA 22 – EXEMPLO DE INFILTRADO MONOMORFONUCLEAR
(H.E., 100X)

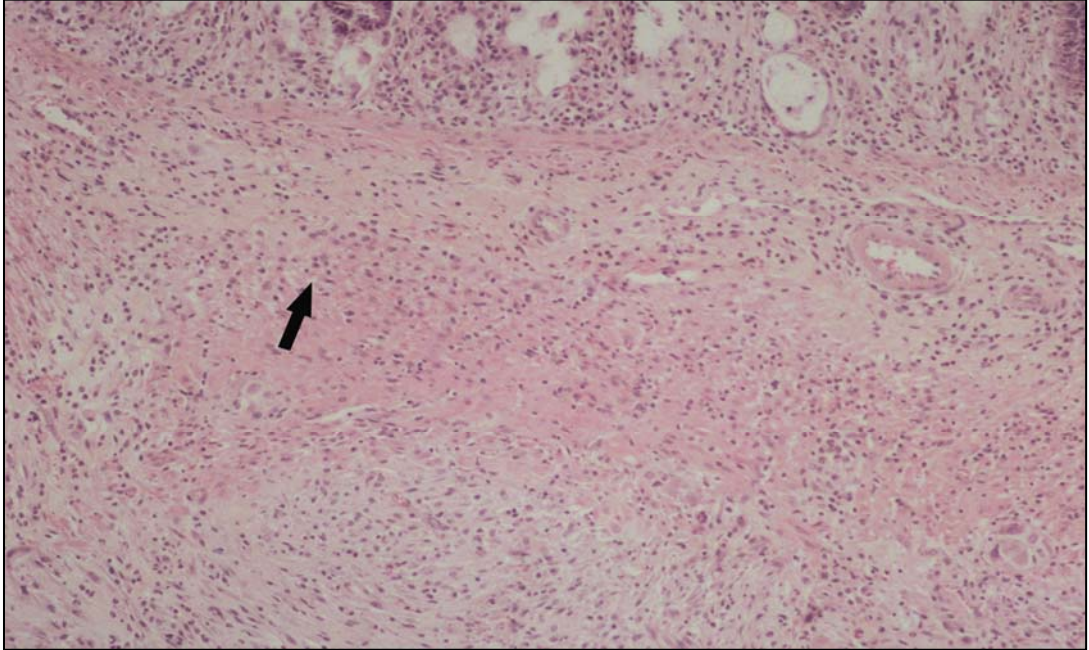


FIGURA 23 – EXEMPLO DE TECIDO DE GRANULAÇÃO
(H.E., 40X)

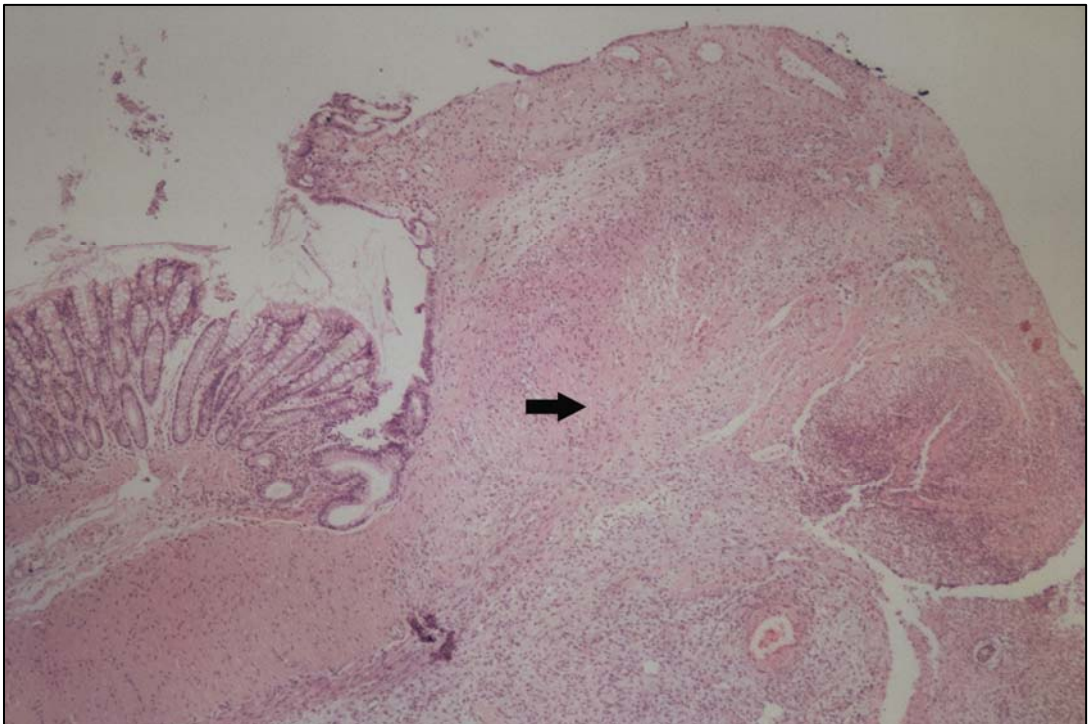


FIGURA 24 – EXEMPLO DE HEMORRAGIA (H.E., 40X)

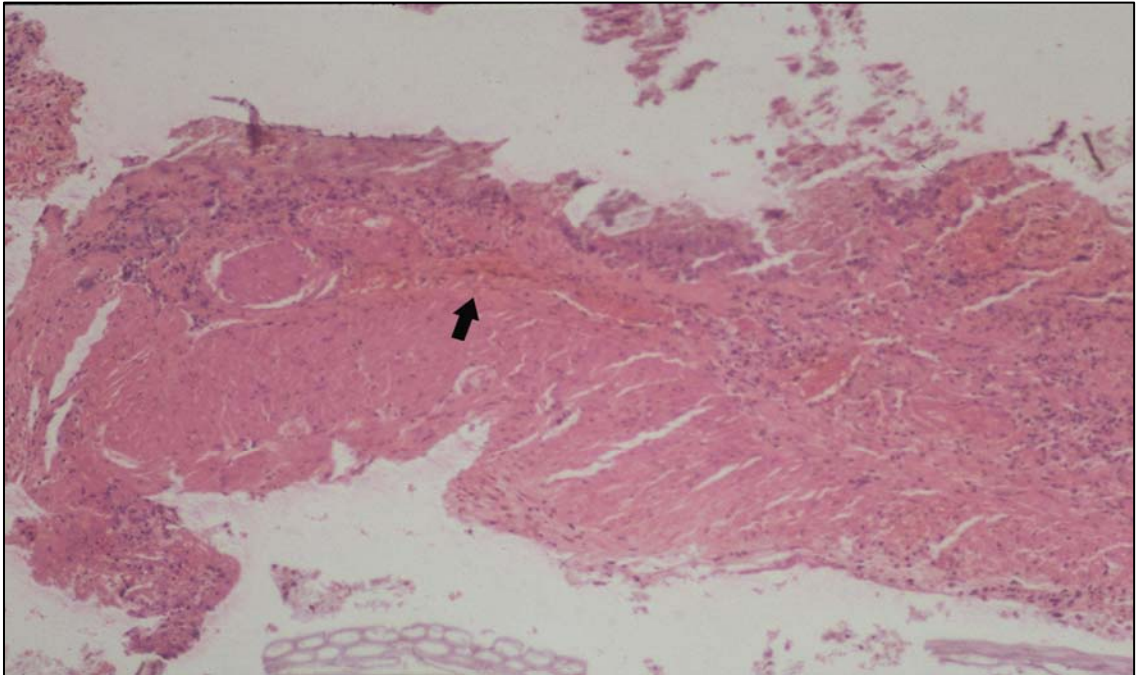


FIGURA 25 – EXEMPLO DE ULCERAÇÃO EPITELIAL (H.E., 40X)

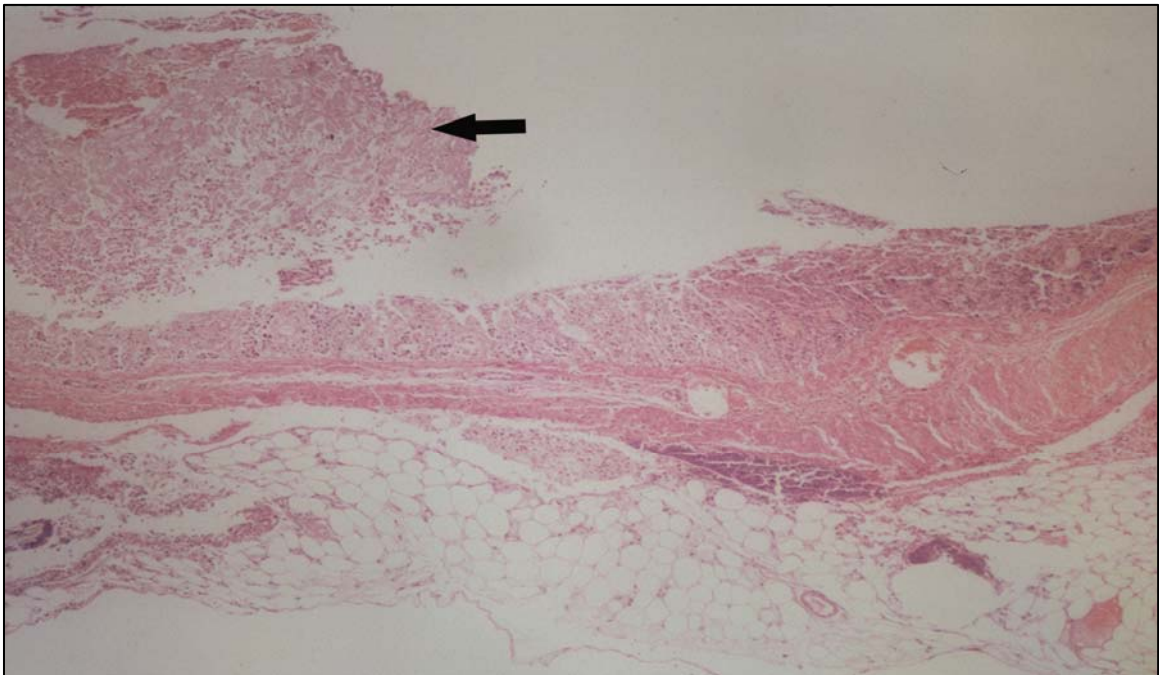
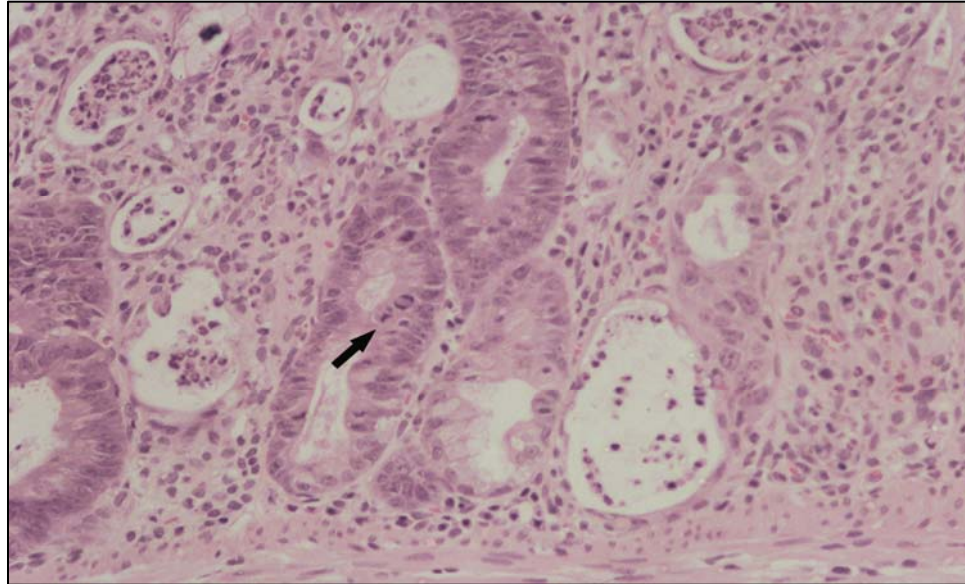


FIGURA 26 – EXEMPLO DE ATIPIAS REGENERATIVAS
(H.E., 200X)



Após a atribuição dos índices, procedeu-se à somatória destes, de maneira que cada grupo de animais obteve uma média para cada parâmetro analisado.

Adicionalmente, os cortes histológicos foram submetidos à coloração de *picrosirius-red* F3BA para identificação de colágenos maduro e imaturo por técnica de microscopia com luz polarizada e análise morfométrica computadorizada. Nesta técnica analisaram-se os cortes histológicos através de microscópio óptico da marca *Olympus*[®] (*Olympus*, Tóquio, Japão), em aumento de 400 vezes, utilizando-se fonte de luz polarizada. As imagens foram captadas por uma câmera *Sony*[®] CCD 101 (*Sony*, Tóquio, Japão), transmitidas ao monitor colorido *Trinitron Sony*[®], congeladas e digitalizadas através de placas *Oculus TCX* (figura 27). Finalmente, foi realizada a análise das imagens através do aplicativo *Image Pro-plus* versão 4.5 para *Windows* em computador da linha *Pentium*[®] III 733Mhz. A calibração do sistema foi baseada na densidade óptica dos pontos de resolução (“*pixels*”) que formam as imagens, selecionando-se o valor limite de melhor resolução. No sistema RGB (“*Red, Green, Blue*”) foram considerados valores para tons de vermelho, amarelo e laranja (colágeno tipo I) e para tons de verde (colágeno tipo III). Todas as lâminas foram avaliadas sob

as mesmas condições de regulagem, dentro dos parâmetros exigidos pelo referido aplicativo (figura 28).

FIGURA 27 – EXEMPLO DE FOTOMICROGRAFIA (40X) CORADA POR *PICROSIRIUS-RED* ANTES E DEPOIS DA POLARIZAÇÃO DA LUZ

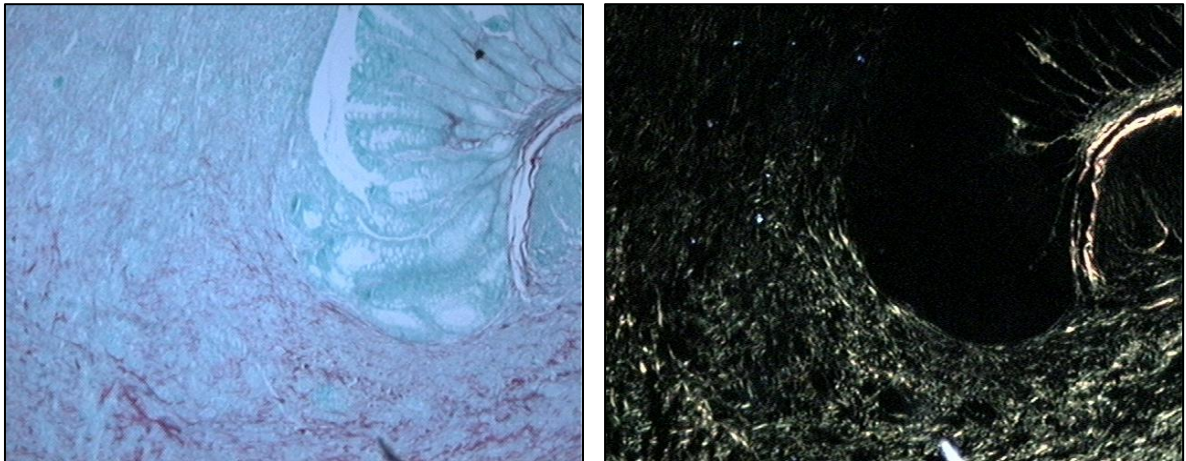
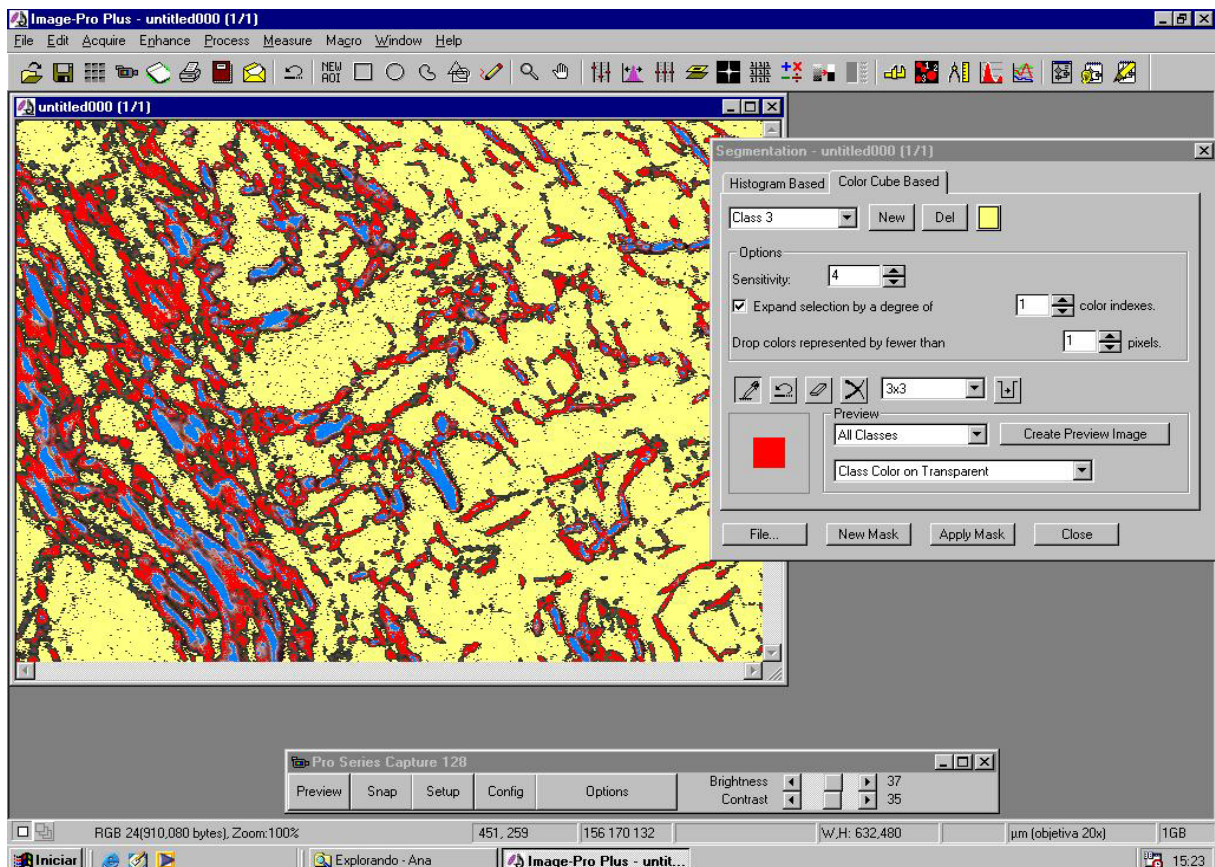


FIGURA 28 – DEMONSTRAÇÃO DO APLICATIVO *IMAGE PRÓ-PLUS* VERSÃO 4.5 NA ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO COLÁGENO



Nos cortes histológicos analisados determinou-se o campo microscópico sobre a linha de sutura e foram obtidas medidas de três áreas distintas (superior, médio e inferior). Em cada uma delas calculou-se a percentagem da área ocupada pelas fibras que continham colágeno dos tipos I e III, em relação a área total examinada. Considerou-se como medida da percentagem de fibras colágenas a média das áreas superior, média e inferior.

A partir da medida da percentagem de fibras colágenas foi calculado o índice de maturação de colágeno (IMaC), definido como a razão entre essas percentagens:

$$\text{IMaC} = \frac{\% \text{ de colágeno maduro (tipo I)}}{\% \text{ de colágeno imaturo (tipo III)}}$$

Valores maiores do que um indicam que a percentagem de colágeno tipo I é maior do que a percentagem de colágeno do tipo III.

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para as variáveis quantitativas observaram-se os pré-requisitos da distribuição normal (Gaussiana) e da homogeneidade da variância para a escolha dos testes estatísticos. Na análise não paramétrica foi utilizado o teste de *Kruskal-Wallis* e na análise paramétrica o teste *t de Student*, para a comparação das médias das variáveis, avaliando-se também as diferenças entre os pesos nos dias da morte e o inicial. Foi utilizado o teste *Qui-quadrado* ou a probabilidade exata de *Fisher*, conforme as frequências esperadas, para a avaliação da independência entre a presença dos índices histológicos (HE) de tecido de granulação, ulceração epitelial e atípicas, e dias da morte dentro dos grupos e entre os grupos, para o quarto e oitavo dias da morte dos animais. Os resultados foram apresentados na forma de média \pm erro-padrão da média ($M \pm \text{EPM}$). Em todos os testes estatísticos, o nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

Dos 20 ratos que foram submetidos à radioterapia pré-operatória 3 foram a óbito; um do grupo RPRE4 e outro do grupo RPRE8 por deiscência anastomótica e peritonite fecal, e outro do grupo RPRE8 por oclusão intestinal em decorrência de volvo intestinal.

Os ratos submetidos à radioterapia pré-operatória e pós-operatória apresentaram diarreia a partir do terceiro dia da irradiação, persistindo até o momento da morte nos animais do grupo submetido à radioterapia pós-operatória ou até o momento da cirurgia para a confecção das anastomoses intestinais no grupo da radioterapia pré-operatória. Esses ratos, após o início da diarreia, apresentaram diminuição da atividade física e indisposição para alimentação, o que provocou perda de peso significativa nos grupos submetidos à radioterapia. Os ratos do grupo controle não apresentaram os efeitos colaterais anteriormente descritos.

4.1 PESO

Todos os animais apresentaram perda ponderal após a realização das anastomoses intestinais, sendo mais expressiva nos grupos submetidos à radioterapia, e esta foi inferior a 10% do peso inicial.

As médias e os erros-padrão da variação peso para cada grupo e entre os grupos estão apresentadas nas tabelas 1 e 2.

A média de peso inicial foi maior no subgrupo C4 em relação ao subgrupo C8 ($p=0,04$) e também em relação aos subgrupos RPRE4 ($p=0,01$) e RPOS4 ($p=0,02$). Não houve diferenças significativas nos pesos iniciais quando comparados os outros subgrupos entre si.

A média de peso final foi maior no subgrupo C4 em relação ao subgrupo C8 ($p=0,004$) e também em relação aos subgrupos RPRE4 ($p=0,0001$) e RPOS4

($p=0,002$). Da mesma forma, a média de peso final foi maior no subgrupo C8 em relação aos subgrupos RPRE8 ($p=0,001$) e RPOS8 ($p=0,0001$). Quando comparados os demais subgrupos entre si não houve diferenças significativas em relação ao peso final.

TABELA 1 - COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO PESO INICIAL E PESO FINAL INTRA-GRUPOS (C, RPRE E RPOS) NO 4º E 8º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO

GRUPOS	n	PESO INICIAL		p	PESO FINAL	
		MÉDIA	± EP		MÉDIA	± EP
C4	10	297,50	± 4,08	0,04	291,20	± 4,50
C8	10	287,30	± 2,07		278,60	± 2,15
RPRE4	9	282,56	± 3,40	0,05	260,78	± 3,84
RPRE8	8	291,50	± 1,05		267,25	± 1,76
RPOS4	10	285,30	± 2,06	0,78	269,20	± 2,17
RPOS8	10	286,20	± 2,49		263,50	± 2,17

NOTA: n - n° de animais, EP - erro-padrão, p - nível de significância estatística

TABELA 2 - COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO PESOS INICIAL E PESO FINAL INTER-GRUPOS (C, RPRE E RPOS) NO 4º E 8º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO

GRUPOS	n	PESO INICIAL		p	PESO FINAL	
		MÉDIA	± EP		MÉDIA	± EP
C4	10	297,50	± 4,80	0,01	291,20	± 4,50
RPRE4	9	282,56	± 3,40		260,78	± 3,84
C4	10	297,50	± 4,08	0,02	291,20	± 4,50
RPOS4	10	285,30	± 2,06		269,20	± 2,17
RPRE4	9	282,56	± 3,40	0,49	260,78	± 3,38
RPOS4	10	285,30	± 2,06		269,20	± 2,17
C8	10	287,30	± 2,07	0,13	278,60	± 2,15
RPRE8	8	291,50	± 1,05		267,25	± 1,79
C8	10	287,30	± 2,07	0,74	278,60	± 2,15
RPOS8	10	286,20	± 2,49		263,50	± 2,17
RPRE8	8	291,50	± 1,05	0,15	267,25	± 1,76
RPOS8	10	286,20	± 2,49		263,50	± 2,17

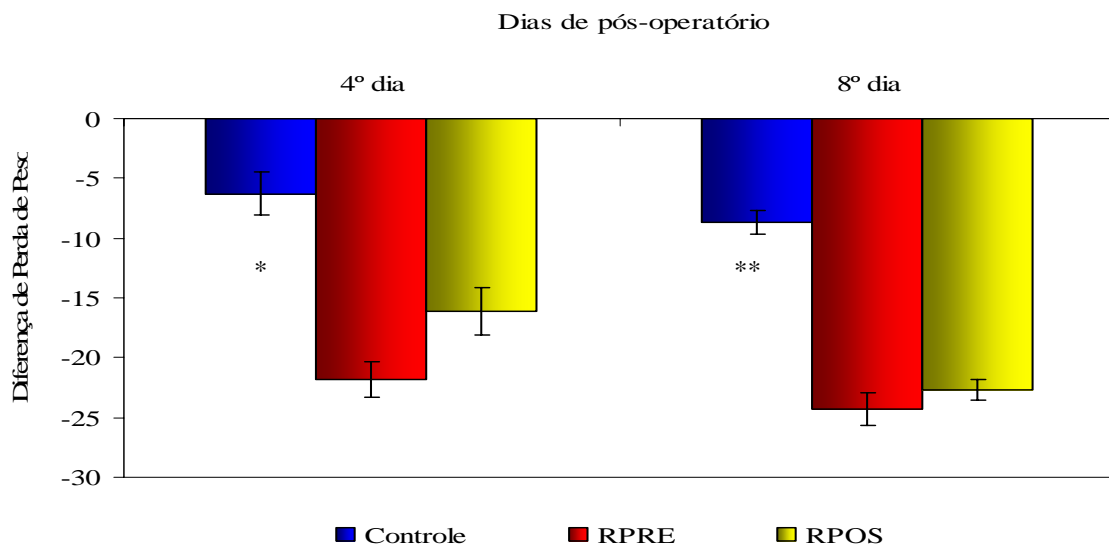
NOTA: n - n° de animais, EP - erro-padrão, p - nível de significância estatística

4.1.1 Variação de Peso

Como todos os ratos apresentaram perda ponderal após a realização das anastomoses intestinais, as médias das diferenças de peso nos do dia da morte (peso final) e o do dia da cirurgia para fixação das alças intestinais e implante do dosímetro (peso inicial) foram negativas.

A média das diferenças entre os pesos final e inicial foi significativamente maior para o subgrupo RPOS8 em relação ao subgrupo RPOS4. Ao compararem-se os subgrupos entre si, não houve diferença significativa da média das diferenças entre os pesos final e inicial apenas quando comparamos os subgrupos RPRE8 e RPOS8. Os ratos dos subgrupos controle (C4 e C8) tiveram uma diferença significativa menor da média das diferenças entre os pesos final e inicial em relação aos ratos dos subgrupos submetidos à radioterapia pré ou pós-operatória (RPRE4, RPRE8, RPOS4 e RPOS8) (gráfico 1).

GRAFICO 1 – MÉDIA DA DIFERENÇA DE PESO ENTRE OS GRUPOS



NOTA: * $p=0,0001$ – comparação entre os subgrupos C4 e RPRE4

* $p=0,002$ – comparação entre os subgrupos C4 e RPOS4

** $p=0,0004$ – comparação entre os subgrupos C8 e RPRE8

** $p=0,0001$ – comparação entre os subgrupos C8 e RPOS8

4.2 DOSIMETRIA

As médias e os erros-padrão da dosimetria para cada grupo e entre os grupos estão apresentados nas tabelas 3 e 4. Não foram encontradas diferenças estatística entre os grupos. As leituras dos dosímetro dos subgrupos controle (C4 e C8) foram iguais à zero, pois os mesmos não receberam radiação durante o experimento.

TABELA 3 - COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DA DOSIMETRIA INTRA-GRUPOS (RPRE E RPOS)

GRUPOS	n	DOSIMETRIA	p
		MÉDIA ± EP	
RPRE4	9	19,52 ± 0,07	0,26
RPRE8	8	19,63 ± 0,07	
RPOS4	10	19,55 ± 0,08	0,71
RPOS8	10	19,59 ± 0,09	

NOTA: n - n^o de animais, EP - erro-padrão, p - nível de significância estatística

TABELA 4 - COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DA DOSIMETRIA INTER-GRUPOS (RPRE E RPOS)

GRUPOS	n	DOSIMETRIA	p
		MÉDIA ± EP	
RPRE4	9	19,52 ± 0,07	0,80
RPOS4	10	19,55 ± 0,08	
RPRE8	8	19,63 ± 0,07	0,71
RPOS8	10	19,59 ± 0,09	

NOTA: n - n^o de animais, EP - erro-padrão, p - nível de significância estatística

4.3 ADERÊNCIAS INTRA-ABDOMINAIS

As aderências intra-abdominais tiveram suas médias e erros-padrão calculadas e comparadas dentro dos grupos controle (C), radioterapia pré-operatória (RPRE) e radioterapia pós-operatória (RPOS), bem como entre os grupos controle (C), radioterapia pré-operatória (RPRE) e radioterapia pós-operatória (RPOS) (tabelas 5 e 6). Não houve diferença significativa no índice de aderências dentro dos subgrupos.

Ao compararem-se os subgrupos entre si, o índice de aderências foi maior no subgrupo RPOS4 em relação aos subgrupos C4 ($p=0,001$) e RPRE4 ($p=0,04$), assim como, o índice de aderências foi maior no subgrupo RPOS8 em relação aos subgrupos RPRE8 ($p=0,02$).

TABELA 5 - COMPARAÇÃO DOS ÍNDICES DE ADERÊNCIA INTRA-ABDOMINAIS INTRA-GRUPOS (C, RPRE E RPOS)

GRUPOS	n	ADERÊNCIAS		p
		MÉDIA	± EP	
C4	10	1,80	± 0,13	0,36
C8	10	2,10	± 0,28	
RPRE4	9	2,11	± 0,26	0,74
RPRE8	8	2,25	± 0,16	
RPOS4	10	3,00	± 0,26	0,55
RPOS8	10	2,80	± 0,13	

NOTA: n - nº de animais, EP - erro-padrão, p - nível de significância estatística

TABELA 6 - COMPARAÇÃO DOS ÍNDICES DE ADERÊNCIAS INTRA-ABDOMINAIS INTER-GRUPOS (C, RPRE E RPOS)

GRUPOS	n	ADERÊNCIAS		p
		MÉDIA	± EP	
C4	10	1,80	± 0,13	0,29
RPRE4	9	2,11	± 0,26	
C4	10	1,80	± 0,13	0,001
RPOS4	10	3,00	± 0,26	
RPRE4	9	2,11	± 0,26	0,04
RPOS4	10	3,00	± 0,26	
C8	10	2,10	± 0,28	0,77
RPRE8	8	2,25	± 0,16	
C8	10	2,10	± 0,28	0,05
RPOS8	10	2,80	± 0,13	
RPRE8	8	2,25	± 0,16	0,02
RPOS8	10	2,80	± 0,13	

NOTA: n - nº de animais, EP - erro-padrão, p - nível de significância estatística

4.4 FORÇA TÊNซิล DE RUPTURA

Todos os corpos de prova avaliados no presente estudo apresentaram padrão de ruptura anastomótica, não havendo nenhum caso em que a ruptura tenha ocorrido fora da anastomose. A força máxima de tração (FMT) e a força de ruptura total (FRT) foram analisadas e tiveram suas médias e erros-padrão calculadas e comparadas dentro dos grupos controle (C), radioterapia pré-operatória (RPRE) e radioterapia pós-operatória (RPOS), bem como entre os grupos controle (C), radioterapia pré-operatória (RPRE) e radioterapia pós-operatória (RPOS), estando os dados obtidos representados nas tabelas 7 e 8 e nos gráficos 2 e 3. A média da FMT foi estatisticamente maior para o subgrupo C8 em relação aos subgrupos C4 ($p=0,0002$), RPRE8 ($p=0,002$) e RPOS8 ($p=0,0002$). Da mesma forma, a FMT foi estatisticamente maior no subgrupo RPRE8 em relação ao subgrupo RPRE4 ($p=0,01$).

Em relação à FRT, a média foi estatisticamente maior no subgrupo C8 em comparação com os subgrupos C4 ($p=0,0002$), RPRE8 ($p=0,0003$) e RPOS8 ($p=0,0002$). Da mesma forma, a média da FRT foi estatisticamente maior no subgrupo C4 em relação aos subgrupos RPRE4 ($p=0,008$) e RPOS4 ($p=0,01$).

TABELA 7 - COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DA FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO (FMT) E FORÇA DE RUPTURA TOTAL (FRT) INTRA-GRUPOS (C, RPRE E RPOS)

GRUPOS	n	FORÇAS TÊNซิล DE RUPTURA					
		FMT			FRT		
		MÉDIA	± EP	p	MÉDIA	± EP	p
C4	10	0,55	± 0,03	0,0002	0,14	± 0,01	0,0002
C8	10	1,31	± 0,51		0,28	± 0,03	
RPRE4	9	0,49	± 0,03	0,01	0,11	± 0,00	0,10
RPRE8	8	0,71	± 0,07		0,14	± 0,01	
RPOS4	10	0,54	± 0,04	0,10	0,11	± 0,01	0,08
RPOS8	10	0,64	± 0,04		0,13	± 0,01	

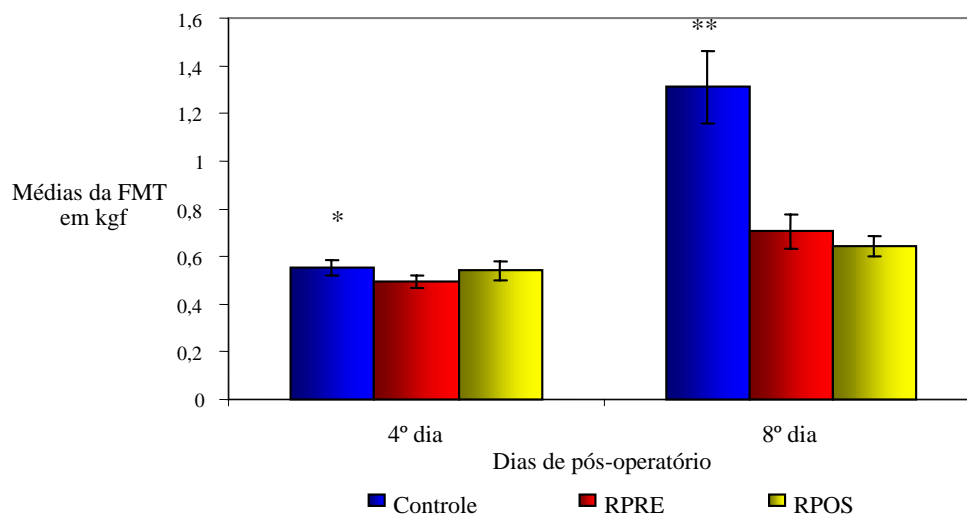
NOTA: n - n^o de animais, EP - erro-padrão, p - nível de significância estatística, FMT - força máxima de tração, FRT - força de ruptura total

TABELA 8 - COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DA FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO (FMT) E DA FORÇA DE RUPTURA TOTAL (FRT) INTER-GRUPOS (C, RPRE E RPOS)

GRUPOS	n	FORÇAS TÊNSIS DE RUPTURA			
		FMT		FRT	
		MÉDIA ± EP	p	MÉDIA ± EP	p
C4	10	0,55 ± 0,03	0,18	0,14 ± 0,01	0,008
RPRE4	9	0,49 ± 0,02		0,11 ± 0,00	
C4	10	0,55 ± 0,03	0,81	0,14 ± 0,01	0,01
RPOS4	10	0,54 ± 0,04		0,11 ± 0,01	
RPRE4	9	0,49 ± 0,03	0,34	0,11 ± 0,00	0,75
RPOS4	10	0,54 ± 0,04		0,11 ± 0,01	
C8	10	1,31 ± 0,15	0,002	0,28 ± 0,03	0,0003
RPRE8	8	0,71 ± 0,07		0,14 ± 0,01	
C8	10	1,31 ± 0,15	0,0002	0,28 ± 0,03	0,0002
RPOS8	10	0,64 ± 0,04		0,13 ± 0,01	
RPRE8	8	0,71 ± 0,07	0,43	0,14 ± 0,01	0,48
RPOS8	10	0,64 ± 0,04		0,13 ± 0,01	

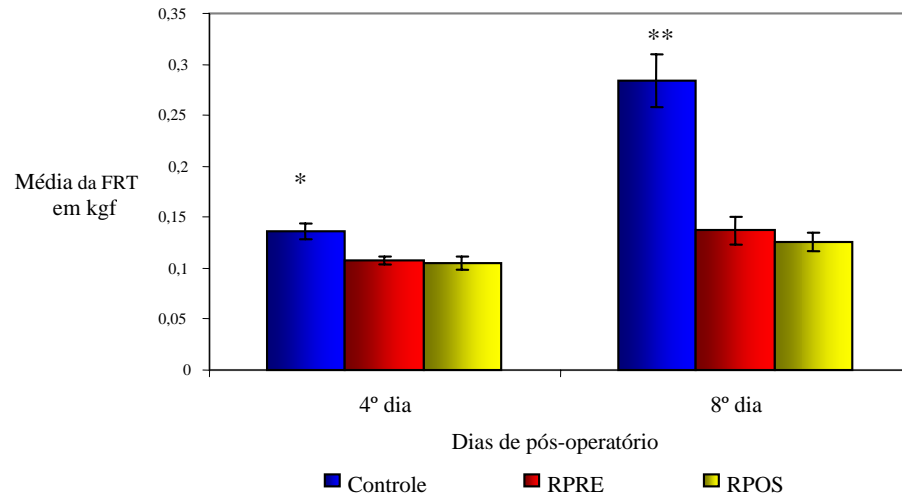
NOTA: n - n° de animais, EP - erro-padrão, p - nível de significância estatística, FMT força máxima de tração e FRT - força de ruptura total

GRÁFICO 2 – COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DE FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO ENTRE OS GRUPOS DE ESTUDO



NOTA: * p= 0,0002 – comparação entre os subgrupos C4 e C8
 ** p= 0,002 - comparação entre os subgrupos C8 e RPRE8
 ** p= 0,0002 – comparação entre os subgrupos C8 e RPOS8

GRÁFICO 3 – COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DE FORÇA DE RUPTURA TOTAL ENTRE OS GRUPOS DE ESTUDO



NOTA: * $p=0,0002$ – comparação entre os subgrupos C4 e C8
 * $p=0,008$ – comparação entre os subgrupos C4 e RPRE4
 * $p=0,01$ - comparação entre os subgrupos C4 e RPOS4
 ** $p=0,0003$ – comparação entre os subgrupos C8 e RPRE8
 ** $p=0,0002$ - comparação entre os subgrupos C8 e RPOS8

4.5 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

4.5.1 Coloração de Hematoxilina-Eosina

Com relação ao índice de infiltrado neutrofílico (PMN), o mesmo foi maior para o subgrupo C4 em comparação com os subgrupos C8 ($p=0,0003$), RPRE4 ($p=0,003$) e RPOS4 ($p=0,005$). Na comparação entre o subgrupo C8 com os subgrupos RPRE8 e RPOS8 a média do subgrupo C8 foi menor em relação aos subgrupos RPRE8 ($p=0,02$) e RPOS8 ($p=0,003$) (tabelas 9 e 10 e gráfico 4).

TABELA 9 -COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DOS ÍNDICES HISTOLÓGICOS (HE) NEUTRÓFILOS , EDEMA E CONGESTÃO INTRA-GRUPOS (C, RPRE E RPOS)

GRUPOS	n	ÍNDICES HISTOLÓGICOS (HE)					
		NEUTRÓFILOS		EDEMA		CONGESTÃO	
		MÉDIA ± EP	p	MÉDIA ± EP	p	MÉDIA ± EP	p
C4	10	2,80 ± 0,13	0,0003	1,40 ± 0,16	0,0001	1,20 ± 0,36	0,007
C8	10	1,50 ± 0,17		0,00 ± 0,00		0,10 ± 0,10	
RPRE4	9	1,78 ± 0,22	0,19	0,11 ± 0,11	0,47	2,00 ± 0,29	0,13
RPRE8	8	2,12 ± 0,12		0,25 ± 0,16		1,25 ± 0,37	
RPOS4	10	1,80 ± 0,25	0,07	0,30 ± 0,15	0,61	1,00 ± 0,26	0,01
RPOS8	10	2,40 ± 0,16		0,20 ± 0,13		2,30 ± 0,40	

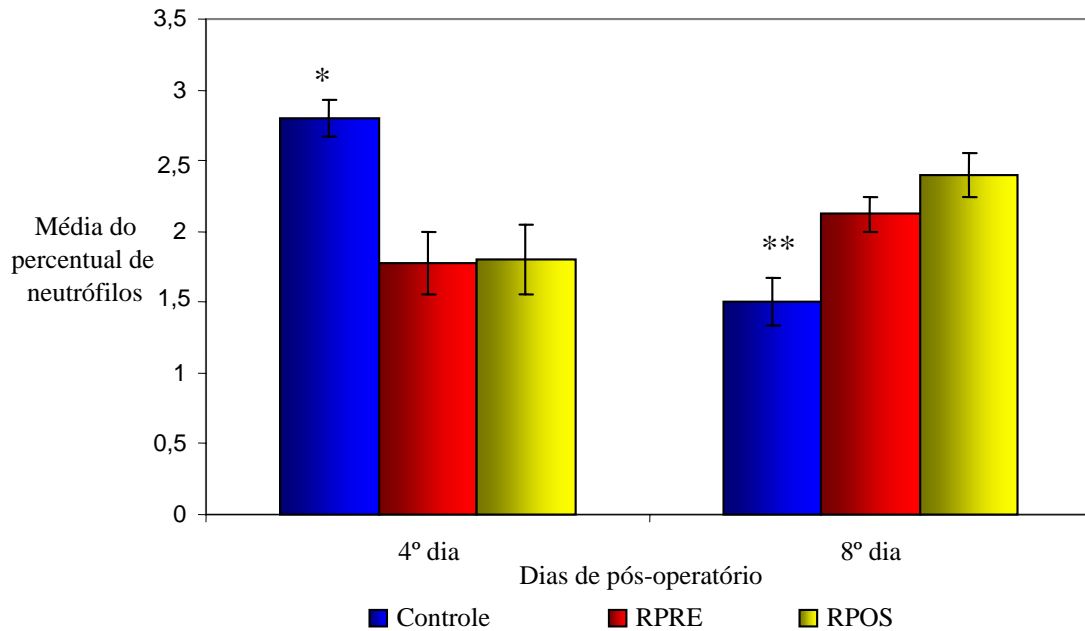
NOTA: n - nº de animais, EP - erro-padrão, p - nível de significância estatística

TABELA 10 -COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DOS ÍNDICES HISTOLÓGICOS (HE) NEUTRÓFILOS, EDEMA E CONGESTÃO INTER-GRUPOS (C, RPRE E RPOS)

GRUPOS	n	ÍNDICES HISTOLÓGICOS (HE)					
		NEUTRÓFILOS		EDEMA		CONGESTÃO	
		MÉDIA ± EP	p	MÉDIA ± EP	p	MÉDIA ± EP	p
C4	10	2,80 ± 0,13	0,003	1,40 ± 0,16	0,0002	1,20 ± 0,36	0,10
RPRE4	9	1,78 ± 0,22		0,11 ± 0,11		2,00 ± 0,29	
C4	1	2,80 ± 0,13	0,005	1,40 ± 0,16	0,0008	1,20 ± 0,36	0,81
RPOS4	10	1,80 ± 0,25		0,30 ± 0,15		1,00 ± 0,26	
RPRE4	9	1,78 ± 0,22	1,00	0,11 ± 0,11	0,33	2,00 ± 0,29	0,03
RPOS4	1	1,80 ± 0,25		0,30 ± 0,15		1,00 ± 0,26	
C8	10	1,50 ± 0,17	0,02	0,00 ± 0,00	0,10	0,10 ± 0,10	0,005
RPRE8	8	2,12 ± 0,12		0,25 ± 0,16		1,25 ± 0,37	
C8	1	1,50 ± 0,17	0,003	0,00 ± 0,00	0,15	0,10 ± 0,10	0,0009
RPOS8	10	2,40 ± 0,16		0,20 ± 0,13		2,30 ± 0,40	
RPRE8	8	2,12 ± 0,12	0,21	0,25 ± 0,16	0,80	1,25 ± 0,37	0,05
RPOS8	1	2,40 ± 0,16		0,20 ± 0,13		2,30 ± 0,40	

NOTA: n - nº de animais, EP - erro-padrão, p - nível de significância estatística

GRÁFICO 4 – COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO PERCENTUAL DE NEUTRÓFILOS



NOTA: * $p=0,0003$ - comparação entre os subgrupos C4 e C8

* $p=0,003$ - comparação entre os subgrupos C4 e RPRE4

* $p=0,005$ - comparação entre os subgrupos C4 e RPOS4

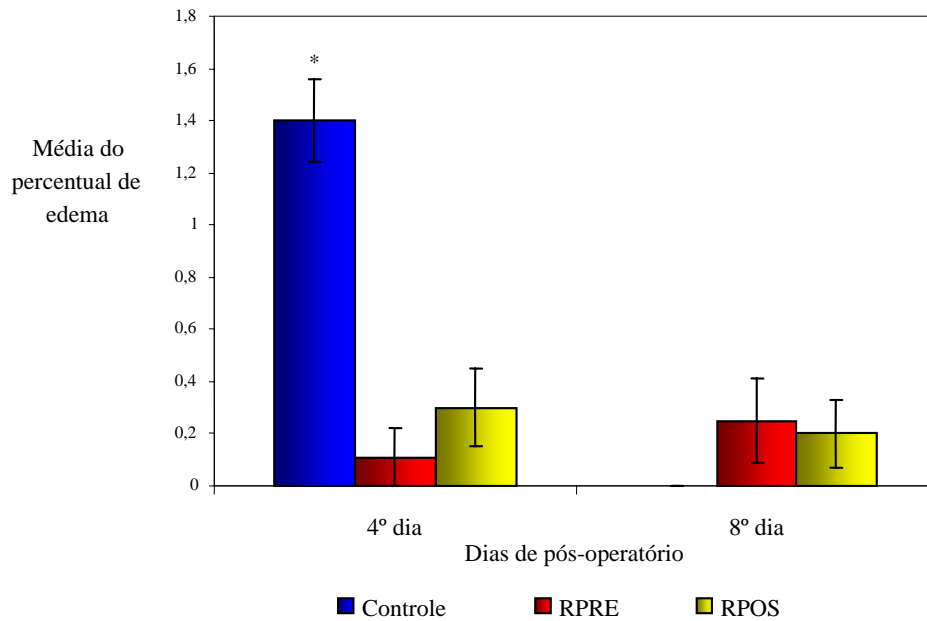
** $p=0,02$ – comparação entre os subgrupos C8 e RPRE8

** $p=0,003$ – comparação entre os subgrupos C8 e RPOS8

O índice de edema (outro parâmetro histológico de processo inflamatório agudo) foi maior no subgrupo C4 em relação aos subgrupos C8 ($p=0,0001$), RPRE4 ($p=0,0002$) e RPOS4 ($p=0,0008$). Avaliando-se o mesmo parâmetro entre os demais subgrupos não houve diferença estatística significativa (tabelas 9 e 10 e gráfico 5).

Com relação ao índice de congestão, foi observada média estatisticamente maior no subgrupo C4 em relação ao subgrupo C8 ($p=0,007$). A média do índice de congestão foi menor no subgrupo C8 em comparação com os subgrupos RPRE8 ($p=0,005$) e RPOS8 ($p=0,0009$). Da mesma forma, a média do índice congestão foi menor no subgrupo RPOS4 em relação aos subgrupos RPOS8 ($p=0,01$) e RPRE4 ($p=0,03$) (tabelas 9 e 10 e gráfico 6).

GRÁFICO 5 – COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO PERCENTUAL DE EDEMA

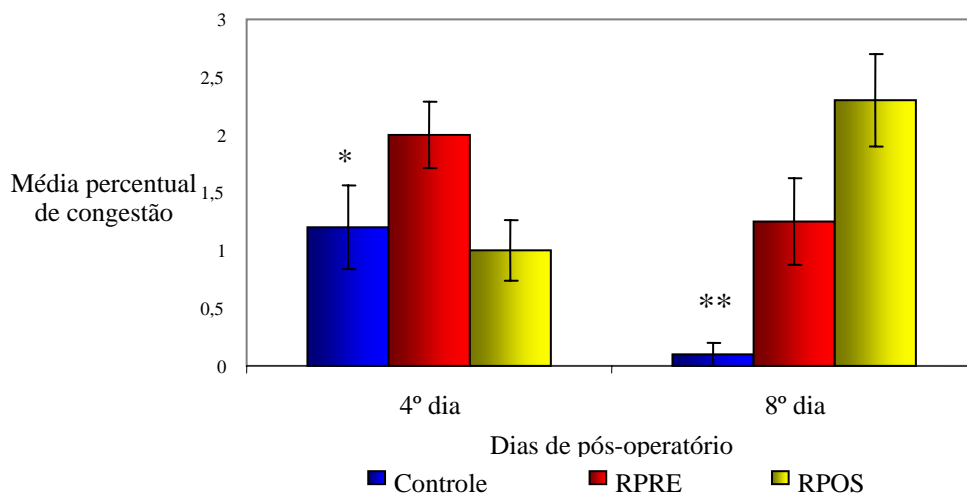


NOTA: * $p=0,0001$ – comparação entre os subgrupos C4 e C8

* $p=0,0002$ – comparação entre os subgrupos C4 e RPRE4

* $p=0,0008$ – comparação entre os subgrupos C4 e RPOS4

GRÁFICO 6 – COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO PERCENTUAL DE CONGESTÃO



NOTA: * $p=0,007$ – comparação entre os subgrupos C4 e C8

** $p=0,005$ – comparação entre os subgrupos C8 e RPRE8

** $p=0,0009$ – comparação entre os subgrupos C8 e RPOS8

O índice infiltrado monomorfonuclear foi maior no subgrupo RPRE8 em relação aos subgrupos RPRE4 ($p=0,008$), C8 ($p=0,01$) e RPOS8 ($p=0,004$). Também houve diferença significativa maior para o subgrupo RPRE4 em comparação ao subgrupo RPOS4 ($p=0,006$) (tabelas 11 e 12).

TABELA 11 -COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DOS ÍNDICES HISTOLÓGICOS (HE) INFILTRADO MONOMORFONUCLEAR (MMN) E HEMORRAGIA INTRA-GRUPOS (C , RPRE E RPOS)

GRUPOS	n	ÍNDICES HISTOLÓGICOS					
		MMN			HEMORRAGIA		
		MÉDIA	± EP	p	MÉDIA	± EP	p
C4	10	0,80	± 0,20	0,06	0,00	± 0,00	-
C8	10	1,40	± 0,22		0,00	± 0,00	
RPRE4	9	1,22	± 0,22	0,008	0,89	± 0,42	0,13
RPRE8	8	2,37	± 0,26		0,12	± 0,12	
RPOS4	10	0,30	± 0,15	0,10	1,00	± 0,30	0,43
RPOS8	10	0,90	± 0,28		1,40	± 0,34	

NOTA: n - n^o de animais, EP - erro-padrão, p - nível de significância estatística, MMN - monomorfonuclear

Quanto à presença de hemorragia, esta não foi observada nos subgrupos do grupo controle. Houve diferença significativa menor para o subgrupo C4 em comparação com os subgrupos RPRE4 ($p=0,02$) e RPOS4 ($p=0,005$), da mesma forma, a presença de hemorragia foi maior para o subgrupo RPOS8 em relação aos subgrupos C8 ($p=0,0006$) e RPRE8 ($p=0,005$).

TABELA 12 -COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DOS ÍNDICES HISTOLÓGICOS (HE), INFILTRADOS MONOMORFONUCLEARES (MMN) E HEMORRAGIA INTER-GRUPOS (C , RPRE E RPOS)

GRUPOS	n	ÍNDICES HISTOLÓGICOS							
		MMN			HEMORRAGIA				
		MÉDIA	±	EP	p	MÉDIA	±	EP	p
C4	10	0,80	±	0,20	0,17	0,00	±	0,00	0,02
RPRE4	9	1,22	±	0,22		0,89	±	0,42	
C4	10	0,80	±	0,20	0,07	0,00	±	0,00	0,005
RPOS4	10	0,30	±	0,15		1,00	±	0,30	
RPRE4	9	1,22	±	0,22	0,006	0,89	±	0,42	0,66
RPOS4	10	0,30	±	0,15		1,00	±	0,30	
C8	10	1,40	±	0,22	0,01	0,00	±	0,00	0,26
RPRE8	8	2,37	±	0,26		0,12	±	0,12	
C8	10	1,40	±	0,22	0,21	0,00	±	0,00	0,0006
RPOS8	10	0,90	±	0,28		1,40	±	0,34	
RPRE8	8	2,37	±	0,26	0,004	0,12	±	0,12	0,005
RPOS8	10	0,90	±	0,28		1,40	±	0,34	

NOTA: n - n^o de animais, EP - erro-padrão, p - nível de significância estatística, MMN - monomorfonuclear

A avaliação da independência entre a presença dos índices histológicos (HE) tecido de granulação, ulceração epitelial e atipias estão representados nas tabelas 13 a 15.

O índice tecido de granulação foi maior para o subgrupo C4 em relação aos subgrupos RPRE4 (p=0,0001) e RPOS4 (p=0,001). Da mesma forma, a presença de tecido de granulação foi maior para o subgrupo C8 em comparação aos subgrupos RPRE8 (p=0,001) e RPOS8 (p=0,0001).

TABELA 13 - COMPARAÇÃO ENTRE A PRESENÇA DOS ÍNDICES HISTOLÓGICO (HE) TECIDO DE GRANULAÇÃO (TEC.GRAN.), ULCERAÇÃO EPITELIAL (ULC. EP.) E ATIPIAS, NO 4º E 8º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO INTRA-GRUPOS (C, RPRE E RPOS)

GRUPOS	n	ÍNDICES HISTOLÓGICOS (HE)									
		TEC.GRAN.			ULC.EP.			ATIPIAS			
		4º dia	8º dia	p	4º dia	8º dia	p	4º dia	8º dia	p	
C	20	presente	10	10	-	-	-	-	-	-	-
		ausente	-	-		10	10		10	10	
RPRE	17	presente	1	2	0,45	9	6	0,21	8	6	0,45
		ausente	8	6		0	2		1	2	
RPOS	20	presente	3	1	0,29	4	9	0,03	9	10	0,50
		ausente	7	9		6	1		1	0	

NOTA: n - n° de animais, p - nível de significância estatística,

TEC.GRAN. - tecido de granulação, ULC.EP.- ulceração epitelial

Para os índices ulceração epitelial e atipias, houve diferença estatisticamente maior para os subgrupos submetidos à radioterapia pré e pós-operatórias em relação ao grupo controle, tanto para o 4º e 8º dias de morte dos animais.

TABELA 14 - COMPARAÇÃO ENTRE A PRESENÇA DOS ÍNDICES HISTOLÓGICOS (HE) TECIDO DE GRANULAÇÃO (TEC.GRAN.), ULCERAÇÃO EPITELIAL (ULC.EPIT.) E ATIPIAS INTER-GRUPOS PARA O 4º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO

GRUPOS	n	ÍNDICES HISTOLÓGICOS (HE)								
		TEC.GRAN.			ULC.EP.			ATIPIAS		
		presente	ausente	p	presente	ausente	p	presente	ausente	p
C4	10	10	-	0,0001	-	10	0,0001	-	10	0,0001
RPRE4	9	1	8		9	-		8	1	
C4	10	10	-	0,001	-	10	0,04	-	10	0,0001
RPOS4	10	3	7		4	6		9	1	
RPRE4	9	1	8	0,33	9	-	0,008	8	1	0,74
RPOS4	10	3	7		4	6		9	1	

NOTA: n - n° de animais, p - nível de significância estatística,

TEC.GRAN. -tecido de granulação, ULC.EP. - ulceração epitelial

TABELA 15 - COMPARAÇÃO ENTRE A PRESENÇA DOS ÍNDICES HISTOLÓGICOS (HE) TECIDO DE GRANULAÇÃO (TEC.GRAN.), ULCERAÇÃO EPITELIAL(ULC.EPIT.) E ATIPIAS INTER-GRUPOS PARA O 8º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO

GRUPOS	n	ÍNDICES HISTOLÓGICOS (HE)								
		TEC.GRAN.			ULC.EP.			ATIPIAS		
		presente	ausente	p	presente	ausente	p	presente	ausente	p
C8	10	10	-	0,001	-	10	0,001	-	10	0,001
RPRE8	8	2	6		6	2		6	2	
C8	10	10	-	0,0001	-	10	0,0001	-	10	0,0001
RPOS8	10	1	9		9	1		10	-	
RPRE8	8	2	6	0,41	6	2	0,41	6	2	0,18
RPOS8	10	1	9		9	1		10	-	

NOTA: n - nº de animais, p - nível de significância estatística

TEC.GRAN. -tecido de granulação, ULC.EP. - ulceração epitelial

4.5.2 Densitometria do Colágeno

As tabelas 16 e 17 demonstraram as médias das áreas percentuais ocupadas pelo colágeno tipo I, tipo III e as médias do IMaC nas anastomoses intestinais no 4º e no 8º dia de pós-operatório.

Com relação ao colágeno do tipo I, a média das áreas percentuais ocupadas pelo mesmo nas anastomoses no subgrupo C8 foi maior em relação aos subgrupos C4 ($p=0,0005$), RPRE8 ($p=0,0001$) e RPOS8 ($p=0,0001$). Também houve diferença significativa comparando-se as médias das áreas percentuais ocupadas pelo colágeno tipo I, sendo maior nos subgrupos C4 e RPOS4 em relação aos subgrupos RPRE4 ($p=0,03$) e RPOS8 ($p=0,03$), respectivamente (tabelas 16 e 17 e gráfico 7).

TABELA 16 - COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO PERCENTUAL DE COLÁGENOS TIPOS I, III E ÍNDICE DE MATURAÇÃO DO COLÁGENO (IMaC) INTRA-GRUPOS (C, RPRE E RPOS) NO 4º E 8º DIA DE PÓS OPERATÓRIO

GRUPOS	n	AFERIÇÕES MÉDIAS					
		TIPO I (%)		TIPO III (%)		IMaC	
		MÉDIA ± EP	p	MÉDIA ± EP	p	MÉDIA ± EP	p
C4	10	9,74 ± 1,24	0,0005	22,57 ± 1,67	0,88	0,42 ± 0,03	0,0001
C8	10	15,66 ± 0,66		24,20 ± 0,71		0,65 ± 0,03	
RPRE4	9	6,13 ± 0,73	0,15	17,13 ± 1,94	0,78	0,36 ± 0,01	0,25
RPRE8	8	7,86 ± 0,89		17,80 ± 1,30		0,45 ± 0,05	
RPOS4	10	7,20 ± 0,67	0,03	22,21 ± 1,68	0,31	0,32 ± 0,02	0,001
RPOS8	10	9,78 ± 0,86		20,23 ± 0,91		0,48 ± 0,03	

NOTA: n - nº de animais, EP - erro-padrão, p - nível de significância estatística,

IMaC - índice de maturação do colágeno

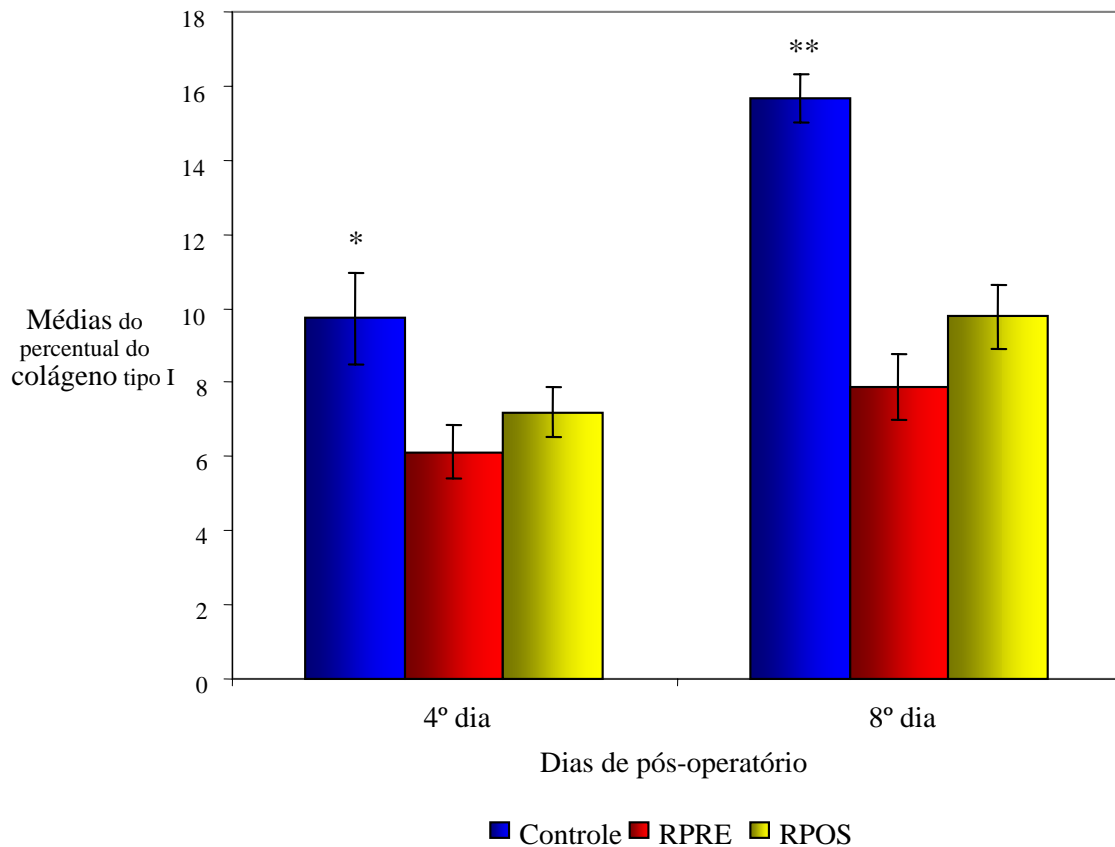
TABELA 17 - COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO PERCENTUAL DE COLÁGENO TIPO I, TIPO III E ÍNDICE DE MATURAÇÃO DE COLÁGENO (IMaC) INTER-GRUPOS (C, RPRE E RPOS) NO 4º E 8º DIA DE PÓS OPERATÓRIO

GRUPOS	n	AFERIÇÕES MÉDIAS					
		TIPO I (%)		TIPO III (%)		IMaC	
		MÉDIA ± EP	p	MÉDIA ± EP	p	MÉDIA ± EP	p
C4	10	9,74 ± 1,24	0,03	22,57 ± 1,67	0,16	0,42 ± 0,03	0,16
RPRE4	9	6,13 ± 0,73		17,13 ± 1,94		0,36 ± 0,01	
C4	10	9,74 ± 1,24	0,09	22,57 ± 1,67	0,45	0,42 ± 0,03	0,06
RPOS4	10	7,20 ± 0,67		22,21 ± 1,68		0,32 ± 0,02	
RPRE4	9	6,13 ± 0,73	0,29	17,13 ± 1,94	0,06	0,36 ± 0,01	0,12
RPOS4	10	7,20 ± 0,67		22,21 ± 1,68		0,32 ± 0,02	
C8	10	15,66 ± 0,66	0,0001	24,20 ± 0,71	0,0003	0,65 ± 0,03	0,002
RPRE8	8	7,86 ± 0,89		17,80 ± 1,30		0,45 ± 0,05	
C8	10	15,66 ± 0,66	0,0001	24,20 ± 0,71	0,003	0,65 ± 0,03	0,003
RPOS8	10	9,78 ± 0,86		20,23 ± 0,91		0,48 ± 0,03	
RPRE8	8	7,86 ± 0,89	0,14	17,80 ± 1,30	0,13	0,45 ± 0,05	0,52
RPOS8	10	9,78 ± 0,86		20,23 ± 0,91		0,48 ± 0,03	

NOTA: n - nº de animais, EP - erro-padrão, p - nível de significância estatística

IMaC - índice de maturação do colágeno

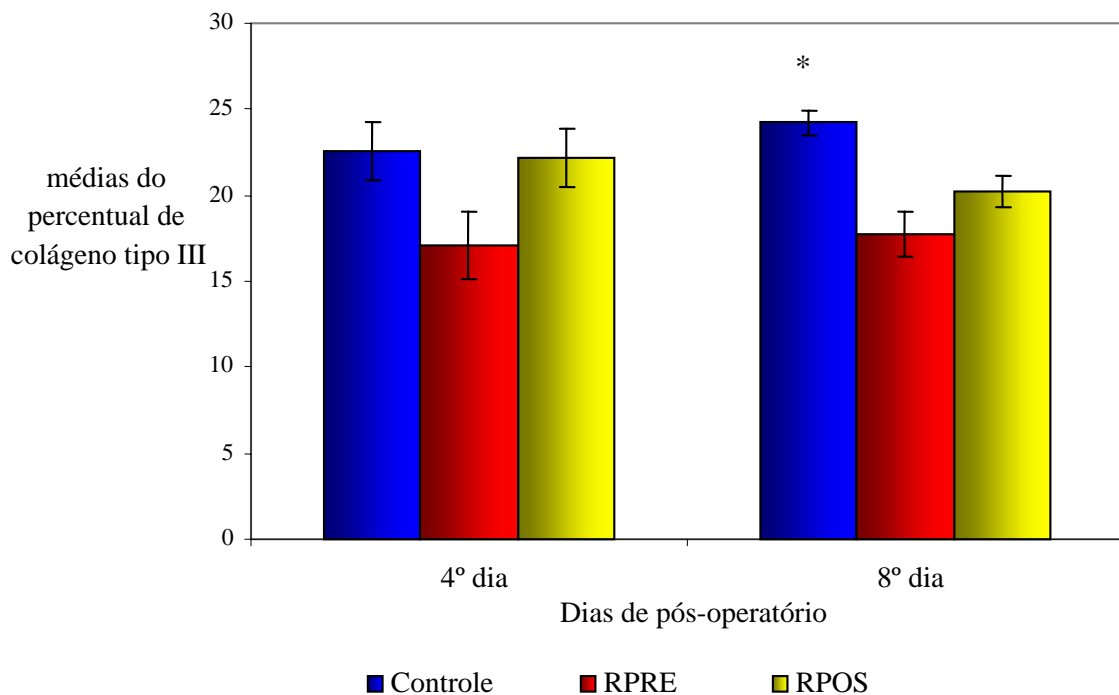
GRÁFICO 7 – COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO PERCENTUAL DE COLÁGENO TIPO I



NOTA: * $p=0,0005$ - comparação entre os subgrupos C4 e C8
 ** $p=0,0001$ - comparação entre os subgrupos C8 e RPRE8
 ** $p=0,0001$ - comparação entre os subgrupos C8 e RPOS8

Na análise da distribuição do colágeno tipo III nas suturas intestinais, a média das áreas percentuais foi maior no subgrupo C8 em comparação com os subgrupos RPRE8 ($p=0,0003$) e RPOS8 ($p=0,003$). Na análise entre os demais subgrupos não houve diferença estatisticamente significativa entre elas (tabelas 16 e 17 e gráfico 8).

GRÁFICO 9 – COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO PERCENTUAL DE COLÁGENO TIPO III

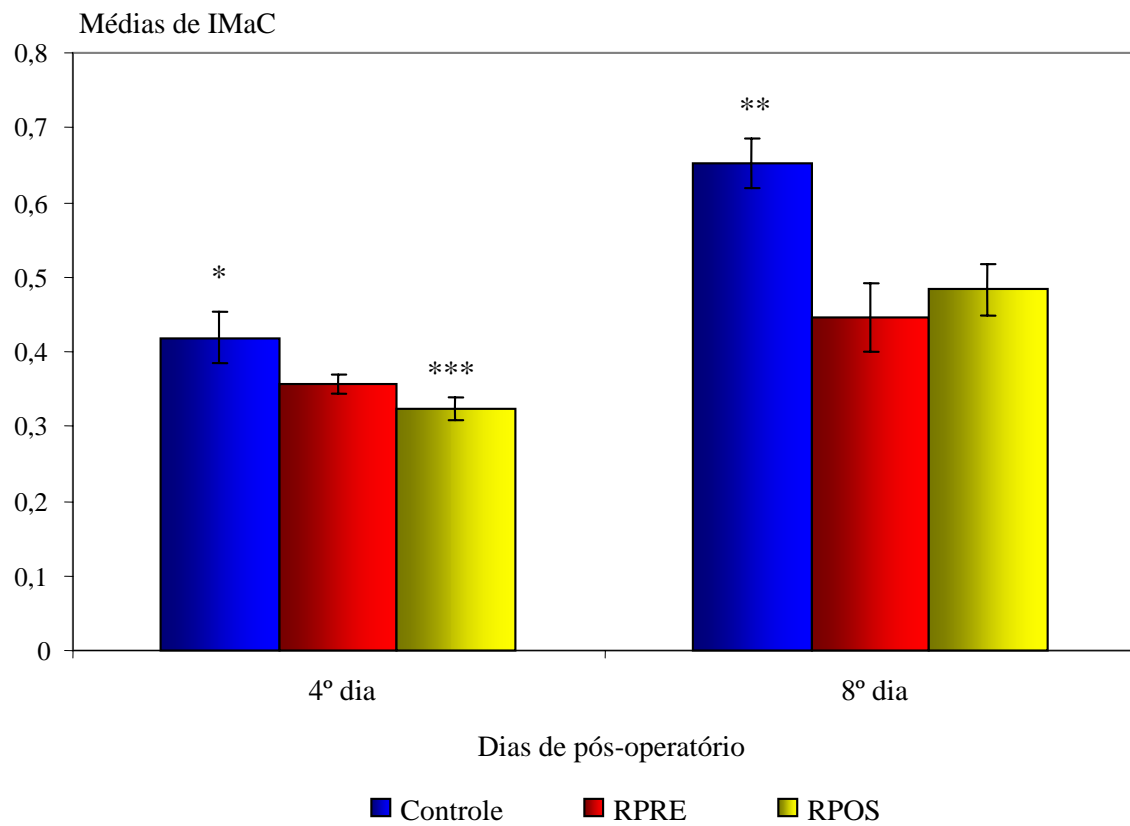


NOTA: * $p=0,0003$ - comparação entre os subgrupos C8 e RPRE8

* $p=0,003$ – comparação entre os subgrupos C8 e RPOS8

Não foram observadas médias de IMaC acima de 1,0 em nenhum dos subgrupos estudados. A média do IMaC no subgrupo C8 foi maior em relação aos subgrupos C4 ($p=0,0001$), RPRE8 ($p=0,002$) e RPOS8 ($p=0,003$). Na comparação entre os subgrupos RPOS4 e RPOS8 a média no subgrupo RPOS8 foi maior em relação ao subgrupo RPOS4 ($p=0,001$) (tabelas 16 e 17 e gráfico 9).

GRÁFICO 10 – COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO IMAc



NOTA: IMAc – índice de maturação do colágeno

* $p=0,0001$ - comparação entre os subgrupos C4 e C8

** $p=0,002$ - comparação entre os subgrupos C8 e RPRE8

** $p=0,003$ - comparação entre os subgrupos C8 e RPOS8

*** $p=0,001$ - comparação entre os subgrupos RPOS4 e RPOS8

5 DISCUSSÃO

Neste estudo, realizaram-se duas anastomoses colônicas término-terminais em cólon de ratos, com o objetivo de avaliar a influência da radioterapia pré-operatória e pós-operatória no processo de cicatrização intestinal.

5.1 MODELO EXPERIMENTAL

Vários estudos experimentais avaliando anastomoses intestinais foram realizados com a utilização de murinos (HERMANN, WOODWARD e PULASKI, 1964; JIBORN et al., 1980; LAW & ELLIS, 1990). O rato é um animal de fácil aquisição, transporte, manipulação e acondicionamento. Além disso, este animal possui regime de alimentação rudimentar, o que permite a introdução de alterações dietéticas com certa facilidade, bem como a análise das variáveis desejadas de maneira simples e objetiva. Existe dificuldade inicial na confecção das anastomoses em estruturas de pequeno diâmetro. Entretanto, após treinamento, as anastomoses são perfeitamente exequíveis sem auxílio de instrumentos de magnificação de imagem e com relativa agilidade. Todas estas vantagens levaram o autor a optar por este modelo animal.

A anestesia é estado de inconsciência induzida. Os três componentes da anestesia são: analgesia (alívio da dor), amnésia (perda da memória) e imobilização. As drogas usadas para atingir a anestesia possuem efeitos variáveis sobre cada um destes campos. O éter apresenta resposta lenta e toxicidade hepática moderada. A anestesia inalatória é superior à maioria das formas injetáveis em termos de segurança e eficácia e fácil de ajustar à profundidade anestésica. Os agentes são eliminados do sangue pela expiração, diminuindo o risco de toxicidade droga-induzida. As desvantagens da anestesia inalatória são os possíveis efeitos nocivos à equipe pesquisadora, principalmente com relação ao estoque e manuseio dos agentes. No animal, o éter aumenta consideravelmente a quantidade de secreções respiratórias e é irritante para os olhos e mucosa naso-oral. Este protocolo de anestesia foi utilizado no presente estudo para indução anestésica. O protocolo para manutenção da anestesia utilizado no presente estudo foi citado na dissertação de BACELAR JUNIOR (1998), que estudou os efeitos de três substâncias utilizadas como anestésicos em ratos, a

saber: Tiopental, Hidrato de Cloral e a associação Cetamina/Xilazina, e observou incidência aceitável de complicações com o uso de hidrato de cloral a 10% na dose de 400 mg/Kg intra-peritoneal. No presente estudo, a técnica anestésica utilizada foi a injeção intraperitoneal de hidrato de cloral a 10% na dose de 400 mg/Kg e foi considerada efetiva e sem complicações que comprometessem a evolução pós-operatória dos animais

HALSTED (1884), *apud* DIETZ (1995), opinou que somente um plano de sutura deve ser feito na anastomose término-terminal do intestino, relatando que a inversão causada pela sutura em 2 planos determina a formação de grande esporão interno, com diminuição da luz intestinal. Alguns estudos relacionaram as anastomoses intestinais confeccionadas com sutura interrompida como produtoras de melhor cicatrização e com menor degradação de colágeno (HOWES, SOOY e HARVEY 1929; JIBORN, AHONEN e ZEDERFELDT, 1980).

Outro fator importante de grande interferência no processo de cicatrização é o material utilizado na confecção da anastomose: o fio de sutura. Apesar do progresso, ainda não se conhecem todos os fenômenos biológicos envolvidos na cicatrização. A aplicação de fios de sutura interfere nesses fenômenos, daí a busca incessante de material que produza a menor reatividade biológica. Todavia não se chegou ao material ideal. Existem evidências de que os fios monofilamentares inabsorvíveis, tal como os de polipropileno e *nylon*, provoquem menor reação tecidual e, portanto, menor interferência no processo cicatricial (KORUDA & ROLANDELLI, 1990). A utilização do fio monofilamentar de *nylon* 6-0, no presente estudo, é justificada por se desejar mínima reação inflamatória tecidual pela presença do corpo estranho, pois esta poderia interferir no processo de cicatrização ocasionando eventuais erros na análise dos resultados.

SKINOVSKI (2000), VIZZOTO JUNIOR (2001), SOARES (2001) E COSTA (2002) realizaram secções completas do cólon dos animais nos seus respectivos experimentos, seguida de confecção de anastomoses colo-colônicas término-terminais. No presente estudo, foi seguido o mesmo padrão de confecção das anastomoses, sendo possíveis às correlações dos achados. Muitos autores utilizaram anastomoses término-

terminais, necessitando a divisão no mesentério, com mudanças variáveis e imprevisíveis do suprimento do fluxo sanguíneo colônico. Para evitar a interferência dos efeitos vasculares que seriam somados aos efeitos colaterais da radioterapia, CELEN et al. (2001) e DE MEERLEER et al. (1999) optaram por confeccionar anastomoses látero-laterais entre o ceco e o reto em seus estudos.

De acordo com LINDSTRÖN, ROSENGREN e FORK (1979) o cólon do rato possui de 21 a 27 cm e é dividido em seis partes principais: ceco, cólon proximal, flexura menor, flexura maior, cólon distal e reto (correspondendo, de acordo com a *Nomina Anatomica Veterinaria* à seguinte denominação: *caecum*, *colon ascendens*, *flexura coli dextra*, *flexura coli sinistra*, *colon descendens* e *rectum*, respectivamente). Tanto o cólon proximal quanto a flexura menor apresentam padrão macroscópico de sua mucosa semelhante à conformação de folhas de palmeira, em contraste com o padrão longitudinal do cólon distal e reto. Além disso, a mucosa da flexura menor tende a ser mais espessa em relação às outras regiões do cólon. Como, no presente estudo, foram realizado duas anastomoses em cada animal em locais teoricamente heterogêneos (flexura menor e cólon distal) utilizou-se o artifício da alternância das peças anastomóticas para análise mecânica e histológica, eliminando assim esta variabilidade.

A escolha dos períodos de cicatrização após à lesão tecidual a serem estudados (quarto e oitavo dias) baseou-se no estudo de JIBORN, AHONEN e ZEDERFELDT (1980), no qual se observou que, após o sétimo dia de pós-operatório, a medida de força de ruptura foi semelhante ao do grupo controle (tecido intacto), o que limita a análise deste parâmetro além desta fase de cicatrização. Outro fator que influenciou a escolha do período a ser estudado é que a maioria das complicações anastomóticas ocorre antes de sete dias de pós-operatório (HENDRICKS e MASTBOOM, 1990).

5.2 UTILIZAÇÃO DA RADIOTERAPIA

A radioterapia pré-operatória tem algumas vantagens sobre a radioterapia pós-operatória, incluindo a melhor perfusão tecidual, redução do volume tumoral e esterilização de linfonodos comprometidos (PAHLMAN e GLIMELIUS, 1990).

Os estudos experimentais apresentam limitações que podem impedir a extrapolação dos resultados para os seres humanos. O nível das anastomoses realizadas em humanos é situada, frequentemente, abaixo da reflexão peritoneal, enquanto na maioria dos estudos experimentais em ratos a anastomose é intra-peritoneal. Outra limitação seria a necessidade de realizar a irradiação com o animal anestesiado, o que pode aumentar o número de complicações e a mortalidade, como referido por WEIBER, JIBORN e ZEDERFELDT (1994). No presente estudo não foram observadas complicações anestésicas durante o procedimento cirúrgico ou radioterápico.

A cicatrização das anastomoses colônicas foi investigada em vários estudos em animais. Em muitos destes estudos foram utilizados diferentes esquemas de irradiação: dose única ou um pequeno número de frações, com dose total geralmente baixa (20 a 25Gy). Além disso, ambas as bordas das anastomoses foram irradiadas, ao contrário da prática clínica, na qual as anastomoses são confeccionadas com uma borda irradiada e outra não-irradiada (BUBRICK, ROFLSMeyer e SCHAUER, 1982; WEIBER et al., 1993; KUZU et al., 1998b). A dose máxima de irradiação pré-operatória tolerada para se realizar anastomoses cirúrgicas com segurança ainda permanece em discussão. DE MEERLEER et al. (1999) realizaram estudo para tentar estabelecer esta condição observando que para anastomoses com apenas uma das bordas irradiadas, doses de até 80Gy podem ser administradas sem detrimento do processo de cicatrização. Porém neste estudo foram realizadas anastomoses látero-laterais entre o ceco e o reto, e este procedimento não é realizado na prática clínica impedindo uma possível extrapolação dos resultados. Para o tratamento dos carcinomas colo-rectais, uma dose de irradiação pré-operatória de no mínimo 45 Gy, fracionada em 4 semanas, ou equivalente desta dose, é necessária para esterilizar micrometástases em linfonodos (PAHLMAN e GLIMELIUS, 1990). Tumores localmente avançados ou irressecáveis necessitam de doses maiores para melhorar controle local da doença e aumentar as chances de ressecabilidade. (AHMAD, MARKS e MOHIUDDIN, 1993; MOHIUDDIN et al., 1993).

No presente estudo, foi utilizada dose única de irradiação de 20 Gy e irradiação de ambas as bordas das anastomoses. Para realização de anastomoses com apenas uma das bordas irradiadas e com utilização de fracionamento da dose total seria necessário que o laboratório de experimentação estivesse associado próximo ao aparelho de radioterapia, com intuito de se evitar o estresse do transporte e aclimatação dos animais. Assim sendo, pela dificuldade técnica do transporte e disponibilidade restrita para utilização do aparelho de Telecobaltoterapia, foi optado por se realizar dose única de irradiação. Na maioria dos estudos experimentais é realizada apenas uma anastomose colônica para os estudos tensiométricos ou histológicos. No presente estudo, bem como nos estudos realizados por SKINOVSKI (2000), VIZZOTO JUNIOR (2001), SOARES (2001) E COSTA (2002), foram realizadas duas anastomoses colônicas término-terminais, as quais foram fixadas no quadrante ínfero-esquerdo abdominal dos animais. O motivo da fixação foi de se assegurar que os segmentos anastomosados seriam irradiados e diminuir a área de irradiação abdominal, reduzindo assim os efeitos deletérios da radiação ionizante sobre o intestino delgado.

A escolha do aparelho de Telecobaltoterapia para a realização do experimento foi orientada pelos seguintes critérios: necessidade de utilização de fonte de irradiação com poder de penetração intermediário, custo e disponibilidade de uso do aparelho.

KUZU et al. (1998b) utilizaram radioterapia pré-operatória de 20 Gy, fracionada em 4 doses em ambas as bordas das anastomoses. Esse autores encontraram reduções tanto na pressão de ruptura anastomótica quanto na quantidade de hidroxiprolina nos animais submetidos a irradiação, porém a evolução clínica e as complicações pós-operatórias foram similares ao grupo controle não irradiado. DE MEERLEER et al. (1999) relataram que se uma anastomose colônica for confeccionada com um segmento de cólon irradiado e outro não-irradiado, tanto a proliferação de fibroblastos quanto a epitelização são melhoradas em comparação com anastomoses com ambas as bordas irradiadas. Isto explicaria as pressões de ruptura anastomóticas mais elevadas nos grupos com anastomoses com apenas uma das bordas irradiadas. Os mesmos autores não encontraram diferenças na força de ruptura das anastomoses quando comparados o esquema de radioterapia convencional com o

hiperfracionamento da dose total aplicada. A utilização do hiperfracionamento acelera o tratamento e colabora no incremento da dose total, e, como consequência, do controle local no tratamento dos carcinomas colo-retais. Múltiplas frações diárias permitem administrar doses totais elevadas sem aumentar os efeitos colaterais. Os tecidos com proliferação lenta são poupados pelo hiperfracionamento e o tempo total de tratamento é encurtado. BOZZETTI, BARATTI e ANDREOLA (1999) relataram resposta completa em 8,5% dos pacientes e apenas presença de raras células tumorais residuais no exame anatomopatológico dos espécimes ressecados em 69% dos pacientes com carcinoma T2 e T3 de reto médio ou baixo após radioterapia hiperfracionada pré-operatória (2 frações de 1,5 Gy diárias em um período de 3 semanas, com dose total de 45 Gy).

A radioterapia associada à quimioterapia tem se mostrado superior ao tratamento radioterápico exclusivo, aumentando a taxa de sobrevida e reduzindo os índices de recidiva local em pacientes com tumores colo-retais avançados (DOUGLASS et al., 1998; FRYKHOLM, GLIMELIUS e PAHLMAN, 1989).

5.3 AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES INTESTINAIS

O conhecimento em cicatrização intestinal tem avançado consideravelmente e tem-se hoje compreensão do impacto de vários fatores, locais e sistêmicos, que influenciam o processo cicatricial. Ao contrário da cicatrização cutânea, na qual o progresso pode ser avaliado diariamente (em havendo uma complicação pode ser instituído tratamento precoce), a cicatrização de uma anastomose intestinal não pode ser visualizada. Esta particularidade deixa ao cirurgião apenas os parâmetros de bem estar evolutivo do paciente para julgar o sucesso da operação (THORNTON e BARBUL, 1997). Muito do que se sabe até agora sobre cicatrização foi justamente estudado a nível de pele e extrapolado para outros tecidos. Há particularidades metabólicas inerentes a cada órgão que se refletem em diferentes resultados durante o processo de cicatrização. A dificuldade em se avaliar clinicamente as anastomoses colônicas justifica a necessidade de modelos experimentais que estudem o processo cicatricial no tecido em questão (KORUDA e ROLANDELLI, 1990).

De acordo com HENDRIKS e MASTBOOM (1990), a investigação da cicatrização das anastomoses intestinais com intuito de melhorar seus resultados necessita de maneiras de quantificação. Este processo pode ser baseado em parâmetros clínicos, mecânicos, bioquímicos e histológicos. A preferência é pela utilização de método mecânico, bioquímico ou de combinação de ambos. No presente estudo, optou-se pelo uso de alguns parâmetros clínicos, de um método mecânico e de dois métodos histológicos: hematoxilina-eosina (HE) e densitometria do colágeno; sendo este último considerado, na atualidade, comparável aos testes bioquímicos (PICKERING e BOUGHNER, 1990).

Os parâmetros clínicos, largamente utilizados na avaliação da evolução das anastomoses intestinais, possuem menor acurácia em relação aos outros parâmetros, e são considerados apenas adjuvantes nos estudos de cicatrização, principalmente por serem considerados parâmetros subjetivos de avaliação. Não traduzem diferença estatística significativa entre grupos de estudo onde parâmetros bioquímicos ou mecânicos mostram significância (KUZU et al., 1998a; VIZZOTTO JUNIOR, 2001; COSTA, 2002; BONIN, 2003). No presente estudo, semelhante aos acima citados, não houve diferença na cicatrização entre os grupos quando avaliada sob o prisma clínico de evolução.

A aferição do peso é parâmetro clínico nutricional utilizado em vários estudos de cicatrização em anastomoses gastrointestinais (VIZZOTTO JUNIOR, 2001; COSTA, 2002). A desnutrição é deletéria para a cicatrização de anastomoses colônicas (LEITE et al., 1993). KARAHASANOGLU et al. (1998) evidenciaram perda ponderal de aproximadamente 15% do peso corpóreo inicial em ratos alimentados com dieta hipoprotéica por 10 dias antes da realização de anastomose colônica. Com isso encontraram diminuição significativa nas pressões de ruptura nas anastomoses dos animais desnutridos. VIZZOTTO JUNIOR (2001) evidenciou perda de peso entre os animais durante estudo da cicatrização de anastomoses colônicas na vigência de quimioterapia intraperitoneal. Entretanto, não houve correlação com o decréscimo da força máxima de tração ou de ruptura total, sugerindo que o fator nutricional pode não

ser preponderante no prejuízo da cicatrização das anastomoses colônicas induzido pela cisplatina intraperitoneal.

O peso inicial dos animais do subgrupo C4 foi maior em relação aos subgrupos C8 ($p=0,04$), RPRE4 ($p=0,01$) e RPOS4 ($p=0,02$). Como a distribuição dos animais foi aleatória na composição dos grupos no início do trabalho, a explicação deste achado se dá pela teoria do paradoxo central da amostragem. Segundo esta teoria, apesar da existência de aleatoriedade na distribuição dos grupos de indivíduos, existe sempre a possibilidade, mesmo que muito pequena, de haver grupos com características inicialmente diferentes.

A média de peso final foi maior no subgrupo C4 em relação aos subgrupos C8 ($p=0,004$), RPRE4 ($p=0,0001$) e RPOS4 ($p=0,0002$), bem como a média de peso final foi maior no subgrupo C8 em relação aos subgrupos RPRE8 ($p=0,001$), RPOS8 ($p=0,001$). Todos os animais do experimento apresentaram perda de peso após as anastomoses intestinais, sendo esta perda mais expressiva nos grupos submetidos à radioterapia, porém esta foi inferior a 10% do peso inicial, em todos os animais do estudo.

DUBLINEAU, KSAS e GRIFFITHS (2000) e DUBLINEAU, MOREL e GRIFFITHS (2002) avaliaram os efeitos agudos da radiação ionizante sobre o cólon após irradiação de corpo total ou apenas abdominal em ratos. Os autores evidenciaram que, após quatro dias da exposição à radiação ionizante, os animais desenvolveram diarreia em virtude das alterações histológicas e funcionais do epitélio colônico, comprovadas pelas análises *in vivo* e *in vitro*. Esse efeito adverso esteve presente nos animais do experimento submetidos à radioterapia.

As médias das diferenças entre os pesos final e inicial foram negativas, pois todos os animais perderam peso no estudo. Nos animais do grupo controle, tanto do subgrupo C4 como do subgrupo C8, a perda de peso foi significativamente menor quando comparadas aos grupos e subgrupos submetidos à radioterapia pré-operatória e pós-operatória. A explicação para as diferenças de peso se dá pelo aparecimento da diarreia decorrente da mucosite actínica do cólon, com conseqüente diminuição da atividade física e indisposição dos animais para alimentação.

Vários estudos experimentais em ratos submetidos à radioterapia pré-operatória, intra-operatória ou pós-operatória relataram perda de peso significativamente nos grupos de animais submetidos à irradiação, comparadas aos grupos controle não irradiados (WEIBER et al. 1993; KUZU et al.1998a; BIERT et al. 1993). WEIBER et al. (1993) também relatam atraso no ganho de peso nos animais submetidos à radioterapia por um período superior a dois meses quando analisados os efeitos da radiação a longo prazo.

JAHNSON e GERDIN (1996) estudaram os efeitos crônicos da radioterapia pré-operatória na cicatrização de anastomoses ileais em modelo experimental utilizando ratos com desnutrição protéica. O peso foi significativamente menor nos ratos com desnutrição protéica, porém as complicações anastomóticas descritas foram mais comuns nos animais irradiados em relação aos animais não irradiados, independentemente do estado nutricional do animal.

A desidratação, diarreia e perda de peso podem influenciar o processo de cicatrização, muito embora alguns estudos experimentais demonstraram que a cicatrização parece ser independente da desnutrição (IRVIN, 1973).

Podemos inferir com estes achados que, se houve desnutrição, indicada pela perda de peso, ela existiu em todos os grupos e não poderia ter sido causa de eventual prejuízo na cicatrização das anastomoses colônicas, sugerindo que o fator nutricional não foi preponderante no prejuízo da cicatrização das anastomoses colônicas.

Quando ocorre deiscência há vazamento de conteúdo intestinal para dentro da cavidade peritoneal. Para contenção de tal vazamento o organismo responde com bloqueio do local mediante migração de estruturas móveis intra-abdominais e formação de aderências.

O número de óbitos como consequência da presença de deiscências das anastomoses colônicas também é medida indireta da deficiência da cicatrização destas anastomoses. No presente trabalho houve duas mortes de animais por deiscência anastomóticas uma no grupo RPRE4 e outro do grupo RPRE8. Os estudos de WEIBER et al. (1994) e KUZU et al. (1998b) não observaram diferenças no número de complicações anastomóticas nos grupos de animais submetidos à radioterapia pré-

operatória quando comparados aos controles não irradiados. Pode-se dizer que a grande maioria das deiscências que ocorrem precocemente são decorrentes de falha técnica, e, portanto, estes animais podem e devem ser excluídos da avaliação da amostra.

VIZZOTTO JUNIOR (2001) E SOARES (2001) também não encontraram diferenças quando avaliaram anastomoses colônicas realizadas em ratos concomitantemente ao uso de quimioterápico intra-peritoneal pelos parâmetros de *Knighly*.

A intensidade das aderências é medida indireta da presença de complicações anastomóticas e por conseqüência, também medida indireta na cicatrização das anastomoses (KUZU et al., 1998a). A irradiação dos tecidos adjacentes aos segmentos intestinais anastomosados e previamente irradiados também interfere na formação de aderências sobre a área de cicatrização das anastomoses intestinais. Dessa forma, deiscências com peritonite fecal podem ocorrer se tecidos irradiados forem posicionados adjacentes a uma anastomose de um segmento intestinal não irradiado (ORMISTON, 1985).

Os dados obtidos pela quantificação de aderências pelo índice de *Knighly* mostraram que este índice foi maior no subgrupo RPOS4 em relação aos subgrupos C4 ($p=0,001$) e RPRE4 ($p=0,04$), bem como foi maior no subgrupo RPOS8 em comparação ao subgrupo RPRE8 ($p=0,02$). A maior observação de aderências nos subgrupos de animais submetidos à radioterapia pós-operatória pode ser explicada pela somatória de danos concomitantes (trauma cirúrgico associado ao efeito da radiação ionizante) neste grupo de animais em relação ao grupo controle e à radioterapia pré-operatória, o que justifica a formação de processo inflamatório mais intenso e, conseqüentemente, maior formação de aderências.

Não houve diferença estatística na dosimetria dos grupos submetidos à radioterapia pré-operatória e pós-operatória. A utilização da dosimetria teve a intenção de validar e assegurar a reprodutibilidade da metodologia, aferindo a dose de irradiação administrada no local de confecção das anastomoses. Entretanto, os

implantes destes dosímetros induzem reação inflamatória e podem ser causa de obstrução intestinal (DE MEERLEER et al. 1999; EL-MALT et al. 2001a).

Em razão deste fato, os animais do grupo controle também foram submetidos ao implante do dosímetro como nos grupos de estudo submetidos à radioterapia, eliminando assim esta variabilidade. Um animal do grupo RPRE8 foi a óbito por oclusão intestinal, provavelmente por volvo intestinal pela fixação das alças intestinais e presença do dosímetro na cavidade peritoneal.

5.4 FORÇA TÊNซิล DE RUPTURA

Os parâmetros mecânicos são utilizados com frequência em estudos de cicatrização de suturas intestinais devido à sua confiabilidade. A pressão de ruptura e a força de ruptura representam forças que atuam em diferentes direções nas suturas. Existe controvérsia entre autores sobre qual método seria o mais fidedigno para se avaliar a resistência de anastomose. A pressão de ruptura representa a força exercida pela pressão intraluminal, que, segundo KORUDA e ROLADELLI (1990), seria a força que naturalmente atua sobre as suturas intestinais. A força de ruptura tem sido utilizada frequentemente como método de avaliação da resistência de tecidos em processo de cicatrização, porém apenas recentemente este processo foi proposto como parâmetro mecânico de teste para anastomoses intestinais, como nos trabalhos de NARESSE et al. (1987,1988a, 1988b e 1993) e LEITE et al. (1993). Por décadas a pressão de ruptura foi considerada o método mecânico de escolha na avaliação de anastomoses intestinais por representar, de forma mais real, o mecanismo fisiopatológico da deiscência intestinal, pela simulação de distensão progressiva no interior das alças intestinais.

Em 1999, IKEUCHI et al., utilizando máquina de ensaio mecânico computadorizado para aferição de tensão, compararam a pressão de ruptura e a força de ruptura à tração, e concluíram que há forte correlação entre estes dois métodos na avaliação da resistência das anastomoses. A correlação é maior após o quarto dia de pós-operatório, isto é, passada a fase inicial da cicatrização. A explicação apresentada pela ausência de correlação entre a força tênsil de ruptura e a pressão de ruptura na fase inicial da cicatrização foi a possível falta de homogeneidade na resistência da

parede intestinal ao aumento da pressão intraluminal, principalmente na área da anastomose. Esta falta de homogeneidade teria como causa provável a deficiência técnica durante a confecção da anastomose, decorrente, por exemplo, da ausência de tração adequada dos fios de sutura. Deste modo, existiriam áreas de menor coaptação das bordas anastomóticas e, conseqüentemente, de menor resistência à pressão. Outra possibilidade seria o surgimento de áreas de necrose tecidual focal na anastomose, também levando ao surgimento de focos de menor resistência à pressão. Assim, pequenas áreas de menor resistência à pressão na linha da anastomose produziriam diminuição da pressão de ruptura, porém não seriam capazes de produzir diminuição da força de ruptura, pois a maior porção da anastomose permaneceria com boa coaptação e resistência intacta à tração.

Este grupo de autores utilizou uma variável denominada Resistência Tênsil Mínima (RTMI), que foi considerada a primeira queda transitória na curva do gráfico da tração (significando o princípio de ruptura da anastomose) e propôs que ela seria o melhor meio de se avaliar o poder de contenção de uma anastomose. Tal contenção seria, em última análise, o fator mais eficaz na prevenção de deiscência. Além disso, propuseram também que a RTMI seria a melhor variável para se avaliar a resistência das anastomoses. No presente estudo, a RTMI corresponde à FMT, e a mudança da nomenclatura se deve ao fato de parecer mais adequado que esta variável signifique a força máxima de tração que a anastomose íntegra pode suportar. A precisão dos dados de força tênsil, obtida mediante utilização de ensaio mecânico computadorizado para aferição da força pelo aparelho EMIC, é um fator a ser destacado neste trabalho, pois são fornecidos índices precisos e confiáveis.

Não ocorreram, no presente estudo, rupturas fora da linha anastomótica, durante os testes de tração, em nenhum dos subgrupos. O percentual de rupturas fora da linha de anastomose tende a aumentar quanto mais tardia for à avaliação pós-operatória, o que justifica a escolha das datas de quarto e oitavo dias de pós-operatório para análise de tração computadorizada. IKEUCHI et al. (1999) obtiveram praticamente 100% de rupturas na linha anastomótica até o quarto dia de PO, mas nos dias 5, 7 e 14 apenas 54% dos corpos de prova romperam-se na anastomose.

O equipamento utilizado para os estudos de tração foi semelhante ao utilizado por SKINOVSKI (2000); VIZZOTO JUNIOR (2001); SOARES (2001); COSTA (2002) E BONIN (2003), que foi considerado por estes autores preciso e confiável.

No presente estudo a força máxima de tração (FMT) foi maior no subgrupo C8 em relação aos subgrupos C4 ($p=0,002$), RPRE8 ($p=0,002$) e RPOS8 ($p=0,002$). Da mesma forma a FMT foi maior no subgrupo RPRE8 em relação ao subgrupo RPRE4 ($p=0,01$).

Quando se comparam os subgrupos com animais mortos em diferentes datas dentro do mesmo grupo (C4 e C8; RPRE4 e RPRE8) pode-se perceber como o método é confiável, pois os dados de força mensurados são significativamente maiores nos animais mortos no 8º dia em relação ao 4º dia de pós-operatório.

Quando foram comparados os subgrupos do 4º dias de pós-operatório (C4, RPRE4 E RPOS4) não foram obtidas diferenças significativas, assim como não foram identificadas diferenças quando comparados entre si os subgrupos irradiados no 8º dia (RPRE8 e RPOS8). A força de ruptura total (FRT) foi maior no subgrupo C8 em comparação aos subgrupos C4 ($p=0,002$), RPRE8 ($p=0,0003$) e RPOS8 ($p=0,0002$). Da mesma forma a média da FRT foi maior no subgrupo C4 em relação aos subgrupos RPRE4 ($p=0,008$) e RPOS4 ($p=0,01$).

A força de ruptura total foi maior nos subgrupos do grupo controle quando comparados com os subgrupos submetidos à radioterapia, enfatizando os resultados encontrados na análise da força máxima de tração, caracterizando efeito deletério da irradiação sobre o processo cicatricial.

No presente estudo, as médias de FMT foram significativamente maiores no subgrupo controle do oitavo dia de pós-operatório tanto em relação ao subgrupo controle no quarto dia de pós-operatório quanto comparados com os subgrupos de animais mortos no oitavo dia de pós-operatório dos grupos submetidos à radioterapia pré-operatória e pós-operatória. Da mesma forma, a FMT foi significativamente maior no subgrupo RPRE8 em relação ao subgrupo RPRE4. O mesmo não foi evidenciado no grupo de radioterapia pós-operatória. Esses achados permitem concluir que tanto a

radioterapia pré-operatória quanto pós-operatória determinam diminuição significativa na força de ruptura das anastomoses colônicas, no oitavo dia de pós-operatório.

O mesmo efeito foi observado na análise da força de ruptura total, sendo a média maior no subgrupo C8 em comparação com os subgrupos C4, RPRE8 e RPOS8. Porém, também foi evidenciada média estatisticamente maior da FRT no subgrupo C4 em relação aos subgrupos RPRE4 e RPOS4. Esses achados reforçam a evidência de que tanto a radioterapia pré-operatória quanto a pós-operatória causam diminuição significativa na força tênsil de ruptura.

A FRT, como parâmetro isolado de resistência de uma anastomose, não deve ser superestimada, pois possui menor sensibilidade em detectar pequenas diferenças em tecidos heterogêneos, como segmentos intestinais. Entretanto, quando associada a outros parâmetros de avaliação, sejam eles clínicos, mecânicos ou bioquímicos, a força de ruptura total tem seu valor.

BIERT et al. (1996) investigaram os efeitos da associação de radioterapia pré-operatória seguida de quimioterapia pós-operatória, em um estudo experimental em ratos, e não observaram prejuízo na força de ruptura.

KUZU et al. (1998b) demonstraram que a radioterapia pré-operatória fracionada atrasa a fase precoce de cicatrização. Embora não tenham sido observadas diferenças nas complicações anastomóticas e os resultados clínicos tenham sido similares entre os grupos, a pressão de ruptura foi significativamente menor no oitavo dia de pós-operatório no grupo submetido à irradiação.

SEIFERT et al. (1995) demonstraram que dose alta de irradiação intra-operatória atrasa o processo de cicatrização de anastomoses colônicas em ratos. Além disso, estes autores reportaram efeito mais pronunciado quando as duas bordas da anastomose eram irradiadas, quando comparadas com apenas uma borda submetida à irradiação. BIERT et al. (1997) não encontraram diferenças nem na pressão de ruptura e nem na quantidade de hidroxiprolina quando foi aplicada dose única de 25 Gy apenas na borda distal da anastomose.

5.5 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

A coloração de hematoxilina-eosina permite a caracterização da evolução da cicatrização em anastomoses intestinais mediante diversas variáveis. Existem diversas classificações nas quais se utilizam números e somatórias para tentar quantificar os parâmetros evolutivos de uma anastomose. A classificação utilizada no presente estudo foi descrita por SOUSA, SOARES E APRILLI, em 1991 e utilizada por VIZZOTTO JUNIOR (2001) e COSTA (2002).

O infiltrado neutrofílico é o principal achado histológico na fase aguda do processo cicatricial e é o que caracteriza o processo como agudo. A quantidade de neutrófilos no leito da ferida tem íntima relação com o processo de proliferação, ativação e movimentação celular, bem como na produção de citocinas, que são as proteínas mediadoras do processo inflamatório agudo, determinando edema intersticial e congestão vascular, e tem ligação menos estreita com o processo de proliferação celular.

IKEUCHI et al. (1999) propuseram que a fase inicial do processo de cicatrização terminaria por volta do quarto dia de pós-operatório e, a partir do quinto dia de pós-operatório seria esperado que o infiltrado polimorfonuclear fosse menos intenso, dando lugar ao infiltrado monomorfonuclear e aos fibroblastos.

Observou-se, no presente estudo, que o índice de infiltrado neutrofílico foi estatisticamente maior no subgrupo C4 em relação aos subgrupos C8, RPRE4 e RPOS4. Ao se comparar o subgrupo C8 com os subgrupos RPRE8 e RPOS8, a média do índice neutrofílico foi significativamente menor no subgrupo C8 em relação aos subgrupos RPRE8 e RPOS8. Esses dados confirmam que o infiltrado neutrofílico está presente na fase inicial da cicatrização, pois foi estatisticamente menor no subgrupo C8 em relação ao subgrupo C4. Na comparação do subgrupo C4 em relação aos subgrupos RPRE4 e RPOS4, observa-se que a média foi significativamente maior no grupo controle em relação aos subgrupos submetidos à radioterapia no quarto dia de pós-operatório. Porém, ao se comparar os subgrupos submetidos à radioterapia no oitavo dia de pós-operatório observaram-se índices estatisticamente maiores que no

grupo controle, demonstrando infiltrado inflamatório agudo, reforçando mais uma vez que a radioterapia retarda a fase inicial da cicatrização.

O edema intersticial foi menos intenso nos subgrupos submetidos à radioterapia no quarto dia de pós-operatório em relação ao grupo controle.

A congestão também foi estatisticamente maior no subgrupo C4 em relação ao subgrupo C8, corroborando os achados de que a congestão vascular está mais presente na fase inicial do processo de cicatrização. Quando o grupo controle foi comparado com os grupos submetidos à radioterapia no oitavo dia de pós-operatório, foi evidenciado que o índice de congestão foi significativamente maior nos subgrupos submetidos à radioterapia (RPRE8 e RPOS8) em relação ao controle (C8). O índice de congestão também foi estatisticamente maior no subgrupo RPOS4 em relação aos subgrupos RPRE4 e RPOS8, sugerindo que a radioterapia realizada no pós-operatório imediato interfere de forma mais intensa no processo inflamatório local, e conseqüentemente, na cicatrização. Ao contrário, nos subgrupos submetidos à radioterapia pré-operatória, em virtude do tempo decorrido entre a irradiação e a confecção das anastomoses, o dano celular agudo decorrente da radiação ionizante foi minimizado, o que possibilitou ao tecido irradiado antes do procedimento cirúrgico uma resposta mais adequada e menos demorada em relação aos subgrupos irradiados no pós-operatório imediato.

A hemorragia foi evidenciada em todos os subgrupos submetidos à radioterapia, tanto no quarto quanto no oitavo dia de pós-operatório, em relação aos controles não irradiados. A ação da radiação ionizante na parede colônica causa lesões vasculares precoces e a longo prazo. O adelgaçamento da parede colônica, associado às lesões de todos os grupos celulares que compõem a parede colônica, leva a maior friabilidade e conseqüente lesão endotelial que se manifesta na forma de hemorragia.

A presença de infiltrado monomorfonuclear foi estatisticamente maior no subgrupo RPRE8 em relação aos subgrupos RPRE4, RPOS8 e C8, assim como foi significativamente maior no subgrupo RPRE4 em comparação ao subgrupo RPOS4. Este índice é um indicador de processo inflamatório crônico, e conseqüentemente, foi mais presente no estudo no oitavo dia de pós-operatório. Os dados também sugerem,

mais uma vez, que a radioterapia pós-operatória tem efeito mais pronunciado no que concerne o processo inflamatório da cicatrização, retardando sua fase inicial, pela diminuição da migração e reparo celular, visto que a presença de monomorfonucleares foi estatisticamente maior nos subgrupos submetidos à radioterapia pré-operatória em comparação aos subgrupos irradiados no pós-operatório imediato.

Na avaliação da presença de tecido de granulação na área das anastomoses colônicas, foi encontrada diferença significativamente maior no grupo controle em relação aos grupos submetidos à radioterapia reforçando a idéia de que a radiação ionizante interfere no funcionamento celular produzindo retardo no processo evolutivo da cicatrização. A ulceração epitelial e a presença de atipias celulares e nucleares fazem parte dos efeitos deletérios precoces encontrados nos tecidos em resposta à injúria pela radiação ionizante.

A escolha da técnica para o estudo da análise do colágeno foi baseada nos estudos que ressaltam a importância de se obter análise qualitativa do mesmo (HENDRICKS e MASTBOOM, 1990; RABAU et al, 1998). Segundo DIETZ, em 1995, desde o isolamento da hidroxiprolina por FISHER em 1902 e DAKIN em 1920, várias técnicas têm sido descritas para se obter dosagem da quantidade desta proteína em determinado tecido. DIETZ, em 1995, procurou avaliar comparativamente duas técnicas (fotocolorimétrica e fluorimétrica) para a quantificação da hidroxiprolina tecidual a partir de amostras não cicatriciais. As duas técnicas, entretanto, fornecem apenas análise quantitativa do colágeno, não estabelecendo a proporção de colágeno entrelaçado. A coloração de PCS permite a diferenciação de fibras colágenas de acordo com a sua birrefringência; as fibras de maior espessura (colágeno do tipo I) aparecem fortemente birrefringentes e fibras de menor espessura (colágeno tipo III) aparecem fracamente birrefringentes. Esta diferenciação de cores permite análise qualitativa das fibras colágenas, obtendo-se a densitometria de fibras maduras (colágeno tipo I) e imaturas (colágeno tipo III) que, em última análise, reflete a proporção de entrelaçamento das fibras (SWEAT, PUCHTLER e ROSENTHAL, 1964; e JUNQUEIRA, MONTES e SANCHES, 1982). A utilização da média de três medidas distintas (superior, média e inferior) visualizadas no campo microscópico da

linha de sutura como medida da porcentagem de fibras colágenas baseou-se no estudo de BIONDO-SIMÕES, et al., em 2001.

É importante salientar a importância da realização dos dois métodos histológicos no mesmo estudo. O colágeno tipo III é depositado precocemente nos tecidos e caracteriza o colágeno imaturo. Mais tarde deposita-se o colágeno tipo I, que é maduro. A concentração do colágeno em área de cicatriz atinge seu valor mínimo entre 48 e 72 horas e chega a níveis normais ou próximos do normal entre o sétimo e o décimo dia. Assim, pode-se dizer que ambos os métodos histológicos possuem a capacidade de graduar a cicatrização como processo inflamatório agudo ou crônico.

RABAU, et al., em 1998, utilizaram análise quantitativa (concentração total de colágeno, concentração de colágeno solúvel e concentração de colágeno insolúvel) e qualitativa (PCS) para avaliar a cicatrização de anastomoses intestinais em ratos, comparando grupos controle (sem anastomose) e grupo experimental (anastomose intestinal, sacrificados no 4º, 7º, 10º e 21º dia). Os autores verificaram que a concentração total de colágeno não sofreu alterações significativas nos grupos submetidos à anastomose intestinal. A concentração de colágeno solúvel (imaturo) apresentou significativa redução acompanhada por significativa elevação de colágeno insolúvel (maduro) a partir do 10º dia de pós-operatório. Na análise do colágeno com PCS, foi observada nos grupos do 4º e 7º dia presença de maior quantidade de fibras colágenas do tipo III, e a partir do 10º ao 21º dia houve progressivo aumento de fibras colágenas do tipo I.

COSTA (2002) e COSTA et al. (2003), realizaram estudo em ratos para verificar o efeito do aminoácido glutamina no 3º e 8º dia de pós-operatório na cicatrização de suturas em cólon utilizando o PCS. Verificaram que não houve redução significativa do percentual de colágeno tipo I no pós-operatório em nenhum dos grupos. SKINOVSKI, em 2000, em estudo sobre os efeitos da nicotina na cicatrização de anastomose de intestino delgado em ratos, não observou diferença com significância estatística da distribuição do colágeno dos tipos I e III nos grupos estudados.

A correlação positiva entre quantificação de colágeno e força de ruptura é motivo de controvérsia. LEMOS (2002), em estudo para verificar a influência da desnutrição intra-uterina na cicatrização da parede abdominal em ratos lactentes, idealizou o índice de maturação do colágeno (IMaC). Este índice foi definido como a razão entre as porcentagens de colágeno tipo I e tipo III. O achado de valores acima de um significa predominância de colágeno tipo I. O autor observou predomínio de colágeno tipo I na fase inicial da cicatrização no grupo de ratos desnutrido no 7º dia de pós-operatório, com aumento estatisticamente significativo do percentual de colágeno tipo I em todos os animais (nutridos e desnutridos) no 21º dia de pós-operatório. A correlação entre o IMaC e os estudos de resistência à tração foi negativa no 7º dia de pós-operatório e positiva no 21º dia de pós-operatório.

BONIN (2003) em estudo para verificar o efeito da supressão ácida na cicatrização de suturas gástricas, utilizando pantoprazol, evidenciou através da análise do índice de maturação do colágeno (IMaC), que quando comparados o grupo controle com o grupo pantoprazol, as médias do IMaC foram maiores no grupo pantoprazol, indicando uma maior proporção de fibras colágenas tipo I, sendo este achado, correlacionado a uma maior força de ruptura das anastomoses.

No presente estudo, o subgrupo controle do oitavo dia de pós-operatório (C8) apresentou maior deposição de colágeno tipo I nas anastomoses colônicas em comparação com os subgrupos C4, RPRE8 e RPOS8, assim como, as médias das áreas percentuais ocupadas pelo colágeno tipo I foram maiores nos subgrupos C4 e RPOS4 em relação aos subgrupos RPRE4 e RPOS8, respectivamente.

Com relação ao colágeno tipo III nas suturas intestinais, a média foi maior no subgrupo controle no oitavo dia de pós-operatório em relação aos subgrupos submetidos à radioterapia pré-operatória (RPRE8) e pós-operatória (RPOS8). As médias do IMaC foram menores que 1 em todos os animais estudados, o que reflete predominância de colágeno tipo III, achado este esperado nesta fase da cicatrização. Na comparação entre os grupos, a média de IMaC no subgrupo C8 foi significativamente maior em relação aos subgrupos C4, RPRE8 e RPOS8, assim como

a média do IMaC foi estatisticamente maior no subgrupo RPOS8 em comparação com o subgrupo RPOS4.

Em conclusão, os grupos submetidos à radioterapia pré-operatória e pós-operatória apresentaram proporção menor de fibras colágenas tipo I em relação ao grupo controle, traduzindo em uma menor organização e espessamento das fibras colágenas, revelando tendência do tecido cicatricial nas áreas irradiadas estar em piores condições pela menor concentração de colágeno maduro. Ao se correlacionar o percentual de fibras colágenas tipo I com a força máxima de tração (FMT) e força ruptura total (FRT), observou-se que os subgrupos submetidos à radioterapia pré-operatória e pós-operatória apresentaram proporção menor de fibras colágenas na área da anastomoses, associado a menor FMT e FRT em relação ao grupo controle reforçando os dados encontrados que sugerem que a radiação ionizante interfere de forma negativa na fase inicial do processo de cicatrização.

A profilaxia ou a atenuação das alterações actínicas intestinais agudas é fundamental para tentar minimizar as complicações decorrentes do uso da radiação ionizante, observadas especialmente nos pacientes com tumores colo-retais. As perspectivas futuras são de que estudos sejam realizados com o intuito de encontrar fatores que determinem efeitos protetores sobre o intestino irradiado. A utilização de dietas enriquecidas com glutamina tem sido relacionada a efeitos protetores, preservando a arquitetura morfológica e a capacidade de recuperação do intestino irradiado (CAMPOS et al.,1994 e 1996), assim como a utilização de suplementação de vitamina A (WINKSEY et al.,1987). As perspectivas são promissoras, e muitos estudos podem ser realizados utilizando-se nutrientes, hormônios, suplementação de vitaminas e outras substâncias, com a intenção de encontrar fatores que contribuam para a cicatrização das anastomoses colônicas confeccionadas em tecido irradiado.

6 CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo permitiram concluir que:

1. A radioterapia tanto pré-operatória como pós-operatória, em dose única de 20Gy, diminui a resistência à ruptura total de anastomoses colônicas em ratos Wistar e diminui a área percentual ocupada pelo colágeno maduro no 4º e 8º dias de pós-operatório.
2. A radioterapia determina maior perda de peso e maior índice de aderências e este é maior nos animais submetidos a radioterapia pós-operatória.
3. A radioterapia diminui a força máxima de tração (FMT) no oitavo dia de pós-operatório em relação ao grupo controle.
4. A radioterapia diminui a força de ruptura total (FRT) tanto no quarto como no oitavo dia de pós-operatório em relação ao grupo controle.
5. Histologicamente, a radioterapia associa-se a um retardo na fase inicial da cicatrização, caracterizada por diminuição do infiltrado neutrofílico e do edema no quarto dia de pós-operatório em relação ao grupo controle, seguido de aumento do infiltrado neutrofílico e congestão.
6. A radioterapia determina menor formação de tecido de granulação no 4º e 8º dia de pós-operatório.
7. A radiação ionizante causa danos agudos ao tecido colônico representado pela presença de hemorragia, ulceração epitelial e atipias celulares.
8. A radioterapia associa-se a diminuição da área percentual ocupada pelo colágeno tipo I nas anastomoses colônicas no 4º e 8º dia de pós-operatório.
9. Os efeitos adversos da radioterapia ocorreram independentemente se esta é aplicada no pré ou no pós-operatório.

REFERÊNCIAS

ADAMSONS, R. J.; KAHAN, S. A. The rate of healing of incised wounds of different tissues in rabbits. **Surg Gynecol Obstet**, New York, v. 130, n. 5, p. 837-846, 1970.

AHMAD, N. R.; MARKS, G.; MOHIUDDIN, M. High-dose preoperative radiation for cancer of the rectum: Impact of radiation dose on patterns of failure and survival. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, Houston, v. 27, p. 773-778, 1993.

BACELAR JUNIOR, J. C. S. **Avaliação da ação das drogas hidrato de cloral, cetamina/xilazina e tiopental na anestesia em ratos**. Curitiba, 1998. Dissertação (Mestrado em Princípios da Cirurgia). Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná.

BANDA, M. J.; KNIGHTON, D. R.; HUNT, T. K.; WEBER, Z.. Isolation of a nonmitogenic angiogenesis factor from wound fluid. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, Washington, v. 79, p. 7773-7777, 1982.

BIERT, J.; HOOGENHOUT, T.; WOBES, T.; HENFRIKS, T. High-dose preoperative irradiation without detrimental effect on early repair of anastomoses in the colon of the rat. **Radiat Res**, Great Falls, v. 147, n. 3, p. 362-368, 1997.

BIERT, J.; SEIFERT, W. F.; WOBES, T.; DE MAN, B.; HOOGENHOUT, J.; HENDRIKS, T. Combined preoperative irradiation and local hypertermia delays early healing of experimental colonic anastomoses. **Arch Surg**, Boston, v. 131, p. 1037-1042, 1998a.

BIERT, J.; SEIFERT, W. F.; VERHOFSTAD, A. A.; WOBES, T.; DE MAN, B.; HOOGENHOUT, J.; HENDRIKS, T. A semiquantitative histological analysis of repair of anastomoses in the rat colon after combined preoperative irradiation and local hypertermia. **Radiat Res**, Great Falls, v. 149, n. 4, p. 372-377, 1998b.

BIERT, J.; WOBES, T.; HENDRIKS, T.; HOOGENHOUT, J. Effect of irradiation on healing of newly made colonic anastomoses in the rat. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, Houston, v. 27, n. 5, p. 1107-1112, 1993.

BIERT, J.; WOBES, T.; HOOGENHOUT, T.; HENFRIKS, T. Combined preoperative irradiation and postoperative 5-fluorouracil without negative effects on early anastomotic healing in the rat colon. **Radiother Oncol**, Aarhus, v. 41, n. 3, p. 257-262, 1996.

BIONDO-SIMÕES, M.L.P.; GRECA, F.H.; IOSHII, S.O.; WEINGARTNER, J.; GUIRELLO, C.M.; MARTYNETZ, F.A. Influência da icterícia na cicatrização de anastomoses de cólon, em ratos. **Acta Cir Bras**, São Paulo, v. 16, [S2], p. 22-25, 2001.

BLACK, W. C.; GOMEZ, L. S.; YUHAS, J. M.; KLIGERMAN, M. M. Quantification of two late effects of X – radiation on the large intestine. **Cancer**, Philadelphia, v. 45, p. 444, 1980.

BLOMQUIST, P.; JIBORN, H.; ZEDERFELDT, B. The effect of relative bowel rest on healing of colonic anastomoses: Breaking strength and the collagen in the colonic wall following left colon resection and anastomosis in the rat. **Acta Chir Scand**, Oslo, v. 150, p. 671-675, 1984.

BONIN, E.A. **Supressão ácida por pantoprazol e cicatrização de sutura gástrica em ratos**. Curitiba, 2003. 87f. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) - Setor Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

BOZZETTI, F.; BARATTI, D.; ANDREOLA, S. Preoperative radiation therapy for patients with T2-T3 carcinoma of the middle-to-lower rectum. **Cancer**, Philadelphia, v. 86, p. 398-404, 1999.

BRASKEN, P.; RENVALL, S.; SANDBERG, M. Fibronectin and collagen gene expression in healing experimental colonic anastomoses. **Br J Surg**, London, v. 78, p. 1048-1052, 1991.

BUBRICK, M. P., ROFLSMEYER, E. E., SCHAUER, R. M. Effects of high-dose and low-dose preoperative irradiation on low anterior anastomoses in dog. **Dis Colon Rectum**, Boston, v. 25, n. 2, p. 406-15, 1982.

CAMPOS, A. C. L.; MEGUID, M. M.; COELHO, J. C. U. Factors influencing outcome in patients with gastrointestinal fistula. **Surg Clin North Am**, Philadelphia, v. 76, n. 5, p. 1191-1198, 1996.

CAMPOS, F. G.; MUCERINO, D. R.; WAITZBERG, D. L.; LOGULO, A. F.; EL IBRAHIM, R.; NADALIN, W.; HABR-GAMA, A. Efeitos protetores da glutamina e dieta elementar na enterocolite actínica aguda: avaliação histológica. **Rev Ass Med Brasil**, São Paulo, v. 40, n. 3, p. 143-149, 1994.

CAMPOS, F. G.; WAITZBERG, D. L.; MUCERINO, D. R.; GONÇALVES, E. L.; LOGULO, A. F.; HABR-GAMA, A.; ROMBEAU, J. L. Protective effects of glutamine enriched diets on acute actinic enteritis. **Nutr Hosp**, Madrid, v. 11, n. 3, p. 167-177 1996.

CARRIL, C. S. **Anastomoses intestinais: métodos invaginantes e métodos por aposição em mesmo alinhamento: estudo experimental comparativo com apresentação de um processo original.** Ribeirão Preto, 1970, 75f. Tese (Docência-Livre) Faculdade Médica de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

CEELEN, W.; EL-MALT, M.; CARDON, A.; BERREVOET, F.; DE NEVE, W.; PATTYN, P. Influence of preoperative high-dose radiotherapy on postoperative outcome and colonic anastomotic healing. **Dis Colon Rectum**, Boston, v. 44, 717-721, 2001.

CHLUMSKY, V. Experimentalle Untersuchungen über die verschiedenen Method der Darmvereinigung. **Burns Beitr Klin Chir**, Berlin, v. 25, p. 539-600, 1899.

CLARK, R. A. F. Cutaneous tissue repair. Basic biologic considerations. **J Am Acad Dermatol**, New York, v. 13 , p. 701, 1985.

COSTA, M. A. R. **Glutamina oral na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos.** Curitiba, 2002. 74f. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) - Setor Ciências da Saúde , Universidade Federal do Paraná.

COSTA, M. A. R.; CAMPOS, A.C.L.; COELHO, J.C.U.; BARROS, A.M.; MATSUMOTO, H.M. Oral glutamine and the healing of colonic anastomoses in rats. **J. Parenter. Enteral Nutr.** Silver Spring, v.27, n.3, p.182-185, 2003.

CRONIN, K.; JACKSON, D. S; DUNPHY, J. E. Changing bursting strength and collagen content of the healing colon. **Surg Gynecol Obstet**, New York, v. 126, p. 747-753, 1968.

CROWLEY, L. G.; ANDERS,C. J.; NELSEN, T.; BAGSHAW, M. Effect of radiation on canine intestinal anastomoses. **Arch Surg**, Boston, v. 96, p. 423, 1968.

DE MEERLEER, G.; PATTYN, P.; FORTAN, L.; WEVER, N.; CUVELIER, C.; RENTERGHEM, K.; BERREVOET, F.; DE NEVE, W. High dose preoperative radiotherapy does not alter the strength of unilateral irradiated colon anastomoses in rats. **Int J Radiat Oncol Biol Phys** , Houston, v. 44, n. 1, p. 163-170, 1999.

DENHAM, J.; HAUER-JENSEN, M. The radiotherapeutic injury- a complex 'wound'. **Radiother and Oncol**, Aarhus, v. 63, p. 129-145, 2002.

DIETZ, U. A. **Estudo comparativo das técnicas fotocolorimétrica e fluorimétrica na determinação da taxa de hidroxiprolina em amostras de tecido hidratadas e desidratadas.** Curitiba, 1995. Tese (Doutorado em Clínica Cirúrgica) – Setor Ciências da Saúde , Universidade Federal do Paraná.

DOUGLASS, H. O.; STABLEIN, D. M.; THOMAS, P. R.; THOMAS, P. R. An organized multistitutional interdisciplinary evaluation of role of radiation therapy alone or combined with chemotherapy in treatment of adenocarcinoma of gastrointestinal tract. **NCI Monogr**, v. 6, p. 253-257, 1998.

DUBLINEAU, F.; KSAS, B.; GRIFFITHS, N. M. Functional changes in the rat distal colon after whole-body irradiation: dose –response and temporal relationships. **Radiot Res**, Great Falls, v. 154, n. 2, p. 187-195, 2000.

DUBLINEAU, F.; MOREL, E.; GRIFFITHS, N. M. Characterization of altered absorptive and secretory functions in the rat colon after abdominal irradiation: comparison with effects of total body irradiation. **Radiot Res**, Great Falls, v. 157, n. 1, p. 52-61, 2002.

EL-MALT, M.; CEELLEN, W.; MEERLEER, G.; VERSTRAETE, A.; BOTERBERG, T.; VAN BELLE, S.; HEMPTINNE, B.; DE NEVE, W.; PATTYN, P. Influence of preoperative combined radiochemotherapy on surgical outcome and colonic anastomotic healing: experimental study in the rat. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, Houston, v. 50, n. 4, p. 1073-1078, 2001a.

EL-MALT, M.; CEELLEN, W.; VAN DEN BROECKE, C.; CUVELIER, C.; VAN BELLE, S.; HEMPTINNE, B.; DE NEVE, W.; PATTYN, P. Healing of experimental colonic anastomoses: effects of combined preoperative high-dose radiotherapy and intraoperative 5-fluorouracil. **Int J Cancer**, Heidelberg, v. 96, n. 5, p. 297-304, 2001b.

FARHAT, S. M.; AMER, N. S.; WEEKS, D. S.; MUSSELMAN, M. M. Effect of mechlorethamine (nitrogen mustard) on healing of abdominal wounds. **Arch Surg**, Boston, v. 76, p. 749-753, 1958.

FRYKHOLM, G. J.; GLIMELIUS, B.; PAHLMAN, L. Preoperative irradiation in the treatment of primary non –resectable adenocarcinoma of the rectum. Results from two consecutive studies. **Eur J Cancer Clin Oncol**, Oxford, v. 25, p. 1535-1541, 1989.

FRYKHOLM, G. J.; GLIMELIUS, B.; PAHLMAN, L. Preoperative or post-operative irradiation on adenocarcinomas of the rectum: Final treatment result of a randomized trial and an evaluation of late secondary effects . **Dis Colon Rectum**, Boston, v. 36, p. 564-572, 1993.

GARCIA-OLMO, D.; PAYA, J.; GARCIA-OLMO, D. C. Role of immediate postoperative feeding on colonic anastomoses resistance. An experimental study in a rat model. **Nutr Hosp**, Madrid, [SI], v. 11, n. 5, p. 279-285, 1996.

GETZEN, L. C.; ROE, R. D.; HOLLOWAY, C. K. Comparative study of intestinal anastomotic healing in inverted and everted closures. **Surg Gynecol Obstet**, New York, p.1219-1227, 1966.

HELLMAN, S. Principles of cancer management : Radiation Therapy. In DEVITA, V.; HELLMAN, S.; ROSEMBERG, S. A. : Cancer: Principles and Practice of Oncology, Philadelphia, 5^o edição, p. 307-332, J.B. Lippincott, 1997.

HASTED, W. S. Circular suture of the intestine: An experimental study. **Am J Med Sci**, v. 94, p. 436-461, 1884.

HENDRIKS, T.; MASTBOOM, W. J. B. Healing of experimental intestinal anastomosis: parameters for repair. **Dis Colon Rectum**, Boston, v.33, p.891-901, 1990.

HENFRIKS, T.; WOBES, T.; DE MAN, B. M.; HOOGENHOUT, T.; SEIFERT, W. F. Moderate doses of intraoperative radiation severely suppress early strength of anastomoses in rat colon. **Radiat Res**, Great Falls, v. 150, n. 4, p. 431-435, 1998.

HERMANN, J. B.; WOODWARD, S. C.; PULASKI, E.J. Healing of colonic anastomosis in the rat. **Surg Gynecol Obstet**, New York, v. 119, p. 269-275, 1964.

HOWES, E. L.; SOOY, J. W.; HARVEY, S. C. The healing of wounds determined by their tensile strength. **JAMA**, New York, v. 92, p. 42-45, 1929.

IKEUCHI, D.; ONODERA, H.; AUNG, T.; KAN, S.; KAWAMOTO, K.; IMAMURA, M.; MAETANI, S. Correlation of tensile strength with bursting pressure in the evaluation of intestinal anastomosis. **Dig Surg**, Basel, v. 16, p. 478-485, 1999.

IRVIN T.T. Effects of malnutrition on colonic healing. **Ann Surg**, Los Angeles, v. 180, n. 6, p. 765-772, 1973.

JAHNSON, S.; GERDIN, B. Anastomotic healing of small bowel with or without chronic radiation damage in protein deficient malnourished rats. **Eur J Surg**, Wiltshire, v. 162, n. 1, p. 47-53, 1996.

JIBORN, H.; AHONEN, J.; ZEDERFELDT, B. Healing of experimental colonic anastomoses IV. Effect of suture technique on collagen metabolism in the colonic wall. **Am J Surg**, New York, v. 139, p. 406-413, 1980.

JONSSON, K.; JIBORN, H.; ZEDERFELDT, B. Breaking strength of small intestine anastomoses. **Am J Surg**, New York, v. 145, p. 800-803, 1983.

JULIANO, R. L.; HASKILL, S. Signal transduction from the extracellular matrix. **J Cell Biol**, New York, [SI], v. 120, p. 577, 1993.

JUNQUEIRA, L. C. U.; MONTES, G. S.; SANCHEZ, E. M. The influence of tissue thickness on the study of collagen by the picrosirius-polarization method. **Histochemistry**, London, [SI], v. 74, p.153-156, 1982.

KARAHASANOGLU, T.; ALTINLI, E.; HAMZAOGLU, M.; PAKSOY, M.; YESILDERE, T.; ALEMDAROGLU, K. Effect of growth hormone treatment on the healing of the left colonic anastomoses in protein-malnourished rats. **Br J Surg**, London, v. 85, p. 931-33, 1998.

KNIGHTLY, J. J.; AGOSTINO, D.; CLIFFTON, E. E. The effect of fibrinolysin and heparin on the formation of peritoneal adhesions. **Surgery**, Philadelphia, v. 52, p. 250-258, 1962.

KORUDA, M. J.; ROLANDELLI, R. H. Experimental studies on the healing of colonic anastomosis. **J Surg Res**, Mariland, v. 48, p. 504-515, 1990.

KUZU, M. A.; KOKSOY, C.; AKYOL, F. H.; et al. Colonic anastomotic healing after preoperative chemo-radiotherapy in rats. **Radiat Med**, Tokyo, v. 17, p. 181-187, 1999.

KUZU, M. A.; KOKSOY, C.; AKYOL, F. H.; UZAL, D.; KALE, T.; DEMIRPENCE, E. Effects of preoperative fractionated irradiation on left colonic anastomoses in the rat. **Dis Colon Rectum**, Boston, v. 41, n. 3, p. 370-376, 1998b.

KUZU, M. A.; KOSKOY, C.; KALE, T.; DEMIPRENÇE, E.; RENDA, N. Experimental study of the effect of preoperative 5-fluorouracil on the integrity of colonic anastomoses. **Br J Surg**, London, v. 85, p. 236-239, 1998a.

KUZU, M. A.; KUZU, I.; KOKSOY, C.; AKYOL, F. H.; UZAL, D.; KALE, T.; ORHAN, D.; TERZI, C.; KUZU, J. Histological evaluation of colonic anastomotic healing in the rat following preoperative 5-fluorouracil, fractionated irradiation, and combined treatment. **Int J Colorectal Dis**, Berlin, v. 13, n. 5, p. 235-240, 1998c.

LAW, N. W.; ELLIS, H. The effect of parenteral nutrition on the healing of abdominal wall wounds and colonic anastomosis in protein-malnourished rats. **Surgery**, Philadelphia, v. 107, n. 4, p. 449-454, 1990.

LEITE, C. V. S.; NARESSE, L. E.; KOBAYASI, S.; MINOSSI, J. G.; BURINI, R. C.; CURI, P. R.; HOSSNE, W. S. Efeito da desnutrição protéica na anastomose do cólon distal no rato. Estudo da força de ruptura e do colágeno tecidual. **Acta Cir Bras**, São Paulo, v. 8, n. 4, p. 145-150, 1993.

LEMOS, I. C. M. C. **Influência da desnutrição intra-uterina na cicatrização da parede abdominal de ratos lactentes avaliada mediante estudo tensiométrico e da**

morfometria do colágeno. Curitiba, 2002. Tese (Doutorado em Princípios da cirurgia) - Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná..

LINDSTRÖM, C. G.; ROSENGREN, J. E.; FORK, F. T. Colon of the rat; an anatomic, histologic and radiographic investigation. **Acta Radiol. Diag.**, [SI], v.20, p.523-536, 1979.

MADDEN, J. W.; PEACOCK, JR, E. E. Studies on the biology of collagen during wound healing. I. Rate of collagen synthesis and deposition in cutaneous wounds of the rat. **Surgery**, Philadelphia, v. 64, n. 1, p. 288-294, 1968.

MARRS, J. E.; HOUNSELL, A. R.; WILKINSON, J. M. The efficacy of lead shielding in megavoltage radiotherapy. **Br J Radiol**, London, v. 66, p. 140-144, 1993

MARSCH, P. J.; JAMES, R. D.; SCHOFIELD, P. F. Adjuvant preoperative radiotherapy for locally advanced rectal cancer: "Results of a prospective, randomized trial. **Dis Colon Rectum**, Boston, v. 37, p. 1205-1214, 1994.

MARTINS JR, A.; GUIMARÃES, A. S.; FERREIRA, A. L. Efeitos dos corticosteróides na cicatrização de anastomoses intestinais. **Acta Cir Bras.**, São Paulo, v. 7, p. 28-30, 1993.

MINSKY, B. D.; COHEN, A. M.; ENKER, W. E.; SIGURDSON, E. Phase I/II trial of preoperative radiation therapy and coloanal anastomosis in distal invasive resectable rectal cancer. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, Houston, v. 23, p. 387-392, 1992.

MOHIUDDIN, M.; LINGAREDDY, V.; RAKINIC, J.; MARKS, R. Radiation for rectal cancer and surgical resection after ultra high doses. **Int J Radiol Oncol Biol Phys**, Houston, v. 27, p. 1159-1163, 1993.

MOHIUDDIN, M.; REGINE, W. F.; MARKS, R. Prognostic significance of tumor fixation of rectal carcinoma: Implications for adjunctive radiation therapy. **Cancer**, Philadelphia, v. 78, p. 717-722, 1996.

NARESSE, L. E.; LUCCHIARI, P. H.; ANGELELI, A.Y. O.; BURINI, R. C.; RODRIGUES, M. A. M.; CURI, P. R.; KOBAYASI, S. Estudo comparativo de anastomoses no intestino delgado de cão: estudos da força de ruptura, hidroxiprolina tecidual e anatomopatológico. **Acta Cir Bras.**, São Paulo, v. 3, p. 106-112, 1988a.

NARESSE, L. E.; LUCCHIARI, P. H.; KOBAYASI, S. Estudo da resistência (força de ruptura) das anastomoses intestinais em plano único e em dois planos. **Rev Bras Cir**, São Paulo, v. 78, n. 4, p. 247-250, 1988b.

NARESSE, L. E.; MENDES, E. F.; CURI, P. R.; LUCCHIARI, P. H.; KOBAYASI, S. Aparelho para medida da força de ruptura das anastomoses intestinais. **Rev Hosp Clin Fac. Med S Paulo**, São Paulo, v.42, p.204-208, 1987.

NARESSE, L.E.; LEITE, C. V. S.; RODRIGUES, M. A. M.; ANGELELI, A. Y. O.; MINOSSI, J.G.; KOBAYASI, S. Efeito da peritonite fecal na cicatrização do cólon distal no rato. Avaliação anatomopatológica, estudo da força de ruptura e da hidroxiprolina tecidual. **Acta Cir Bras.**, São Paulo, v.8, n.2, p.48-53, 1993.

ORGILL, D.; DEMLING, R. H. Current concepts and approaches to wound healing. **Crit Care Med**, New York, v. 16, p. 889-907, 1988.

ORMISTON, M. C. A study of rat intestinal wound healing in the presence of radiation injury. **Br J Surg**, London, v. 72, n. 1, p. 56-58, 1985.

PAHLMAN, L.; GLIMELIUS, B. Pre or postoperative radiotherapy in rectal and rectosigmoid carcinoma: report from a randomized , multicenter trial. **Ann Surg**, Los Angeles, v. 11, p. 187-195, 1990.

PICKERING, J. G.; BOUGHNER, D. R. Fibrosis in the transplanted heart and its relation to donor ischemic time. Assessment with polarized light microscopy and digital image analysis. **Circulation**, Dallas, v. 81, n. 3, p. 949-957, 1990.

RABAU, M.; EYAL, A.; KLUGER, Y.; DAYAN, D. Bursting pressure in anastomotic healing in experimentally induced colitis in rats. **Dis Colon Rectum**, Boston, v. 41, n. 4, p. 468-472, 1998.

RABAU, M.Y.; HIRSBERG, A.; HISS, Y., DAYAN, D. Intestinal anastomosis healing in rat: collagen concentration and histochemical characterization by picosirius red staining and polarizing microscopy. **Exp. Mol. Pathol.**, New York, v.62, p.160-165, 1994.

ROBSON, M.C.; STEED, D.L.; FRANZ, M.G. Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. In: ROBSON, M.C.; STEED, D.L.; FRANZ, M.G. Wound healing. **Curr Probl Surg.**, Chicago, v. 38, n. 2, p. 73-94, 2001

ROCHA, J. J. R. **Estudo comparativo entre sutura contínua e sutura com pontos separados em anastomoses colo-cólicas em plano único: trabalho experimental em cães.** Ribeirão Preto, 1989. 113f. Tese (Doutorado) - Faculdade Médica de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

ROLANDELLI, R. H.; KORUDA, M. J.; SETTLE, R. G.; ROMBEAU, J. L. The effect of enteral feedings supplemented with pectin on the healing of colonic anastomoses in the rat. **Surgery**, Philadelphia, v. 99, n. 6, p. 703-707, 1986.

ROUGIER, P.; NORDLINGER, B. Large scale trial for adjuvant treatment in high risk resected colorectal cancers. **Ann Oncol**, Oxford, v. 4 [S2], p. 21-28, 1993.

RUBIN, P. The emergence of radiation oncology as a distinct medical speciality. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, v. 11, p. 1247-1270, 1985.

RUDOLPH, R.; VAN DER BERG, J.; EHRLICH, H. P. Wound contraction and scar contracture. In: COHEN, K.; DIEGELMANN, R.F.; LINDBLAD, W.J. **Wound healing, biochemical and clinical aspects**. Philadelphia: WB Saunders, p. 96, 1992.

SACLARIDES, T. J.; ROUWER, D. A.; BHATTACHARYYA, A. K.; BAPNA, M. S. Effect of intraoperative radiation on the tensile strength of small bowel anastomoses. **Dis Colon Rectum**, Boston, v. 35, n. 2, p. 151-157, 1992.

SAUSE, W.T.; PAJAK, T.F.; NOYES, R.D.; DOBELBOWER, R.; FISCHBACH, J.; DOGGETT, S.; MOHIUDDIN, M. Evaluation of preoperative radiation therapy in operable colorectal cancer. **Ann Surg**, Los Angeles, v. 220, p. 668-675, 1994.

SAVASSI-ROCHA, P.R.; LOPES, R.L.C. **Anastomoses intestinais: bases da cicatrização e análise dos diferentes tipos**. In: Tópicos em Gastroenterologia número 5, CASTRO, L.P.; SAVASSI-ROCHA, P.R.; CUNHA-MELLO, J.R., Rio de Janeiro, p. 493-521, 1994.

SEIFERT, W. F.; WOBES, T.; HOOGENHOUT, J.; DE MAN, B. M.; HUYBEN, K. M.; HENDRIKS, T. Intraoperative irradiation delays anastomoses repair in rat colon. **Am J Surg**, New York, v. 170, p. 256-261, 1995.

SKINOVSKY, J. **A influência da nicotina na cicatrização de anastomoses do intestino delgado em ratos**. Curitiba, 2000. 77 f. Dissertação (Mestrado) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

SOARES, E. W. S. **Efeito do uso pós-operatório de 5-fluorouracil na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos**. Curitiba, 2001. 47f. Dissertação (Mestrado) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

SOUCHON, R.; BAER, U.; VIEBALHN, C.; BAUKNECHT, K.-J. Untersuchungen zur anastomoseheilung am bestrahlten kolon. **Strahlentherapie**, Berlin, v. 158, n. 3, p. 174-182, 1982.

SOUSA, J. B.; SOARES, E. G.; APRILLI, F. Effects of diclofenac sodium on intestinal anastomotic healing: experimental study on the small intestine of rabbits. **Dis Colon Rectum**, Boston, v.34, p.13-17, 1991.

STOOP, M. J.; DIRKSEN, R.; HENDRIKS, T. Advanced age alone does not suppress anastomotic healing in the intestine. **Surgery**, Philadelphia, v. 119, n. 1, p. 15-19, 1996.

SWEAT, F.; PUCHTLER, H.; ROSENTHAL, S. I.; Sirius red F3BA as a stain for connective tissue. **Arch Pathol**, Chicago, v. 78, p. 69-72, 1964.

SWEDISH RECTAL CANCER TRIAL. Improved Survival with preoperative radiotherapy in respectable rectal cancer. **N Engl J Med**, Boston, v. 336, p. 980-987, 1997.

TAYFUN, T.; ALCIOK, S.; ALTUNKAYA, E.; SAHINLER, I.; GOKSEL, S.; SIRIN, F.; OZBAL, A. Effect of fibrin glue on irradiated colonic anastomoses. **Dis Colon Rectum**, Boston, v. 40, p. 1240-1243, 1997.

THAMES, H. D.; HENDRY, J. H. **Fractionation in radiotherapy**. London: Taylor & Francis, 1987.

TIBBS, M. K. Wound healing following radiation therapy: a review. **Radiother and Oncol**, Aarhus, v. 42, p. 99-106, 1997.

THORNTON, F. J.; BARBUL, A. Healing in the gastrointestinal tract. In: Wound healing. BARBUL, A., **Surg Clin North Am.**, Philadelphia, v. 77, n. 3, p. 1997.

VAN WINCKLE, W. The tensile strength of wounds and factors that influence it. **Surg Gynecol Obstet.**, New York, v.129, n.3, p. 819-842, 1969.

VIZZOTTO JR., A. O. **Influência da cisplatina administrada no pré e pós-operatório sobre a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos testada pela força de resistência à tração**. Curitiba, 2001. 91f. Dissertação (Mestrado) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

WAHL, L. M.; WAHL, S.M. Inflammation. In: **Wound Healing, Biochemical and Clinical Aspects**. Philadelphia: WB Saunders, p.40, 1992.

WEIBER,S., BJELKENGREN,G.; RANK, F.; JIBORN, H., ZEDERFELDT, B. Radiation effects in the colon. An experimental study in the rat. **Acta Oncol**, Uppsala, v. 32, n. 5, p. 565-569, 1993.

WEIBER,S., JIBORN, H., ZEDERFELDT, B. Preoperative irradiation and colonic healing. **Eur J Surg**, Wiltshire, v. 169, n. 1, p. 47-51, 1994.

WINSEY, K.; SIMON, R. J.; LEVENSON, S. M.; SEIFTER, E.; DEMETRIOU, A. A. Effect of supplemental vitamin A on colon anastomotic healing in rats given preoperative irradiation. **Am J Surg**, New York, v. 153, n. 2, p. 153- 156, 1987.

ANEXO 1 - TABELAS (A E B) DEMONSTRANDO DADOS DO GRUPO
CONTROLE QUATRO DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO.

TABELA A CONTROLE QUATRO DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO

animal	peso inicial	peso final	dosimetria	aderências	FMT	FRT	neutrófilos	edema	congestão
1	305	284	0	2	0,558	0,137	3	2	3
2	310	304	0	1	0,554	0,136	3	1	3
3	308	303	0	1	0,454	0,112	3	2	0
4	301	296	0	2	0,602	0,148	3	2	0
5	299	298	0	2	0,768	0,189	3	1	2
6	295	293	0	2	0,582	0,143	3	1	0
7	293	286	0	2	0,502	0,124	3	1	1
8	300	295	0	2	0,6024	0,154	3	1	1
9	300	298	0	2	0,398	0,098	2	2	1
10	264	255	0	2	0,476	0,117	2	1	1

NOTA: FMT- força máxima de tração , FRT- força de ruptura total

TABELA B CONTROLE QUATRO DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO

animal	MMN	tec.gran.	hemorragia	ulc.epit	atipias	%C.TIPO I	%C.TIPO III	IMaC
1	2	1	0	0	0	3,25	13,5	0,241
2	1	1	0	0	0	6,53	20,54	0,318
3	0	1	0	0	0	10,54	26,2	0,406
4	0	1	0	0	0	10,08	22,23	0,486
5	1	1	0	0	0	6,4	13,77	0,465
6	1	1	0	0	0	13,3	26,22	0,572
7	1	1	0	0	0	6,11	22,25	0,275
8	0	1	0	0	0	12,18	27,22	0,447
9	1	1	0	0	0	13,1	26,3	0,498
10	1	1	0	0	0	15,1	27,43	0,551

NOTA: MMN - monomorfonuclear, tec.gran. - tecido de granulação, ulc.epit. - ulceração epitelial
%C.TIPO I - percentual de colágeno tipo I, %C.TIPO III- percentual de colágeno tipo III
IMaC - índice de maturação de colágeno.

ANEXO 2 - TABELAS (A E B) DEMONSTRANDO DADOS DO GRUPO
CONTROLE OITO DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO.

TABELA A CONTROLE OITO DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO

animal	peso inicial	peso final	dosimetria	aderências	FMT	FRT	neutrófilos	edema	congestão
1	294	284	0	3	1,027	0,253	2	0	0
2	280	268	0	3	0,921	0,227	2	0	0
3	275	266	0	2	0,858	0,211	2	0	0
4	294	285	0	3	1,07	0,263	2	0	1
5	290	284	0	3	1,423	0,28	1	0	0
6	286	279	0	1	0,917	0,18	1	0	0
7	285	280	0	1	1,503	0,3	1	0	0
8	286	275	0	2	1,859	0,37	2	0	0
9	296	282	0	2	1,202	0,296	1	0	0
10	287	283	0	1	2,334	0,46	1	0	0

NOTA: FMT- força máxima de tração , FRT- força de ruptura total

TABELA B CONTROLE OITO DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO

animal	MMN	tec.gran.	hemorragia	ulc.epit	atipias	%C.TIPO I	%C.TIPO III	IMaC
1	1	1	0	0	0	14,6	28,05	0,521
2	3	1	0	0	0	16,84	24,33	0,692
3	1	1	0	0	0	17,53	25,04	0,7
4	1	1	0	0	0	13,8	25,23	0,547
5	1	1	0	0	0	14,39	26,77	0,538
6	1	1	0	0	0	11,49	20,85	0,551
7	1	1	0	0	0	16	24,71	0,648
8	1	1	0	0	0	18,05	22,93	0,787
9	2	1	0	0	0	16	22,11	0,724
10	2	1	0	0	0	17,94	21,94	0,818

NOTA: MMN - monomorfonuclear, tec.gran. - tecido de granulação, ulc.epit. - ulceração epitelial
%C.TIPO I - percentual de colágeno tipo I, %C.TIPO III- percentual de colágeno tipo III
IMaC - índice de maturação de colágeno.

ANEXO 3 - TABELAS (A E B) DEMONSTRANDO DADOS DO GRUPO
RADIOTERAPIA PRÉ-OPERATÓRIA QUATRO DIAS DE PÓS-
OPERATÓRIO

TABELA A RADIOTERAPIA PRÉ-OPERATÓRIA QUATRO DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO

animal	peso inicial	peso final	dosimetria	aderências	FMT	FRT	neutrófilos	edema	congestão
1	266	241	19,35	2	0,45	0,09	1	0	3
2	295	271	19,85	2	0,484	0,11	2	0	1
3	278	255	19,55	1	0,576	0,11	2	0	3
4	277	251	19,75	2	0,429	0,12	2	0	1
5	288	263	19,31	2	0,654	0,13	3	1	3
6	295	273	19,57	1	0,4323	0,11	2	0	2
7	271	253	19,34	3	0,491	0,1	1	0	2
8	286	265	19,71	3	0,421	0,1	2	0	1
9	287	284	19,23	3	0,501	0,1	1	0	2

NOTA: FMT- força máxima de tração , FRT- força de ruptura total

TABELA B RADIOTERAPIA PRÉ-OPERATÓRIA QUATRO DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO

animal	MMN	tec.gran.	hemorragia	ulc.epit	atipias	%C.TIPO I	%C.TIPO III	IMaC
1	1	0	0	1	1	3,04	8,09	0,376
2	2	1	1	1	1	9,65	28,46	0,339
3	1	0	3	1	0	3,59	10,65	0,337
4	2	0	1	1	1	8,06	19,82	0,407
5	1	0	0	1	1	4,85	16,15	0,3
6	2	0	0	1	1	7,68	18,76	0,41
7	1	0	0	1	1	7,26	19,21	0,378
8	1	0	0	1	1	5,24	15,49	0,338
9	0	0	3	1	1	5,79	17,54	0,33

NOTA: MMN - monomorfonuclear, tec.gran. - tecido de granulação, ulc.epit. - ulceração epitelial
%C.TIPO I - percentual de colágeno tipo I, %C.TIPO III- percentual de colágeno tipo III
IMaC - índice de maturação de colágeno.

ANEXO 4 - TABELAS (A E B) DEMONSTRANDO DADOS DO GRUPO
RADIOTERAPIA PRÉ-OPERATÓRIA OITO DIAS DE PÓS-
OPERATÓRIO

TABELA A RADIOTERAPIA PRÉ-OPERATÓRIA OITO DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO

animal	peso inicial	peso final	dosimetria	aderências	FMT	FRT	neutrófilos	edema	congestão
1	295	268	19,57	2	1,065	0,21	2	0	2
2	292	269	19,88	2	0,91	0,18	2	0	2
3	287	261	19,91	3	0,575	0,11	2	1	3
4	295	273	19,52	2	0,461	0,09	2	0	1
5	293	270	19,43	2	0,733	0,14	3	0	1
6	292	263	19,74	3	0,73	0,14	2	0	1
7	290	273	19,53	2	0,519	0,1	2	0	0
8	288	261	19,49	2	0,6529	0,13	2	1	0

NOTA: FMT- força máxima de tração , FRT- força de ruptura total

TABELA B RADIOTERAPIA PRÉ-OPERATÓRIA OITO DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO

animal	MMN	tec.gran.	hemorragia	ulc.epit	atipias	%C.TIPO I	%C.TIPO III	IMaC
1	1	0	0	1	1	10,39	15,92	0,653
2	2	0	0	1	1	7,1	13,04	0,545
3	2	0	0	1	1	11,59	24,9	0,465
4	2	0	0	1	1	7,83	17,66	0,443
5	3	0	0	1	1	5,78	20,58	0,281
6	3	0	1	1	1	4,73	14,77	0,32
7	3	1	0	0	0	5,62	16,92	0,332
8	3	1	0	0	0	9,83	18,57	0,529

NOTA: MMN - monomorfonuclear, tec.gran. - tecido de granulação, ulc.epit. - ulceração epitelial
%C.TIPO I - percentual de colágeno tipo I, %C.TIPO III- percentual de colágeno tipo III
IMaC - índice de maturação de colágeno.

ANEXO 5 - TABELAS (A E B) DEMONSTRANDO DADOS DO GRUPO
RADIOTERAPIA PÓS-OPERATÓRIA QUATRO DIAS DE PÓS-
OPERATÓRIO

TABELA A RADIOTERAPIA PÓS-OPERATÓRIA QUATRO DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO

animal	peso inicial	peso final	dosimetria	aderências	FMT	FRT	neutrófilos	edema	congestão
1	285	260	19,33	2	0,465	0,09	3	1	0
2	289	263	19,82	2	0,396	0,08	1	0	1
3	280	270	19,22	3	0,685	0,13	1	0	2
4	291	268	19,79	4	0,437	0,09	1	1	2
5	283	271	19,18	4	0,602	0,12	2	0	1
6	278	267	19,85	4	0,55	0,11	2	0	1
7	295	283	19,63	3	0,366	0,07	2	0	0
8	279	265	19,49	2	0,729	0,14	3	1	0
9	294	278	19,37	3	0,535	0,1	1	0	2
10	279	267	19,78	3	0,632	0,12	2	0	1

NOTA: FMT- força máxima de tração , FRT- força de ruptura total

TABELA B RADIOTERAPIA PÓS-OPERATÓRIA QUATRO DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO

animal	MMN	tec.gran.	hemorragia	ulc.epit.	atipias	%C.TIPO I	%C.TIPO III	IMaC
1	0	1	0	0	1	7	18,11	0,387
2	0	0	0	0	1	5,73	21,3	0,269
3	0	0	1	1	1	5,92	21,34	0,277
4	0	0	2	1	1	12,21	35,49	0,344
5	0	0	2	1	0	4,58	16,5	0,278
6	1	1	1	0	1	8,45	23,89	0,354
7	1	0	0	0	1	5,9	20,76	0,284
8	1	1	0	0	1	8,07	24,26	0,333
9	0	0	2	1	1	7,42	18,07	0,411
10	0	0	2	0	1	6,74	22,41	0,301

NOTA: MMN - monomorfonuclear, tec.gran. - tecido de granulação, ulc.epit. - ulceração epitelial
%C.TIPO I - percentual de colágeno tipo I, %C.TIPO III- percentual de colágeno tipo III
IMaC - índice de maturação de colágeno.

ANEXO 6 - TABELAS (A E B) DEMONSTRANDO DADOS DO GRUPO
RADIOTERAPIA PÓS-OPERATÓRIA OITO DIAS DE PÓS-
OPERATÓRIO

TABELA A RADIOTERAPIA PÓS-OPERATÓRIA OITO DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO

animal	peso inicial	peso final	dosimetria	aderências	FMT	FRT	neutrófilos	edema	congestão
1	290	266	19,53	3	0,842	0,7	2	0	3
2	298	274	18,87	3	0,642	0,13	2	0	3
3	284	261	19,65	3	0,59	0,12	3	1	0
4	275	254	19,37	3	0,405	0,08	2	0	3
5	282	257	19,93	2	0,523	0,1	3	1	2
6	294	273	19,76	2	0,52	0,1	2	0	3
7	281	257	19,11	3	0,818	0,16	3	0	3
8	276	260	19,57	3	0,675	0,13	2	0	3
9	288	265	19,28	3	0,681	0,13	3	0	0
10	294	268	19,84	3	0,723	0,14	2	0	3

NOTA: FMT- força máxima de tração , FRT- força de ruptura total

TABELA B RADIOTERAPIA PÓS-OPERATÓRIA OITO DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO

animal	MMN	tec.gran.	hemorragia	ulc.epit	atipias	%C.TIPO I	%C.TIPO III	IMaC
1	1	0	1	1	1	11,42	19,08	0,599
2	0	0	1	1	1	9,69	19,42	0,499
3	2	0	0	1	1	7,68	21,31	0,36
4	0	0	2	1	1	8,62	21,28	0,405
5	2	0	1	0	1	15,6	26,04	0,599
6	1	0	3	1	1	9,35	15,25	0,613
7	1	0	2	1	1	11,72	20,55	0,571
8	0	0	3	1	1	5,46	17,13	0,319
9	2	1	0	1	1	9,61	21,87	0,439
10	0	0	1	1	1	8,64	20,36	0,424

NOTA: MMN - monomorfonuclear, tec.gran. - tecido de granulação, ulc.epit. - ulceração epitelial
%C.TIPO I - percentual de colágeno tipo I, %C.TIPO III- percentual de colágeno tipo III
IMaC - índice de maturação de colágeno.